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

(10) **DE 694 34 149 T2** 2006.07.20

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 688 220 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **694 34 149.5**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US94/02558**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **94 911 522.4**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1994/020111**
(86) PCT-Anmeldetag: **08.03.1994**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **15.09.1994**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **27.12.1995**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **24.11.2004**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **20.07.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 31/56*** (2006.01)
A61K 31/5685 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
29422 **09.03.1993** **US**

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

(73) Patentinhaber:
University of Utah Research Foundation, Salt Lake City, Utah, US

(72) Erfinder:
DAYNES, A., Raymond, Park City, US; ARANEO, A., Barbara, Salt Lake City, US

(74) Vertreter:
Vossius & Partner, 81675 München

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON DHEA ODER DESSEN DERIVATE ZUR HERSTELLUNG EINES MEDIKAMENTS ZUR VORBEUGUNG VON PROGRESSIVER GEWEBE-NEKROSE, REPERFUSIONSSCHÄDIGUNG, BAKTERIELLER TRANSLOKATION UND VOM ATEMNOTSYNDROM BEI ERWACHSENEN**

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 neue Anwendungen von Dehydroepiandrosteron (DHEA) oder DHEA-Derivaten der in Anspruch 1 definierten Formel zur Herstellung eines Arzneimittels für therapeutische Behandlungen gemäß den beigefügten Ansprüchen.

[0002] Solche therapeutische Behandlungen umfassen die Verhinderung oder Milderung der Folgen einer Ischämie. Die Ischämie kann mit einer Verletzung einhergehen, beispielsweise infolge eines Infarkts, einer thermischen Verbrennung (Brandwunden), eines chirurgischen Traumas, eines Unfalltraumas und ähnlichem. Die Ischämie kann auch vor einer Reperfusionsverletzung aufgetreten sein. Die Behandlungen umfassen auch die Verhinderung oder Reduzierung einer Translokation und des Atemnotsyndroms des Erwachsenen.

[0003] In „Immune response facilitation and resistance to virus and bacterial infections with DHEA", 1990, Walter de Gruyter, Berlin, New York, erwähnt R.M. Loria et al., dass DHEA durch Streptococcus faecalis hervorgerufene bakterielle Infektionen hemmen kann.

[0004] Zur besseren Übersicht sind die Veröffentlichungen und andere Materialien, die hier verwendet wurden, um den Hintergrund der Erfindung zu beleuchten, und insbesondere die Fälle, die angegeben wurden, um zusätzliche praxisbezogene Einzelheiten zu liefern, im folgenden Text mit Bezugszeichen versehen und in der beiliegenden Bibliographie entsprechend aufgelistet worden.

[0005] Es hat sich herausgestellt, dass die Aufrechterhaltung der vaskulären Integrität eine wichtige Antwort auf eine Verletzung darstellt. Es gibt komplexe hämostatische Gerinnungsmechanismen, die Plättchenfunktion und die Fibrinolyse, welche dazu dienen, die negativen Folgen einer Gefäßverletzung zu minimieren und die Heilung der Gefäßverletzung zu beschleunigen. Vaskuläre Endothel- und Glattmuskelzellen halten die Thromboresistenz der Gefäßwand dadurch aufrecht, dass sie mehrere antithrombotische Eigenschaften aufweisen. Sind Gefäßzellen gestört oder verletzt, so zeigen sie thrombogene Eigenschaften. Die hämostatischen Eigenschaften normaler und gestörter Gefäßzellen wurden von Rodgers (1) in einem Review zusammengefasst.

[0006] Ischämie wird definiert als eine Störung in der Versorgung von Gewebe mit sauerstoffhaltigem Blut. Es ist bekannt, dass die Folgen einer Ischämie fortschreitenden Charakter haben, so dass mit der Zeit die Zellvitalität weiter abnimmt und das Gewebe nekrotisch wird. Eine totale, andauernde Ischämie mit eingeschränkter Sauerstoffversorgung des Gewebes hat den Zelltod und schließlich, trotz Reperfusion mit arteriellem Blut, eine Gerinnungsnekrose zur Folge. Eine Ischämie ist wahrscheinlich die wichtigste Ursache einer Gerinnungsnekrose beim Menschen. Es konnte vielfach bewiesen werden, dass ein bedeutender Prozentsatz der mit einer Ischämie einhergehenden Verletzungen die Folge von Ereignissen im Zusammenhang mit der Reperfusion von ischämischem Gewebe ist, daher der Begriff Reperfusionsverletzung. Klinisch gesehen gibt es je nach Dauer der Ischämie drei verschiedene Stufen einer Zellverletzung:

(1) Bei einer kurzen Ischämie wird die strukturelle und funktionelle Integrität der Zelle durch Reperfusion (und Wiederversorgung mit Sauerstoff) vollständig wieder hergestellt. Jede Verletzung der Zelle, in welchem Grad auch immer, ist nach einer Wiederversorgung mit Sauerstoff vollständig reversibel. Beispielsweise sind Veränderungen des Zellmembranpotentials, des Stoffwechsels und der Ultrastruktur von kurzer Dauer, wenn das Blut schnell wieder zum Fließen gebracht wird. (2) Bei einer länger andauernden Ischämie geht die Reperfusion nicht mit der Wiederherstellung der Zellstruktur und -funktion einher, sondern eher mit Zellverfall und Zelltod. In diesem Fall ist die Antwort auf die Wiederversorgung mit Sauerstoff eine rasche und starke Entzündung. (3) Bei noch länger anhaltender Ischämie kann sich eine tödliche Zellverletzung entwickeln, wobei in diesem Fall die Reperfusion keine Rolle spielt.

[0007] Die Reversibilität der Zellverletzung als Folge einer Ischämie wird nicht nur durch die Art und Dauer der Verletzung, sondern auch durch die Zielzelle bestimmt. Neurone zeigen eine sehr hohe Empfindlichkeit gegenüber einer Ischämie, während das Gewebe des Myokards, der Lungen, der Leber und der Nieren eine mittlere Empfindlichkeit aufweist. Fibroblasten, Epidermis und Skelettmuskeln sind am wenigsten empfindlich gegenüber einer ischämischen Läsion, da sie erst nach mehreren Stunden ohne Blutversorgung einen irreversiblen Schaden entwickeln.

[0008] Aufgrund der Nähe des Endothels zu zirkulierenden Leukozyten ist dieses ein wichtiges, frühzeitiges Ziel für die Adhäsion der Neutrophilen und die darauffolgende Schädigung von Gefäß- und Parenchymgewebe. Die Interaktion von aktivierten Endothelzellen und von Neutrophilen ist ein unmittelbares, frühzeitiges und notwendiges Ereignis bei der Ischämie/Reperfusionsverletzung (2, 3). Die adhäsiven Eigenschaften des Endothels werden durch das Einfließen von sauerstoffreichem Blut rasch induziert. Die Endothelzellen werden

durch den Sauerstoff aktiviert und produzieren mehrere Produkte, unter anderem Leukotrien B4 (LTB4), den plättchenaktivierenden Faktor (PAF) und P-Selektin. Leukotrien B4 ist ein starker neutrophil-chemotaktischer Wirkstoff (4, 5). Nach der Aktivierung der Endothelzellen wird P-Selektin rasch von den intrazellulären Organellen zur Plasmamembran transportiert, wo es die zirkulierenden Neutrophilen zu deren Aktivierung durch endothelgebundenen PAF (den plättchenaktivierenden Faktor), vom Endothel stammende Zytokine und andere biologisch aktive Vermittler bindet und stabilisiert (6). So ist die physiologische Interaktion zwischen dem aktivierten Endothel und den aktivierten Neutrophilen bekannt als ein kritisches und unmittelbares frühzeitiges Ereignis bei der Reperfusionsverletzung von Organen und Gewebe. Andere zelluläre und biochemische Mediatoren einer Entzündungsläsion wie zum Beispiel Plättchen, die Komplementkaskade und das Gerinnungssystem sind zwar auch wichtig, kommen jedoch erst viel später in der Kaskade, in einem Gerinnungsnekrose genannten Prozess, zum Tragen. Schließlich sind Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten und Glattmuskel-Zellinfiltration für den Wiederaufbau und das Ersetzen von nekrotischem Gewebe durch neues, vitales Gewebe, einen Vorgang, den man Wundheilung nennt, zuständig.

[0009] Eine weitverbreitete Theorie ist, dass teilweise reduzierte, und so aktivierte, Sauerstoffspezies bei der Initiierung der Membranschädigung im Falle einer Reperfusionsverletzung eine Rolle spielen. Es hat sich gezeigt, dass bei einer ischämischen Episode aktivierter Sauerstoff (Superoxid, Peroxid, Hydroxylradikale) gebildet wird, und dass reaktive Sauerstoffspezies eine Läsion der ischämischen Zellen verursachen. Die toxischen Sauerstoffspezies entstehen nicht während der eigentlichen ischämischen Episode, sondern vielmehr dann, wenn der Blutfluss wieder hergestellt ist, oder bei einer Reperfusion. Zwei Quellen von aktivierten Sauerstoffspezies wurden mit frühzeitigen Ereignissen bei einer Reperfusionsverletzung in Zusammenhang gebracht, nämlich diejenigen, die intrazellulär über den Xanthinoxidaseweg produziert werden, und solche, die durch aktivierte Neutrophile in die extrazelluläre Umgebung gebracht werden können (2, 3, 7-9).

[0010] Bei dem Xanthinoxidase-abhängigen Weg liefern Purine, die aus dem während der ischämischen Episode erfolgenden ATP-Abbau stammen, Substrate für die Aktivität der Xanthinoxidase, welche Sauerstoff bei der Katalyse der Bildung von Harnsäure benötigt. Aktivierte Sauerstoffspezies sind Nebenprodukte dieser Reaktion. Die aus dem Xanthinoxidaseweg stammenden Sauerstoffradikalarten sind O_2^- (Superoxid mit einem Elektron) und H_2O_2 (Wasserstoffperoxid mit zwei ungepaarten Elektronen). Superoxide werden im Zytosol mittels der (im Zytosol befindlichen) Xanthinoxidase erzeugt. Dann werden die Superoxide in den Mitochondrien durch die Superoxiddismutase zu Peroxiden abgebaut. Die Peroxide werden weiter entweder durch Glutathionperoxidase im Zytosol oder durch Katalase in den Peroxisomen in Wasser umgewandelt. Sowohl die Glutathionperoxidase als auch die Katalase bilden den antioxidativen Abwehrmechanismus der meisten Zellen. Den besten Beweis für diese Hypothese liefert Allopurinol, ein Xanthinoxidase-Hemmer, mit seiner Fähigkeit, in experimentellen Modellen eine Reperfusionsverletzung zu verhindern.

[0011] Bei dem NADPH-abhängigen Weg wird die NADPH-Oxidase aktiviert, um durch Reduktion von molekularem Sauerstoff an der Plasmamembran Superoxide zu erzeugen. Die Superoxide werden mittels Superoxiddismutase an der Plasmamembran oder in den Phagolysosomen zu Wasserstoffperoxid reduziert. Schließlich können Wasserstoffperoxide in den Phagolysosomen in Gegenwart von Superoxiden oder von zweiwertigem Eisen zu Hydroxylradikalen reduziert werden. Eine dritte Form eines Sauerstoffmetaboliten wird durch die Myeloperoxidase in Gegenwart von Chlor vermittelt, wobei Wasserstoffperoxid zu hypochloriger Säure reduziert wird.

[0012] Das Hydroxylradikal ist eine extrem reaktive Spezies. Mitochondrienmembranen bieten eine Anzahl geeigneter Substrate für den Angriff durch OH^--Radikale. Das Endergebnis ist die irreversible Schädigung der Mitochondrien, die noch durch einen massiven Einstrom von Ca^{2+}-Ionen verstärkt wird. Eine weitere mögliche Ursache von Zelltod aufgrund von Hydroxylradikalen ist die Phospholipidperoxidation in der Plasmamembran. Ungesättigte Fettsäuren sind höchstanfällige Angriffsziele für Hydroxylradikale. Durch Entfernen eines Wasserstoffatoms aus den Fettsäuren der Phospholipide der Zellmembran wird ein freies Lipidradikal gebildet. Diese Lipidradikale verhalten sich wie Hydroxylradikale und bilden weitere Lipidperoxidradikale. Die Zerstörung von ungesättigten Fettsäuren der Phospholipide führt zu einem Verlust an Membranfluidität und zum Zelltod. Manche Forscher sind der Überzeugung, dass oxidativer Stress in verschiedenen Zelltypen den programmierten Zelltod verursacht.

[0013] Infarkte und traumatische Verletzungen können in vielen Geweben auftreten, auch im Gefäßgewebe. Eine Antwort auf eine traumatische Verletzung besteht darin, die Blutzufuhr zum verletzten Gewebe zu unterbinden. Ziel dieser Antwort ist unter anderem, den Patienten vor dem Eindringen von infektiösen Agenzien in den Körper zu schützen. Die starke Drosselung der Blutzufuhr ist ein wesentlicher Faktor, der zu einer fortschreitenden Ischämie im Bereich der traumatischen Verletzung führt. Bei einer fortschreitenden Ischämie

dehnt sich die Gewebenekrose über das direkt betroffene Gewebe auf das umgebende gesunde Gewebe aus. Diese fortschreitende Ischämie spielt eine wichtige Rolle bei der Definition der letztendlichen, beim Menschen infolge einer traumatischen Verletzung beobachteten Gewebepathologie. Siehe zum Beispiel Robson et al. (10).

[0014] Eine vielbeachtete Form der traumatischen Verletzung ist die thermische Verletzung bzw. Brandwunden. Eine Brandwunde stellt eine ungleichmäßige Verletzung dar, deren Spektrum sich von einem vollständig koagulierten Gewebe zum Zeitpunkt der Verletzung bis hin zu einem nur minimal beschädigten Gewebe erstreckt. Zwischen diesen beiden Extremen findet sich Gewebe, das schwer beschädigt, aber nicht unmittelbar zerstört ist, das aber dennoch absterben wird. Die Ursache einer sich zunehmend in die Tiefe ausdehnenden Nekrose ist eine Stase und eine Thrombose im Blutfluss der Hautgefäße, wodurch es zu einer Ischämie und zur Zerstörung von epithelialen Elementen kommt. Diese Ischämie entsteht 24-48 Stunden nach der thermischen Verletzung (10, 11). Es wurden nach einer thermischen Verletzung viele Folgen beobachtet, unter anderem die Adhäsion von Leukozyten an Gefäßwände, die Agglutination von roten Blutkörperchen und die Freisetzung vasoaktiver und Nekrose auslösender Substanzen (11).

[0015] Es wurde festgestellt, dass die mikrovaskuläre Okklusion und die Ischämie, die mit einer Brandwunde einhergehen, durch eine zeitabhängige Zunahme der Mikrothrombenbildung im Bereich der Stase verursacht werden, wobei dieser Zustand schließlich zu einem vollständigen Verschluss der Arteriolen und zu einem mikrozirkulatorischen Stillstand führt. Während die Margination von Erythrozyten, Granulozyten und Plättchen an der Wand der Venulen innerhalb der ersten Stunden nach einer thermischen Verletzung zu beobachten ist, wird die Bildung von Plättchen-Mikrothromben (die etwa 24 Stunden nach einem chirurgischen Eingriff erfolgt) für die Schaffung von Bedingungen verantwortlich gemacht, die zu einer kompletten und dauerhaften Gefäßokklusion und zu einer Gewebezerstörung führen (12, 13). Die Bildung von Plättchen-Mikrothromben scheint die zelluläre Grundlage für die Ausdehnung der Zone der kompletten Okklusion und der ischämischen Nekrose in den Bereich der Stase nach einer thermischen Verletzung zu schaffen.

