



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년02월07일  
 (11) 등록번호 10-1349737  
 (24) 등록일자 2014년01월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**A61K 31/56** (2006.01) **A61K 31/4196** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)  
 (21) 출원번호 **10-2010-7026594**  
 (22) 출원일자(국제) **2009년04월27일**  
 심사청구일자 **2010년12월17일**  
 (85) 번역문제출일자 **2010년11월26일**  
 (65) 공개번호 **10-2011-0003553**  
 (43) 공개일자 **2011년01월12일**  
 (86) 국제출원번호 **PCT/US2009/041836**  
 (87) 국제공개번호 **WO 2009/134723**  
 국제공개일자 **2009년11월05일**  
 (30) 우선권주장  
 61/048,452 2008년04월28일 미국(US)  
 (56) 선행기술조사문헌  
 W01997041145 A1\*  
 Attardi BJ 외 4인. Mol Cell Endocrinol. 2002  
 년 2월 25일, Vol. 188, No.1-2, 제111면 내지  
 제123면.\*  
 Robert W. Brueggemeier 외 2인. Endocrine  
 Reviews. 2005년 5월 1일, Vol. 26, No.3, 제33  
 1면 내지 제345면.\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**레프로스 세라피우틱스 아이엔씨.**  
 미국 텍사스주 77380, 더 우드랜드, 스위트 비7,  
 탐버록 플레이스 2408  
 (72) 발명자  
**포돌스키, 조셉, 에스.**  
 미국, 텍사스 77381, 더 우드랜드, 3페블 홀로우  
 코트  
**위홀, 로널드, 디.**  
 미국, 텍사스 77059, 휴스턴, 뷰필드 코트 13903  
 (74) 대리인  
**신관호**

전체 청구항 수 : 총 7 항

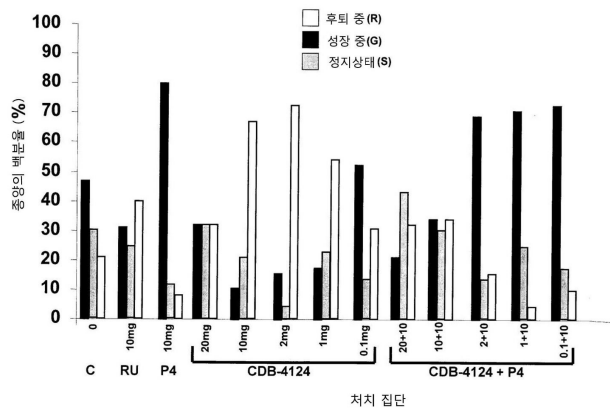
심사관 : 김미화

(54) 발명의 명칭 **유방암을 치료하기 위한 조성물 및 방법**

**(57) 요약**

본 발명의 주제는 암 치료 분야와 관계된다. 특히, 본 발명은 환자 내 유방암의 치료 및/또는 예방과 관련이 있다. 또한 자궁에서는 프로게스테론 효능제로서 작용하고 유방 조직에서는 프로게스테론 길항제로서 작용하며, 당질코르티코이드 및 에스트로겐 수용체에 대해 단지 낮은 친화도를 발휘하는 선택성 프로게스테론 수용체 조절제를 포함하는, 본 방법들을 실시하기 위한 조성물들이 개시되어 있다. 또한 본 발명의 실시예들은 호르몬 대체 요법 또는 에스트로겐 치료를 받고 있는 환자들에서 유방암의 진행을 예방하기 위한 방법을 개시하고 있다.

**대표도**



**특허청구의 범위**

**청구항 1**

여성의 유방암을 치료하기 위한, 아나스트로졸(anastrozole), 레트로졸(letrozole) 및 DL-아미노글루테티미드(DL-aminoglutethimide)로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 아로마타아제 억제자의 유효량과의 병용투여되는 약물을 제조하는 약물 제조 방법에 있어서,

21-메톡시, 17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4-N,N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온(CDB-4124)의 유방암 조직 증식 억제 용량을 포함하는 약물 제조 방법.

**청구항 2**

삭제

**청구항 3**

삭제

**청구항 4**

제 1항에 있어서,

상기 약물이 0.5mg/kg 내지 500mg/kg의 용량으로 투여되는 약물 제조 방법.

**청구항 5**

삭제

**청구항 6**

삭제

**청구항 7**

제 1항에 있어서,

여성에서 프로게스테론 레벨이 증가하지 않는 약물 제조 방법.

**청구항 8**

제 1항에 있어서,

상기 여성은, 호르몬 대체요법을 받고 있는 여성이 되는 약물 제조 방법.

**청구항 9**

제 1항에 있어서,

상기 여성은, 에스트로겐 치료를 받고 있는 여성이 되는 약물 제조 방법.

**청구항 10**

제 1항에 있어서,

아로마타아제 억제자가 DL-아미노글루테티미드가 되는 약물 제조 방법.

**청구항 11**

제 1항에 있어서,

상기 약물 및 상기 아로마타아제 억제자가 동시에 투여되는 약물 제조 방법.

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본원은 2008년 4월 28일자로 출원된 미국 특허 출원 61/048,452을 우선권 주장의 기초로 하는 출원이며, 이 출원은 전체를 본원에 참고로 인용한다.

[0002] 본 발명은 유방암 치료를 위한 조성물 및 방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게는, 본 발명은 유방암을 치료하기 위한 낮은 당질코트리코이드 활성을 보유하는 하나 이상의 선택성 프로게스테론 수용체 조절제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0003] 2007년 약 200,000명의 미국 여성이 유방암 진단을 받을 것이다. 최근 자료에 의하면 프로게스테론이 이 질병의 진행에서 중요한 역할을 한다고 제시하고 있다.

[0004] 여러 연구에서 프로게스테론이 자궁과 유방에서 반대 기능을 갖는다는 증거를 제공해 왔다; 프로게스테론은 자궁에서는 에스트로겐의 증식 작용을 막는 분화 보조제(differentiation agent) 기능을 하며, 유방에서는 세포분열 보조제(mitogenic agent) 기능을 한다. 특히, 프로게스틴이 개와 쥐에서 자발성 유방암 종양(spontaneous mammary tumor)의 발발을 증가시키는 것으로 보여졌다. 더욱이, 프로게스테론 수용체 녹아웃(knockout) 쥐 연구에서는 특별히 유선을 표적으로 하는 화학발암물질이 상기 프로게스테론 수용체에 의존하고 있다는 것이 보여주고 있다. 추가로, 조직배양 실험에서는 프로게스틴의 효과가 뒤이어 정지되는 한 회의 증식에 제한될 수도 있음을 보여주고 있다. 프로게스틴이 EGF, c-erbB2 및 c-erbB3에 대한 수용체들을 상향조절시키거나 성장 인자결합의 하류에 있는 그들의 활성을 촉진할 수도 있는 것으로 정해졌다. 이는 프로게스틴이 조직들이 증식하도록 "준비"시키고, 호르몬 의존성으로부터 성장인자 의존 상태로 전환시킬 수 있다는 가능성을 제기하고 있다.

[0005] 또한 유방암 진행에서의 프로게스테론의 역할을 연관시키는 것이 컨쥬게이트형 이퀸 에스트로겐(conjugated equine estrogens, CEE) 및 프로게스틴 메드옥시프로게스테론 아세테이트(progestin medroxyprogesterone acetate, MPA)으로 이루어진 호르몬 대체요법 (hormone replacement therapy, HRT)을 위약으로 실시하는 여성들에게 유방암 위험이 크게 존재한다는 결론을 지지하는 여성 건강 이니셔티브(Women's Health Initiative, WHI)와 더 밀리언 여성 연구(The Million Women Study)에서의 최근의 다수의 임상 연구이다. 더 밀리언 여성 연구에서는, 여러 프로게스테론 효능제 (MPA, 노르에티스테론, 노르게스트렐/레보노르게스트렐) 중 하나와 에스트로겐을 사용하면 에스트로겐 단독 사용에 비해 위험이 증대되고, 사용 기간이 길어질수록 위험이 커진다. 이러한 통계 데이터는 프로게스틴 메드옥시프로게스테론 아세테이트(progestin medroxyprogesterone acetate, MPA)를 HRT의 일부로 사용하는 여성들에게서 더욱 심한 말단관소엽단위 증식(terminal duct lobular unit proliferation)이 보인다는 것을 제공하는 조직학적 데이터에 의해서도 지지된다. 임상 데이터에 더하여, 수술적으로 폐경시킨 마카쿠(macaques) 실험 데이터에서는 조합된 에스트로겐과 프로게스테론 요법이 에스트로겐 단독 보다도 유방 증식 및 비대증을 더 높은 수준으로 유발한다고 보여준다. 후속 연구에서, Cline 등은 MPA와 컨

쥬게이트형 이퀀 에스트로겐의 조합(즉, 여성에서 표준 HRT 조합)이 유선 상피 비율 및 마카쿠의 유선 상피세포 소엽에서 Ki-67 염색 (증식)을 증가시킨다는 것을 발견했다.

[0006] 프로게스테론은 "리간드 의존성 전사인자"로 알려진 구조적으로 관련된 유전자 조절자의 클래스에 속하는 프로게스테론 수용체 (progesterone receptor, PR)와의 상호작용을 통해서 그 기능을 달성한다 (R. M. Evans, Science, 240, 889, 1988). 상기 프로게스테론 수용체 패밀리는 또한 에스트로겐 수용체 (ER), 안드로겐 수용체 (AR), 당질코르티코이드 수용체 (GR), 및 미네랄코르티코이드 수용체 (MR)이 해당되는 세포내 수용체 패밀리의 한 부류이다. 상기 세포내 프로게스테론 수용체 (PR)는 대부분의 프로게스테론의 작용 중 가장 중요하다. 인간에는 두가지 상이한 PR 동형체(isoform)이 있다: PR-A 및 PR-B. 두가지 PR 모두가 활성화시에 전사 조절 계층 서열 및 다른 전사 인자들과 직접 상호작용하는 호르몬-활성화 전사인자들이다. PR 전사 기능은 프로게스테론과의 상호작용에 좌우된다. 생식연령대 여성들의 상기 프로게스테론-반응성 조직은 상기 월경 주기 중에 PR의 발현 수준에서 매우 다르다.

[0007] 많은 다양한 화합물이 PR의 프로게스테론에 의존하는 활성화에 영향을 미치는 것으로 당업계에서 알려져 있다. 이들 화합물 중 일부는 전체 조직에서 프로게스테론의 기능을 막는 것으로 알려져 있다. 이들 화합물은 순수 길항제로 불리며, 상기 조직에 따라서 프로게스테론 효능제 또는 프로게스테론 길항제로서 작용할 수 있는 선택성 프로게스테론 수용체 조절제(selective progesterone receptor modulator, SPRM)와는 구별되어야 한다. 당업계에서 알려진 SPRM의 예에는 항프로게스테론 RU 486 및 ZK112993이 있다.

[0008] RU 486 (미페프리스톤)은 발암 시작 후에 7,12,-디메틸벤즈( $\alpha$ )안트라센 (DMBA)와 같이 3주 동안 매일 투여될 때 랫(rat)에서 종양 출현을 지연시키는 것으로 알려졌다. 또한 RU 486은 확정된 종양을 가진 동물들에서 컨트롤에 비해 종양 사이즈를 줄이는 것으로 알려졌다. 하지만, 종양 사이즈 감소는 혈청 ER과 프로게스테론의 증가에 의해 달성되었다. 비록 더 큰 규모의 제2상 시험에서는 실패했지만, 전이성 유방암을 가진 여성들에서의 두가지의 소규모 임상 시험에서는, RU 486이 상기 질병에 대해 몇몇 효능을 가진다는 것을 보여주었다. 상기 후자 연구에서, 부신 부전 증상이 관찰되었다. 이러한 부작용들은 RU 486의 매우 중요한 항당질코르티코이드 활성 및 그것의 혈청 ER 증대 성향 측면에서는 놀랍지 않았는데, 이 두가지가 여성들에서 그 만성적 사용을 금지시키고 있다.

[0009] 통계 데이터에 의하면 2005년에 유방암 진단을 받은 상기 200,000명 미국 여성들 중에서, 비록 같은 집단의 30%가 결국 재발하게 될 것이지만, 거의 60%가 수술시점에는 전이성 질환이 없었다. 그들의 1차 병소가 상기 에스트로겐 수용체 (ER)와 상기 프로게스테론 수용체 (PR)를 포함하는 여성들은 타목시펜이나 아로마타아제 억제자 등의 항-ER을 사용하는 호르몬 요법 치료를 일차적으로 받게 된다. 상기 ER- 및 PR-양성 환자들 중 거의 70%가 타목시펜에 반응한다. 비록 상기 ER 및 PR 모두가 존재하는 것이 반응에 결정적이고 ER이 PR을 유도하지만, 유방암 발생 및 진행의 잠재적 조절자로서 항-프로게스테론을 개발하는 쪽으로 다양화하려는 노력은 상대적으로 미미하다. 이에, 인간 유방암에 대한 상기 프로게스테론 반응성을 이용하게 하는 치료법은 호르몬-반응성 유방암에서 매우 장점이 될 수도 있다. 미국 국립암연구소(National Cancer Institute (NCI))에 의한 1998년 합의선언은 타목시펜이 유방암 발생에 대한 예방약으로 유용할 수도 있다고 보고했다. 그러한 치료법이 HRT를 받고 있는 환자들에서 유방암 발생을 예방하는 데 특히 장점이 될 수도 있다. 바람직하게는 그러한 치료법은 많은 항프로게스테론 화합물과 연관되는 높은 항당질코르티코이드 활성을 피한다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0010] 본 발명은 여성에서 호르몬 반응성 유방암을 치료하기 위해 항프로게스테론을 이용하는 방법에 관한 것이다. 더욱 상세하게는, 본 발명은 유방 조직의 증식을 억제하기 위해서 당질코르티코이드 수용체에 대해 낮은 친화도를 가지고, 낮은 에스트로겐/항에스트로겐 활성을 가진 항프로게스테론을 이용하고 있다. 상기 항프로게스테론은 그것이 당질코르티코이드에 대해 낮은 친화도를 가지는 한, 정제된 항프로게스테론 또는 선택성 프로게스테론 수용체 조절제(selective progesterone receptor modulator, SPRM)일 수도 있으며, 유방 조직의 증식을 억제하기에 유효량으로 투여된다. 본 발명의 방법은 폐경기 호르몬 대체요법 등의 호르몬 치료를 받고 있는 환자들에서 과증식(hyperproliferation) 및 후속 유방암 발생을 예방하기 위해서도 사용될 수 있다.

[0011] 본 발명의 조성물은 자궁내막 과증식, 우울증, 담낭질환, 고혈압, 이상 당부하 및 과다응고상태 등 다른 상태를 치료하는 데에도 유용할 수도 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0012] 도 1은 미처치 (C= control), 10 mg RU-486 (RU) 처치, 10 mg 프로게스테론 처치 (P4), 20 mg, 10 mg, 2 mg, 1 mg, 0.1 mg CDB-4124 (4124) 처치 및 동일농도 CDB-4124 + 10 mg 프로게스테론 (4124 + P4) 처치 상태에서 랫 종양 성장 패턴을 보여주는 그래프이다. 28일 검사기간에 걸쳐 적어도 33%까지 단면적이 증가된 종양들은 성장하고 있는 것으로 판단되었다 (검정색 박스). 같은기간에 걸쳐 33%까지 감소된 종양들은 후퇴하고 있는 것으로 판단되었다 (백색 박스). 다른 것들은 정지상태로 판단되었다 (회색 박스). 종양을 보여주는 각각의 처치 집단에 대한 각 유형의 성장 패턴의 백분율이 나타나 있다.
- 도 2는 높은 수준의 아로마타아제를 발현하도록 조작된 T47D (인간 유방암) 세포들에서 (T47D<sub>arom</sub> 세포) 1 μM, 2 μM, 3 μM, 4 μM 및 5 μM 농도에서의 CDB-4124의 영향을 보여주는 그래프이다. 미처치 세포들을 컨트롤(control)로 사용하였다. 상기 그래프에서는 CDB-4124 처치가 투약 의존성 방식으로 T47D<sub>arom</sub> 세포들의 증식을 억제하였음을 보여준다.
- 도 3은 1 nM 테스토스테론 존재시에 T47D<sub>arom</sub> 세포들에서 50 μM, 75 μM, 100 μM, 또는 150 μM의 DL-아미노글루테트이미도(aminoglutethimide, AGM)의 영향을 보여주는 그래프이다.
- 도 4는 1 nM 테스토스테론 존재시에 T47D<sub>arom</sub> 세포들에서 (1) 100 μM DL-아미노글루테트이미도 (AGM) + 1 μM CDB-4124; (2) 100 μM DL-아미노글루테트이미도 (AGM) + 2 μM CDB-4124; (3) 100 μM DL-아미노글루테트이미도 (AGM) + 3 μM CDB-4124; 또는 (4) 100 μM DL-아미노글루테트이미도 (AGM) + 4 μM CDB-4124의 영향을 보여주는 그래프이다. 상기 그래프는 아로마타아제를 발현하는 유방암 세포들의 증식을 억제함에 있어서 AGM 및 CDB-4124의 조합의 시너지 효과를 보여준다. 같은 농도에서 같은 화합물로 별도로 관찰한 30% 미만 억제와 비교할 때, 세포 증식의 거의 70% 억제가 4 μM CDB-4124 및 100 μM AGM의 조합으로 관찰되었다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

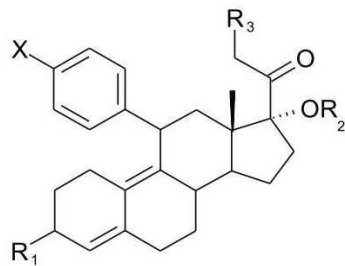
- [0013] 용어 "효과적인 투여량"이란 특정한 상태를 치료하기에 충분한 조성물의 활성 성분 양을 의미한다.
- [0014] 용어 "선택성 프로게스테론 수용체 조절제"란 조직 특이적 방식으로 프로게스테론 수용체의 기능에 영향을 미치는 화합물을 의미한다. 상기 화합물은 일부 조직에서 (예를 들면, 유방 조직에서)는 프로게스테론 수용체 길항제로서 작용하고, 다른 조직에서는 (예를 들면, 자궁에서) 프로게스테론 수용체 효능제로서 작용한다.
- [0015] 여기에서 사용되는 것처럼 용어 "치료하다" 또는 "치료"는 성장 정지 실패, 아폽토시스 또는 증식성 세포노화와 연관되는 기능장애 또는 질환에 대한 임의의 처치를 의미하며, 상기 기능장애 또는 질환 억제, 상기 기능장애 또는 질환 발생 정지, 상기 기능장애 또는 질환 감경, 예를 들면 상기 기능장애 또는 질환 후퇴 유발; 또는 상기 질환 또는 기능장애에 의해 야기되는 상태 구제, 상기 질환 또는 기능장애 증상 구제가 포함되나, 이들에만 한정되는 것은 아니다.
- [0016] 용어 "예방하다" 또는 "예방"은 성장 정지 실패, 아폽토시스 또는 증식성 세포노화와 연관되는 기능장애 또는 질환에 대하여, 아무것도 생기지 않은 경우에는 기능장애 또는 질환 발생의 시작을 막는 것을 의미하거나, 상기 기능장애 또는 질환이 이미 존재하는 경우에는 추가 기능장애 또는 질환 발생을 막는 것을 의미한다. 예를 들면, 본 발명의 조성물은 종양 재발을 예방하는 데에 이용될 수도 있다. 종양의 재발은 순차적으로 임상적으로 탐지 가능한 종양으로 확장하는 주재성 현미경적 종양세포 집단 또는 군집 때문에 생길 수도 있다.
- [0017] 용어 "프로게스테론 효능제(progesterone agonist)"란 프로게스테론 수용체에 결합하고 천연 호르몬 작용을 흉내내는 화합물을 의미한다.
- [0018] 용어 "프로게스테론 길항제(progesterone antagonist)"란 프로게스테론 수용체에 결합하고 프로게스테론 영향을 방해하는 화합물을 의미한다.
- [0019] 여기에서 사용된 용어 "억제" 또는 "억제하다" 또는 "억제하는"은 유방 조직의 증식에 있어서, 동일한 조건 하에서 치료하지 않은 자궁내막 조직에 대한 프로게스테론 길항제 투여시에 자궁내막 조직의 유사분열 증식이 억제되는 것을 의미하며, 예를 들어 아폽토시스(apoptosis)를 통한 세포 사멸과는 구분되어야 한다. 자궁내막 유사분열 증식을 억제함에 있어서 프로게스테론 길항제의 작용을 예를 들어, 예를 들어, 유방 세포주에서 예를 들어, 프로게스테론 길항제 처리 셀에 브로모데옥시우리딘(BrdU)을 첨가한 것을 컨트롤 (미처치) 셀과 비교하는 것에 의해서, 테스트할 수도 있다.

- [0020] 여성 내 호르몬 수치에 있어서 여기에서 사용되듯이 용어 "실질적으로 감소되지 않은"이란 본 발명의 조성물을 투여하는 동안에 호르몬 수치가 정상 범위 이내로 유지되는 것을 의미한다. 따라서, 상기 호르몬 수치가 상기 정상 범위 이내에서 유지되는 한 호르몬 수치의 약간의 감소는 있을 수도 있다는 점이 고려된다.
- [0021] 여성 내 호르몬 수치에 있어서 여기에서 사용되듯이 용어 "실질적으로 증가하지 않은"이란 본 발명의 조성물을 투여하는 동안에 호르몬 수치가 정상 범위 이내로 유지되는 것을 의미한다. 따라서, 상기 호르몬 수치가 상기 정상 범위 이내에서 유지되는 한 호르몬 수치의 약간의 증가는 생길 수도 있다는 점이 고려된다.
- [0022] 본 발명은 하나 이상의 항프로게스틴을 포함하는 조성물을 유방암 조직의 증식을 억제할만큼 유효량으로 투여함으로써 유방암을 치료하는 방법에 관한 것이다. 본 방법들은 특정 항프로게스틴들이 유방암 조직 내 아폽토시스 유도 및 유방암 조직 증식 억제 둘 다에서 효과적이라는 우연한 발견으로부터 유래하여, 이들 화합물을 유방암 조직에서 아폽토시스를 유발할 수 있지만 같은 조직에서 증식을 억제할 수 없는 RU 486 등의 기타 항프로게스틴으로부터 분별해 낸다. 따라서, 본 발명의 항프로게스틴은 놀랍게도 존재하는 종양의 성장을 감소시키고 유방조직에서 새로운 종양의 발생을 예방하는 데에 효과적이다. 상기 항프로게스틴은 그것이 낮은 당질코르티코이드 활성을 지니는 한, 정제된 항프로게스틴 또는 특이성 프로게스테론 수용체 조절제(SPRM)일 수도 있다. 바람직하게는, 상기 항프로게스틴은 저 에스트로겐/항에스트로겐 활성을 가져서, 상기 항프로게스틴을 투여받게 되는 환자에서 혈청 에스트로겐 수치가 실질적으로 보존된다.
- [0023] 본 발명의 일 측면에서, 유방암을 치료하기 위해서 하나 이상의 항프로게스틴을 유효량 포함하는 본 발명의 조성물이 유방암을 가진 환자에게 투여된다. 상기 항프로게스틴 양은 유방암 조직의 증식을 억제하기에 효과적이다.
- [0024] 관련 측면에서, 본 발명은 유방암 세포의 증식을 억제하기 위해 항프로게스틴을 이용하는 것을 제공한다. 상기 유방암 세포는 인간 유방암 세포 등의 포유류 유방암 세포일 수도 있다. 또한 상기 유방암 세포는 타목시펜 등의 항에스트로겐에 내성을 가질 수도 있다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 측면에서, 유방암을 치료하기 위해서 하나 이상의 항프로게스틴을 유효량 포함하는 본 발명의 조성물이 항에스트로겐 치료에 내성을 가진 하나 이상의 종양을 가진 유방암 환자에게 투여된다. 예를 들면, 본 발명의 조성물은 특히 환자들에서 타목시펜 내성 유방암을 치료하기 위해서 유용할 수도 있다.
- [0026] 본 발명의 또 다른 측면에서, 유방암 조직 증식을 억제하기에 효과적인 양의 하나 이상의 항프로게스틴을 포함하는 본 발명의 조성물이 유방암 치료를 위한 조합된 치료요법 중 하나로서 투여된다. 이와 관련하여, 본 발명의 조성물은 유방암 치료를 지향하는 임의의 치료제를 투여하기 전, 도중 또는 후에 투여될 수도 있다. 예를 들면, 본 발명의 항프로게스틴은 항에스트로겐, 항안드로겐, 타목시펜 등의 선택성 에스트로겐 수용체 조절제, 아나스트로졸(anastrozole), 레트로졸(letrozole), 엑세메스탄(exemestane), 또는 DL-아미노글루테티미드(aminoglutethimide) 등의 아로마타아제 억제제, 안트라사이클린, 탁산, 알킬화제, 메소트렉세이트(methotrexate), 빈블라스틴(vinblastine), 빈크리스틴(vincristine), 시스플라틴(cisplatin) 또는 그들의 조합 등의 화학치료제와 함께 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물은 항에스트로겐, 항안드로겐, 아로마타아제 억제제 등의 다른 활성 제제들과 시너지 작용을 해서, 환자 내 유방암 세포 증식을 방해할 수도 있다. 바람직한 일 실시예에서, 본 발명의 조성물은 여성 환자 내 유방암을 치료하기 위해 하나 이상의 아로마타아제 억제제와 동시투여된다. 본 발명에 의해서 항프로게스틴 및 아로마타아제 억제제의 유효량을 포함하는 조성물 또한 고려된다. 바람직한 조성물은 CDB-4124 및 아나스트로졸(anastrozole), 레트로졸(letrozole), 엑세메스탄(exemestane), 및 DL-아미노글루테티미드(aminoglutethimide)로 이루어진 그룹으로부터 선택된 아로마타아제 억제제를 포함하고 있다.
- [0027] 본 발명의 또 다른 측면에서는, 유방암 조직 증식을 억제하기에 효과적인 양의 하나 이상의 항프로게스틴을 포함하는 본 발명의 조성물을 유방암 발생을 예방하기 위해서 호르몬 요법을 받고 있는 여성에게 투여한다. 예를 들면, 유방암 발생을 예방하기 위해서 본 발명의 조성물을 호르몬 대체 요법을 받고 있는 여성에게 투여할 수도 있다. 유방암 발생을 예방하기 위해서 본 발명의 조성물을 에스트로겐 요법을 받고 있는 여성에게 투여할 수도 있다.
- [0028] 본 발명의 화합물은 호르몬 차단 치료를 받고 있는 유방암 환자에게 요구되는 장기간 사용에 적합한데, 상기 화합물이 단지 낮은 당질코르티코이드 수용체 결합 활성을 가지고, 따라서 상기 화합물이 당질코르티코이드 수용체의 기능과 상호작용하지 않기 때문이다. 따라서, 상기 화합물을 적용하면 당질코르티코이드 수용체에 높은 친화도를 갖는 항프로게스틴이 사용될 때 일반적으로 발견되는 변덕, 피로 및 체중 감소와 같은 부작용을 줄일 수

도 있다. 바람직하게는 본 발명의 화합물은 낮거나, 실질적으로 없는 에스트로겐, 항-에스트로겐 및 항-안드로겐 활성 또한 가진다. 이와 관련하여, 바람직한 항프로게스틴은 CDB-4124 및 CDB-4059이며, 이들 각각은 저 당질코르티코이드 활성을 가지며, 적어도 6개월의 투여기간 동안 인간 여성에게서 정상범위에서 에스트로겐 수치를 유지하는 것으로 밝혀졌다.

[0029] 본 발명의 방법들은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 또는 그 이상 일(day)의 투여기간 동안 유효량의 유험암 조직 증식을 억제하기에 충분한 양의 항프로게스틴을 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함할 수도 있다. 또한 상기 조성물은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 또는 그 이상 월(month)의 투여기간 동안 투여될 수도 있다. 또한 상기 조성물은 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 그 이상 연(year)의 투여기간 동안 투여될 수도 있다. 상기 투여기간 동안, 상기 조성물은 매일 또는 2일에 한번, 또는 2개월에 한번 기타 등등과 같이 주기적으로 투여될 수도 있다. 또한 상기 조성물은 간헐적으로 투여될 수도 있다. 예를 들면, 상기 조성물은 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상 개월의 투여기간 동안 투여, 임의의 기간 동안 미투여, 1, 2, 3, 4, 5 또는 그 이상 개월의 투여기간 동안 투여, 기타 등등으로 될 수도 있다.

[0030] 상술한 화합물의 특성을 보유한 임의의 공지된 항프로게스틴이 본 발명을 실시하는 기술자에 의해 사용될 수 있다. 특별히 유용한 화합물은 그 전문이 여기에 참고문헌으로 삽입된 미국등록특허 제6,861,415에 개시된 것들이며, 하기 일반 구조식을 갖는 21-치환 19-노르프레그난(21-substituted 19-norpregnanes)이다:



[0031]

[0032] 여기서:

[0033] X는 예를 들어 알킬, 알케닐, 알키닐, 수소, 할로, 모노알킬아미노 또는 N,N-디메틸아미노 등의 디알킬아미노일 수도 있고;

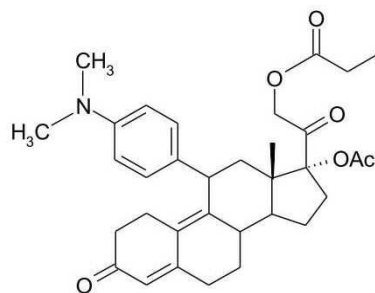
[0034] R<sub>1</sub>은 예를 들면 O, NOH 또는 NO-메틸일 수도 있고;

[0035] R<sub>2</sub>는 예를 들면 수소 또는 아세틸일 수도 있고; 그리고

[0036] R<sub>3</sub>는 예를 들면 메틸옥시, 포르밀옥시, 아세톡시, 아실옥시, S-알콕시, 아세틸테오닐, 글리시메이트, 비닐 에테르, 아세틸옥시메틸, 메틸 카르보네이트, 할로젠류, 메틸, 하이드록시, 및 에틸옥시일 수도 있다.

[0037] 21-치환 19-노르프레그난의 예시로는 하기에 개시된 24개 화합물이 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

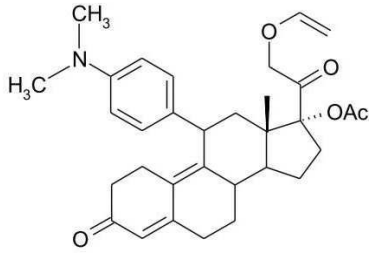
[0038] 1. 하기 구조식을 갖는 CDB-4247 (21-프로피오닐옥시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0039]

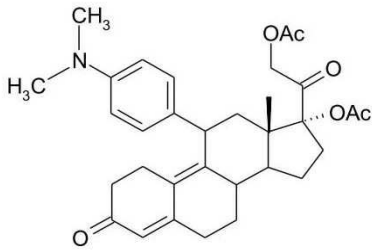
[0040] 2. 하기 구조식을 갖는 CDB-4361 (21-비닐 에테르-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):

그나-4,9-디엔-3,20-디온):



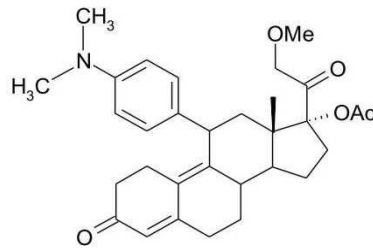
[0041]

[0042] 3. 하기 구조식을 갖는 CDB-4059 (21-아세톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



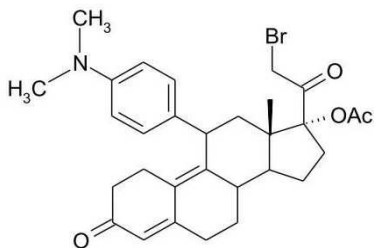
[0043]

[0044] 4. 하기 구조식을 갖는 CDB-4124 (21-메톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0045]

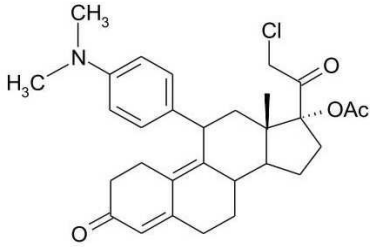
[0046] 5. 하기 구조식을 갖는 CDB-4031 (21-브로마인-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0047]

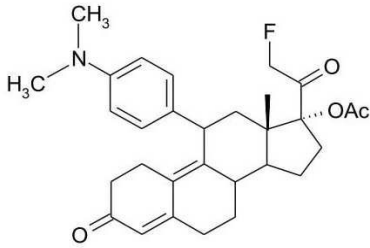
[0048] 6. 하기 구조식을 갖는 CDB-3876 (21-클로린-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):





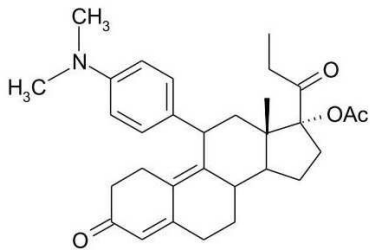
[0049]

[0050] 7. 하기 구조식을 갖는 CDB-4058 (21-플루오린-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



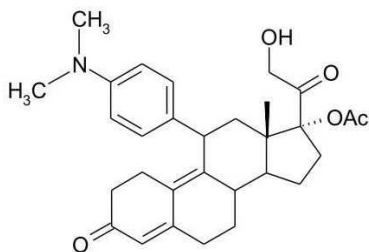
[0051]

[0052] 8. 하기 구조식을 갖는 CDB-4030 (21-메틸-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



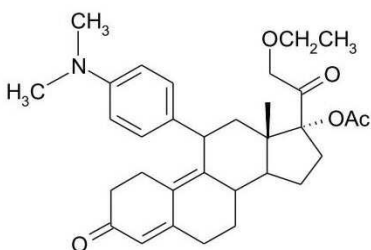
[0053]

[0054] 9. 하기 구조식을 갖는 CDB-4152 (21-하이드록시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



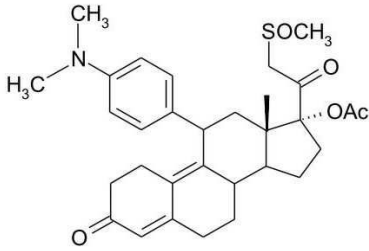
[0055]

[0056] 10. 하기 구조식을 갖는 CDB-4167 (21-에틸옥시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



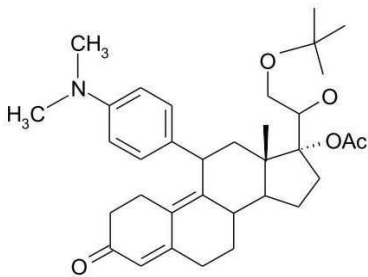
[0057]

- [0058] 11. 하기 구조식을 갖는 CDB-4101 (21-메톡시티오-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



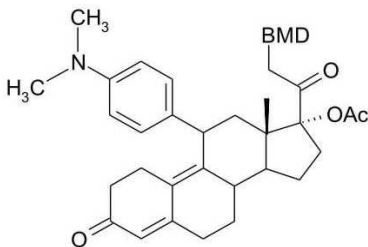
[0059]

- [0060] 12. 하기 구조식을 갖는 CDB-4110 (21-아세트나이드-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



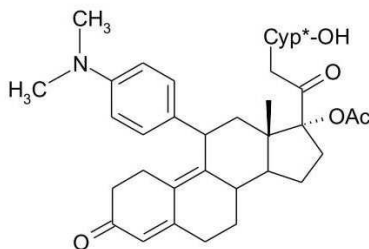
[0061]

- [0062] 13. 하기 구조식을 갖는 CDB-4111 (21-BMD-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0063]

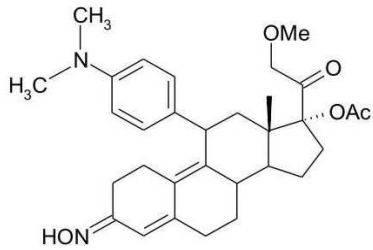
- [0064] 14. 하기 구조식을 갖는 CDB-4125 (21-(Cyp\*-하이드록시)-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0065]

\*Cyp = 3-사이클로펜틸프로피오닐옥시-

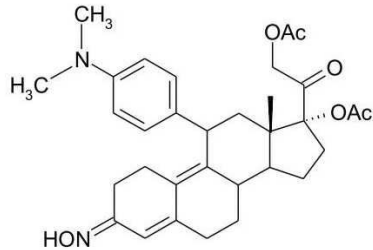
- [0066] 15. 하기 구조식을 갖는 CDB-4205 (3-하이드록시아미노-21-메톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0067]

[0068]

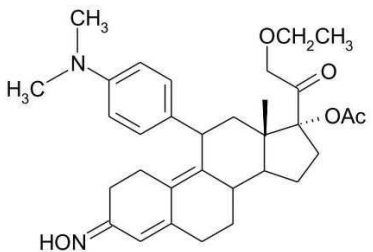
16. 하기 구조식을 갖는 CDB-4206 (3-하이드록시아미노-21-아세톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0069]

[0070]

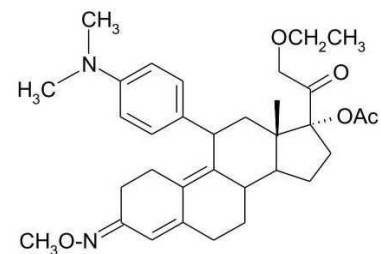
17. 하기 구조식을 갖는 CDB-4226 (3-하이드록시아미노-21-에틸톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0071]

[0072]

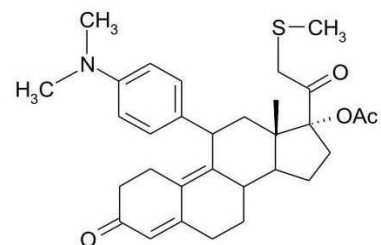
18. 하기 구조식을 갖는 CDB-4262 (3-메톡시아미노-21-에틸톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0073]

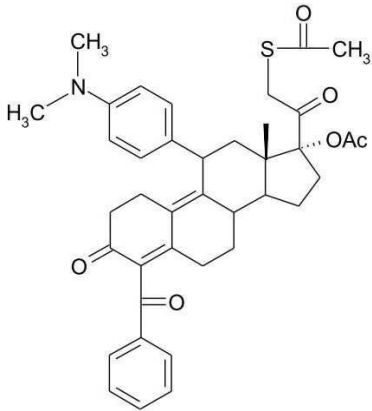
[0074]

19. 하기 구조식을 갖는 CDB-4223 (21-메틸티오-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



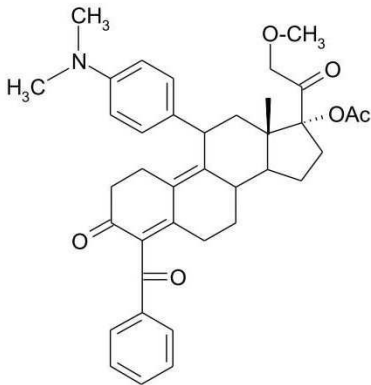
[0075]

- [0076] 20. 하기 구조식을 갖는 CDB-4119 (4-벤조인-21-아세틸티오-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



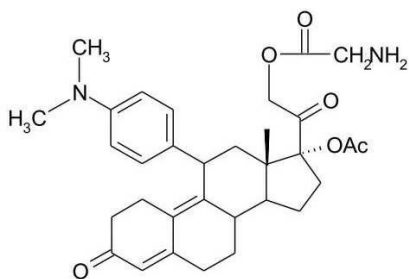
[0077]

- [0078] 21. 하기 구조식을 갖는 CDB-4239 (4-벤조인-21-메톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



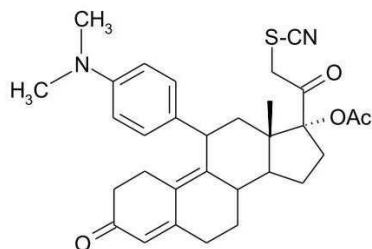
[0079]

- [0080] 22. 하기 구조식을 갖는 CDB-4306 (21-글리시네이트-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



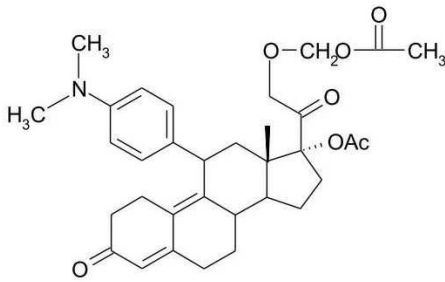
[0081]

- [0082] 23. 하기 구조식을 갖는 CDB-4352 (21-시아노티오-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0083]

[0084] 24. 하기 구조식을 갖는 CDB-4362 (21-메톡시아세틸-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온):



[0085]

[0086] 상기 개시된 상기 24개 화합물의 11 $\beta$ -모노탈메틸화 유도체들 (즉, 상기 X가 N-메틸아미노인 것들) 또한 본 발명을 실시하는 데에 특히 유용하다. 이와 관련하여, CDB-4453 (21-메톡시-17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온), CDB-4124의 모노탈메틸화 유도체가 그것의 모체보다 심지어는 더 낮은 항-당질코르티코이드 활성을 보유하는 것으로 언급되었다. Attardi 등, 2002, Mol. Cell. Endocrin. 188:111-123, 그 내용이 여기에 참고문헌으로 삽입된다.

[0087] 비록 상기 일반 구조식의 화합물들과 그들의 모노탈메틸화 유도체들이 바람직하지만, 어떠한 항프로게스틴이라도 그것이 유방암 조직 증식을 방해할 수 있는한, 상기 프로게스테론 수용체에 대한 그것의 길항제 효과를 위해서 본 발명을 실시하는 데에 사용 가능하다. 바람직하게는 상기 항프로게스틴은 저 항당질코르티코이드 활성 또한 갖는다. 바람직하게는 상기 항프로게스틴은 최소한의 에스트로겐 및 항에스트로겐 활성을 갖는다.

[0088] 본 발명에서 유용할 수 있는 항프로게스틴에는, 아소프리스닐 (벤즈알데히드, 4-[(11 $\beta$ , 17 $\beta$ )-17-메톡시-17-(메톡시메틸)-3-옥소에스트라-4,9-디엔-11-일]-1-(E)-옥심; J867), 그것의 대사산물 J912 (4-[17 $\beta$ -하이드록시-17 $\alpha$ -(메톡시메틸)-3-옥소에스트라-4,9-디엔-11 $\beta$ -일]벤즈알데히드-(1E)-옥심), 및 DE 43 32 283 및 DE 43 32 284에 설명된 기타 화합물들; CDB-2914 (17 $\alpha$ -아세톡시-11 $\beta$ -(4-N,N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온) 및 Stratton 등, 2000, Hu. Reprod. 15:1092-1099; Allan 등, 2006, Steroids 71:949-954 에서 설명된 JNJ-1250132 및 기타 화합물; Zhi 등, 1998, J. Med. Chem. 41:291-302 에서 설명된 5-아릴-1,2-디하이드로크로메노[3,4-f]퀴놀린; 미국등록특허 제6,509,334, 6,566,358 및 6,713,478 Zhang 등 에 의해 설명된 1,4-디하이드로-벤조[d][1,3]옥사진-2-온(one); 미국등록특허 제 6,391,907 Fensome 등 에 의해 설명된 1,3-디하이드로-인돌-2-온; 2,3-디하이드로-1H- 미국등록특허 제 6,417,214 Ulrich 등 에 의해 설명된 인돌류; 미국등록특허 제 6,380,235 Zhang 등 에 의해 설명된 벤지미다졸론 및 그 유사체들; 미국등록특허 제 6,339,098 Collins 등 에 의해 설명된 2,1-벤지아이스티아졸린 2,2-디옥사이드류 ;미국등록특허 제 6,306,851 및 6,441,019 Santilli 등 에 의해 설명된 사이클로카바메이트류 및 사이클로-아미드류 ; 미국등록특허 제 6,369,056 Zhang 등 에 의해 설명된 사이클릭 우레아 및 사이클릭 아미드 유도체; 및 미국등록특허 제 6,358,948 Zhang 등 에 의해 설명된 쿠나졸리논 및 벤족사진 유도체가 포함되지만, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0089] 본 발명에서 유용할 수 있는 기타 항프로게스틴류에는 미국등록특허 제 4,871,724에서 설명된 (6 $\alpha$ , 11 $\beta$ , 17 $\beta$ )-11-(4-디메틸아미노페닐)-6-메틸-4',5'-디하이드로스피로[에스트라-4,9-디엔-17,2'(3'H)-퓨란]-3-온 (ORG-31710) 및 기타 화합물; (11 $\beta$ , 17 $\alpha$ )-11-(4-아세틸페닐)-17,23-에폭시-19,24-디노르콜라-4,9,20-트리엔-3-온 (ORG-33628); 미국등록특허 제 4,921,845 에서 설명된 (7 $\beta$ , 11 $\beta$ , 17 $\beta$ )-11-(4-디메틸아미노페닐)-7-메틸-4',5'-디하이드로스피로[에스트라-4,9-디엔-17,2'(3'H)-퓨란]-3-온(ORG-31806) 및 기타 화합물; Michna 등, 1992, J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 41:339-348에서 설명된 ZK-112993 및 기타 화합물; ORG-31376; ORG-33245; ORG-31167; ORG-31343; RU-2992; RU-1479; RU-25056; RU-49295; RU-46556; RU-26819; LG1127; LG120753; LG120830; LG1447; LG121046; CGP-19984A; RTI-3021-012; RTI-3021-022; RTI-3021-020; RWJ-25333; ZK-136796; ZK-114043; ZK-230211; ZK-136798; ZK-98229; ZK-98734; 및 ZK-137316이 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0090] 또 다른 항프로게스틴에는 다음이 포함되나, 이들에만 한정되는 것은 아니다, 미국등록특허 제4,386,085, 제 4,447,424, 제4,519,946 및 제4,634,695에서 설명된 화합물;Jiang 등, 2006, Steroids 71:949-954에서 설명된 인-함유 17 $\beta$ -측쇄 미페프리스톤 유사체; 오나프리스톤 (11 $\beta$ -[p-(디메틸아미노)페닐]-17 $\alpha$ -하이드록시-17-(3-하이드록시프로필)-13 $\alpha$ -에스트라-4,9-디엔-3-온) 및 미국등록특허 제4,780,461에서 설명된 기타 화합물; 릴

로프리스톤 (((Z)-11β-[4-(디메틸아미노)페닐]-17β-하이드록시-17α-(3-하이드록시-1-프로페닐)에스트라-4,9-디엔-3-온) 및 미국등록특허 제4,609,651에서 설명된 기타 화합물; Belagner 등, 1981, Steroids 37:361-382에 설명된 11β-(4-메톡시페닐)-17β-하이드록시-17α-에틸-4,9-에스트라디엔-3-온 등의 11β-치환 19-노르스테로이드류; 미국등록특허 제5,728,689에 설명된 (Z)-11β-[4-(디메틸아미노)페닐]-17β-하이드록시-17α-(3-하이드록시-1-프로페닐)에스트라-4-엔-3-온 등의 11β-아릴-4-에스트렌류; 미국등록특허 제5,843,933 및 5,843,931에 설명된 11β-아릴-에스트렌 유도체; 미국등록특허 제5,693,628에 설명된 4-[17β-메톡시-17α-(메톡시메틸)-3-옥소에스트라-4,9-디엔-11β-일]벤즈알데히드-1-(E)-옥심 등의 11-벤즈알도옥심-에스트라-디엔 유도체; 미국등록특허 제5,576,310에 설명된 4-[17β-메톡시-17α-(메톡시메틸)-3-옥소에스트라-4,9-디엔-11β-일]벤즈알데히드-1-(E)-[0-(에틸아미노)카르보닐]옥심 등의 11-벤즈알도옥심-17β-메톡시-17α-메톡시메틸-에스트라디엔 유도체; WO 99/45023에 설명된 4-[17β-메톡시-17α-(메톡시메틸)-3-옥소에스트라-4,9-디엔-11β-일]벤즈알데히드-1-(E)-[0-(에틸티오)카르보닐]옥심 등의 S-치환 11β-벤즈알도옥심-에스트라-4,9-디엔-카르보닉산 티올에스테르; DE 19652408, DE 4434488, DE 4216003, DE 4216004 및 WO 98/24803에 설명된 (Z)-6'-(4-시아노페닐)-9,11α-디하이드로-17β-하이드록시-17α-[4-(1-옥소-3-메틸부톡시)-1-부테닐]4'H-나프토[3',2',1';10,9,11]에스트라-4-엔-3-온 등의 스테로이드 에스테르; WO 98/34947에 설명된 11β-(4-아세틸페닐)-17β-하이드록시-17α-(1,1,2,2,2-펜타플루오로에틸)에스트라-4,9-디엔-3-온 등의 플루오르화 17α-알킬 체인 스테로이드; 미국등록특허 제5,292,878에 설명된 11베타-(4-아세틸페닐)-19,24-디노르-17,23-에폭시-17알파-콜라-4,9,20-트리엔-3-온 등의 17-스피로퓨란-3'-일리덴 스테로이드; 미국등록특허 제5,439,913에 설명된 (Z)-11베타,19-[4-(3-피리디닐)-o-페닐렌]-17베타-하이드록시-17α-[3-하이드록시-1-프로페닐]-4-안드로스텐-3-온 및 기타 화합물; 미국등록특허 제5,446,036에 설명된 11베타-[4-(1-메틸에테닐)페닐]-17α-하이드록시-17베타-(3-하이드록시프로필)-13α-에스트라-4,9-디엔-3-온 등의 13-알킬-11-베타-페닐 고난; 미국등록특허 제4,921,845에 설명된 4',5'-디하이드로-11베타-[4-(디메틸아미노)페닐]-6베타-메틸스피로[에스트라-4,9-디엔-17베타,2'(3'H)-퓨란]-3-온 등의 11-아릴스테로이드; 미국등록특허 제4,829,060, 4,814,327 및 5,089,488에 설명된 11-베타-아릴-에스트라디엔; 미국등록특허 제5,739,125, 5,407,928 및 5,273,971에 설명된 11-베타-아릴-4,9 고나디엔 및 11-베타-아릴-13-알킬-4,9-고나디엔; EP 289073에 설명된 11-베타-아릴-6-알킬 (또는 알케닐 또는 알킬닐) 스테로이드; 미국등록특허 제5,093,507에 설명된 10-베타,11-베타-분지형 스테로이드; 미국등록특허 제5,244,886에 설명된 11-베타-아릴-14-베타-스테로이드; 미국등록특허 제5,095,129, 5,446,178, 5,478,956 및 5,232,915에 설명된 19,11-베타-분지형 스테로이드; 미국등록특허 제5,684,151에 설명된 1-아릴술폰닐, 아릴카르보닐 및 1-아릴포스포닐-3-페닐-1,4,5,6-테트라하이드로피리다진; 미국등록특허 제5,753,655에 설명된 1-아릴술폰닐, 아릴카르보닐 및 아릴티오카르보닐 피리다지노 유도체; 미국등록특허 제5,688,808, 5,693,646, 5,693,647, 5,696,127, 5,696,130 및 5,696,133에 설명된 1,2-디하이드로-[1,2-g]퀴놀린 유도체 및 1,2-디하이드로-크로메노-[3,4-f]퀴놀린 유도체; Kang 등, 2007, Bioorg. Med. Chem. Lett. 15:907-910에 설명된 (8S, 13S, 14R)-7-옥사-에스트라-4,9-디엔-3,17-디온 1 유래 의 옥사-스테로이드 6; 및 Kang 등, 2007, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17:2531-2534에 설명된 7-옥사-스테로이드 4 이 포함되나, 이들에만 한정되는 것은 아니다.

- [0091] 상기 바람직한 실시예에서, 상기 항프로게스틴은 CDB-4059 (21-아세톡시-17α-아세톡시-11β-(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온)이다.
- [0092] 상기 바람직한 실시예에서, 상기 항프로게스틴은 CDB-4124 (21-메톡시-17α-아세톡시-11β-(4 N, N-디메틸아미노페닐)-19-노르프레그나-4,9-디엔-3,20-디온)이다.
- [0093] 바람직하게는 상기 항프로게스틴은 유방암 세포주에서 백 개의 세포당 증식중인 세포 수를 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 까지 감소시킨다. 상기 유방암 세포주는 MCF-7 등의 타목시펜에 민감하거나, LY-2 등의 타목시펜에 내성이 있을 수도 있다.
- [0094] 본 발명의 또 다른 실시예에서는 선택성 프로게스테론 수용체 결합 활성을 보유하는 화합물을 식별하는 데 사용 가능한 방법들을 교시하고 있다. 이 방법들에는 수용체 결합 및 항-맥긴티(McGinty), 항-클라우버그(Clauberg), 당질코르티코이드, 에스트로겐성, 안드로겐성, 항-당질코르티코이드 (AG), 항-에스트로젠, 및 항-안드로젠 활성 뿐만 아니라 본 발명의 선도(leading) 화합물이 레퍼런스로 사용되는 성교후 및 항-배란 활성 등 생체 내 바이오에이저가 포함된다.
- [0095] 또 다른 실시예에서, 본 발명은 잠재적 항프로게스틴이 또한 인간 세포에서 전사 활성에 대해 분석 가능하다는 것을 교시하고 있다. 본 발명에서 개시된 항프로게스틴이 레퍼런스로 사용될 때, 이 분석이 (1) 후보 화합물의

상기 프로게스테론 수용체와의 상호작용, (2) 상기 활성화된 프로게스테론 수용체의 다른 전사 인자들과의 상호작용, 및 (3) 프로게스테론 반응 요소 (PRE)에서 전사 복합체의 활성화에 대한 정보를 제공할 수 있다. 이러한 실험들에서, 상기 인간 PR-B 동형체 (hPR-B)를 발현하는 플라스미드가 관련 분야의 기술을 가진 자에게 알려진 임의의 리포터(reporter)에 의해서 상기 PRE-의존성 프로모터 하에서 HeLa, HepG2 또는 T47D 셀 내로 동시형질 감염(cotransfect)될 수 있다. 상기 리포터들에는 루시페라아제, 베타-갈락토시다아제, 그린 형광 단백질, 적색 형광 단백질 또는 노랑 형광 단백질이 포함될 수 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 형질감염 후, 상기 셀들은 후보 화합물이나 양성 컨트롤로서 작용하는 본 출원에서 개시된 항프로게스틴 중 하나로 처리된다. 처리 후에 셀들은 리포터 발현이 분석된다.

[0096] 또 다른 실시예에서, 본 발명은 장래의 항프로게스틴이 인간 림프구 세포주 CEM-7에서 텍사메타손-유도 세포 사멸을 억제하는 그들의 능력을 시험할 수 있으며, 본 명세서에 개시된 항프로게스틴의 효과에 대비될 수 있음을 교시하고 있다. 이들 실험에서, 텍사메타손이 세포 사멸을 야기하는 농도로 첨가될 수 있다. 상기 셀들은 이후 본 발명의 항프로게스틴의 하나인 RU486이나, 테스트 화합물로  $10^{-6}$  및  $10^{-8}$  M 사이 농도로 처리시킨다.

[0097] 본 발명에 따라 사용될 수 있는 항프로게스틴 화합물은 미국등록특허 제6,861,415에 개시된 바와 같이 당업계에 알려진 합성 화학 기술을 이용하여 합성될 수 있다. 특정 작용기들이 반응 조건 하에서 다른 반응물이나 시약을 방해해서, 일시적 보호를 요구할 수도 있음을 이해해야 한다. 보호기들의 사용은 'Protective Groups in Organic Synthesis', 2<sup>nd</sup> edition, T. W. Greene & P. G. M. Wutz, Wiley-Interscience (1991)에 설명되어 있다.

[0098] 하나의 실시예에서, 본 발명의 조성물은 하나 이상의 항프로게스틴 또는 그의 약학적 허용 가능 염을 포함한다. 공정 조건에 따라서 수득된 염 화합물이 중성이거나 염 형태일 수도 있다. 염 형태에는 수화물(hydrate) 및 기타 용매화물(solvate) 및 또한 결정 다형체(crystalline polymorph)가 포함된다. 자유 염기 및 이들 최종 산물의 염 모두 본 발명에 따라서 이용 가능하다.

[0099] 산 첨가 염은 알칼리 등의 염기 보조제나 이온교환에 의해서 공지된 방식으로 그 자체로 상기 자유 염기로 전환될 수도 있다. 수득된 상기 자유 염기는 유기 또는 무기 산을 가진 염을 형성할 수도 있다.

[0100] 산 첨가 염을 제조함에 있어서, 적절하게 약학적 허용 가능 염을 형성하는 그러한 산이 사용되는 것이 바람직하다. 그러한 산의 예시로는 염산, 황산, 인산, 질산, 지방산, 포름산, 아세트산, 프로피온산, 숙신산, 글리콜산, 락트산, 말산, 타르타르산, 시트르산, 아스코르브산, 글루쿠론산, 푸마르산, 말레산, 하이드록시말레산, 피루브산, 아스파르트산, 글루탐산, p-하이드록시벤조산, 엠본산, 에탄술포산, 하이드록시에탄술포산, 페닐아세트산, 만델산, 알로젠벤젠술포, 툴루엔술포산, 갈락타르산, 갈락투론산 또는 나프탈렌술포산 등의 지환 카르복실산 또는 설포산이 있다. 모든 결정 형 다형체가 본 발명에 따라 사용될 수도 있다.

[0101] 염기 첨가 염 또한 본 발명에 따라서 사용될 수도 있으며, 상기 자유 산 형태를 충분한 양의 소망하는 염기와 접촉시켜서 기존 방식대로 염을 생산함으로써 제조될 수도 있다. 상기 자유 산 형태는 상기 염 형태를 산과 접촉시키고 기존 방식대로 상기 자유 산을 분리시킴으로써 재생산할 수도 있다. 약학적 허용 가능 염기 첨가 염은 알칼리 및 알칼리토 금속 또는 유기 아민과 같은 금속류 또는 아민류로 형성된다. 양이온으로 이용되는 금속류의 예시로는 나트륨, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 기타가 있다. 적절한 아민류의 예시로는 라이신, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, N-메틸글루카민 기타 등의 아미노산이다.

[0102] 본 발명의 조성물은 경구, 비경구, 경피(transdermal), 직장(rectal), 경점막(transmucosal), 또는 국소 투여에 적합한 하나의 투여량 단위 또는 복수의 투여량 단위 형태로 조제 가능하다. 비경구 투여에는 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하, 근육내, 척추내 및 관절내 투여가 포함되나, 이에만 한정하는 것은 아니다.

[0103] 여기에서 용어 "경구 투여" 또는 "경구 전달 가능"에는 치료제 또는 그 조성물을 임의의 형태로 대상체에게 전달하는 것이 포함되는데, 여기서 상기 제제 또는 조성물이 삼켜지든지 아니든지 상기 대상체의 구강 속에 놓이게 된다. 따라서, "경구 투여"에는 협측(buccal) 및 설하(sublingual) 뿐만 아니라 식도 (예. 흡입)이 포함된다.

[0104] 또 다른 실시예에서, 본 발명의 조성물은 직장 좌제로 제형화되며, 이에에는 코코아버터 또는 글리세라이드를 포함하는 좌제가 포함될 수도 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0105] 또한 본 발명의 조성물은 흡입 용으로 제형화될 수도 있는데, 이것은 건조분말 또는 디클로로플루오로메탄 또는 트리클로로플루오로메탄 등의 분사제를 사용하여 에어로졸 형태로서 투여될 수도 있는 용액, 현탁액, 또는 에멀

전을 포함하는 형태일 수도 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

- [0106] 또한 본 발명의 조성물은 경피 전달용으로 제형화될 수도 있는데, 예를 들면 크림, 연고, 로션, 페이스트, 젤, 약물처리 고약(medicated plaster), 패치, 또는 막으로서이다. 그러한 조성물은 부형제, 예를 들면 침투강화제 등등을 포함할 수 있다.
- [0107] 또한 본 발명의 조성물은 비경구 투여용으로 제형화될 수도 있는데, 주사 또는 연속주입(continuous infusion)에 의하는 것이 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 주사용 제형은 유성 또는 수용성 비히클 내의 현탁액, 용액, 또는 에멀전 형태일 수도 있다. 또한 그러한 조성물은 멸균, 발열성물질제거수(pyrogen-free water), WFI, 기타 등등이 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아닌, 적절한 비히클과 재구성하기 위해 분말 형태 속에 공급될 수도 있다.
- [0108] 또한 본 발명의 조성물은 데포 제제(depot preparation)로서 제형화될 수도 있는데, 이것은 이식에 의하거나 근육내 주사에 의해서 투여될 수도 있다. 그러한 조성물은 적절한 고분자 또는 소수성 물질과 함께 (예를 들어, 수용가능 오일 내 에멀전으로서), 이온교환수지, 또는 난용성 유도체로서 (예를 들어, 난용성 염으로서) 제형화될 수도 있다.
- [0109] 또한 본 발명의 조성물은 리포솜 제제로 제형화될 수도 있다. 리포솜 제제는 관심 세포 또는 표피각질층을 투과하고 세포막과 융합하는 리포솜을 포함해서 상기 세포 내로 상기 리포솜의 내용물을 전달할 수 있다. 예를 들면, Yarosh의 미국등록특허 제5,077,211, Redziniak 등의 미국등록특허 제4,621,023, 또는 or Redziniak 등의 미국등록특허 제4,508,703 에서 설명된 것들과 같은 리포솜들이 사용 가능하다.
- [0110] 본 발명의 조성물은 타블렛, (예, 현탁 타블렛, 바이트(bite) 현탁 타블렛, 급속 분산 타블렛, 씹을 수 있는 타블렛, 비등정(effervescent tablets), 이중층 타블렛, 등), 캡슐(예, 연질 또는 경질 젤라틴 캡슐), 분말 (예, 포장된 분말, 분산성 분말 또는 비등분말), 마름모형(lozenges), 사세(sachets), 카세(cachets), 트로키(troches), 펠릿, 그라눌, 마이크로그라눌, 캡슐화 마이크로그라눌, 분말 에어로졸 제형, 또는 투여용으로 합리적으로 적용된 임의의 기타 고형 투약 형태와 같이 고형 투여 단위 형태일 수 있다.
- [0111] 타블렛은 다수의 관련있는 주지의 약품 기술에 따라 조제 가능하다. 하나의 실시예에서, 타블렛 또는 기타 고형 투여 형태는 (1) 건조 혼합, (2) 직접 압축, (3) 밀링, (4) 건조 또는 미-수용성 조립, (5) 습식 조립 (granulation), 또는 (6) 융합을 포함하지만 이에만 한정되지 않는 방법들 중 하나 또는 조합을 채택하는 공정에 의해 조제 가능하다.
- [0112] 타블렛 조제 중 상기 습식 조립 공정에서 개별 단계들은 일반적으로 원료성분 밀링 및 체질(sieving), 건조분말 혼합, 습식계량(wet massing), 조립(granulation) 및 최종 그라인딩을 포함한다. 건조 조립(granulation)에는 중하중 타정기 상에서 분말 혼합물을 거친 타블렛(rough tablet) 또는 "슬러그(slug)"로 압축시키는 것이 개입된다. 이후 상기 슬러그는 그라인딩 작업에 의해서, 보통 진동 조립기 통과에 의해서 알갱이들로 부서진다. 상기 개별 단계들에는 상기 분말의 혼합, 압축 (슬러그화) 및 그라인딩 (슬러그 감소 또는 조립)가 포함된다. 전형적으로, 상기 단계들 중 어디에서도 습식 바인더 또는 수분이 개입되지 않는다.
- [0113] 또 다른 실시예에서, 고형 투여 형태는 항프로게스틴을 하나 이상의 약학 부형제와 혼합해서 사실상 균질의 전제형 혼합(homogenous preformulation blend)을 형성함으로써 조제 가능하다. 상기 전제형 혼합은 이후 임의의 소망하는 투여 형태로 세분화되고 선택적으로 추가 가공 (예 압착, 캡슐화, 포장, 분산, 등) 될 수 있다.
- [0114] 압착 타블렛은 본 발명의 분말 또는 조립 조성물을 압착시킴으로써 조제 가능하다. 용어 "압착 타블렛"은 일반적으로 경구 섭취에 적당한 단순한(plain), 미코팅 타블렛을 가리키는데, 일회 압착에 의해서나 사전-압착 탭핑 후 최종 압착에 의해서 조제된다. 본 발명의 타블렛은 코팅되거나 그렇지 않으면 개량된 취급 또는 저장 특성의 장점을 부여하는 투여 형태를 제공하기 위해 화합물로 될 수도 있다. 하나의 실시예에서, 임의의 그러한 코팅을 선택함으로써 대상체에 투여할 때 본 발명의 조성물의 치료 효과 개시를 실질적으로 지연시키지 않게 될 것이다. 여기에서 사용되듯이 용어 "현탁 타블렛"은 물 속에 놓인 후에 급격하게 분해하는 압축 타블렛을 가리킨다.
- [0115] 본 발명의 조성물의 적절한 액체 투여 형태에는 용액, 수용성 또는 유성 현탁액, 엘릭시르(elixir), 시럽, 에멀전, 액체 에어로졸 제형, 젤, 크림, 연고, 등이 포함된다. 또한 그러한 조성물은 사용 전에 물 또는 기타 적절한 비히클과의 구성을 위해서 건조한 제품으로 제형화될 수도 있다.
- [0116] 하나의 실시예에서, 실온, 냉장 (예, 약 5 -10℃) 온도, 또는 냉동 온도에서 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,



10, 11, 또는 12 개월간 유지되는 폐쇄형 용기에 저장시에, 액체 또는 반고형 조성물은 그 속에 존재하는 본래의 항프로게스틴 화합물의 적어도 약 90%, 적어도 약 92.5%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 97.5%를 발휘한다.

[0117] 본 발명의 조성물에는 원하는 경우에, 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제가 포함될 수 있다. 여기에서 용어 "부형제"는 그 자체로 치료제는 아니지만, 대상체로의 치료제 전달용 담체 또는 비히클로서 사용되거나, 그것의 취급 또는 저장 성질을 개선하거나 상기 조성물의 단위 투여 형태를 가능하게 하거나 촉진하기 위해서 약학 조성물에 첨가되는, 임의의 물질을 의미한다. 부형제에는 희석제, 봉해제, 결합 조제, 접착제, 습윤제, 윤활제, 활택제(glidants), 표면 개질제(surface modifying agents) 또는 계면활성제, 향료, 현탁화제, 유화제, 비수성 비히클, 방부제, 산화방지제, 접착제, pH 및 물삼투압 조절제 (예, 완충제), 방부제, 호료, 감미료, 착향료, 미감차단제(taste masking agents), 착색제 또는 염료, 투과 강화제 및 상기 조성물의 외형 개선을 위해 첨가되는 물질이 포함되나, 설명에 의해서이지 한정하려는 것은 아니다.

[0118] 본 발명의 조성물에 선택적으로 이용되는 부형제는 고형, 반고형, 액상 또는 이들의 조합 형태일 수 있다. 본 발명의 부형제 함유 조성물은 약물 또는 치료제와 부형제를 혼합하는 것을 포함하는 임의의 공지된 약학 기술에 의해서 조제 가능하다.

[0119] 본 발명의 조성물은 선택적으로 하나 이상의 약학적 허용 가능 희석제를 부형제로서 포함한다. 적합한 희석제에는 예시적으로 무수 락토오스 및 락토오스 모노하이드레이트를 포함하는, 락토오스; 직접적으로 압착성 전분 및 수화 전분을 포함하는, 전분 (예, Celutab™ 및 Emdex™); 만니톨; 솔비톨; 자일리톨; 텍스트로오스 (예, Cerelese™ 2000) 및 텍스트로오스 모노하이드레이트; 제2인산칼슘 디하이드레이트; 수크로오스-기재 희석제; 가루설탕(confectioner's sugar); 제1황산칼슘 모노하이드레이트; 황산칼슘 디하이드레이트; 과립 락트산 칼슘 트리하이드레이트; 텍스트레이트; 이노시톨; 수화 씨리얼 솔리드; 아밀로오스; 미세결정 셀룰로오스, α- 및 무정형 셀룰로오스 (예, Rexcel™의 식품소스 및 분말 셀룰로오스 포함, 셀룰로오스; 탄산칼슘; 글리신; 벤토나이트; 폴리비닐피롤리돈; 기타 등등이 개별적으로든지 조합 형태로 포함된다. 그러한 희석제는 존재시에, 전체적으로 상기 조성물의 총 중량대비 약 5% 내지 약 99%, 약 10% 내지 약 85%, 또는 약 20% 내지 약 80%을 구성한다. 바람직하게 선택된 임의의 희석제 또는 희석제들은 적절한 흐름성과, 타블렛이 수요되는 경우에서는, 압착성을 발현한다.

[0120] 과립의 미세결정 셀룰로오스 (즉, 건조단계 후에 젖은 과립 조성물에 첨가된 미세결정 셀룰로오스)에 대한 이용이 정도 (타블렛용) 및/또는 분해 시간을 개선하기 위해 이용될 수 있다.

[0121] 본 발명의 조성물은 선택적으로 하나 이상의 약학적 허용 가능 봉해제를 특히 타블렛, 캡슐 또는 기타 고형 제형 용 부형제로서 포함한다. 적절한 봉해제에는 예시적으로 전분글리콜산나트륨 (예, PenWest의 Explotab™) 및 호화 옥수수 전분(pregelatinized corn starches) (예, National™ 1551, National™ 1550, 및 Colocorn™ 1500)을 포함하는 전분류, 클레이 (예, Veegum™ HV), 정제 셀룰로오스, 미세결정 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스 및 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨 등의 셀룰로오스, 크로스카르멜로스 나트륨 (예, FMC의 Ac-Di-Sol™), 알긴산염, 크로스포비돈, 및 아가, 구아, 산탄, 로커스트 빈, 카라야(karaya), 펙틴 및 트래거캔스 검류 등의 검류가 개별적으로든지 조합 형태로 포함된다.

[0122] 봉해제는 상기 조성물의 제조 도중의 임의의 단계, 특히 조립화(granulation) 단계 이전 또는 압착 전 윤활 단계 도중에 첨가될 수도 있다. 그러한 봉해제는 존재시에, 전체적으로 상기 조성물의 총 중량대비 약 0.2% 내지 약 30%, 약 0.2% 내지 약 10%, 또는 약 0.2% 내지 약 5%을 구성한다.

[0123] 본 발명의 조성물은 선택적으로 하나 이상의 약학적 허용 가능 결합 조제 또는 접착제를 특히 타블렛 제형 용 부형제로서 포함한다. 그러한 결합 조제 및 접착제는 바람직하게는 타블렛화되고 있는 분말에 충분한 응집력을 제공함으로써 사이징(sizing), 윤활, 압착 및 포장 등 정상적인 가공 작업이 가능하게 하나, 여전히 쉽시에 상기 타블렛을 분해시키고, 상기 조성물이 흡수될 수 있게 한다. 결합 조제 및 접착제에는 아카시아; 트래거캔스; 수크로오스; 젤라틴; 글루코오스; 호화전분(예, National™ 1511 및 National™ 1500) 등이지만 이에만 한정되지 않는 전분류; 메틸셀룰로오스 및 카르멜로스 나트륨 (예, Tylose™) 등이지만 이에만 한정되지 않는 셀룰로오스; 알긴산 및 알긴산염; 알루미늄 실리케이트 망간; PEG; 구아 검; 폴리사카라이드산; 벤토나이트; 예를 들면 포비돈 K-15, K-30 및 K-29/32의 포비돈; 폴리메타아크릴레이트; HPMC; 하이드록시프로필셀룰로오스 (예, Klucel™); 및 에틸셀룰로오스 (예, Ethocel™)가 개별적으로든지 조합 형태로 포함된다. 그러한 결합 조제 및/또는 접착제는 존재시에, 전체적으로 상기 조성물의 총 중량대비 약 0.5% 내지 약 25%, 약 0.75% 내지 약 15%, 또는 약 1% 내지 약 10%을 구성한다.

- [0124] 본 발명의 조성물은 선택적으로 하나 이상의 약학적 허용 가능 습윤제를 부형제로서 포함한다. 본 발명의 조성물에서 습윤제로 사용 가능한 계면활성제의 비 한정적인 예시로는 4급 암모늄 화합물, 예를 들어 벤즈알코늄 염화물, 벤즈에토늄 염화물 및 세틸피리디늄 염화물, 디옥틸황화숙신산나트륨(Dioctyl 나트륨 sulfosuccinate), 폴리옥시에틸렌 알킬페닐 에테르, 예를 들어 노녹시놀 9, 노녹시놀 10, 및 옥톡시놀 9, 폴옥사머 (폴리옥시에틸렌 및 폴리옥시프로필렌 블록 공중합체), 폴리옥시에틸렌 지방산 글리세라이드 및 오일, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 (8) 카프릴릭/카프릭 모노- 및 디글리세라이드 (예, Gattefosse의 Labrasol™), 폴리옥시에틸렌 (35) 캐스터유 및 폴리옥시에틸렌 (40)수소화 캐스터유; 폴리옥시에틸렌 알킬에테르, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 (20) 세트스테아릴 에테르, 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 (40) 스테아르산, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르, 예를 들어 폴리소르베이트 20 및 폴리소르베이트 80 (예, ICI의 Tween™ 80), 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르, 예를 들어 프로필렌 글리콜 라우릴산 (예, Gattefosse의 Lauroglycol™), 라우릴 황산 나트륨, 지방산 및 그 염, 예를 들어 올레산, 올레 나트륨 및 트리에탄올아민 올레산, 글리세릴 지방산 에스테르, 예를 들어 글리세릴 모노스테아르산, 소르비탄 에스테르, 예를 들어 소르비탄 모노라우릴산, 소르비탄 모노올레산, 소르비탄 모노팔미트산 및 소르비탄 모노스테아르산, 틸록사폴(tyloxapol), 및 그 혼합물이 있다. 그러한 습윤제는 존재시에, 전체적으로 상기 조성물의 총 중량대비 약 0.25% 내지 약 15%, 약 0.4% 내지 약 10%, 또는 약 0.5% 내지 약 5%을 구성한다.
- [0125] 본 발명의 조성물은 선택적으로 하나 이상의 약학적 허용 가능 윤활제 (부착방지제 및/또는 활택제 포함)를 부형제로서 포함한다. 적절한 윤활제에는 글리세릴 비하페이트(behapate) (예, Compritol™ 888); 마그네슘 (스테아르산 마그네슘), 스테아르산 칼슘 및 나트륨 포함 스테아르산 및 그 염; 수소화 식물유 (예, Sterotex™); 콜로이드 실리카; 탈크; 왁스; 붕산; 벤조산 나트륨; 아세트산 나트륨; 푸마르산 나트륨; 염화나트륨; DL-류신; PEG(예, Carbowax™ 4000 및 Carbowax™ 6000); 올레산 나트륨 ; 라우릴 황산 나트륨; 및 라우릴 황산 마그네슘이 개별적으로든지 조합 형태로 포함된다. 그러한 윤활제는 존재시에, 전체적으로 상기 조성물의 총 중량대비 약 0.1% 내지 약 10%, 약 0.2% 내지 약 8%, 또는 약 0.25% 내지 약 5%을 구성한다.
- [0126] 적절한 부착방지제에는 탈크, 옥수수전분, DL-류신, 라우릴 황산 나트륨 및 메탈릭 스테아르산이 포함된다. 탈크는 예를 들면 장치 표면에 제형이 들러붙는 것을 줄이고, 상기 혼합물에 고정되는 것을 줄이기 위해서 사용되는 부착방지제 또는 활택제이다. 하나 이상의 부착방지제는 존재시에, 상기 조성물의 총 중량대비 약 0.1% 내지 약 10%, 약 0.25% 내지 약 5%, 또는 약 0.5% 내지 약 2%을 구성한다.
- [0127] 활택제는 고휘도 제형의 분말 흐름을 촉진하기 위해서 사용 가능하다. 적절한 활택제에는 콜로이드 실리콘 이산화물, 전분, 탈크, 제3 인산칼슘, 분말 셀룰로오스 및 마그네슘 트리실리케이트가 포함된다. 콜로이드 실리콘 이산화물이 특히 바람직하다.
- [0128] 본 발명의 조성물은 하나 이상의 소포제를 포함할 수 있다. 시메티콘(Simethicone)이 소포제의 일 예이다. 소포제는 존재시에, 상기 조성물의 총 중량대비 약 0.001% 내지 약 5%, 약 0.001% 내지 약 2%, 또는 약 0.001% 내지 약 1%을 구성한다.
- [0129] 본 발명에서 사용하기 위한 산화방지제의 예시로는 부틸화 하이드록시톨루엔, 부틸화 하이드록시아니솔, 메타바 이설파이트 칼륨, 기타 등등이 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 하나 이상의 산화방지제는 소망하는 경우에, 일반적으로 본 발명의 조성물 내에 중량 기준 약 0.01% 내지 약 2.5%, 예를 들어 약 0.01%, 0.05%, 약 0.1%, 약 0.5%, 약 1%, 약 1.5%, 약 1.75%, 약 2%, 약 2.25%, 또는 약 2.5%으로 구성된다.
- [0130] 다양한 실시예에서, 본 발명의 조성물은 방부제를 포함할 수 있다. 적절한 방부제에는 벤즈알코늄 염화물, 메틸, 에틸, 프로필 또는 부틸파라벤, 벤질 알코올, 페닐에틸 알코올, 벤즈에토늄, 메틸 또는 프로필p-하이드록시벤조산 및 소르빈산 또는 그 조합형태가 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 일반적으로, 상기 선택적인 방부제는 중량 기준 약 0.01% 내지 약 0.5% 또는 약 0.01% 내지 약 2.5%의 양으로 존재한다.
- [0131] 하나의 실시예에서, 본 발명의 조성물은 선택적으로 완충제를 포함한다. 완충제는 pH 변화를 줄이는 제제가 해당된다. 본 발명의 다양한 실시예에서 사용하기 위한 완충제의 예시적인 집단으로 예를 들어 IA족 금속의 중탄산염, IA족 금속의 탄산염을 포함하는 IA족 금속염, 알카라인 또는 알칼리토 금속 완충제, 알루미늄 완충제, 칼슘 완충제, 나트륨 완충제, 또는 마그네슘 완충제를 포함하고 있다. 적절한 완충제에는 전술한 예를 들어 인산, 시트르산, 붕산, 아세트산, 중탄산 및 탄산 나트륨 또는 칼륨 중 어느 것의 탄산, 인산, 중탄산, 시트르산, 붕산, 아세트산, 프탈릭산, 타르타르산, 숙신산이 포함된다.
- [0132] 적절한 완충제의 비 한정적인 예시에는 수산화 알루미늄, 마그네슘, 글리신산 알루미늄, 아세트산 칼슘, 중탄

산 칼슘, 붕산 칼슘, 탄산칼슘, 시트르산칼슘, 글루콘산 칼슘, 글리세로인산칼슘, 수산화칼슘, 락트산 칼슘, 프탈릭산 칼슘, 인산칼슘, 숙신산 칼슘, 타르타르산 칼슘, 제2 인산나트륨, 인산수소 2칼륨, 인산 제2칼륨, 인산수소 2나트륨, 숙신산 2나트륨, 건조 수산화 알루미늄 겔, 아세트산 마그네슘, 알루미늄산 마그네슘, 붕산마그네슘, 중탄산마그네슘, 탄산마그네슘, 시트르산 마그네슘, 글루콘산 마그네슘, 수산화 마그네슘, 락트산 마그네슘, 알루미늄산 마그네슘 메타실리케이트, 산화 마그네슘, 프탈릭산 마그네슘, 인산마그네슘, 마그네슘 실리케이트, 숙신산 마그네슘, 타르타르산 마그네슘, 아세트산 칼륨, 탄산칼륨, 중탄산칼륨, 붕산 칼륨, 시트르산 칼륨, 메타인산 칼륨, 프탈릭산 칼륨, 인산칼륨, 폴리인산칼륨, 피로인산칼륨, 숙신산 칼륨, 타르타르산 칼륨, 아세트산 나트륨, 중탄산나트륨, 붕산 나트륨, 탄산나트륨, 시트르산 나트륨, 글루콘산 나트륨, 인산수소 나트륨, 수산화 나트륨, 락트산 나트륨, 프탈릭산 나트륨, 인산 나트륨, 폴리인산나트륨, 피로인산나트륨, 세스퀴탄산(sesquicarbonate) 나트륨, 숙신산 나트륨, 타르타르산 나트륨, 삼폴리인산 나트륨, 합성 하이드로탈사이트(synthetic hydrotalcite), 피로인산 테트라칼륨, 피로인산 테트라나트륨, 인산 트리칼륨, 인산 트리나트륨, 및 트로메타르놀(trometarnol)가 포함된다. (부분적으로 The Merck Index, Merck & Co. Rahway, N.J. (2001)에서 제공한 목록에 기초함). 더욱이, 상술한 완충제 중 임의의 2 이상의 조합형태 또는 혼합물이 여기에서 설명한 약학 조성물에 사용 가능하다. 하나 이상의 완충제는 소망하는 경우에, 본 발명의 조성물 내에 중량 기준 약 0.01% 내지 약 5%, 또는 약 0.01% 내지 약 3%으로 구성된다.

[0133] 다양한 실시예에서, 본 발명의 조성물은 하나 이상의 점도 증가제를 포함할 수도 있다. 점도 증가제의 예시로는 메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨, 에틸셀룰로오스, 카라기난, 카르보폴, 및/또는 그 조합형태가 있으나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 일반적으로, 하나 이상의 점도 증가제는 소망하는 경우에, 본 발명의 조성물 내에 중량 기준 약 0.1% 내지 약 10%, 또는 약 0.1% 내지 약 5%으로 구성된다.

[0134] 다양한 실시예에서, 본 발명의 조성물은 상기 조성물의 관능적 성질을 개선하기 위해서 "관능제(organoleptic agent)". 여기에서 용어 "관능제"란 본 발명의 조성물의 풍미 또는 냄새를 개선하거나, 좋지 않은 맛 또는 냄새 차단을 도울 수 있는 임의의 부형제를 가리킨다. 그러한 조제에는 감미료, 착향료 및/또는 미감차단제가 포함된다. 적절한 감미료 및/또는 착향료에는 약학 조성물에 감미하거나 풍미를 제공하는 임의의 제제가 포함된다. 선택적인 관능제는 일반적으로 본 발명의 조성물 내에 약 0.1 mg/ml 내지 약 10 mg/ml, 또는 약 0.5 mg/ml 내지 약 5 mg/ml 또는 약 1 mg/ml으로 존재한다.

[0135] 감미료 또는 착향료의 예시로는 아카시아 시럽, 아네톨(anethole), 아니스유(anise oil), 방향제(aromatic elixir), 벤즈알데히드, 벤즈알데히드 엘릭시르(benzaldehyde elixir), 사이클로텍스트린, 카라웨이, 카라웨이 유, 카르다뭉유(cardamom oil), 카르다뭉 씨앗, 카르다뭉 증류주, 카르다뭉 텅크, 체리쥬스, 체리시럽, 시나몬, 시나몬유, 시나몬수, 시트르산, 시트르산 시럽, 클로버유, 코코아, 코코아 시럽, 코리앤더(coriander)유, 텍스트로스, 에리오딕티온(eriodictyon), 에리오딕티온 액상추출물, 에리오딕티온 시럽, 방향족, 에틸아세테이트, 에틸 바닐린, 펜넬유(fennel oil), 진저(ginger), 진저 액상추출물, 진저 올레오레신, 텍스트로스, 글루코오스, 설탕, 말토텍스트린, 글리세린, 글리시리자(glycyrrhiza), 글리시리자 엘릭시르, 글리시리자 추출물, 글리시리자 추출 정제물, 글리시리자 액상추출물, 글리시리자 시럽, 벌꿀, 이소-알코올 엘릭시르, 라벤더유, 레몬유, 레몬 텅크, 만니톨, 메틸 살리실릭산, 너트메그유(nutmeg oil), 오렌지 비터, 엘릭시르, 오렌지 비터, 오일, 오렌지꽃유, 오렌지꽃물, 오렌지유, 오렌지 껍질, 비터, 오렌지 껍질 당, 텅크, 오렌지 증류주, 오렌지 시럽, 페퍼민트, 페퍼민트유, 페퍼민트 증류주, 페퍼민트 수, 페닐에틸 알코올, 라스베리 쥬스, 라스베리 시럽, 로즈마리유, 장미유, 장미수, 스트롱거, 사카린, 사카린 칼슘, 사카린 나트륨, 사르사파릴라(sarsaparilla) 시럽, 사르사파릴라, 솔비톨 용액, 스피아민트, 스피아민트유, 수크로오스, 수크랄로스, 시럽, 타임(thyme)유, 톨루 발삼, 톨루 발삼 시럽, 바닐라, 바닐라 텅크, 바닐린, 야생체리 시럽, 또는 그들의 조합형태가 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0136] 미감차단제의 예시로는 사이클로텍스트린, 사이클로텍스트린 에멀전, 사이클로텍스트린 입자, 사이클로텍스트린 복합체, 또는 그들의 조합형태가 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0137] 현탁화제의 예시로는 솔비톨 시럽, 메틸 셀룰로오스, 글루코오스/설탕 시럽, 젤라틴, 하이드록시에틸셀룰로오스, 카르복시메틸 셀룰로오스, 알루미늄 스테아르산 겔, 및 식용 수소화 지방이 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

[0138] 유화제의 예시로는 레시틴, 소르비탄 모노올레산, 및 아카시아가 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다. 비수성 비히클에는 식용 오일, 아몬드유, 분절 코코넛유, 유성 에스테르, 프로필렌 글리콜, 및 에틸 알코올이 포함되나, 이에만 한정되는 것은 아니다.

- [0139] 전술한 부형제들은 당업계에 알려진 대로 복합적인 역할을 가질 수 있다. 예를 들면, 전분은 필러로서 뿐만 아니라 붕해제로서 작용 가능하다. 상기에서의 부형제들의 분류는 어떠한 방식으로든 한정하기 위한 것이 아니다.
- [0140] 본 발명의 조성물은 흡입, 구강 투여, 또는 그들의 조합을 통해서, 경구, 비경구, 혀, 경피, 직장, 경점막, 국소 투여를 포함하지만 이에 한정되지 않는 임의의 방식으로 투여될 수도 있다. 비경구 투여에는 정맥내, 동맥내, 복강내, 피하, 근육내, 척추내, 관절내, 수조내 및 뇌실내 투여가 포함되나, 이에만 한정하는 것은 아니다.
- [0141] 치료요법에서 사용하기 위해 필요한 상기 조성물에 대한 치료적 유효량은 활성이 요구되는 시간의 길이, 및 치료대상 환자의 연령 및 상태에 따라서 다양한데, 다른 요소들 중에서도 출석 의사에 의해 궁극에 결정된다. 하지만, 일반적으로, 인간 치료에 사용되는 투여량은 하루당 약 0.001 mg/kg 내지 약 500 mg/kg, 예를 들어 하루당 약 1  $\mu$ g/kg 내지 약 1 mg/kg 또는 약 1  $\mu$ g/kg 내지 약 100  $\mu$ g/kg이다. 대부분의 대형 포유류의 경우, 일일 총 투여량은 약 1 내지 100 mg, 바람직하게는 약 2 내지 80 mg이다. 상기 투여 요법은 최적의 치료 반응을 제공하기 위해서 조정될 수도 있다. 소망하는 투여량은 단일 투여, 또는 적당한 간격을 두고 복수 투여, 예를 들면 하루에 2, 3, 4 또는 그 이상 하위투여될 수도 있다.
- [0142] 예시적으로, 본 발명의 조성물을 대상체에게 투여해서 상기 대상체에게 항프로게스틴을 약 1  $\mu$ g/kg 내지 약 1 mg/kg 체중, 예를 들어 약 1  $\mu$ g/kg, 약 25  $\mu$ g/kg, 약 50  $\mu$ g/kg, 약 75  $\mu$ g/kg, 약 100  $\mu$ g/kg, 약 125  $\mu$ g/kg, 약 150  $\mu$ g/kg, 약 175  $\mu$ g/kg, 약 200  $\mu$ g/kg, 약 225  $\mu$ g/kg, 약 250  $\mu$ g/kg, 약 275  $\mu$ g/kg, 약 300  $\mu$ g/kg, 약 325  $\mu$ g/kg, 약 350  $\mu$ g/kg, 약 375  $\mu$ g/kg, 약 400  $\mu$ g/kg, 약 425  $\mu$ g/kg, 약 450  $\mu$ g/kg, 약 475  $\mu$ g/kg, 약 500  $\mu$ g/kg, 약 525  $\mu$ g/kg, 약 550  $\mu$ g/kg, 약 575  $\mu$ g/kg, 약 600  $\mu$ g/kg, 약 625  $\mu$ g/kg, 약 650  $\mu$ g/kg, 약 675  $\mu$ g/kg, 약 700  $\mu$ g/kg, 약 725  $\mu$ g/kg, 약 750  $\mu$ g/kg, 약 775  $\mu$ g/kg, 약 800  $\mu$ g/kg, 약 825  $\mu$ g/kg, 약 850  $\mu$ g/kg, 약 875  $\mu$ g/kg, 약 900  $\mu$ g/kg, 약 925  $\mu$ g/kg, 약 950  $\mu$ g/kg, 약 975  $\mu$ g/kg 또는 약 1 mg/kg 체중 양으로 공급할 수도 있다.
- [0143] 본 발명의 조성물로 치료 중인 환자들은 그들의 혈청 에스트로겐과 당질코르티코이드 수치를 규칙적으로 모니터링해야 한다.
- [0144] 하기 비 한정적인 실시예들은 본 발명의 교시들에 대한 이해를 돕고자 제공되는 것이다.
- [0145] **실시예 1. 본 발명의 제형화는 타블렛으로 조제 가능하다.**
- [0146] 본 발명을 실시하기 위한 타블렛을 얻기 위해, 하기 성분들이 타정기에서 함께 타정될 수 있다:
- [0147] 10.0 mg 의 CDB-4124
- [0148] 140.5 mg 의 락토오스
- [0149] 69.5 mg 의 옥수수 전분
- [0150] 2.5 mg 의 폴리-N-비닐피롤리돈
- [0151] 2.0 mg 의 에어로실
- [0152] 0.5 mg 의 마그네슘 스테아르산
- [0153] 본 발명을 실시하기 위한 2층형 타블렛을 얻기 위해, 하기 성분들이 타정기에서 함께 타정될 수 있다:
- [0154] 20.0 mg 의 타목시펜
- [0155] 50.0 mg 의 CDB-4124
- [0156] 105.0 mg 의 락토오스
- [0157] 40.0 mg 의 옥수수 전분
- [0158] 2.5 mg 의 폴리-N-비닐피롤리돈 25
- [0159] 2.0 mg 의 에어로실(aerosil)
- [0160] 0.5 mg 의 마그네슘 스테아르산
- [0161] 본 발명을 실시하기 위한 항에스트로겐 함유 타블렛을 얻기 위해, 예를 들면 하기 성분들이 타정기에서 함께 타

정될 수 있다:

[0162] 10.0 mg 의 라록시펜(Raloxifene)

[0163] 30.0 mg 의 CDB-4124

[0164] 125.0 mg 의 락토오스

[0165] 50.0 mg 의 옥수수 전분

[0166] 2.5 mg 의 폴리-N-비닐피롤리돈 25

[0167] 2.0 mg 의 에어로실

[0168] 0.5 mg 의 마그네슘 스테아르산

[0169] 본 발명을 실시하기 위한 유성 제제를 얻기 위해, 예를 들면 하기 성분들이 함께 섞이고 앰플 속으로 탑재될 수 있다:

[0170] 100.0 mg 의 CDB-4124

[0171] 343.4 mg 의 캐스터유(castor oil)

[0172] 608.6 mg 의 벤질 벤조산

[0173] **실시예 2. 본 발명의 화합물은 단지 약한 항당질코르티코이드 수용체 결합 활성을 가진다.**

[0174] 특정한 항프로게스테론을 그들의 래빗 프로게스테론 수용체 (rbPR) 및 당질코르티코이드 수용체 (rbGR) 결합 능력에 대해 수용체-결합 실험에서 테스트했다. 간략하게, PR 또는 GR함유 세포기질을 에스트라디올-풍부 미숙 토끼의 자궁 또는 흉선 각각으로부터 TEGMD 완충액 (10 mM Tris, pH 7.2, 1.5 mM EDTA, 0.2 mM 폴리브덴산 나트륨, 10% 글리세롤, 1 mM DTT)에 준비하였다. PR 결합을 위해, 상기 세포기질을 6 nM 1,2-<sup>3</sup>H]프로게스테론 (50.0 Ci/mmol)로 인큐베이팅시키고, 경쟁자들을 2 내지 100 nM 농도로 첨가시켰다. GR 결합을 위해, 상기 세포기질을 6 nM 6,7-<sup>3</sup>H]-텍사메타손(40 Ci/mmol)로 인큐베이팅시키고, 테스트 화합물을 20 내지 100 nM 농도로 첨가시켰다. 밤새 4°C에서 인큐베이팅 후, 텍스트란-코팅 차콜 첨가 및 2100 x g 4°C에서 15분간 원심분리해서 결합 및 비결합 [<sup>3</sup>H] 스테로이드를 분리시켰다. 상기 [<sup>3</sup>H]-스테로이드 수용체 복합체 함유 상층액을 4 ml Optifluor (Packard Instrument Co.) 함유 바이알로 옮기고, 와류시키고, 액체 섬광 계수기에서 30분간 평형시키고 나서 2분간 계수하였다. 상기 계수 데이터를 4개의 파라미터 S자 컴퓨터 프로그램 (RiaSmart®Immunoassay Data Reduction Program, Packard Instrument Co., Meriden, Conn.)에 입력해서, 각 표준곡선 및 상기 화합물 곡선 각각에 대한 EC<sub>50</sub> (유효농도(Effective Concentration))를 결정하였다. 각 화합물의 상대적 결합 친화도 (RBA)를 하기 식을 이용해서 산출했다:테스트 화합물 x 100 의 표준/EC<sub>50</sub> 의 EC<sub>50</sub>. 상기 PR 및 GR 실험 표준들은 레이블이 없는 프로게스테론 및 텍사메타손 각각이었다. 이 실험들의 결과를 표 1에 상기 rbPR 및 rbGR 수용체 (rbPR/rbGR)에 대한 각 화합물의 상기 상대적 결합 친화도 비율로 요약하였다. 이 차이는 상기 2개 수용체들과 상기 필수 전사 보조인자들을 보유하는 셀 또는 조직에서 화합물의 상대적 활성을 반영한다.

[0175] 상기 표 에서 추가로 주어지는 것은 상기 항-McGinty 및 항-Clauberg 실험에 의한 토끼 자궁 속 동일한 화합물들의 상기 상대적 생물학적 활성이다. 화합물 CDB-2914 (상기 표의 끝부분에 나열됨)을 이 실험들의 컨트롤 또는 레퍼런스 화합물로 사용하였는데 (토끼 생물학적 활성 = 1.00) CDB-2914를 사용한 실험 결과가 (Hild-Petito 등, 1996; Passaro 등, 1997; Reel 등, 1998; Larner 등, 2000 이전에 공개되었기 때문이다). 상기 항-McGinty 실험의 경우, 미숙 암컷 토끼들에게 6일 연속으로 매일 10% 에탄올/참기름 내 5 µg 에스트라디올을 피하 주사하였다. 7일째에, 동물들을 멸균 복부 수술을 실시해서, 양쪽 자궁각의 3-4 cm 부위를 묶었다. 적절한 용매 속의 상기 테스트 화합물을 하나의 자궁각의 상기 묶인 부위로 관강내 주입하고 비히클만 다른쪽에 주입했다. 자극 (stimulating) 투여량의 프로게스테론을 (267 µg/day) 각각의 토끼에 다음 3일간 매일 피하주사 투여해서, 자궁 내막 증식을 유도하였다. 상기 묶인부위의 중앙 부위가 제거되고 10% 중성 완충액 포르말린에 고정된 자궁을 제거하기 위해 10일째에 모든 동물들을 희생시키고, 조직학적 처리를 위해 제출하였다. 헤마톡실린(hematoxylin) 과 에오신(eosin)으로 염색한 5 마이크론 부위를 자궁내막 샘(glandular) 증식 정도에 대해 현미경으로 평가하였다. 각 토끼에 대한 자궁내막 증식 억제 백분율을 산출하고, 5 동물 집단의 평균을 기록하였다. 상기 항-Clauberg 실험의 경우, 미숙 암컷 토끼들에게 6일 연속으로 매일 10% 에탄올/참기름 내 5 µg 에스트라디올을 피

하 주사하였다. 7일째에, 동물들에게 피하 주사 (160 mg/day)로 프로게스테론을, 그리고 적절한 비히클에 있는 상기 실험 화합물을 구강 또는 피하 방식으로 5일 연속 주입하였다. 토끼 중 1 집단은 프로게스테론만 주입하였다. 마지막 투여 후 24 시간만에, 전체 지방과 연결조직이 제거되고, 무게가 0.2 mg에 근접하고, 10% 중성 완충액 포르말린에 놓여서 후속 조직학적 처리 예정인, 자궁을 제거하기 위해 모든 동물을 희생시켰다. 헤마톡실린 (hematoxylin)과 에오신(eosin)으로 염색한 5 마이크론 부위를 자궁내막 샘(glandular) 증식 정도에 대해 현미경으로 평가하였다. 각 투여량의 상기 테스트 화합물에서 자궁내막 증식 억제 백분율을 프로게스테론-자극 동물 단독 경우와 비교하여 도출하였다. 표 1에 제시된 데이터 (토끼 생물학적활성)는 CDB-2914에 대한 상기 항-McGinty 및 항-Clauberg 실험에 의해서 각 화합물에 대해 얻어진 결과의 평균을 나타낸다.

[0176] 상기 실험된 항프로게스틴들을 표 1에서 나열된 것처럼 상기 토끼 GR 대비 상기 토끼 PR에 대한 각 화합물의 선택성을 기초로 순위를 매겼다. 또한 상기 토끼 자궁에서의 생물학적 활성을 기초로 상기 항프로게스틴들의 순위를 매겼다. 표 1에 제시된 데이터는 프로게스테론 수용체에 대한 선도 화합물의 친화도가 당질코르티코이드 수용체에 대한 그것의 친화도보다 적어도 1.5배 크다는 것을 보여주고 있다.

[0177] 또한 이들 연구 결과는 상기 두 개의 선도 화합물 CDB-4124 및 CDB-4059이 RU 486 및 CDB-2914에 비해 상기 토끼 자궁에서 강한 항프로게스틴 활성을 갖는다는 것을 보여주고 있다. 두 화합물 모두 에스트로겐, 안드로겐, 항-에스트로겐, 및 항-안드로겐 활성이 부족하다. 두 화합물 모두는 당질코르티코이드 수용체 결합에 적당히 활성을 갖는 RU 486 및 CDB-2914와 그들을 구별하게 하는 특성인, 최소한의 항-당질코르티코이드 수용체 활성을 갖는다. 이 실험들에서, CDB-4124가 CDB-4059보다 약간 더 우수한 성능을 보여주었다.

표 1

항프로게스틴의 수용체 결합 및 생물학적 활성 (RECEPTOR BINDING AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF ANTIPROGESTINS)

항- 프로게스틴	rbPR/rbGR	토끼 생물학적활성	항- 프로게스틴	rbPR/rbGR	토끼 생물학적활성
4239	14.80	0.60	4416	1.33	0.77
4241	9.10	0.34	4417	1.31	0.70
4361	7.20	3.03	4111	1.30	0.36
4306	5.90	0.95	4125	1.19	1.55
4363	5.75	2.53	4223	1.17	주어지지 않음
3875	5.11	1.40	4398	1.16	0.99
4362	4.74	1.25	4058	1.08	0.90
4352	4.21	0.57	4418	1.03	0.25
4176	3.83	0.20	4177	1.03	0.00
4243	2.90	0.00	4030	0.96	0.30
4119	2.60	0.10	4374	0.95	2.25
4324	2.16	1.10	4399	0.93	0.35
4247	2.06	1.70	4152	0.82	1.40
4205	1.99	1.00	4110	0.70	0.10
4059	1.89	2.90	4031	0.69	0.70
4400	1.76	2.29	4101	0.61	0.65
3247	1.74	0.10	4248	0.42	0.00
4167	1.69	1.50	4227	0.38	0.00
4124	1.58	3.60	4393	0.35	0.00
4226	1.51	0.54	4396	0.18	주어지지 않음
4206	1.44	0.68	2914	1.07	1.00

[0178]

[0179] 실시예 3. 종양 유도 및 종양 출현의 잠재성

[0180] 유방 종양을 유도하기 위해, 50일 된 Sprague-Dawley 암컷 쥐에게 10mg/체중kg 의 DMBA를 투여하였다. 50일 된 일 집단의 14 마리 쥐(Group 2) 에게는 비-DMBA 대조군으로서, DMBA 대신에 참기름을 주었다. 동물들을 매주마

다 유선을 따라 임의의 병소 또는 부품의 징후에 대해 무게를 달고 측정하였다. 매주 종양 결절(nodule)을 캘리퍼스(calipers)로 2 차원으로 기록하고 측정하였다. 임의의 차원에서 종양이 10-12mm의 크기로 성장하였을 때, 개별 동물을 14 집단 중 하나로 임의 추출하였다. 종양은 구강으로 위관영양(gavage)를 한 지 39일이 되자마자 나타났고, 194일까지 나타났다(후자의 개체는 본 연구에 포함되지 않는다)상기 종양 발현의 평균 잠재기는  $106 \pm 30$ 일이었다. DMBA를 투여한 집단과는 잠재기의 측면에서 차이가 없었다 ( $p=0.545$ , Kruskal-Wallis 테스트).

[0181] 동물들을 하기의 일정으로 28일 동안 처치하였다. 1 집단은 매일 피하투여(s.c) 하였다. 비히클 (참기름 중의 10% 에탄올)의 투여2 집단 (비-DMBA 대조군- 비종양 예상)은 3달의 기간에 걸쳐 치료의 개시를 자극하도록 사전에 결정된 스케줄로 비히클을 투여하였다. 3 및 4 집단은 각각 매일 RU 486 또는 마이크로화된 프로게스테론 10 mg /체중 kg를 s.c 투여를 받았다. 5 내지 9 집단은 20mg/kg, 10mg/kg, 2mg/kg, 1mg/kg 및 0.1 mg/kg의 CDB-4124를 각각 받았다. 10 내지 14 집단은 주사용 조성물에 성분으로서 10 mg/kg의 마이크로화된 프로게스테론을 더욱 첨가하였다는 점을 제외하고는 상기 5 내지 9 집단에 주어진 처치에 대응된다.

[0182] 동물들에게 프로게스테론 수치를 3회 평가하였다: 최초에는 처치가 시작될 때, 2차로는 처치 21일 후에, 그리고 마지막으로 마지막 s.c. 주입 후 2-4일 째 희생시킨 후이다. 모든 혈액 샘플은 심장 천자(heart puncture)로 채취되었다; 혈청을 준비하고,  $-40^{\circ}\text{C}$ 에서 동결하였다. 상기 스테로이드 호르몬 프로게스테론, 코티졸, 및 코르티코스테론의 수치는 ELISA로 결정하였다.

[0183] 분석은 Stagraphics Plus로 수행하였다. 집단들 간의 차이는 상기 집단 평균이 잘 분포되었다면, ANOVA로 결정하였다. 그렇지 않으면, 상기 Kruskal-Wallis 테스트를 사용했다. 평균에서의 차이는 만약 상기 집단들이 kurtotic 이나 skewed 가 아닌 표준에 합치한다면 Student's t-test를 사용하여 평가하였다. 그렇지 않으면, 상기 비-파라미터 Mann-Whitney-Wilcoxin 테스트를 사용하였다. 만약 동일한 쥐를 연속적으로 평가한다면, 한 쌍의 t-test를 사용하였다. 만약 상기 데이터가 비교용으로 집단들로 배치될 수 있다면, Fisher's exact test를 채용하였다.

[0184] **실시예 5. 종양 개수 및 부검시 종양 타입**

[0185] 동물들을 28일의 처치 기간 후 3-5일에 희생시키고, 혈액을 추출하고, 종양을 제거하고, 무게를 달며, 측정, 관찰하고, 조직병리학용으로 부분 동결 및/또는 10% 인산 버퍼된 포르말린에 위치시켰다. 조직 샘플을 절개하고 헤마톡시린(hematoxylin) 및 이오신(eosin)으로 염색하였으며, 조직병리학적 분류로 평가하였다.

[0186] 조직학적으로, 4개 타입의 종양으로 구별된다(표 2): 선암 (adenocarcinomas, ACAs), 유두암(papillary carcinomas, PCAs), 섬유 육종(fibrosarcoma) 및 섬유 선종(fibroadenomas, FA 또는 adenofibromas, AF), 상기 후자 두 개의 종양 타입은 프랭크 악성 종양 frank malignancies)을 나타내는 것으로 고려되지 않는다. 처치의 개시를 위해 최소 개수의 종양을  $\geq 1$  주어, 하나 이상의 최소 크기에 도달하지 않은 더 작은 종양에 의해 가장 큰 (리드 'lead') 종양이 동반될 수 있다. 표 2는 이들 실험 결과를 요약한다. 비히클 단독으로 처치된 쥐에서 다중도 ACA+ PCA 가 희생시 쥐 당 2.7개 종양이었다 (종양이 혼합 타입일 수 있기 때문에, ACA + PCA 컬럼은 항상 쥐 컬럼 당 ACA와 PCA의 합인 것은 아니다).

[0187] 표 2에 기록된 바와 같이, (갈시노겐 DMBA를 투여하지 않은) 집단 2는 종양이 없었다. DMBA 단독으로 처치된 쥐는 쥐당 평균 2.67의 종양을 갖고 있다. 프로게스테론의 부가는 쥐 당 종양의 평균 개수를 거의 5로 증가시켰다. CDB-4124로 처치는 종양의 개수를 줄이는 주요한 효과를 갖는다. 가장 효과적인(즉, 20, 10, 2, 1 mg/kg/day) 가장 높은 4개 처치 집단에 걸친 평균 다중도는 쥐 당 1.58 개의 종양이었다. 종양 개수의 감소는 CDB-4124가 동물 내에 존재하는 종양의 성장을 감소시킬 뿐만 아니라 새로운 종양의 발생을 방지하는 것을 설명하고, 이는 주어진 크기의 종양 한 개를 발견하는 데 근거하여 각각의 동물을 무작위적 치료로 등록하였기 때문이다.

표 2

중양 타입 및 중양 개수에 대한 처치 효과

집단	처치 *	중양의 발발 (%)	랫 당 ACA	랫 당 PCA	FA/AF 개수	랫 당 ACA + PCA
1	컨트롤 (비히클)	12/13 (92)	1.17	1	3	2.67
2	비-DMBA 컨트롤 (비히클)	0/10 (0)	0	0	0	0
3	RU486 (10 mg) <sup>b</sup>	13/14 (93)	2.08	0.08	1	2.00
4	프로게스테론 (P) (10 mg)	10/10 (100)	3.3	1.4	3	4.90
5	4124 (20 mg)	13/13 (100)	1.31	0.08	3	1.38
6	4124 (10 mg)	10/11 (91)	1.5	0.2	1	1.70
7	4124 (2 mg)	11/12 (92)	1.45	0.09	2	1.55
8	4124 (1 mg)	9/11 (82)	1.67	0.11	2	1.78
9	4124 (0.1 mg)	12/12 (100)	1.17	0.83	3	2.25
10	4124 (20 mg) + P (10 mg)	8/10 (80)	1.89	0.11	1	2.00
11	4124 (10 mg) + P (10 mg)	10/12 (83)	1.2	0	3	1.30
12	4124 (2 mg) + P (10 mg)	10/11 (91)	2.8	0.6	1	3.50
13	4124 (1 mg) + P (10 mg)	14/15 (93)	2.43	0.86	1	3.29
14	4124 (0.1 mg) + P (10 mg)	11/11 (100)	2.55	1.09	0	3.73

ACA, 선암; PCA, 유두상 암종; FA, 섬유선종; AF, 선섬유종; DMBA, 7,12-디메틸벤즈(a)안트라센; 제 1 중양 발현 후 28 일 간 <sup>a</sup>TX; 10 mg/kg 체중으로 <sup>b</sup>TX

[0188]

[0189]

실시예 6. 중양 경과에 대한 항-프로게스테인의 영향.

[0190]

CDB-4124, RU486 및 프로게스테론의 중양 진행 및 경과에 대한 영향을 평가하기 위해서, 성장 역학 및 중양 사이즈를 상기 치료 기간 동안 모니터링하였다. 상기 연구에서 중양을 가진 동물들에서의 개별 중양들을 매주 캘리퍼스로 두 가지 크기로 관측하였다. 이들 실험 결과를 도 1에 요약하였다. 그 자료들을 교정해서 악성 아닌 FA/AF 중양 유형을 제외시킨다. 28일의 검사 기간에 걸쳐서 단면적에서 적어도 33%까지 증가한 중양들을 성장 중인 것으로 판단하였다 (도 1, 검정색 박스). 대략 33%까지 감소한 중양들을 후퇴 중인 것으로 판단하였다 (도 1, 검정색 박스). 다른 것들은 정지상태로 판단하였다 (회색 박스). 도 1에서 보여지듯이, 프로게스테론 치료로 성장 중인 유방 중양의 수가 증가하였다.

[0191]

비록 프로게스테론이 주어진 집단에서 후퇴하는 중양 비율(8%)은 통계적으로 상기 컨트롤들과 동일하였지만, 상기 성장 중인 중양들의 비율(80%)은 훨씬 더 높았다 (p<0.004, Fisher's exact test). 비록 통계적으로 상당하지는 않았지만, RU 486 처치로 인해 상기 컨트롤들과 비교할 때 후퇴하는 중양 비율에서 뚜렷한 증가가 나타났다.

[0192]

프로게스테론과 달리, CDB-4124를 10 mg/kg 체중으로 처치함으로써 성장 중인 중양 비율이 감소했고(p<0.013), 후퇴된 중양 비율이 증가하였다 (p<0.003). 결과에서는 상기 중양들의 70%가 CDB-4124 처치 후에 후퇴하는 것을 보여주었다. 뚜렷한 투여 의존도가 있었으며, 단지 최저 투여량의 CDB-4124으로는 결과가 달성되지 않았다. 상기 동물들이 추가적으로 5배 이상 비율로 프로게스테론 처치받았을 때 CDB-4124의 효과는 제거되었다. 프로게스테론은 보다 낮은 비율로 주어지게 되면, CDB-4124의 영향을 무시할 수 없었다. 성장 속도 측면에서, 20 mg/kg 과 비교시 10 mg/kg CDB-4124의 투여가 보다 효능이 있었으며, 비록 20 mg/kg CDB-4124의 중양 성장에 대한 영향이 프로게스테론의 그것들에 접근하지는 않았지만 (p=0.0008, Fisher's exact test, 두 개 꼬리로 됨), 높은 투여에서, CDB-4124가 일부 프로게스테론 효능제 활성을 가질 수 있었다. 하지만, 상기 20 mg/kg 투여 (더 낮은 투여가 아님)에서도 순환 프로게스테론 수치가 상당히 증가하였고, 상기 효과들은 투여 의존적이었다. 따라서, CDB-4124는 랫 유선의 DMBA-유도 중양의 성장을 억제할 수 있으며, 이러한 억제에는 포유류 중양 크기와 개수 감소가 해당된다. 상기 프로게스테론 자체는 증식성이 있는 것으로 보여지고, 중양-강화는 상기 유선의 확정되었거나 초기의 중양들을 가진 동물들에서 억제 프로게스테론의 중요성에 대해 설명하고 있다. CDB-4059에 대한 결과는 CDB-4124에 대해 상술한 것들과 비슷했다. 따라서, CDB-4059의 상기 억제 활성은 CDB-4124의 그것과 비



숫하며, 두 가지 화합물은 RU 486 보다 강한 종양 억제 활성을 갖는다. CDB-4124가 중간 농도로 단독으로 주어지거나, 프로게스테론 과잉 상태에서는, 그 효과가 두드러지고 종양 축소를 촉진시킨다. 그와 반대로, 프로게스테론이 단독으로 주어지거나, CDB-4124 과잉 상태에서는, 프로게스테론 효과는 성장 강화에 있다.

[0193] 실시예 7. 부검시 종양 개수, 종양 크기 및 종양 적하.

[0194] 표 3은 동물당 중간 종양 크기 및 평균 총 종양 무게 (종양 적하)에 대한 프로게스테론, RU486 및 CDB-4124의 영향을 보여주고 있다. 표 3에서의 결과들은 ACA, PCA 및 혼합 ACA/PCA에 대한 것들이며, 상기 FA 또는 AF 종양들은 제외한다.

표 3

종양 개수, 크기 및 종양 적하에 대한 치료의 영향.

집단	치료 <sup>a</sup>	종양 개수	종양 적하 g/랫	종양 평균 (g)	무게 중간값 (g)	MWW 테스트 <sup>b</sup>
1	컨트롤 (비히칼)	32	4.7	1.91	0.8	
2	비-DMBA 컨트롤 (비히칼)	0	0	0	0	
3	RU486 (10 mg) <sup>c</sup>	27	2.47	1.19	0.16	p=0.012
4	프로게스테론 (P) (10 mg)	49	7.34	1.5	0.5	p=0.42
5	4124 (20 mg)	20	4.71	3.4	0.125	p=0.066
6	4124 (10 mg)	18	0.48	0.26	0.075	p=0.0003
7	4124 (2 mg)	17	4.61	2.98	0.09	p=0.012
8	4124 (1 mg)	16	0.94	0.53	0.17	p=0.0009
9	4124 (0.1 mg)	29	5.1	2.26	0.17	p=0.99
10	4124 (20 mg) + P (10 mg)	18	0.92	0.46	0.18	p=0.005
11	4124 (10 mg) + P (10 mg)	14	3.82	2.73	0.185	p=0.013
12	4124 (2 mg) + P (10 mg)	34	5.8	1.96	0.45	p=0.19
13	4124 (1 mg) + P (10 mg)	45	4.28	1.19	0.49	p=0.27
14	4124 (0.1 mg) + P (10 mg)	41	6.16	1.65	0.49	p=0.66

DMBA, 7,12-디메틸벤즈(a)안트라센; 제 1 종양 발현 후 28 일간 <sup>a</sup>TX; 상기 컨트롤 중간값 종양 무게와 비교한 <sup>b</sup>; 10 mg/kg 체중에서 <sup>c</sup>TX

[0195]

[0196] 프로게스테론은 종양 적하 및 중간 크기의 종양들을 분명하게 증가시켰다. 하지만, 상기 값들은 상기 컨트롤의 값들에 비교시 통계적으로 중요하지 않았다 (p>0.4, Mann-Whitney-Wilcoxin 테스트). 상기 프로게스테론 데이터는 상기 항-프로게스틴의 데이터와 첨예하게 대비된다. RU486 및 CDB-4124은 종양 적하 및 상기 중간값 종양 크기를, RU486 경우에는 5-배 (p<0.01) 그리고 CDB-4124 경우에는 10-배 (p<0.001) 낮추었다. 다른 집단에서 종양 적하 및 종양 크기 감소는 종양 크기 10, 2 및 1 mg/kg에 영향을 미치면서, CDB-4124와 일치하였다. CDB-4124는 최저 치료 수준에서 비효과적이었으며, 최고 투여량의 CDB-4124 (20 mg/kg)은 상기 10 mg/kg 투여량 만큼 효과적이지 않았다. 몇몇 종양들은 완전히 수축되었고 더 이상 촉진되지 않았다는 것을 주지해야 한다. 치료 중에 후발된 이러한 유형의 11개 종양 가운데에서, 후퇴를 암시하는, 출혈성 물질로 채워진 낭성인 검시 구조를 발견하였다. 이들 구조는 단지 RU486 (n=2)를 처치한 집단에서만 발견되었는데, 그들에는 CDB-4124를 20, 10, 2 또는 1 mg/kg (n=7)처치하거나, 20 mg/kg CDB-4124 + 10 mg/kg 프로게스테론을 처치하였다 (n=2). 그들은 조직학적으로 평가할 수 없었으므로, 그들의 동일성을 확인할 수 없었다. 그럼에도 불구하고, 이들 결과는 항-프로게스틴이 종양을 완전히 후퇴시킬 수 있음을 제시하고 있다.

[0197] 실시예 8. 연구 중 동물 무게.

[0198] 상기 컨트롤 동물들의 무게를, 더 나은 독성, 특히 CDB-4124에 기인한 것을 수집하기 위해 호르몬 치료를 받는 동물들과 비교하였다. 상기 27주 연구 기간 중에 상기 동물들을 매주 무게를 잴다. 실험 마지막에 상기 치료 대

상기 컨트롤 동물들에서의 동물 무게에 있어서 아무런 중요한 차이가 발견되지 않았는데, CDB-4124가 심지어 높은 투여 수준에서조차 독성이 없다는 것을 의미한다.

[0199] 실시예 9. 종양 증식 및 아폽토시스.

[0200] 세포 증식에 대한 프로게스틴 및 항-프로게스틴의 영향을 수집하기 위해서, 컨트롤 동물들을 처리해서 얻은 46 개 개별 랫 종양들로부터 유도시킨 조직 부위를, 증식 마커 Ki-67 항체를 이용하는 Ki-67의 발현을 측정하고 (NeoMarkers, Fremont, CA) 면역조직화학에 의해서 검사하였다. 3 집단과 6 집단에서 그들을 너무 작아서 재절단이 불가능하게 만드는 처치가 이어지는, 3 및 6 집단에서 많은 종양의 크기가 감소함에도 불구하고, 1, 3, 4, 6 및 11에서의 7-12 ACA가 재절단되었다. 증식이 Ki-67를 발현하는 셀들의 백분율로서 측정된, 증식 실험 결과가 표 4에 요약되어 있다:

표 4

Ki-67에 의한 증식 종양 세포

집단	치료	% 세포 양성	컨트롤 t-테스트에 대비	n
1	컨트롤 종양	13.5 ± 7.8		12
3	RU 486 (10mg/kg)	12.9 ± 7.0	p = 0.85	10
4	P4 (프로게스테론) (10mg/kg)	25.7 ± 5.8	p = 0.0007	9
6	4124 (10 mg/kg)	5.1 ± 4.2	p = 0.00	7
11	4124 + P4 (10 + 10)	15.5 ± 12.2	P = 0.66	8
	ANOVA	p = 0.0001	[P4 > 컨트롤, RU486, 4124+P4>4124] 복합 범위 테스트에 의한 사후 분석	

[0201]

[0202] 프로게스테론이 컨트롤 및 CDB-4124-처리 동물에 비해 증식 세포들의 백분율을 증가시켰다. 프로게스테론이 가장 높은 비율의 세포 증식으로 유도하였으며, 그 성장은 상기 컨트롤, RU486, 또는 CDB-4124 + 프로게스테론 집단들에서 보이는 것들보다 높았다. CDB-4124 단독 처리는 어떤 다른 처리보다도 낮은 Ki-67-양성 세포 비율로 이끌었으며, 그 비율은 상기 컨트롤들에서 보이는 것보다 작았다. CDB-4124 처리한 랫들의 조직 시료들은 RU 486 처리한 랫들의 조직 시료들보다 (p = 0.021, t-test) 적은 증식을(보다 적은 Ki-67-양성 세포) 나타냈다. 따라서, 유방 조직에서 증식을 예방함에 있어서 CDB-4124가 RU 486보다 더욱 강력하다 (p = 0.011, 한 개 꼬리로 된 t-테스트). CDB-4124의 효과 또한 CDB-4124 + P4 보다 차이가 났다 (p=0.048, t-테스트). 게다가, CDB-4124 + P4 처치가 P4 단독에 비해 더 적은 증식 세포를 유발하였다 (p=0.030, t-테스트). 하기 순서로 상기 집단에서 증식이 줄어들었다: 프로게스테론 (최대 증식) > 컨트롤 = RU486 = CDB-4124 + 프로게스테론 > CDB-4124 단독. 따라서, CDB-4124는 첨가시킨 프로게스테론의 동량이 존재할 때조차 증식 세포를 감소시켰다.

[0203] 아폽토시스를 아폽토시스 잡종화 키트 (Oncor, Gaithersburg, MD)에 의해 같은 종양들에서 평가하였다. 아폽토시스에 있는 세포들을 상기 종양들의 측면부 및 괴사로부터 먼 곳에서 판단하였다. 종양 부위 당 적어도 1,000 개 세포를 판단하였다. 미치료 컨트롤 동물들의 집단에 비해 상기 치료 집단 중에서 뚜렷한 차이가 표 5에 보여졌다:

표 5

아폽토시스 (프로그램된 세포 사멸)에서 종양 내 세포들의 %

집단	치료	% 세포 양성	컨트롤 t-테스트에 대비
1	컨트롤 종양	0.81 ± 0.31	
3	RU 486 (10mg/kg)	3.34 ± 2.57	p = 0.003
4	P4 (프로게스테론) (10mg/kg)	1.28 ± 0.51	p = 0.015
6	4124 (10 mg/kg)	3.84 ± 3.10	p = 0.003
11	4124 + P4	3.78 ± 4.93	P = 0.0496
	ANOVA	p = 0.003	[4124+P4 > 컨트롤, P4; RU486, 4124+P4>4124, 컨트롤] 복합 범위 테스트에 의한 사후 분석

[0204]

[0205]

상기 복합 범위 테스트에 의한 사후 분석으로 CDB-4124 + 프로게스테론이 상기 컨트롤이나 프로게스테론 처리 동물들보다 더 높은 아폽토시스를 유발한다는 것을 나타냈다. 더욱이, RU486, CDB-4124 및 CDB-4124 + 프로게스테론이 상기 컨트롤 종양들에서 관찰된 것 보다 더 높은 아폽토시스 세포 사멸을 유도하였다. CDB-4124 처치의 효과는 RU486 (p=0.73, t-테스트)보다 다르지 않았다. 유사하게도, CDB-4124의 효과는 CDB-4124 + P4 (p=0.98, t-테스트)와 같았다. 이들 결과들은 대략 같은 양의 프로게스테론이 존재시에, 종양들이 아폽토시스와 함께 상기 항-프로게스틴 CDB4124에 반응한다는 사실을 제시하고 있다. 그와 반대로, CDB-4124는 P4에 비해 증가된 아폽토시스를 유도한다 (p=0.020, t-테스트). CDB-4124 및 프로게스테론 간에 뚜렷한 시너지가 없다. CDB-4124의 증식 감소 능력은 CDB-4124의 종양 억제 활성화에 대해 중요한 것으로 보이는데, CDB-4124 및 RU 486 간의 주요 차이 중 하나가 CDB-4124가 RU 486보다 훨씬 효과적으로 증식을 줄이는 것이기 때문이다. 프로게스테론의 강력한 증식 효과 방해 또는 억제는 CDB-4124가 증식을 줄일 수도 있는 그럴듯한 기작이다.

[0206]

실시예 10. 종양 조직에서 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체(ERs 및 PRs)의 발현

[0207]

증식과 아폽토시스를 평가한 종양에서 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체의 발현을 또한 면역조직화학 (immunohistochemistry, IHC)으로 평가하였다. ER 및 PR에 양성인 세포의 퍼센트를 결정 및 분석하였다. 종양을 4 개의 서로 다른 카테고리로 분류하였다: 0%의 ER 발현 세포, 10 %의 ER 발현 세포를 갖는 종양, 15-30%의 ER 발현 세포를 갖는 종양 및 30-50%의 ER 발현 세포를 갖는 종양. 일반적으로, 비처리된 종양은 일관되게 ER을 발현한다. 분석된 12 개의 종양 중에서 모든 12개가 ER을 발현하였다. 이들 12개의 종양 중에서 네 개는 30-50%의 ER 양성 세포이다. 비처리된 대조군 종양에 대비하여, 분석된 CDB-4124 처리된 종양 중 3개가 ER-발현 세포를 포함하지 않으며, 30-50%의 ER 발현세포를 포함하는 것은 전혀 없었고, 단지 하나의 샘플만이 15-30%의 ER 양성 세포를 포함하였다. 따라서, RU 486 또는 CDB-4124 로의 처리는 ER 발현 세포의 개수를 낮춘다.

[0208]

프로게스테론으로의 처리는 CDB-4124 또는 RU 486으로 처리된 동물 샘플에 비해 ER 발현 세포의 개수를 증가시키는 결과를 나타낸다. CDB-4124와 프로게스테론의 조합은 CDB-4124 단독으로 처리된 것과 더 유사한 패턴을 만드는 경향이 있다. 이 결과는 10mg/kg의 CDB-4124 + 10 mg/kg 프로게스테론의 조합이 종양 개수의 감소, 종양 성장의 금지, 및 종양 무게의 감소를 포함한 종양-억제효과를 갖는다는 관찰과 일치한다. 일반적으로, 안티프로게스틴으로의 장기적 처리는 종양 내 ER 수치를 낮추도록 유도하는 경향이 있는 반면, 프로게스테론은 반대 방향으로 작용하는 경향이 있다.

[0209]

실시예 11. 종양 내 프로게스테론 수용체(PR)의 발현

[0210]

미처리된 종양은 PR을 지속적으로 발현한다 (12/12 종양)일반적으로 미처리된 종양은 수용체 ER과 PR을 모두 발현하고, 이에 따라 많은 악성 종양이 이들 두 개의 전사 인자의 발현체를 가질 가능성이 있다. RU 486으로 처리된 것은 PR에 대해 중성을 나타내고, CDB-4124는 PR 발현 수치를 낮춘다. 흥미롭게도, 세 개의 종양에서 RU 486은 ER 손실을 이끌지만, 낮은 양성 수치의 PR을 보유한다. 프로게스테론은 PR 발현을 증가시키는 경향이 있다.

CDB-4124와 프로게스테론의 조합은 CDB-4124 단독의 것보다 더욱 유사한 패턴을 만들어내는 경향이 있다; 또한 중앙의 개수, 성장 패턴, 및 중앙 무게에 있어서 10mg/kg의 CDB-4124 + 10 mg/kg 프로게스테론의 조합의 효과와 일관된다. 일반적으로, CDB-4124의 장기간 처치는 중앙 내 PR의 수치를 낮추도록 하는 경향이 있는 반면, 프로게스테론은 반대로 작용하는 경향이 있다. 따라서, 중앙은 프로게스테론의 존재 하에서 프로게스테론 반응성을 유지한다.

[0211] 실시예 12. 혈청 호르몬 수치에 대한 안티 프로게스틴 효과의 시험

[0212] 스테로이드 호르몬의 농도를 연구 동안에 3회 측정하였다: 처치 개시 전, 처치 21일 후, 마지막으로 마지막 s.c. 주입 후 2-4일에 희생된 처치 후이다. 모든 샘플들을 심장천자로 취하였다. 혈청을 얻고, -40 °C에서 동결시켰다. 스테로이드 호르몬의 함량은 ELISA로 결정하였다.

[0213] 프로게스테론 측정 결과를 표 6에 나타내었다.

**표 6**

혈청 프로게스테론에 대한 치료 효과

집단	치료 (TX)	평균(mean) sd	혈청 프로게스테론 @ ng/ml		
			TX 이전	TX 도중	TX 이후
1	컨트롤(control) 비히클	평균(mean)	53	42	46
		sd	37	15	27
2	DMBA 없음 비히클	평균(mean)	47	50	45
		sd	18	25	18
3	RU 486 10 mg/kg	평균(mean)	58	72*	52
		sd	19	30	20
4	프로게스테론 (P4) 10 mg/kg	평균(mean)	51	55	54
		sd	18	21	11
5	4124 20 mg/kg	평균(mean)	61	96*	58
		sd	24	27	11
6	4124 10 mg/kg	평균(mean)	52	77*	43
		sd	28	21	33
7	4124 2 mg/kg	평균(mean)	59	74*	56
		sd	22	16	19
8	4124 1 mg/kg	평균(mean)	64	47	42
		sd	24	21	30
9	4124 0.1 mg/kg	평균(mean)	54	53	53
		sd	20	25	28
10	4124 + P4 20 + 10	평균(mean)	43	80=	66
		sd	16	21	32
11	4124 + P4 10 + 10	평균(mean)	52	74=	55
		sd	18	12	14
12	4124 + P4 2 + 10	평균(mean)	46	64	55
		sd	24	15	14
13	4124 + P4 1 + 10	평균(mean)	58	70	40
		sd	20	19	18
14	4124 + P4 0.1 + 10	평균(mean)	55	57	41
		sd	17	16	18
15	4059 10 mg/kg	평균(mean)	57	58	47
		sd	16	25	24

\* p < 0.05 컨트롤과 대비시 (1 집단) = p < 0.05, P4 와 대비시 (4 집단)

[0214]

[0215] 상기 혈청 프로게스테론 수치에 있어서 상기 집단들 가운데에서 처치 전 (p=0.49, ANOVA) 또는 처치 후(p=0.35, ANOVA) 차이가 없었으나, 처치에 따라 중대한 변화가 발견되었다 (p=0.000, ANOVA). 많은 요법들이 상기 컨트롤들에 비해서 프로게스테론을 높였는데, 특히 최대량의 RU486 및 CDB-4124을 받는 집단들에서 그랬다 (표 6). 21 일간 처치시킨 집단들 중에서 발생한 중대한 차이는 상기 집단들에 특이적이었다 (p = 7 x 10<sup>-6</sup>, Kruskal-Wallis 테스트): RU 486, 상기 3개의 최고 투여량의 CDB-4124, 및 2개의 최고 투여량의 CDB-4124+프로게스테론. CDB-4059는 상기 테스트된 10 mg/kg 투여량 수치로 처치 전에 발견된 혈청 프로게스테론 수치를 올리지 않았다. 혈청 프로게스테론은, 처치가 중단되었을 때 혈청 프로게스테론 감소를 보여주는데 실패한 (p=0.004, 쌍을 이룬 t-테스트, 1개 꼬리) 20 mg/kg CDB-4124 + 프로게스테론을 받고 있는 집단을 제외한 전체 집단에 대하여 0일째 수치로 되돌아갔다. 프로게스테론 단독의 그 자체 혈청 농도 제고 실패는 난처하게 하였지만 높은 외재성 프로게스테론이 내재성 생산을 억제한다는 사실에 기인할 수 있었다. 또한 외재성 프

로게스테론은 상기 s.c. 주사 및 20-24 시간 후에 수행된 상기 혈액 유출 사이에서 대사되었다. 10mg/kg 농도의 CDB-4059의 여성 내 내재성 프로게스테론 수치에 대한 영향의 부재는 그 농도의 CDB-4124보다 이점을 제공할 수도 있다.

[0216] **실시예 13. 코르티졸 측정(Measuring Cortisol).**

[0217] 다수의 다른 실험 시스템에서 RU 486이 코르티졸을 증가시킨다는 결론을 지지하는데, RU 486이 인간 및 영장류에서 강한 항-당질코르티코이드 성질을 가지기 때문이다.

[0218] 하지만, RU 486을 10 mg/kg 처리한 랫들은 코르티졸 수치에 있어서 중대한 차이를 보여주지 않았다. 반대로, CDB-4124 또는 CDB-4059를 같은 투여량 처리한 랫들은 컨트롤 군의 랫들보다 훨씬 높은 수치의 혈청 코르티졸을 보여주었다.

[0219] 이러한 높은 수치는 3-4 ug/dl (30-40 ng/ml) 범위였다. CDB-4124 투여량이 증가할 수록 코르티졸이 증가하였다는 점에서 효과는 투여량 의존적이었다 (도 2).

[0220] 코르티졸 수치에 대한 RU 486 대 CDB-4124나 CDB-4059의 효과에 있어서 이러한 차이는 만성적 투여 21일 후에 랫 간에 상기 두 CDB 화합물 각각 보다 RU 486을 더 잘 대사할 수 있음을 추정하는 것으로 설명될 수 있다.

[0221] **실시예 14. 코르티코스테론 측정.**

[0222] 코르티코스테론은 랫(rat)에서 가장 풍부한 당질코르티코이드이다. 코르티졸에 대한 SPRMs의 효과는 코르티코스테론에 대한 강력한 효과에 비해 부차적이다. 이 현상을 보다 잘 파악하기 위해서, 코르티코스테론 수치를 그룹 단위로 측정하였으며, 그것은 CDB-4124를 20 mg/kg 또는 10mg/kg 처리한 집단처럼 코르티졸 수치에 가장 강한 변화를 보여주었다. 대비를 위해서, 하기 집단들 또한 실험하였다: 20 mg/kg CDB-4124 + 10 mg/kg 프로게스테론 처치 집단, 10 mg/kg CDB-4124 + 10 mg/kg 프로게스테론 처치 집단, 10 mg/kg RU 486 처치 집단, 10 mg/kg 프로게스테론 단독 처치 집단, 컨트롤 집단, 및 DMBA 미처리하고 종양 없는 집단. 코르티코스테론 수치가 코르티졸 수치보다 10-40배 높았다. 하지만, 미세한 코르티코스테론 수치 관련해서는 집단 간에 거의 차이가 관찰되지 않았다. 치료 전 ( $p = 0.43$ , Kruskal-Wallis test), 치료 21일 후 ( $p = 0.57$ , Kruskal-Wallis test), 또는 치료 28일 후 및 희생시 ( $p = 0.061$ , Kruskal-Wallis test) 8개 집단 간에 차이가 없었다. 21일 ( $p = 0.94$ , t-테스트, 두 개 꼬리) 또는 희생시 ( $p = 0.37$ , t-테스트, 두 개 꼬리)에서, 종양 보유 동물들과 미보유 동물들 간에 통계적으로 코르티코스테론 수치에 있어서 차이가 없었다.

[0223] 혈청 코르티코스테론 상 외인성 프로게스테론의 효과를 측정하기 위해, 코르티코스테론의 수준을 외인성 프로게스테론을 주입했는지 여부에 있어서 차이가 있는 3쌍의 집단으로 비교하였다 (예, 컨트롤 대비 프로게스테론, 또는 20mg/kg의 CDB-4124 대비 20mg/kg의 CDB-4124 + 프로게스테론, 또는 10mg/kg의 CDB-4124 대비 10mg/kg의 CDB-4124 에 더한 프로게스테론의 비교). 통계적으로 현저한 차이가 관찰되었다: 코르티코스테론의 수치가 프로게스테론을 처치한 후 21일 경과한 동물에서 낮아졌다 ( $p=0.029$ , Mann-Whitney Wilcoxon test, two-tailed) 이러한 효과는 희생체에서 취해진 혈청들에서는 증명되지 않았다. 혈청 코르티코스테론에서는 상기 프로게스테론과 상기 CDB-4124 집단, 상기 프로게스테론과 상기 RU-486 집단, 또는 상기 RU-486 집단 및 상기 CDB-4124 집단들 사이에 아무런 차이가 발견되지 않았다.

[0224] 또한, 각 집단에서 혈청 코르티졸 및 혈청 코르티코스테론 사이의 관계를 실험하였다. 상기 두 개의 20mg/kg에서의 CDB-4124( $r^2 = 0.78$ ), 10mg/kg에서의 CDB-4124 ( $r^2 = 0.82$ ) 및 RU 486( $r^2 = 0.85$ )에 대하여 강한 양성의 선형 관계가 있다. 첫번째 두 개의 CDB-4124 집단에 프로게스테론을 첨가하는 것은 훨씬 덜 강한 관계를 만든다 (각각, 10 집단 경우,  $r^2 = 0.34$  및 11 집단 경우  $r^2 = 0.37$ ). 프로게스테론 자체는 그러한 양성 관계를 나타내지 않는다( $r^2 = -1.0$ ). 상기 컨트롤 집단은 두 개의 글루코코르티코이드들 사이에 아무런 관계가 없는 것으로 나타났다( $r^2 = 0.064$ ). 따라서, CDB-4124를 주입한 집단에서 코티졸의 증가된 수치는 코르티 코스테론의 수치와 상관관계가 있는 바, 아마도 어떤 방식으로든 증강된 코르티코스테론의 변환에 기인한 것으로 추측된다. 이는 상기에 나타난 CDB-4124의 효과, 프로게스테론과 코티졸의 수치에 대응하는 대사 효소에 대한 효과와 일치한다.

[0225] 비록 랫(rat)의 상기 1차적 글루코코르티코이드 상 CDB-4124에서 아무런 강한 효과가 관찰되지 않았음에도 불구하고, 안전상의 이유로, 제1상 임상시험에서 CDB-4124 또는 CDB-4059를 받은 환자에 대해 가능한 혈청 내 코티졸, 코르티코스테론, 또는 ACTH 증가를 포함한 가능한 항-글루코코르티코이드 효과를 모니터링해야 한다.

[0226] **실시에 15. 타목시펜 내성 유방암 세포에서 SPRMs의 항증식 효과 시험.**

[0227] 두 개 세포주를 사용한다: MCF-7 (상기 항에스트로겐, 타목시펜에 민감한 세포주) 및 LY-2 (타목시펜 내성보유 MCF-7의 변이체). 증식은 96-웰 마이크로틸터 플레이트로 측정한다.  $5 \times 10^3$  세포들을 각 웰에 가한다. 배양 배지 및 약물 용액을 Perkin Elmer Cetus PRO/PETTE를 갖는 웰에 가한다. 상기 배양 배지는 5% 소태아혈청으로 충전된 IMEM 이다. 8개 약물 농도를 2회로, 0.078  $\mu\text{M}$  내지 10  $\mu\text{M}$  시험한다. 샘플들은 타목시펜 단독, 타목시펜과 조합된 본 명세서에 개시된 각각의 화합물을 포함한다.

[0228] 4일의 배양 후, 상기 배지를 약물을 포함하는 신선 배지로 교체하고, 총 7일 경과 후, 세포 단일층들을 삼염화 아세트산으로 고정하고, 설포로다민 염료로 염색한다. 상기 추출된 염료 용액의 흡광도(492nm)를 Titertek Multiscan plate reader로 측정한다. 50% 증식이 억제된 약물 농도(micromolar)를 의미하는  $IC_{50}$  값을 평가하기 위해, 투약 응답 곡선(컨트롤 흡광도 대비 약물 농도의 퍼센트)를 작성한다.  $IC_{50}$  값은 세포 증식을 억제하는 테스트된 약물의 효능과 상호관련이 있고, 이에 따라 상기 타목시펜 내성 유방암 세포의 과증식을 예방하기에 적합한 화합물들을 밝히는 데 필요한 정보를 제공한다.

[0229] **실시에 16. 아로마타아제 과발현 T47D 유방암 세포들에서 CDB-4124 및 아로마타아제 억제자 DL-아미노글루테트 이미드의 항증식 효과.**

[0230] 아로마타아제 억제제는 스테로이드 수용체 양성 유방암 환자들에 대한 제1 치료 라인이 되었다. 생체 외에서 아로마타아제 억제자들의 효능 결정이 어려워졌는데, 알려진 유방암 세포들이 아로마타아제 활성을 거의 발현시키지 않기 때문이다. 따라서, 인간 태반 cDNA로부터의 아로마타아제 유전자 (hCYP19A1)을 포유류 발현 벡터 pcDNA3.1로 클로닝시키고, 비어 있는 벡터를 컨트롤로 유지하면서 T47D 유방암 세포들을 안정적으로 형질주입시킴으로써, 아로마타아제 과발현 T47D 세포주를 구축하였다. hCYP19A1을 운반하는 재조합 pcDNA3.1의 서열 정보가 hCYP19A1 ORF 구역에 100% 블라스트 히트된 것으로 나타내었다. 상기 아로마타아제 형질주입 세포들을 스크리닝하고 아로마타아제 활성 단백질의 과발현을 위해 선별하였다. 단일-세포 클론 (T47D<sub>arom</sub>)의 아로마타아제 발현을 RT-PCR, 웨스턴 블랏, Estrone ELISA, 및 세포 증식 실험에 의해 확인하였다. 상기 RT-PCR에서는 T47D<sub>arom</sub>에서 부모 T47D 세포들에 비해서 약 32배 높은 아로마타아제 mRNA 발현을 보여주었는데, 테스토스테론 유도가 있거나 없이 아로마타아제 mRNA의 고발현을 나타내었다. 상기 58 kD 아로마타아제 단백질의 발현을 쥐 단일클론 항-아로마타아제 항체를 이용하여 웨스턴 블랏 분석에 의해 확인하였다. 아로마타아제 발현이 T47D 컨트롤 세포들에서 관측되지 않았다. T47D<sub>arom</sub> 세포들에서의 높은 아로마타아제 활성을 Estrone ELISA 키트에 의해서 확인하였다. 간단하게, T47D 컨트롤 세포들에 비해서 높은 수준의 에스트론이 24 시간 기간 동안 10 nM 안드로스텐디온 처리시에 관측되었다. Estrone ELISA에서는 T47D 컨트롤 세포들에 비해서 T47D<sub>arom</sub> 세포들에 대해 450nM에서 더 낮은 흡광도를 보여주고 있다.

[0231] T47D<sub>arom</sub> 세포들을 24 웰 플레이트에 10,000 세포/웰 로 놓고, 2일간 인큐베이팅시키고 나서, CDB-4124를 1  $\mu\text{M}$ , 2  $\mu\text{M}$ , 3  $\mu\text{M}$ , 4  $\mu\text{M}$  및 5  $\mu\text{M}$  농도로 정상 배양 (10% 차콜 스트립 FBS/페놀 무(free) MEM 배지) 조건 하에서 처리하였다. 미처리 세포들을 컨트롤로 사용하였다. 크리스탈 바이올렛 시험(crystal violet assay)을 이용해서 세포 증식을 측정하였다. 이 시험에서 염료, 크리스탈 바이올렛이 DNA를 염색시킨다. 용해시에, 상기 세포에 의해 점유된 염료의 양을 분광기에서 정량할 수 있다. CDB-4124 처리가 투여량 의존 방식으로 T47D<sub>arom</sub> 세포들의 증식을 억제시켰다. 도 2을 참조한다.

[0232] 그런 다음에 T47D<sub>arom</sub> 세포들을 24 웰 플레이트에 10,000 세포/웰 로 놓고, 2일간 인큐베이팅시키고 나서, 50  $\mu\text{M}$ , 75  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 또는 150  $\mu\text{M}$ 의 DL-아미노글루테트 이미드 (AGM)과 함께, 1 nM 테스토스테론 존재시에 4일간 정상 배양 하에서 처리하고, 세포 증식 효과를 관측하였다. 그 결과가 도 3에 제공되고 있다.

[0233] 그런 다음에 T47D<sub>arom</sub> 세포들을 24 웰 플레이트에 10,000 세포/웰 로 놓고, 2일간 인큐베이팅시키고 나서, (1) 100  $\mu\text{M}$  of DL-아미노글루테트 이미드 (AGM) + 1  $\mu\text{M}$  CDB-4124; (2) 100  $\mu\text{M}$  DL-아미노글루테트 이미드 (AGM) + 2  $\mu\text{M}$  CDB-4124; (3) 100  $\mu\text{M}$  DL-아미노글루테트 이미드 (AGM) + 3  $\mu\text{M}$  CDB-4124; 또는 (4) 100  $\mu\text{M}$  DL-아미노글루테트 이미드 (AGM) + 4  $\mu\text{M}$  CDB-4124와 함께, 1 nM 테스토스테론 존재시에 4일간 정상 배양 조건 하에서 처리하고, 세포 증식 효과를 관측하였다. 그 결과가 도 4에 제공되고 있다. AGM 및 CDB-4124의 조합형태 처리 중에 세포 증식 억제는 투여량 의존적이었다. 놀랍게도, 아로마타아제를 발현하는 유방암 세포들의 증식을 억제함에 있어서 AGM 및 CDB-4124의 조합형태의 시너지 효과가 관찰되었다. 도 4를 참조하면, 같은 농도에서 같은 화

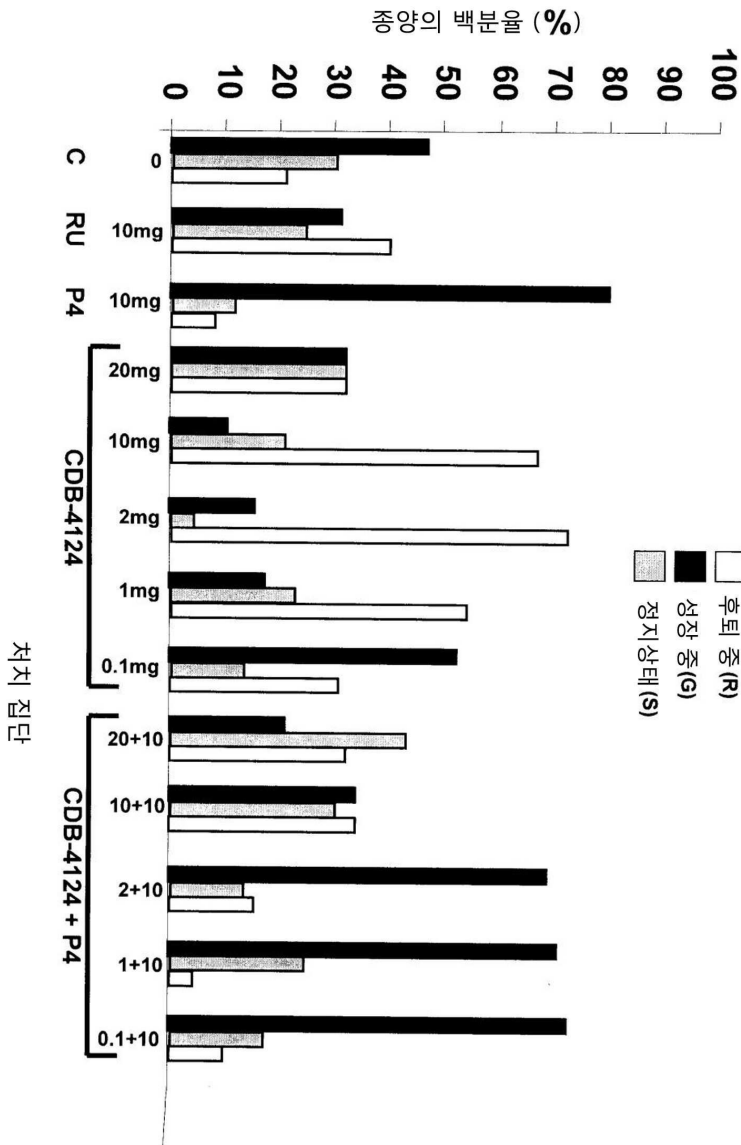
합물들을 별개로 해서 관찰한 30% 미만 억제와 비교할 때, 4  $\mu$ M CDB-4124 및 AGM 조합으로 거의 70% 세포증식 억제가 관찰되었다. 환언하면, AGM 및 CDB-4124의 조합형태 처리 도중에 관찰된 세포증식 억제가 AGM 또는 CDB-4124 단독에서 관찰된 증식을 기반으로 예측되는 것보다 더 컸다.

[0234]

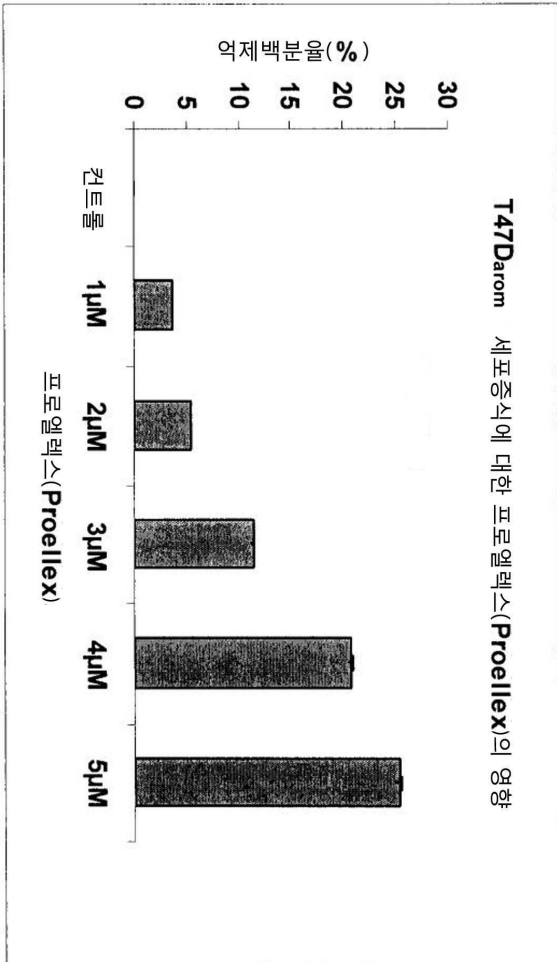
이들 결과에 의하면 아로마타아제 억제와 함께 높은 투여량의 CDB-4124가 유방암 치료에 있어서 시너지로서 강화된 화학치료 효과를 나타낸다는 것을 보여주고 있다. 세포 증식에 대한 유사한 시너지 효과가 CDB-4124를 다른 아로마타아제 억제제들과 조합할 때 예측될 것이다.

**도면**

**도면1**

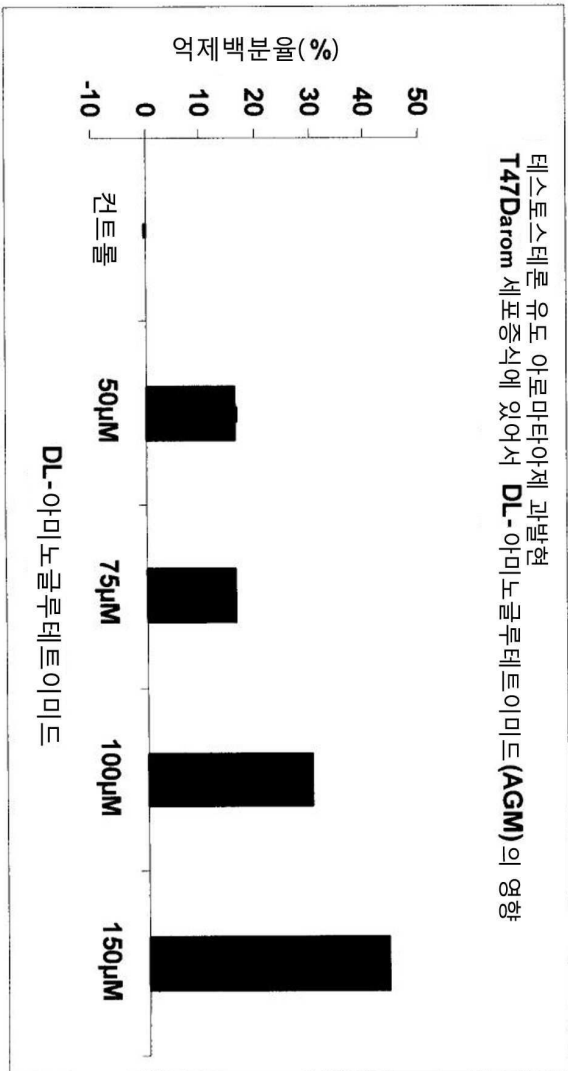


도면2

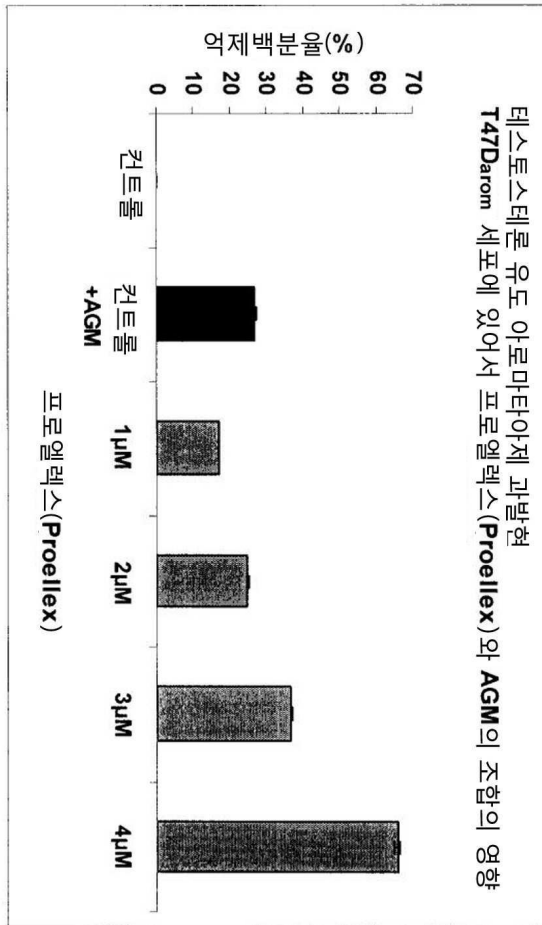




도면3



도면4



【심사관 직권보정사항】

【직권보정 1】

【보정항목】 청구범위

【보정세부항목】 청구항 제8항

【변경전】

상기 호르몬 대체요법을

【변경후】

호르몬 대체요법을