(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 693 33 023 T2** 2004.05.06

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 665 752 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **693 33 023.6**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/FR93/01029**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **93 924 096.6**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 94/008588**
(86) PCT-Anmeldetag: **19.10.1993**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **28.04.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **09.08.1995**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **04.06.2003**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **06.05.2004**

(51) Int Cl.[7]: **A61K 31/566**
A61K 31/57, A61P 5/46

(30) Unionspriorität:
9212548 **20.10.1992** **FR**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Laboratoires Mayoly Spindler, Chatou, FR

(72) Erfinder:
MORFIN, Robert, F-75013 Paris, FR

(74) Vertreter:
WINTER, BRANDL, FÜRNISS, HÜBNER, RÖSS, KAISER, POLTE, Partnerschaft, 85354 Freising

(54) Bezeichnung: **3-beta-hydroxylierte natürliche Steroidderivate enthaltende Arzneimittelzusammensetzungen und ihre Verwendung**

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 pharmazeutische Zusammensetzungen, die als Wirkstoff 7-hydroxylierte Derivate natürlicher Steroidhormone enthalten, die gegebenenfalls eine 3β-Hydroxyfunktion besitzen, und ihre Verwendung als Auslöser oder Stimulator der Immunität (nachfolgend als "Immuneffektor" bezeichnet) und ganz besonders der zellulären Immunität; diese pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch als antiglucocorticoide Mittel verwendet werden.

[0002] Die Familie der 3β-hydroxylierten Steroidhormone umfaßt: das als 3β-Hydroxy-5-pregnen-20-on bekannte Pregnenolon (nachfolgend als PREG bezeichnet), das als 3β-Hydroxy-5-androsten-l7-on bekannte Dehydroepiandrosteron (nachfolgend als DHEA bezeichnet), das als 5-Androsten-3β,17β-diol bekannte Androstendiol (nachfolgend als 5-DIOL bezeichnet), das als 3β-Hydroxy-5α-androstan-l7-on bekannte Isoandrosteron oder Epiandrosteron (nachfolgend als ISOA bezeichnet) und das als 5α-Androstan-3β,17β-diol bekannte Androstandiol (nachfolgend als ADIOL bezeichnet).

[0003] PREG ist als der Vorläufer der Gruppe der Steroidhormone bekannt. PREG wird ausgehend von Cholesterin irreversibel in Geweben und Organen wie der Nebennierenrinde, den Gonaden (E. Baulieu, Hormones, Publ. Hermann (1978)) und dem Gehirn (Z. Hu et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 84, 8215–8219 (1987)) gebildet. Gebildet seit dem frühesten Alter sind seine zirkulierenden Mengen erhöht und relativ stabil (E. DePeretti und E. Mappus, J. Clin. Endocr. Metab., 57, 550–556 (1983)). Es kann selbst im Gehirn in Progesteron umgewandelt werden (Y. Akwa et al., J. Cell. Biol., 121, 135–143 (1993)), aber seine irreversible Umwandlung in Mineralcorticoidhormone und Glucocorticoidhormone erfolgt nur in der Nebennierenrinde (E. Baulieu, Hormones, Publ. Hermann (1978)).

[0004] DHEA ist ein 17-Ketosteroid, das quantitativ eines der wichtigsten adrenocortikalen Steroidhormone ist, die im Blut von Menschen und anderen Säugern vorhanden sind. M. E. Windholz, The Merck Index, 9. Aufl. (1976); K. Diem und C. Lentner, Geigy Scientific Tables (1975); E. Barret-Connor et al., N. E. J. M. 315, 1519–1524 (1986). Obwohl DHEA als Zwischenprodukt bei der Synthese der Steroide der Gonaden zu dienen scheint, ist die primäre physiologische Funktion von DHEA nicht klar. Es ist jedoch bekannt, daß die Plasmakonzentrationen dieses Hormons, die in der zweiten Lebensdekade maximal sind, anschließend abnehmen, bis sie schließlich bei älteren Personnen 5% der ursprünglichen Quote erreichen.

[0005] In bestimmten Fällen besitzt DHEA Immuneffektoreigenschaften: bei R. M. Loria, T. H. Inge, S. S. Cook, A. Z. Szakl und W. Regelson (1988), J. Med. Virol., 26, 301–314, ermöglicht es eine Steigerung der Überlebensdauer von Mäusen, die mit den Humanviren CVB4-Edwards oder HSV2 infiziert waren, wenn es subkutan in einer Menge in der Größenordnung von 1 g/kg injiziert wird, und zwar 4 Stunden vor der Virusinfektion. Dieser Effekt wird auch beobachtet, wenn DHEA 16 Wochen lang vor der Infektion oral verabreicht wird (0,4% in der Nahrung).

[0006] Noch allgemeiner zeigen dieselben Autoren in US-Patent 5 077 284 einen positiven Effekt auf Patienten mit AIDS, die mit Dosen von 400 bis 2500 mg/Tag behandelt wurden, und empfehlen die Verwendung von DHEA zusammen mit einem Antivirusmittel in Dosen von 25 mg/kg bis 2 g/kg).

[0007] Die irreversible Produktion von DHEA ausgehend von PREG ist vor allem im Nebennierenrindengewebe und in den Gonaden bekannt (E. Baulieu, Hormones, Publ. Hermann (1978)). Im übrigen wird DHEA erst beginnend mit der Adrenarche produziert und seine zirkulierende Menge steigt mit der Pubertät (E. DePeretti und E. Mappus, J. Clin. Endocr.

[0008] Metab., 57, 550–556 (1983)). Im Erwachsenenalter zirkulierend bedeutende Mengen von DHEA im Blut von Menschen und anderen Säugern, aber diese in der zweiten Lebensdekade des Menschen maximalen Mengen nehmen anschließend ab, bis sie schließlich bei Personen in sehr fortgeschrittenem Alter weniger als 10% der ursprünglichen Quote erreichen (N. Orentreich et al., J. Clin. Endocr. Metab., 59, 551–555 (1984)).

[0009] 5-DIOL leitet sich unmittelbar von DHEA ab, dessen 17-Ketofunktion durch eine Oxidoreduktase reduziert wird. Seine zirkulierenden Mengen sind im Vergleich mit denen von DHEA gering, da die Oxidoreduktion auch im umgekehrten Sinn wirkt und DHEA liefert und da sich sogar in der Haut Androgene wie das Testosteron davon ableiten können (I. Faredin und I. Toth, Acta Med. Acad. Sci. Hung., 32, 139–152 (1975)).

[0010] In den Gonaden werden DHEA und 5-DIOL nacheinander durch eine Reihe bekannter enzymatischer Reaktionen irreversibel in androgene (Testosteron) und dann östrogene Hormone (Östradiol) umgewandelt (E. Baulieu, Hormones, Publ. Hermann (1978)).

[0011] Testosteron wird in den Zielgeweben irreversibel zu seinem androgen wirksamen Derivat, dem 5α-Dihydrotestosteron, reduziert. Es ist dieses Steroid, von dem sich ADIOL und ISOA über reversible enzymatische Reaktionen herleiten (E. Baulieu, Hormones, Publ. Hermann (1978)). Die zirkulierenden Mengen dieser beiden Steroide sind beim Erwachsenen gering und sind vor der Pubertät Null und nach der Menopause und der Andropause nahezu Null (P. Mauvais-Jarvis und G. Charransol, Nvelle. Presse Medic., 23, 1565-1569 (1973); C. Hopkinson et al., J. Steroid Biochem., 8, 1253–1257 (1977); G. Habrioux et al., Steroids, 32, 61–71 (1978)).

[0012] Die Verwendung von PREG wurde niemals für therapeutische Anwendungen in Betracht gezogen, da dieses Steroid der Vorläufer der Gruppe der Steroidhormone ist. Im Gegensatz dazu hat DHEA nachgewiese-

ne Wirkungen bei verschiedenen physiopathologischen Zuständen, einschließlich insbesondere Krebs, Diabetes, Vergreisung, Fettsucht. Diese unterschiedlichen Wirkungen sind in einer Reihe von Artikeln, die in einem neueren Werk über die biochemischen, biologischen und klinischen Wirkungen von DHEA zusammengestellt sind, beschrieben (The biologic role of dehydroepiandrosteron, Hrsg.: M. Kalimi und W. Regelson, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1990). Darin wird die genaue Wirkungsweise von DHEA untersucht, jedoch noch nicht sicher erklärt. Alle Veröffentlichungen deuten darauf hin, daß DHEA entweder oral oder subkutan in beträchtlichen Dosen von 25 mg/kg bis 2 g/kg, und dies wiederholt, verabreicht werden muß, damit man eine Wirkung erzielt.

