

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
3. April 2008 (03.04.2008)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2008/037416 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
Nicht klassifiziert

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2007/008308

(22) Internationales Anmeldedatum:
25. September 2007 (25.09.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2006 045 764.1
26. September 2006 (26.09.2006) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): PLANTEXTRAKT GMBH & CO. KG [DE/DE];
Dutendorfer Strasse 5-7, 91487 Vestenbergsgreuth (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KLER, Adolf
[DE/DE]; Am Sandacker 10, 91413 Neustadt/Aisch
(DE). ZENGER, Reinhold [DE/DE]; Dr.-Jäckel-Strasse
6, 91325 Adelsdorf (DE). DIMPFEL, Wilfried [DE/DE];
Grüner Weg 22, 35578 Wetzlar (DE).

(74) Anwälte: HÜBNER, Gerd usw.; Königstrasse 2, 90402
Nürnberg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,
MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,
TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

(54) Title: USE OF THEOGALLIN FOR PRODUCING A DRUG FOR USE IN THE PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF
NEUROLOGICAL AND PSYCHIATRIC DISEASES OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM, ESPECIALLY OF MENTAL
CONCENTRATION DISORDERS, DEPRESSION AND DEMENTIA

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON THEOGALLIN ZUR HERSTELLUNG EINES ARZNEIMITTELS ZUR
PROPHYLAXE UND BEHANDLUNG VON NEUROLOGISCHEN UND PSYCHIATRISCHEN ERKRANKUNGEN DES
ZENTRALEN NERVENSYSTEMS, INSBESONDERE VON MENTALEN KONZENTRATIONSLEISTUNGSSTÖRUNGEN,
DEPRESSION UND DEMENZ

(57) Abstract: Theogallin, its derivatives, its metabolite quinic acid, the derivatives thereof, its metabolites or the pharmaceutically
acceptable salts of said substances can be used for producing a drug for use in the prophylaxis or treatment of neurological and
psychiatric diseases of the central nervous system, especially of dementia such as Alzheimer's disease or Parkinson's disease, of
depressions and concentration disorders such as attention deficit hyperactivity disorder.

(57) Zusammenfassung: Theogallin, seine Derivate, sein Metabolit Chinasäure, von Derivaten davon, seiner Metaboliten oder
die pharmazeutisch annehmbaren Salze dieser Stoffe sind zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe bzw. Behandlung
von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen des zentralen Nervensystems, insbesondere von Demenzen, wie Morbus
Alzheimer oder Morbus Parkinson, von Depressionen und Konzentrationsleistungsstörungen, wie beim Aufmerksamkeitsdefizits-
Hyperaktivitätssyndrom verwendbar.

WO 2008/037416 A2

Verwendung von Theogallin zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen des zentralen Nervensystems, insbesondere von mentalen Konzentrationsleistungsstörungen, Depression und Demenz

5

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Theogallin bzw. Theogallin-Derivaten, seines Metaboliten Chinasäure bzw. deren Derivate und Metaboliten oder deren pharmazeutisch annehmbaren Salzen oder Komplexen zur Prophylaxe und Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen des zentralen Nervensystems, insbesondere von
10 mentalen Konzentrationsleistungsstörungen, Depression und Demenz.

Theogallin ist in einer Reihe von Naturprodukten enthalten, insbesondere in Grünteeextrakten. Es hat folgende Summenformel:

15



Chinasäure hat folgende Summenformel:



Eine biologische oder pharmakologische Wirkung wurde bislang noch nicht beschrieben.

20

Die derzeit üblichen Arzneimittel zur Behandlung von Krankheiten des zentralen Nervensystems, insbesondere von Demenz, Depression und Konzentrationsleistungsstörungen haben ein breites Nebenwirkungsspektrum. Es besteht daher ein sehr großer Bedarf nach einer Prophylaxe bzw. einem verbesserten Arzneimittel mit einer guten therapeutischen Wirksamkeit bei
25 möglichst geringer Nebenwirkungsrate. Insbesondere gilt dies auch für die Prophylaxe.

Der Erfindung liegt insoweit die Aufgabe zugrunde, diesen Bedarf zu decken.

Diese Aufgabe wird gemäß Anspruch 1 überraschenderweise durch die
5 Verwendung des Naturstoffs Theogallin (sowie der im Körper entstehenden Chinasäure) oder Derivaten davon bzw. deren pharmazeutisch annehmbaren Salzen als Wirkstoff für die Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Behandlung von Erkrankungen des zentralen Nervensystems insbesondere von Konzentrationsleistungsstörungen, gelöst. Erwäh-
10 nenswert dabei ist die therapeutische Wirkung bezüglich des Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndroms bei Kindern. Als Derivate sind zum Beispiel Ester bzw. Säureamide der Carbonsäuren der Chinasäure oder auch Ester/Äther der verschiedenen Hydroxylgruppen zu nennen. Die oben erwähnte überraschend gefundene pharmazeutische Wirkung dieser Stoffe
15 wurde in vivo wie auch in vitro an der Ratte bewiesen.

Auf der Basis der bisher bekannten Literatur war eine Wirkung von Theogallin bei pathologischen Störungen des zentralen Nervensystems, insbesondere von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen sowie
20 Konzentrationsleistungsstörungen nicht zu erwarten gewesen. Erst die Anwendung der völlig "bias"-freien Untersuchung im Tele-Stereo-EEG der Ratte erbrachte im Rahmen von Versuchen mit anderer Zielsetzung den Hinweis auf das Vorhandensein einer derartigen zentralnervösen Wirkung. Die Wirkung wurde weiterhin durch in vitro Versuche am Hippokampus-
25 Schnittpräparat in direkter Interaktion zwischen Wirkstoff und seinem Zielorgan, dem Gehirn, untermauert.

Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sowie weitere Merkmale, Einzelheiten und Vorteile ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen

und der nachfolgenden Beschreibung, die auf die beigefügten Diagramme Bezug nimmt. Es zeigen:

5 **Fig. 1** ein Diagramm zur Darstellung der Wirkung von Theogallin und Chinasäure auf EEG Frequenzen während der ersten Stunde nach dessen Applikation (Mittelwerte von n=4 Tieren),

10 **Fig. 2** ein Diagramm zur Darstellung der Wirkung verschiedener Substanzen wie Haloperidol (Neuroleptika), Paroxetin (Antidepressiva, Schmerzen), Amphetamin (Stimulants), Diazepam (Sedativa) und Valproinsäure (Antikonvulsiva),

15 **Fig: 3** ein Diagramm der konzentrationsabhängigen Zunahme der Amplitude des Populationsspikes (Aktivität der Pyramidenzellen) in Gegenwart von Theogallin im Hippokampus Schnittpräparat in vitro (Mittelwerte von je 4 Schnitten mit mittlerem Fehler des Mittelwertes);

20 **Fig. 4** ein Diagramm des Amplitudenverhaltens des Populationsspikes im Hippokampus Schnittpräparat nach Theta-Burst-Stimulation in Gegenwart von Theogallin;

25 **Fig. 5** ein Diagramm der konzentrationsabhängigen Zunahme der Amplitude des Populationsspikes (Aktivität der Pyramidenzellen) in Gegenwart von Chinasäure im Hippokampus Schnittpräparat in vitro (Mittelwerte von je 4 Schnitten mit mittlerem Fehler des Mittelwertes); und

Fig. 6 ein Diagramm des Amplitudenverhaltens des Populationsspikes im Hippokampus Schnittpräparat nach Theta-Burst-Stimulation in Gegenwart von Chinasäure.

- 5 Die Erfindung bezieht sich auf die Verwendung von Theogallin bzw. Theogallin-Derivaten bzw. seinem Metaboliten Chinasäure, bzw. deren Derivate und Metaboliten zur Herstellung eines Medikamentes zur Prophylaxe und Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen, insbesondere von Demenz, Depression und Konzentrationsleistungsstörungen.
- 10 Theogallin hat folgende Summenformel:



Erfindungsgemäß wird neben Theogallin auch sein Metabolit Chinasäure eingesetzt. Chinasäure hat folgende Summenformel:



Theogallin oder Chinasäure kann erfindungsgemäß auch in Form seiner pharmazeutisch annehmbaren Salze oder Komplexe eingesetzt werden. Die Herstellung solcher Salze erfolgt in an sich bekannter Weise. Als Salzbildner kommen alle üblichen pharmazeutisch annehmbaren Säuren bzw. Anionen in Frage. Auch eine Kopplung an Glucuronsäure kann verwendet werden. Insbesondere kann auch Chinasäure allein verwendet werden.

20

Die erfindungsgemäßen Theogallin oder Chinasäure als Wirkstoff enthaltenden Arzneimittel werden bevorzugt oral verabreicht. Es ist jedoch auch eine Verabreichung auf anderem Wege, z.B. peroral, topisch, parenteral, intravenös, intramuskulär, subkutan, nasal, inhalativ, rektal oder transdermal möglich.

25

Zur Verabreichung kann das erfindungsgemäße Arzneimittel, das als Wirkstoff Theogallin oder Chinasäure enthält, z.B. in Form von Pulvern, Tabletten, Kapseln, Pillen, Dragees, Granulaten, Suppositorien, Pellets, Sirupe, Lösungen oder Dispersionen formuliert werden, wobei der Wirkstoff optional mit pharmazeutisch annehmbaren Hilfs- und Trägerstoffen kombiniert werden kann.

Liegt das erfindungsgemäße Arzneimittel in Form einer Lösung vor, so enthält diese bevorzugt 0.1 bis 10 Gew.-%, besonders bevorzugt 1 bis 5 Gew.-% des Wirkstoffs.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittel, die Theogallin oder Chinasäure als Wirkstoff enthalten, werden normalerweise gemäss herkömmlichen Methoden hergestellt und in einer pharmazeutisch geeigneten Form verabreicht.

Zum Beispiel können die festen oralen Formen zusammen mit dem Wirkstoff Streckstoffe (z.B. Lactose, Dextrose, Saccharose, Cellulose, Maisstärke oder Kartoffelstärke), Gleitmittel (z.B. Silikat, Talk, Stearinsäure, Magnesium- oder Calciumstearat und/oder Polyethylenglykole), Bindemittel (z.B. Stärken, Gummi arabicum, Gelatine, Methylcellulose, Carboxymethylcellulose oder Polyvinylpyrrolidon), Aufschussmittel (z.B. Stärke, Alginsäure, Alginate oder Natriumstärkeglykolate), aufschäumende Mischungen, Farbstoffe, Süßungsmittel Benetzungsmittel (z.B. Lecithin, Polysorbate, Laurylsulfate) und im allgemeinen nicht-toxische und pharmakologisch inaktive Substanzen, die in pharmazeutischen Formulierungen verwendet werden, enthalten.

Die pharmazeutischen Zubereitungen können in bekannter Weise hergestellt werden, z.B. mittels Mischen, Granulieren, Tablettieren, Zuckerbeschichtungs- oder Überzugsbeschichtungsverfahren.

- 5 Die flüssigen Dispersionen zur oralen Verabreichung können z.B. Sirupe, Emulsionen und Suspensionen sein.

Sirupe können als Träger z.B. Saccharose oder Saccharose mit Glycerin und/oder Mannitol und/oder Sorbitol enthalten.

10

Die Suspensionen und die Emulsionen können als Träger z.B. ein natürliches Harz, Agar, Natriumalginat, Pectin, Methylcellulose, Carboxymethylcellulose oder Polyvinylalkohol enthalten.

- 15 Die Suspensionen oder Lösungen für intramuskuläre Injektionen können zusammen mit dem Wirkstoff einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, z.B. steriles Wasser, Olivenöl, Ethyloleat, Glykole, z.B. Propylenglykol, und, falls gewünscht, eine geeignete Menge an Lidocain-Hydrochlorid enthalten.

20

Die Lösungen zur intravenösen Injektion oder Infusion können als Träger z.B. steriles Wasser enthalten oder sie können bevorzugt in Form von sterilen, wässrigen, isotonsichen Salzlösungen vorliegen.

- 25 Die Suppositorien können zusammen mit dem Wirkstoff einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, z.B. Kakaobutter, Polyethylenglykol, einen Polyoxyethylensorbitol-Fettsäureester oder Lecithin enthalten.

Zusammensetzungen für die topische Applikation, z.B. Cremes, Lotionen oder Pasten, können durch Mischen des Wirkstoffs mit einem herkömmlichen ölhaltigen oder emulgierenden Träger hergestellt werden.

