



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 298 883 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 61 K 31/565

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 K / 340 770 5	(22)	17.05.90	(44)	19.03.92
(31)	P3916381.4	(32)	17.05.89	(33)	DE

(71) siehe (73)
 (72) Henderson, David, Dr., DE; Baum, Michael, Prof., GB; Colletta, Anthony A., Dr., GB
 (73) SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, W - 1000 Berlin, DE
 (74) Wablat, Lange, Karthaus, Anwaltssozietät, Potsdamer Chaussee 48, W - 1000 Berlin 38, DE

(54) Verwendung von Steroiden zur Herstellung von Arzneimitteln

(57) Diese Erfindung beinhaltet den Einsatz von Verbindungen, die die Synthese von TGF β stimulieren, beispielsweise in den hier beschriebenen Karzinomarten, und zwar in einem stärkeren Ausmaß als Tamoxifen bzw. dessen chemische Verbindungen. Die Erfindung eröffnet Zugang zu Mitteln, die wie Tamoxifen zur Behandlung von Tumoren verwendet werden können, deren Wachstum durch TGF β gehemmt werden kann und/oder die östrogenabhängig sind. Es wurde festgestellt, daß Gestoden (17 α -Ethinyl-17 β -hydroxy-18-methyl-4,15-estradien-3-on) überraschenderweise die Eigenschaft besitzt, die Synthese von TGF β stärker zu fördern als Tamoxifen, und daß überraschenderweise andere Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung tumorhemmende Wirkung zeigen. Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, insbesondere Gestoden, sind in der Lage, signifikant das Wachstum von östrogen-rezeptor-positiven Karzinomzellen in vitro zu hemmen; diese Fähigkeit, das Karzinomwachstum zu hemmen, geht mit einer gesteigerten Synthese von TGF β einher. Diese unerwartete Wirkung weisen Gestogene, wie Levonorgestrel (D-(-)-17 α -ethinyl-17 β -hydroxy-18-methyl-4-östren-3-on), das in seiner Struktur dem Gestoden sehr ähnlich ist, nicht auf.

Patentansprüche:

1. Verwendung von Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung zur Herstellung von Arzneimitteln für die Behandlung eines Tumors, dessen Wachstum durch TGF β gehemmt werden kann.
2. Verwendung von Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung zur Herstellung von Arzneimitteln für die Behandlung von Brustkarzinomen.
3. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Steroid Gestoden ist.
4. Verwendung nach Anspruch 2, wobei das Steroid Gestoden ist.
5. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Steroid ein Pregnen oder ein Östren ist.
6. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das Steroid ein 3-on-4,15-pregnadien oder -östradien ist.
7. Verwendung nach Anspruch 1, die weiterhin die Verabreichung eines Antiöstrogens beinhaltet.
8. Verwendung nach Anspruch 2, die weiterhin die Verabreichung eines Antiöstrogens beinhaltet.
9. Verwendung nach Anspruch 3, die weiterhin die Verabreichung eines Antiöstrogens beinhaltet.
10. Verwendung nach Anspruch 4, die weiterhin die Verabreichung eines Antiöstrogens beinhaltet.
11. Verwendung nach Anspruch 9, wobei das Antiöstrogen Tamoxifen ist.
12. Verwendung nach Anspruch 10, wobei das Antiöstrogen Tamosifen ist.
13. Verwendung nach Anspruch 3, wobei die Menge des Gestodens 0,5 bis 100 mg/Tag beträgt.
14. Verwendung nach Anspruch 13, wobei das Verhältnis von Gestoden zu Antiöstrogen 1:50 bis 50:1 beträgt.
15. Verwendung nach Anspruch 9, wobei das Gestoden und Antiöstrogen in der selben Dosiereinheit verabreicht werden.
16. Verwendung nach Anspruch 7, wobei das Antiöstrogen entweder vom Typ eines kompetitiven Östrogenantagonisten oder ein Aromatase-Inhibitor ist.
17. Kombinationspräparat, geeignet für die Behandlung eines Tumors, dessen Wachstum durch TGF β gehemmt werden kann, **dadurch gekennzeichnet**, daß es Wirkmengen eines Steroids mit einer 15,16-Doppelbindung und ein Antiöstrogen enthält.
18. Kombinationspräparat, **dadurch gekennzeichnet**, daß es ein Steroid mit einer 15,16-Doppelbindung und ein Antiöstrogen enthält.
19. Kombinationspräparat nach Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet**, daß es weiterhin eine pharmazeutisch geeignete Trägersubstanz enthält.
20. Kombinationspräparat nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet**, daß es weiterhin eine pharmazeutisch geeignete Trägersubstanz enthält.
21. Kombinationspräparat nach Anspruch 19, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Steroid Gestoden ist.
22. Kombinationspräparat nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Steroid Gestoden ist.
23. Kombinationspräparat nach Anspruch 19, daß das Steroid ein Pregnen oder Östren ist.
24. Kombinationspräparat nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Steroid ein Pregnen oder Östren ist.
25. Kombinationspräparat nach Anspruch 19, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Steroid ein 3-on-4,15-Pregnadien oder -Östradien ist.
26. Kombinationspräparat nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Steroid ein 3-on-4,15-Pregnadien oder -Östradien ist.
27. Kombinationspräparat nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß es 0,5 bis 50 mg Gestoden und 5 bis 100 mg Tamoxifen oder eine bioäquivalente Menge eines anderen Antiöstrogens enthält.