[0016] Es wurden viele Anstrengungen unternommen, die Behandlung von Brandwunden und anderen traumatischen Verletzungen zu verbessern, und viele Ansätze gehen in die Richtung, die mit solchen Läsionen einhergehende fortschreitende Ischämie zu hemmen. Es hat sich herausgestellt, dass die entzündungshemmenden Mittel Indomethacin, Acetylsalicylsäure und Methylprednisonacetat die Hautperfusion aufrechterhalten (10). Drei Thromboxan-Hemmer, Imidazol, Methimazol und Dipyridamol zeigten sich in der Lage, vaskuläre Veränderungen in der Brandwunde zu verhindern, die Hautperfusion und eine andere Prostaglandinsynthese zu ermöglichen, wodurch nachteilige Auswirkungen der entzündungshemmenden Mittel umgangen werden können (11). Es hat sich herausgestellt, dass therapeutische Dosen von Ibuprofen und Imidazol den Verschluss der Hautgefäße dadurch verhindern, dass sie als Plasminhemmer-Antagonist wirken (14). Der Abbau von zirkulierendem Fibrinogen, der durch Verabreichung von Ancrod (ein aus der Grubenviper gewonnenes Gift) erzielt wurde, führte dazu, dass die Gefäßfunktion am Läsionsort aufrechterhalten werden konnte (15). Es hat sich ebenfalls herausgestellt, dass die Hemmung der Leukozytenadhäsion an das Endothel, die durch die Verwendung von monoklonalen Antikörpern erzielt wurde, die Ausdehnung bzw. das Fortschreiten der Brandwunde auf bzw. in die Randzone der Stase verhindert (16).

[0017] Unter bakterieller Translokation wird der Vorgang verstanden, bei dem die einheimische Darmflora die Darmschranke überwindet und in steriles Gewebe eindringt. Dieser Vorgang umfasst auch die Migration der mikrobiellen Organismen in die dränierenden Lymphknoten des Mesenteriums, die Milz, die Leber, das Blut und, in manchen Fällen, die Lunge (17, 18). Dieses Phänomen wurde beim Menschen nach einer thermischen Verletzung (19-21) und einer Ischämie-Reperfusionsverletzung (22) dokumentiert.

[0018] Unter normalen Bedingungen ist die Darmschleimhaut für potentiell schädliche Stoffe aus dem Darmlumen undurchlässig (17, 22, 23). Gegenwärtige Befunde bekräftigen die Auffassung, dass eine Unterbrechung in der Integrität/Permeabilität der Schleimhaut die bakterielle Translokation fördert, da Stressbelastung, welche eine durch Zellschädigung und nekrotisches Gewebe gekennzeichnete Antwort des Wirts hervorruft, mit der Entstehung einer bakteriellen Translokation einhergeht (23). Die klinisch bedeutenden Auswirkungen einer bakteriellen Translokation sind Sepsis und multiples Organversagen (22-24). Die Inzidenz einer Sepsis und der disseminierte Befall von Organen nach einer Stressbelastung sind am wahrscheinlichsten bei Patienten, die auch eine beeinträchtigte Immunabwehr aufweisen (22, 23), wie dies bei thermisch geschädigten Verletzten beobachtet werden konnte. (24, 25). So reagieren manche Patienten auf Stressbelastung mit einer bakteriellen Translokation ohne schwerwiegende Folgen. Die Patienten in dieser Kategorie haben noch eine intakte Immunabwehr (22-24). Aufgrund der wohlbekannten Modulation der Immunabwehr des Wirtes nach schweren Verbrennungen ist die bakterielle Translokation eine der schwerstwiegenden Folgen einer thermischen

Verletzung beim Menschen (24, 25).

[0019] In experimentellen Modellen einer bakteriellen Translokation wurde festgestellt, dass es nach einer thermischen Verletzung bis zu 24 Stunden dauert, bis es zu einer irreversiblen Schädigung der Darmzellen kommt, und erst nach 48 Stunden histologische Veränderungen im Gefäßgewebe des Darms sichtbar werden (21, 26). Diese Versuchssysteme haben sich bei der Bestimmung der pharmakologischen Vermittler, die anscheinend eine Kaskade von für die Gewebenekrose verantwortlichen Effektormolekülen bilden, als nützlich erwiesen. Zusätzlich zu den Katecholaminen, den sauerstofffreien Radikalen und dem Endotoxin spielen auch Faktoren wie Interferon-alpha, Interleukin-6, der Tumornekrosefaktor, der plättchenaktivierende Faktor und viele der vasoaktiven Fettsäuren aus dem Arachidonsäurestoffwechsel eine Rolle (17). Dass sauerstofffreie Radikale, Endotoxin, Prostaglandine und Thromboxane die Gewebezerstörung fördern, wurde durch die Beweisführung bestätigt, dass bakterielle Translokation und Schleimhautläsionen durch Verwendung von Allopurinol (27) (ein Xanthinoxidase-Hemmer), durch Desensibilisierung gegenüber dem Endotoxin (28), durch Prostaglandinanaloge (29) und durch Thromboxansynthetase-Inhibitoren (30) gehemmt werden konnten.

[0020] Das Beweismaterial, das den Neutrophilen bei dem Atemnotsyndrom des Erwachsenen (ARDS) eine Rolle zuweist, ist wesentlich, aber indirekt (31). Erste Hinweise darauf, dass Neutrophile ein ARDS-ähnliches Bild hervorrufen können, wurden bei schwer neutropenischen Patienten, die intravenös mit Neutrophilen von Spendern infundiert wurden, gefunden. In manchen Fällen kam es innerhalb von Stunden nach der Infusion der Neutrophilen zu einem plötzlichen "Weißwerden" der Lungen (auf dem Röntgenbild) und zu einem Auftreten von ARDS-Symptomen. Zahlreichen Studien haben gezeigt, dass es bei ARDS zu einer Ansammlung von Neutrophilen in der Lunge kommt. Deren Anwesenheit wurde beispielsweise histologisch belegt. In den frühen Stadien von ARDS nimmt die Zahl der zirkulierenden Vollblutzellen vorübergehend ab, wahrscheinlich aufgrund ihrer ungewöhnlichen Sequestrierung in der Lunge. Manche Neutrophile, die sich in den Lungenkapillaren ansammeln, verlassen den Gefäßraum und wandern in das Interstitium und in die Lufträume in den Alveolen. Bei gesunden Freiwilligen machen die Neutrophilen weniger als 3% der Zellen aus, die in einer bronchoalveolaren Lavage (BAL) nachgewiesen werden können. Bei ARDS-Patienten ist der Prozentsatz der Neutrophilen in der Lavage deutlich erhöht und liegt bei 76 bis 85 o. Die Ansammlung von Neutrophilen ist, ein Beweis ihrer Aktivierung. Sie zeigen eine verbesserte Chemotaxis und erzeugen nach einer In-vitro-Stimulation ungewöhnlich hohe Pegel an Sauerstoffmetaboliten. Im Plasma von ARDS-Patienten wurden erhöhte Konzentrationen an Sekretionsprodukten von Neutrophilen, wie z.B. Laktoferrin, festgestellt. Einen weiteren Beweis dafür, dass Neutrophile bei einer Lungenläsion eine aktive Rolle spielen, lieferte eine klinische Studie an Patienten mit einer leichten Lungenläsion, die aus einem. anderen Grund (z.B. weil sie mit Chemotherapie behandelt wurden) neutropenisch waren. Es wurde festgestellt, dass die Lungenschädigung sich oftmals verschlimmerte, wenn der hämatologische Zustand des Patienten sich verbesserte und die zirkulierenden Neutrophilen wieder normale Werte erreichten.

[0021] Obwohl die Beweisführung, die den Neutrophilen eine Rolle in der Entstehung von ARDS beim Menschen zuweist, noch großteils indirekt ist, sind die Befunde, welche die Bedeutung der Neutrophilen bei einer akuten Lungenläsion in verschiedenen Tiermodellen belegen, überzeugend. Der allgemeine Ansatz, der dazu verwendet wurde, die Neutrophilen-Unabhängigkeit zu belegen, bestand darin, im Tier die zirkulierenden Neutrophilen zu depletieren und die daraufhin erfolgende Abnahme der Lungenläsion zu messen. Obwohl eine Reihe von experimentellen Modellen verwendet wurde, um den Zusammenhang zwischen den Neutrophilen und einer Lungenläsion zu studieren, werden hier aus Platzgründen nur wenige ausgewählte besprochen.

[0022] Ein eingehend untersuchtes Modell ist die Verabreichung von Endotoxin an Schafe. Wird Endotoxin intravenös Schafen infundiert, so hat dies eine komplexe Reihe von Ereignissen zur Folge, wobei eines davon die erhöhte Permeabilität des Kapillarendothels der Lunge ist. Dies zeigt sich durch einen erhöhten Fluss der Lungenlymphe, die eine höhere Proteinkonzentration als sonst aufweist. Diese Veränderungen sind ein Zeichen für eine reduzierte Fähigkeit des Kapillarendothels, das Plasmaprotein, im Gefäßraum zu halten. Der Zusammenhang zwischen den Neutrophilen und einer Permeabilitätsverletzung stand dann fest, als sich herausstellte, dass die Schafe durch eine vor der Endotoxininfusion vorgenommene Depletion der Neutrophilen geschützt wurden. Ein weiteres In-vivo-Modell einer akuten Lungenläsion umfasst die intravenöse Infusion von Cobra-Venom-Faktor in Ratten, wodurch es zu einer Komplementaktivierung und anschließend zu einer Leukozytenaggregation und einer Sequestration von Neutrophilen im Mikrogefäßsystem der Lunge kommt. Es kommt zu einer Schädigung der Alveolarwand, die zu einem interstitiellen und intraalveolären Ödem mit Hämorrhagie und Fibrinablagerung führt. Wiederum verhinderte die Neutrophilen-Depletion eine Zunahme der Durchlässigkeit der Lungenkapillaren.

[0023] Isolierte, perfundierte Kaninchen- oder Rattenlungen wurden auch dazu verwendet, die Mechanismen

einer Verletzung der Alveolen unter Bedingungen zu studieren, die eine verbesserte Steuerung der den Flüssigkeitsfluss beeinflussenden Variablen ermöglichen. Wurden dem Perfusat Neutrophile beigegeben und dann stimuliert, trat Albumin aus dem Gefäßraum in das Lungeninterstitium und in die alveolären Lufträume aus. Unstimulierte Neutrophile oder der Stimulus allein (z.B. Phorbol-Myristat-Acetat) konnten die Permeabilität der alveolären Kapillaren nicht erhöhen.

[0024] Einen weiteren Beweis dafür, dass stimulierte Neutrophile unabhängig zu einer Läsion des Lungengewebes führen können, lieferten In-vitro-Versuche, in denen vaskuläre Endothelzellen und Epithelzellen der Lunge als Zielzellen verwendet wurden. Manchen Berichten zufolge lösten die Neutrophilen Endothelzellen oder alveoläre Epithelzellen von der Oberfläche der Gewebekulturschale. Es ist naheliegend, dass, sollte sich dies in vivo ereignen, die entblößten Oberflächen wesentlich durchlässiger für Plasmabestandteile sein würden. Außerdem haben viele Berichte klare Beweise dafür geliefert, dass stimulierte Neutrophile in der Lage sind, die Lyse kultivierter vaskulärer Endothelzellen und alveolärer Epithelzellen zu fördern.

[0025] DHEA ist ein körpereigenes androgenes Steroid, das erwiesenermaßen zahlreiche biologische Funktionen erfüllt. Araneo et al. (32) hat aufgezeigt, dass die Verabreichung von DHEA an Mäuse, die eine Brandverletzung aufwiesen, innerhalb von einer Stunde nach der Verletzung zu einem Aufrechterhalten der normalen Immunkompetenz führte, wobei diese die normale Fähigkeit, aus den T-Zellen stammende Lymphokine zu erzeugen, die Erzeugung einer zellulären Immunantwort und die Fähigkeit, einer induzierten Infektion zu widerstehen, umfasst. Eich et al. (33, 34) beschreibt die Verwendung von DHEA zur Verringerung der Geschwindigkeit der Plättchenaggregation bzw. die Verwendung von DHEA oder von DHEA-Sulfat (DHEA-S) zur Verringerung der Produktion von Thromboxan.

[0026] Nestler et al. (35) zeigt, dass an Menschen verabreichtes DHEA zu einer Verringerung der Körperfettmasse, einem Aufbau der Muskelmasse, zu verminderten LDL-Cholesterinwerten ohne negative Auswirkungen auf die HDL-Cholesterinwerte, zu geringeren Serum-Apolipoprotein-B-Werten führte und die Gewebeempfindlichkeit gegenüber Insulin nicht beeinträchtigte. Kent (36) bezeichnete DHEA als das „Wundermittel", das Fettsucht, Altern, Diabetes mellitus und Herzkrankheit zu verhindern vermag. Viele Jahre lang war es weitverbreitet, DHEA als Arzneimittelbehandlung zu verschreiben. Vor kurzem hat jedoch die Food and Drug Administration (die amerikanische Gesundheitsbehörde) seine Anwendung eingeschränkt. DHEA und sein Sulfatester DHEA-S- sind mittels intrazellulärer Sulfatasen und Sulfotransferasen leicht wechselseitig ineinander umwandelbar.

[0027] Trotz der oben aufgeführten Entdeckungen hinsichtlich der Auswirkungen verschiedener Verbindungen auf Brandwunden ist es notwendig, zusätzliche Verbindungen zu identifizieren, welche in der Lage sind, eine aufgrund einer Ischämie entstehende Reperfusionsverletzung und die Folgen einer mit einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung einhergehenden Ischämie zu verringern oder zu verhindern, sowie Verbindungen zu identifizieren, die in der Lage sind, eine bakterielle Translokation und ARDS zu verhindern oder zu reduzieren. Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, das Fortschreiten einer Gewebenekrose zu verhindern oder zu hemmen, eine Reperfusionsverletzung zu verhindern oder zu verringern, die bakterielle Translokation zu verhindern oder zu reduzieren und ARDS zu verhindern oder zu mildern.

KURZDARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0028] Gemäß den beigefügten Ansprüchen werden DHEA oder DHEA-Derivate der Formel (I) zur Herstellung eines Arzneimittels verwendet, das eine Reperfusionsverletzung infolge einer Ischämie, eine mit einer ischämischen Episode wie z.B, einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung einhergehende Zellschädigung verhindern oder reduzieren und so die darauffolgende, mit einer solchen Ischämie einhergehende fortschreitende Gewebenekrose verhindern oder reduzieren soll. Diese Wirkungen werden durch Verabreichung des DHEA oder der DHEA-Derivate an den Patienten erzielt. In ähnlicher Weise werden die bakterielle Translokation und ARDS bei einem Patienten durch die Verabreichung von DHEA oder DHEA-Derivaten verhindert oder reduziert. Geeignete Derivate von DHEA umfassen unter anderem 16α-Brom-DHEA, Androstendiol und Derivate, die an den Positionen 2', 4', 6' oder 7' Seitenketten nach der Formel (I) aufweisen. Solche Seitenketten zerstören nicht die eigentliche Aktivität von DHEA, sind aber in der Lage, die Sulfotransferase zu hemmen, so dass das DHEA nicht in DHEA-S umgesetzt wird. Überraschenderweise hat sich DHEA-S als unfähig erwiesen, eine Ischämie zu verhindern oder zu reduzieren.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0029] Fig. 1 zeigt die Ergebnisse einer Untersuchung im Zusammenhang mit der Bildung eines Ödems

(Schwellung am Ohr) und seiner Zurückbildung an eine Brandwunde aufweisenden Ohren von Kontrollmäusen und von mit DHEA behandelten Mäusen.