5 Die Dosierungseinheit des Arzneimittels kann beispielsweise enthalten:

- 10 - bei peroralen Arzneiformen bevorzugt 80 bis 200 mg, besonders bevorzugt 90 bis 120 mg, Wirkstoff pro Tagesdosis - die Tagesdosis kann beispielsweise in 1 bis 3 Einzeldosen, vorzugsweise in zwei Einzeldosen, täglich verabreicht werden.
- 15 - bei parenteralen Arzneiformen (zum Beispiel intravenös, subkutan, intramuskulär) bevorzugt 20 bis 60 mg, besonders bevorzugt 30 mg, Wirkstoff pro Tagesdosis - die Tagesdosis kann beispielsweise in 1 bis 3 Einzeldosen, vorzugsweise in einer Einzeldosis, täglich verabreicht werden.
- 20 - bei Arzneiformen zur rektalen Applikation bevorzugt 40 bis 80 mg, besonders bevorzugt 60 mg, Wirkstoff pro Tagesdosis - die Tagesdosis kann beispielsweise in 1 bis 3 Einzeldosen, vorzugsweise in einer Einzeldosis, täglich verabreicht werden.
- 25 - bei Arzneiformen zur Applikation auf die Haut und Schleimhäute (z.B. Lösungen, Lotionen, Emulsionen, Salben usw.) bevorzugt 40 bis 80 mg Wirkstoff, besonders bevorzugt 60 mg, Wirkstoff pro Einzeldosis - die Tagesdosis kann beispielsweise in 1 bis 6 Einzeldosen, vorzugsweise in 1-3 Einzeldosen, täglich verabreicht werden.

Bei Verwendung eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes bzw. Derivates muss die verwendete Menge in dem Fachmann bekannter Weise entsprechend angepaßt werden.

- 5 In vitro wie auch in vivo Versuche an der Ratte zeigen Ergebnisse, wie sie für Medikamente zur Behandlung von Depression, Demenzen und Konzentrationsleistungsstörungen typisch sind. Eine Übersicht ist in Fig. 1 gegeben.

- 10 Eine erste Verabreichung eines Tee-Extraktes an Probanden, der diese Substanzen enthält, zeigte die vermutete Wirksamkeit auch am Menschen. Bei Untersuchungen der Veränderungen der EEG-Frequenzen der Ratte nach Gabe von Theogallin und Chinasäure sowie der direkten Interaktion von Theogallin und Chinasäure mit Hirnmaterie im Hippokapusschnittpräparat der Ratte in vitro wurde überraschenderweise gefunden, dass das Präparat eine Wirkung im Gehirn besitzt, die bei der Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen des Gehirns, insbesondere von
15 Demenz, Depression und Konzentrationsleistungsstörungen nützlich ist.

- 20 Theogallin zeigt überraschenderweise im Modell Tele-Stereo-EEG bei Ratten Veränderungen der EEG-Frequenzen, wie sie nach Gabe klassischer Medikamente zur Behandlung von Demenzen (Beispiel Galanthamin), Depression (Beispiel Paroxetin) sowie mentalen Leistungsstörungen (Beispiel Amphetamin) gemessen werden. Die Veränderungen, wie sie nach Gabe
25 klassischer Medikamente sowie nach Gabe von einer Dosis von Theogallin (20 mg/kg) auftraten, sind in Fig. 1 gezeigt. Aus der in Fig. 2 gezeigten Abbildung ist offensichtlich, dass sich der charakteristische elektrische Fingerprint, der für klassische Medikamente zur Behandlung von Demenzen, Depression und Konzentrationsleistungen typisch ist, auch in den

Mustern von Theogallin und Chinasäure in signifikanter Weise wiederfindet. Deutlich erkennbar ist die Übereinstimmung bei den Substanzen Theogallin/Chinasäure einerseits und Amphetamin/Paroxetin andererseits.

- 5 Die Fig. 1 zeigt die zeitabhängigen Veränderungen der EEG-Frequenzen nach Gabe einer Dosis von Theogallin wie sie gemäß dem nachfolgend erläuterten Testverfahren 1 gemessen wurden. Aus der Erkenntnis, dass Theogallin und Chinasäure die gleichen charakteristischen Veränderungen der EEG-Frequenzen hervorruft wie üblicherweise Arzneimittel, die zur
- 10 Behandlung von Demenzen, Depressionen und Konzentrationsleistungsstörungen eingesetzt werden, kann gefolgert werden, dass Theogallin bzw. Chinasäure bei der Behandlung in denselben Indikationen wirksam ist. Dass Medikamente, die in der gleichen Indikation eingesetzt werden, auch gleichartige EEG Veränderungen hervorrufen, konnte von Dimpfel anhand
- 15 von mehr als 40 Referenzsubstanzen für 8 verschiedene Indikationen gezeigt werden (Dimpfel W.: "Preclinical data base of pharmaco-specific rat EEG fingerprints (Tele-Stereo-EEG)" in Eur J Med Res (2003) 8: 199-207).
- 20 Zusätzlich wurden Untersuchungen am Modell Hippokampus-Schnittpräparat *in vitro* durchgeführt. In diesen Untersuchungen wurde überraschend gefunden, dass Theogallin und Chinasäure sowohl eine Zunahme der Pyramidenzellaktivität nach Einzelreizung wie auch eine Zunahme der Langzeitpotenzierung hervorruft (siehe Fig. 3 bis 6). Dieses
- 25 Phänomen wurde für andere stimulierende und antidementiv wirkende Arzneimittel wie Memantine in der Literatur bereits berichtet (Dimpfel W.: "Effects of Memantine on synaptic transmission in the hippocampus *in vitro*" in *Arzneim.-Forsch/Drug Res* (1995) 45: 1-5).

Testverfahren 1 (Tele-Stereo-EEG)

Die Veränderungen der EEG-Frequenzen wurde nach Gabe von Salzlösung (Kontrolle) bzw. oral von Theogallin (20 mg/kg Körpergewicht) sowie oral
5 10 mg/kg der Chinasäure bestimmt.