Diese Erfindung bezieht sich auf die neuartige medizinische Anwendung von Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung, speziell von Gestoden (17 α -Ethinyl-17 β -hydroxy-18-methyl-4,15-estradien-3-on), und insbesondere für die Herstellung von Pharmazeutika zur Behandlung von Karzinomen, deren Wachstum durch das Protein TGF β (Tumorstromungsfaktor β , Sporn u. a., 1986, Science 233, S. 532-534) gehemmt werden kann, insbesondere für die Herstellung von Pharmazeutika zur Behandlung des Brustkarzinoms.

Es ist bekannt, daß Triphenylethylenderivate wie z. B. Tamoxifen [(Z)-2-(4-(1,2-diphenyl-1-butenyl)-phenoxy)-N,N-dimethylethylamin] eine hohe Affinität in bezug auf den Östrogenrezeptor besitzen und als kompetitive Östrogenantagonisten wirken. Sie werden daher zur Bekämpfung von östrogenrezeptor-positiven Brustkarzinomen (vgl. Patterson u. a., 1981 Japanese Journal of Cancer Clinics, Suppl. [November], S. 157-183) eingesetzt.

Weiterhin wurde festgestellt, daß diese Verbindungen die Synthese von TGF β -Protein in Brustkarzinomzellen stimulieren (vgl. Knabbe u. a., 1987, Cell 48, S. 417-428).

Der Einfluß dieses Proteins auf das Zellwachstum hängt vom betreffenden Zelltyp ab. Das Wachstum von Fibroblasten beispielsweise wird durch TGF β stimuliert. Es wurde aber auch nachgewiesen, daß TGF β entscheidende Bedeutung für die Wachstumshemmung von Brustkarzinomzellen hat, darunter insbesondere solcher Zellen, die keine Steroidhormonrezeptoren

aufweisen. Brustkarzinome sind normalerweise von polyklonaler Struktur, d.h. sie bestehen aus einer Mischpopulation von Zellen, die typischerweise Zellen mit und ohne Rezeptoren für Steroidhormone umfaßt (vgl. King u. a., 1985, Cancer Res. 45, S. 294-304; Horwitz u. a., 1985, Recent Progress in Hormone Research 41, S. 249-316).

Es wird angenommen, daß der günstige, klinisch nachgewiesene Einfluß von Tamoxifen auf Brustkarzinomzellen einen direkten antagonistischen Effekt widerspiegelt, der vom Östrogenrezeptor übertragen wird, in Verbindung mit einem zusätzlich vorhandenen Effekt, der auf die erhöhte Synthese von TGF β zurückzuführen ist.