[0013] Die Verwendung von DHEA in einer therapeutischen oder prophylaktischen Zusammensetzung stößt jedoch auf drei Probleme:

– die schlechte Löslichkeit von DHEA in wäßrigen Lösungen,
– die Notwendigkeit, es mehrere Stunden vor dem Antigen injizieren zu müssen, um die gewünschte Wirkung zu erzielen,
– die beträchtlichen Mengen, die erforderlich sind, um eine Wirkung zu erzielen, bergen das Risiko unerschwinglicher Kosten und unerwünschter Nebenwirkungen.

[0014] In gleicher Weise wurde kürzlich 5-DIOL verwendet, um eine verbesserte antivirale Reaktion bei Mäusen zu erhalten. Die als wirksam erkannten Dosen sind 20 mg/kg bis 320 mg/kg nach subkutaner Verabreichung oder 0,4 Gew.-% der Nahrung (R. Loria und D. Padgett, Arch. Virol., 127, 103–115 (1992)). Nichtsdestoweniger schränken die bekannten Nebenwirkungen von 5-DIOL seine therapeutische Verwendung am Menschen beträchtlich ein.

[0015] Schließlich werden Wegen ihrer relativ starken androgenen Wirkung weder ADIOL noch ISOA als therapeutische Mittel eingesetzt oder in Betracht gezogen (P. Robel et al., Biochimie, 53, 81–96 (1971)).

[0016] 3β-hydroxylierte Steroide wie PREG, DHEA, 5-DIOL sind in zahlreichen Geweben in 7-Position hydroxyliert, wie bereits bei Ratten (Y. Akwa et al., Biochem. J., 288, 959–964 (1992)) und Mäusen (R. Morfin und G. Courchay, J. Steroid Biochem. Molec. Biol., (in Druck)) gezeigt wurde. Bei ADIOL und ISOA wurden Hydroxylierungen in 6- oder 7-Position bei Menschen (R. Morfin et al., Biochimie, 59, 637–644 (1977)), bei Ratten (J. Guiraud, R. Morfin et al., Steroids, 34, 241–248 (1979)) und bei Hunden (R. Morfin et al., Eur. J. Biochem., 109, 119–127 (1980)) nachgewiesen. Diese Entdeckung wurden bei Menschen (F. Jacolot et al., J. Steroid Biochem., 14, 663–669 (1981); S. Tunn et al., J. Steroid Biochem , 28, 257–263 (1987)) und Ratten (J. Isaacs et al., Steroids, 33, 639–657 (1979); M. Warner et al., Endocrinology, 124, 2669–2706 (1979)) bestätigt und fortgeführt. Diese Hydroxylierungen in 6 oder 7 sind spezifisch für 3β-hydroxylierte Steroide und der enzymatische Prozeß erfolgt irreversibel.

[0017] Daraus folgt, daß die gebildeten 6- oder 7-hydroxylierten Steroide nicht der Ursprung klassischer Steroidhormone wie Mineralcorticoide, Glucocorticoide, Progestativa, Androgene und Östrogene sein können, und sie schienen auf den Gebieten dieser letztgenannten Hormone inaktiv zu sein (A. Stunde et al., J. Steroid Biochem , 16, 483–488 (1982); F. Celotti et al., J. Steroid Biochem , 18, 397–401 (1983)).

[0018] Verschiedene neuere Artikel zeigen auch, daß zwischen den endokrinen Systemen und den Immunsystemen eine Verbindung besteht; dies läßt vermuten, daß DHEA eine antiglucocorticoide regulatorische Rolle spielen könnte (A. Meikle et al., J. Steroid Biochem. Molec. Biol., 42, 293–304 (1992)), obwohl Untersuchungen mit diesem Steroid nur negative Reaktionen gezeigt haben (P. Mohan und M. Cleary, Steroids, 57, 244–247 (1992)).

[0019] Die Druckschrift WO 92 03925 betrifft eine Behandlungsmethode zur Gewichtskontrolle bei Menschen unter Verwendung bestimmter substituierter Steroide.

[0020] Das Patent US 4 898 694 beschreibt chemische Synthesverfahren zur Herstellung von Steroiden, die sich von DHEA, Isoandrosteron oder Androstan-3β,17β-diolen ableiten.

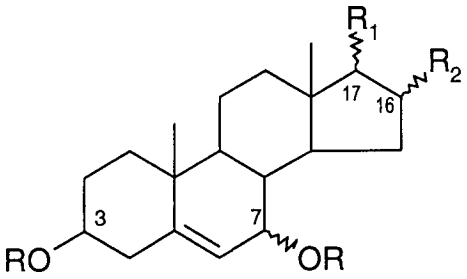
[0021] Das Patent US 4 628 052 und die Druckschrift DE 38 12 595 beschreiben Steroidmoleküle, die bestimmten Vorläufern der erfindungsgemäß geeigneten Verbindungen entsprechen.

[0022] Die Druckschrift WO 91 04030 beschreibt die Verwendung natürlicher Steroide in Zusammensetzungen, die die Lymphokinproduktion durch T-Zellen induzieren.

[0023] Die Druckschrift US 5 077 284 beschreibt die Verwendung von natürlichem DHEA als Stimulans der Immunreaktion auf infektiöse oder immunogene Agenzien.

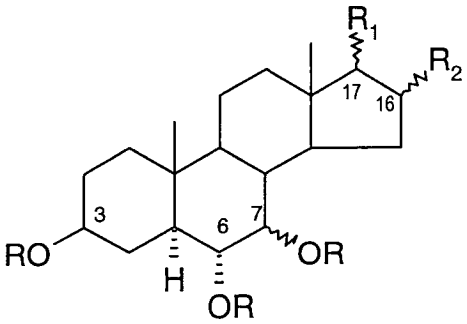
[0024] Die vorliegenden Erfindung stellt sich die Aufgabe, die verschiedenen oben aufgeworfenen Probleme der therapeutischen Verwendung von DHEA oder PREG zu lindern, und rührt von der Entdeckung her, nach der nicht nur die Mikrosomen von Rattenhirn, sondern auch Haut, Dünndarm, Dickdarm, Caecum, Milz, Thymus und Hirn von Mäusen in der Lage waren, DHEA und Pregnenolon in polare und wasserlöslichere Derivate zu überführen, nämlich die 7α-hydroxylierten Derivate. 7β-hydroxylierte Derivate wurden ebenfalls nachgewiesen. Außerdem steigt die Menge an 7α-hydroxylierten Derivaten mit dem Alter der Tiere.

[0025] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Verbindungen der allgemeinen Formel:

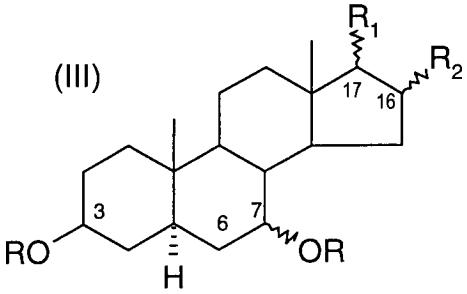


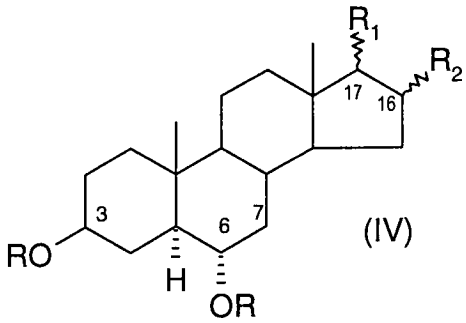
(I)

oder der allgemeinen Formeln (II), (III) und IV



(II)





(IV)

in welchen die Substituenten R, R_1 und R_2 die folgende Bedeutung haben:
R = -H oder eine Esterfunktion mit 1 bis 100 Kohlenstoffatomen,
R_1 = $-H_2$ oder =O (Keton),
oder β-OH (Hydroxy),
oder β-CO-R_3,
oder β-CHOH-R_3,
oder β-OH,
wobei R_3 eine Alkylgruppe mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, vorzugsweise Methyl, substituiert oder unsubstituiert, ist, R_2 = $-H_2$ oder ein Halogen oder ein Carbonitrilrest, sich die Reste an 6, 7 und 16 in α- oder β-Stellung befinden können, und in welchen gegebenenfalls der Substituent für die Wasserstoffatome in Position 7 ein Keton sein kann,
zur Herstellung von pharmazeutischen Zusammensetzungen, die sie als Wirkstoff enthalten, wobei die Verbindungen I, II, III oder IV in der Zusammensetzung zur Behandlung mit antiglucocorticoiden Mitteln vereint mit einem pharmazeutisch verträglichen Trägerstoff vorliegen.

