



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 08 917 T2** 2006.12.28

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 362 591 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 08 917.8**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 014 193.1**

(96) Europäischer Anmeldetag: **10.04.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **19.11.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **07.12.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **28.12.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/56** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

15042 P **11.04.1996** **US**

18985 P **04.06.1996** **US**

(73) Patentinhaber:

Loria, Roger, Richmond, Va., US

(74) Vertreter:

**WINTER, BRANDL, FÜRNISS, HÜBNER, RÖSS,
KAISER, POLTE, Partnerschaft, 85354 Freising**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

LORIA, Roger M., Richmond, US

(54) Bezeichnung: **Verwendung einer Zusammensetzung enthaltend 5-Androsten-3 β , 17 α -diol**

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

Hintergrund der Erfindung:

Gebiet der Erfindung:

[0001] Diese Erfindung betrifft das Gebiet der Pharmazeutika für Tumor-inhibierende Wirkungen. Es wird hierin gelehrt, dass das 5-Androsten $3\beta,17\alpha$ diol (α AED), dessen Ester und Ether Tumor-inhibierende Wirkungen erzielen.

Beschreibung des Standes der Technik:

[0002] Mifepristone (RU486) wird als Progesteron Rezeptor Antagonist (siehe US Patent 4,386,085, auf dessen Gesamtheit hiermit voll inhaltlich Bezug genommen wird) verwendet, und es wurde gezeigt, dass es einen Nutzen, sowohl als Abtreibungsmittel, hat, als auch dass es zur Behandlung von Steroid-abhängigem Brustkrebs nützlich ist.

[0003] Flutamid, was in US Patent Nr. 3,847,988 (auf das hiermit voll inhaltlich Bezug genommen wird) offenbart wurde, ist ein Antiandrogen und wurde verwendet, um Prostatakrebs zu behandeln, normalerweise in Verbindung mit Östrogen.

[0004] US Patent 2,521,586 von Levy et al., lehrt die Herstellung des 17-Monobenzoatesters des Androstendiols. Keine Verwendung von 5-Androsten $3\beta,17\alpha$ diol (α AED) wird darin gelehrt.

[0005] Peat lehrt in US Patent 4,628,052 einen Genus, welcher fraglicherweise das α AED mit einschließen könnte. Jedoch erfordern alle Beispiele und alle namentlich erwähnten Verbindungen eine Keto-Gruppe. Daher ist es vernünftig zu schließen, dass das α AED nicht darin vorgesehen ist.

[0006] Tindall lehrt in US Patent Nr. 2,845,381 kosmetische Zusammensetzungen, die das α AED enthalten. Keine medizinischen Zusammensetzungen, die für die innere Verwendung oder zu medizinischen Zwecken angemessen sind, werden darin vorgeschlagen.

[0007] US Patent 4,882,322 von Johnson et al. lehrt substituiertes 5-Androsten $3\beta,17\beta$ diol um die Umwandlung von Androgenen zu Östrogenen zu regulieren oder zu inhibieren. Vom α AED wird darin nichts gelehrt.

[0008] Swartz et al. in US Patent 4,898,694 lehrt eine sehr große Gruppe von Verbindungen, welche substituierte Androstendiole mit einschließen. Jedoch schlägt Swartz weder das α AED noch die Ester und Ether, die darin beansprucht sind, zu irgendeinem Zweck vor.

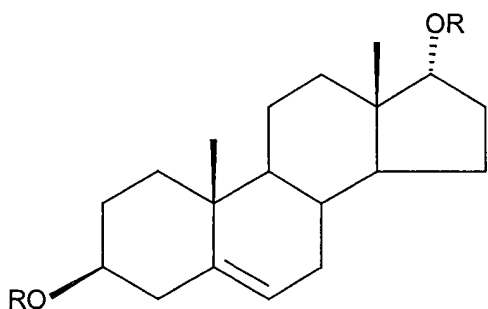
[0009] Loria in US Patenten 5,206,008, 5,277,907, 5,387,583, 5,461,042 und 5,478,566 lehrt, dass das 5-Androsten $3\beta,17\beta$ diol (β RED) und 5,-Androsten $3\beta,7\beta,17\beta$ triol (AET) die Immunantwort verstärken und dass sie ebenso nützlich sind, um den bedauerlichen Wirkungen der Bestrahlung und der Chemotherapie entgegenzuwirken und dass sie die antiproliferativen Wirkungen von Hydrokortison puffern. Keins dieser Patente lehrt oder schlägt die Verwendung von α AED vor. Wie darin gelehrt wird, ist das β AED am wirkungsvollsten, wenn es auf solch eine Art und Weise verabreicht wird, dass es das Gewebe mit ektodermaler Herkunft kontaktiert.

Zusammenfassung der Erfindung:

[0010] Die vorliegende Erfindung stellt ein Mittel zum Beschleunigen der Zellalterung und des programmierten Zelltods in Tumorzellen zur Verfügung. Die Praxis der Erfindung schließt die Verabreichung von $3\beta,17\alpha$ Androsten diol (auf welche in dieser Anmeldung als 17α AED oder einfach als α AED Bezug genommen wird) und dessen Ester und Ether mit ein.

