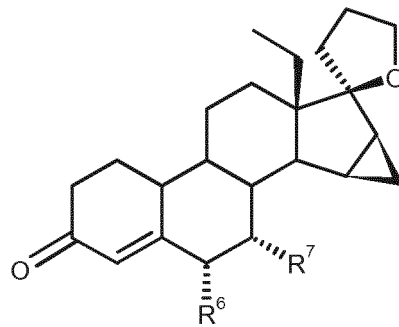


**Intrauterine Anwendung von
18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-onen,
intrauterine Systeme enthaltend
18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one, sowie
deren Verwendung in der Kontrazeption und gynäkologischen Therapie**

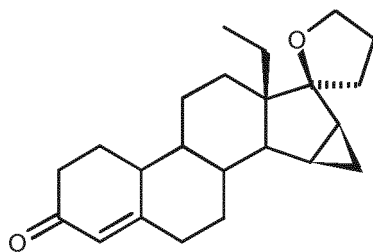
[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft den in den Patentansprüchen gekennzeichneten Gegenstand, d.h. die intrauterine Anwendung von 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-onen der Formel (I), sowie ein intrauterines System, enthaltend 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one der allgemeinen Formel I,



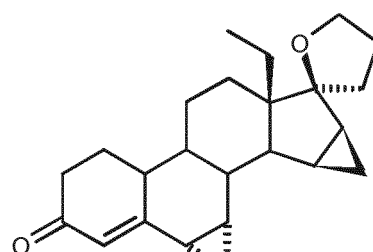
Formel (1)

worin R⁶ und R⁷ ein Wasserstoffatom oder gemeinsam eine α -Methylengruppe sein kann.

[0002] Die Erfindung betrifft somit die intrauterine Anwendung von 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung A) oder 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung B)



(A)



(B)

, sowie ein intrauterines System (IUS) enthaltend eine der genannten Verbindungen.

[0003] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung eines IUS enthaltend die Substanz (A) oder (B) in der Kontrazeption und in der gynäkologischen Therapie.

5 **[0004]** Unter gynäkologischer Therapie wird z.B. die Therapie von Endometriose, Endometrialer Hyperplasie, Entzündungen des Endometriums (Endometritis),
uterinbedingte Schmerzen und Dysmenorrhoe verstanden, wobei die Anwendung bei
der Behandlung der Menorrhagia [auch als Hypermenorrhoe oder Heavy Menstrual
Bleeding (HMB) bekannt] und weiteren Formen von uterinen Blutungsstörungen
10 ausgenommen sind.

[0005] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft die Verwendung von 18-Methyl-
15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung A) in der Kontrazeption und
gynäkologischen Therapie.

15 **[0006]** Die erfindungsgemäß einsetzbaren Progestine, 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-
19-nor-20-spirox-4-en-3-on (A) oder 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -dimethylen-19-nor-20-
spirox-4-en-3-on (B), sowie deren Herstellung, werden in der WO 2008/000521
beschrieben, wobei die erstgenannte Verbindung (A) dort nur als Intermediat offenbart
ist.

[0007] Verbindung B sowie weitere in der WO 2008/000521 beschriebene Substanzen
20 finden Anwendung in pharmazeutischen Präparaten zur Kontrazeption und in der
Therapie zur Behandlung prämenstrueller Beschwerden, wie Kopfschmerzen,
depressive Verstimmungen, Wasserretention und Mastodynie. Die WO2008/000521
offenbart neben oralen und transdermalen Darreichungsformen auch parenterale ölige
Injektionslösungen. Eine intrauterine Verwendung sowie der Einsatz der Verbindungen
25 in einem intrauterinen System (IUS) werden in der WO 2008/000521 jedoch nicht
beschrieben.

[0008] Hormonbasierte kontrazeptive Ansätze, finden aufgrund der bequemen
Anwendung und der hohen kontrazeptiven Sicherheit bei den Anwenderinnen eine breite
Akzeptanz. Darunter sind die oralen Kontrazeptiva (Pille) in vielen Ländern die am
30 häufigsten genutzte Verhütungsmethode überhaupt. Gleichwohl werden hormonhaltige,
insbesondere östrogenhaltige Kontrazeptiva in der Öffentlichkeit und der Literatur

aufgrund potentieller Risiken (wie ein geringfügig erhöhtes Tromboserisiko, Libidoverlust, Übelkeit und Kopfschmerz) auch immer wieder kritisch diskutiert¹.