[0026] Bei den bevorzugten erfindungsgemäßen Verbindungen ist R ein Wasserstoff, R_1 ist eine Funktion =O oder -CO-CH_3.

[0027] Bei den Verbindungen der Formeln I bis IV können die Substituenten für die Wasserstoffatome in den Positionen 6 und 7 Keton sein.

[0028] Ferner können sich die Reste an 6 und 7 in den allgemeinen Formeln II bis IV gegenseitig ausschließen (Formeln III und IV) oder im gleichen Molekül vorliegen (Formel II).

[0029] Besondere Verbindungen der Erfindung sind solche, in denen R = H oder R_2 = H_2 oder R_1 = β-CO-CH_3 oder =O, und insbesondere 7α-Hydroxyisoandrosteron gemäß der Formel III.

[0030] Die Erfindung betrifft insbesondere pharmazeutische Zusammensetzungen, in denen die Verbindungen der fraglichen Art vereint mit einem für die gewählte Verabreichungsform geeigneten pharmazeutischen

Trägerstoff vorliegen.

[0031] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen der Erfindung, die als Wirkstoff eine Verbindung der Formel I, II, III oder IV enthalten, können zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung verwendet werden, die als Antiglucocorticoid verwendet werden kann, und zwar für alle therapeutischen Anwendungen, die eine Wirkung zum Ziel haben, die der von natürlichen oder synthetischen Glucocorticoiden entgegenläuft, wobei die Substituenten R, R_1 und R_2 der Formeln I bis IV außerdem zugleich R = H, R_1 = Keton und R_2 = H_2 sein können.

[0032] Die betroffenen Pathologien sind all diejenigen, bei denen von der Verwendung glucocorticoider Substanzen abzuraten ist, sowie diejenigen, die von den unerwünschten Nebenwirkungen der gleichen Glucocorticoide herrühren, wie sie in den Ansprüchen definiert sind.

[0033] Als mit Glucocorticoiden assoziierte Pathologien und unerwünschte Nebenwirkungen, die auf die Glucocorticoide zurückzuführen sind, können als Beispiele genannt werden:

– Cushing Syndrom,
– Nebennierentumoren,
– diabetogene und lipidogene Wirkungen von Glucocorticoiden,
– Schwäche, Muskelatrophie,
– Geschwüre des Verdauungstrakts, Osteoporose, Mobilisierung von Fettsären und Akkumulation von Fetten als Folge der Einnahme von Glucocorticoiden,
– Katarakt bei Erwachsenen und Wachstumsverminderung bei Kindern, die mit Glucocorticoiden behandelt wurden,
– Dysmenorrhöen, Insomnien und depressive Zustände als Folge von übermäßigen glucocorticoiden Behandlungen oder Wirkungen.

[0034] Die maximale pharmakologische Wirkung dieser Verbindungen wird bei jedem Verabreichungsweg erhalten, der das wirksame Molekül zu den Targetzellen bringt, was insbesondere die orale, subkutane, perkutane, intramuskuläre oder topische Verabreichung umfaßt.

[0035] Eine vorteilhafte Dosierung der zur Herstellung der therapeutischen Zusammensetzung verwendeten Verbindungen der Formel I oder II beträgt bei Säugern 1 bis 100 mg/kg.

[0036] Zur Verabreichung eins Steroids werden in der Tier- und Humanpharmakopöe gewöhnlich organische Lösungsmittel verwendet. Es handelt sich insbesondere um:

– DMSO (Dimethylsulfoxid) zur intramuskulären oder subkutanen Injektion;
– Lösungsmittel für auf subkutanem oder intramuskulärem Wege injizierbare Steroide, häufig pflanzliche Öle (Rizin, Olive, Erdnuß,...), zuweilen hydriert oder neutralisiert. Manche Steroide werden auch in Form einer Suspension in Carboxymethylcellulose injiziert;
– transkutanen Verabreichungen (Salben, Gele), bei denen vor allem Mischungen (galenisch und Exzipienten) verwendet werden, in denen sich Alkohole (Ethylen-, Propylenglykole), Fettalkohole (stearylisch, Octyl-2-dodecanol, C_{20} ...), Vaselin, pflanzliche Öle (Rizin, Olive...) finden.

[0037] Neue Formulierungen erlauben auch eine retardierte transkutane oder transepitheliale Adsorption. Es handelt sich um Inklusionen in Polyvinylpyrrolidon oder in Polyethylenglycol oder in mit Rauchquarz polymerisierten Matrizes.

[0038] Die Verabreichung an den Dickdarm kann rektal mit Suppositorien (Kakaobutter) erfolgen, aber auch oral mit Cyclodextrinen, die den hydrophoben Wirkstoff einschließen und, sobald sie zertört sind, im Dickdarm freigeben (J. Szetli, Pharmaceut. Technol. Int., 3, 16–24 (1991)).

[0039] Die Erfindung betrifft schließlich Medikamente, die sich als Immuneffektoren eignen oder zur Vorbeugung oder Behandlung von Krankheiten oder Symptomen bestimmt sind, die auf die Wirkung von Glucocorticoiden zurückzuführen sind, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Verbindung der Formel I oder der Formel II in Verbindung mit einem für die gewählte Verabreichungsform pharmazeutisch geeigneten Trägerstoff enthalten.

[0040] Die verschiedenen nachfolgenden Beispiele zeigen ohne einschränkenden Charakter die therapeutischen Wirkungen der 7α- oder 7β-hydroxylierten Derivate, sowohl als Immuneffektoren als auch als antiglucocorticoide Mittel.

I- IMMUNEFFEKTORWIRKUNG (nur zur Erläuterung)

[0041] Die Immuneffektorwirkung wurde durch gleichzeitige subkutane Injektion eines Antigens und des 7α- oder 7β- hydroxylierten Derivats in C57BL/6-Mäuse gemäß einem klassischen Immunisierungsprotokoll nachgewiesen (Methods in Enzymology (1980), Vol. 70).

[0042] Die Wirkung der Verbindung als Effektor der zellulären Immunität wird durch die Menge von zirkulierendem IgG gemessen, das gegen das Antigen gerichtet ist, und zwar 21 Tage nach der Injektion bei einer

Auffrischungsinjektion nach 14 Tagen.

[0043] Die folgenden Beispiele beschreiben die Erfindung, ohne sie einzuschränken.

– BEISPIEL I: Wirkung von 7αOH-DHEA und 7βOH-DHEA:

[0044] Herstellung (Synthese) von 7α- und 7β- Hydroxydehydroepiandrosteron:
DHEA-Acetat (1) (1 g, Sigma D-4500) wird nach dem von J. ORR und J. BROUGHTON veröffentlichten Verfahren (J. Org. Chem. (1970) 35, 1126–1129) mit N-Bromsuccinimid unter Bestrahlung mit Licht in 3β-Acetoxy-7α-bromandrost-5-en-17-on (2) überführt.

[0045] Das erhaltene bromierte Derivat wird durch Behandlung mit einer Mischung aus K-acetat/Essigsäure nach A. NUSSBAUM et al. (J. Am. Chem. Soc. (1960) 82, 2641) in eine Mischung aus 3β,7α(β)-Diacetoxyandrost-5-en-17-on (3) überführt.