Bisher waren außer Tamoxifen und dessen Verbindungen keine anderen Substanzen bekannt, die eine günstige Wirkung (d.h. steigend) auf die Synthese von TGF β ausüben.

Diese Erfindung beinhaltet den Einsatz von Verbindungen, die die Synthese von TGF β stimulieren, beispielsweise in den hier beschriebenen Karzinomarten, und zwar in einem stärkeren Ausmaß als Tamoxifen bzw. dessen chemische Verbindungen. Die Erfindung eröffnet Zugang zu Mitteln, die wie Tamoxifen zur Behandlung von Tumoren verwendet werden können, deren Wachstum durch TGF β gehemmt werden kann und/oder die östrogenabhängig sind.

Es wurde festgestellt, daß Gestoden (17 α -Ethinyl-17 β -hydroxy-18-methyl-4,15-estradien-3-on) überraschenderweise die Eigenschaft besitzt, die Synthese von TGF β stärker zu fördern als Tamoxifen, und daß überraschenderweise andere Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung tumorhemmende Wirkung zeigen. Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, insbesondere Gestoden, sind in der Lage, signifikant das Wachstum von östrogen-rezeptor-positiven Karzinomzellen in vitro zu hemmen; diese Fähigkeit, das Karzinomwachstum zu hemmen, geht mit einer gesteigerten Synthese von TGF β einher. Diese unerwartete Wirkung weisen Gestogene, wie Levonorgestrel (D-(-)-17 α -ethinyl-17 β -hydroxy-18-methyl-4-östro-3-on), das in seiner Struktur dem Gestoden sehr ähnlich ist, nicht auf.

Gegenstand der Erfindung ist daher die Verwendung von Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung zur Herstellung von Arzneimitteln für die Behandlung eines Tumors, dessen Wachstum durch TGF β gehemmt werden kann.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung zur Herstellung von Arzneimitteln für die Behandlung von Brustkarzinomen.

Besonders bevorzugte Ausgestaltungsformen der erfindungsgemäßen Verwendung zeichnen sich dadurch aus, daß

- das Steroid Gestoden ist,
- das Steroid ein Pregnen oder ein Östren ist,
- das Steroid ein 3-on-4,15-pregnadien oder -östradien ist,
- weiterhin die Verabreichung eines Antiöstrogens erfolgt,
- das Antiöstrogen Tamoxifen ist,
- das Antiöstrogen Tamosifen ist,
- die Menge des Gestodens 0,5 bis 100 mg/Tag beträgt,
- das Verhältnis von Gestoden zu Antiöstrogen 1:50 bis 50:1 beträgt,
- das Gestoden und Antiöstrogen in der selben Dosiereinheit verabreicht werden,
- das Antiöstrogen entweder vom Typ eines kompetitiven Östrogenantagonisten oder ein Aromatase-Inhibitor ist.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Kombinationspräparat, geeignet für die Behandlung eines Tumors, dessen Wachstums durch TGF β gehemmt werden kann, welches sich dadurch auszeichnet, daß es Wirkmengen eines Steroids mit einer 15,16-Doppelbindung und ein Antiöstrogen enthält.

Besonders bevorzugte Ausgestaltungsformen des erfindungsgemäßen Kombinationspräparats zeichnen sich dadurch aus, daß

- es ein Steroid mit einer 15,16-Doppelbindung und ein Antiöstrogen enthält,
- es weiterhin eine pharmazeutisch geeignete Trägersubstanz enthält,
- das Steroid Gestoden ist,
- das Steroid ein Pregnen oder Östren ist,
- das Steroid ein 3-on-4,15-Pregnadien oder -Östradien ist,
- es 0,5-50 mg Gestoden und 5-100 mg Tamoxifen oder eine bioäquivalente Menge eines anderen Antiöstrogens enthält.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der radiorezeptorischen Messungen zum TGF β -Nachweis in T47D-Brustkarzinomzellen dargestellt, die in vitro mit Ethanol (0,1%) bzw. jeweils mit 10 nM Dexamethason (9 α -Fluoro-16 α -methyl-11 β , 17,21-trihydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion) oder (zur Kontrolle) Östradiol sowie jeweils mit 500 nM der Gestagene 3-Keto-desogestrel (17 α -Ethinyl-17 β -hydroxy-18-methyl-11-methylen-4-östren-3-on), Levonorgestrel, Medroxyprogesteronacetat (17 β -Acetoxy-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion), R5020 (17 α ,21-Dimethyl-19-nor-4,9-pregnadien-3,20-dion) und Gestoden sowie zu Vergleichszwecken mit Tamoxifen oder Toremifen behandelt wurden. Die Behandlung mit den genannten Versuchssubstanzen und die Feststellung von TGF β erfolgte folgendermaßen:

1. Behandlung der Zellen

T47D-Zellen (Keydar u. a., [1979] Eur. J. Cancer 15, S. 659-670) wurden unter Zugabe von:

- 2 mmol/l L-Glutamin
- MEM-Vitaminen (Sigma Chemical Co.)
- 5 Mikrogramm/ml Insulin (bovin)
- 5 Mikrogramm/ml Transferrin (human)
- 2 Mikrogramm/ml Fibrohektin (bovin)
- 10 ng/ml EGF (Epidermaler Wachstumsfaktor [bovin])
- 0,5 nMol/l CuSO $_4$
- 1 nMol/l Natriumselenit

bei 37°C in serumfreier Kultur (Dulbecco-MEM ohne Phenolrot) gehalten. Anschließend wurden die Zellen in dieser Kultur 24 Stunden lang mit einer der oben genannten Substanzen behandelt. Dazu wurden diese in Ethanol aufgelöst und dann den Kulturen zugegeben. Die Endkonzentration wurde in allen Kulturen auf 0,1% eingestellt. Zur Kontrolle wurde eine lediglich mit

Ethanol versetzte Kultur verwendet. Danach wurde die über der Kultur stehende Flüssigkeit abgeschöpft, 50 Mikrogramm/ml Rinderserumalbumin (BSA) zugesetzt, lyophilisiert und in etwa 10 ml phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung (PBS) aufgelöst. Diese Lösungen wurden bei 4°C mit 50 mM/l Ammoniumacetat sechsmal 12 Stunden lang dialysiert. Die Dialysate wurden nochmals lyophilisiert.

2. Kompetitive radiorezeptorische Messung

Menschliche Lungenkrebszellen vom Typ A549 (erhältlich bei ATCC) wurden als Quelle für die zur Messung erforderlichen Rezeptoren verwendet. In Cluster-Schalen mit je 24 Vertiefungen wurden 18 bis 24 Stunden vor dem Versuch $1,8$ bis $2,0 \times 10^5$ Zellen pro Vertiefung in Dulbecco-MEM mit 5% fötalem Kalbsserum (Bedingungen: Inkubator, 37°C, Atmosphäre: 5% CO₂ in Luft, Luftfeuchtigkeit: 100%) kultiviert. Anschließend wurden die Zellen mit 1 ml Pufferlösung A (Dulbecco-MEM 25 mM HEPES, pH-Wert 7,4, 0,1% BSA) pro Vertiefung gespült. Die unter Punkt 1 nach der Dialyse hergestellten Lyophilisate wurden in 1–2 ml Pufferlösung A aufgelöst. Auf die gespülten Zellen wurden 0,2 ml dieser Lösung oder Verdünnungen dieser gegeben. Die Zellen wurden dann 2 Stunden lang bei Zimmertemperatur inkubiert (5% CO₂ in Luft) und anschließend zweimal mit eiskalter Pufferlösung B (Hanksche gepufferte physiologische Kochsalzlösung mit 0,1% BSA) gespült. Danach wurden 0,2 ml einer 50-pM-Lösung des ¹²⁵Jod-TGFβ (etwa 50000 cpm pro Vertiefung) in Pufferlösung A in jede Vertiefung gegeben. Die Proben wurden erneut zwei Stunden lang bei Zimmertemperatur wie oben beschrieben inkubiert und anschließend mit 1 ml eiskalter Pufferlösung B gespült. Nach der Zellschälung bei 37°C mit 0,75 ml Pufferlösung C (1% Trinitrotoluen $\times$ 100, 10% Glycerol, 2 mM HEPES, pH-Wert = 7,4) pro Vertiefung, wurde die Bindungsradioaktivität in einem Gammazähler gemessen. Die Bestimmung der TGFβ-Konzentration in den einzelnen Proben erfolgte durch Vergleich mit einer Eichkurve, die mit reinem TGFβ erstellt worden war. Die auf diese Weise bestimmte TGFβ-Konzentration wurde auf die Anzahl der verwendeten Brustkarzinomzellen vom Typ T47D umgerechnet (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1
Produktion von TGFβ durch Brustkarzinomzellen vom Typ T47D in vitro