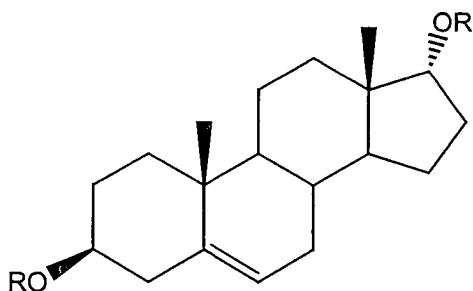
Beschreibung der Erfindung:

[0011] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von 5-Androsten- $3\beta,17\alpha$ -diol (hierin α AED oder 17α AED genannt), dessen Ester und Ether, um Wachstum zu inhibieren und die Zellalterung zu beschleunigen, um Apoptose und den Tod von Tumorzellen zu induzieren als ein Mittel zur Behandlung von böswilligen Tumoren. Die aktiven Mittel der Erfindung können ebenso als Verhütungsmittel oder als Abtreibungsmittel verwendet werden. Die aktiven Mittel haben die Struktur:



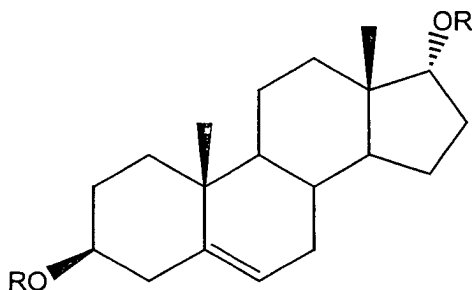
wobei R H, Alkenyl mit 2 bis 8 Kohlenstoffen, Alkyl mit 1 bis 8 Kohlenstoffen, Phenylalkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffen, Phenyl oder COR_2 , wobei R_2 H ist; Alkyl mit 1 bis 8 Kohlenstoffen, Alkenyl mit 2 bis 8 Kohlenstoffen, Phenylalkyl, wobei das Alkyl 1 bis 4 Kohlenstoffe (einschließlich Benzyl) hat oder Phenyl sein kann. Jeglicher Phenylrest kann bis zu drei Substituenten haben, ausgewählt aus Hydroxy, Carboxy mit 1 bis 4 Kohlenstoffen, Halo, Alkoxy mit 1 bis 4 Kohlenstoffen, Alkyl mit 1 bis 4 Kohlenstoffen oder Alkenyl mit 2 bis 4 Kohlenstoffen und wobei jegliches Alkyl ein geradkettiges oder ein verzweigtes sein kann oder das Alkyl vollständig oder teilweise cyclisiert sein kann.

[0012] Gemäß einer ersten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird eine Verwendung einer Verbindung zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung eines Neoplasmas zur Verfügung gestellt, wobei die Verbindung $3\beta,17\alpha$ -Dihydroxyandrost-5-en (α -AED) ist oder wobei die Verbindung die folgende Struktur aufweist



wobei R gleich H, C_1 - C_8 -Alkyl, C_2 - C_8 -Alkenyl, Phenylalkyl von 1-4 Kohlenstoffen, Phenyl und COR_2 sein kann, wobei R_2 gleich H, C_1 - C_8 -Alkyl, C_2 - C_8 -Alkenyl, Phenylalkyl, wobei das Alkyl 1-4 Kohlenstoffe besitzt, oder Phenyl ist, und jede Phenylgruppierung bis zu drei Substituenten besitzen kann, die ausgewählt sind aus Hydroxy, C_1 - C_4 -Carboxy, Halogen, C_1 - C_4 -Alkoxy, C_1 - C_4 -Alkyl oder C_2 - C_4 -Alkenyl, und wobei jedes Alkyl eine gerade Kette, eine verzweigte Kette sein kann oder das Alkyl vollständig oder teilweise cyclisiert sein kann.

[0013] Gemäß einer zweiten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird eine Verwendung einer Verbindung zur Herstellung eines Medikaments zur Inhibierung des Wachstums von neoplastischen Zellen zur Verfügung gestellt, wobei die Verbindung $3\beta,17\alpha$ -Dihydroxyandrost-5-en (α -AED) ist oder wobei die Verbindung die folgende Struktur aufweist



wobei R gleich H, C_1 - C_8 -Alkyl, C_2 - C_8 -Alkenyl, Phenylalkyl von 1-4 Kohlenstoffen, Phenyl und COR_2 sein kann, wobei R_2 gleich H, C_1 - C_8 -Alkyl, C_2 - C_8 -Alkenyl, Phenylalkyl, wobei das Alkyl 1-4 Kohlenstoffe besitzt, oder Phenyl ist, und jede Phenylgruppierung bis zu drei Substituenten besitzen kann, die ausgewählt sind aus Hydroxy, C_1 - C_4 -Carboxy, Halogen, C_1 - C_4 -Alkoxy, C_1 - C_4 -Alkyl oder C_2 - C_4 -Alkenyl, und wobei jedes Alkyl eine gerade Kette, eine verzweigte Kette sein kann oder das Alkyl vollständig oder teilweise cyclisiert sein kann.