[0009] Als vielversprechende neue kontrazeptive Methode werden Hormone intrauterin, über ein entsprechende intrauterines System verabreicht. Zu nennen ist hier
5 in erste Linie Mirena[®], ein Levonorgestrel enthaltendes intrauterines System (IUS), das über einen Zeitraum von bis zu fünf Jahren kontinuierlich den Wirkstoff freisetzt. Das Produkt findet zur Kontrazeption und in der Therapie verstärkter Menstruationsblutungen (Menorrhagia bzw. Hypermenorrhoe) Anwendung. Dieses Produkt wird u.a. in der EP 0652738 B1 sowie der EP 0652737 B1 beschrieben.

10 **[0010]** Grundlage für die kontrazeptive Wirkung von Mirena[®] ist im Wesentlichen die Verdickung des Zervikalschleims sowie die lokale Wirkung des Levonorgestrels, die zu einem starken antiproliferativen Effekt am Endometrium führt. Levonorgestrel verändert darüber hinaus das utero-tubare-Milieu und beeinträchtigt die Motilität und Funktion der Spermien.

15 **[0011]** Obgleich die kontrazeptive Wirkung von Mirena[®] maßgeblich, durch die lokale Wirkung hervorgerufen wird, findet man auch bei Mirena[®] aufgrund der vergleichsweise hohen systemischen Stabilität von Levonorgestrel (Wirkstoff in Mirena[®]) Wirkstoffplasmaspiegel von im Mittel um 206 pg/ml². Dieser Wert liegt zwar unter dem von oral verabreichten Levonorgestrel-haltigen Kontrazeptiva, ist aber immer noch so
20 hoch, dass er bei ca. 20% der Anwenderinnen im ersten Anwendungsjahr die Ovulation inhibiert und zu den bekannten systemischen Nebenwirkungen, wie z.B. Akne, depressiven Verstimmungen, Brustschmerz oder verminderter Libido führen kann³.

[0012] Auch bemängeln einige Erstanwenderinnen ein unregelmäßiges Blutungsverhalten in der Anfangsphase, d.h. unmittelbar nach dem Einsetzen des IUS
25 (sogenanntes „spotting“). Dieses Spotting kann bis zu einigen Monaten anhalten, bevor entweder keine oder nur sehr geringe und seltene Blutungen auftreten⁴.

[0013] Benigne Ovarialszysten werden als weitere häufige Nebenwirkung von Mirena[®] beschrieben⁵.

¹ Bitzer et al. Contraception 84 (2011) 342–356

² siehe Fachinformation Mirena März 2011 – DE/9

³ Lähteenmäki P. et al. Steroids 2000 65: 693–697

⁴ Suvisaari J, Lähteenmäki P. - Contraception 1996 Oct; 54(4) : 201-8.

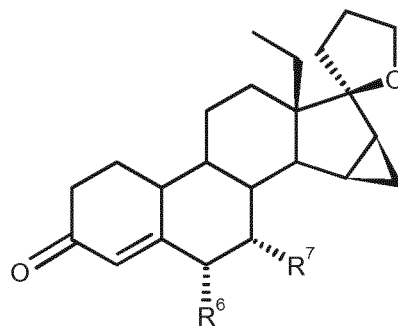
⁵ Produkt Monograph – Mirena 8. Auflage August 2009; Finland: Schering AG and Leiras Oy

[0014] Neben den zuvor genannten hormonellen (Verhütungs-)Methoden gibt es eine breite Palette nicht hormonbasierter Ansätze und Produkte, wie natürliche Verhütungsmethoden (z.B. Hormonspiegelmessung oder Temperaturmethode), mechanische Methoden (z.B. Kondom oder Diaphragma) oder chemische Methoden (z.B. Spermizide). Leider weist keine der alternativen Methoden (abgesehen von der irreversiblen Sterilisation) annähernd die gleiche kontrazeptive Sicherheit auf, wie sie mit hormonbasierten Methoden erreicht wird.

[0015] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, eine Verhütungsmethode bereitzustellen, die bei vergleichbarer hoher kontrazeptiver Sicherheit, wie sie durch die bekannten hormonbasierten Verhütungsmethoden erreicht wird, eine noch bessere Verträglichkeit aufweist.

[0016] Das schnellere Erreichen eines regelmäßigen Blutungsverhaltens, d.h. weniger Spottings, ist eine weitere Aufgabe der Erfindung⁶.