[0030] Fig. 2 zeigt die Ergebnisse einer Untersuchung im Zusammenhang mit der Bildung eines Ödems (Schwellung am Ohr) und seiner Zurückbildung an eine Brandwunde aufweisenden Ohren von Kontrollmäusen und von Mäusen, die mit DHEA, Androstendiol, 16α-Brom-DHEA oder mit dem bekannten Antiglukokortikoid RU486 behandelt wurden.

[0031] Fig. 3A zeigt die Fähigkeit von DHEA, Schutz vor den meisten Auswirkungen einer fortschreitenden Ischämie bei einer thermischen Verletzung des Ohrs zu bieten.

[0032] Fig. 3B zeigt die Fähigkeit von Androstendiol, Schutz vor den meisten Auswirkungen einer fortschreitenden Ischämie bei einer thermischen Verletzung des Ohrs zu bieten.

[0033] Fig. 3C zeigt die Fähigkeit von 16α-Brom-DHEA, Schutz vor den meisten Auswirkungen einer fortschreitenden Ischämie bei einer thermischen Verletzung des Ohrs zu bieten.

[0034] Fig. 3D zeigt die Auswirkungen einer fortschreitenden Ischämie bei einer thermischen Verletzung des Ohrs, wenn nur das Vehikel verabreicht wird.

[0035] Fig. 3E zeigt die Auswirkungen einer fortschreitenden Ischämie bei einer thermischen Verletzung des Ohrs, wenn Androstendiol allein verabreicht wird.

[0036] Fig. 3F zeigt die Auswirkungen einer fortschreitenden Ischämie bei einer thermischen Verletzung des Ohrs, wenn RU486 allein verabreicht wird.

[0037] Fig. 4 zeigt die Auswirkungen einer Behandlung mit DHEA auf die fortschreitende Ischämie, wenn dieses innerhalb von 0 bis 6 Stunden nach der' thermischen Verletzung verabreicht wird.

[0038] Fig. 5A zeigt die Anzahl der durchgängigen Kapillaren in der Nähe einer postkapillären Venule in Zone 1 bei einer Reperfusionsverletzung.

[0039] Fig. 5B zeigt die Anzahl der durchgängigen Kapillaren in der Nähe einer postkapillären Venule in Zone 2 bei einer Reperfusionsverletzung.

[0040] Fig. 5C zeigt die Anzahl der durchgängigen Kapillaren in der Nähe einer postkapillären Venule in Zone 3 bei einer Reperfusionsverletzung.

[0041] Fig. 6A zeigt die Anzahl der Leukozyten, die in einem Zeitraum von zwei Minuten durch das Lumen der postkapillären Venulen rollen.

[0042] Fig. 6B zeigt die Anzahl der Leukozyten, die in einem Zeitraum von zwei Minuten am Lumen der postkapillären Venulen adhärieren oder anhaften.

[0043] Fig. 6C zeigt die Anzahl der Leukozyten, die in einem Zeitraum von zwei Minuten das Endothel passieren.

[0044] Fig. 7A zeigt die Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen im venösen Blut nach der Reperfusion.

[0045] Fig. 7B zeigt die Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen im arteriellen Blut nach der Reperfusion.

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

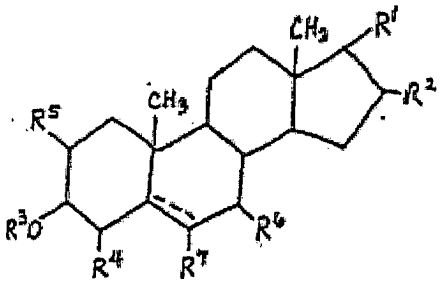
[0046] Das erfindungsgemäß hergestellte Arzneimittel dient der Verhinderung oder Reduzierung einer Reperfusionsverletzung infolge einer Ischämie und einer mit einer ischämischen Episode, beispielsweise einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung, einhergehenden Zellschädigung. Ein Beispiel für einen Infarkt ist ein Myokardinfarkt. Als Beispiele für eine traumatische Verletzung seien die thermische Verletzung, der chirurgische Eingriff, Verätzungen, das stumpfe Trauma oder Lazerationen und ähnliches genannt. Indem die Reperfusionsverletzung infolge einer Ischämie und die mit einer ischämischen Episode einhergehende Zellschädigung verhindert oder reduziert werden, wird auch die darauffolgende, mit solch einem Infarkt oder Verletzung

einhergehende fortschreitende Gewebenekrose verhindert oder reduziert. Erfindungsgemäß wird die mit einer ischämischen Episode wie z.B. einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung einhergehende Reperfusionsverletzung oder Zellschädigung, dadurch verhindert oder reduziert, dass DHEA oder DHEA-Derivate der Formel (I) so früh wie möglich, vorzugsweise innerhalb von, vier Stunden, besonders bevorzugt innerhalb von zwei Stunden, nach der Ischämie, dem Infarkt oder der traumatischen Verletzung einem Patienten verabreicht werden.

[0047] Die bakterielle Translokation wird bei einem Patienten dadurch verhindert oder reduziert, dass das DHEA oder die DHEA-Derivate wie oben beschrieben verabreicht werden. Das DHEA oder DHEA-Derivat wird innerhalb von 24 Stunden nach einer Verletzung, bei der die bakterielle Translokation eine der Folgeerscheinungen darstellt, verabreicht.

[0048] ARDS wird bei einem Patienten dadurch verhindert oder reduziert, dass das DHEA oder die DHEA-Derivate wie oben beschrieben verabreicht werden. Das DHEA oder DHEA-Derivat wird vor dem Auftreten der klinischen Symptome von ARDS primär Patienten mit hohem Risiko für ARDS verabreicht.

[0049] DHEA und geeignete DHEA-Derivate werden durch die folgende Formel I wiedergegeben:



(I)

wobei
R^1 =0 oder OH ist;
R^2 H, CH_3, OH oder Halogen ist, wenn R^1 =O ist, und R^2 H ist, wenn R^1 OH ist;
R^3 H, eine Fettsäure, C_{1-10}-Alkyl, C_{1-10}-Alkenyl, C_{1-10}-Ace tylen, $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkylen, $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkenylen oder -CO-R^8 ist;
R^4 und/oder R^5 H, OH oder Halogen ist;
R^6 H oder OH ist;
R^7 H ist, wenn die gestrichelte Linie eine Doppelbindung ist, =O oder H und Halogen ist, wenn die gestrichelte Linie eine Einfachbindung ist;
R^8 H, eine Fettsäure, C_{1-10}-Alkyl, C_{1-10}-Alkenyl, C_{1-10}-Acetylen, $(X)_n$-phenyl-C^{1-5}-alkylen oder $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkenylen ist;
X gleich oder verschieden ist und Halogen, C_{1-4}-Alkyl, C_{1-4}-Alkenyl, C_{1-4}-Alkoxy, Carboxy, Nitro, Sulfat, Sulfo, ein C_{1-6}-Carboxylester oder ein C_{1-6}-Sulfatester ist; und
n 0, 1, 2 oder 3 ist.

[0050] Geeignete Halogene sind beispielsweise Br, Cl; F und I. Bevorzugte Substituenten für R^4, R^5 oder R^6 sind OH und Br. Andere geeignete Substituenten können auf einfache Weise identifiziert werden, indem (a) das DHEA-Derivat im hier beschriebenen Brandwundenmodell verabreicht und seine antiischämische Wirkung festgestellt wird und indem (b) die Menge an sulfatiertem Derivat bestimmt wird.

[0051] Es ist bekannt, das eine Reperfusionsverletzung, Infarkte und traumatische Verletzungen, wie zum Beispiel Myokardinfarkte, Verbrennungen, größere chirurgische Eingriffe, Verätzungen, stumpfe Traumata, Lazerationen und so weiter, zu einer Läsion führen können, bei der die Gewebenekrose sich über das unmittelbar betroffene Gewebe hinaus auf das umgebende gesunde Gewebe ausdehnt. Diese Ischämie spielt eine wichtige Rolle bei der Definition der letztendlichen, beim Menschen infolge einer traumatischen Verletzung beobachteten Gewebepathologie (10). Es ist ebenfalls bekannt, dass eine Folge der thermischen Verletzung die bakterielle Translokation ist. Die thermische Verletzung, d.h. die Verbrennung, ist die bestuntersuchte traumatische Verletzung, bei der eine fortschreitende Ischämie auftritt.

[0052] Der Verlust an lebensfähigen Hautzellen durch eine fortschreitende ischämische Nekrose macht einen großen Anteil des Hautverlusts aus, welcher nach einer Brandverletzung eine Hauttransplantation notwendig macht (37). Eine Anzahl von Tiermodellen wurde entwickelt, welche viele Aspekte klinischer Verbrennungen sehr gut nachstellen. Beispielsweise erscheinen, nach dem Verursachen einer experimentellen Verbrühungs-

verletzung über die volle Tiefe, bei der > 20% der Gesamtkörperoberfläche von Nagetieren betroffen sind (z.B. Einwirkung von 72°C heißem Wasser für 7 Sekunden), die unmittelbaren Auswirkungen der Brandverletzung auf das Gewebe relativ gemäßigt im Vergleich zu der ausgedehnten Schädigung des betroffenen und umgebenden Hautgewebes, die sich in den darauffolgenden 24 bis 72 Stunden entwickelt. Somit wurde sowohl bei klinischen als auch bei experimentellen Verbrennungen beobachtet, dass sich die Gesamtmenge der Haut, die durch eine schwere thermische Verletzung zerstört wird, aus der Summe der unmittelbaren, direkten Gewebezerstörung und der latenten Schädigung der Epidermis, der Dermis und der enthaltenen Hautstrukturen der betroffenen und umgebenden Hautgebiete errechnet.

[0053] Anfängliche Untersuchungen, die das Modell der thermischen Verletzung der Rückenhaut bei Nagetieren verwendeten, haben zu dramatischen Ergebnissen geführt. Es hat sich herausgestellt, dass bei verbrühten Mäusen, die innerhalb einer Stunde nach der thermischen Verletzung mit dem schwach androgenen Steroidhormon Dehydroepiandrosteron (DHEA) behandelt wurden, die Wunden sich in einer Weise entwickelten und heilten, die ziemlich verschieden war von der von unbehandelten oder mit Placebo behandelten thermisch verletzten Kontrollen. 3 bis 4 Tage nach der thermischen Verletzung wiesen alle verletzten Kontrolltiere eine Verbrennung dritten und vierten Grades in der großen Mehrheit des Hautgewebes am Verletzungsort auf. Praktisch kommt es schließlich aufgrund einer fortschreitenden ischämischen Nekrose zu einem Verlust der gesamten Haut in dem betroffenen Gebiet. Der Umfang der Gewebeschädigung bei diesen Tieren geht mit einem umfangreichen Verlust an Hautstrukturen (Haarfollikeln, Blutgefäßen, Neuronen und Talgdrüsen), einer Fibroblasteninfiltration, einer ausgedehnten Wundkontraktion und der Bildung von zahlreichen fibrösen Verklebungen unter dem betroffenen Hautgebiet einher. Es wurde beobachtet, dass die mit DHEA behandelten Tiere (etwa 2 mg/kg/Tag nach einer anfänglichen Aufsättigungsdosis von 4 mg/Tag) jedoch ein deutlich geringeres Krankheitsbild entwickelten, wobei es erwiesenermaßen zu einer viel geringeren fortschreitenden Schädigung der Dermis, Subdermis und der damit verbundenen Hautstrukturen kam. Während es sowohl bei den eine Brandwunde aufweisenden Kontrollen als auch bei den mit DHEA behandelten verletzten Mäusegruppen zu einer Reepithelialisation kam, zeigten mit DHEA behandelte Mäuse eine weitaus geringere Wundkontraktion mit deutlich weniger Ausbildung fibröser Verklebungen unterhalb der Wundstelle.

[0054] Mit dem Modell der Rückenhautverletzung wurde deutliche bewiesen, dass eine Behandlung mit DHEA einen sehr positiven Einfluss auf die Wundprogression ausübt. Diese Befunde sind ein Hinweis darauf, dass die Behandlung von thermisch verletzten Tieren mit DHEA die Wundheilung aufgrund der grundlegenden Fähigkeit desselben, eine Ischämie zu verhindern, beeinflussen kann. Daher wurde das erstmals von Boykin et al. (13) und Eriksson et al. (38) beschriebene Verfahren modifiziert, um eine kinetische Auswertung und Quantifizierung einer fortschreitenden Hautischämie im unmittelbaren und in den späteren Stadien von thermisch verletzten Mäuseohren zu ermöglichen. Die in diesen Studien verwendete Technik vereinfachte die strenge und sequentielle Überwachung des zeitabhängigen Fortschreitens der Gewebeschädigung und der ischämischen Nekrose bei Mäuseohren, die eine Verbrühung mit heißem Wasser (52°C 24 Sekunden lang) erlitten, und wurde so zu einem anerkannten Tiermodell zur Untersuchung einer fortschreitenden Ischämie in verbranntem Gewebe.

[0055] Das Mäuseohr besteht aus zwei Hautschichten, aus Knorpel, wenigen Muskelzellen und aus Bindegewebe. Das Gefäßsystem des Ohrs ist gut organisiert und umfasst Arteriolen, präkapilläre Arteriolen, postkapilläre Venulen und Venulen. Unter Verwendung eines Geräts, das es ermöglicht, der Gesamtoberfläche des Mäuseohrs eine kontrollierte thermische Verletzung zuzufügen, berichten die Forscher von einer unmittelbaren Veränderung im Blutfluss. Präzise morphologische Studien über die hämodynamischen Veränderungen nach einer Verbrennung an einem Mäuseohr ergaben drei verschiedene Zonen, die leicht durch den Grad ihrer Verletzung voneinander unterschieden werden können. Diese Zonen umfassen die Zone der totalen kapillären Okklusion, die Zone der partiellen Okklusion (Stase) und die Zone der kapillären Hyperämie (13). Eine Stunde nach der Verletzung ist das Gebiet der totalen kapillären Okklusion auf den distalen Rand des Mäuseohrs beschränkt. Proximal zu diesem äußersten und unmittelbar empfindlichen Gebiet liegt die Zone der partiellen Okklusion oder Stase. Dieses größte Gebiet des Ohrgewebes ist es, das in den 24 bis 72 Stunden nach der thermischen Verletzung fortschreitend ischämisch und schließlich nekrotisch wird. Schließlich ist das proximalste Gebiet des betroffenen Ohrs die Zone, in der die Hyperämie auftritt. Dieses Gebiet ist von einer fortschreitenden Ischämie nach der Verbrennung kaum betroffen.

[0056] Es hat sich herausgestellt, dass die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge an DHEA oder DHEA-Derivat der Formel I in einer physiologisch akzeptablen Trägersubstanz an einen Patienten so frühzeitig wie möglich, vorzugsweise innerhalb von vier Stunden nach einer Reperfusionsverletzung, einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung, zu einer Verhinderung oder Reduzierung der mit einer Reperfusionsverletzung, einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung einhergehenden Ischämie führt. Durch die

Verhinderung oder Reduktion der Ischämie wird die darauffolgende, mit ihr einhergehende Gewebenekrose ebenfalls verhindert oder reduziert. Wie das Beispiel zeigt, wird die Ischämie dadurch reduziert, dass die Adhärenz der Neutrophilen an die Endothelzellen heruntergesetzt wird. Da die Adhärenz der Neutrophilen heruntergesetzt ist, werden diese nicht aktiviert und produzieren auch keine zu einer Plättchenaggregation führenden Zellfaktoren. Das DHEA oder DHEA-Derivat der Formel I wird besonders bevorzugt innerhalb von zwei Stunden, nachdem der Patient eine Reperfusion, einen Infarkt oder eine traumatische Verletzung erfahren hat, verabreicht. Das DHEA oder DHEA-Derivat der Formel I wird dem Patienten in Esterform oder in einer anderen pharmazeutisch akzeptablen Form und in Bindemitteln, Elixieren oder anderen pharmazeutisch akzeptablen Mischungen oder mit anderen pharmazeutisch akzeptablen Trägersubstanzen verabreicht.

[0057] Pharmazeutische Zusammensetzungen, welche eine Verbindung der Formel I als Wirkstoff in inniger Mischung mit einer pharmazeutischen Trägersubstanz enthalten, können nach herkömmlichen pharmazeutischen Mischungstechniken hergestellt werden. Die Trägersubstanz kann je nach der Form der Zubereitung, die zur Verabreichung, z.B. intravenös, oral oder parenteral, gewünscht wird, vielfältige Formen annehmen. Bei der Herstellung von Zusammensetzungen in oraler Dosierungsform können beliebige herkömmliche pharmazeutische Mittel verwendet werden, wie zum Beispiel Wasser, Glykole, Öle, Alkohole, Geschmacksverbesserer, Konservierungsstoffe, Farbstoffe und ähnliches, wenn es sich um orale flüssige Präparate handelt (wie zum Beispiel Suspensionen, Elixiere und Lösungen); oder Trägersubstanzen wie Stärken, Zuckerarten, Verdünnungsmittel, Granulierungsmittel, Gleitmittel, Bindemittel, Zerfallhilfsmittel und ähnliches, wenn es sich um orale feste Präparate (wie zum Beispiel Pulver, Kapseln und Tabletten) handelt. Falls erwünscht, können die Tabletten mittels Standardtechniken mit einem Überzug aus Zucker oder mit einem magensaftresistenten Überzug versehen werden. Für die parenterale Darreichungsform wird die Trägersubstanz gewöhnlich steriles Wasser umfassen, wobei auch andere Stoffe, beispielsweise solche zur Förderung der Löslichkeit oder zur Konservierung, enthalten sein können. Injizierbare Suspensionen können auch hergestellt werden, wobei in diesem Falle geeignete flüssige Trägerstoffe, Suspensionsmittel und ähnliches verwendet werden können.

[0058] Die Dosierung des DHEA oder DHEA-Derivats der Formel I sollte auf wohlbekannten, pharmazeutisch akzeptablen Grundsätzen beruhen, z.B. 1 bis 200 mg/kg, vorzugsweise 2 bis 50 mg/kg des Wirkstoffs. Die Dosis kann täglich oder jeden zweiten Tag verabreicht werden, und die angemessene Tagesdosis kann in einer Einzeldosis oder in mehreren Dosen eingenommen werden. Bei ungeschützten Verbindungen, d.h. solchen, die durch die menschlichen Sulfotransferasen oder Sulfatasen sulfatiert werden können, wird bevorzugt eine Überdosierung gewählt, um sicherzugehen, dass genügend Wirkstoff verabreicht wird, besonders wenn die Sulfatasen am Ort der Gewebeverletzung nicht aktiv sind. Ungeschützte Verbindungen werden vorzugsweise täglich verabreicht, während geschützte Verbindungen täglich oder jeden zweiten Tag gegeben werden können. Der Patient wird mit dem DHEA oder DHEA-Derivat der Formel I für 3 bis 30 Tage, vorzugsweise 7 bis 14 Tage nach dem Infarkt oder der traumatischen Verletzung behandelt.

[0059] Für Patienten mit einem hohen Myokardinfarktrisiko oder mit Risiko für eine Reperfusionsverletzung kann die mit einem solchen Infarkt oder einer solchen Reperfusionsverletzung einhergehende fortschreitende Ischämie verhindert oder reduziert werden, indem die Verabreichung des DHEA oder DHEA-Derivats der Formel I vor, gleichzeitig mit und/oder nach dem Infarkt oder der Reperfusionsverletzung in den oben beschriebenen Dosierungen erfolgt. Die Behandlung nach einem Myokardinfarkt entspricht den oben aufgeführten Ausführungen. Das DHEA oder DHEA-Derivat kann einem Patienten verabreicht werden, der die klassischen Zeichen eines unmittelbar bevorstehenden Myokardinfarktes aufweist, und zwar auf die gleiche Weise, wie sie oben für die Behandlung nach einem solchen Infarkt beschrieben wurde.

[0060] Bei Patienten mit einem Risiko für eine bakterielle Translokation wird diese verhindert oder reduziert, indem das DHEA oder DHEA-Derivat der Formel I wie oben beschrieben in den oben beschriebenen Dosierungen verabreicht wird. Die Behandlung zur Verhinderung oder Reduzierung einer bakteriellen Translokation sollte so lange fortgesetzt werden, bis der Patient kein Risiko für eine bakterielle Translokation mehr aufweist.

[0061] Eine Verabreichung von DHEA oder DHEA-Derivat der Formel I frühzeitig nach einer Reperfusionsverletzung, einem Infarkt oder einer traumatischen Verletzung zur Verhinderung oder Reduzierung einer Zellschädigung hat sich als ausschlaggebend erwiesen. Erfolgt die Verabreichung dieser Verbindungen zu spät, so okkludieren die Blutgefäße (zunächst aufgrund von an den Endothelzellen adhärierenden Neutrophilen), wobei, in diesem Stadium verabreicht, diese Verbindungen nicht mehr in der Lage sind, die Ischämie zu verhindern oder zu reduzieren. Der Zeitrahmen, innerhalb dessen mit der Verabreichung begonnen werden sollte, hängt von der Art der Reperfusionsverletzung, des Infarkts oder der traumatischen Verletzung ab und kann anhand von geeigneten Tiermodellen auf einfache Weise bestimmt werden. Vorzugsweise jedoch wird mit der Verabreichung von DHEA oder DHEA-Derivaten innerhalb von 4 Stunden nach der Ischämie, dem Infarkt oder

der traumatischen Verletzung begonnen, wobei ein Zeitraum von 2 Stunden besonders bevorzugt wird. Zur Verhinderung oder Reduzierung einer bakteriellen Translokation sollte mit der Verabreichung von DHEA oder DHEA-Derivaten innerhalb von 24 Stunden nach der Verletzung oder dem Stress verursachenden Ereignis begonnen werden. Zur Verhinderung oder Reduzierung einer bakteriellen Translokation sollte mit der Verabreichung dieser Verbindungen vorzugsweise innerhalb von 4 Stunden begonnen werden, wobei ein Zeitraum von 2 Stunden besonders bevorzugt wird. Zur Verhinderung oder Reduzierung von ARDS sollte mit der Verabreichung von DHEA oder DHEA-Derivaten vor dem Auftreten der klinischen Symptome begonnen werden. Im Allgemeinen werden die Verbindungen Patienten mit einem Risiko für ARDS verabreicht werden.

[0062] Die vorliegenden. Erfindung wird anhand der nachstehenden Beispiele, die erläuternden Charakter haben und in keiner Weise als für die Erfindung einschränkend zu verstehen sind, beschrieben. Es wurden auf dem Fachgebiet wohlbekannte Standardtechniken oder die unten im Einzelnen beschriebenen Techniken verwendet.

BEISPIEL 1

Experimentelles Modell der thermischen Verletzung

[0063] Es wurde ein experimentelles Modell der thermischen Verletzung unter Verwendung von Mäuseohren verwendet, in dem die Temperatur und die Einwirkungsdauer empirisch festgelegt wurden. Die Bedingungen stellten die minimale Verbrennung dar, die bei unbehandelten Mäusen innerhalb von 24 bis 72 Stunden nach der Verbrennung zu einer totalen Gewebenekrose führte. Gruppen von etwa neun Wochen alten BALB/c-Mäusen wurden mit einem Identifikationszeichen versehen und dann in Kontroll- und behandelte Untergruppen aufgeteilt. Die Dicke des Ohrs, das in heißes Wasser getaucht werden sollte, wurde aufgezeichnet und dann wurde das ganze Ohr der anästhesierten Maus exakt 24 Sekunden lang in 52°C heißes Wasser getaucht. Den Mäusen wurde dann eine Injektion mit entweder nur dem Vehikel Propylenglykol (Kontrollmäuse) oder 100 µg des in Propylenglykol gelösten Testmittels gegeben, bevor sie wieder in ihre Käfige gesetzt wurden. Die Veränderungen der Ohrschwellung wurden an einzelnen Mäusen vor der Verbrennung und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der thermischen Verletzung verfolgt.

BEISPIEL 2

Wirkung von DHEA im Modell der thermischen Verletzung

[0064] Gruppen von etwa neun Wochen alten BALB/c-Mäusen wurden mit einem Identifikationszeichen versehen und dann in Kontroll- und behandelte Untergruppen aufgeteilt. Die Dicke des Ohrs, das in heißes Wasser getaucht werden sollte, wurde aufgezeichnet und dann wurde das ganze Ohr der anästhesierten Maus exakt 24 Sekunden lang in 52°C heißes Wasser getaucht. Den Mäusen wurde dann eine Injektion mit entweder nur dem Vehikel Propylenglykol (Kontrollmäuse) oder 100 µg des in Propylenglykol gelösten DHEA gegeben, bevor sie wieder in ihre Käfige gesetzt wurden. Die Veränderungen der Ohrschwellung wurden an einzelnen. Mäusen vor der Verbrennung und 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24 und 48 Stunden nach der thermischen Verletzung verfolgt.

[0065] Die Ergebnisse der untersuchten Ödembildung und -rückbildung an den Ohren von Kontroll- und DHEA-behandelten Mäusen sind in **Fig. 1** wiedergegeben. Sowohl bei den DHEA-behandelten als auch bei den unbehandelten Mäusen mit Verbrennung erreichte die Ohrschwellung, als ein Maß für das Ödem, ihren Höhepunkt etwa 6 Stunden nach der zugefügten Verletzung. Bei der unbehandelten Gruppe fing die Schwellung nach 12 Stunden an abzunehmen und nahm in den darauffolgenden 12 Stunden weiterhin rasch ab. Zwischen 24 und 48 Stunden nach der Verbrennung mussten die Ohrmessungen an der unbehandelten Gruppe aufgrund eines kompletten Verlustes an Ohrgewebe abgebrochen werden, wobei dieser Verlust auf die komplette mikrovaskuläre Okklusion der ursprünglichen Stasezone zurückzuführen war. Die kinetische Analyse des Ödems bei unbehandelten und mit DHEA behandelten thermisch verletzten Mäusen ergab, dass die innerhalb der ersten 24 Stunden nach einer durch Verbrennung hervorgerufenen Verletzung auftretenden Ereignisse für die Viabilität des verbrannten Gewebes ausschlaggebend sind, so dass die etwaige Erhaltung von lebensfähigem Ohrgewebe nach 48 Stunden invers korreliert ist mit der Geschwindigkeit, mit der die Schwellung zwischen ihrem Höhepunkt sechs Stunden nach der Verletzung und den letzten 48 Stunden abnimmt.

[0066] Zusätzlich zur Untersuchung eines Ödems bei unbehandelten und mit DHEA behandelten thermisch verletzten Mäusen wurden die Veränderungen in der Viabilität des Ohrgewebes selbst auch photographisch dokumentiert. Die Verletzung des Ohrgewebes bei Mäusen, denen nur das Vehikel verabreicht wurde, war

ausgedehnt, wobei innerhalb von 48 Stunden mehr als 70% des Ohrgewebes nekrotisch und zerstört wurde. Das gesamte betroffene Gebiet schien sowohl die Zone der kompletten vaskulären Okklusion als auch die ursprüngliche Zone der Stase zu umfassen. Diese letztere Zone wurde als sekundäre Folge der thermischen Verletzung beschädigt, wobei dieser Zustand einer fortschreitenden Hautischämie nach einer Verbrennung entspricht. Mit DHEA behandelte Mäuse zeigten jedoch nur eine geringe Verletzung und die Erhaltung des verbrannten Ohrgewebes ließ sich kinetisch beobachten. Das einzige Gebiet des Ohrgewebes, das signifikant von den Folgen der thermischen Verbrennung betroffen war, aber nicht verloren ging, war das Gebiet, das der ursprünglichen Zone der kompletten vaskulären Okklusion entsprach.

BEISPIEL 3

Wirkung verschiedener Verbindungen im Modell der thermischen Verletzung

[0067] Gruppen von neun Wochen alten BALB/c-Mäusen, denen eine thermische Verletzung zugefügt wurde, wurden in Untergruppen aufgeteilt, welche entweder nur das Vehikel, DHEA, Androstendiol, 16α-Brom-DHEA, Androstendion oder das wirksame Antiglukokortikoid RU486 verabreicht bekamen. Einzelne Mäuse erhielten 100 µg des angegebenen Steroids oder nur das Vehikel unmittelbar nach der Verbrennung (am Tag 0) und weiter 50-µg-Dosen alle 24 Stunden über die gesamte Dauer des Experiments. Die Ohrschwellung jeder einzeln gekennzeichneten Maus wurde vor der Verbrennung und 12, 24 und 48 Stunden nach der Verbrennung aufgezeichnet.

[0068] Alle verbrannten Ohren von Mäusen, die einer therapeutischen Behandlung mit Androstendiol, DHEA oder mit dem nicht metabolisierbaren synthetischen DHEA-Derivat 16α-Brom-DHEA unterzogen wurden, entwickelten eine signifikante Schwellung als Reaktion auf die Verbrennung (**Fig. 2**) und zeigten eine langsame und stete Rückbildung der Schwellung. Diese langsame Abnahme des Ödems nach der thermischen Verletzung des Ohrs ging mit einer nur geringen Hautischämie und -nekrose in diesem Gebiet einher. Die Ergebnisse dieser Studie bestätigten auch, dass die Entwicklung des Ödems im verbrannten Ohr von unbehandelten Mäusen einen Höhepunkt erreicht und dann ziemlich schnell wieder abnimmt, so dass zwischen 24 bis 48 Stunden nach der Verbrennung eine beträchtliche Gewebeischämie und -nekrose auftritt. Das gleiche Ödemmuster mit anschließender fortschreitender ischämischer Nekrose wurde bei Mäusen beobachtet, die mit Androstendion behandelt wurden. Auch in der Gruppe der thermisch verletzten Tiere, die mit RU486 behandelt wurden, wurde ein ähnliches Ödemmuster mit anschließender fortschreitender ischämischer Nekrose beobachtet, was ein Hinweis dafür ist, dass die Wirkung von DHEA nicht ausschließlich auf seine antiglukokortikoiden Eigenschaften zurückzuführen ist.

[0069] Die **Fig. 3A** bis **Fig. 3C** zeigen die Fähigkeit von DHEA, Androstendiol und 16α-Brom-DHEA, die meisten ischämischen Folgen einer thermischen Verletzung am Ohr zu verhindern. Die Mäuse, die mit einem dieser Steroidhormone behandelt wurden, erfuhren frühzeitige Veränderungen im Ohrgewebe, ohne oder mit nur geringem Verlust an Ohrgewebe mehrere Tage nach der thermischen Verletzung. Anscheinend entspricht das betroffene Gebiet der Zone der kompletten Okklusion, wie sie von Boykin (13) definiert wurde. Bei Mäusen, denen nach der thermischen Verletzung nur das Vehikel, Androstendion oder RU486 (**Fig. 3D** bis **Fig. 3F**) verabreicht wurde, kam es innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Verletzung aufgrund der fortschreitenden ischämischen Nekrose nach einer Verbrennung zu einem Verlust von > 70% des exponierten Ohrgewebes. Ohne wirksame Behandlung entsprachen die Gebiete des nekrotisierten, verbrannten Ohrs der Zone der kompletten Okklusion plus der Zone der Stase. Somit war bewiesen, dass die Behandlung von thermisch verletzten Mäusen mit DHEA, Androstendiol oder 16α-Brom-DHEA nicht nur den natürlichen Verlauf des im Ohr entstehenden Ödems verändert, sondern auch auf irgendeine Weise das betroffene Gewebe, vor fortschreitender Schädigung schützt, indem sie die Entwicklung einer Ischämie in der Zone der Stase und schließlich die Entwicklung einer Nekrose in diesem Gebiet hemmt.

[0070] In ähnlichen Experimenten hat sich herausgestellt, dass 16α-Hydroxy-DHEA eine geringere Schutzwirkung aufweist, d.h. zwar die Ausdehnung der fortschreitenden Ischämie reduzierte, sie jedoch nicht ganz zu verhindern vermochte, und dass 16α-Chlor-DHEA einen geringen Schutz vor einer fortschreitenden Ischämie bietet.

BEISPIEL 4

Bestimmung des Zeitpunkts für die Erstverabreichung von DHEA

[0071] Ein Experiment sollte dazu dienen festzustellen, ob der Eingriff mittels DHEA sofort erfolgen muss oder

ob dieser bis zu mehreren Stunden nach der Verbrennung hinausgezögert werden kann. Mäuse wurden anästhesiert, es wurde ihnen eine Verbrennung zugefügt, und dann, während die Mäuse noch unter Narkose standen, bekamen vier davon nur das Vehikel, vier weiteren wurden 100 µg DHEA gegeben und die restlichen Mäuse wurden in weitere Vierergruppen unterteilt. Alle Mäuse einer Gruppe erhielten 100 µg DHEA entweder eine, zwei, vier oder sechs Stunden nach der thermischen Verletzung. Der Gewebeverlust wurde bei jeder Maus 72 Stunden nach der thermischen Verletzung ausgewertet, und die Ergebnisse der Auswertung sind in Fig. 4 dargestellt.

[0072] Diese Figur zeigt, dass der Eingriff mittels DHEA um bis zu zwei Stunden verzögert werden kann, ohne signifikanten Unterschied in den Schutzwirkungen von DHEA bei einem Durchschnittswert von 1,25 ± 0,25 ($p = < 0,001$). Selbst, wenn die Verabreichung von DHEA um vier Stunden verzögert wurde, konnte ein Durchschnittswert von 2,75 ± 0,479 beobachtet werden ($p = < 0,016$). Bei einer Verzögerung der DHEA-Verabreichung um sechs Stunden betrug der Durchschnittswert für den Gewebeverlust 4,0 ± 0,408 und es wurde festgestellt, dass dieser sich bedeutend von dem der Gruppe unterschied, die DHEA unmittelbar nach der thermischen Verletzung erhielt ($p = < 0,058$). Daraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass die zu einer Nekrose führenden Ereignisse reversibel sind, wenn DHEA innerhalb eines Zeitraums von bis zu mehreren Stünden nach der thermischen Verletzung verabreicht wird.

[0073] Die oben angegebenen Beispiele zeigen, dass eine mäßige thermische Verletzung des Ohrs einer Maus ein zuverlässiges und reproduzierbares Modell zur Untersuchung einer fortschreitenden ischämischen Nekrose der Haut ist. Die Ergebnisse besagen, dass die Anwendung von DHEA unmittelbar nach der Verbrennung eine Schutzwirkung gegen eine durch thermische Verletzung verursachte Hautischämie ausübt. Zusätzlich zu DHEA wurden noch mehrere andere Steroidhormone auf ihren therapeutischen Wert hin getestet (siehe Tabelle I).

TABELLE 1

Ergebnisse von getesteten progressiven Steroidhormonen (100 µg/Maus)	Untersuchung der Ischämie (Mausohrmodell)
DHEA-S	kein Schutz
DHEA	Schutz
16α-Brom-DHEA	Schutz
Androstendiol	Schutz
Androstendion	kein Schutz
RU 486	kein Schutz

[0074] DHEA, Androstendiol und 16α-Brom-DHEA hatten eine eindeutige Schutzwirkung, wobei 90 bis 100 des Ohrgewebes bis zum Abschluss des Experiments nach zwei Wochen, als der Heilungsprozess abgeschlossen war, unversehrt blieb. 16α-Hydroxy-DHEA bot geringeren Schutz und 16α-Chlor-DHEA hatte nur eine leichte Schutzwirkung. DHEA-Sulfat, Androstendion und RU486 hingegen boten überhaupt keinen Schutz, wobei bei allen Tieren innerhalb von 48 Stunden nach der thermischen Verletzung eine Schädigung des Ohrs und ein Gewebeverlust offensichtlich wurde, die denen unbehandelter Kontrollen entsprachen. Die Unterscheidung zwischen Steroiden mit und ohne Schutzwirkung in diesem Modell der thermischen Verletzung wird höchstwahrscheinlich durch die Tatsache erleichtert, dass die direkte oder unmittelbare durch die Verbrennung verursachte Schädigung des Ohrgewebes minimal ist und dass die Schädigung, die auftritt, größtenteils von der als Antwort des Wirtes auf die Verbrühung ausgelösten fortschreitenden Ischämie und Nekrose verursacht wird.

[0075] Die Ergebnisse weisen DHEA, und nicht einen seiner natürlichen Stoffwechselprodukte, als das Mittel aus, das einen Schutz gegen die fortschreitende ischämische Nekrose vermittelt. Diese Schlussfolgerung beruht auf ganz einfachen Erkenntnissen. 16α-Brom-DHEA ist ein DHEA-Analog, das nicht wirksam zu stromabwärtigen Androgen-Steroiden metabolisiert werden kann und dessen Schutzwirkung mit der von DHEA identisch ist. Auch die biologische Wirkung von Androstendiol ist im Ohrmodell der thermischen Verletzung mit der von DHEA identisch. Dieses Steroid ist ein natürliches Stoffwechselprodukt von DHEA, das durch eine enzymabhängige Veränderung in DHEA zurückverwandelt werden kann. Es kann auch weiter zu Testosteron meta-

bolisiert werden. Androstendion, das ebenfalls ein sekundäres Stoffwechselprodukt von DHEA ist, kann nur zu stromabwärtigen Produkten (z.B. Testosteron und Östrogenen) metabolisiert werden, ohne dass eine Umwandlung in DHEA bekannt wäre. Weil in diesem Modell Androstendion nicht in der Lage ist, Schutz gegen die fortschreitende Hautischämie zu bieten, bekräftigt seine Wirkungslosigkeit die Schlussfolgerung, dass das aktive Steroid DHEA ist und nicht ein stromabwärtiges Androgen oder Östrogen. Es stellte sich weiter heraus, dass sulfatiertes DHEA, wie es natürlich im menschlichen Körper vorkommt, nicht in der Lage war, gegen die fortschreitende Ischämie einen Schutz auszuüben.

[0076] Die Fähigkeit von DHEA, manche der biologischen Wirkungen von Glukokortikoiden zu überwinden, ist bereits bekannt. Die Möglichkeit, dass DHEA im Modell der Hautischämie im thermisch verletzten Ohr einer Maus als Antiglukokortikoid wirkt, wurde dadurch getestet, dass das bekannte Antiglukokortikoid RU 486 unmittelbar nach dem Zufügen der Verbrennung Mäusen verabreicht wurde. Wie in diesem Modell dargestellt und unter den getesteten Bedingungen, brachten Substanzen mit einer antiglukokortikoiden Aktivität keinerlei Vorteile.

BEISPIEL 5

Die Wirkung von DHEA auf die Reperfusionsverletzung

[0077] Männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 130 bis 170 g wurden randomisiert keiner Vorbehandlung, einer Vorbehandlung nur mit einem Vehikel oder einer Vorbehandlung mit DHEA (4 mg/kg) zugewiesen. Die Tiere wurden mit dem Vehikel oder mit DHEA am Vortag und am Tag des chirurgischen Eingriffs behandelt. Die Narkose wurde intraperitoneal mit Pentobarbital eingeleitet (60 bis 70 mg/kg). Die Ratten wurden auf ein Heizkissen gesetzt und ihre Körpertemperatur (gemessen mit Rektalsonde) wurde auf 35 bis 37°C gehalten. Der Kremaster-Muskel auf seinem neurovaskulären Pedikel wurde nach herkömmlichen Techniken ermittelt (39-41). Zusammengefasst wird eine Hautinzision von der Spina iliaca anterior zur Spitze des Skrotums vorgenommen. Dann wurde das Testikel mit dem unversehrten Kremaster-Muskel vom Skrotum abgetrennt: Eine 1 cm große Öffnung wird in die ventrale Oberfläche des Kremasters gesetzt, und das Testikel und der Samenstrang werden entnommen. Unter einem Mikroskop wird dann das neurovaskuläre Pedikel, das aus den pubisch-epigastrischen Arterien, Venen und dem Nervus genitofemoralis besteht, komplett isoliert, indem von der äußeren Darmbeinarterie und -vene zum Ursprung der Gefäße seziert wird. Schließlich wird die Vorderwand des Kremaster-Muskelsacks geöffnet und der Insellappen des Kremaster-Muskels wird für eine intravitale Videomikroskopie vorbereitet. Die Ratte wird auf einem speziell entwickelten Gewebebad gesichert und der Kremaster-Muskellappen über das Deckglas in der Öffnung am Boden des Bads ausgebreitet und mit Nähten (Seide 5-0) befestigt. Er wird dann von unten mittels einer faseroptischen Tungstenlampe durchleuchtet. Der Muskel wird feucht gehalten und mit einer undurchlässigen Plastikfolie abgedeckt. Das Gewebebad, das speziell für die Temperaturkontrolle entwickelt wurde, wird mit 0,9%iger Kochsalzlösung gefüllt und die Temperatur zwischen 35°C und 36°C gehalten. Das Mikroskop ist mit einer Farbvideokamera ausgerüstet. Das Videobild der Mikrozirkulation wird auf einem 19"-Monitor mit einer Endvergrößerung von 1800 × angezeigt. Die Messung der mikrovaskulären Aktivität wird nach der Isolierung des Muskels aufgezeichnet, um die präischämische Grundlinie festzulegen. Nach dem ordnungsgemäßen Anbringen von Klammern zur vollständigen Drosselung der Blutzufuhr zu dem Muskellappen beträgt die Dauer der Ischämie sechs Stunden. Nach dem Entfernen der Klammern zur Auslösung einer Reperfusionsverletzung wird die Aktivität im Mikrogefäßsystem 30, 60 und 90 Minuten nach der Reperfusion gemessen. Bei allen Versuchstieren folgte auf die Ischämie eine Wiederaufnahme des Flusses und eine anfängliche Phase des Blutflusses durch die Mikrozirkulation. Auf diesen Ausbruch zirkulatorischer Aktivität folgt eine deutliche Reperfusionsverletzung, die zu einer Verringerung des Flusses führt.

[0078] Die folgenden Parameter wurden zur Bewertung des Zustands des mikrovaskulären Systems des Kremaster-Muskels vor der Ischämie und nach der Reperfusion verwendet.

1) Dichte der perfundierten Kapillaren. Die Dichte der perfundierten Kapillare in jedem der drei Lappenbereiche (Zone 1, 2 und 3) wurde durch Zählen der Anzahl an durchgängigen Kapillaren in der Nähe der vorgewählten postkapillären Venule gemessen. Es wurden an jeder postkapillären Venule neun Sichtfelder von Kapillaren auf insgesamt 27 Felder pro Kremaster-Muskellappen gezählt. Die Ergebnisse sind jeweils in den **Fig. 5A**, **Fig. 5B** und **Fig. 5C** für die Zonen 1, 2 bzw. 3 aufgeführt.

2) Zahl der Leukozyten in postkapillären Venulen. Von drei vorgewählten postkapillären Venulen wurden Videoscan-Aufnahmen im proximalen, mittleren und distalen Lappenbereich gemacht. Für jede Venule wurde über einen Zeitraum von zwei Minuten die Anzahl der durch das Lumen rollenden Leukozyten, die Anzahl der an das Endothel adhärierenden Leukozyten sowie die Anzahl derer, die das Endothel passiert hatten, aufgezeichnet. Die **Fig. 6A**, **Fig. 6B** und **Fig. 6C** zeigen jeweils die Ergebnisse für Roller, Sticker und

Diapedese.
3) Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen in A1 (erste Größenordnung) und A2 (zweite Größenordnung) Arteriolen. Die Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen in den Hauptarteriolen des Kremasterlappens wurden anhand eines eigens dafür hergestellten optischen Doppler-Geschwindigkeitsmessers aufgezeichnet. In den **Fig. 7A** und **Fig. 7B** sind die Ergebnisse für die Geschwindigkeit von venösem bzw. von arteriellem Blut angegeben.

A. Reperfusionsverletzung bei unbehandelten und nur mit Vehikel behandelten Ratten

[0079] sSechs Ratten wurde gar nicht behandelt und sechs Ratten wurden mit einem Vehikel vorbehandelt. Nach sechs Stunden Ischämie und 90 Minuten Reperfusion nahm die absolute Zahl der rollenden, adhärierenden und ausgewanderten Leukozyten innerhalb von 60 Minuten nach der Reperfusion dramatisch zu, wobei eine weitere Zunahme nach 90 Minuten zu verzeichnen war (**Fig. 6A** bis **Fig. 6C**). Die absolute Zahl der perfundierten Kapillare pro starkem Feld 30 und 60 Minuten nach der Reperfusion nahm stark ab, wobei die Anzahl der durchgängigen Kapillare 90 Minuten nach der Reperfusion weiterhin abnahm (**Fig. 5A** bis **Fig. 5C**). Auch war 60 und 90 Minuten nach der Reperfusion die Geschwindigkeit der roten Blutkörperchen in den Gefäßen der Größe A2 bedeutend langsamer (**Fig. 7A** und **Fig. 7B**).

B. Reperfusionsverletzung bei mit DHEA behandelten Ratten Wurden die Ratten am Vortag und am Tag des chirurgischen

[0080] sEingriffs mit einer subkutanen Injektion von 4 mg/kg DHEA vorbehandelt, so konnte eine deutliche und höchst bedeutsame Schutzwirkung der Behandlung gemessen werden. Alle drei Parameter zeigten Werte, die den Normalwerten nahe kamen oder mit diesen identisch waren. Von großer Bedeutung ist die Feststellung, dass die Adhäsionseigenschaften an das Endothel zu keinem Zeitpunkt von den Grundlinienwerten abwich. Diese Schlussfolgerung beruht auf der Tatsache, dass zahlreiche rollende, adhärierende und auswandernde Leukozyten den Grundlinienwerten sehr ähnlich waren (**Fig. 6A**-**Fig. 6C**). Die roten Blutkörperchen in den A2-Arteriolen erlangten die normale Fließgeschwindigkeit langsamer zurück, wobei in manchen Gebieten 90 Minuten nach der Reperfusion eine Geschwindigkeit von 75% der normalen gemessen wurde (**Fig. 7A** und **Fig. 7B**). Zum 90-Minuten-Zeitpunkt war die Zahl der durchgängigen Kapillaren im Mikrogefäßsystem nicht wesentlich verschieden von den vor der Ischämie erhaltenen Grundlinienwerten (**Fig. 5A** bis **Fig. 5C**).

[0081] Ohne an irgendeine Theorie bezüglich der physiologischen und biochemischen Wirkungsweise von DHEA und DHEA-Derivaten der Formel I gebunden zu sein, wird die Auffassung vertreten, dass die anti-ischämischen Wirkungen dieser Verbindungen auf ihren Einfluss auf die Adhäsion der Neutrophilen an die Endothelzellen zurückzuführen ist. Somit sind diese Verbindungen in der Lage, eine durch andere Arten von Gewebeverletzung hervorgerufene Ischämie zu verhindern oder zu reduzieren, die durch Beeinflussung der Adhäsion an die Endothelzellen moduliert werden kann. Diese Hemmung der Adhäsion der Neutrophile verhindert deren Aktivierung und deren Wanderung zur Gewebeseite des Endothels. Da die Transmigration der Neutrophilen gehemmt wird, wird eine durch Neutrophile induzierte massive Schädigung der Endothel- und Parenchymzellen verhindert. Da die Aktivierung der Neutrophilen verhindert wird, wird auch die zur Plättchenaggregation führende Produktion der Zellfaktoren (durch Neutrophile) verhindert. So wird eine fortschreitende Gewebenekrose verhindert oder reduziert. Zudem wird die (zur bakteriellen Translokation führende) fortschreitende Ischämie von Darmgewebe und der Epidermis und des Herzmuskels und die (zu ARDS führende) Ischämie der Alveolarwand durch ähnliche Mechanismen vermittelt. Demnach sind diese Verbindungen auch wirksame Mittel zum Verhindern oder Reduzieren einer bakteriellen Translokation und von ARDS.

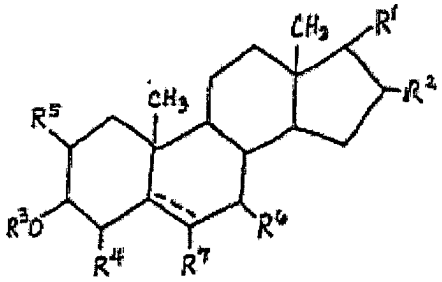
LITERATURLISTE

(1) Rodgers, G.M. (1988). FASEB J 2: 116-123.
(2) Hernandez, L.A. et al. (1987). Am. J. Physiol. 253 (Heart Cir. Physiol. 22): H699-H703.
(3) Lucchesi, B.R. (1990). Am. J. Cardiology 65: 14I-23I.
(4) Lehr, H.A. et al. (199). J. Clin. Invest. 87: 2036-2041.
(5) Entman, M.L. et al. (1991). FASEB J 5: 2529-2537.
(6) Weyrich, A.S. et al. (1993). J. Clin. Invest. 91: 2620-2629.
(7) Lefer, A.M. et al. (1991). FASEB J 5: 2029-2034.
(8) Brown, J.M. et al. (1988). J. Clin. Invest. 81: 1297-1301.
(9) "Cellular Injury and Adaptation" in Pathologic Basis of Disease, Cotran et al., eds., WB Saunders, Philadelphia, Seiten 1-81 (1989).
(10) Robson, M.C. et al.(1979). Plastic and Reconstructive Surgery 63: 781-787.

(11) Robson, M.C. et al. (1980). J. Trauma 20: 722-725.
(12) Rockwell, W. B. und Ehrlich, H. P. (1992). J.Burn Care Rehab 13: 403-406.
(13) Boykin, J. V. et al. (1980). Plastic Reconstruct. Surgery 66: 191-198.
(14) Ehrlich, H. P. (1984). J. Trauma 24: 311-318.
(15) Ehrlich, H. P. (1987). J. Trauma 27: 420-424.
(16) Mileski, W. et al. (1992). J. Sugg. Res. 52: 334-339.
(17) Morehouse, J.L. et al. (1986). Gastroenterol 91: 673-682.
(18) Maejimak, et al. (1984). Arch. Surg. 119: 166-172.
(19) Czaja, A.J. et al. (1974). N. Engl. J. Med. 291: 925-929.
(20) Seavitt, S. (1967). Br. J. Surg. 54: 32-41.
(21) Desai, M.H, et al. (1991). Surgery, Gyn. Obstet. 172: 257-261.
(22) Deitch, E.A. und R. Berg (1987). J. Burn Rehab. 8: 475-482.
(23) Edmiston, C.E. und R.E. Condon (1991). Surgery, Gyn. Obstet. 173: 73-83.
(24) Deitch, E.A. (1990). Arch. Surg. 125: 403-404.
(25) Saadia, R. et al. (1990). Br. J. Surg. 77: 487-492.
(26) Mainous, M.R. et al. (1991). Arch. Surg. 126: 33-7.
(27) Vaughan, W.G. et al. (1992). J. Ped. Surg. 27: 968-973.
(28) Deitch, E.A. et al. (1992). Circ. Shock 36: 206-16.
(29) Fukushima, R. et al. (1992). Ann. Surg. 216: 438-444.
(30) Tokyay, R. et al. (1992). J. Trauma 32: 704-713.
(31) Simon, R.H. und Ward, P.A. (1992). In Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, 2. Ausgabe, Galin, J.I. et al., Eds., Raven Press Ltd., New York, Seiten 999-1016.
(32) Araneo, B.A. et al. (1993). Arch. Surg. 128: 318-325.
(33) Eich, D.M. et al. (1992). U.S. Patent 5,110,810.
(34) Eich, D.M. et al. (1992). U.S. Patent 5,162,198.
(35) Nestler, J.E. et al. (1990). U.S. Patent 4,920,115.
(36) Kent, S. (1982). Geriatrics 37: 157-159.
(37) Jackson (1953). British J. Surg. 40: 588-593.
(38) Ericksson, E. et al. (1980). Microvascular Res. 19: 374-379.
(39) Anderson, G.L. et al. (1988). Microvascular Res. 36: 56-63.
(40) Siemionow, M. et al. (1991). Microcirc. Endoth. Lymphatics 7: 183-197.
(41) Siemionow, M. et al. (1993). J. Hand Surgery 18A: 963-971.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung der unten angegebenen Formel (I) zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verhinderung oder Reduzierung von Viabilitätsverlust von Gewebe infolge der Adhäsion von Neutrophilen an Endothelzellen bei einem Patienten mit einer Gewebeverletzung:



(I)

wobei
R^1 =0 oder OH ist;
R^2 H, CH_3, OH oder Halogen ist, wenn R^1 =O ist, und R^2 H ist, wenn R^1 OH ist;
R^3 H, eine Fettsäure, C_{1-10}-Alkyl, C_{1-10}-Alkenyl, C_{1-10}-Acetylen, $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkylen, $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkenylen oder -CO-R^B ist;
R^4 und/oder R^5 H, OH oder Halogen ist;
R^6 H oder OH ist;
R^7 H ist, wenn die gestrichelte Linie eine Doppelbindung ist, =O oder H und Halogen ist, wenn die gestrichelte Linie eine Einfachbindung ist;
R^8 H, eine Fettsäure, C_{1-10}-Alkyl, C_{1-10}-Alkenyl, C_{1-10}-Acetylen, $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkylen oder $(X)_n$-phenyl-C_{1-5}-alkenylen ist;
X gleich oder verschieden ist und Halogen, C_{1-4}-Alkyl, C_{1-4}-Alkenyl, C_{1-4}-Alkoxy, Carboxy, Nitro, Sulfat, Sulfo,

ein C_{1-6}-Carboxylester oder ein C_{1-6}-Sulfatester ist; und
n 0, 1, 2 oder 3 ist.

2. Verwendung einer Verbindung der Formel (I) nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verhinderung oder Reduzierung einer bakteriellen Translokation bei einem Patienten mit Risiko für bakterielle Translokation.

3. Verwendung einer Verbindung der Formel (I) nach Anspruch 1 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Verhinderung oder Linderung des Atemnotsyndroms des Erwachsenen (ARDS) bei einem Patienten mit hohem Risiko für ARDS.

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei R^3 H oder eine Fettsäure ist.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei R^1 =O oder -OH ist und R^2, R^3, R^4, R^5, R^6 und R^7 H sind.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei R^1 =O ist, R^2 Br oder OH ist und R^3, R^4, R^5, R^6 und R^7 H sind.

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 und 4 bis 6, wobei die Gewebeverletzung eine Reperfusionsverletzung eines beliebigen vaskularisierten Gewebes ist.

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 und 4 bis 6, wobei der Patient eine traumatische Verletzung hat und diese traumatische Verletzung die Folge einer thermischen Verletzung, eines chirurgischen Eingriffs, einer Verätzung, eines stumpfen Traumas oder einer Lazeration ist.

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 und 4 bis 6, wobei der Patient einen Infarkt, insbesondere einen Myokardinfarkt, hat.

10. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 und 4 bis 9, wobei die Verbindung innerhalb von vier Stunden nach der Gewebeverletzung, vorzugsweise innerhalb von zwei Stunden nach der Gewebeverletzung, verabreicht wird.

11. Verwendung nach Anspruch 7 oder Anspruch 9, wobei die Verbindung vor der Gewebeverletzung zu verabreichen ist.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 2 und 4 bis 6, wobei die Verbindung innerhalb von vier Stunden nach dem Risiko der bakteriellen Translokation, vorzugsweise innerhalb von zwei Stunden nach diesem Risiko, verabreicht wird.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 3 bis 6, wobei die Verbindung vor dem Einsetzen der klinischen ARDS-Symptome verabreicht wird.

14. Verwendung nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Verbindung in einer Menge von 1 bis 200 mg/kg verabreicht wird.

15. Verwendung nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Verbindung in einer Menge von 2 bis 50 mg/kg verabreicht wird.

16. Verwendung nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Verbindung in einer einzelnen oder in mehreren Dosen verabreicht wird.

Es folgen 9 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

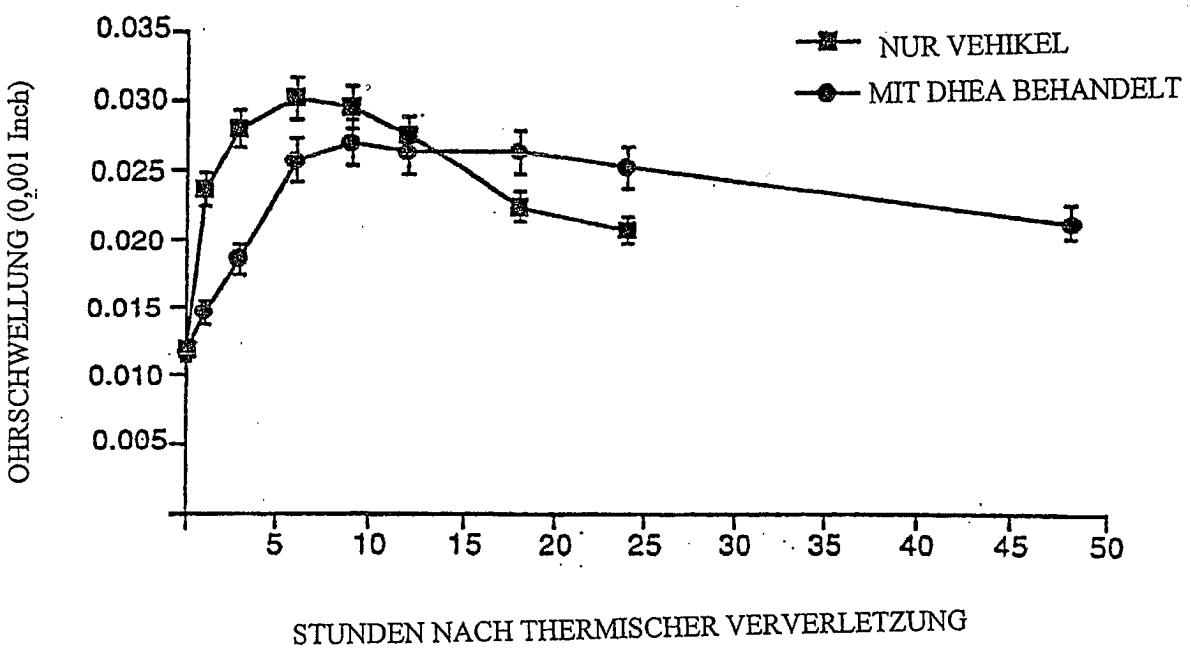


FIG. 1

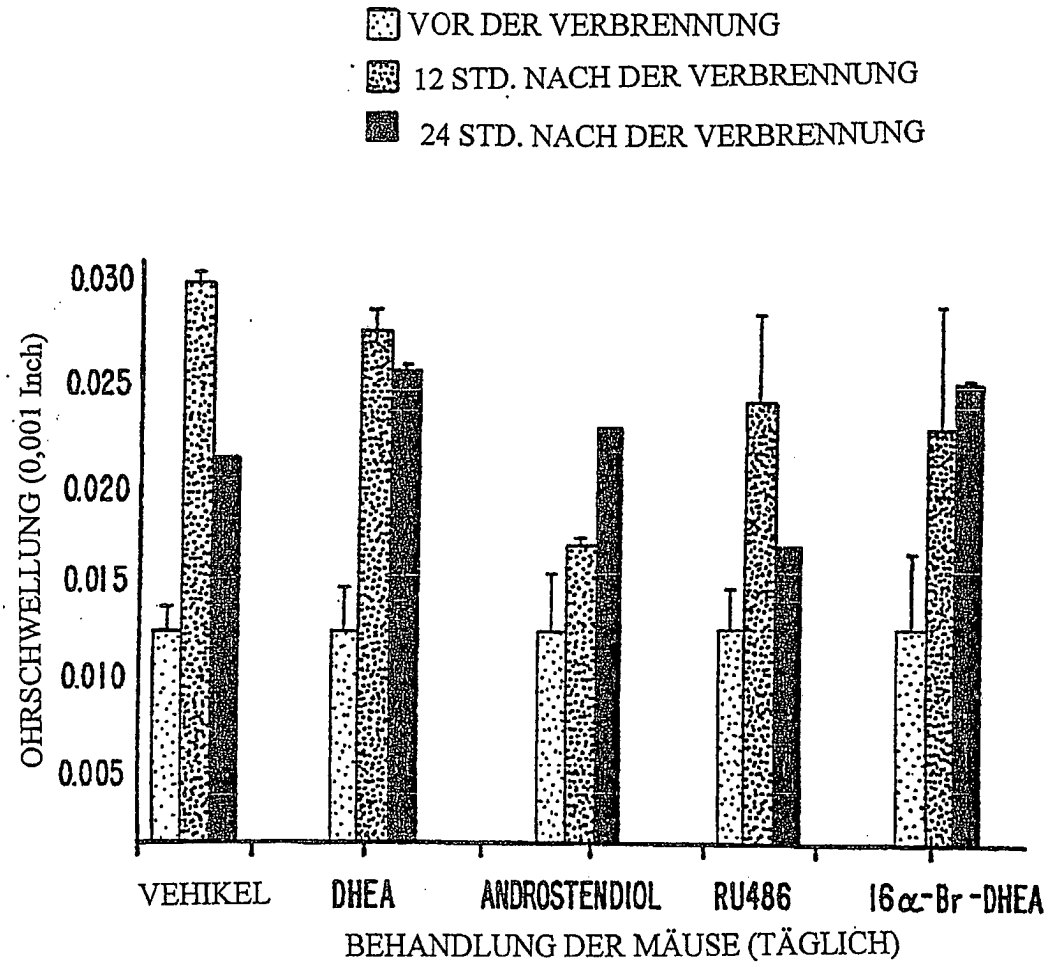

VOR DER VERBRENNUNG
12 STD. NACH DER VERBRENNUNG
24 STD. NACH DER VERBRENNUNG
OHRSCHWELLUNG (0,001 Inch)
0.030
0.025
0.020
0.015
0.010
0.005
VEHIKEL
DHEA
ANDROSTENDIOL
RU486
16α-Br-DHEA
BEHANDLUNG DER MÄUSE (TÄGLICH)

FIG. 2

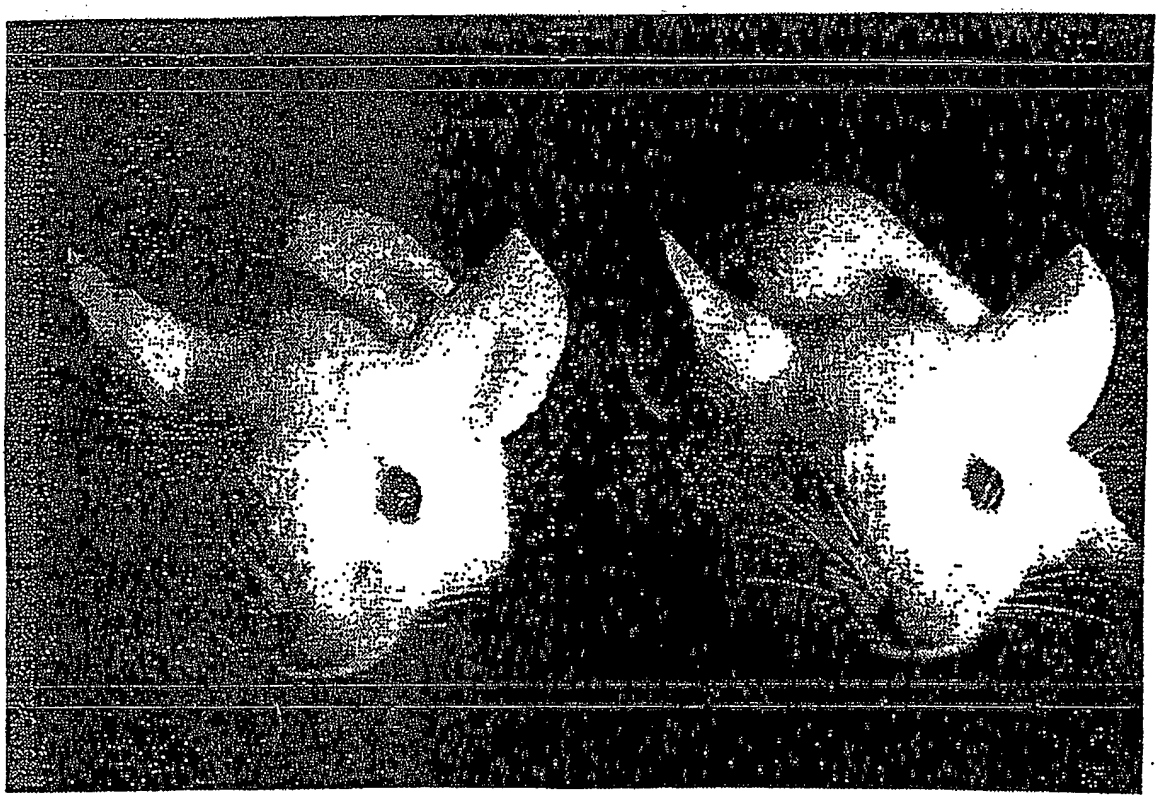


FIG. 3A



FIG. 3B



FIG. 3C

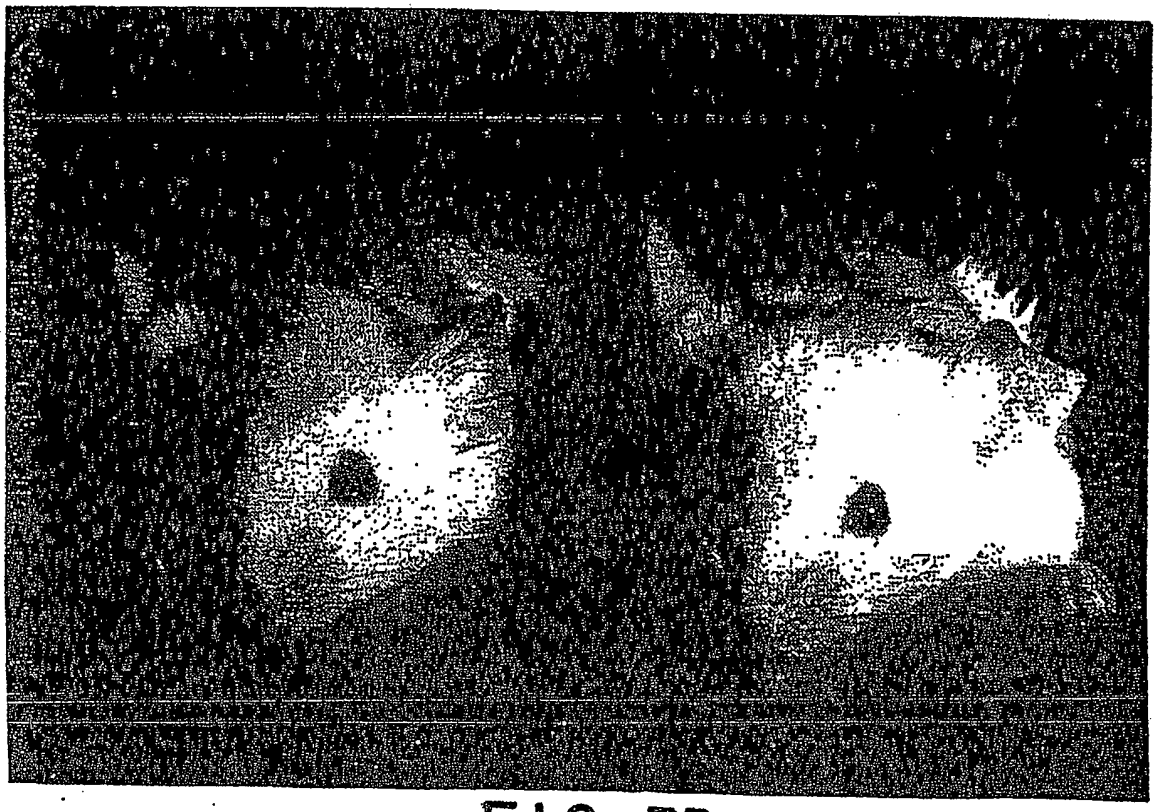


FIG. 3D

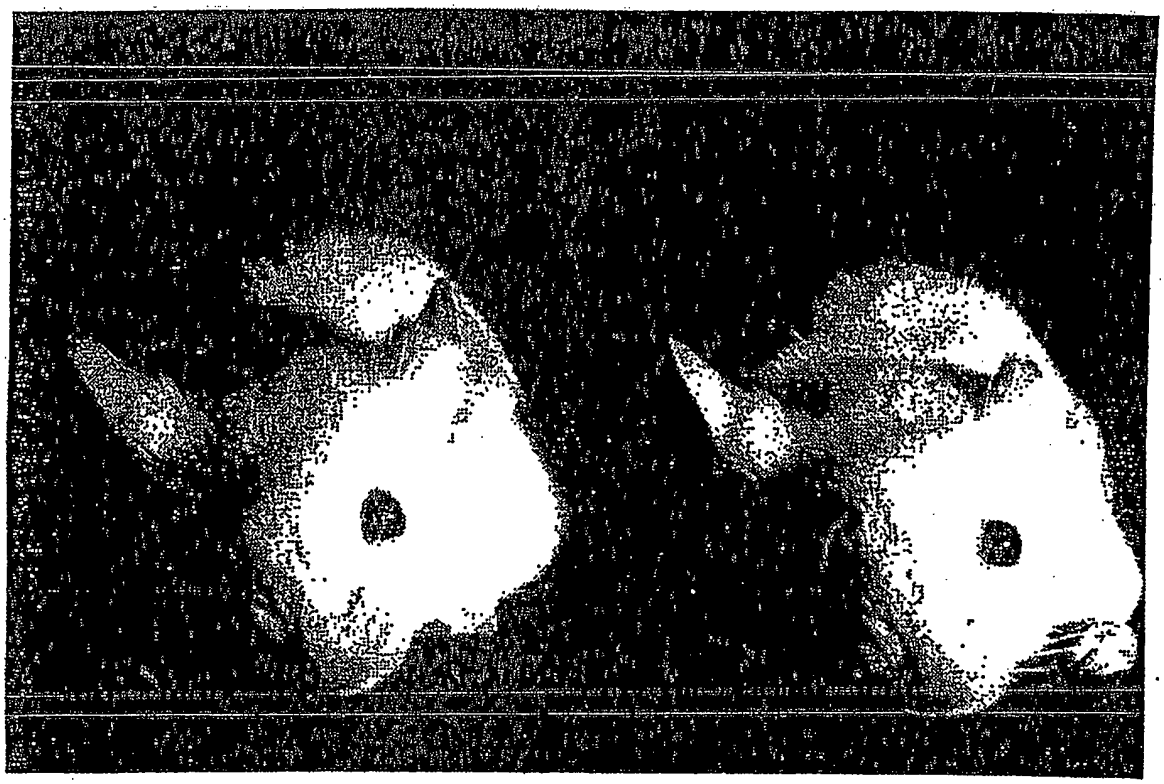


FIG. 3E

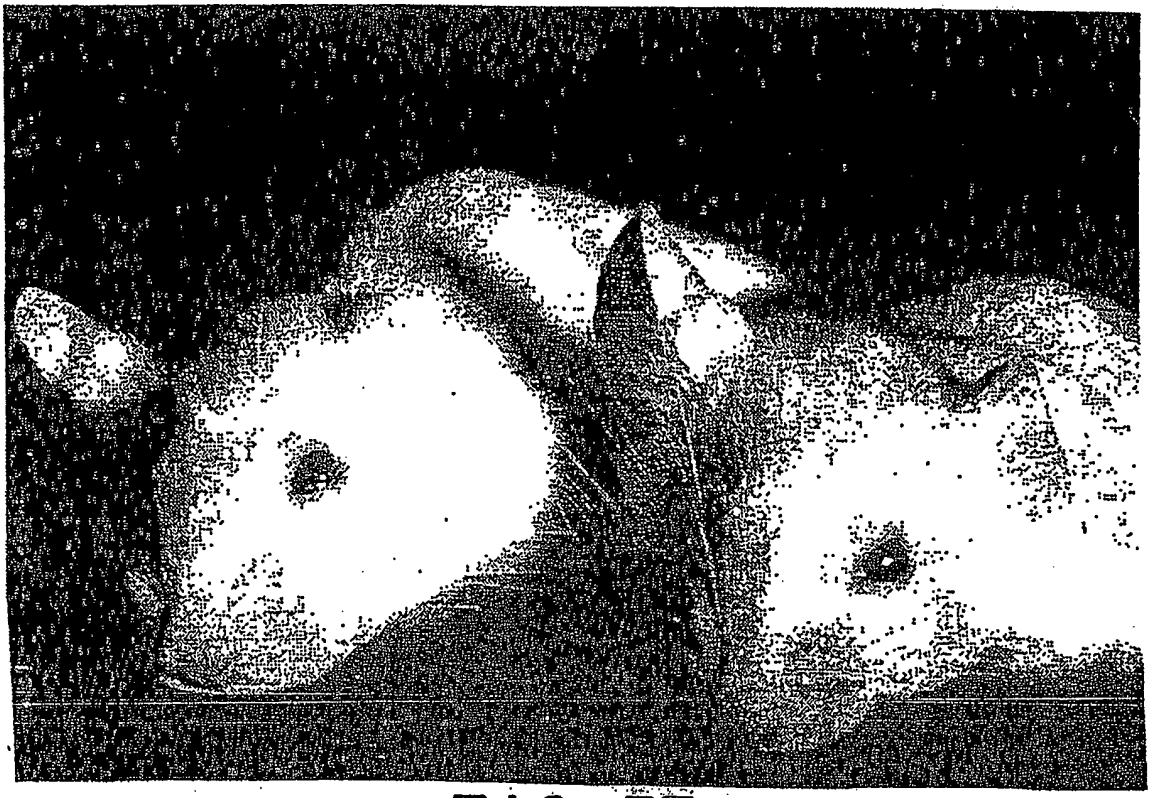


FIG. 3F

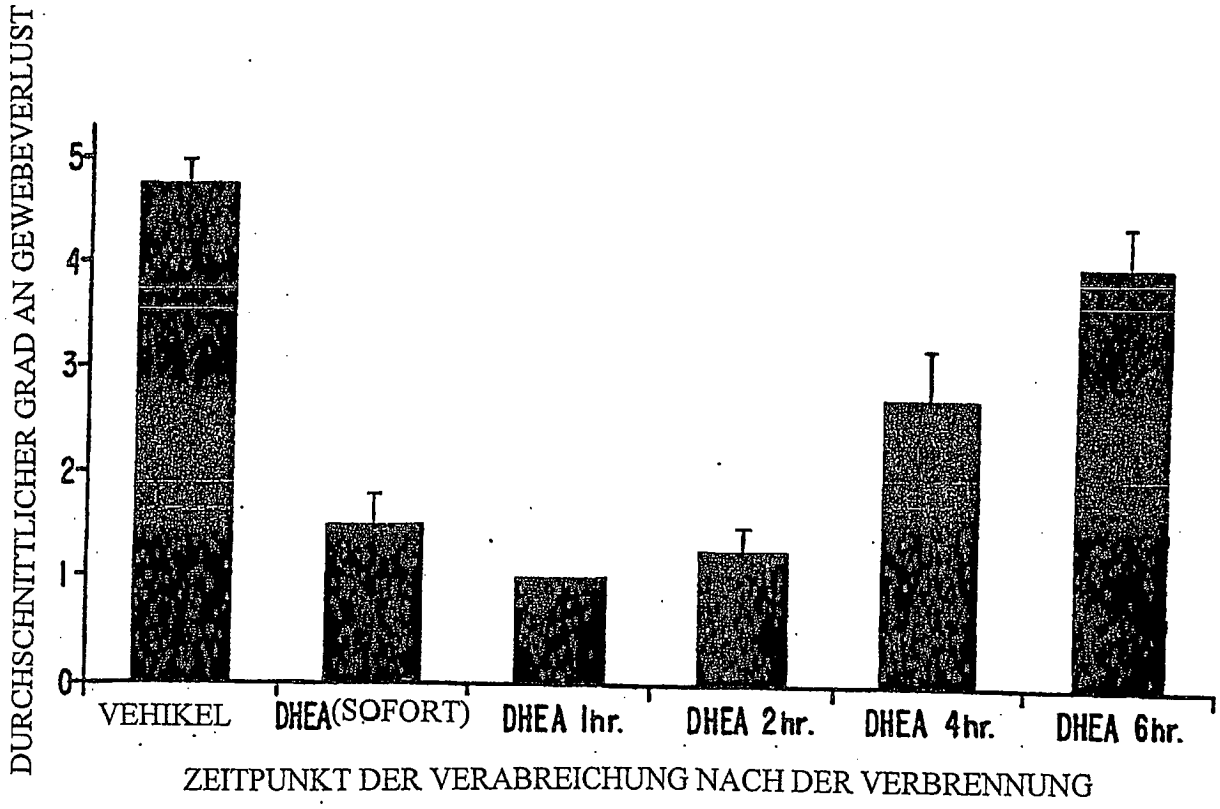

DURCHSCHNITTLICHER GRAD AN GEWEBEVERLUST
0
1
2
3
4
5
VEHIKEL
DHEA(SOFORT)
DHEA 1hr.
DHEA 2hr.
DHEA 4hr.
DHEA 6hr.
ZEITPUNKT DER VERABREICHUNG NACH DER VERBRENNUNG

FIG. 4

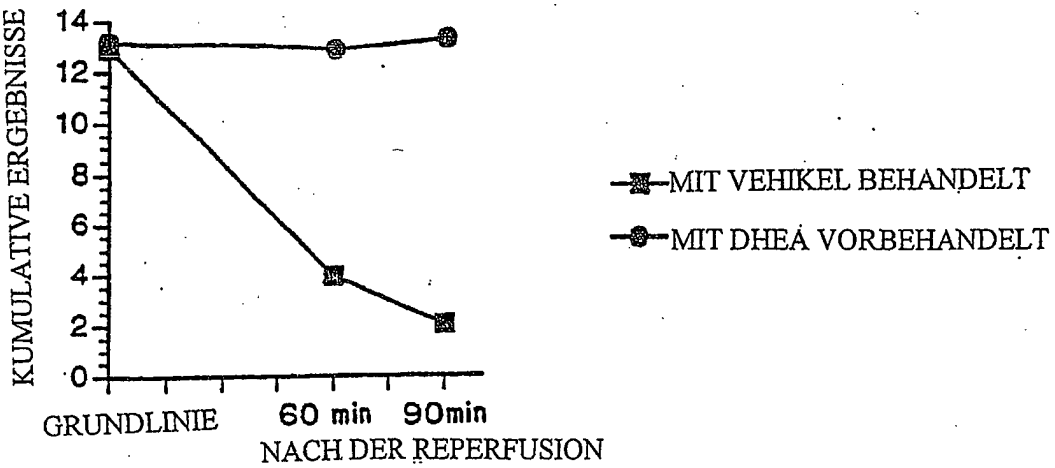


FIG. 5A

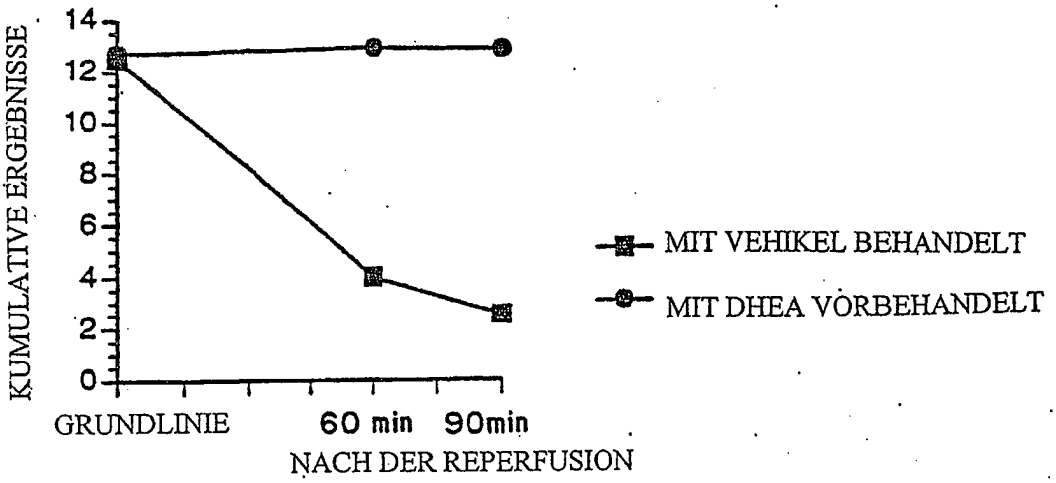


FIG. 5B

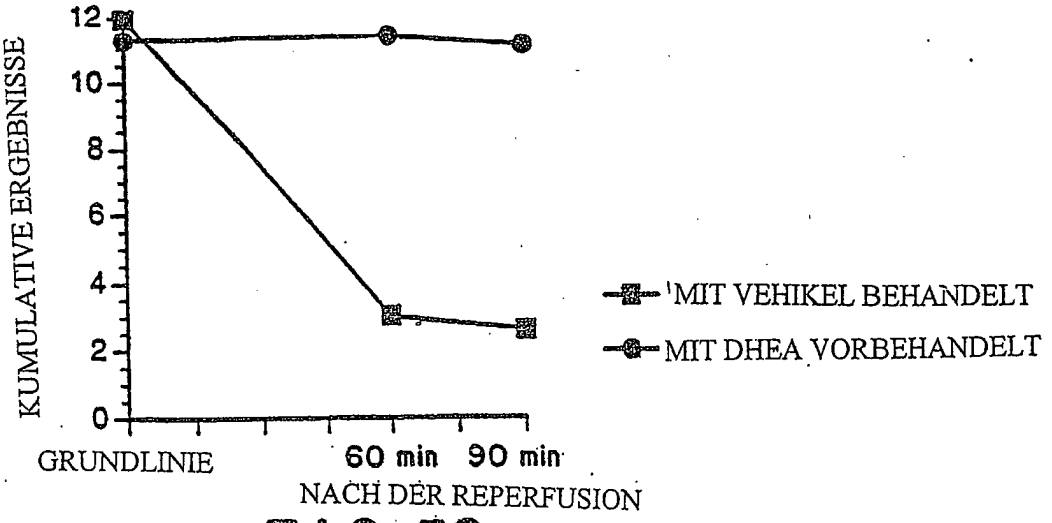


FIG. 5C

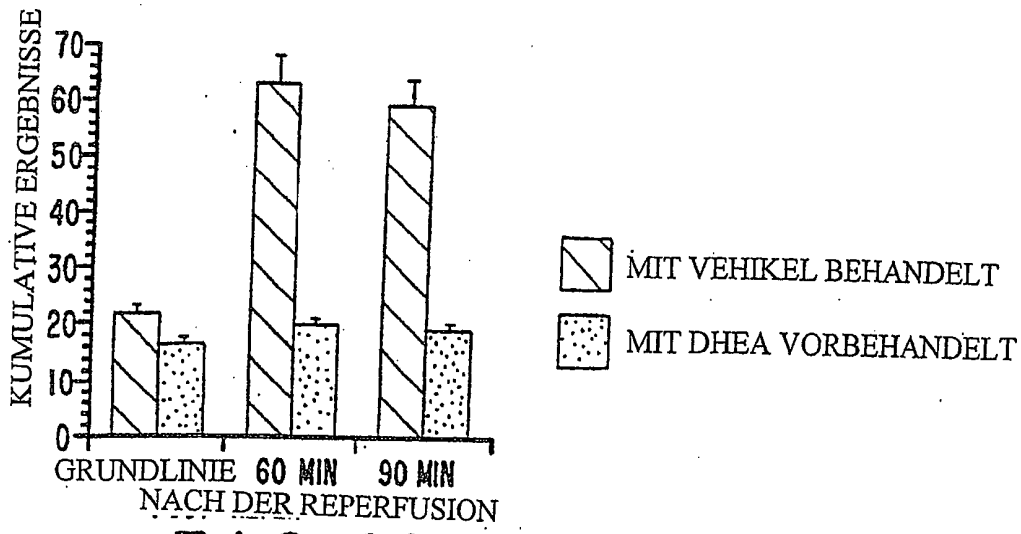


FIG. 6A

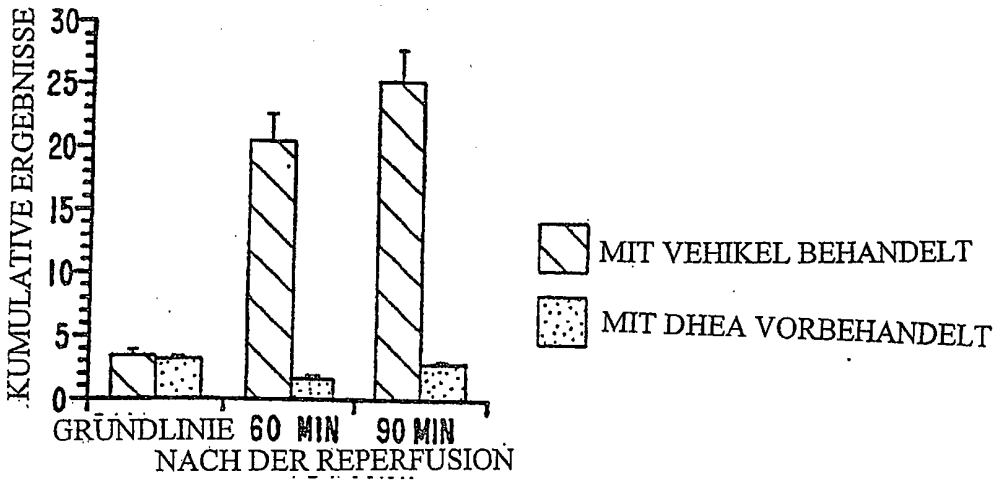


FIG. 6B

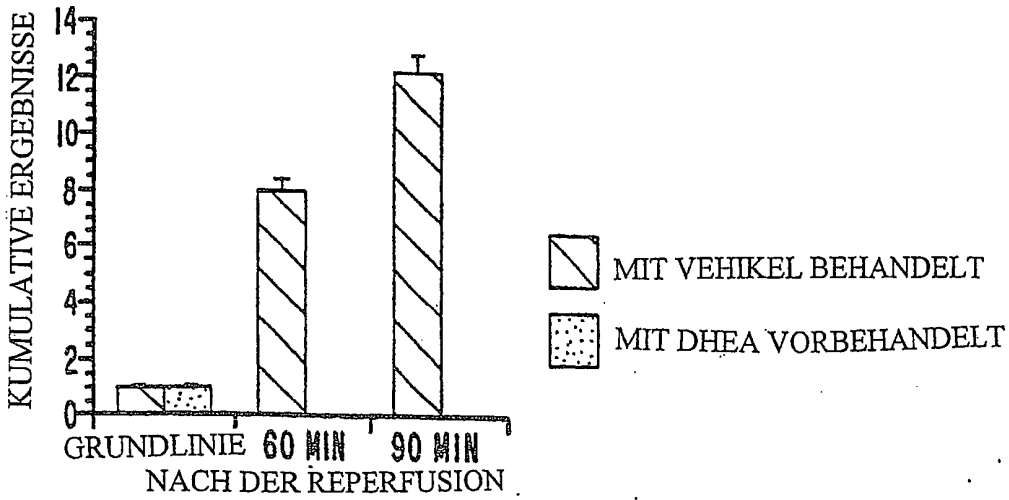


FIG. 6C

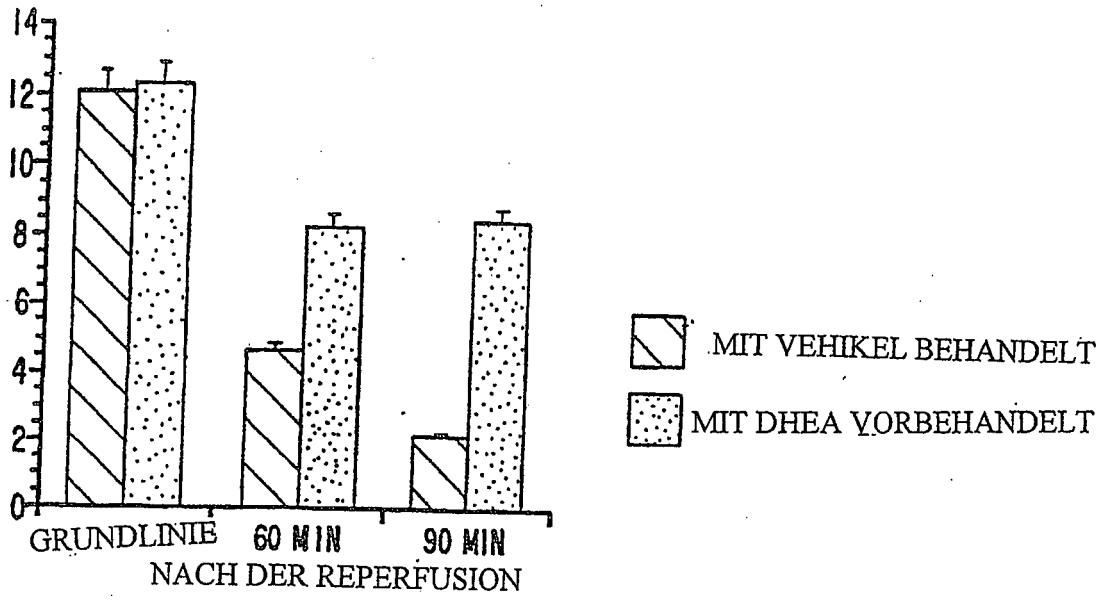

14
12
10
8
6
4
2
0
GRUNDLINIE
60 MIN
90 MIN
NACH DER REPERFUSION
MIT VEHIKEL BEHANDELT
MIT DHEA VORBEHANDELT

FIG. 7A

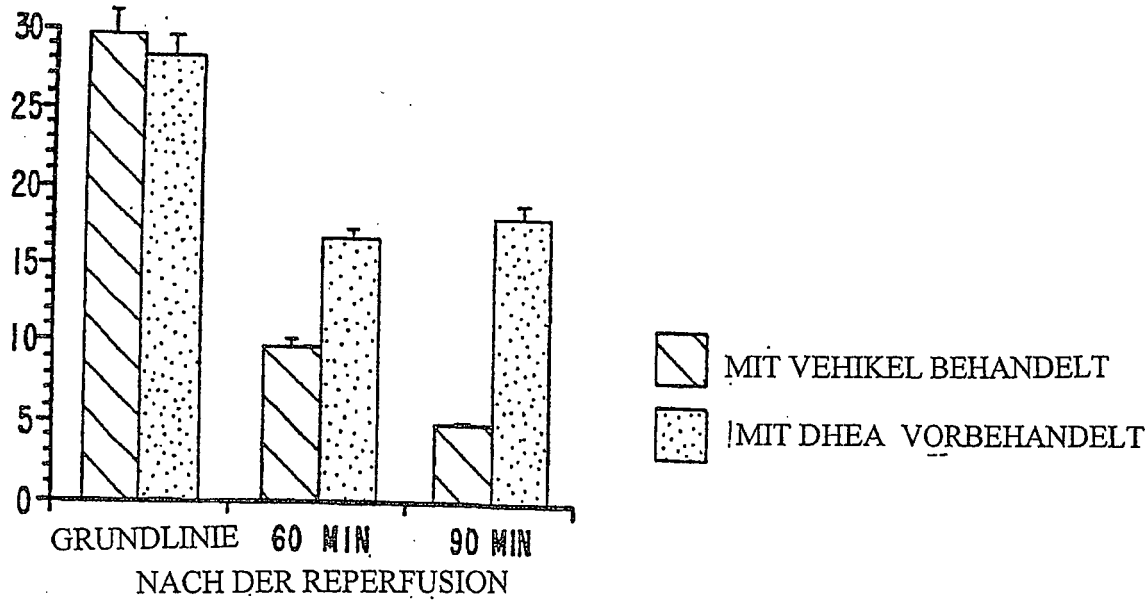

30
25
20
15
10
5
0
GRUNDLINIE
60 MIN
90 MIN
NACH DER REPERFUSION
MIT VEHIKEL BEHANDELT
!MIT DHEA VORBEHANDELT

FIG. 7B