[0014] Die bevorzugte Verbindung, die in der ersten und zweiten Ausführungsform verwendet wird, ist

3 β ,17 α -Dihydroxyandrost-5-en (α -AED).

[0015] Der zweite aktive Inhaltsstoff ist vorzugsweise ein Anti-Androgen oder ein Anti-Östrogen, ein Harnstoff, ein alkylierendes Mittel, ein Anti-Metabolit, ein DNA interkalierendes Mittel, ein Interferon, ein Nukleinsäureinhibitor, ein Vinca-Alkaloid, RU486 oder 3 β ,17 β -Dihydroxyandrost-5-en (β -AED).

[0016] Es wurde gefunden, dass diese aktiven Inhaltsstoffe, wenn sie wie hierin beschrieben verabreicht werden, Zellwachstum inhibieren. Das α AED wird in ausreichenden Dosierungen verabreicht, um eine Blutkonzentration von 5 bis zu 10 000 nM zur Verfügung zu stellen, wenn es systemisch gegeben wird. Eine bevorzugtere Blut- oder Gewebeflüssidkonzentration befindet sich innerhalb des Bereiches von 10 bis zu 10 000 nM. Die Dosierung wird mit dem Zelltyp, der inhibiert werden soll, variieren. Das Verabreichungsverfahren wird von der Lokalisierung der Zielzellen abhängen. Solche Mittel wie parenterale oder orale Verabreichung sind ebenfalls angemessen. Das α AED kann ebenso durch einen Applikator oder in einem Spray an Gewebe während der Operation verabreicht werden. Zusammensetzungen, die die aktiven Inhaltsstoffe enthalten, die hierin gelehrt werden, können vaginal oder rektal entweder durch Einflößung einer flüssigen Zusammensetzung oder auf Trägern, wie Schwämmen, verabreicht werden.

[0017] Andere bevorzugte Verabreichungsverfahren beinhalten bukkale, sublinguale, nasale oder endotracheale Wege. Sprays oder Nebel können für eine solche Verabreichung nützlich sein. Weiterhin können Sprays für die Verabreichung an das operative Gebiet während der Operation nützlich sein.

[0018] Beispielsweise können Sprays verwendet werden, um die peritoneale Höhle oder die thoraische Höhle während der Operation zu kontaktieren.

[0019] Zusammensetzungen der Erfindung können ebenso an die intestinale Mukosa auf oralem oder rektalem Wege verabreicht werden. Zäpfchen, Lösungen für die Verwendung als Retentionsdarmspülungen und Cremes oder Gele sind angemessene Mittel für die Verwendung bei rektaler Verabreichung.

[0020] Zusammensetzungen der Erfindung können ebenso an die vaginale Mukosa unter Verwendung von Cremes, Gelen, Zäpfchen oder Spüllösungen verabreicht werden. Die Zusammensetzungen können in der Form von prophylaktischen vaginalen Präparationen sein oder können in Gleitmitteln oder Kondomen verwendet werden. Gele und Cremes können ebenso durch Anwendung auf ein zervikales Diaphragma verabreicht werden, welches, wenn es an Ort und Stelle ist, für einen ausgedehnten Kontakt mit der Zervix sorgt.

[0021] Zum Zwecke der Verabreichung in eine Körperöffnung können die Zusammensetzungen der Erfindung über ein flexibles Röhrchen an den Zielort verabreicht werden. Wie vorher aufgezeigt können die Zusammensetzungen, die α AED enthalten, als Intimduche oder als Retentionsdarmspülung verabreicht werden. Andere Zielorte beinhalten die Blase, den Uterus, die Trachea, die Nasopharynx, Sinus oder (über den Nasengang) die Hypophyse.

[0022] Das Trägersystem, das in einem gegebenen Moment verwendet wird, wird von der Art der Verabreichung abhängen. Die aktiven Stoffe sind lipophile Verbindungen. Lösungsmittel und Träger für lipophile Steroide, die im Stand der Technik bekannt sind, sind angemessen für die Verwendung bei den Zusammensetzungen, die α AED oder Ester und Ether des α AED enthalten. Beispiele solcher Träger sind Glykole, sowie Polypropylenglykol, Polyethylenglykol, Ethanol, DMSO und Cyklodextrine (insbesondere die amorphen Cyklodextrine). Cyklodextrine werden durch die bukkale Mukosa in die Zirkulation leicht eintreten. Dieses Verfahren ist insbesondere für die Verabreichung als ein Mittel zum Vermeiden von intravenöser Verabreichung unter Umgehung der Leber geeignet. Andere Vehikel, die in Erwägung gezogen werden sollten, beinhalten Fettsäureester der Polyoxyethylensorbitale (Tweens) oder Sorbitan (Spans) für die Präparation von Emulsionen.