[0017] Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch die intrauterine Anwendung von Verbindungen der Formel (I)



Formel (1)

worin R^6 und R^7 ein Wasserstoffatom oder gemeinsam eine α -Methylengruppe ist, namentlich durch die intrauterine Anwendung von 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on oder 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on.

[0018] Überraschenderweise konnte bei intrauteriner Anwendung von 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on oder 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -bis-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on in der Ratte eine differenzierende Wirkung zwischen lokalem (Uterus) und systemischem (peripheres Gewebe) Effekt, gezeigt werden.

[0019] Dieser Effekt konnte durch Vergleich der lokalen Effekte im Uterus (Gewichtszunahme siehe Beispiel 1; Fig 1/8 und 2/8) und durch den systemischen Effekt, wie z.B. der Absenkung des LH-Spiegels in ovariectomierten Ratten (Fig. 3/8 und 4/8), gezeigt werden.

5 [0020] Auch haben die Substanzen im Vergleich zu LNG eine gesteigerte lokale Wirkstärke, wie im Genexpressionsexperiment anhand der starken Induktion entsprechender Markergene gezeigt werden konnte. So wird der anti-östrogene Effekt von Gestagenen auf den Uterus u.a. über IGFBP-1 vermittelt. In Fig. 5/8 und 6/8 ist gezeigt, dass die Genexpression von IGFBP-1 durch Verbindung A schon bei einer ca.
10 7x niedrigeren Freisetzungsrate aus dem IUS als bei Levonorgestrel induziert wird.

[0021] Die ausgeprägte starke Dissoziation lokal vs. systemisch und die hohe gestagene Wirksamkeit der Substanzen ist ausreichend, um eine kontrazeptive Wirkung allein aufgrund der lokalen Effekte herbeizuführen. Systemisch verursachte Nebenwirkungen, wie sie bei Anwendung anderer Gestagen auftreten, können damit
15 vermieden oder zumindest stark reduziert werden. Auch ist aufgrund der möglichen höheren lokalen Konzentration an Gestagen eine sich schneller einstellende und bessere Blutungskontrolle zu erwarten.

[0022] Wie in vergleichenden Transaktivierungsstudien weiterhin gezeigt werden konnte (siehe Beispiel 2), weisen die erfindungsgemäß eingesetzten Substanzen im
20 Vergleich zu LNG eine mindestens 10-fach geringere androgene Wirkung auf. Diese Eigenschaft, noch verstärkt mit der ausgeprägten Dissoziation lokal vs. systemisch, zeigt, dass auch bei im Vergleich zu Levonorgestrel sehr hoch dosierten lokalen uterinen Anwendungen keine systemischen androgenen Wirkungen (z.B. Akne) zu erwarten sind, selbst wenn systemische Konzentrationen vergleichbar mit Levonorgestrel bei Mirena®
25 Anwendungen auftreten sollten.

[0023] Aufgrund der genannten Eigenschaften der Substanzen A bzw. B eignen sich die Substanzen hervorragend für eine intrauterine Anwendung in der gynäkologischen Therapie aber insbesondere auch bei der Kontrazeption. Eine intrauterine Verabreichung mittels eines intrauterinen Systems ist dabei bevorzugt.

30 [0024] Als intrauterines System kann ein Polymersystem genutzt werden, wie es z.B. bei Mirena® zum Einsatz kommt.

⁶ Andersson et al. Contraception 1994, 49:56-71

[0025] Die Herstellung eines IUS ist dem Fachmann bekannt und erfolgt wie z.B. in EP 0 652 738 B1 beschrieben.

[0026] So wird der Wirkstoff (A) oder (B) mit einem polymeren Trägermaterial zunächst zu einem zentralen Stäbchen (Kern) verarbeitet. Dabei kann der Wirkstoff in beliebigem
5 Verhältnis mit dem polymeren Trägermaterial, wie z.B. Polydimethylsiloxan (PDMS), gemischt werden.

[0027] Der so hergestellte Kern wird nach der Formgebung, d.h. nach dem Vulkanisieren in der Regel in einem zweiten Schritt durch eine Membran auf Basis eines Polymers umgeben, die eine gleichmäßige Dosierung über einen langen Zeitraum
10 gewährleistet. Die gewünschte Freisetzungsrate („release rate“) kann dabei durch Wahl des Polymers und durch die Dicke der Membran gesteuert werden.