[0046] Die erhaltene Mischung wird in methanolischem K_2CO_3 3 Stunden unter Rückfluß verseift. Nach Extraktion der verseiften Steroide wird das 3β,7α-Dihydroxyandrost-5-en-17-on (4) vom 3β,7β-Dihydroxyandrost-5-en-17-on (5) durch präparative Chromatographie über mit Ethylacetat eluiertem Silicagel abgetrennt. Das 7β-Epimer eluiert als erstes vollkommen getrennt vom 7α-Steroid, das anschließend eluiert.

[0047] (4) wird aus Ethylacetat/n-Hexan auskristallisiert. Die Kristalle (120 mg) haben einen Schmelzpunkt von 182–183°C, entsprechend denen, die von R. DODSON et al. (J. Am. Chem. Soc. (1959) 81, 6295–6297) und G. DEFAME et al. (J. Steroid Biochem. (1978) 9, 331–336) gefunden wurden.

[0048] (5) wird in gleicher Weise auskristallisiert (280 mg). Die Kristalle haben einen Schmelzpunkt von 214–215°C, entsprechend denen, die von denselben Autoren wie oben gefunden wurden.

[0049] Gaschromatographie von (4) und (5) in Form von Ditrimethylsilyloxy-Derivaten gekoppelt mit Massenspektrometrie liefert jeweils ein Molekülion mit der erwarteten Masse von 448 und den gleichen Retentionszeiten und Fragmentierungsmustern wie das der identischen Referenzderivate (4) und (5) (zur Verfügung gestellt von H. A. LARDY, Universität Wisconsin).

Immunisierungsprotokoll:

[0050] 35 Gruppen mit 5 C57BL/6-Mäusen im Alter von 6 Wochen erhalten am ersten und vierzehnten Tag eines Immunisierungsprotokolls eine subkutane Injektion von 200 µg Lysozym aus Hühnereiweiß. Lösungen von DHEA (Sigma D-4500) in Dimethylsulfoxid (DMSO) werden auf gleiche Weise zu verschiedenen Zeitpunkten vor der ersten Lysozyminjektion injiziert. Es werden Mengen zwischen 0,25 und 2 g/kg eingesetzt. Zehn weitere Gruppen mit 5 Mäusen erhalten gleichzeitig mit der ersten Lysozyminjektion eine subkutane Injektion von 6,25 bis 50 mg/kg 7α-Hydroxy-DHEA oder 7β-Hydroxy-DHEA in DMSO-Lösung. Zwei Gruppen erhalten nur DMSO mit Lysozym (Kontrollen). Die Nullproben entsprechend einer Gruppe mit 5 Mäusen erhalten keine Injektion.

[0051] Drei Wochen nach den ersten Injektionen werden die dann 9 Wochen alten Tiere geköpft. Das Blut von jedem Tier wird gesammelt und die Anwesenheit von Immunglobulin G (IgG) gegen Lysozym wird in Verdünnungsreihen der Seren immunoenzymatisch mit Peroxidase-markiertem Ziege-Anti-Maus-IgG (Fc) bestimmt.

[0052] Die Ergebnisse sind in den Zeilen 1, 3, 6 und 7 der Tabelle 1 angegeben, wo sich die besonders deutliche Wirkung geringer Dosen von 7αOH-DHEA zeigt. 7βOH-DHEA hat eine Wirkung, die der von DHEA, das 1 Stunde vor dem Antigen injiziert wurde, äquivalent ist, jedoch bei 20-fach geringeren Dosen.

– BEISPIEL II: Wirkung von 7αOH- und 7βOH-Pregnenolon:

[0053] Herstellung (Synthese) von 7α- und 7β-Hydroxypregnenolon:
Pregenenolonacetat (1) (1 g, Sigma P-9254) wird nach dem von J. ORR und J. BROUGHTON veröffentlichten Verfahren (J. Org. Chem. (1970) 35, 1126–1129) mit N-Bromsuccinimid unter Bestrahlung mit Licht in 3β-Acetoxy-7α-brompregn-5-en-20-on (2) überführt.

[0054] Das erhaltene bromierte Derivat wird durch Behandlung mit einer Mischung aus K-acetat/Essigsäure nach A. NUSSBAUM et al. (J. Am. Chem. Soc. (1960) 82, 2641) in eine Mischung aus 3β,7α(β)-Diacetoxypregn-5-en-20-on (3) überführt.

[0055] Die erhaltene Mischung wird in methanolischem K_2CO_3 3 Stunden unter Rückfluß verseift. Nach Extraktion der verseiften Steroide wird das 3β,7α-Dihydroxypregn-5-en-20-on (4) vom 3β,7β-Dihydroxypregn-5-en-20-on (5) durch präparative Chromatographie über mit Ethylacetat eluiertem Silicagel abgetrennt. Das 7β-Epimer eluiert als erstes vollkommen getrennt vom 7α-Steroid, das anschließend eluiert.

[0056] (4) wird aus Ethylacetat/n-Hexan auskristallisiert. Die Kristalle werden mittels magnetischer Kernresonanz untersucht (200 MHz), 0,55 (3H, s, Me-18), 0,99 (3H, s, Me-19), 2,13 (3H, s, Me-21), 3,62 (1H, m, H-3), 3,86 (1H, s, H-7), 5,62 (1H, d, H-6). Gaschromatographie des Ditrimethylsilyloxy-Derivats von (4) gekoppelt mit Massenspektrometrie liefert das erwartete Molekülion von 476 und das entsprechende Fragmentierungsmus-

ter.
[0057] (5) wird aus Ethylacetat/n-Hexan auskristallisiert. Die Kristalle werden mittels magnetischer Kernresonanz untersucht (200 MHz), 0,63 (3H, s, Me-18), 1,05 (3H, s, Me-19), 2,12 (3H, s, Me-21), 3,53 (1H, m, H-3), 3,83 (1H, d, H-7), 5,30 (1H, s, H-6). Gaschromatographie des Ditrimethylsilyloxy-Derivats von (5) gekoppelt mit Massenspektrometrie liefert das erwartete Molekülion von 476 und das entsprechende Fragmentierungsmuster.

Immunisierungsprotokoll:

[0058] Dieses erfolgt in gleicher Weise wie in Beispiel I.
[0059] Die Ergebnisse sind in den Zeilen 2 und 5 der Tabelle 1 angegeben.

– BEISPIEL III: Wirkung von Androst-5-en-3β,7α(β),17β-triol (7αOH-ADIOL und 7βOH-ADIOL):

[0060] Herstellung (Synthese) von Androst-5-en-3β,7α(β),17β-triol (7αOH-ADIOL und 7βOH-ADIOL):
Acetat von Dehydroepiandrosteron (DHEA) (1) (Sigma D-4500) wird in 7-Position mit einem CrO_3-Dimethylpyrazol-Komplex gemäß SALMOND et al. (J. Org. Chem. (1978) 43, 2057) oxidiert und in 3β-Acetoxyandrost-5-en-7,17-dion (2) überführt. Dieses Produkt ist identisch (Schmelzpunkt, Rf-chromatographisch, UV-Absorption, Massenspektrum) mit demjenigen, das als Referenz von J. JACQUES (College de France) zur Verfügung gestellt wurde.
[0061] (2) wird mit $NaBH_4$ in Methanol reduziert und in eine Mischung der 3β-Acetoxy-7α(β),17β-dihydroxyandrost-5-en-Epimeren (3) überführt. Nach Verseifen der Mischung (3) in KOH/Methanol werden nacheinander Androst-5-en-3β,7α,17β-triol (4) und Androst-5-en-3β, 7β, 17β-triol (5) erhalten und mittels Chromatographie über mit Ethylacetat eluiertem Silicagel vollständig aufgetrennt.
[0062] (4) und (5) werden aus Aceton/n-Hexan auskristallisiert. Die Kristalle von (4) haben einen Schmelzpunkt von 272–273°C, der dem von G. DEFAYE et al. (J. Steroid Biochem. (1978) 9, 331–336) beschriebenen entspricht, und sein Trimethylsilyloxy-Derivat zeigt nach mit Massenspektrometrie gekoppelter Gaschromatographie das erwartete Molekülion von 522 und das entsprechende Fragmentierungsmuster.
[0063] Die Kristalle von (5) haben einen Schmelzpunkt von 244–245°C, der dem von G. DEFAYE et al. (J. Steroid Biochem. (1978) 9, 331–336) beschriebenen entspricht, und sein Trimethylsilyloxy-Derivat zeigt nach mit Massenspektrometrie gekoppelter Gaschromatographie das erwartete Molekülion von 522 und das entsprechende Fragmentierungsmuster.