Versuchssubstanz	ng TGFβ/10 ⁶ Zellen · 24 Stunden
Ethanol 0,1 %	0,2*
Dexamethason, 10 nM	0,2
Östradiol, 10 nM	0,2
Gestagene, 500 nM	
3-Ketodesogestrel	0,2
Levonorgestrel	0,2
Medroxyprogesteronacetat	0,2
R5020	0,2
Gestoden	$3,32 \pm 0,71^{**}$
Tamoxifen	$1,92 \pm 0,08^{**}$
Toremifen	$1,60 \pm 0,1^{**}$

* Nachweisgrenze in den Proben 0,2 ng/10⁶ Zellen

** Durchschnittswert $\pm$ Standardabweichung, n = 4

In der nachfolgenden Untersuchung wurden die Zellen außerdem auf zwei weitere Arten behandelt. Das Verfahren 1 dient dazu, die T47D- und MFC-Zellen zu screenen; mit dem Verfahren 2 wurde ein Screening der genannten gestoden-analogen Verbindungen (andere Steroide mit 15,16-Doppelbindung) vorgenommen, wobei nur die T47D-Zell-Linie verwendet wurde.

Verwendete Abkürzungen:

SF = serumfrei
DCC-FCS = mit Dextranschle behandeltetes fötales Kalbsserum
GF/C = Glasfaserfilter/C

Vorfahren 1

Die Zellen ($10^5/25\text{-cm}^2$ -Kolben) wurden in 5 ml phenolrotfreie Nährlösung geimpft, die 5% DCC-FCS enthielt, und 4 Tage wachsen gelassen, bis 30–40% konfluiert waren. Die Monomolekularschichten wurden dann zweimal mit PBS gewaschen. Die Zellen wurden mit 5 ml SF-Medium, bestehend aus 2 mM Glutamin, 0,2 U/ml Insulin, 10 ng/ml EGF, 5 µg/ml Transferrin, 2 µg/ml Fibronectin, 1 nM Selensäure und 0,5 nM CuSO₄, pro Kolben inkubiert. Nach 24 Stunden wurde dieses durch frisches SF-Medium ersetzt, das die vierfache Menge der Versuchssubstanzen enthielt und als 1000fach konzentrierte ethanolische Lösung zur Verfügung stand (die Endkonzentration des Ethanols betrug 0,1%). Die Zellen wurden 36 Stunden später für die Messung der DNA-Synthese radioaktiv markiert.

Verfahren 2

Die Zellen wurden wie oben beschrieben in 5 ml phenolrotfreie Nährlösung geimpft, die 5% DCC-FCS enthielt, und über Nacht zwecks Anlagerung stehen gelassen. Die Nährlösung wurde entfernt und durch 5 ml SF-Medium ersetzt, das (wie oben) die vierfache Menge der Substanzen enthielt. Die Zellen wurden in Gegenwart der Substanzen weitere 6 Tage gezüchtet, wobei Auswechslungen des Mediums/der Substanzen nach 48 und 96 Stunden erfolgten. Nach Ablauf von 6 Tagen wurden die Zellen für die Messung der DNA-Synthese radioaktiv markiert.

Bei beiden o. g. Verfahren wurden die Zellmarkierung und die DNA-Ausfällung auf folgende Art und Weise vorgenommen: Für die letzten 2 Stunden der Kultivierung wurde ³H-Thymidin zu 1 µCi/ml gegeben und eine Inkubation der Zellen bei 37°C vorgenommen. Die Monomolekularschichten der Zellen wurden zweimal mit eiskaltem PBS gewaschen, geerntet und pelletiert. Die Zellpellets wurden in 1 ml Wasser resuspendiert und beschallt (50 W, 6 $\times$ 10 sekündiges Bersten auf Eis), bis mittels der Phasenkontrastmikroskopie keine intakten Zellen mehr zu sehen waren. 600 µl dieses Homogenats wurden zu 600 µl eiskalter

10%iger TCA gegeben. Zur Niederschlagsentwicklung wurde die Lösung 60 Minuten bei 4°C ruhen gelassen. Der Niederschlag wurde durch Absaugen auf GF/C-Filtern gesammelt und mit 20 ml eiskalter 5%iger TCA und im Anschluß daran mit 5 ml eiskaltem Methanol gespült. Die Filter wurden 10 Minuten bei 100°C getrocknet. Danach wurde eine Szintillationszählung vorgenommen (aus: Steroid Hormones – A Practical Approach, herausgegeben von B. Green und R. Leake. IRL Press Oxford, 1987, S. 216f.).

Verfahren 1:

Zellen vom Typ T47D:

Vergleichsprobe mit Ethanol	100 %
10 nM E2	127 ± 18 %
10 nM Dex	89 ± 14 %
10 nM DHT	97 ± 11 %
1 µM 3-Keto-Des	104 ± 12 %
1 µM MPA	87 ± 14 %
1 µM R5020	79 ± 9 %
1 µM Tamoxifen	58 ± 11 %
1 µM Gestoden	36 ± 7 % (p < 0,001 bezogen auf Vergleichsprobe)

Zellen vom Typ MCF-7:

Vergleichsprobe mit Ethanol	100 %
10 nM E2	158 ± 27 %
10 nM Dex	120 ± 16 %
10 nM DHT	105 ± 19 %
1 µM 3-Keto-Des	91 ± 11 %
1 µM MPA	80 ± 16 %
1 µM R5020	84 ± 9 %
1 µM Tamoxifen	47 ± 6 %
1 µM Gestoden	44 ± 9 % (p < 0,001 bezogen auf Vergleichsprobe)

Verfahren 2 (alle Versuche mit Zellen vom Typ T47D (n = 16)):

Vergleichsprobe mit Ethanol:	100 %
1 µM ZK 31305	13 ± 5 %
1 µM ZK 48391	24 ± 10 %
1 µM ZK 37655	9 ± 5 %
1 µM ZK 39393	15 ± 4 %
1 µM Gestoden	16 ± 5 %

ZK 31305	17 α-Chlorethynyl-17 β-hydroxy-4,15-östradien-3-on
ZK 48391	17-Hydroxy-4,15-pregnadien-3-on
ZK 37655	17 α-Chlorethynyl-17 β-hydroxy-18-methyl-11-methylen-4,15-östradien-3-on
ZK 39393	17 α-Ethynyl-11 β-chlor-17 β-hydroxy-18-methyl-4,15-östradien-3-on

Da, wie bereits erläutert, Brustkarzinome in ihrem Wachstum nicht nur durch eine gesteigerte TGFβ-Synthese in den Karzinomzellen gebremst, sondern auch durch Antiöstrogene (d. h. kompetitive Östrogenantagonisten) günstig beeinflusst werden können, wird bei der Herstellung von zur Brustkarzinombehandlung geeigneten Pharmazeutika neben Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung, insbesondere Gestoden, mindestens ein Antiöstrogen zusätzlich als Wirkstoff eingesetzt. Das Masseverhältnis beider Komponenten kann in hohem Maße variiert werden. So ist es möglich, gleiche Mengen von Steroiden mit einer 15,16-Doppelbindung, insbesondere Gestoden, und von Antiöstrogen zu verwenden. Ebenso denkbar ist aber auch, daß eine der beiden Komponenten in einem größeren Anteil zum Einsatz kommt. Die Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, insbesondere Gestoden, und die Antiöstrogene werden zusammen, getrennt, gleichzeitig und/oder nacheinander in einem Masseverhältnis von allgemein 1:50 bis 50:1, bevorzugt 1:30 bis 30:1 und speziell 1:15 bis 15:1 verwendet. Vorzugsweise können die Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, vornehmlich Gestoden, und das Antiöstrogen in einer Dosiereinheit kombiniert verabreicht werden.