[0028] Als Polymer für die Membran kommen im Prinzip dieselben Polymere wie für den Kern (das zentrale Stäbchen) in Frage. Zu nennen sind hier z.B. Polydimethylsiloxan, das gegebenenfalls fluoriert sein kann oder auch andere
15 Mischungen aus Polymeren. Die Membrandicke liegt vorzugsweise im Bereich um 0,5 mm.

[0029] Die Membran wird aufgebracht indem ein aus dem gewünschten Polymer gefertigter Schlauch (Membran) zunächst in einem Lösungsmittel zum aufquellen gebracht wird und anschließend in den noch gequollenen Schlauch der wirkstoffhaltige
20 Kern eingepresst wird. Vorzugsweise werden die Schlauchenden dann noch mit einem Stopfen, der vorzugsweise aus demselben Material wie der Schlauch/die Membran besteht, verschlossen, um ein „ausbluten“ des Wirkstoffs an den Schlauchenden, das bei der Anwendung zu einem „burst effect“ führen kann, entgegenzuwirken. Anstelle der Stopfen, kann der Schlauch auch mit Silicon verklebt werden.

25 **[0030]** Erfindungsgemäß einsetzbar sind Systeme die eine tägliche Dosis im Bereich von 1 – 500 µg des jeweiligen Wirkstoffes (A) oder (B) freisetzen.

[0031] Hierbei kann die Freisetzungsrate von Wirkstoff (A) aufgrund seiner höheren Wirksamkeit halb so hoch gewählt werden wie von Wirkstoff (B).

[0032] Für den Wirkstoff (A) ergibt sich somit ein bevorzugter Dosisbereich von 1-
30 200µg / Tag, besonders bevorzugt 1-100µg / Tag, insbesondere von 2-50µg / Tag.

Wirkstoff (B) wird vorzugsweise im Bereich zwischen 2-500µg / Tag, besonders bevorzugt von 2-200µg / Tag, insbesondere von 5-100µg / Tag, dosiert.

[0033] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung betrifft somit ein intrauterines System, enthaltend den Wirkstoff (A) oder (B), sowie die Anwendung des intrauterinen Systems in der Kontrazeption.

[0034] Die nachfolgenden Beispiele dienen der Erläuterung der Erfindung.

[0035] Die Herstellung der erfindungsgemäß einsetzbaren Progestine, 18-Methyl-15ß,16ß-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung A) oder 18-Methyl-6α,7α,15ß,16ß-dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung B), erfolgt wie in der WO 2008/000521 beschrieben (Verbindung A: Beispiel 14 f; Verbindung B: Beispiel 2).

[0036] Das Herstellverfahren der wirkstoffbeladenen Stäbchen, die in dem nachfolgend beschriebenen Rattenversuch verwendet wurden, erfolgte analog zum Herstellverfahren der Wirkstoffreservoirs, wie sie beispielsweise für ein human verwendbares IUS beschrieben ist (siehe z.B. EP 0 652 738 B1). Als Polymer für die Herstellung des Stäbchens können Polysiloxane und modifizierte Polysiloxan-Polymere verwendet werden (siehe z.B. EP 0652738 B1, WO 00/29464 und WO 00/00550).

[0037] Im speziellen wurde zunächst ein wirkstoffbeladener Kern hergestellt, indem ein Gemisch aus Polyethylenoxid-Block-Polydimethylsiloxan-Copolymer (PEO -b- PDMS), Polydimethylsiloxan und 10 Gewichts Prozent des Wirkstoffs (hier das jeweilige Progestin A oder B) unter Verwendung eines Pt (0)-Divinyltetramethyldisiloxan-Katalysators vulkanisiert wurde.

Anstelle von PEO-b-PDMS kann auch Polydimethylsiloxan (PDMS) verwendet werden, wobei hier als Katalysator für die Vulkanisation Bis (2,4-Dichlorbenzoyl) Peroxid verwendet wurde.

[0038] Zur Herstellung des wirkstoffhaltigen Kerns wurde eine vertikale Kolben-Einheit mit einem entsprechenden Düsenkopf verwendet. Der Düsenkopf war dabei so dimensioniert, dass der wirkstoffhaltige Kern einen Außendurchmesser von etwa 1 mm aufweist.