Die Untersuchungen wurden analog der durch W. Dimpfel beschriebenen Methode (Dimpfel W.: "Preclinical data base of pharmaco-specific rat EEG fingerprints (Tele-Stereo-EEG)" in Eur J Med Res (2003) 8: 199-207) fol-
10 gendermaßen durchgeführt:

Vier männlichen erwachsenen Fischer-344 Ratten (Tag-Nacht konvertiert) wurden im Alter von 6 Monaten 4 bipolar konzentrische Elektroden zusammen mit einem Mikrostecker auf einer gemeinsamen Basisplatte im-
15 plantiert. Der Stecker diente der Aufnahme eines 4-Kanal-Senders zur telemetrischen Übertragung der aus frontalem Kortex, Hippokampus, Striatum und Formatio Reticularis abgeleiteten Feldpotentiale. Die Signale wurden auf einem Computer System (Software "EEG-Analyse", Betriebssystem OS Science, Laborrechner "LabTeam" der Firma MediSyst, Linden,
20 DE) in Echtzeit einer Fast-Fourier-Transformation unterworfen und die Leistungsdichtespektren jeweils über 60 Minuten gemittelt. Die Unterteilung der Spektren in 6 verschiedene Frequenzbereiche erlaubte die Erfassung pharmako-spezifischer Veränderungen in Bezug auf die jeweils vor Applikation gemessenen Vorwerte innerhalb dieser Frequenzbänder.

25

Zum Applikationsprotokoll der Substanzen ist festzuhalten, dass diese oral 45 Minuten nach Beginn der Messungen (Vorwert) appliziert wurden. Fünf Minuten später wurden die Messungen wieder gestartet, mindestens über die nächsten 5 Stunden kontinuierlich analysiert und in 60-minütigen Peri-

oden zusammengefaßt. Die Testsubstanzen wurden in einer Dosierung von 20 mg/kg (Theogallin) bzw. 10 mg/kg (Chinasäure) appliziert. Die experimentelle Serie wurde mit der Injektion von Salzlösung (Kontrolle), die zu keiner auffälligen Änderung führte, begonnen.

5

Der statistische Vergleich der Versuche zu den Ergebnissen, die nach Gabe von Salzlösung gemessen wurde, erfolgte mit Hilfe einer multivarianten Analyse nach Ahrens und Läuter (siehe H. Ahrens, J. Läuter: "Mehrdimensionale Varianzanalyse" (1974), Akademie Verlag, Berlin) auf der Basis der Veränderungen innerhalb der einzelnen Frequenzbänder in allen Hirnregionen als Variablen.

10

Die Verabreichung von Salzlösung führte kaum zu Veränderungen der elektrischen Aktivität ($\mu V^2/\Omega$) im Vergleich zu den Vorphasenwerten.

15

Die Verabreichung von Theogallin führte zu deutlichen Veränderungen der Leistungsdichte im frontalen Kortex. (siehe Fig.1). Die Verabreichung von Chinasäure führte zu ähnlichen Ergebnissen, wobei die Veränderungen im frontalen Kortex sich von denen nach Gabe von Salzlösung mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 5\%$ unterschieden.

20

Die orale Verabreichung von Theogallin als Einzeldosis führt zu Veränderungen der elektrischen Hirnaktivität bei den Testtieren, die denen nach Gabe von Paroxetine bzw. Galanthamin oder Amphetamin entsprach. Dieses Muster korreliert in auffälliger Weise mit den Mustern, die für Medikamente, wie sie bereits für die Behandlung von Demenzen und Depressionen üblicherweise verwendet werden (siehe Fig. 1), nicht jedoch mit Mustern, die bei Medikamenten für andere Indikationen auftreten. Bereits in

25

der ersten Stunde wurden im frontalen Kortex Abnahmen der delta und alpha2 Aktivität beobachtet (siehe Fig. 1), wie sie typischerweise für die Applikation von Stimulantien, Antidepressiva oder Antidementiva zu diesem Zeitpunkt gemessen wurden.

5

Die beobachteten Frequenzänderungen wurden mittels einer Diskriminanzanalyse mit den Ergebnissen von Medikamenten zur Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen des Gehirns wie Demenzen, Depression wie auch mit Medikamenten für andere Indikationen verglichen. Folgende Arzneimittel, welche bereits im selben Modell geprüft wurden, standen für Vergleichszwecke zur Verfügung: Memantine 1.0 mg; Haloperidol 0.5 mg; Chlorpromazin 0.5 mg; Prothipendyl 1 mg; Clozapine 3 mg; Thioridazin 5 mg; Phentytoin 4 mg; Carbamazepin 15 mg; Valproinsäure 75 mg; Diazepam 0.5 mg; Methohexital 20 mg; Midazolam 0.5 mg; 10 Meprobamat 60 mg; Phenobarbital 60 mg; Amphetamin 0.2 mg; Fenfluramin 1 mg; Kokain 10 mg; Mescaline 10 mg; Metanicotin 1mg; R-DOI 0.1 mg; R-DOM 0.2 mg; Dizocilpin 0.25 mg; LSD 0.05 mg; Acetylsalicylsäure 200 mg; Metamizol 100mg; Fentanyl 0.075 mg; Tramadol 10mg; Fluvoxamin 40 mg; Nomifensin 1mg; Mianserin 5 mg; Amitriptylin 10mg; 15 mipramin 10 mg; Paroxetin 2 mg; Galanthamin: 3 mg. Die Angaben beziehen sich jeweils auf eine Dosierung in mg/kg Körpergewicht. Abbildung 2 zeigt stellvertretend fünf dieser Substanzen.

20

25

Testverfahren 2 (Langzeitpotenzierung im Hippokampus-Schnittpräparat in vitro)

Wirkungen von Theogallin und Chinasäure auf die Erregbarkeit der Pyramidenzellen wurden im Hippokampus-Schnittpräparat der Ratte bestimmt. Die Analyse der Wirkungen erfolgte auf zwei Ebenen. Zunächst wurde

anhand der Applikation von Einzelreizen die normale Erregbarkeit überprüft und anschließend nach einer sog. „Theta-burst-Stimulation“ die Auswirkungen auf die Langzeitpotenzierung gemessen.