Erfindungsgemäß kann Gestoden in einer Menge zwischen 0,5 mg bis 100 mg täglich verabreicht werden. Im allgemeinen ist eine Dosis von 0,5 bis 50 mg ausreichend. Bei anderen Steroiden vom Typ 15,16-en sind Analogmengen, d. h. den angegebenen Gestodenmengen biologisch äquivalente Mengen, einzusetzen. Diese angegebenen Mengen beziehen sich auf Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, vornehmlich Gestoden, die allein oder zusammen mit einem Antiöstrogen verwendet werden. Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, insbesondere Gestoden, können erfindungsgemäß analog zur Verwendung von Tamoxifen zum Einsatz kommen.

Geeignete Steroide vom Typ 15,16-en sind solche, die das Merkmal 15,16-en aufweisen, insbesondere 15,16-Pregnene, vorzugsweise 4,15-Pregnadiene, 15,16-Estrone, vorzugsweise 4,15-Östradiene, und insbesondere u. a. solche Steroide, die folgende Strukturmerkmale besitzen: 3-on, 17-hydroxy (vorzugsweise in der 17 β-Position), 17 α-ethynyl oder -chloroethynyl, 18-methyl und/oder 11 β-chloro.

Als Antiöstrogene sind kompetitive Östrogenantagonisten geeignet, d. h. Verbindungen mit dem Vermögen, Östrogen aus den entsprechenden Rezeptoren zu verdrängen, und solche Verbindungen, die durch Aromatisierung der entsprechenden nichtaromatischen Präkursoren die Biosynthese von Östrogenen verhindern (Aromataseinhibitor).

Als kompetitive Antiöstrogene sind alle bekannten kompetitiven Antiöstrogene geeignet, die die o. g. Bedingungen erfüllen. Sie können in den etwa gleichen Mengen wie die schon handelsüblichen Antiöstrogene eingesetzt werden, d. h. die geeignete tägliche Dosis beträgt 5–100 mg für Tamoxifen bzw. die biologisch äquivalente Menge eines anderen Antiöstrogens. Als nicht-steroidale Antiöstrogene sind folgende zu nennen:

Tamoxifen = (Z)-2-[p-(1,2-Diphenyl-1-butenyl)-phenoxy]-N,N-dimethyl-ethylamin.
 Toremifen = (Z)-2-[p-(1,2-Diphenyl-1-w-chlorobutenyl)-phenoxy]-N,N-dimethylethylamin.
 Nafosidin = 1-2-[4-(6-Methoxy-2-phenyl-3,4-dihydro-1-naphthyl)-phenoxy]-ethylpyrrolidinhydrochlorid
 Mer 25 = 1-[p-(2-Diethylaminoethoxy)-phenyl]-2-(p-methoxyphenyl)-1-phenylethanol sowie Verbindungen vom Typ
 1,1,2-Triphenylbut-1-en, insbesondere das 1,1-bis(3'-acetoxyphenyl)-2-phenyl-but-1-en (J. Cancer Res. Clin. Oncol.
 [1986], 112, S. 199-124).

Als Steroid-Antiöstrogene sind weiterhin geeignet:

11 α -Methoxy-17 α -ethinyl-1,3,5(10)-östratrien-3, 17 β -diol, 16 β -Ethylöstrodiol und 11-(3,17 β -dihydroxy-1,3,5(10)-östratrien-7 α -yl)-undekansäure-(N-butyl-N-methyl)-amid (Europäische Patentanmeldung EP-A 0138504).