[0039] Der so hergestellte wirkstoffhaltige Kern wird anschließend mit einer Membran, die aus PDMS, Polytrifluoropropylmethylsiloxane (PTFPMS) oder einem PTFPMS /

PDMS elastomeren Gemisch (75% an PTFPMS, 25% PDMS) besteht, ummantelt. Das Membranmaterial hatte dabei einen Innendurchmesser von ~ 1 mm und einen Außendurchmesser von ~1,5 mm.

5

[0040] Die Ummantelung erfolgte, indem der Kern und die Membran auf die Länge von 10-15 mm geschnitten wurden, wobei die Membran etwas länger (ca. jeweils 1mm an beiden Enden) als der Kern ist, damit die Enden der Membran nach dem Einführen des Kerns mit einem kleinen Stopfen verschlossen werden können. Um das Einführen des Kerns in die Membran zu ermöglichen, wurde diese zunächst in einer Cyclohexan oder Aceton-Hexan-Mischung zum Quellen gebracht. In die aufgequollene Membran wurde anschließend der wirkstoffhaltige Kern eingeschoben. Die Schlauchenden abschließend entweder mit Silikon verklebt oder mit einem kleinen Stopfen aus PTFPMS verschlossen.

10

15

[0041] Beispiel 1

Die lokale uterine Wirkung des Progestins im Vergleich zu systemischen Nebenwirkungen (Dissoziation) wurde anhand von Studien mit Ratten untersucht. Der Uterus ovariectomierter Ratten reagiert mit Dezidualisierung und Gewichtszunahme auf die Implantation progestinhaltiger IUS (Stäbchen). Die lokalen Progestin-Effekte wurden ferner anhand von Genexpressionsveränderungen ermittelt.

20

[0042] Serumspiegel des luteinisierenden Hormones (LH) dienen dem Nachweis systemischer Effekte des lokal applizierten Progestins. Basale Serum-LH-Spiegel ovariectomierter Ratten sind im Vergleich zu den Spiegeln intakter Kontrolltiere erhöht. Ungewünschte systemische Wirksamkeit des uterin-applizierten Progestins lässt sich durch eine Absenkung des LH-Spiegels nachweisen.

25

[0043] Methode:

Weibliche ovariectomierte Ratten wurden über drei Tage mit Estradiol (E2) behandelt (0,2 µg/Tag/Tier, die Dosierung erfolgt subkutan). An Tag 4 wurde jedem Tier ein IUS (Stäbchen) ins rechte Uterushorn implantiert. Das linke Uterushorn blieb als interner Vergleich unbehandelt. Die E2-Applikationen wurden mit einer täglichen Dosis von 0,1µg/Tier fortgeführt, um die Responsivität des Uterus (Erhalt der Progesteron-

30

Rezeptor-Expression) gegenüber Progestinen zu gewährleisten. An Tag 4, 10 und 17 wurde Blut für LH-Spiegel-Bestimmungen abgenommen.

[0044] Durchführung der Genexpressionsanalysen:

Das Uterusgewebe wurde in 800µl RLT Lyse-Puffer (Qiagen, Hilden, Deutschland; #79216) unter Verwendung des Precellys24-Homogenisators (Pqlab, Erlangen, Deutschland; 2.8mm Keramikkügelchen; #91-PCS-CK28, 2x 6000rpm) homogenisiert. 400µl des erhaltenen Homogenisats wurden für die Isolierung der Gesamt-RNA eingesetzt. Hierfür wurde das QIASymphony RNA-Kit (Qiagen, #931636) am QIASymphony SP-Roboter für automatisierte Probenaufarbeitung verwendet. Die Reverse Transkription von 1µg bis 4µg Gesamt-RNA wurde durchgeführt unter Verwendung des SuperScript III-Erststrang-Synthese Systems (Invitrogen, Carlsbad, USA; #18080-051) gemäß der Random Hexamer-Prozedur.

Die Genexpressionsanalyse wurde mit 50ng bis 200ng cDNA je Reaktion am SDS7900HT Real.time PCR System (Applied Biosystems, Carlsbad, USA) unter Verwendung von TaqMan-Sonden (Applied Biosystems; IGFBP-1 Rn00565713_m1, Cyp26a1 Rn00590308_m1, PPIA Rn00690933_m1) und dem Fast Blue qPCR MasterMix Plus (Eurogentec, Liège, Belgien; #RT-QP2X-03+FB) durchgeführt. Für die relative Quantifizierung wurde Cyclophilin A (PPIA) als endogene Kontrolle verwendet. Die Berechnung der relativen Expressionsspiegel erfolgte gemäß der komparativen delta delta CT-Methode.