- 5 Für die Durchführung dieser Studien wurden 9 erwachsene männliche CD-Ratten verwendet. Die Isolation des Hippokampus erfolgte an äthernarkotisierten und anschließend exsanguinierten Tieren in Phosphat-gepufferter Salzlösung (NaCl: 124 mM; KCl: 5 mM; CaCl: 2 mM; MgSO₄: 2 mM; NaH₂PO₄: 1,25 mM; NaHCO₃: 26 mM; Glucose: 10 mM) Kontroll-
- 10 Lösung war artifizielle Cerebral-Spinal-FLüssigkeit (ACSF); Theogallin und Chinasäure wurden von der Firma Plantextrakt, Vestenbergsgreuth, zur Verfügung gestellt. Dann wurde der mittlere Teil des Hippokampus mit Hilfe eines Schnellklebers aufgeblockt und mit einem Vibratom in 400 µm dicke Scheiben geschnitten. Die Aufbewahrung dieser Schnitte erfolgte für
- 15 mindestens eine Stunde vor Versuchsbeginn (siehe S.J. Schiff, G.G. Somjen: „The effects of temperature on synaptic transmission in hippocampal tissue slices“ in Brain Research (1985), 345: 279-284) in einer mit Carbogen durchperlten Inkubationskammer.
- 20 Das Experiment selbst wurde in einer sog. „Base Unit“ mit "Haas Top“ (Firma Medical Systems Corp., USA) bei 35 Grad Celsius durchgeführt. Der mit Hilfe peristaltischer Pumpen (Infusomat B. Braun Melsungen AG) superfundierte Hippokampus-Schnitt lag auf einem Stück Gaze. Eingeleitetes Carbogen hielt die erforderliche Sauerstoffzufuhr der Lösung aufrecht.
- 25 Die Durchflussgeschwindigkeit betrug 200 ml/h.

Die Stimulation der CA2-Region (Schaffer-Kollateralen) erfolgte unter Verwendung eines Reizgenerators (Laborcomputer Labteam der Fa. Medisyst GmbH, Linden, DE) über eine Isoliereinheit mit Hilfe einer bipolar

konzentrischen Stahlelektrode (Rhodes Medical Systems, USA. Die Impulsbreite betrug 200 μ s, die Stromstärke konstant 200 μ A. Der Reizgenerator löste im Abstand von jeweils 20 Sekunden 4 Einzelreizungen aus, die im Schnitt insgesamt 4 Populationsspikes evozierten. Die Ableitung der Antwort erfolgte in der CA3 Region. Das System mittelte die Reizantwort der 4 Spike-Amplituden.

Die Wirkung der beiden einzelnen Substanzen auf das evozierte Potential wurde nach Einzelreizung wie auch nach Induktion der Langzeitpotenzierung durch einen kurzdauernden (1 s) tetanischen Reiz (90 Hz) untersucht (siehe K.G. Reymann, H.K. Matthies, U. Frey, V.S. Voborbyev, H. Matthies: „Calcium-induced long-term potentiation in the hippocampal slice. Characterization of the time course and conditions“ in Brain Bulletin (1986), 17: 291-296). Dabei wurde der Schnitt zunächst mit Kontrolllösung superfundiert. Nach Auffinden eines geeigneten Signals und Registrierung dieses Ausgangssignals während mehrerer Zeitpunkte wurde anstelle der Kontrolllösung auf Theogallin- oder Chinasäure-haltige Lösung umgeschaltet. Jeder Schnitt wurde jeweils nur zu einem Experiment benutzt. Werte werden für n=4 Schnitte angegeben.

20

Die Ableitung der evozierten Antwort erfolgte in 10-minütigem Abstand extrazellulär mit einer gezogenen Glaskapillare (Elektrodenpuller, Rhema Labortechnik, DE). Das Antwortsignal wurde verstärkt (Verstärker „LMI“, List Electronics, Darmstadt, DE), mit einem Laborrechnersystem "Labteam" (Software NeuroTool, MediSyst GmbH, Linden DE) analog digital gewandelt (Auflösung 12 Bit) und ausgewertet. Nach Auffinden eines geeigneten Signals (Amplitudenhöhe etwa 1 mV) wurde die Amplitudenhöhe des Populationsspikes (SAP=Summenaktionspotential; Popspike) als Ausgangsgröße festgelegt. Dieser Referenzwert ergab sich aus dem Mittelwert

der letzten drei gemessenen Amplitudenhöhen während Superfusion mit der ACSF Lösung (Ausgangswert). Danach erfolgte die Superfusion mit Testsubstanz mit gleichem Procedere. In Folgeexperimenten erfolgte eine kurzfristige tetanische Reizung (Theta-Burst-Stimulus=TBS) zur Induktion der Langzeitpotenzierung. Hieraus resultierende Amplitudenveränderungen wurden in % dieses Ausgangswertes (n=4) angegeben. Werte in Gegenwart der Testsubstanz sind in % Reduktion dieses Referenzwertes angegeben.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in den Fig. 3 bis 6 gezeigt. Die erste Versuchsanordnung zeigt eine konzentrationsabhängige Zunahme der Amplitude des Populationsspikes in Gegenwart von 0 bis 4 mg/L Theogallin bei Einzelreizung (siehe Fig. 3). Die Auslösung der Langzeitpotenzierung durch TBS wurde bei der gleichen Konzentration konzentrationsabhängig ebenfalls verstärkt (siehe Fig. 4), wie es von Versuchen mit Antidementiva her bekannt ist. Gleichsinnige Ergebnisse wurden in Gegenwart von Chinasäure erhalten (Fig. 5 bis 6). Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, dass Theogallin und Chinasäure – wie auch aus den EEG-Untersuchungen ersichtlich ist – Depression und Demenzen positiv beeinflussen.

20

Patentansprüche

1. Verwendung von Theogallin, von Derivaten davon, seines Metaboliten Chinasäure, deren Derivate, seiner Metaboliten oder der pharmazeutisch annehmbaren Salze dieser Stoffe zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe bzw. Behandlung von neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen des zentralen Nervensystems, insbesondere von Demenzen, wie Morbus Alzheimer oder Morbus Parkinson, von Depressionen und Konzentrationsleistungsstörungen, wie beim Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitätssyndrom.
5
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel auf eine Dosierung von 40 bis 300 mg, insbesondere von 80 bis 180, bevorzugt von 120 bis 150 mg pro Tag eingestellt ist.
10
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel zusätzlich pharmazeutisch annehmbare Träger, Hilfs- und/oder Verdünnungsmittel enthält.
15
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1,2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Arzneimittel zur oralen Verabreichung hergerichtet ist.
20

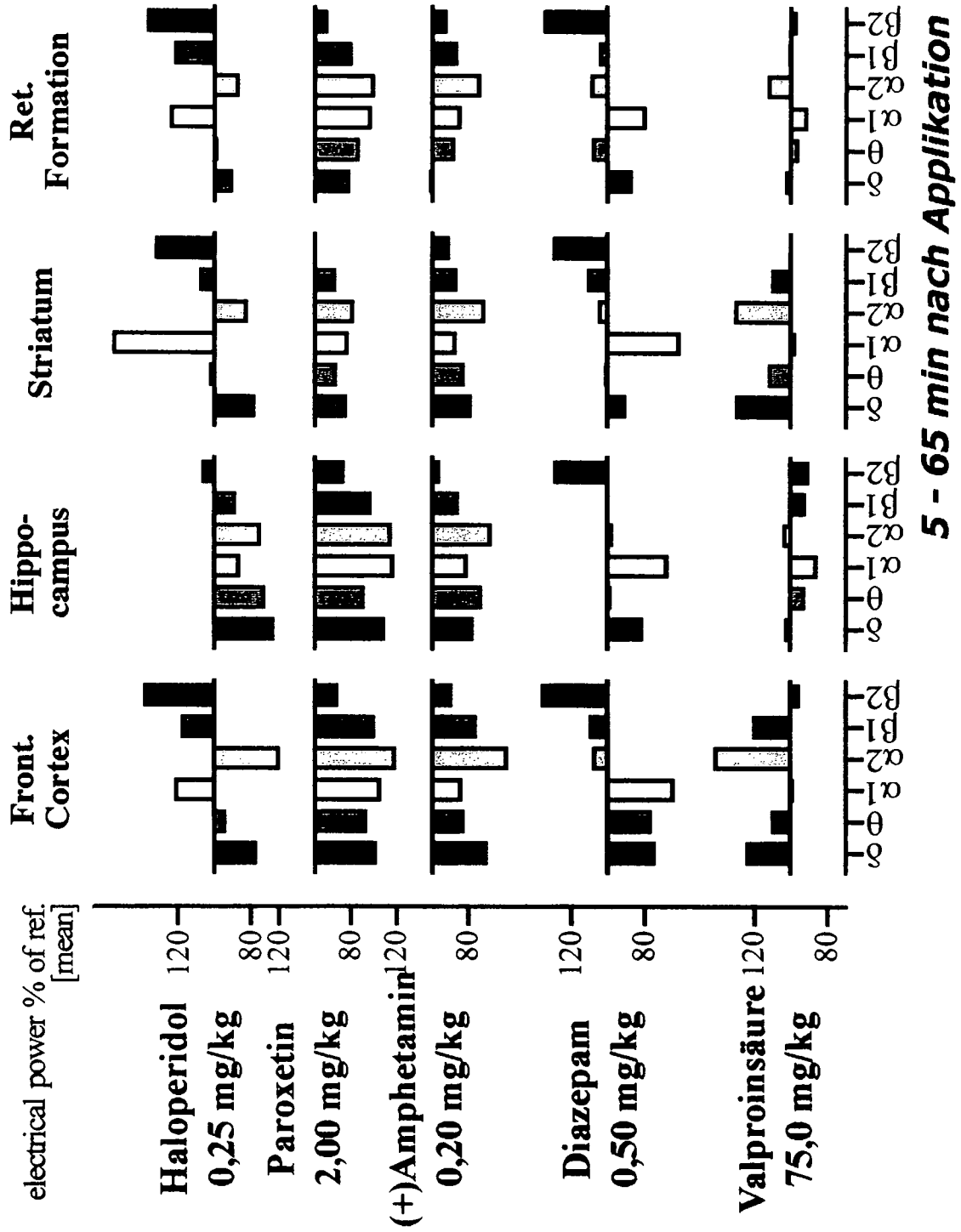


Fig. 2

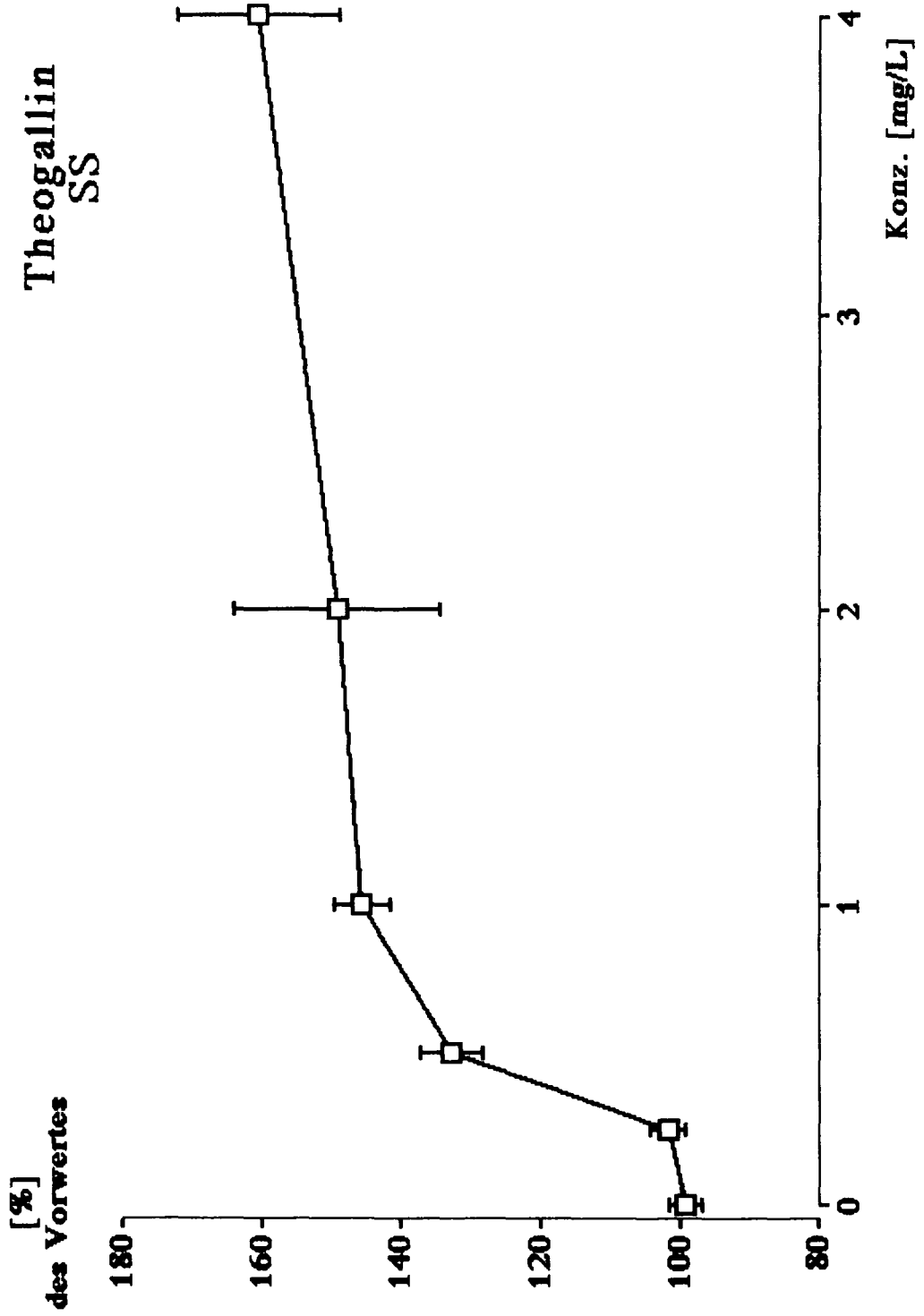


Fig. 3

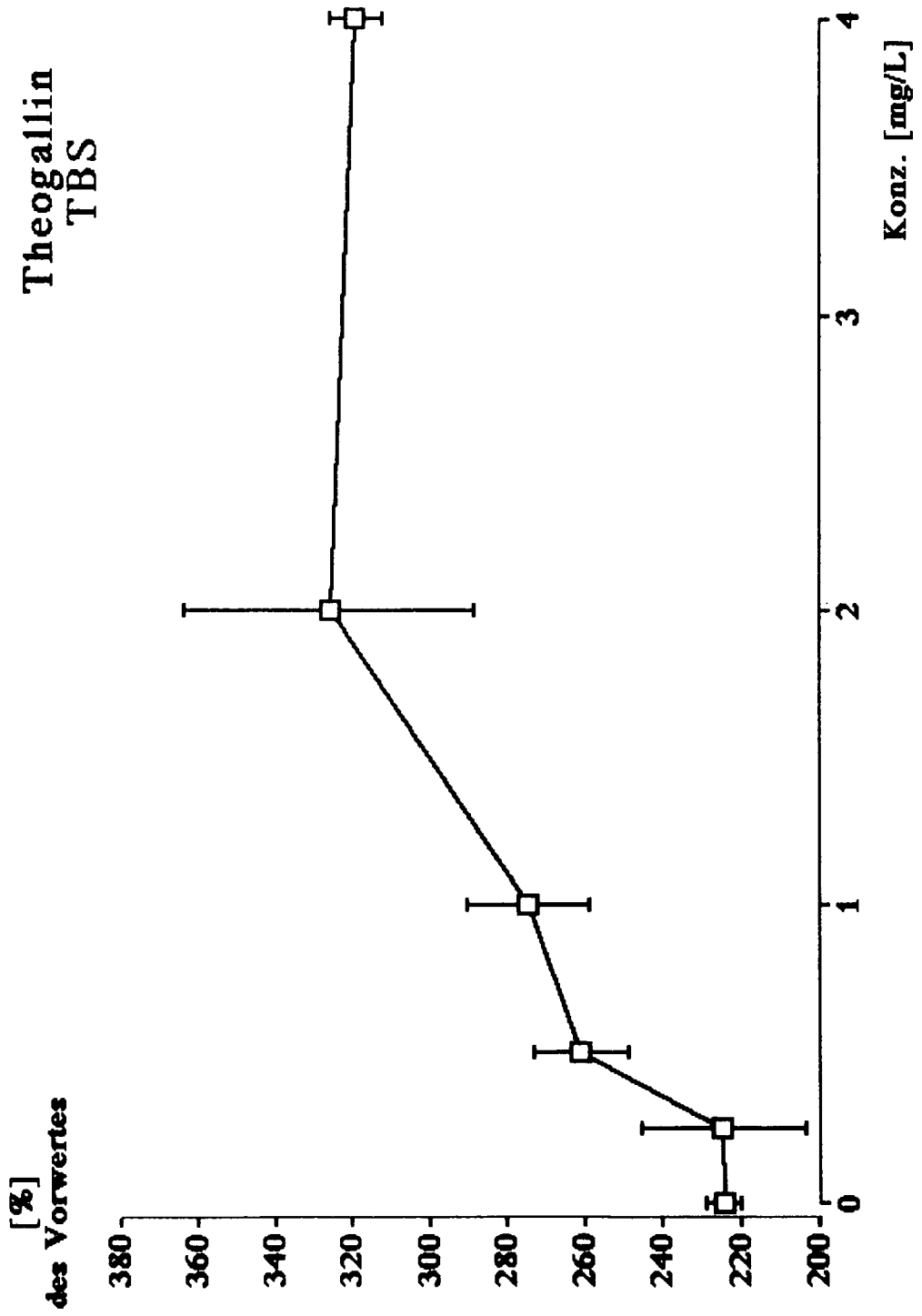


Fig. 4

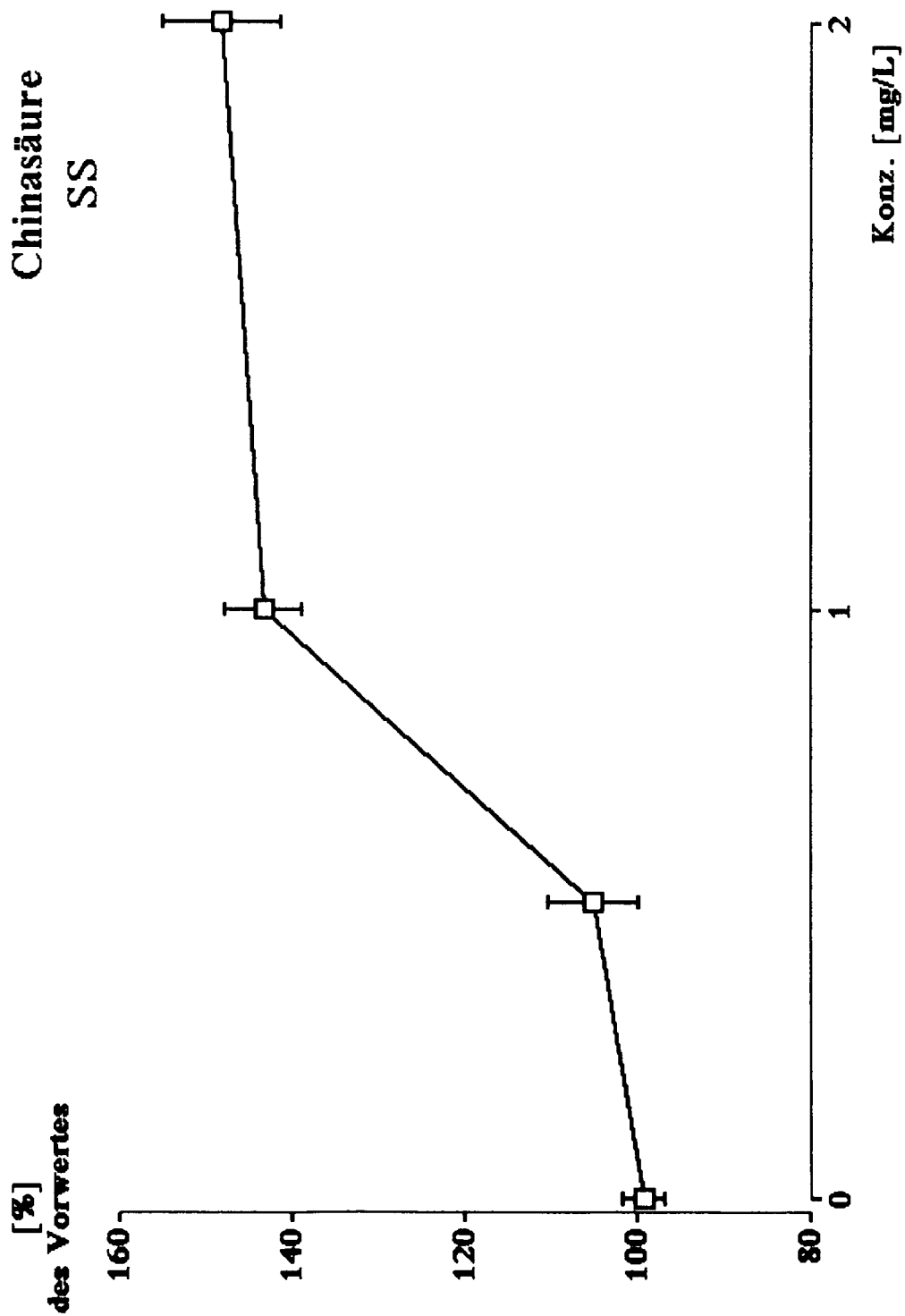


Fig. 5

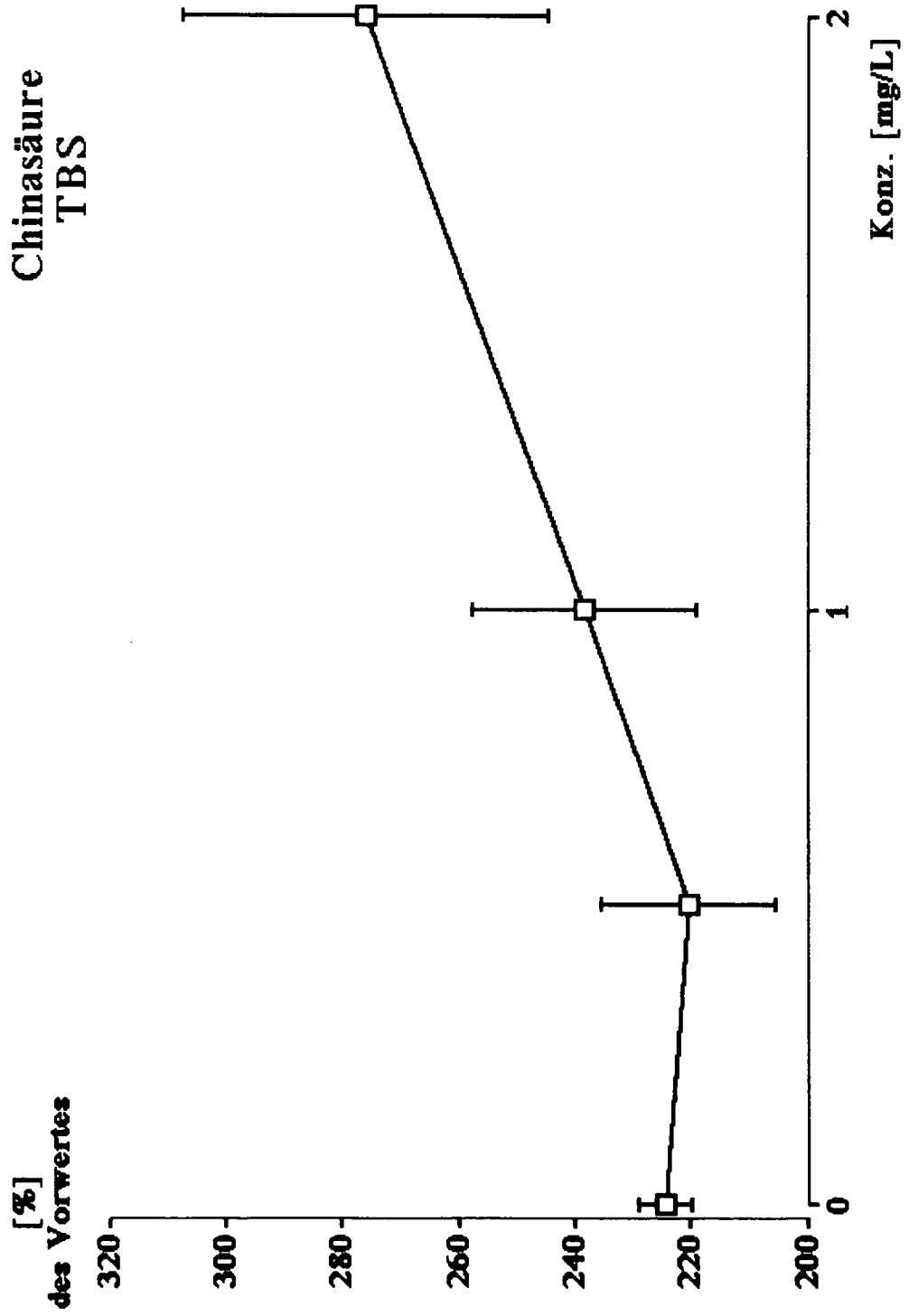


Fig. 6