[0023] Die Zusammensetzungen, die hierin gelehrt werden, können verwendet werden, um die meisten Neoplasmen beispielsweise für die Verwendung bei der Behandlung von Neoplasmen, einschließlich derjenigen der blutbildenden Organe, der Leber, Pankreas, Schilddrüse, Nebenniere, Hypophyse, Eierstöcken, Hoden, Brust, zentrales Nervensystem (einschließlich Gehirn, Rückenmark), Knochen, Bindegewebe, Lungen, Leber, dem Gastro-Intestinal System, Bindegewebe, Uterus, mukose Membranen, Mund und Zunge, der Auskleidung des Bauchfelles, den lymphatischen und den sensorischen Organen.

Materialien und Verfahren:

[0024] Das β AED, 17 beta-Östradiol und Tamoxifen wurden von Sigma Chemical Company (St. Louis, Mis-

souri) erhalten. Das α AED und Flutamid wurden von Steriloid, Inc. (Walton, New Hampshire) und von Schering Corporation (Kenilworth, New Jersey), respektive, erhalten. Alle Steroide außer β AED wurden in Ethanol gelöst. β AED wurde in DMSO:ETHOL (1:1 v/v) gelöst. Stammlösungen wurden gefiltert und bei 4 °C gehalten. Zum Testen, wurden die Stammlösungen ins Medium direkt vor der Verwendung verdünnt. Die finale Konzentration der Vehikel betrug immer < 0,2 % in allen Proben und diese Konzentration hatte keine signifikante zytotoxische Wirkung auf die humane Brustzellkrebslinie, die als ZR-75-1 bezeichnet wird (American Type Culture Collection) wie bestimmt durch Trypanblau Exklusion.

[0025] Die ZR-75-1 Zelllinie (Passage 89) wurde von American Type Culture Collection (Rockville, Maryland) erhalten. Die Zellen wurden im RPMI-1640 Medium kultiviert, enthaltend 10 % hitzeinaktiviertes fötales Rinderserum, 200 μ M L-Glutamin, 10 mM HEPES, 1,5 U/ml Penicillin und 1,5 μ g/ml Streptomycin in 5 % CO₂ bei 37 °C. Die Zellen wurden zweimal wöchentlich passiert.

Zellwachstum zum Testens

[0026] Die Zellen wurden zunächst mit einer initialen Dichte von 1×10^5 Zellen pro ml vierfach in 24 Multi-Well Flachbodenplatten (Costar) geseeded. Den Zellen wurde dann erlaubt, sich anzuhafte und in Phenolrot-freiem RPMI 64 Medium, angereichert mit 10 % hitze-inaktiviertem fötales Rinderserum (FCS), 200 μ M L-Glutamin, 10 mM HEPES, 2,5 U/ml Penicillin und 2,5 μ g/ml Streptomycin in 5 % CO₂ bei 37 °C zu wachsen. Nach 48 Stunden wurden vier Wells geopfert und gezählt, um die Plattierungseffizienz zu bestimmen. In den verbleibenden Wells wurde das Medium durch Aspiration entfernt, und die Zellen in jedem Well wurden dem Medium, das das spezifische Steroid enthält, ausgesetzt. Die Kontrollen, die nur Medium oder Medium mit dem Vehikel enthalten, wurden ebenso präpariert. In allen Proben wurde das Medium alle 48 Stunden zu einem vorher etablierten Zeitpunkt gewechselt. Die Zellen wurden durch Trypsinisierung entfernt und gewaschen. Zellzahl und Lebensfähigkeit wurden durch Trypanblau-Exklusion unter Verwendung eines Hämocytometers bestimmt. Parallele Kulturen wurden ebenso laufen gelassen, um die Zellproliferation zu bestimmen.

Zellproliferations-Assays:

[0027] Für Zellproliferations-Assays wurden Zellsuspensionen durch Trypsinisierung von Zellen aus Kulturen hergestellt, die gemäß den Verfahren, die oben beschrieben sind, hergestellt wurden. Zelllebensfähigkeit wurde durch Trypanblau-Exklusion bestimmt. Die Zellen wurden dann in Flachboden 96 Well Mikrotiter Platten in einer Dichte von 2×10^3 Zellen/Well geseeded, und es wurde ihnen erlaubt, 48 Stunden lang zu rasten, um anzuhafte. Nicht angehaftete tote Zellen wurden durch Aspiration entfernt. Die Zellen wurden dann im Medium ohne Phenolrot wachsen gelassen. Einige der Medien enthielten Zusatzstoffe, wie oben aufgezeigt. Die aktiven Inhaltsstoffe oder die Vehikelkontrolle wurde zu dem Medium hinzugefügt. Die Zellen wurden dann sechs Tage lang wachsen gelassen. Das Medium wurde in den Proben alle 48 Stunden gewechselt. Am Tag 6 wurden die Zellen mit 1 μ Ci [³J]-Thymidin für die letzten sechs Inkubationsstunden gepulst, vor dem Ernten auf Glasfiltern unter Verwendung eines HPD Zellernters (Cambridge Technology, Watertown, Massachusetts) und auf einem KLB Szintillationszähler gezählt.