[0045] Ergebnisse:

18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung A) und 18-Methyl-6α,7α,15β,16β-dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on (Verbindung B) zeigten dosisabhängig lokale Wirksamkeit durch Gewichtszunahme im IUS-tragenden Uterushorn (Fig. 1/8 und 2/8).

[0046] Im getesteten Release-Bereich (für Verbindung A: 0,6 -10 µg pro Tier und Tag bzw. für Verbindung B: 1-45 µg/Tier und Tag) zeigten beide Progestine überraschenderweise, mit Ausnahme der 10µg/Tier und Tag Dosis von Verbindung A, keine LH-Absenkung und damit keine systemische Nebenwirkung (Fig. 3/8 und 4/8).

[0047] Das pharmakokinetische Profil von 18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on bzw. 18-Methyl-6α,7α,15β,16β-dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on

zeigte sowohl in allen in vitro Metabolismusuntersuchungen (Leber), wie auch in allen in vivo untersuchten Tierspezies eine sehr schnelle Abbaurate.

[0048] In der lokalen Applikation mittels IUS (Stäbchen) in der Ratte zeigte Verbindung A bei gleichen Freisetzungsraten eine 4 bis 7-fach höhere Potenz bei der Induktion von Genexpressionen als Levonorgestrel (Fig. 3/4). Diese höhere lokale Potenz unterstützt zusätzlich die Möglichkeit schnellere und stärkere lokale gestagene Effekte am Uterus zu erzielen, ohne dabei systemische Nebenwirkungen hervorzurufen.

[0049] Damit lassen sich diese Progestine mit lokaler Wirksamkeit so dosieren, ohne dass die für Levonorgestrel beschriebenen Nebenwirkungen bei der Frau auftreten.

[0050] Auch für den Menschen wurden in vitro (Leber) ebenfalls sehr schnelle Abbauraten gefunden. Aus dem schnellen in vitro Abbau in der Leber kann auch auf einen schnellen in vivo Abbau geschlossen werden, so dass eine sehr niedrige systemische Exposition von 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on und 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on nach Applikation durch ein IUS berechnet wird. Die zu erwartenden Substanzspiegel (C_{ss} = concentration at steady state) berechnen sich aus der Freisetzungsrate aus dem IUS geteilt durch die Verschwinderate (Clearance). Bei der Verwendung einer 20 μ g Dosis pro Tag und Frau, die derjenigen von Mirena entspricht, berechnet sich daraus eine über 30-fach geringere systemische Exposition (Belastung) für 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on und 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on im Vergleich zu Mirena®.

[0051] Beispiel 2

Die Wirkung auf den humanen Androgenrezeptor (hAR) wurde mittels Transaktivierungsanalysen untersucht. Hierzu wurden die Testsubstanzen in unterschiedlichen Konzentrationen zu Zellen, die den humanen Androgenrezeptor stabil exprimieren und über ein Reportergen die Aktivierung des Androgenrezeptors detektiert werden kann.

[0052] Methode:

Für Transaktivierungsuntersuchungen wurden PC3 (human Prostatakarzinom) Zellen verwendet, die mit hAR und Reporter gen MTV-luc stabil transfiziert sind. Als Kulturmedium wurde RPMI Medium (without L-Glutamin; without Phenol Red) #E15-49 PAA L-Glutamin 200mM #25030-024 Gibco BRL 100U /100µg/ml Penicillin /Streptomycin Gibco # 15140-122 mit 10% foetales Kälberserum (FKS) verwendet. Die Kultivierung der Zellen erfolgte bei 37°C und 5% CO₂. Das Versuchsmedium entsprach dem Kulturmedium mit der Ausnahme, dass das 10% FKS durch 5% Aktivkohle-behandeltes FKS (CCS) ersetzt wurde. Zellen wurden in Wells einer 96 well Platte („CulturPlate“ von Packard #6005180) mit 2x10⁴ Zellen / well / 200µl Versuchsmedium ausgesät. Die Zellen wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen der Testsubstanzen inkubiert und 80µl Substrat mit dem „steady-lite HTS Reporter Gene Assay System“ von Perkin Elmer vermessen.