Als Aromatase-Inhibitoren sind alle Verbindungen geeignet, die die Bildung von Östrogenen aus deren Präkursoren verhindern, so z. B. das in der Deutschen Auslegeschrift 3322285 beschriebene 1-Methyl-androsta-1,4-dien-3,17-dion, das im Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism (Zeitschrift für klinische Endokrinologie und Stoffwechsel), 49, 672 (1979) beschriebene Testolacton (17 α -Oxa-D-homoandrosta-1,4-dien-3,17-dion), die in „Endocrinology“ 1973, Bd. 92, Nr. 3, S. 874 beschriebenen Verbindungen Androsta-4,6-dien-3,17-dion, Androsta-4,6-dien-17 β -ol-3-onacetat, Androsta-1,4,6-trien-3,17-dion, 4-Androsten-19-chloro-3,17-dion, 4-Androsten-3,6,17-trien, die in der Deutschen Auslegeschrift 3124780 beschriebenen Steroide mit Alkynylgruppen an C₁₉, die in der Deutschen Auslegeschrift 3124719 beschriebenen 10-(1,2-Propadienyl)-steroiden, die in der Europäischen Patentanmeldung mit der Veröffentlichungsnummer 100566 beschriebenen 19-Thioandrostanderivate, das in „Endocrinology“ 1977, Bd. 100, Nr. 6, S. 1684 und im US-Patent 4235093 beschriebene 4-Androsten-4-ol-3,17-dion und seine Ester, die in der Deutschen Auslegeschrift 3539244 beschriebenen 1-Methyl-15 α -alkyl-androsta-1,4-dien-3,17-dione, die in der Deutschen Auslegeschrift 3644358 beschriebenen 10 β -Alkynyl-4,9(11)-östradienderivate und das in der Europäischen Patentanmeldung 0250262 beschriebene 1,2 β -Methylen-6-methylen-4-androsten-3,17-dion.

Als nicht-steroidale Aromatase-Inhibitoren wären beispielsweise das [4-(5,6,7,8-Tetrahydroimidazo[1,5a]-pyridin-5-yl)]benzonitrilmonohydrochlorid (Cancer Res., 48, S. 834-838, 1988) zu nennen oder ... (hier bricht der Satz im engl. Original ab, d. Ü.).

Typische Dosierungen sind 1-1000 mg 1-Methyl-androsta-1,4-dien-3,17-dion täglich bzw. die biologisch äquivalenten Dosierungen anderer Aromatase-Inhibitoren.

Steroide mit einer 15,16-Doppelbindung, vornehmlich Gestoden, und antiöstrogen-aktive Verbindungen können Säugetieren, einschließlich Menschen, beispielsweise lokal, äußerlich, subkutan, enteral oder parenteral verabreicht werden. Für die enterale Verabreichung eignen sich Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Suspensionen oder Lösungen, die auf übliche Art und Weise mit den bei galenischen Heilmitteln herkömmlichen Zusätzen und Trägersubstanzen hergestellt werden können. Für lokale bzw. äußerliche Anwendung eignen sich Vaginalsuppositorien oder transdermale Anwendungsformen, wie z. B. Hautpflaster.

Es wird davon ausgegangen, daß ohne weitere Ausführungen ein Fachmann dieses Gebietes die vorliegende Erfindung mit Hilfe der vorangegangenen Beschreibungen allumfassend nutzen kann.

Die vollständige Offenbarung aller Anmeldungen von vorstehend oder nachfolgend genannten Patenten und Veröffentlichungen, insofern zutreffend, sowie der entsprechenden westdeutschen Anmeldung Nr. P 3916381.4 sind hiermit durch Literaturverweis einbezogen.

Ausgehend von der vorangegangenen Beschreibung ist ein Fachmann dieses Gebietes ohne weiteres in der Lage, die wesentlichen Inhalte dieser Erfindung zu erfassen und - ohne von deren Geist und Umfang abzuweichen - entsprechend den vielfältigen Verwendungszwecken und Bedingungen Veränderungen und Modifizierungen der Erfindung vorzunehmen.