[0028] Initiale Tests wurden ausgeführt, um die optimale (maximale) Dosis von α AED zu bestimmen, die erforderlich ist, um das Wachstum der ZR-75-1 Zellen in vitro zu inhibieren, wie bestimmt durch tritierte Thymidin Inkorporation. Es wurde gefunden, dass die Behandlung von ZR-75-1 Zellen mit α AED in Dosen, die sich von 3,13 nM bis zu 50 nM bewegen, zu einer biphasischen Wirkung auf das Wachstum der ZR-75-1 Zellen führt, wenn es mit der Vehikelkontrolle nach sechs Tagen verglichen wird. Das α AED stimulierte die Proliferation von ZR-75-1 Zellen in Konzentrationen zwischen 6,25 und 12,5 nM (P < 0,01) im Vergleich mit der Vehikelkontrolle. Bei Konzentrationen von 25 nM oder größer inhibierte das α AED signifikant das Wachstum von ZR-75-1 Zellen, und diese anti-proliferative Wirkung trat in einer Dosis und in einer zeitabhängigen Art und Weise bei einem halb-maximalen (50 nM) und einem maximalen Dosispegel (100 nM) auf. Um sicherzustellen, dass die Inhibition nicht in der Zytotoxizität begründet lag, wurde die Zellzahl und die Lebensfähigkeit durch Trypanblau-Exklusion überprüft. Die Hinzufügung von 17 α AED war nicht toxisch für die Zellen. Im Gegensatz zu α AED hatte das β AED alleine in 200 nM Konzentrationen keine anti-proliferative Wirkung auf das Wachstum der ZR-75-1 Zellen.

Beispiel 1:

[0029] ZR-75-1 Zellen (2×10^3) wurden behandelt, wie oben beschrieben, über eine Sechs-Tage-Zeitperiode mit unterschiedlichen Konzentrationen von α AED oder mit Reinvehikelkulturen. Das Medium wurde alle 48 Stunden gewechselt. Die Zellen wurden mit ³H-Thymidin für die letzten sechs Stunden der Inkubation gepulst.

[0030] Die Resultate zeigten eine ansteigende Proliferation bei 6,25 nM mit absinkender Zellproliferation bei 25 nM und deutlicher Absenkung bei Konzentrationen von 50 nM-Konzentrationen.

Beispiel 2:

[0031] Zellen wurden behandelt wie in Beispiel 1, außer dass in einigen Proben eine Kombination von 17 α AED und β AED verwendet wurde. Die Konzentrationen des α AED variierten, während die Konzentrationen des β AED in den Proben, die die Kombination von Mitteln enthielten, konstant bei 2,5 nM gehalten wurde. Die Zellen wurden mit ^3H -Thymidin für die letzten sechs Stunden gepulst.

[0032] Die Zellproliferation in Kulturen, die α AED in der Gegenwart von β AED enthielten, zeigten abgesenkte Proliferation bei allen α AED Konzentrationen.

Beispiel 3:

[0033] Wirkungen von α AED auf das Wachstum von ZR-75-1 Zellen in der Gegenwart von Östradiol wurden studiert. Zellen, die mit einer ansteigenden Konzentration von α AED in der Gegenwart oder Abwesenheit von 1 nM Konzentration von Östradiol über eine Sechs-Tage-Zeitperiode behandelt wurden, wurden studiert. Die Zellen wurden mit einer ansteigenden Konzentration von α AED in der Gegenwart von 1 nM Konzentration von Östradiol über eine Sechs-Tage-Zeitperiode behandelt, wobei das Medium alle 48 Stunden gewechselt wurde. Die Zellen wurden mit ^3H -Thymidin die letzten sechs Stunden der Inkubation gepulst. Bei höheren Dosen von α AED unterdrückte das α AED die Proliferation sogar in der Gegenwart von Östradiol. Daher kann Östradiol nicht wirksam die anti-proliferative Aktivität von α AED auf diese humane Brustkrebszelllinie überwinden.

Beispiel 4:

[0034] Wirkungen von α AED auf das Wachstum von ZR-75-1 Zellen in der Gegenwart von Flutamid, einem Anti-Androgen, wurden unter Verwendung des Verfahrens aus Beispiel 3 studiert, außer dass Östradiol durch Flutamid ersetzt wurde. Bei Konzentrationen von $> 6,25$ nM Konzentrationen von α AED waren die anti-proliferativen Wirkungen stark erhöht in der Gegenwart von Flutamid. Daher scheint Flutamid synergistisch mit α AED zu agieren, um anti-proliferative Wirkungen zu produzieren. Daher sollte die Verabreichung von α AED mit Antiandrogenen, insbesondere bei der Behandlung von Östrogen-abhängigen bösartigen Tumoren, so wie Brustkrebs, als eine besonders bevorzugte Behandlungsoption in Erwägung gezogen werden.