[0053] Ergebnisse:

Die Ergebnisse zeigen, dass Verbindung A (18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on) und Verbindung B (18-Methyl-6α,7α,15β,16β-bis-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on) eine mehr als 10-fach höhere EC₅₀ bei der Transaktivierung des hAR aufweisen als Levonorgestrel: Während die EC₅₀ Werte für Verbindung A: 6,9 nM und für Verbindung B: 56 nM betragen, weist Levonorgestrel eine EC₅₀ von nur 0,5 nM auf. Diese >10-fache Dissoziation gegenüber Levonorgestrel bedeutet, dass bei Anwendungen der Verbindungen mit keinen systemischen androgenen Wirkungen zu rechnen ist, selbst wenn bei lokalen uterinen Anwendungen systemische Wirkstoffspiegel auftreten sollten, wie sie für Levonorgestrel bei Mirena® Anwendungen zu beobachten sind.

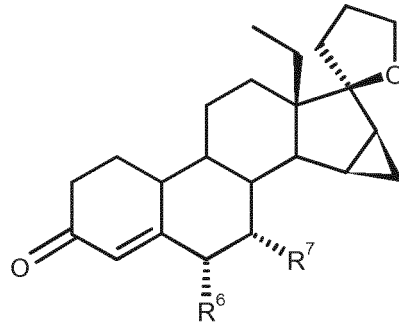
[0054] Beispiel 3

Die freigesetzte Menge an Wirkstoff (A) oder (B) wurden mittels Reversed-Phase-Liquid Chromatographie mit UV-Detektion in einer 1%igen 2-Hydroxypropyl-β-Cyclodextrin (2-HPBCD) Lösung bestimmt.

Für ein mit einer PTFPMS-Membran umhülltes Stäbchen, wurden die in Figuren 7/8 und 8/8 genannten in vitro Freisetzungsraten bestimmt.

Patentansprüche

1. Intrauterine Anwendung von 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-onen der allgemeinen Formel (1)

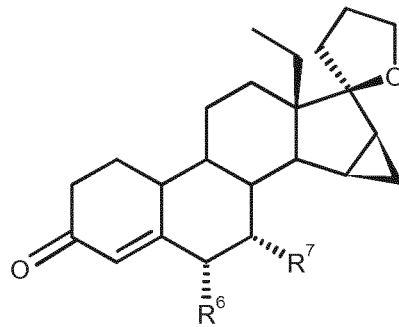


Formel (1)

5

worin R⁶ und R⁷ ein Wasserstoffatom oder gemeinsam eine α -Methylengruppe ist.

2. Intrauterines System enthaltend 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one der allgemeinen Formel (1)



Formel (1)

10

worin R⁶ und R⁷ ein Wasserstoffatom oder gemeinsam eine α -Methylengruppe ist.

3. Intrauterines System nach Anspruch 2 enthaltend 18-Methyl-15 β ,16 β -methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one.

4. Intrauterines System nach Anspruch 2 enthaltend 18-Methyl-6 α ,7 α ,15 β ,16 β -dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on.

15

5. Intrauterines System nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem System eine tägliche Dosis von 1-200 µg 18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one freigesetzt wird.
- 5 6. Intrauterines System nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem System eine tägliche Dosis von 1-100 µg 18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one freigesetzt wird.
7. Intrauterines System nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem System eine tägliche Dosis von 2-50 µg 18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one freigesetzt wird.
- 10 8. Intrauterines System nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem System eine tägliche Dosis von 2-500 µg 18-Methyl-6α,7α,15β,16β-dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on freigesetzt wird.
9. Intrauterines System nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem System eine tägliche Dosis von 2-200 µg 18-Methyl-6α,7α,15β,16β-dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on freigesetzt wird.
- 15 10. Intrauterines System nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass aus dem System eine tägliche Dosis von 5-100 µg 18-Methyl-6α,7α,15β,16β-dimethylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-on freigesetzt wird.
11. Intrauterines System nach einem der Ansprüche 2-10 zur Anwendung bei der Kontrazeption.
- 20 12. Intrauterines System nach einem der Ansprüche 2-10 zur Anwendung in der gynäkologischen Therapie mit Ausnahme der Therapie der Menorrhagia und anderer uteriner Blutungen.
13. Verwendung von 18-Methyl-15β,16β-methylen-19-nor-20-spirox-4-en-3-one in der Kontrazeption und gynäkologischen Therapie mit Ausnahme der Therapie der Menorrhagia und anderer uteriner Blutungen..
- 25