Immunisierungsprotokoll:

[0064] Eine Gruppe mit 5 Mäusen erhält eine Stunde vor der ersten Lysozyminjektion eine subkutane Injektion von 125 mg/kg 5-Androsten-3β,17β-diol (ADIOL) und zwei Gruppen mit 5 Mäusen werden gleichzeitig mit der ersten Lysozyminjektion mit 25 mg/kg 7α-Hydroxy-ADIOL oder 7β-Hydroxy-ADIOL behandelt.

Ergebnisse

[0065] Die Ergebnisse sind in den Zeilen 4, 8, und 9 der nachfolgenden Tabelle 1 angegeben.
[0066] Tabelle 1: Immunoenzymatische Bestimmung von Antilysozym-IgG im Serum von C57BL/6-Mäusen, die nach Behandlung mit Pregnenolon (PREG) oder DHEA oder Androst-5-en-3β, 17β-diol oder ihren 7-hydroxylierten Derivaten oder keinem Steroid gegen Lysozym immunisiert waren.
[0067] DHEA oder PREG oder ADIOL werden eine Stunde vor der ersten Lysozyminjektion unter die Haut injiziert. Die 7-hydroxylierten Derivate werden gleichzeitig mit der Lysozyminjektion verabreicht. Bei der immunoenzymatischen Bestimmung von Anti-Lysozym-IgG in den Verdünnungsreihen der Seren von jedem Tier wird Peroxidase-markierter Ziege-Anti-Maus-IgG auf Lysozym-behandelten Platten mit 96 Vertiefungen verwendet. Der Mittelwert der bei jeder Gruppe mit 5 Mäusen gemessenen optischen Dichten wird ebenso wie die Standardabweichung (SD) berechnet.

TABELLE 1

* Berechnet ausgehend von den Messungen der höchsten Serumverdünnungen.

Injiziertes Steroid Dosis	Optische Dichte ± SD in den Serumverdünnungen		
1/180 1/540			
1. Kontrollen (Null)	0,15±0,01	0,13±0,01	0,10±0,01
2. PREG (0,5 g/kg)	*4,67±1,21	1,83±0,48	0,56±0,15
3. DHEA (1,0 g/kg)	0,40±0,06	0,26±0,04	0,14±0,02
4. ADIOL (125 mg/kg)	0,26±0,09	0,37±0,06	0,22±0,03
5. 7 -Hydroxy-PREG (6,25 mg/kg)	*4,46±0,30	*2,20±0,14	0,77±0,05
6. 7α-Hydroxy-DHEA (6,25 mg/kg)	1,21±0,37	0,74±0,21	0,43±0,12
7. 7β-Hydroxy-DHEA (50,0 mg/kg)	0,46±0,06	0,31±0,04	0,13±0,01
8. 7α-Hydroxy-ADIOL (25,0 mg/kg)	0,15±0,02	0,14±0,01	0,11±0,01
9. 7β-Hydroxy-ADIOL (25,0 mg/kg)	0,18±0,06	0,18±0,02	0,12±0,01

[0068] PREG, DHEA und ADIOL erhöhen die Serumkonzentration von Anti-Lysozym-IgG, wenn diese Steroide wenigstens eine Stunde vor der Lysozyminjektion verabreicht werden. Die besten Reaktionen werden mit 0,5 g/kg PREG und mit 1 g/kg DHEA erhalten (Tabelle 1). Wenn diese Steroide gleichzeitig mit Lysozym injiziert werden, bleiben die IgG-Mengen identisch mit jenen, die bei den Kontrollen beobachtet werden.

[0069] Im Gegensatz dazu lösen die 7α-hydroxylierten Derivate von PREG und DHEA eine vermehrte IgG-Produktion aus, wenn sie gleichzeitig mit Lysozym verabreicht werden. Die geringste injizierte Menge (6,25 mg/kg) ist am wirksamsten (Tabelle 1). Die Injektion von 50 mg/kg 7β-Hydroxy-DHEA unter diesen Bedingungen liefert eine Reaktion, die mit der von 1 g/kg DHEA identisch ist, das eine Stunde vor der des Lysozyms verabreicht wurde (Tabelle 1). Die 7-hydroxylierten ADIOL-Derivate führen nur zu einer sehr schwachen Erhöhung von Anti-Lysozym-IgG im Serum (Tabelle 1).

[0070] Diese Ergebnisse bringen die Hydroxylierung der natürlichen Vorläufer der Steroidhormone im Gewebe mit dem Auslösen der Immunreaktion in Zusammenhang. Die Latenzzeit für die Wirkung von PREG oder von DHEA auf die Erhöhung von Anti-Lysozym-IgG beinhaltet die Umwandlung dieser Steroide in wirksame Metaboliten. Der Nachweis ihrer Hydroxylierung in 7α in den Hautgeweben und der der unmittelbaren Wirkung dieser 7α-hydroxylierten Derivate auf die vermehrte Produktion von Anti-Lysozym-IgG tragen zum Beweis bei. Die Untersuchung der Hydroxylierung von 3β-hydroxylierten Steroiden in verschiedenen Geweben bei mehreren Spezien (R. Morfin, S. Di Stefano, J. F. Charles und H. H. Floch (1977), Biochimie, 59, 637–644; J. T. Isaacs, I. R. Mc Dermott und D. S. Coffey (1979), Steroids, 33, 675–692; M. Warmer, P. Tollet, M. Strömstedt, K. Carlström und J. A. Gustafsson (1989), J. Endocrinol., 122, 341–349; Y. Akwa, R. Morfin, P. Kobel und E. E. Baulieu (1992), Biochem. J., 288, 959-964; R. Morfin, unveröffentlichte Ergebnisse bei Mäusen) hat bewiesen, daß die Hydroxylierung in 7 hauptsächlich in 7α, aber mit geringen Mengen in 7β ist. Es scheint auch, daß 7α-Hydroxy-DHEA viel wirksamer als sein 7β-Epimeres ist. Nichtsdestoweniger sind auch die 7β-Epimeren und die sie enthaltenden Zusammensetzungen als Teil der Erfindung anzusehen.

[0071] Diese Beispiele dienen der Veranschaulichung, sind jedoch nicht einschränkend, und zwar
- weder für die verwendete Dosis,
- noch für die Anwesenheit einer 5-6-Doppelbindung im Steroid,
- noch für die auf die IgG-Synthese beobachtete Wirkung.

[0072] Das 7α-hydroxylierte DHEA stellt einen natürlichen Metaboliten von DHEA dar, was die früheren mit DHEA beobachteten Schwierigkeiten erklären könnte. Tatsächlich lassen sich die DHEA-Mengen, die benötigt werden, um die von verschiedenen Autoren beobachteten physiologischen Wirkungen offenkundig zu machen

(The biological role of Dehydroepiandrosteron, Hrsg. M. Kalimi, W. Regelson, Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1990), und die Tatsache, daß eine Stimulatorwirkung für die Immunität eine der Injektion des Antigens vorausgehende Injektion erforderte, vielleicht a posteriori durch die Tatsache erklären, daß für die beobachteten Wirkungen von DHEA unbedingt eine vorherige Metabolisierung dieses Steroids erforderlich war.

II- Antiglucocorticoide Wirkung

[0073] Die antiglucocorticoide Wirkung dieser Moleküle wurde gemäß dem von P. Mohan und M. Cleary veröffentlichten Versuchsprotokoll für Rattenhepatozyten (Steroids, 57, 244-247 (1992)) durch Untersuchungen ihrer Kompetition mit radiomarkiertem Dexamethason betreffend seine nukleäre Retention in Zellen von Leber-, Cerebrum-, Milz- und Thymusgewebe bei C57BL/6-Mäusen nachgewiesen. Dieses Versuchsprotokoll ist selbst wiederum eine Anpassung des Verfahrens von D. Colvar et al . (Clin. Chem., 34, 363–369 (1988)).
[0074] Die folgenden Beispiele beschreiben die Erfindung ohne sie einzuschränken.
[0075] **Fig.** 1 stellt die antiglucocorticoide Wirkung verschiedener getesteter Derivate dar, die mittels Kompetition mit radioaktivem Dexamethason hinsichtlich ihrer Bindung in Rattenhepatozytenkernen bestimmt wurde.
[0076] Die isolierten Hepatozyten werden 1 Stunde bei Raumtemperatur mit zunehmenden Konzentrationen (2–80 nM) 3H-Dexamethason (DEX*) inkubiert. Die gleichen Inkubationen werden in Gegenwart eines 100fachen Überschusses (200–8000 nM) an nicht-radioaktivem Dexamethason (DEX*/DEX) oder an 7α-Hydroxy-DHEA (DEX*/7aDHEA) oder an 7α-Hydroxy-5DIOL (DEX*/7a5DIOL) oder an 6α-Hydroxy-ISOA (DEX*/6aIS0A) oder an 7α-Hydroxy-ISOA (DEX*/7aISOA) wiederholt. Anschließend werden die Hepatozytenkerne isoliert und gereinigt und die zurückgehaltene Radioaktivität, die dem DEX* entspricht, wird gemessen und in cpm/10 µg DNA ausgedrückt. Die Fläche unter der DEX*-Kurve entspricht einer Verdrängung gleich Null der Radioaktivität (Null). Die Fläche unter der DEX*/DEX-Kurve, die der Verdrängung der Radioaktivität durch das gleiche Molekül entspricht, wird willkürlich als 100 definiert. Die Flächen unter den mit den anderen Steroiden erhaltenen Kurven erlauben es, mittels Interpolation zwischen den Flächen Null und 100 die Verdrängungskoeffizienten für die nukleären Bindung von DEX* zu berechnen.
[0077] Die Tatsache, daß die getesteten Steroide, die sich als die wirksamsten erwiesen haben, natürliche Derivate der androgenen Steroidhormone sind, gilt für sämtliche der zahlreichen, im Verlauf der Behandlung mit den Assoziationen aus Glucocorticoiden und anabolen androgenen Steroiden beobachteten Wechselwirkungen (0. Linet, Progr. Drug Res., 14, 139–195 (1970)). Die infolge dieser Behandlungen beobachteten "antiglucocorticoiden" Wirkungen sind sehr variabel und lassen sich nun dadurch erklären, daß eine vorausgehenden Metabolisierung der verabreichten androgenen Steroide erforderlich ist, damit wirksame 7-hydroxylierte Derivate erzeugt werden.
[0078] Diese Feststellung führt dazu, daß man den bekannten synthetischen Steroidmolekülen ein Wirkung zugestehen muß, die der ihres natürlichen Verwandten ähnelt, wie dem 16-Brom-ISOA (A. Schwartz et al., Adv. Cancer Res., Academic Press, 51, 391–424 (1988); G. Gordon et al., Adv. Enzyme Regul., Pergamon Press, 26, 355–382 (1987)). Die mögliche Umwandlung eines solchen Steroids in ein besonders wirksames 6- oder 7-oxygeniertes Derivat bringt uns daher dazu, diese Derivate und die Zusammensetzungen, die sie enthalten, als Teil der Erfindung anzusehen.
[0079] Der genaue Mechanismus der Wechselwirkung der 6- und 7-oxygenierten Steroide mit dem Glucocorticoidrezeptor-DNA-Komplex ist nicht genau geklärt; dennoch kann die in jedem der angegebenen Beispiele beobachtete antiglucocorticoide Wirkung als eine nicht-einschränkende Veranschaulichung der verwendbaren Derivate im Rahemen einer der obigen Formeln I oder II betrachtet werden. Diese Beispiele schränken auch weder die Dosis, noch die angewandte Verabreichungsweise, noch die aus ihrer Verwendung resultierende therapeutische Wirkung ein.

– BEISPIEL IV: AntiglucocortiCOide Wirkung von 7α-Hydroxy-DHEA und 7β-Hydroxy-DHEA:

Herstellung (Synthese) von 7α- und 7β-Hydroxy-DHEA:

[0080] Diese erfolgt wie in Beispiel I.

Test auf antiglucocorticoide Wirkung:

[0081] C57BL/6-Mäuse im Alter von 7 bis 12 Wochen werden 24 Stunden und 12 Stunden vor Tötung der Tiere mit Metyrapon (25 mg/kg) behandelt, so daß ihr natürlicher Glucocorticoidspiegel gesenkt wird und die zelluläre Konzentration von Glucocorticoid-spezifischen Rezeptoren steigt (R. Rupprecht et al., J. Neuroendocr., 2, 803–806 (1990)). Die Mäuse werden mit Ether betäubt und ausgeblutet und dann intracardial mit physiologischem Serum, das Collagenase B (0,03 g/100 ml) enthält, 10 Minuten infundiert. Leber, Hirn, Milz und Thymus werden entnommen und die Zellen von jedem Organ werden mit dem beschriebenen Verfahren wie-

dergewonnen (P. Mohan und M. Cleary, Steroids, 57, 244–247 (1992)). Die erhaltenen Zellmengen werden auf Basis der Messung der in den Präparaten enthaltenen DNA bestimmt. Die Zellen werden 1 Stunde bei Raumtemperatur in Gegenwart von zunehmenden Mengen von tritiummarkiertem Dexamethason (2 nM bis 80 nM) inkubiert, dem eine 100fach höhere Menge nicht radiaktives Dexamethason oder kein Dexamethason oder eine der zu testenden Verbindungen zugegeben wurde.

[0082] Die Kerne werden wiedergewonnen und ihr Gehalt an Radioaktivität wie bei den weiter oben zitierten Autoren beschrieben gemessen.

[0083] Die entsprechenden Ergebnisse sind in einer Kurve aufgetragen (**Fig.** 1), wo die pro 10 µg zellulärer DNA gemessene Radioaktivität als Funktion der Molarität von inkubiertem tritiummarkiertem Dexamethason ausgedrückt ist. Es wird die erwartete Verdrängung von tritiummarkiertem Dexamethason durch nicht-radioaktives Dexamethason beobachtet. Die Fläche unter der Kurve von tritiummarkiertem Dexamethason allein wird bestimmt und als Null definiert. Die Fläche unter der Kurve von tritiummarkiertem Dexamethason, das mit einem 100fachen Überschuß an nicht-radioaktivem Dexamethason versetzt war, wird bestimmt und als 100 definiert. Die Fläche unter der Kurve eines jeden der nicht-radioaktiven Steroide, die durch individuelle Zugabe in einer 100fach höheren Menge als der des tritiummarkierten Dexamethasons getestet wurden, wird bestimmt und ihr Verdrängungskoeffizient für tritiummarkiertes, in den Kernen gebundenes Dexamethason wird durch Interpolation auf Basis des Nullwerts und des Werts 100 berechnet.

[0084] Die für jedes der vier Organe mit 7α-Hydroxy-DHEA und 7β-Hydroxy-DHEA erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 2 in den Zeilen 1 und 2 gezeigt. Die Verdrängung von tritiummarkiertem Dexamethason, die sie in den Kernen bewirken, beweist ihre antiglucocorticoide Wirkung, wobei 7α-Hydroxy-DHEA wirksamer als das 7β-Epimere ist.

– BEISPIEL V: Antiglucocorticoide Wirkung von 7α-Hydroxy-PREG und 7β-Hydroxy-PREG:

Herstellung (Synthese) von 7α- und 7β-Hydroxy-PREG:

[0085] Die Herstellung ist identisch mit der in Beispiel I beschriebenen.

Test auf antiglucocorticoide Wirkung:

[0086] Dieser erfolgt in gleicher Weise wie in Beispiel IV.

[0087] Die Ergebnisse sind in den Zeilen 3 und 4 von Tabelle 2 angegeben. Die Verdrängung von tritiummarkiertem Dexamethason, die sie in den Kernen bewirken, beweist ihre antiglucocorticoide Wirkung.

– BEISPIEL VI: Wirkung von 5-Androsten-3β,7α(β),17β-Triolen (7α-Hydroxy-5DIOL und 7β-Hydroxy-5DIOL):

Herstellung (Synthese) von 7α-Hydroxy-5DIOL und 7β-Hydroxy-5DIOL:

[0088] Die Herstellung ist identisch mit der in Beispiel I beschriebenen.

Test auf antiglucocorticoide Wirkung:

[0089] Dieser erfolgt in gleicher Weise wie in Beispiel IV.

[0090] Lediglich 7α-Hydroxy-5DIOL wird auf den Hepatozytenkernen getestet. Die Ergebnisse sind in Zeile 5 von Tabelle 2 angegeben. Die Verdrängung von in den Hepatozytenkernen gebundenem tritiummarkiertem Dexamethason durch 7α-Hydroxy-5DIOL beweist seine antiglucocorticoide Wirkung.

– BEISPIEL VII: Wirkung der 6- und 7-oxygenierten Derivate von 3β-hydroxylierten und 5α-reduzierten Steroiden:

[0091] Herstellung (Synthese) von 3β-Hydroxy-5α-androstan-7,17-dion (7-Oxo-ISOA), 3β, 6α-Dihydroxy-5α-androstan-17-on (6α-Hydroxy-ISOA) 3β 7α-Dihydroxy-5α-androstan-l7-on (7α-Hydroxy-ISOA) 3β 7β-Dihydroxy-5α-androstan-l7-on (7β-Hydroxy-ISOA) 5α-Androstan-3β, 7α, 17β-triol (7α-Hydroxy-ADIOL) und 5α-Androstan-3β, 7β, 17β-triol (7β-Hydroxy-ADIOL):

[0092] Die Synthese, die Identifizierung und die Bestimmung der chromatographischen Eigenschaften dieser Steroide erfolgten nach unseren Vorschriften und wurden im einzelnen veröffentlicht (A. Kerebel, R. Morfin, F. Berthou et al., J. Chromatogr., 140, 229–244 (1977)).

[0093] Zwei weitere Steroide sind im Handel erhältlich: 3β-Hydroxy-5-pregnen-7,20-dion (7-Oxo-PREG) (Steraloids Inc., Q5400) und 3β-Hydroxy-5-androsten-7,17-dion (7-Oxo-DHEA) (Steraloids Inc., A8320).

Tests auf antialucocorticoide Wirkung:

[0094] Diese wurden mit diesen Molekülen in gleicher Weise wie in Beispiel I durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in den Zeilen 6, 7, 8, 9, 10, 11 und 12 von Tabelle 2 angegeben, wobei sich die Derivate von ISOA und ADIOL alle als sehr wirksam erwiesen.

Legende von Tabelle 2

[0095] Die folgenden mit 1 bis 13 bezeichneten Steroide sind:

1. 7α-Hydroxy-DHEA (7α-OH-DHEA), 2. 7β-Hydroxy-DHEA (7β-OH-DHEA), 3. 7α-Hydroxy-PREG (7α-OH-PREG), 4. 7β-Hydroxy-PREG (7β-OH-PREG), 5. 7α-Hydroxy-5DIOL (7α-OH-5DIOL), 6. 7α-Hydroxy-ISOA (7α-OH-ISOA), 7. 7β-Hydroxy-ISOA (7β-OH-ISOA), 8. 7α-Hydroxy-ADIOL (7α-OH-ADIOL), 9. 6α-Hydroxy-ISOA (6α-OH-ISOA), 10. 7-Oxo-PREG, 11. 7-Oxo-DHEA, 12. 7-Oxo-ISOA, 13 Dexamethason (Dex).

[0096] Die Verdrängung der nukleären Bindung von tritiummarkiertem Dexamethason durch eine 100fach höhere Konzentration von jedem dieser Steroide wird wie in **Fig.** 1 angegeben gemessen. Die Abwesenheit von Kompetitorsteroid wird als Null definiert und die Gegenwart von nicht-radioaktivem Dexamethason wird als 100 definiert. Die Verdrängungskoeffizienten, die jedes der anderen Steroide zur Folge hat, werden auf dieser Basis berechnet, wobei jedes Ergebnis den Mittelwert von drei Versuchen darstellt.

Tabelle 2

Getestetes Steroid	Leber	Hirn	Thymus	Milz
1. 7α-OH-DHEA	95	49	85	91
2. 7β-OH-DHEA	80	65	-	-
3. 7α-OH-PREG	34	38	94	81
4. 7β-OH-PREG	82	-	-	-
5. 7α-OH-5DIOL	88	-	-	-
6. 7α-OH-ISOA	102	-	-	-
7. 7β-OH-ISOA	68	-	-	-
8. 7α-OH-ADIOL	83	96	96	125
9. 6α-OH-ISOA	63	-	-	-
10. 7-Oxo-PREG	35	-	-	-
11. 7-Oxo-DHEA	28	-	-	-
12. 7-Oxo-ISOA	84	-	-	-
DEX	100	100	100	100

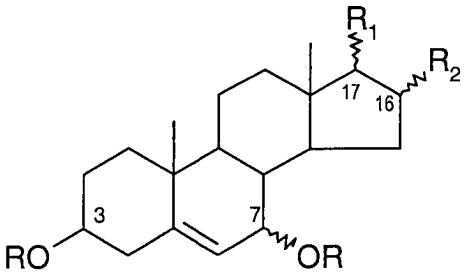
[0097] Die oben dargestellten Ergebnisse zeigen, daß die 7-hydroxylierten Derivate von DHEA, ISOA und 5-DIOL tritiummarkiertes Dexamethason wirsam aus seiner nukleären Bindung verdrängen. Die Verdrängung mit den anderen Steroiden ist signifikant, aber weniger ausgeprägt. Die Tatsache, daß diese Ergebnisse auf die mit äquivalenten Mengen von nicht-radioaktivem Dexamethason erhaltene Verdrängung bezogen sind, und unsere frühere Beobachtung (Französische Patentanmeldung Nr. 92.12548), die eine Immunaktivatorwirkung der gleichen Steroide bei Mäusen zeigt, die die Hemmung der bekannten Immunsuppressorwirkung der Glucocorticoide mit sich bringt, führen zu dem Vorschlag, die getesteten Steroide in einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur antiglucocorticoiden Behandlung zu verwenden.

[0098] Dexamethason ist ein synthetisches Steroid, das schlecht metabolisiert wird (H. Siebe et al., Renal Physiol. Biochem., 16, 79–88 (1993)) und das eine Affinität für den Zytosolrezeptor für die Glucocorticoide besitzt, die höher ist als die der natürlichen Glucocorticoide wie von Corticosteron oder Cortisol. Die Tatsache, daß die Bindung des Komplexes Dexamethason-Zytosolrezeptor an die nukleären Erkennungsstellen durch

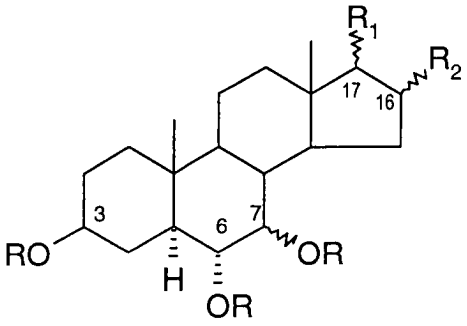
die getesteten Steroide vermindert wird, bestätigt die Möglichkeit einer anitglucocorticoiden Wirkung. Im übrigen deuten unsere Arbeiten (hier nicht angegeben) darauf hin, daß es keine zytosolischen oder nukleären Rezeptoren gibt, die für 7α-Hydroxy-DHEA spezifisch sind, aber seine Wirkung, die dazu führt, daß die Immunprozesse aktiviert werden, kann als im wesentlichen antiglucocorticoid betrachtet werden.

Patentansprüche

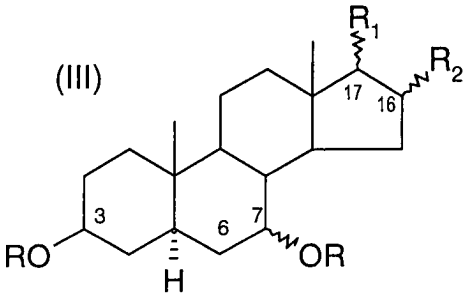
1. Verwendung einer Verbindung der nachfolgenden Formeln I, II, III oder IV

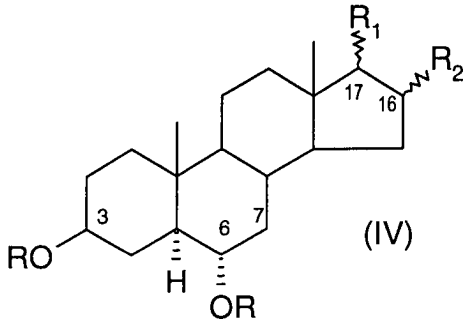


(I)



(II)





(IV)

und in welchen:
R = -H oder eine Esterfunktion mit 1 bis 100 Kohlenstoffatomen,
R_1 = $-H_2$ oder =O (Keton),
oder β-CO-R_3,
oder β-CHOH-R_3,
oder β-OH,
wobei R_3 eine Alkylgruppe mit 1 bis 10 Kohlenstoffatomen, vorzugsweise Methyl ist, substituiert oder unsubstituiert,
R_2 = $-H_2$ oder ein Halogen oder ein Carbonitrilrest,
wobei sich die Reste an 6, 7 und 16 in α- oder β- Stellung befinden können, und in welchen gegebenenfalls der Substituent für die Wasserstoffatome in Position 7 ein Keton sein kann, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von mit Glucocorticoiden assoziierten Pathologien und von unerwünschten Nebenwirkungen, die auf Glucocorticoide zurückzuführen sind, wobei diese Pathologien und Ne-

benwirkungen ausgewählt sind aus der Gruppe, die besteht aus:
– Cushing Syndrom,
– Nebennierentumoren,
– diabetogenen und lipidogenen Wirkungen von Glucocorticoiden,
– Muskelatrophie und Schwäche,
– Geschwüren des Verdauungstrakts,
– Osteoporose,
– Knochenbrüchigkeit,
– Katarakt,
– Wachstumsverminderung von Kindern,
– Insomnien,
– depressiven Zuständen,
– Dysmenorrhöen, wobei die Verbindungen I, II, III und IV in der Zusammensetzung vereint mit einem pharmazeutisch verträglichen Trägerstoff vorliegen.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R = H.

3. Verwendung gemäß Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß $R_2 = H_2$.

4. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R_1 = β-CO-CH3.

5. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung III 7α-Hydroxy-iso-androsteron ist.

6. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von pathologischen Manifestationen des Cushing Syndroms oder der Nebennierentumoren.

7. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von diabetogenen und lipidogenen Wirkungen, die auf Glucocorticoide zurückzuführen sind.

8. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von durch Glucocorticoide ausgelöster Muskelatrophie und Schwäche.

9. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von Geschwüren des Verdauungstrakts, ausgelöst durch die Verwendung von oder durch ein Übermaß an Glucocorticoiden.

10. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von Osteoporose und Knochenbrüchigkeit als Folge der Wirkung natürlicher oder synthetischer Glucocorticoide.

11. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von Katarakt als Folge der Wirkung natürlicher oder synthetischer Glucocorticoide.

12. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung der Wachstumsverminderung bei mit Glucocorticoiden behandelten Kindern.

13. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der Ansprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von Insomnien und depressiven Zuständen als Folge der Wirkung natürlicher oder synthetischer Glucocorticoide.

14. Verwendung einer Verbindung gemäß Formel I, II, III oder IV, wie definiert in wenigstens einem der An-

sprüche 1 bis 5, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Vorbeugung von Dysmenorrhöen als Folge der Wirkung von Glucocorticoiden.

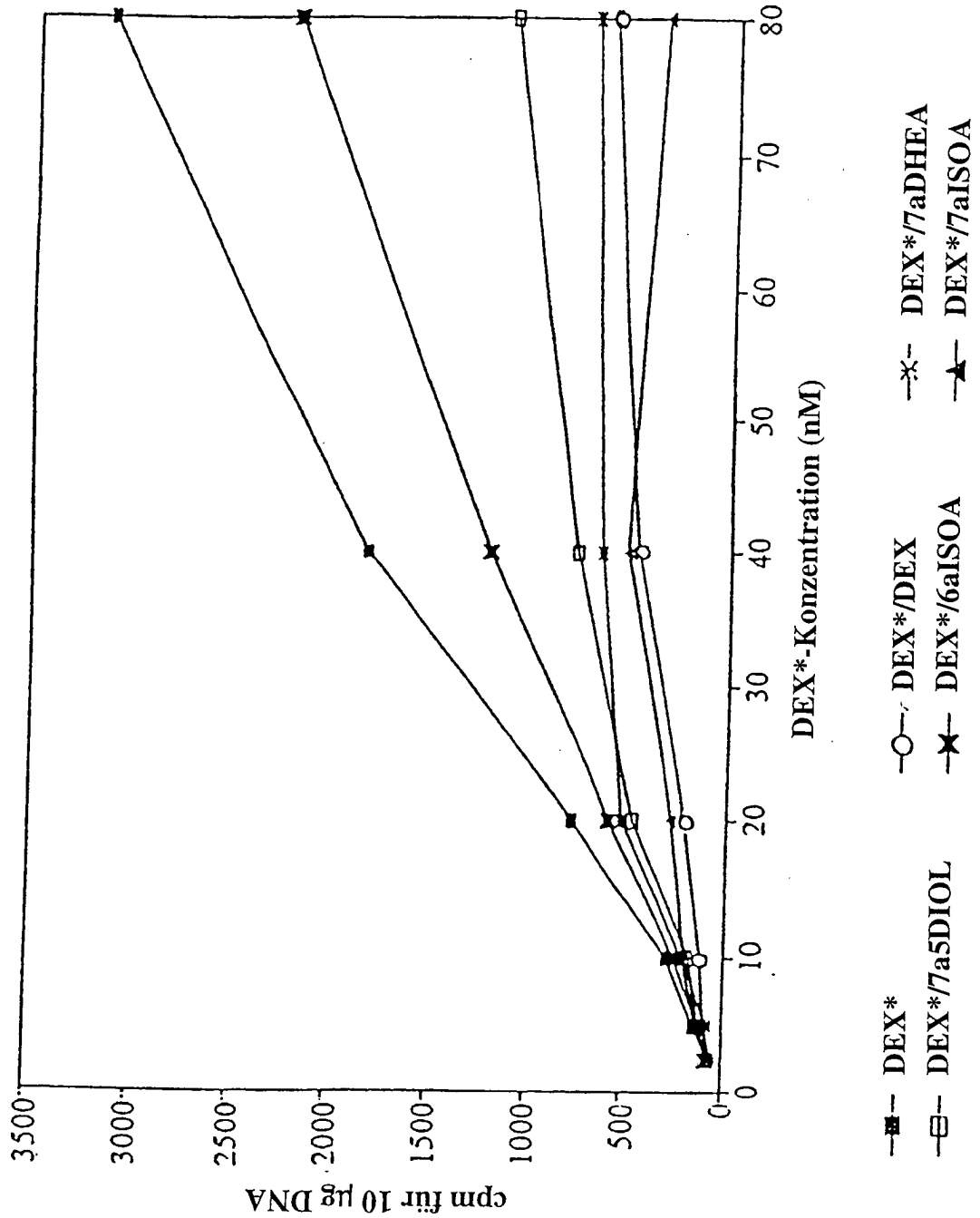
15. Verwendung gemäß den Ansprüchen 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung und der pharmazeutische Trägerstoff in einer galenischen Form vereint sind, die eine perorale, perkutane oder topische Verabreichung erlaubt.

16. Verwendung gemäß den Ansprüchen 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung derart dosiert ist, daß sie bei Säugern eine Verabreichung von 1 bis 100 Milligramm der Verbindung pro kg erlaubt.

17. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung in Assoziation mit einer anderen Verbindung verwendet wird.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen



Figur 1