Beispiel 5:

[0035] Beispiel 5 wurde noch einmal in der Gegenwart von RU486 studiert. Wiederum wurde gezeigt, dass bei wirksamen Konzentrationen es möglich war, die Dosierung von RU486 in der Gegenwart von wirksamen Mengen von 0,1 μl Konzentrationen von α AED mit 0,5 μM Konzentrationen von RU486 abzusenken, und dass es eine synergistische Wirkung gab, die Zellproliferation abzusenken. Dieser Synergismus wurde gezeigt, noch größer bei RU486 Konzentrationen von 1 μM zu sein. Diese Kombination von aktiven Inhaltsstoffen wäre insbesondere nützlich für die Behandlung von Tumoren, welche von Östrogen oder Progesteron abhängen.

Beispiel 6:

Präparation für die Einflößung:

Inhaltsstoff	%w/w
α AED	0,01
Polypropylenglycol	13,0
Wasser	86,5

Beispiel 7:

Präparation für intravenöse Injektion:

Inhaltsstoff	Menge
α AED	1 mg
Ethanol	5 ml
Phosphat gepufferte Salzlösung Auffüllung auf	1000 ml

Beispiel 8:

[0036] Wirkungen von α AED auf das Wachstum von Lymphoid Neoplasma (P388D1 Zellen erhalten von der American Type Culture Collection) in der Gegenwart von RU486 bei Konzentrationen von 0,5 μ M und 1,0 μ M wurden studiert gemäß den Verfahren, die oben beschrieben sind. Es wurde gefunden, dass die Verwendung von α AED in Kombination mit RU486 in einer erhöhten Wirksamkeit verglichen mit der Verwendung von nur einem Mittel resultierte.

Beispiel 9:

[0037] Die Wirkungen von α AED in Dosen von 50 μ M und 100 μ M Dosen auf murine Makrophagen Myeloma Zellen (RAW 264.7, erhalten von American Type Culture Collection) wurde studiert. Bei beiden 50 μ M und 100 μ M Spiegeln gab es eine signifikante Inhibierung der Proliferation.

Beispiel 10:

[0038] Präparation für die Einflößung in die Blase zur Behandlung von Blasenkrebs:

Inhaltsstoff	Menge
α AED	10 mg
DMSO	100 ml
Halb-normale Salzlösung	900 ml

[0039] Beispiel 11: Wasser, 100 ml, wird mit 7 g β -Hydroxypropylcyclodextrin und 1 mg α AED gemischt. Füllen Sie Ampullen mit der Lösung und sterilisieren Sie. Diese Herstellung kann zu Lösungen für die Verabreichungen an die Mukosa, für orale Verabreichung und für parenterale Verabreichung hinzugefügt werden.

Beispiel 12:

[0040] Die Cyclodextrin/ α AED Präparation wird hergestellt wie oben. Das Material wird gefriergetrocknet und in sterilen Ampullen angeordnet. Das resultierende Pulver kann in Violen angeordnet werden. Der Inhalt der Violen kann dann in die nasale Höhle geschnupft werden. Es ist ebenso angemessen, den Inhalt der Violen zu lösen, und in Lösung für intravenöse oder topische Anwendung, einschließlich für die Infusion in eine Wunde anzuordnen. Es kann ebenso durch Spraysen oder Auftragen durch einen Schwamm auf den operativen Ort, so wie der abdominalen oder thoraischen Höhle, angewendet werden.

Beispiel 13:

[0041] Die Präparation aus Beispiel 12 wird verdünnt mit 100 ml Wasser. Die Präparation wird in die abdominale Höhle während und nach der Entfernung eines bösartigen Dickdarntumors gesprüht.

[0042] α AED kann an die Haut oder durch die Haut durch jegliches Mittel übertragen werden, einschließlich subkutaner oder intradermaler Injektion oder topischer Anwendung. Ein Mittel der topischen Anwendung ist die Verwendung von Hautpflastern, die mit dem aktiven Mittel imprägniert sind. Dieses Übertragungsmittel ist vorteilhaft, da es nicht-invasiv ist und leicht durch relativ geringfügig ausgebildetes Pflegepersonal verabreicht werden kann.

Beispiel 14:

[0043] Kapseln mit einer Formulierung von α AED für orale Verabreichung werden hergestellt durch Mischen von 2 mg α AED, 15 mg Stärke und 5 mg Magnesiumstearat. Die Kapseln werden zweimal täglich verabreicht, um eine tägliche Dosis von 1-50 mg/Tag zu erreichen.

[0044] Die Zusammensetzungen der Erfindung können entweder intrathekal auf Wirbelsäulenniveau oder in die Cisterna Magna verabreicht werden.

[0045] Wenn α AED, dessen Ester oder Ether oral verabreicht werden, ist es erforderlich, dass die aktiven Inhaltsstoffe vor der Zerstörung und Absorption in dem oberen Gastro-intestinalen Trakt geschützt werden. Die aktiven Inhaltsstoffe sind am wirksamsten, wenn die Dauer der Aussetzung gegenüber der Mukosa des Intestinaltraktes erhöht wird. Daher ist die Verwendung von Kapseln, die den aktiven Inhaltsstoff in Formulierungen

enthalten, die langsame Freisetzung bewirken, angemessen.

[0046] Die aktiven Inhaltsstoffe können ebenso in der Veterinärmedizin für die Behandlung von Tieren verwendet werden, die an Tumoren leiden. Zum Zwecke einer solchen Behandlung kann das α AED in das Futter der Tiere hinzugefügt werden.

[0047] Die sterilen Lösungen können an die Lunge entweder mit bronchioskopischen Mitteln oder durch einen Nebel verabreicht werden, welcher unter Druck stehen kann.

[0048] Pflaster für die Verabreichung von α AED können als Klebepflaster formuliert sein, die den aktiven Inhaltsstoff enthalten. Beispielsweise kann das Pflaster ein Discoid sein, in welchem eine Druck-sensitive Silikon-adhäsive Matrix, die den aktiven Inhaltsstoff enthält, mit einer nicht-durchlässigen Deckschicht bedeckt sein kann. Das Discoid kann entweder den aktiven Inhaltsstoff in dem Adhesiv enthalten, oder kann an einen Träger angehaftet sein, der aus einem Material, so wie Polyurethan-Schaum oder einer Gaze besteht, die den aktiven Inhaltsstoff hält. Wenn Pflaster zur Behandlung von Tieren verwendet werden, muss die Fläche rasiert oder gezupft werden. In allen Fällen sollte die Fläche, auf welche das Pflaster angebracht wird, gründlich vor der Anwendung gereinigt werden.

Beispiel 15:

[0049] Ein Pflaster, das aus einem Trilaminat einer adhäsiven Matrix besteht, die zwischen einer nichtdurchlässigen Fütterung und einer schützenden Deckschicht eingeschlossen ist, wird auf die folgende Art und Weise hergestellt:

Zu einer Druck-sensitiven Silikon Adhesiv Zusammensetzung BIOPSA[™] q7-2920 (Dow Corning Corporation, Midland, Michigan, USA) in Zyklohexan (50 w/v) wird ausreichend α AED hinzugefügt, um eine 0,5 α AED Zusammensetzung zur Verfügung zu stellen. Das Adhäsiv wird auf einen Polyesterfilm angewandt, um in aufeinanderfolgenden Schichten etwa 2 mg aktiven Inhaltsstoff pro cm² zur Verfügung zu stellen. Die Pflaster sollten mit einer Schutzschicht bedeckt sein, welche vor der Anwendung entfernt wird.

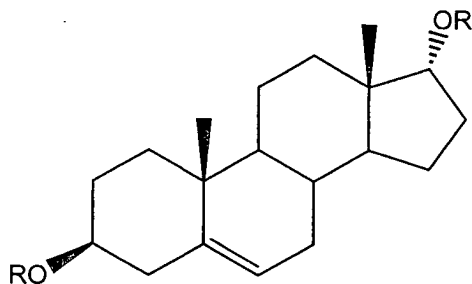
[0050] Die Pflaster können hergestellt werden, so dass sie Permeationsverstärker, so wie Zykloextrin, butyliertes Hydroxyanisol oder butyliertes Hydroxytoluol enthalten.

[0051] Die aktiven Inhaltsstoffe können an die Mukosa der oralen, pharyngealen oder nasalen Höhle durch Tabletten oder Pastillen verabreicht werden.

[0052] Die anti-proliferativen Mittel, die hierin gelehrt werden, können in Verbindung mit anderen aktiven Inhaltsstoffen, so wie Vinca-Alkaloiden, Nukleinsäureinhibitoren, Platinmitteln, Interleukin-2, Interferonen, Alkylierungsmitteln, Antimetaboliten, Corticosteroiden, DNA interkalierenden Mitteln, Antrazyklinen und Harnstoffen verwendet werden. Beispiele von spezifischen Mitteln, zusätzlich zu denen, die beispielhaft hierin ausgeführt sind, beinhalten Hydroxyharnstoff, 5-Fluoruracil, Anthramycin, Asparaginase, Bleomycin, Dactinomycin, Dacarbazin, Cytarabin, Busulfan, Thiotepe, Lomustin, Mechlorethamin, Cyclophosphamid, Melphalan, Mechlorethamin, Chlorambucil, Carmustin, 6-Thioguanin, Methotrexat, u.s.w.

Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung zur Herstellung eines Medikamentes zur Behandlung eines Neoplasmas, wobei die Verbindung $3\beta,17\alpha$ -Dihydroxyandrost-5-en ist oder wobei die Verbindung die folgende Struktur aufweist



wobei R gleich H, C₁-C₈-Alkyl, C₂-C₈-Alkenyl, Phenylalkyl von 1-4 Kohlenstoffen, Phenyl und COR₂ sein kann, wobei R₂ gleich H, C₁-C₈-Alkyl, C₂-C₈-Alkenyl, Phenylalkyl, wobei das Alkyl 1-4 Kohlenstoffe besitzt, oder Phe-

nyl ist, und jede Phenylgruppierung bis zu drei Substituenten besitzen kann, die ausgewählt sind aus Hydroxy, C₁-C₄-Carboxy, Halogen, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Alkyl oder C₂-C₄-Alkenyl, und wobei jedes Alkyl eine gerade Kette, eine verzweigte Kette sein kann oder das Alkyl vollständig oder teilweise zyklisiert sein kann.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Neoplasmen solche der Brust, der Leber, der Bauchspeicheldrüse, der Schilddrüse, der Nebenniere, der Hypophyse, der Eierstöcke, der Hoden, des zentralen Nervensystems, der Knochen, des Bindegewebes, der Lunge, des gastrointestinalen Systems, der Gebärmutter, der Schleimhaut, des Mundes, der Zunge, der Auskleidung des Bauchfelles, des lymphatischen Systems, der sensorischen Organe oder der blutbildenden Organe sind.

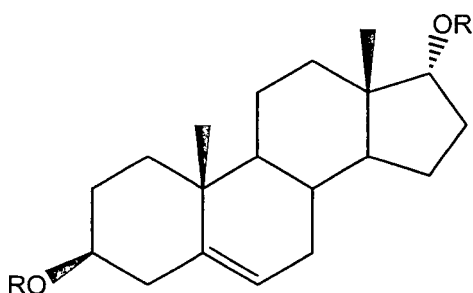
3. Verwendung nach Anspruch 2 wobei die Neoplasmen solche des zentralen Nervensystems, der Brust oder der Lunge sind.

4. Verwendung nach Anspruch 1, 2 oder 3 wobei die Verbindung 3 β ,17 α -Dihydroxyandrost-5-en ist.

5. Verwendung nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4 wobei das Medikament einen zweiten aktiven Inhaltsstoff zur Behandlung des Krebses enthält.

6. Verwendung nach Anspruch 5 wobei der zweite aktive Inhaltsstoff ein Antiandrogen, ein Antiöstrogen, Harnstoff, ein Alkylierungsmittel, ein Antimetabolit, ein DNA-Interkalationsmittel, ein Interferon, ein Nukleinsäureinhibitor, ein Vincaalkaloid, RU486 oder 3 β ,17 β -Dihydroxyandrost-5-en ist.

7. Verwendung einer Verbindung zur Herstellung eines Medikamentes zur Inhibierung des Wachstums von neoplastischen Zellen, wobei die Verbindung 3 β ,17 α -Dihydroxyandrost-5-en ist oder wobei die Verbindung die folgende Struktur aufweist



wobei R gleich H, C₁-C₈-Alkyl, C₂-C₈-Alkenyl, Phenylalkyl von 1-4 Kohlenstoffen, Phenyl und COR₂ sein kann, wobei R₂ gleich H, C₁-C₈-Alkyl, C₂-C₈-Alkenyl, Phenylalkyl, wobei das Alkyl 1-4 Kohlenstoffe besitzt, oder Phenyl ist, und jede Phenylgruppierung bis zu drei Substituenten besitzen kann, die ausgewählt sind aus Hydroxy, C₁-C₄-Carboxy, Halogen, C₁-C₄-Alkoxy, C₁-C₄-Alkyl oder C₂-C₄-Alkenyl, und wobei jedes Alkyl eine gerade Kette, eine verzweigte Kette sein kann oder das Alkyl vollständig oder teilweise zyklisiert sein kann.

8. Verwendung nach Anspruch 7 wobei die neoplastischen Zellen Brustzellen, Leberzellen, Zellen der Bauchspeicheldrüse, Zellen der Schilddrüse, Zellen der Nebenniere, Zellen der Hypophyse, Zellen der Eierstöcke, Zellen der Hoden, Zellen des zentralen Nervensystems, Knochenzellen, Bindegewebszellen, Lungenzellen, Zellen des gastrointestinalen Systems, Gebärmutterzellen, Schleimhautzellen, Zellen des Mundes, Zellen der Zunge, Zellen der Auskleidung des Bauchfelles, Zellen des lymphatischen Systems, Zellen der sensorischen Organe oder Zellen der blutbildenden Organe sind.

9. Verwendung nach Anspruch 8 wobei die neoplastischen Zellen Brustzellen, Zellen des zentralen Nervensystems oder Lungenzellen sind.

10. Verwendung nach Anspruch 7, 8 oder 9 wobei die Verbindung 3 β ,17 α -Dihydroxyandrost-5-en ist.

11. Verwendung nach Anspruch 7, 8, 9 oder 10 wobei das Medikament einen zweiten aktiven Inhaltsstoff zur Behandlung der Krebszellen enthält.

12. Verwendung nach Anspruch 11 wobei der zweite aktive Inhaltsstoff ein Antiandrogen, ein Antiöstrogen, Harnstoff, ein Alkylierungsmittel, ein Antimetabolit, ein DNA-Interkalationsmittel, ein Interferon, ein Nukleinsäure-

DE 603 08 917 T2 2006.12.28

reinhistor, ein Vincaalkaloid, RU486 oder $3\beta,17\beta$ -Dihydroxyandrost-5-en ist.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen