



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I539953 B

(45)公告日：中華民國 105 (2016) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：098112452

(22)申請日：中華民國 98 (2009) 年 04 月 15 日

(51)Int. Cl. : A61K31/573 (2006.01)

C07J5/00 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2008/04/28 美國

61/048,452

(71)申請人：瑞波若斯治療學公司 (美國) REPROS THERAPEUTICS INC. (US)  
美國(72)發明人：波多斯基 約瑟夫 S PODOLSKI, JOSEPH S. (US) ; 威荷 羅納德 D WIEHLE,  
RONALD D. (US)

(74)代理人：桂齊恆；閻啟泰

(56)參考文獻：

US 2006/0241125A1

Endocrine reviews, 1992, 13(2):146-159.

Oncology reports, 2007, 18: 167-174.

審查人員：魏鳳鳳

申請專利範圍項數：6 項 圖式數：4 共 75 頁

(54)名稱

用於治療乳癌之組成物和方法

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING BREAST CANCER

(57)摘要

本發明之標的係關於癌症治療領域。特定而言，本發明與治療及/或預防患者之乳癌有關。亦揭示用於實施該等方法之組成物，其包含選擇性孕酮受體調節劑，該等選擇性孕酮受體調節劑在子宮中充當孕酮促效劑且在乳房組織中充當孕酮拮抗劑且對於糖皮質激素及雌激素受體僅展現低親和力。本發明之具體實例亦揭示用於預防經受激素替代療法或雌激素療法之患者中乳癌發展之方法。

The subject matter of the instant invention is pertinent to the field of cancer treatment. In particular, the instant invention is relevant to the treatment and/or prevention of breast cancer in a patient. Compositions for practicing the methods, comprising selective progesterone receptor modulators, which function as progesterone agonists in the uterus and as progesterone antagonists in the breast tissue and exhibit only low affinity for glucocorticoid and estrogen receptors, are also disclosed. Embodiments of the instant invention also disclose methods for preventing the development of breast cancer in patients undergoing hormone replacement therapy or estrogen therapy.

指定代表圖：

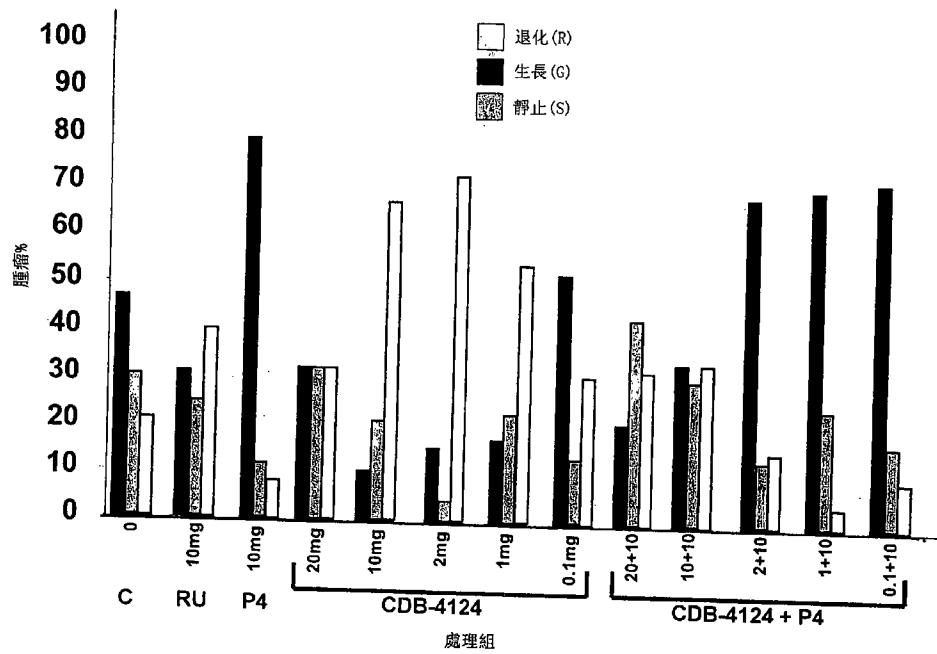
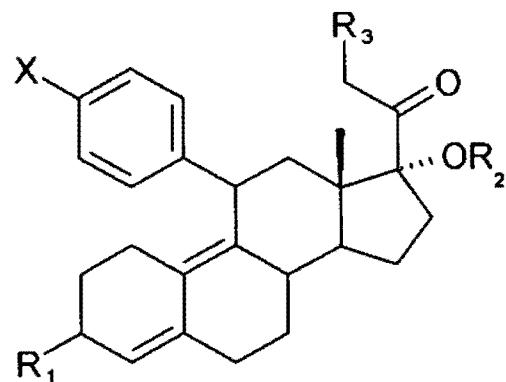


圖 1

特徵化學式：



公告本

98年10月6日替換專

98年10月6日修正專  
線東(本)

## 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：981124452

A61K31/573 (2006.01)

※申請日：98.4.15

※IPC分類：C07J5/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61P35/00 (2006.01)

用於治療乳癌之組成物和方法

COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING  
BREAST CANCER

## 二、中文發明摘要：

本發明之標的係關於癌症治療領域。特定而言，本發明與治療及/或預防患者之乳癌有關。亦揭示用於實施該等方法之組成物，其包含選擇性孕酮受體調節劑，該等選擇性孕酮受體調節劑在子宮中充當孕酮促效劑且在乳房組織中充當孕酮拮抗劑且對於糖皮質激素及雌激素受體僅展現低親和力。本發明之具體實例亦揭示用於預防經受激素替代療法或雌激素療法之患者中乳癌發展之方法。

## 三、英文發明摘要：

The subject matter of the instant invention is pertinent to the field of cancer treatment. In particular, the instant invention is relevant to the treatment and/or prevention of breast cancer in a patient. Compositions for practicing the methods, comprising selective progesterone receptor

modulators, which function as progesterone agonists in the uterus and as progesterone antagonists in the breast tissue and exhibit only low affinity for glucocorticoid and estrogen receptors, are also disclosed. Embodiments of the instant invention also disclose methods for preventing the development of breast cancer in patients undergoing hormone replacement therapy or estrogen therapy.

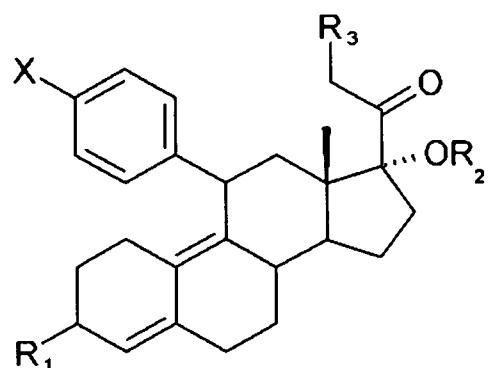
#### 四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 1 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

#### 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



## 六、發明說明：

### 【相關申請案之交互參照】

本申請案主張 2008 年 4 月 28 日申請之美國臨時申請案第 61/048,452 號之權益，該案之內容係以引用之方式併入本文中。

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於用於治療乳癌之組成物及方法。更特定而言，本發明係關於用於治療乳癌之包含一或多種具有低糖皮質激素活性之選擇性孕酮受體調節劑的組成物。

### 【先前技術】

在 2007 年，約 200,000 名美國女性將經診斷患有乳癌。新近資料暗示孕酮在此疾病之發展中起作用。

若干研究已提供證據證明孕酮在子宮及乳房中具有相反功能：孕酮在子宮中充當對抗雌激素之增殖作用之分化劑且在乳房中充當促有絲分裂劑。特定而言，已展示孕酮會增加犬及小鼠之自發性乳腺腫瘤之發生率。此外，對孕酮受體剔除小鼠之研究展示特異性靶向乳腺之化學致癌物依賴於孕酮受體。另外，組織培養實驗展示孕酮之作用可限於一個增殖週期，繼而停滯。已確定孕酮可上調 EGF、c-erbB2 及 c-erbB3 之受體或增強其在生長因子結合下游之活性。此增加孕酮「啟動」組織增殖之可能性且能夠自激素依賴狀態轉換至生長因子依賴狀態。

來自婦女健康研究計劃 (Women's Health Initiative, WHI) 及百萬婦女研究 (Million Women Study) 之大型新近臨床研究進一步暗示孕酮在乳癌發展中之作用，其支持以下結論：採用由接合性馬雌激素 (CEE) 及助孕素甲羥助孕酮乙酸酯 (MPA) 組成之激素替代療法 (HRT) 之婦女比採用安慰劑之婦女存在之乳癌風險增加。在百萬婦女研究中，任意使用雌激素及若干孕酮促效劑 (MPA、炔諾酮 (norethisterone)、炔諾孕酮 (norgestrel) / 左炔諾孕酮 (levonorgestrel)) 中之一者使得風險比單獨使用雌激素增加且風險隨使用持續時間而增加。此等統計資料亦受到組織學資料的支持，該等組織學資料提供使用助孕素甲羥助孕酮乙酸酯 (MPA) 作為 HRT 之一部分的婦女展示較高程度之終末導管小葉單位 (terminal duct lobular unit) 增殖。除臨床資料以外，以手術方式造成停經之獼猴 (macaque) 之實驗資料展示與單獨雌激素相比，雌激素與孕酮組合之方案引起較高程度之乳房增殖及增生。在追蹤研究中，Cline 等人發現 MPA 與接合性馬雌激素之組合 (亦即婦女之標準 HRT 組合) 增加獼猴之乳腺上皮細胞之小葉中乳腺上皮比例及 Ki-67 染色 (增殖)。

助孕素經由與孕酮受體 (PR) 相互作用來實現其功能，該孕酮受體屬於一類稱作「配位體依賴性轉錄因子」之結構相關基因調節劑 (R. M. Evans, Science, 240, 889, 1988)。孕酮受體家族為細胞內受體家族之子集，該細胞內受體家族亦包括雌激素受體 (ER)、雄激素受體 (AR)、糖

皮質激素受體（GR）及鹽皮質激素受體（MR）。細胞內孕酮受體（PR）對於孕酮之大部分作用而言係重要的。在人類中，存在兩種不同之PR同功異型物：PR-A及PR-B。兩種PR皆為激素活化之轉錄因子，其在活化後直接與轉錄調節基因組序列及其他轉錄因子相互作用。PR轉錄功能依賴於與助孕素之相互作用。在月經週期期間，生育年齡婦女之孕酮反應性組織之PR表現量大不相同。

在此項技術中已知許多影響PR之助孕素依賴性活化之不同化合物。已知此等化合物中有一些阻斷所有組織中之孕酮功能。此等化合物稱作純拮抗劑且應區別於能夠視組織而用作孕酮促效劑或孕酮拮抗劑之選擇性孕酮受體調節劑（SPRM）。此項技術中已知之SPRM之實施例包括抗助孕素劑RU486及ZK112993。

已展示RU486（美服培酮（mifepristone））在用7,12,-二甲基苯并(*a*)蒽（DMBA）引發致癌作用之後，當每天投予歷時3週時延遲大鼠中腫瘤之出現。亦已展示相對於對照，RU486減少具有已確定腫瘤之動物中之腫瘤尺寸。然而，腫瘤尺寸的減少伴隨有血清ER及孕酮的升高。關於患有轉移性乳癌之婦女的兩項小型臨床試驗已展示RU486具有一定程度的對抗該疾病之功效，儘管較大型之II期試驗未能展示該結果。在後一研究中，觀測到腎上腺機能不全之症狀。此等副作用並不出人意料，此係鑑於RU486之極顯著之抗糖皮質激素活性及其升高血清ER之傾向，該兩者皆阻礙其長期用於女性。

統計資料展示，在 2005 年經診斷患有乳癌之 200,000 名美國女性中，幾乎 60%在其手術時無轉移性疾病，儘管同一群組中有 30%最終將復發。原發病灶含有雌激素受體 (ER) 及孕酮受體 (PR) 之女性主要用激素療法使用抗 ER 劑 (諸如他莫西芬 (tamoxifen)) 或芳香酶抑制劑來治療。接近 70%之 ER 及 PR 陽性患者對他莫西芬有反應。儘管 ER 與 PR 兩者之存在對於反應而言為決定性的且 ER 誘導 PR，但相對極少致力於開發抗助孕素劑作為乳癌發展及進程之可能調節劑。因此，利用人乳癌之孕酮反應性之療法對於激素反應性乳癌可具有較大優勢。美國國家癌症研究所 (NCI) 1998 年之共識聲明報導他莫西芬可預防性地適用於預防乳癌發展。該等療法在預防經受 HRT 之患者中之乳癌發展方面具有特定優勢。較佳地，該等療法避免與許多抗助孕素化合物相關之高抗糖皮質激素活性。

### 【發明內容】

本發明係關於使用抗助孕素劑治療女性之激素反應性乳癌之方法。更特定而言，本發明使用對糖皮質激素受體具有低親和力且具有低雌激素/抗雌激素活性之抗助孕素劑來抑制乳房組織增殖。抗助孕素劑可為純抗助孕素劑或選擇性孕酮受體調節劑 (SPRM)，只要抗助孕素劑對糖皮質激素受體具有低親和力且以有效抑制乳房組織增殖之量投予。本發明之方法亦可用於預防經受諸如停經激素替代療法之激素治療的患者之過度增殖及隨後之乳癌發展。

本發明之組成物亦可適用於治療其他病狀，諸如子宮內膜過度增殖、精神抑鬱、膽囊疾病、高血壓、葡萄糖耐量異常及高凝血狀態。

### 【實施方式】

術語「有效劑量」意謂足以治療特定病狀之組成物之活性組份的量。

術語「選擇性孕酮受體調節劑」意謂以組織特異性方式影響孕酮受體功能之化合物。該等化合物在一些組織中（例如在乳房組織中）用作孕酮受體拮抗劑且在其他組織中（例如在子宮中）用作孕酮受體促效劑。

如本文中所用之術語「治療」係指對與生長停滯、細胞凋亡或增殖性衰老之障礙有關之病症或疾病的任何治療，且包括（但不限於）抑制病症或疾病，阻止病症或疾病之發展；減輕病症或疾病，例如使病症或疾病消退；或減輕由疾病或病症引起之病狀，減輕疾病或病症之症狀。

關於與生長停滯、細胞凋亡或增殖性衰老之障礙有關之病症或疾病之術語「預防」意謂若病症或疾病未出現，則預防病症或疾病開始發展，或者，若病症或疾病已存在，則預防病症或疾病進一步發展。舉例而言，本發明之組成物可用於預防腫瘤復發。腫瘤復發可由於腫瘤細胞之殘留微觀群組或巢而出現，該等腫瘤細胞之殘留微觀群組或巢隨後擴大為臨床上可偵測之腫瘤。

術語「孕酮促效劑」意謂與孕酮受體結合且模擬天然激素作用之化合物。

術語「孕酮拮抗劑」意謂與孕酮受體結合且抑制孕酮作用之化合物。

本文中關於乳房組織增殖所用之術語「抑制」意謂相對於在相同條件下未經治療之子宮內膜組織，在投予孕酮拮抗劑後，子宮內膜組織之有絲分裂增殖得以抑制且不同於經由（例如）細胞凋亡之細胞死亡。可（例如）在乳房細胞株中藉由（例如）比較經孕酮拮抗劑處理之細胞與對照（未處理）細胞中溴脫氧尿苷（BrdU）之併入來測試孕酮拮抗劑抑制子宮內膜有絲分裂增殖之活性。

如本文中關於女性之激素含量所用之術語「不實質上降低」意謂在投予本發明之組成物期間，激素含量維持在正常範圍內。因此，認為只要激素含量維持在正常範圍內，激素含量可出現一定程度的降低。

如本文中關於女性之激素含量所用之術語「不實質上增加」意謂在投予本發明之組成物期間，激素含量維持在正常範圍內。因此，認為只要激素含量維持在正常範圍內，激素含量可出現一定程度的升高。

本發明係關於藉由投予包含有效抑制乳癌組織增殖之量的一或多種抗助孕素劑之組成物來治療乳癌之方法。該等方法係歸因於下列意外發現而產生：某些抗助孕素劑有效誘導乳癌組織之細胞凋亡且有效抑制乳癌組織之增殖，因此，此等化合物區別於其他可誘導乳癌組織之細胞凋亡

但不能抑制相同組織之增殖的抗助孕素劑（諸如 RU 486）。因此，本發明之抗助孕素劑驚人地有效降低現有腫瘤之生長且預防乳房組織中新腫瘤之出現。抗助孕素劑可為純抗助孕素劑或可為特異性孕酮受體調節劑（SPRM），只要抗助孕素劑具有低糖皮質激素活性。較佳地，抗助孕素劑具有低雌激素/抗雌激素活性以便在投予抗助孕素劑後患者體內實質上保持血清雌激素含量。

在本發明之一態樣中，向患有乳癌之患者投予包含有效量之一或多種抗助孕素劑的本發明之組成物以治療乳癌。抗助孕素劑之量有效抑制乳癌組織增殖。

在一相關態樣中，本發明提供抗助孕素劑抑制乳癌細胞增殖之用途。乳癌細胞可為哺乳動物乳癌細胞，諸如人乳癌細胞。乳癌細胞亦可抵抗諸如他莫西芬（tamoxifen）之抗雌激素劑。

在本發明之另一態樣中，向患有一或多種抵抗抗雌激素劑治療之乳癌的患者投予包含有效量之一或多種抗助孕素劑之本發明之組成物以治療乳癌。舉例而言，本發明之化合物可尤其適用於治療患者之他莫西芬抵抗性乳癌。

在本發明之另一態樣中，投予包含有效抑制乳癌組織增殖之量的一或多種抗助孕素劑之本發明之組成物作為用於治療乳癌之組合治療方案之一組份。就此點而言，可在投予針對乳癌治療之任何治療劑之前、期間或之後投予本發明之組成物。舉例而言，本發明之抗助孕素劑可與以下各者組合使用：抗雌激素劑，抗雄激素劑，諸如他莫西芬

之選擇性雌激素受體調節劑，諸如阿那曲唑 (anastrozole)、來曲唑 (letrozole)、依西美坦 (exemestane) 或 DL-氨基魯米特 (DL-aminoglutethimide) 之芳香酶抑制劑，諸如蒽環黴素 (anthracycline)、紫杉烷、烷化劑、甲胺喋呤、長春鹼、長春新鹼、順鉑 (cisplatin) 之化學治療劑，或其任何組合。本發明之組成物可與諸如抗雌激素劑、抗雄激素劑、芳香酶抑制劑之其他活性劑起協同作用以抑制患者之乳癌細胞增殖。在一較佳具體實例中，本發明之組成物係與一或多種芳香酶抑制劑一起共同投予以治療女性患者之乳癌。本發明亦涵蓋包含有效量之抗助孕素劑及芳香酶抑制劑之組成物。較佳組成物包含 CDB-4124 及芳香酶抑制劑，該芳香酶抑制劑係選自由阿那曲唑、來曲唑、依西美坦及 DL-氨基魯米特組成之群。

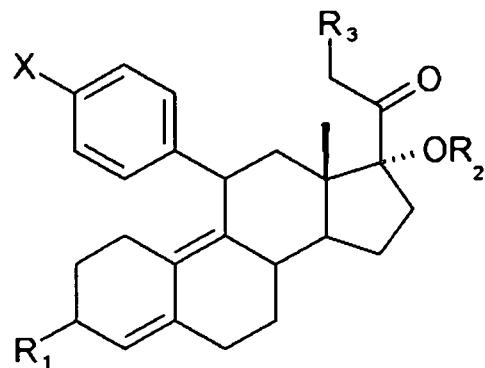
在本發明之另一態樣中，向經受激素療法之女性投予包含有效抑制乳癌組織增殖之量的一或多種抗助孕素劑之本發明之組成物以預防乳癌發展。舉例而言，可向經受激素替代療法之女性投予本發明之組成物以預防乳癌發展。亦可向經受雌激素療法之女性投予本發明之組成物以預防乳癌發展。

本發明之化合物適於經受激素阻斷治療之乳癌患者所需之長期使用，因為該等化合物僅具有低糖皮質激素受體結合活性，且因而，該等化合物不干擾糖皮質激素受體之功能。因此，該等化合物之應用可具有減少之使用對糖皮質激素受體具有高親和力之抗助孕素劑時通常所見之副作

用，諸如情緒波動、疲勞及體重減輕。較佳地，本發明之化合物亦具有低或實質上不具有雌激素、抗雌激素及抗雄激素活性。就此點而言，較佳抗助孕素劑為 CDB-4124 及 CDB-4059，其各自具有低抗糖皮質激素活性且已發現其在投予至少 6 個月之時段期間將人類女性之雌激素含量維持在正常範圍內。

本發明之方法中之任一者可包含投予包含足以抑制乳癌組織增殖之量的抗助孕素劑之組成物，歷時至少 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 天或 31 天以上之投藥時段。亦可投予組成物，歷時至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 個月或 12 個月以上之投藥時段。亦可投予組成物，歷時至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 年或 10 年以上之投藥時段。在投藥時段期間，可每天或定期投予組成物，諸如每隔一天、每隔一月及其類似情況。亦可間歇地投予組成物。舉例而言，可投予組成物，歷時 1、2、3、4、5 個月或 5 個月以上之投藥時段，繼之以中斷時段，繼之以 1、2、3、4、5 個月或 5 個月以上之投藥時段等。

實施本發明之熟習此項技術者可使用具有上文所述之化合物特徵之任何已知抗助孕素劑。尤其適用的化合物為諸如揭示於美國專利第 6,861,415 號（以引用之方式全部併入本文中）中之彼等化合物，該等化合物為具有下列通式之 21-取代之 19-去甲孕甾烷（norpregnane）：



其中：

X 可為（例如）烷基、烯基、炔基、氫、鹵基、單烷基胺基、或二烷基胺基胺基（諸如 N,N-二甲基胺基）；

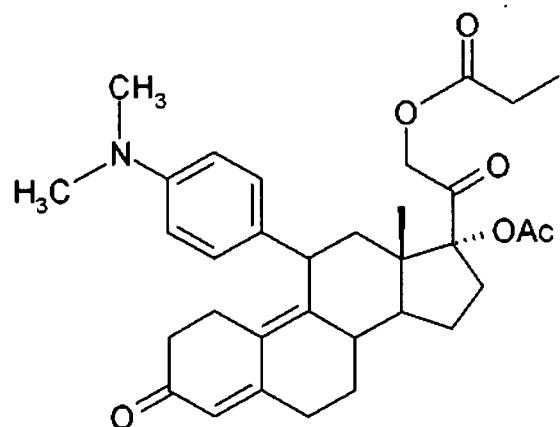
R<sub>1</sub> 可為（例如）O、NOH 或 NO-甲基；

R<sub>2</sub> 可為（例如）氫或乙醯基；且

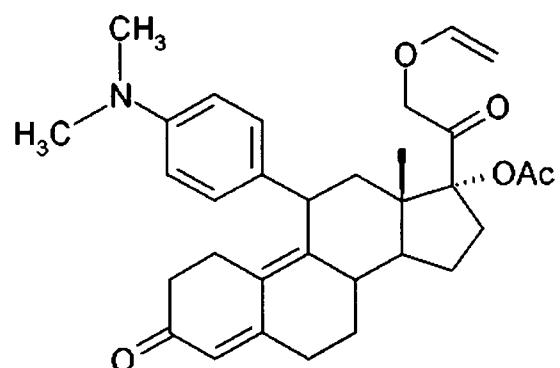
R<sub>3</sub> 可為（例如）甲氧基、甲醯氧基、乙醯氧基、醯基、S-烷基、乙醯基亞硫醯基（acetyltheonyl）、甘胺酸酯（glycimate）、乙烯醚、乙醯基甲基、甲基碳酸酯、鹵素、甲基、羥基及乙基。

21-取代之 19-去甲孕甾烷包括（但不限於）下文所揭示之下列 24 種化合物。

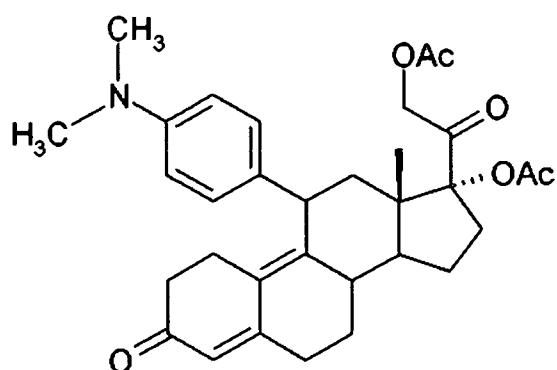
1. 具有下列結構式之 CDB-4247 (21-丙醯基-17 $\alpha$ -乙醯基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



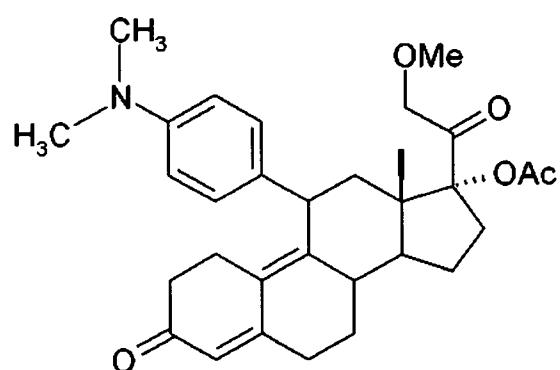
2. 具有下列結構式之 CDB-4361 (21-乙烯醚-17 $\alpha$ -乙  
醯基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯  
-3,20-二酮)：



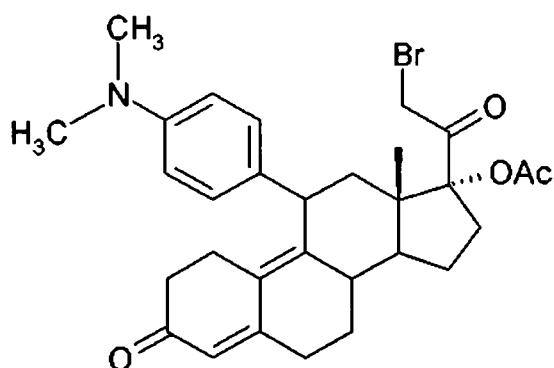
3. 具有下列結構式之 CDB-4059 (21-乙醯基-17 $\alpha$ -  
乙醯基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二  
烯-3,20-二酮)：



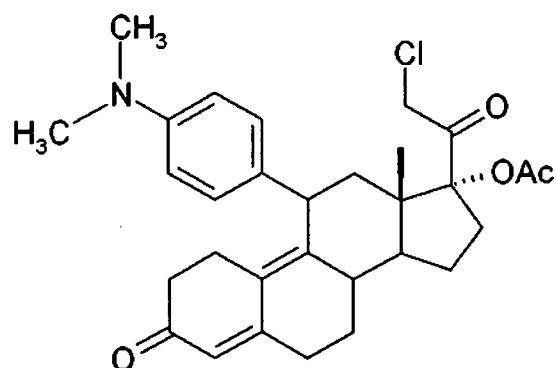
4. 具有下列結構式之 CDB-4124 (21-甲氧基-17α-乙  
醯氨基-11β-(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯  
-3,20-二酮)：



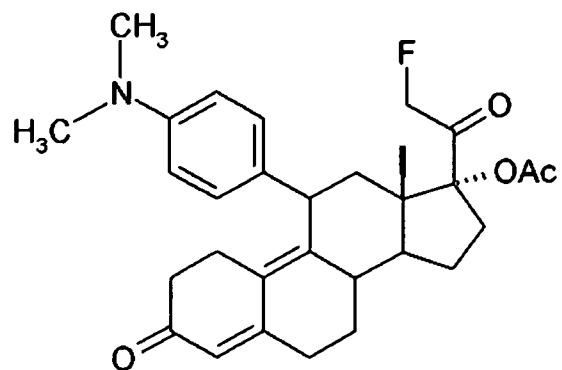
5. 具有下列結構式之 CDB-4031 (21-溴-17α-乙醯氨基  
基-11β-(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯  
-3,20-二酮)：



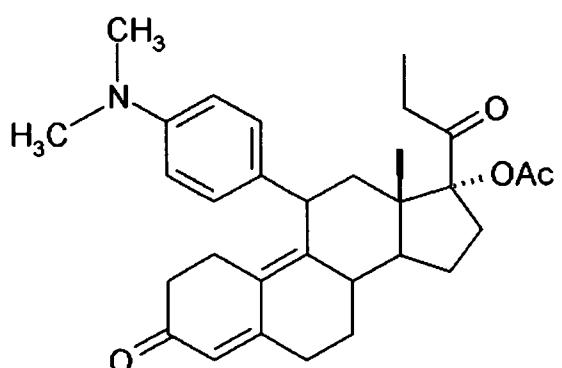
6. 具有下列結構式之 CDB-3876 (21-氯-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



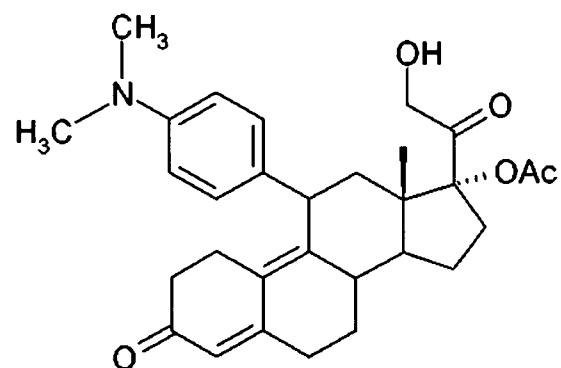
7. 具有下列結構式之 CDB-4058 (21-氯-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



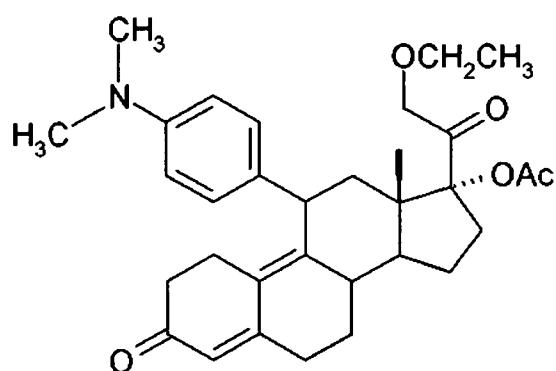
8. 具有下列結構式之 CDB-4030 ( 21-甲基 -17 $\alpha$ -乙醯  
氧基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯  
-3,20-二酮 ) :



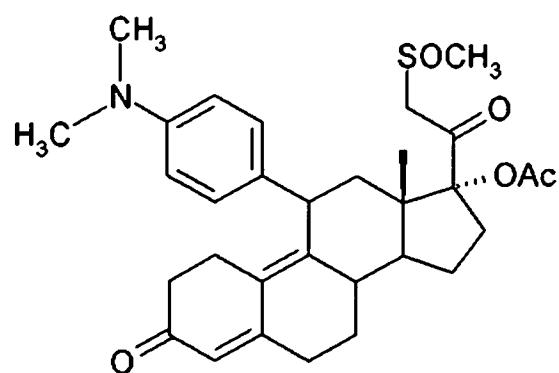
9. 具有下列結構式之 CDB-4152 ( 21-羥基 -17 $\alpha$ -乙醯  
氧基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯  
-3,20-二酮 ) :



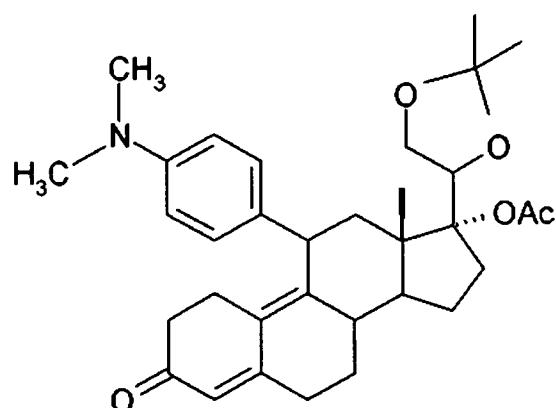
10. 具有下列結構式之 CDB-4167 ( 21-乙氧基 -17 $\alpha$ -乙  
醯氨基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯  
-3,20-二酮 ) :



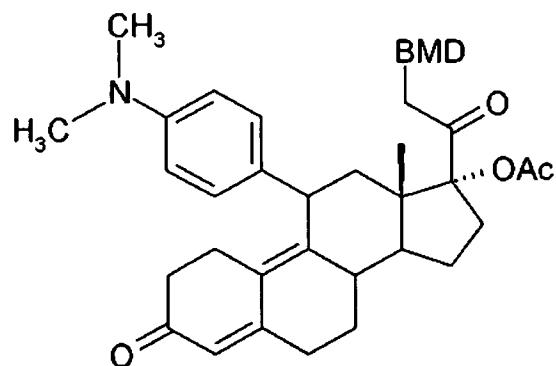
11. 具有下列結構式之 CDB-4101 ( 21-甲氧基硫基  
-17 $\alpha$ -乙醯氨基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾  
-4,9-二烯 -3,20-二酮 ) :



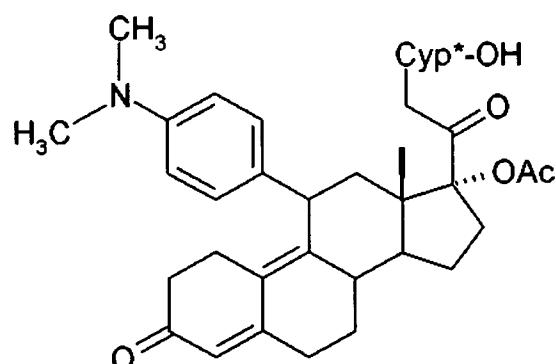
12. 具有下列結構式之 CDB-4110 ( 21-縮丙酮基 -17 $\alpha$ -乙醯氨基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯 -3,20-二酮 ) :



13. 具有下列結構式之 CDB-4111 ( 21-BMD-17 $\alpha$ -乙醯氨基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯 -3,20-二酮 ) :

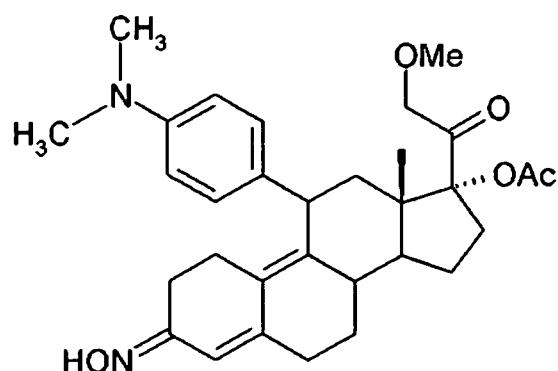


14. 具有下列結構式之 CDB-4125 ( 21-(Cyp\*-羥基)-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮 ) :

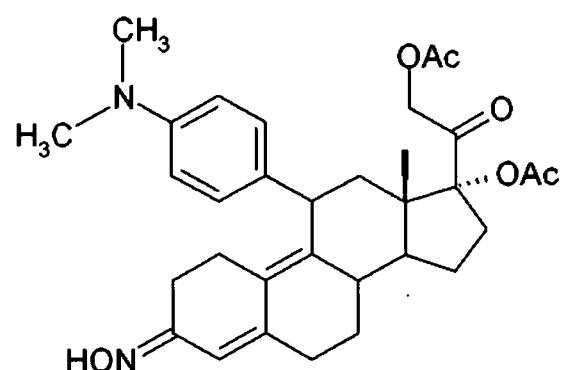


\*Cyp=3-環戊基丙醯氧基 -

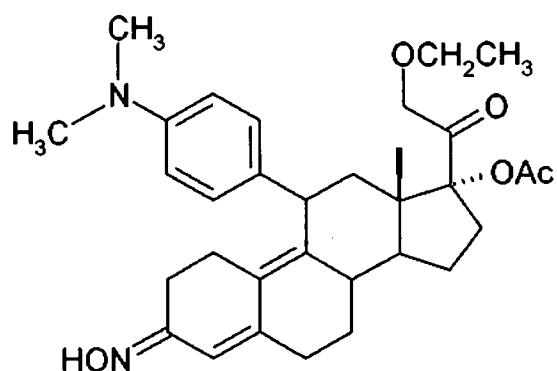
15. 具有下列結構式之 CDB-4205 ( 3-羥基胺基-21-甲氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮 ) :



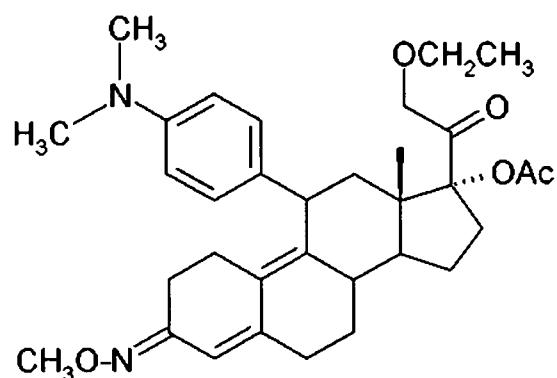
16. 具有下列結構式之 CDB-4206 ( 3-羥基胺基 -21- 乙  
醯 氧 基 -17 $\alpha$ -乙 鹽 氧 基 -11 $\beta$ -(4N,N-二 甲 基 胺 基 苯 基 )-19- 去 甲  
孕甾 -4,9- 二 烯 -3,20- 二 酮 ) :



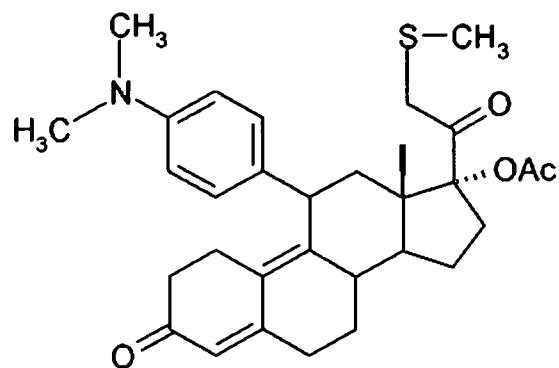
17. 具有下列結構式之 CDB-4226 ( 3-羥基胺基 -21- 乙  
酰 氧 基 -17 $\alpha$ -乙 鹽 氧 基 -11 $\beta$ -(4N,N-二 甲 基 胺 基 苯 基 )-19- 去 甲 孕  
甾 -4,9- 二 烯 -3,20- 二 酮 ) :



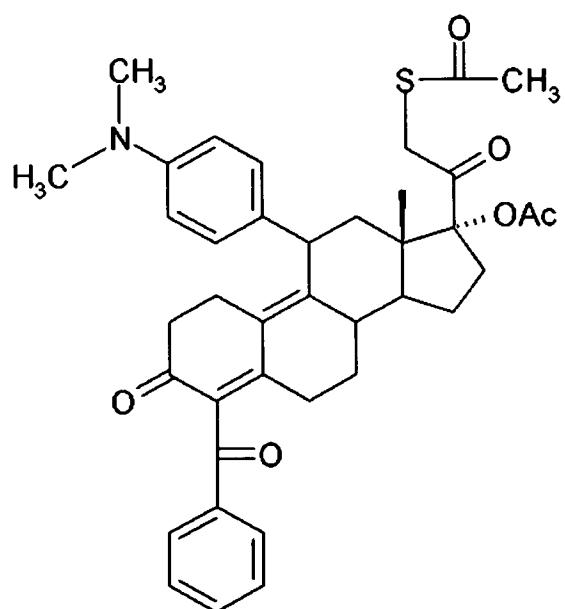
18. 具有下列結構式之 CDB-4262 (3-甲基胺基-21-乙氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



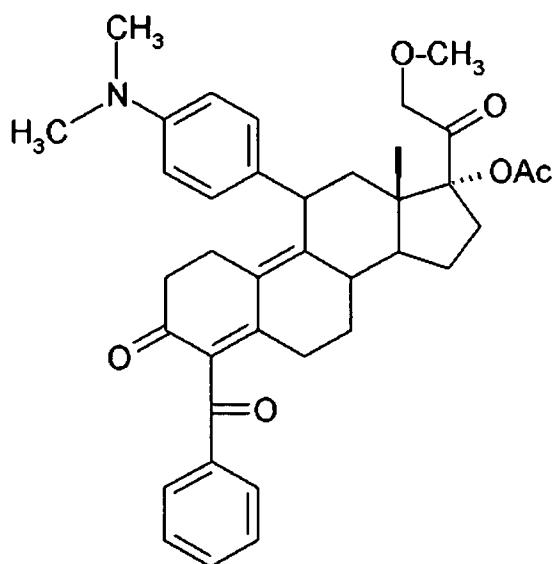
19. 具有下列結構式之 CDB-4223 (21-甲硫基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



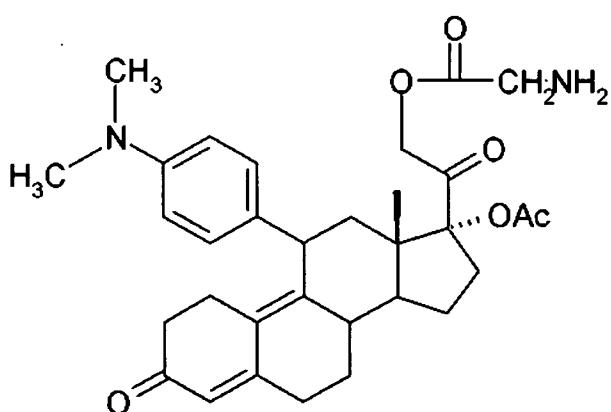
20. 具有下列結構式之 CDB-4119 (4-安息香-21-乙醯基硫基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



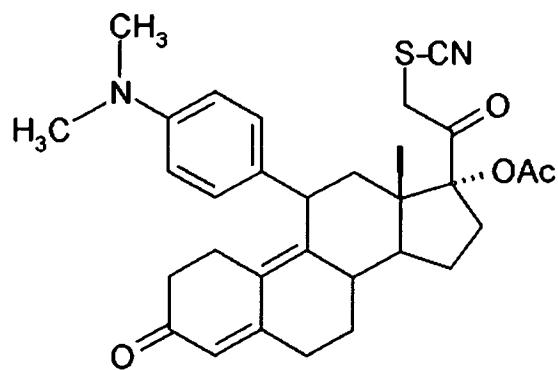
21. 具有下列結構式之 CDB-4239 (4-安息香-21-甲氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



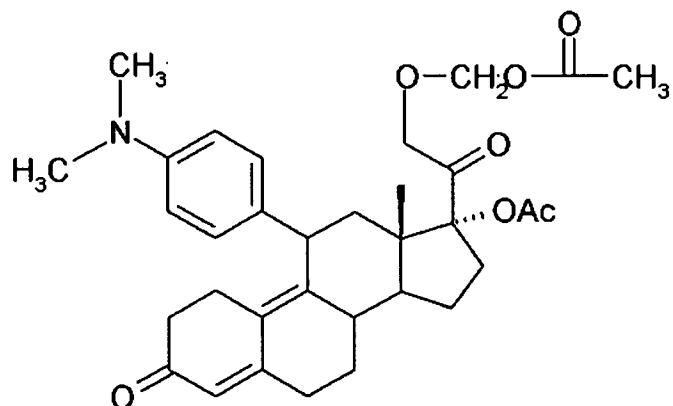
22. 具有下列結構式之 CDB-4306 ( 21-甘胺酸酯 -17 $\alpha$ -乙醯氨基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮 ) :



23. 具有下列結構式之 CDB-4352 ( 21-氯基硫基 -17 $\alpha$ -乙醯氨基 -11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮 ) :



24. 具有下列結構式之 CDB-4362 (21-甲氧基乙醯基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)：



上文所揭示之 24 種化合物之 11 $\beta$ -單去甲基化衍生物（亦即，其中 X 為 N-甲基胺基之彼等化合物）亦尤其適用於實施本發明。就此點而言，CDB-4453 (21-甲氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4-N-甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮) (CDB-4124 之單去甲基化衍生物) 已經證明具有比其母體之抗糖皮質激素活性甚至更低之抗糖皮質激素活性。Attardi 等人，2002, Mol. Cell. Endocrin.

188:111-123，其內容係以引用之方式併入本文中。

雖然上述通式之化合物及其單去甲基化衍生物為較佳的，但只要抗助孕素劑能夠抑制乳癌組織增殖，則任何抗助孕素劑可因其對孕酮受體之拮抗作用而用於本發明之實施中。較佳地，抗助孕素劑亦具有低抗糖皮質激素活性。較佳地，抗助孕素劑具有最小之雌激素及抗雌激素活性。

可適用於本發明中之抗助孕素劑包括(不限於): DE 43 32 283 及 DE 43 32 284 中所述之 asoprisnil (苯甲醛，4-[(11 $\beta$ ,17 $\beta$ )-17-甲氧基-17-(甲氧基甲基)-3-側氧基雌甾-4,9-二烯-11-基]-1-(E)-肟；J867)、其代謝物 J912 (4-[17 $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -(甲氧基甲基)-3-側氧基雌甾-4,9-二烯-11 $\beta$ -基]苯甲醛-(1E)-肟) 及其他化合物；Stratton 等人, 2000, *Hu. Reprod.* 15:1092-1099 中所述之 CDB-2914 (17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4-N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮) 及其他化合物；Allan 等人, 2006, *Steroids* 71:949-954 中所述之 JNJ-1250132 及其他化合物；Zhi 等人, 1998, *J.Med. Chem.* 41:291-302 中所述之 5-芳基-1,2-二氫噁烷並(dihydrochromeno)[3,4-f]喹啉；Zhang 等人之美國專利第 6,509,334 號、第 6,566,358 號及第 6,713,478 號中所述之 1,4-二氫-苯並[d][1,3]噁啡-2-酮；Fensome 等人之美國專利第 6,391,907 號中所述之 1,3-二氫-吲哚-2-酮；Ulrich 等人之美國專利第 6,417,214 號中所述之 2,3-二氫-1H-吲哚；Zhang 等人之美國專利第 6,380,235 號中所述之苯并咪唑酮及其類似物；Collins 等人之美國專利第 6,339,098 號中所述之 2,1-

苯并異噁唑啉 2,2-二氧化物；Santilli 等人之美國專利第 6,306,851 號及第 6,441,019 號中所述之環胺基甲酸酯及環醯胺；Zhang 等人之美國專利第 6,369,056 號中所述之環脲及環醯胺衍生物；及 Zhang 等人之美國專利第 6,358,948 號中所述之喹唑啉酮及苯并噁阱衍生物。

其他可適用於本發明中之抗助孕素劑包括（不限於）：美國專利第 4,871,724 號中所述之(6 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ )-11-(4-二甲基胺基苯基)-6-甲基-4',5'-二氫螺[雌甾-4,9-二烯-17,2'(3'H)-呋喃]-3-酮（ORG-31710）及其他化合物；(11 $\beta$ ,17 $\alpha$ )-11-(4-乙醯基苯基)-17,23-環氧-19,24-二去甲膽甾（dinorchola）-4,9,20-三烯-3-酮（ORG-33628）；美國專利第 4,921,845 號中所述之(7 $\beta$ ,11 $\beta$ ,17 $\beta$ )-11-(4-二甲基胺基苯基-7-甲基]-4',5'-二氫螺[雌甾-4,9-二烯-17,2'(3'H)-呋喃]-3-酮（ORG-31806）及其他化合物；Michna 等人，1992，J. Steroid Biochem. Molec. Biol. 41:339-348 中所述之 ZK-112993 及其他化合物；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 及 ZK-137316。

其他可適用於本發明中之抗助孕素劑包括（不限於）：美國專利第 4,386,085 號、第 4,447,424 號、第 4,519,946 號

及第 4,634,695 號中所述之化合物；Jiang 等人，2006, Steroids 71:949-954 中所述之含磷之 17 $\beta$ -側鏈美服培酮類似物；美國專利第 4,780,461 號中所述之奧那司酮 (onapristone) (11 $\beta$ -[對-(二甲基胺基)苯基]-17 $\alpha$ -羥基-17-(3-羥基丙基)-13 $\alpha$ -雌甾-4,9-二烯-3-酮) 及其他化合物；美國專利第 4,609,651 號中所述之利洛司酮 (lilopristone) ((Z)-11 $\beta$ -[(4-二甲基胺基)苯基]-17- $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -(3-羥基-1-丙烯基)雌甾-4,9-二烯-3-酮) 及其他化合物；Belagner 等人，1981, Steroids 37:361-382 中所述之 11 $\beta$ -取代之 19-去甲類固醇，諸如 11 $\beta$ -(4-甲氧基苯基)-17 $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -乙炔基-4,9-雌甾二烯-3-酮；美國專利第 5,728,689 號中所述之 11 $\beta$ -芳基-4-雌烯，諸如 (Z)-11 $\beta$ -[(4-二甲基胺基)苯基]-17 $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -(3-羥基-1-丙烯基)雌-4-烯-3-酮；美國專利第 5,843,933 號及第 5,843,931 號中所述之 11 $\beta$ -芳基-雌烯衍生物；美國專利第 5,693,628 號中所述之 11-苯甲醛肟-雌甾-二烯衍生物，諸如 4-[17 $\beta$ -甲氧基-17 $\alpha$ -(甲氧基甲基)-3-側氧基雌甾-4,9-二烯-11 $\beta$ -基]苯甲醛-1-(E)-肟；美國專利第 5,576,310 號中所述之 11-苯甲醛肟-17 $\beta$ -甲氧基-17 $\alpha$ -甲氧基甲基-雌甾二烯衍生物，諸如 4-[17 $\beta$ -甲氧基-17 $\alpha$ -(甲氧基甲基)-3-側氧基雌甾-4,9-二烯-11 $\beta$ -基]苯甲醛-1-(E)-[O-(乙胺基)羧基]肟；WO 99/45023 中所述之 S-取代之 11 $\beta$ -苯甲醛肟-雌甾-4,9-二烯-碳酸硫醇酯，諸如 4-[17 $\beta$ -甲氧基-17 $\alpha$ -(甲氧基甲基)-3-側氧基雌甾-4,9-二烯-11 $\beta$ -基]苯甲醛-1-(E)-[O-(乙硫基)羧基]肟；DE 19652408、DE 4434488、DE 4216003、DE

4216004 及 WO 98/24803 中所述之類固醇酯，諸如 (Z)-6'-(4-氯基苯基)-9,11 $\alpha$ -二氫-17 $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -[4-(1-側氧基-3-甲基丁氧基)-1-丁烯基]4'H-菸并[3',2',1';10,9,11]雌-4-烯-3-酮；WO 98/34947 中所述之氟化 17 $\alpha$ -烷基鏈類固醇，諸如 11 $\beta$ -(4-乙醯基苯基)-17 $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -(1,1,2,2,2-五氟乙基)雌甾-4,9-二烯-3-酮；美國專利第 5,292,878 號中所述之 17-螺呋喃-3'-亞基類固醇，諸如 11 $\beta$ -(4-乙醯基苯基)-19,24-二去甲-17,23-環氧-17 $\alpha$ -膽甾-4,9,20-三烯-3-酮；美國專利第 5,439,913 號中所述之 (Z)-11 $\beta$ ,19-[4-(3-吡啶基)-o-伸苯基]-17 $\beta$ -羥基-17 $\alpha$ -[3-羥基-1-丙烯基]-4-雄固烯-3-酮及其他化合物；美國專利第 5,446,036 號中所述之 13-烷基-11- $\beta$ -苯基甾烷，諸如 11 $\beta$ -[4-(1-甲基乙烯基)苯基]-17 $\alpha$ -羥基-17 $\beta$ -(3-羥基丙基)-13 $\alpha$ -雌甾-4,9-二烯-3-酮；美國專利第 4,921,845 號中所述之 11-芳基類固醇，諸如 4',5'-二氫-11 $\beta$ -[4-(二甲基胺基)苯基]-6 $\beta$ -甲基螺[雌甾-4,9-二烯-17 $\beta$ ,2'(3'H)-呋喃]-3-酮；美國專利第 4,829,060 號、第 4,814,327 號及第 5,089,488 號中所述之 11- $\beta$ -芳基-雌甾二烯；美國專利第 5,739,125 號、第 5,407,928 號及第 5,273,971 號中所述之 11- $\beta$ -芳基-4,9 甾二烯及 11- $\beta$ -芳基-13-烷基-4,9-甾二烯；EP 289073 中所述之 11- $\beta$ -芳基-6-烷基(或烯基或炔基)類固醇；美國專利第 5,093,507 號中所述之 10- $\beta$ ,11- $\beta$ -橋式類固醇；美國專利第 5,244,886 號中所述之 11- $\beta$ -芳基-14- $\beta$ -類固醇；美國專利第 5,095,129 號、第 5,446,178 號、第 5,478,956 號及第 5,232,915 號中所述之 19,11- $\beta$ -橋式類

固醇；美國專利第 5,684,151 號中所述之 1-芳基磺醯基、芳基羧基及 1-芳基膦醯基-3-苯基-1,4,5,6-四氫噠咁；美國專利第 5,753,655 號中所述之 1-芳基磺醯基、芳基羧基及芳基硫羧基噠咁并衍生物；美國專利第 5,688,808 號、第 5,693,646 號、第 5,693,647 號、第 5,696,127 號、第 5,696,130 號及第 5,696,133 號中所述之 1,2-二氫-[1,2-g]喹啉衍生物及 1,2-二氫噁烷并-[3,4-f]喹啉衍生物；Kang 等人，2007，Bioorg. Med. Chem. Lett. 15:907-910 中所述之由(8S,13S,14R)-7-氧雜-雌甾-4,9-二烯-3,17-二酮 1 衍生之氧雜-類固醇 6；及 Kang 等人，2007，Bioorg. Med. Chem. Lett. 17:2531-2534 中所述之 7-氧雜-類固醇 4。

在一較佳具體實例中，抗助孕素劑為 CDB-4059 (21-乙醯氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)。

在一尤其較佳具體實例中，抗助孕素劑為 CDB-4124 (21-甲氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -(4N,N-二甲基胺基苯基)-19-去甲孕甾-4,9-二烯-3,20-二酮)。

較佳地，抗助孕素劑使乳癌細胞株中每一百個細胞中之增殖細胞數目減少至少約 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%。乳癌細胞株可對他莫西芬敏感（諸如 MCF-7）或可抵抗他莫西芬（諸如 LY-2）。

在另一具體實例中，本發明教示可用於鑑別具有選擇

性孕酮受體結合活性之化合物的方法。此等方法包括受體結合及活體內生物檢定，諸如抗-McGinty、抗-Clauberg、糖皮質激素、雌激素、雄激素、抗糖皮質激素(AG)、抗雌激素及抗雄激素活性以及交媾後及抗排卵活性，其中本發明之先導化合物用作參照。

在另一具體實例中，本發明教示亦可分析潛在抗助孕素劑在人細胞中之轉錄活性。當本發明中所揭示之抗助孕素劑用作對照時，此分析提供關於下列各者之資訊：(1)候選化合物與孕酮受體之相互作用、(2)經活化孕酮受體與其他轉錄因子之相互作用，及(3)孕酮反應元(PRE)處轉錄複合物之活化。在此等實驗中，可將表現人PR-B同功異型物(hPR-B)之質體與熟習相關技術者所知之任何報導體在PRE-依賴性啟動子下共同轉染至HeLa、HepG2或T47D細胞中。報導體可包括(但不限於)螢光素酶、β-半乳糖苷酶、綠色螢光蛋白、紅色螢光蛋白或黃色螢光蛋白。轉染後，用候選化合物或本申請案中所揭示之用作陽性對照之抗助孕素劑中之一者處理細胞。處理後，檢定細胞之報導體表現。

在另一具體實例中，本發明教示可測試預期抗助孕素劑在人淋巴細胞株CEM-7中對抗地塞米松(dexamethasone)誘導之細胞死亡的能力且與本說明書中所揭示之抗助孕素劑之作用相比較。在此等實驗中，可以導致細胞死亡之濃度添加地塞米松。接著用RU486、本發明之抗助孕素劑中之一者或測試化合物以介於 $10^{-6}$ M與 $10^{-8}$ M之間的濃度處

理細胞。

可根據本發明使用之抗助孕素化合物可使用此項技術中已知之合成化學技術來合成，諸如美國專利第 6,861,415 號中所揭示之彼等技術。應瞭解某些官能基在反應條件下可干擾其他反應物或試劑，且因此可能需要暫時性保護。保護基之使用描述於 'Protective Groups in Organic Synthesis', 第 2 版， T. W. Greene & P. G. M. Wutz, Wiley-Interscience (1991) 中。

在一具體實例中，本發明之組成物包含一或多種抗助孕素劑或其醫藥學上可接受之鹽。視製程條件而定，所獲得之鹽化合物可呈中性形式或鹽形式。鹽形式包括水合物及其他溶劑合物以及結晶多晶型物。此等最終產物之游離鹼及鹽均可根據本發明使用。

可使用諸如鹼之鹼性試劑或藉由離子交換使酸加成鹽以自身已知的方式轉化為游離鹼。所獲得之游離鹼亦可與有機酸或無機酸形成鹽。

在酸加成鹽之製備中，較佳使用適合形成醫藥學上可接受之鹽的該等酸。該等酸之實例為鹽酸、硫酸、磷酸、硝酸、脂族酸、脂環羧酸或礦酸，諸如甲酸、乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、乳酸、蘋果酸、酒石酸、檸檬酸、抗壞血酸、葡萄糖醛酸、反丁烯二酸、順丁烯二酸、羥基順丁烯二酸、丙酮酸、天冬氨酸、麩氨酸、對羥基苯甲酸、恩波酸 (embonic acid)、乙烷礦酸、羥基乙烷礦酸、苯基乙酸、扁桃酸、alogenbenzenesulfonic 酸、甲苯礦酸、半乳糖二酸、

半乳糖醛酸或菸礦酸。所有結晶型多晶型物皆可根據本發明使用。

鹼加成鹽亦可根據本發明使用且可藉由使游離酸形式與足夠量之所需鹼接觸以便以習知方式產生鹽來製備。可藉由使鹽形式與酸接觸且以習知方式分離游離酸來使游離酸形式再生。用諸如鹼金屬及鹼土金屬或有機胺之金屬或胺來形成醫藥學上可接受之鹼加成鹽。用作陽離子之金屬之實例為鈉、鉀、鈣、鎂及其類似物。合適胺之實例為諸如離胺酸之胺基酸、膽鹼、二乙醇胺、乙二胺、N-甲基還原葡萄糖胺及其類似物。

可將本發明之組成物製備成適於經口、非經腸、經皮膚、經直腸、經黏膜或局部投予之劑量單位形式。非經腸投藥包括（但不限於）靜脈內、動脈內、腹膜內、皮下、肌肉內、鞘內腔及關節內投藥。

本文中之術語「經口投藥」或「可經口傳遞」包括向個體傳遞治療劑或其組成物之任何形式，其中將該劑或組成物置放於個體口中，無論是否吞咽該劑或組成物。因此，「經口投藥」包括經頰部及舌下以及經食道（例如吸入）投藥。

在另一具體實例中，將本發明之組成物調配成直腸栓劑，其可含有包括（但不限於）可可脂或甘油酯之栓劑基質。

本發明之組成物亦可經調配以供吸入，其可呈包括（但不限於）溶液、懸浮液或乳液之形式，其可以乾粉形式或

以氣霧劑形式使用諸如二氯氟甲烷或三氯氟甲烷之推進劑投予。

本發明之組成物亦可調配成（例如）乳膏、軟膏、洗劑、糊劑、凝膠劑、藥用硬膏、貼片或膜形式以供經皮膚傳遞。該等組成物可包含任何合適之賦形劑，例如滲透增強劑及其類似物。

本發明之組成物亦可經調配以供非經腸投予，包括（但不限於）藉由注射或連續輸注。注射用調配物可呈於油性或水性媒劑中之懸浮液、溶液或乳液形式。該等組成物亦可以粉末形式提供以便用包括（但不限於）無菌無熱原水、WFI 及其類似物之合適媒劑復原。

本發明之組成物亦可調配成儲槽式製劑（depot preparation）形式，其可藉由植入或藉由肌肉內注射投予。該等組成物可用合適之聚合或疏水性物質（例如，呈於可接受之油中之乳液形式）、離子交換樹脂來調配或可調配成微溶衍生物形式（例如，呈微溶鹽形式）。

本發明之組成物亦可調配成脂質體製劑。脂質體製劑可包含脂質體，其滲透所關注之細胞或角質層且與細胞膜融合以便將脂質體之內容物傳遞至細胞內。例如，可使用諸如描述於 Yarosh 之美國專利第 5,077,211 號、Redziniak 等人之美國專利第 4,621,023 號或 Redziniak 等人之美國專利第 4,508,703 號中之彼等脂質體的脂質體。

本發明之組成物可呈固體劑量單位形式，例如錠劑（例如懸浮錠劑、咬食之懸浮錠劑、快速分散錠劑、可咀嚼錠

劑、發泡錠劑、雙層錠劑等)、囊片、膠囊(例如，軟或硬明膠膠囊)、散劑(例如，經包裝散劑、可分散散劑或發泡散劑)、口含劑、藥囊、扁膠劑、片劑、小丸劑、顆粒劑、微顆粒劑、經囊封之微顆粒劑、粉末氣霧劑調配物或任何其他相當適合於投藥之固體劑型。

可根據多種相關之熟知藥學技術中之任一者來製備錠劑。在一具體實例中，可藉由使用包括(但不限於)以下各者之方法中之一者或組合的製程來製備錠劑或其他固體劑型：(1)乾式混合、(2)直接壓製、(3)研磨、(4)乾式或非水性造粒、(5)濕式造粒或(6)熔合。

錠劑製備之濕式造粒製程中之個別步驟通常包括成份研磨及過篩、乾粉末混合、濕式成塊、造粒及最終研磨。乾式造粒包括在重型旋轉壓錠機上將粉末混合物壓成粗錠劑或「錠塊」。接著藉由研磨操作(通常藉由通過振盪造粒機)使該等錠塊碎裂成顆粒狀粒子。個別步驟包括混合粉末、壓製(乾壓製錠)及研磨(錠塊縮減或造粒)。通常，在該等步驟中之任一者中不涉及濕黏合劑或水分。

在另一具體實例中，可藉由將抗助孕素劑與一或多種醫藥賦形劑混合以形成實質上均質之預調配摻合物來製備固體劑型。接著可將預調配摻合物細分且視情況進一步加工(例如壓製、囊封、包裝、分散等)成任何所需劑型。

壓製錠劑可藉由壓縮本發明之粉末或顆粒組成物來製備。術語「壓製錠劑」一般係指藉由單一壓製或藉由預壓縮輕拍(tapping)，繼而最終壓製所製備之適於經口攝取之

未經包衣之素錠。本發明之錠劑可經包衣或以其他方式混配以提供給予改良之處理或儲存特徵之優點的劑型。在一具體實例中，將選擇任何該種衣料以便在向個體投予後不實質上延遲本發明之組成物之治療作用開始之時間。如本文中所用之術語「懸浮錠劑」係指在置放於水中後快速崩解之壓製錠劑。

本發明之組成物之合適液體劑型包括溶液、水性或油性懸浮液、酏劑、糖漿、乳液、液體氣霧劑調配物、凝膠劑、乳膏、軟膏等。該等組成物亦可調配成在使用前用水或其他合適媒劑組配之乾燥產品形式。

在一具體實例中，在保持在室溫、冷藏（例如，約5°C-10°C）溫度或冷凍溫度下之密閉容器中儲存約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月之時段後，液體或半固體組成物展現至少約90%、至少約92.5%、至少約95%或至少約97.5%之其中所存在之原始抗助孕素化合物。

本發明之組成物必要時可包括一或多種醫藥學上可接受之賦形劑。本文中之術語「賦形劑」意謂本身不為治療劑，用作向個體傳遞治療劑或將治療劑添加至醫藥組成物中以改良醫藥組成物之處理或儲存特性或允許或促進組成物之單位劑量形成之載劑或媒劑的任何物質。賦形劑包括（說明但非限制而言）稀釋劑、崩解劑、黏合劑、黏著劑、濕潤劑、潤滑劑、助流劑、表面改質劑或界面活性劑、芳香劑、懸浮劑、乳化劑、非水性媒劑、防腐劑、抗氧化劑、黏著劑、pH值及容積滲透濃度調節劑（例如緩衝劑）、防腐

劑、增稠劑、甜味劑、調味劑、味覺掩蔽劑、著色劑或染料、滲透增強劑及添加以改良組成物外觀之物質。

視情況用於本發明之組成物中之賦形劑可為固體、半固體、液體或其組合。含有賦形劑之本發明之組成物可藉由任何已知之藥學技術來製備，該技術包含將賦形劑與藥物或治療劑混合。

本發明之組成物視情況包含一或多種醫藥學上可接受之稀釋劑作為賦形劑。合適稀釋劑包括（說明而言）個別或呈組合形式之以下各者：乳糖，包括無水乳糖及乳糖單水合物；澱粉，包括可直接壓製之澱粉及已水解澱粉（例如，Celutab<sup>TM</sup>及 Emdex<sup>TM</sup>）；甘露糖醇；山梨糖醇；木糖醇；右旋糖（例如，Cerelose<sup>TM</sup> 2000）及右旋糖單水合物；二水合磷酸氫二鈣；基於蔗糖之稀釋劑；粉糖；單水合硫酸氫鈣；二水合硫酸鈣；顆粒狀三水合乳酸鈣；葡聚糖（dextrose）；環己六醇；已水解穀類固體物；直鏈澱粉；纖維素，包括微晶纖維素、 $\alpha$ -纖維素及非晶型纖維素之食品級來源（例如，Rexcel<sup>TM</sup>）及粉末狀纖維素；碳酸鈣；甘胺酸；膨潤土；聚乙烯吡咯啶酮；及其類似物。若存在，則該等稀釋劑合計構成組成物總重量之約 5%至約 99%、約 10%至約 85%或約 20%至約 80%。所選之任何稀釋劑展現合適之流動特性及在需要錠劑之情況下之可壓製性。

顆粒外微晶纖維素（亦即，在乾燥步驟後添加至經濕式造粒之組成物中之微晶纖維素）之使用可用於改良硬度（對於錠劑而言）及/或崩解時間。

本發明之組成物視情況包含一或多種醫藥學上可接受之崩解劑作為賦形劑，尤其對於錠劑、膠囊或其他固體調配物而言。合適崩解劑包括個別或呈組合形式之以下各者：澱粉，包括羥基乙酸澱粉鈉（例如，PenWest之Explotab<sup>TM</sup>）及預膠凝化玉米澱粉（例如，National<sup>TM</sup> 1551、National<sup>TM</sup> 1550及Colocorn<sup>TM</sup> 1500）；黏土（例如，Veegum<sup>TM</sup> HV）；纖維素，諸如純化纖維素、微晶纖維素、甲基纖維素、羧甲基纖維素及羧甲基纖維素鈉、交聯羧甲纖維素鈉（例如FMC之Ac-Di-Sol<sup>TM</sup>）；海藻酸鹽；交聯聚乙烯吡咯酮；及樹膠，諸如瓊脂、瓜爾膠、三仙膠、刺槐豆膠、刺梧桐膠、果膠及黃蓍膠。

可在製備組成物期間之任何合適步驟中，尤其在造粒步驟之前或在壓製之前的潤滑步驟期間添加崩解劑。若存在，則該等崩解劑合計構成組成物總重量之約0.2%至約30%、約0.2%至約10%或約0.2%至約5%。

本發明之組成物視情況包含一或多種醫藥學上可接受之黏合劑或黏接劑作為賦形劑，尤其對於錠劑調配物而言。該等黏合劑及黏著劑較佳將賦予經製錠之粉末以足夠之內聚力以便允許諸如尺寸訂定、潤滑、壓製及包裝之正常加工操作，且亦允許在攝取後錠劑崩解及組成物吸收。合適黏合劑及黏著劑包括個別或呈組合形式之以下各者：阿拉伯膠；黃蓍膠；蔗糖；明膠；葡萄糖；澱粉，諸如（但不限於）預凝膠化澱粉（例如，National<sup>TM</sup> 1511及National<sup>TM</sup> 1500）；纖維素，諸如（但不限於）甲基纖維素及羧甲基纖

維素鈉（例如，Tylose<sup>TM</sup>）；褐藻酸及褐藻酸鹽；矽酸鎂鋁；PEG；瓜爾膠；多醣酸；膨潤土；聚維酮（povidone），例如聚維酮K-15、K-30及K-29/32；聚甲基丙烯酸酯；HPMC；羟丙基纖維素（例如，Klucel<sup>TM</sup>）；及乙基纖維素（例如，Ethocel<sup>TM</sup>）。若存在，則該等黏合劑及/或黏著劑合計構成組成物總重量之約0.5%至約25%、約0.75%至約15%或約1%至約10%。

本發明之組成物視情況包含一或多種醫藥學上可接受之濕潤劑作為賦形劑。可用作本發明之組成物中之濕潤劑之界面活性劑的非限制性實例包括四級銨化合物，例如氯化苯甲烴銨、氯化苯甲乙氧銨及氯化十六基吡啶；礦基琥珀酸二辛鈉；聚氧化乙烯烷基苯基醚，例如，壬苯醇醚9、壬苯醇醚10及辛苯聚醇9；泊洛沙姆（poloxamer）（聚氧化乙烯與聚氧化丙烯之嵌段共聚物）；聚氧化乙脂肪酸甘油酯及油，例如，聚氧化乙(8)辛酸/癸酸單甘油酯及二甘油酯（例如Gattefossé之Labrasol<sup>TM</sup>）、聚氧化乙(35)蓖麻油及聚氧化乙(40)氯化蓖麻油；聚氧化乙烷基醚，例如，聚氧化乙(20)十六基十八基醚；聚氧化乙脂肪酸酯，例如，聚氧化乙(40)硬脂酸酯；聚氧化乙脫水山梨糖醇酯，例如，聚山梨醇酯20及聚山梨醇酯80（例如，ICI之Tween<sup>TM</sup>80）；丙二醇脂肪酸酯，例如，丙二醇月桂酸酯（例如，Gattefossé之Lauroglycol<sup>TM</sup>）；月桂基硫酸鈉；脂肪酸及其鹽，例如油酸、油酸鈉及油酸三乙醇胺；脂肪酸甘油酯，例如單硬脂酸甘油酯；脫水山梨糖醇酯，例如，

脫水山梨糖醇單月桂酸酯、脫水山梨糖醇單油酸酯、脫水山梨糖醇單棕櫚酸酯及脫水山梨糖醇單硬脂酸酯；泰洛沙伯 (tyloxapol)；及其混合物。若存在，則該等濕潤劑合計構成組成物總重量之約 0.25%至約 15%、約 0.4%至約 10%或約 0.5%至約 5%。

本發明之組成物視情況包含一或多種醫藥學上可接受之潤滑劑（包括抗黏劑及/或助流劑）作為賦形劑。合適潤滑劑包括個別或呈組合形式之以下各者：山嵛酸甘油酯 (glyceryl behapate)（例如，Compritol<sup>TM</sup> 888）；硬脂酸及其鹽，包括鎂（硬脂酸鎂）、硬脂酸鈣及硬脂酸鈉；氫化植物油（例如 Sterotex<sup>TM</sup>）；膠態矽石；滑石；蠟；硼酸；苯甲酸鈉；乙酸鈉；反丁烯二酸鈉；氯化鈉；DL-白胺酸；PEG（例如，Carbowax<sup>TM</sup> 4000 及 Carbowax<sup>TM</sup> 6000）；油酸鈉；月桂基硫酸鈉；及月桂基硫酸鎂。若存在，則該等潤滑劑合計構成組成物總重量之約 0.1%至約 10%、約 0.2%至約 8%或約 0.25%至約 5%。

合適抗黏劑包括滑石、玉米澱粉、DL-白胺酸、月桂基硫酸鈉及金屬硬脂酸鹽。滑石為用於（例如）減少調配物與設備表面相黏且亦用於減少摻合物中之靜電的抗黏劑或助流劑。若存在，則一或多種抗黏劑合計構成組成物總重量之約 0.1%至約 10%、約 0.25%至約 5%或約 0.5%至約 2%。

助流劑可用於促進固體調配物之粉末流動。合適助流劑包括膠態二氧化矽、澱粉、滑石、磷酸三鈣、粉末狀纖維素及三矽酸鎂。膠態二氧化矽為尤其較佳的。

本發明之組成物可包含一或多種消泡劑。聚二甲矽氧烷為說明性消泡劑。若存在，則消泡劑合計構成組成物總重量之約 0.001%至約 5%、約 0.001%至約 2%或約 0.001%至約 1%。

用於本發明中之說明性抗氧化劑包括（但不限於）丁基化羥基甲苯、丁基化羥基甲氧苯、焦亞硫酸鉀及其類似物。必要時，一或多種抗氧化劑通常以約 0.01 重量%至約 2.5 重量%，例如約 0.01 重量%、約 0.05 重量%、約 0.1 重量%、約 0.5 重量%、約 1 重量%、約 1.5 重量%、約 1.75 重量%、約 2 重量%、約 2.25 重量%或約 2.5 重量%之量存在於本發明之組成物中。

在多個具體實例中，本發明之組成物可包含防腐劑。合適防腐劑包括（但不限於）氯化苯甲煙銨、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸乙酯、對羥基苯甲酸丙酯或對羥基苯甲酸丁酯、苯甲醇、苯乙醇、苯甲乙氧銨、對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯及山梨酸或其組合。通常，可選防腐劑以約 0.01 重量%至約 0.5 重量%或約 0.01 重量%至約 2.5 重量%之量存在。

在一具體實例中，本發明之組成物視情況包含緩衝劑。緩衝劑包括減少 pH 值變化之試劑。用於本發明之多個具體實例中之說明性緩衝劑類別包含 IA 族金屬之鹽，包括（例如）IA 族金屬之碳酸氫鹽、IA 族金屬之碳酸鹽、鹼金屬或鹼土金屬緩衝劑、鋁緩衝劑、鈣緩衝劑、鈉緩衝劑或鎂緩衝劑。合適緩衝劑包括上述金屬中之任一者之碳酸

鹽、磷酸鹽、碳酸氫鹽、檸檬酸鹽、硼酸鹽、乙酸鹽、鄰苯二甲酸鹽、酒石酸鹽、琥珀酸鹽，例如鈉或鉀之磷酸鹽、檸檬酸鹽、硼酸鹽、乙酸鹽、碳酸氫鹽及碳酸鹽。

合適緩衝劑之非限制性實施例包括鋁、氫氧化鎂、甘胺酸鋁、乙酸鈣、碳酸氫鈣、硼酸鈣、碳酸鈣、檸檬酸鈣、葡萄糖酸鈣、甘油磷酸鈣、氫氧化鈣、乳酸鈣、鄰苯二甲酸鈣、磷酸鈣、琥珀酸鈣、酒石酸鈣、磷酸氫二鈉、磷酸氫二鉀、磷酸二鉀、磷酸氫二鈉、琥珀酸二鈉、乾燥氫氧化鋁凝膠、乙酸鎂、鋁酸鎂、硼酸鎂、碳酸氫鎂、碳酸鎂、檸檬酸鎂、葡萄糖酸鎂、氫氧化鎂、乳酸鎂、鋁酸偏矽酸鎂、氧化鎂、鄰苯二甲酸鎂、磷酸鎂、矽酸鎂、琥珀酸鎂、酒石酸鎂、乙酸鉀、碳酸鉀、碳酸氫鉀、硼酸鉀、檸檬酸鉀、偏磷酸鉀、鄰苯二甲酸鉀、磷酸鉀、聚磷酸鉀、焦磷酸鉀、琥珀酸鉀、酒石酸鉀、乙酸鈉、碳酸氫鈉、硼酸鈉、碳酸鈉、檸檬酸鈉、葡萄糖酸鈉、磷酸氫鈉、氫氧化鈉、乳酸鈉、鄰苯二甲酸鈉、磷酸鈉、聚磷酸鈉、焦磷酸鈉、碳酸氫三鈉、琥珀酸鈉、酒石酸鈉、三聚磷酸鈉、合成水滑石、焦磷酸四鉀、焦磷酸四鈉、磷酸三鉀、磷酸三鈉及胺丁三醇(trometarnol)(部分基於The Merck Index, Merck & Co. Rahway, N.J. (2001)中所提供之清單)。此外，上文所提及之緩衝劑中任何兩者或兩者以上之組合或混合物可用於本文中所述之醫藥組成物中。必要時，一或多種緩衝劑以約0.01重量%至約5重量%或約0.01重量%至約3重量%之量存在於本發明之組成物中。

在多個具體實例中，本發明之組成物可包括一或多種黏度增加劑。說明性黏度增加劑包括（但不限於）甲基纖維素、羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素、角叉菜膠、卡波莫（carbopol）及/或其組合。通常，必要時，一或多種黏度增加劑以約 0.1 重量%至約 10 重量%或約 0.1 重量%至約 5 重量%之量存在於本發明之組成物中。

在多個具體實例中，本發明之組成物包含「感官劑（organoleptic agent）」以改良組成物之感官特性。本文中之術語「感官劑」係指可改良本發明之組成物之味道或氣味，或幫助掩蔽本發明之組成物之令人不快之味道或氣味的任何賦形劑。該等感官劑包括甜味劑、調味劑及/或味覺掩蔽劑。合適甜味劑及/或調味劑包括使醫藥組成物變甜或向醫藥組成物提供香味之任何試劑。可選感官劑通常以約 0.1 mg/ml 至約 10 mg/ml、約 0.5 mg/ml 至 5 mg/ml 或約 1 mg/ml 之量存在於本發明之組成物中。

說明性甜味劑或調味劑包括（但不限於）阿拉伯膠糖漿、大茴香腦、大茴香油、芳香醇、苯甲醛、苯甲醛醇、環糊精、葛翼、葛翼油、小豆蔻油、小豆蔻籽、小豆蔻酒精（cardamom spirit）、小豆蔻酊、櫻桃汁、櫻桃糖漿、肉桂、肉桂油、肉桂水、檸檬酸、檸檬酸糖漿、丁香油、可可、可可糖漿、芫荽油、右旋糖、毛網草、毛網草流浸膏、毛網草糖漿、芳香劑、乙酸乙酯、乙基香草醛、小茴香油、生薑、生薑流浸膏、生薑油樹脂、右旋糖、葡萄糖、糖、麥芽糊精、甘油、甘草、甘草醇、甘草浸膏、純甘草浸膏、

甘草流浸膏、甘草糖漿、蜂蜜、等醇酏劑 (iso-alcoholic elixir)、熏衣草油、檸檬油、檸檬酊、甘露糖醇、水楊酸甲酯、肉豆蔻油、苦橙酏劑、苦橙油、橙花油、橙花水、橙油、苦橙皮、甜橙皮、酊、橙皮酒精、橙皮糖漿、胡椒薄荷、胡椒薄荷油、胡椒薄荷酒精、胡椒薄荷水、苯乙醇、樹莓汁、樹莓糖漿、迷迭香油、薔薇油、濃薔薇水 (rose water stronger)、糖精、糖精鈣、糖精鈉、撒爾沙 (sarsaparilla) 糖漿、撒爾沙、山梨糖醇溶液、綠薄荷、綠薄荷油、蔗糖、三氯蔗糖 (sucralose)、糖漿、百里香油、吐魯香脂 (tolu balsam)、吐魯香脂糖漿、香草、香草酊、香草醛、野櫻桃糖漿或其組合。

說明性味覺掩蔽劑包括（但不限於）環糊精、環糊精乳液、環糊精粒子、環糊精複合物或其組合。

說明性懸浮劑包括（但不限於）山梨糖醇糖漿、甲基纖維素、葡萄糖/糖糖漿、明膠、羥乙基纖維素、羧甲基纖維素、硬脂酸鋁凝膠及氫化食用脂肪。

說明性乳化劑包括（但不限於）卵磷脂、脫水山梨糖醇單油酸酯及阿拉伯膠。非水性媒劑包括（但不限於）食用油、杏仁油、分餾椰子油、油酯、丙二醇及乙醇。

上述賦形劑可具有如此項技術中所知之多種作用。舉例而言，澱粉可用作填充劑及崩解劑。不應以任何方式將上述賦形劑之分類視作限制性的。

本發明之組成物可以包括（但不限於）以下各者之任何方式投予：經口、非經腸、舌下、經皮膚、經直腸、經

黏膜、局部、經由吸入、經由頰部投藥，或其組合。非經腸投藥包括（但不限於）靜脈內、動脈內、腹膜內、皮下、肌肉內、鞘內腔、關節內、腦池內及心室內投藥。

用於療法中所需之組成物之治療有效量隨所需活性之持續時間及待治療患者之年齡及病狀以及其他因素而變，且最終由巡診醫師確定。然而，一般而言，人治療所用之劑量通常在每天約  $0.001\text{ mg/kg}$  至約  $500\text{ mg/kg}$  之範圍內，例如每天約  $1\text{ }\mu\text{g/kg}$  至約  $1\text{ mg/kg}$  或每天約  $1\text{ }\mu\text{g/kg}$  至約  $100\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。對於大多數大型哺乳動物而言，每天總劑量為約  $1\text{ mg}$  至  $100\text{ mg}$ ，較佳約  $2\text{ mg}$  至  $80\text{ mg}$ 。可調整給藥方案以提供最佳治療反應。所需劑量可適宜地以單一劑量形式投予或以合適時間間隔以多劑量形式投予，例如以每天2次、3次、4次或4次以上之子劑量形式投予。說明而言，可向個體投予本發明之組成物以向該個體提供每公斤體重約  $1\text{ }\mu\text{g}$  至約  $1\text{ mg}$  之量的抗助孕素劑，例如每公斤體重約  $1\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $25\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $50\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $75\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $100\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $125\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $150\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $175\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $200\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $225\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $250\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $275\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $300\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $325\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $350\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $375\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $400\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $425\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $450\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $475\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $500\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $525\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $550\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $575\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $600\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $625\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $650\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $675\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $700\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $725\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $750\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $775\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $800\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $825\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $850\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $875\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $900\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $925\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $950\text{ }\mu\text{g}$ 、約  $975\text{ }\mu\text{g}$  或約  $1\text{ mg}$ 。

應例行監測經受本發明之組合物治療之患者的血清雌

激素及糖皮質激素含量。

提供下列非限制性實施例以助於理解本發明之教示。

**實施例 1.**可以錠劑形式製備本發明之調配物。

為獲得用於實施本發明之錠劑，可在壓錠機中將下列成份擠壓在一起。

10.0 mg CDB-4124

140.5 mg 乳糖

69.5 mg 玉米澱粉

2.5 mg 聚-N-乙烯基吡咯啶酮

2.0 mg aerosil

0.5 mg 硬脂酸鎂

為獲得用於實施本發明之雙層錠劑，可在壓錠機中將下列成份擠壓在一起。

20.0 mg 他莫西芬

50.0 mg CDB-4124

105.0 mg 乳糖

40.0 mg 玉米澱粉

2.5 mg 聚-N-乙烯基吡咯啶酮 25

2.0 mg aerosil

0.5 mg 硬脂酸鎂

為獲得用於實施本發明之含有抗雌激素劑之錠劑，例如，可在壓錠機中將下列成份擠壓在一起。

10.0 mg 雷洛昔芬 (Raloxifene)

30.0 mg CDB-4124

125.0 mg	乳糖
50.0 mg	玉米澱粉
2.5 mg	聚-N-乙烯基吡咯啶酮 25
2.0 mg	aerosil
0.5 mg	硬脂酸鎂

為獲得用於實施本發明之油性製劑，例如，可將下列成份混合在一起且裝載至安瓿中：

100.0 mg	CDB-4124
343.4 mg	蓖麻油
608.6 mg	苯甲酸苯甲酯

實施例 2. 本發明之化合物僅具有弱抗糖皮質激素受體結合活性。

在受體結合檢定中測試某些抗助孕素劑與家兔孕酮受體 (rbPR) 及糖皮質激素受體 (rbGR) 結合之能力。簡而言之，在 TEGMD 緩衝液 (10 mM Tris, pH 7.2、1.5 mM EDTA、0.2 mM 銅酸鈉、10% 甘油、1 mM DTT) 中製備分別來自經雌二醇預致敏之不成熟家兔之子宮或胸腺的含有 PR 或 GR 之細胞溶質。對於 PR 結合而言，用 6 nM 1,2-[<sup>3</sup>H] 孕酮 (50.0 Ci/mmol) 培養細胞溶質且以 2 nM 至 100 nM 之濃度添加競爭劑。對於與 GR 結合而言，用 6 nM 6,7-[<sup>3</sup>H]-地塞米松 (40 Ci/mmol) 培養細胞溶質且以 20 nM 至 100 nM 之濃度添加測試化合物。在 4°C 下培養隔夜後，藉由添加經葡聚糖塗覆之木炭且在 4°C 下以 2100×g 離心 15 min 來分離結合及未結合之 [<sup>3</sup>H]-類固醇。將含有 [<sup>3</sup>H]-類固醇受體複合物

之上清液傾析至含有 4 ml Optifluor ( Packard Instrument Co.) 之小瓶中，渦旋，在液體閃爍計數器中平衡 30 分鐘且接著計數，歷時 2 分鐘。藉由將計數資料輸入四參數 S 形曲線電腦程序 ( RiaSmart® 免疫檢定資料縮減程式，Packard Instrument Co., Meriden, Conn.) 來測定各標準物曲線及各化合物曲線之 EC<sub>50</sub> (有效濃度)。使用下列方程式來計算各化合物之相對結合親和力 (RBA)：標準物之 EC<sub>50</sub>/測試化合物之 EC<sub>50</sub> × 100。PR 及 GR 檢定之標準物分別為未標記之孕酮及地塞米松。此等實驗之結果以各化合物對 rbPR 受體與對 rbGR 受體之相對結合親和力之比率 (rbPR/rbGR) 形式概述於表 1 中。此差異反映化合物在具有兩種受體及必需轉錄輔因子之細胞或組織中之相對活性。

該表中亦提供藉由抗-McGinty 及抗-Clauberg 檢定所得之相同化合物在家兔子宮中之相對生物活性。因為使用 CDB-2914 之實驗結果先前已公布 (Hild-Petito 等人, 1996; Passaro 等人, 1997; Reel 等人, 1998; Larner 等人, 2000)，所以將化合物 CDB-2914 (列於表末) 用作此等實驗之對照或參照化合物 (家兔生物活性 = 1.00)。對於抗-McGinty 測試而言，不成熟雌性家兔每天接受 5 µg 雌二醇於 10% 乙醇 / 芝麻油中之皮下注射，連續 6 天。第 7 天，對動物進行無菌腹部手術以結紮兩個子宮角之 3-4 cm 區段。將於合適溶劑中之測試化合物管腔內注射至一個子宮角之經結紮區段中且將媒劑單獨注射至另一個子宮角之經結紮區段中。每天向各家兔皮下投予刺激劑量之孕酮 (267 微克/天)，歷時

後續 3 天以誘導子宮內膜增殖。第十天，處死所有動物以移出子宮，其中移出結紮線中央之區段且將其固定於 10% 中性經緩衝之福爾馬林中且提交供組織學加工。用顯微鏡評價經蘇木精及曙紅 (eosin) 染色之 5 微米切片的子宮內膜腺增殖程度。計算各家兔之子宮內膜增殖之抑制百分比且記錄具有 5 隻動物之組的平均值。對於抗-Clauberg 測試而言，使不成熟雌性家兔每天接受 5  $\mu\text{g}$  雌二醇於 10% 乙醇/芝麻油中之皮下注射，連續 6 天。第 7 天，藉由皮下注射使動物接受孕酮 (160 微克/天) 且經口或皮下接受於合適媒劑中之實驗化合物，連續 5 天。一組家兔僅接受孕酮。最後一次給藥後第 24 小時，處死所有動物以移出子宮，清除所有脂肪及結締組織，稱重以最接近 0.2 mg 且置放於 10% 中性經緩衝之福爾馬林中供後續組織學加工。用顯微鏡評價經蘇木精及伊紅染色之 5 微米切片的子宮內膜腺增殖程度。藉由與單獨經孕酮刺激之動物相比來推導各劑量水準之測試化合物對子宮內膜增殖之抑制百分比。表 1 中所呈現之資料 (家兔生物活性) 反映藉由抗 McGinty 及抗 Clauberg 檢定所獲得之各化合物相對於 CDB-2914 之結果之平均值。

如表 1 中所列，基於各化合物對家兔 PR 相對於家兔 GR 之選擇性來將所測試之抗助孕素劑分級。亦基於在家兔子宮中之生物活性來將抗助孕素劑分級。表 1 中所呈現之資料展示先導化合物對孕酮受體之親和力比其對糖皮質激素受體之親和力大至少 1.5 倍。

此等研究之結果亦展示與 RU 486 及 CDB-2914 相比兩種先導化合物 CDB-4124 及 CDB-4059 在家兔子宮中具有強抗助孕素活性。兩種化合物均缺乏雌激素、雄激素、抗雌激素及抗雄激素活性。兩種化合物均具有最小之抗糖皮質激素受體活性，此為將其與 RU 486 及 CDB-2914 區分之特徵，RU 486 及 CDB-2914 具有中等之糖皮質激素受體結合活性。在此等檢定中，CDB-4124 之表現略優於 CDB-4059。

表 1：抗助孕素劑之受體結合及生物活性

抗助孕素劑	rbPR/rbGR	家兔生物活性	抗助孕素劑	rbPR/rbGR	家兔生物活性
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	未提供
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	未提供
4206	1.44	0.68	2914	1.07	1.00

### 實施例 3.腫瘤誘導及腫瘤出現之潛伏期

為誘導乳房腫瘤，向年齡為 50 天之史泊格多利 (Sprague-Dawley) 雌性大鼠給予每公斤體重 10 mg DMBA。一組 14 隻年齡為 50 天之大鼠（組 2）接受芝麻油

以替代 DMBA，用作無 DMBA 對照。每週給動物稱重且沿乳線觸摸檢查任何病變或腫脹症候。注意腫瘤結節且每週用測徑規在二個維度中進行量測。當腫瘤在任何維度中長至 10-12 mm 之尺寸時，將個別動物隨機分至 14 組中之一者中。腫瘤早在經口管飼後第 39 天出現且晚至第 194 天出現（後一種個體不納入研究）。腫瘤出現之平均潛伏期為  $106 \pm 30$  天。接受 DMBA 之組之間潛伏期不存在差異 ( $p=0.545$ ，克魯斯凱-沃利斯測試 (Kruskal-Wallis test))。

按上述時程將動物處理 28 天。組 1 每天接受媒劑之皮下 (s.c.) 注射 (於芝麻油中之 10% 乙醇)。組 2 (無 DMBA 對照組-預期無腫瘤) 經 3 個月之時段按預先決定之時程接受媒劑以模擬處理開始。組 3 及 4 分別每天接受每公斤體重 10 mg 之 RU 486 或微米尺寸化孕酮之 s.c. 注射。組 5 至 9 分別接受 20 mg/kg、10 mg/kg、2 mg/kg、1 mg/kg 及 0.1 mg/kg 之 CDB-4124。除亦將 10 mg/kg 微米尺寸化孕酮作為組份添加至注射用組成物中以外，組 10 至組 14 重複給予組 5 至 9 之處理。

分三次來評定動物之孕酮含量：最初在其將要進行處理時；第二次在處理 21 天後；且最終在處理後處死時，其為最後次 s.c. 注射後第 2-4 天。所有血液樣品皆係藉由心臟穿刺獲得；製備血清且在  $-40^{\circ}\text{C}$  下保持冷凍。藉由 ELISA 測定類固醇激素孕酮、皮質醇及皮質固酮之含量。

使用 Statgraphics Plus 進行分析。若組平均值均勻分布則藉由 ANOVA 測定各組間之差異。否則，使用克魯斯凱-

沃利斯測試。若各組滿足既非峰態亦非偏態之標準，則使用司徒頓 t-測試 (Student's t-test) 來評價平均值之差異。否則，使用非參數曼恩 - 惠特尼 - 威爾卡遜測試 (Mann-Whitney-Wilcoxon test)。若連續評定相同大鼠，則使用成對 t-測試。若可將資料置放於各組中以作比較，則使用費雪精確測試 (Fisher's exact test)。

#### 實施例 5. 尸體剖檢時之腫瘤數目及腫瘤類型

在 28 天處理時段結束後第 3-5 天將動物處死，放血，且移出腫瘤，稱重，量測，檢查且將部分冷凍且/或置放於 10% 磷酸鹽緩衝之福爾馬林中以供組織病理學用。切割組織樣品且用蘇木精及伊紅染色且評價組織病理學分類。組織學上，鑑別出 4 種腫瘤類型 (表 2)：腺癌 (ACA)、乳突癌 (PCA)、纖維肉瘤及纖維腺瘤或腺纖維瘤 (FA 或 AF)，後兩種腫瘤類型並不視為代表明顯惡性疾病。假定最大 (「主導」) 腫瘤可伴隨有一或多個較小之未達到最小尺寸之腫瘤，則處理開始之最小腫瘤數目  $\geq 1$ 。表 2 概述此等實驗之結果。在處死時，單獨經媒劑處理之大鼠之 ACA 加 PCA 之數目 (multiplicity) 為每隻大鼠 2.7 個腫瘤 (因為腫瘤可為混合類型，所以 ACA+PCA 行並非總是每隻大鼠之 ACA 行與每隻大鼠之 PCA 行之相加)。

如表 2 中所報導，組 2 (未給予致癌物 DMBA) 不具有腫瘤。單獨經 DMBA 處理之大鼠具有每隻大鼠 2.67 個腫瘤之平均值。添加孕酮使每隻大鼠之平均腫瘤數目增加至接近 5。經 CDB-4124 處理對減少腫瘤數目具有主要作用。最

有效之最高 4 個處理組（亦即 20 毫克/公斤/天、10 毫克/公斤/天、2 毫克/公斤/天、1 毫克/公斤/天）之平均腫瘤數為每隻大鼠 1.58 個腫瘤。因為各動物係基於發現一個具有給定尺寸之腫瘤而隨機入組以作處理，所以此腫瘤數目之減少表明 CDB-4124 不僅減少此等動物中之現有腫瘤生長且亦預防新腫瘤出現。

表 2-處理對腫瘤類型及腫瘤數目之作用

組	處理 <sup>a</sup>	腫瘤發生率 (%)	每隻大鼠 之 ACA	每隻大鼠 之 PCA	FA/AF 數目	每隻大鼠之 ACA+PCA
1	對照（媒劑）	12/13 (92)	1.17	1	3	2.67
2	無 DMBA 對照（媒劑）	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	孕酮(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：腺癌；PCA：乳突癌；FA：纖維腺瘤；AF：腺纖維瘤；DMBA：7,12-二甲基苯并(*a*)蒽；<sup>a</sup> 出現第一個腫瘤後處理 28 天；<sup>b</sup> 以每公斤體重 10 mg 處理

#### 實施例 6. 抗助孕素劑對腫瘤進程之作用

為評價 CDB-4124、RU486 及孕酮對腫瘤發展及進程之作用，在處理時段期間監測生長動力學及腫瘤尺寸。每週

用測徑規在 2 個維度中量測研究中具有腫瘤之動物之個別腫瘤。此等實驗之結果概述於圖 1 中。資料經校正不包括非惡性之 FA/AF 腫瘤類型。將經 28 天檢查時段橫截面面積增加至少 33% 之腫瘤視作生長（圖 1 黑色方塊）。將橫截面面積減少約 33% 之彼等腫瘤視作退化（圖 1，白色方塊）。其他腫瘤視作靜止（圖 1，灰色方塊）。如圖 1 中所示，孕酮處理使生長乳房腫瘤數目增加。

儘管給予孕酮之組中退化腫瘤之比例（8%）在統計學上與對照相同，但生長腫瘤之比例（80%）顯著較高 ( $p<0.004$ ，費雪精確測試)。與對照相比，用 RU 486 處理使得退化腫瘤之比例顯著增加，儘管此結果在統計學上不顯著。

不同於孕酮，用每公斤體重 10 mg CDB-4124 處理減少生長腫瘤之比例 ( $p<0.013$ ) 且增加退化腫瘤之比例 ( $p<0.003$ )。結果展示用 CDB-4124 處理後 70% 之腫瘤退化。存在顯著劑量依賴性且僅最低劑量之 CDB-4124 為無效的。當用額外之孕酮以 5 倍或更高之比率處理動物時，消除 CDB-4124 之作用。以較低比率給予之孕酮不能超越 CDB-4124 之作用。就生長速率而言，10 mg/kg 劑量之 CDB-4124 比 20 mg/kg 更有效，由此暗示在高劑量下，CDB-4124 可具有一定程度的孕酮促效劑活性，儘管 20 mg/kg CDB-4124 對腫瘤生長之作用不接近孕酮對腫瘤生長之作用 ( $p=0.0008$ ，費雪精確測試，雙尾)。然而，20 mg/kg 劑量（但不為較低劑量）亦顯著增加循環孕酮含量且該等

作用為劑量依賴性的。因此，CDB-4124 能夠抑制 DMBA 誘導之大鼠乳腺腫瘤生長且此抑制包括乳腺腫瘤尺寸及數目減小。孕酮自身展示具有增殖性及腫瘤增強性，由此說明在患有已確定或初發乳腺腫瘤之動物中抑制孕酮之重要性。CDB-4059 之結果類似於上文關於 CDB-4124 所揭示之彼等結果。因此，CDB-4059 之腫瘤抑制活性類似於 CDB-4124 之腫瘤抑制活性且兩種化合物均具有比 RU 486 更強之腫瘤抑制活性。當 CDB-4124 單獨以中等濃度給予或超過孕酮時，其起主要作用且促進腫瘤退化。相反，當孕酮單獨給予或超過 CDB-4124 時，孕酮之作用為增強生長。

#### 實施例 7. 尸體剖檢時之腫瘤數目、腫瘤尺寸及腫瘤負荷

表 3 展示孕酮、RU486 及 CDB-4124 對每隻動物之中值腫瘤尺寸及平均總腫瘤重量（腫瘤負荷）之作用。表 3 中之結果為關於 ACA、PCA 及混合 ACA/PCA 之彼等結果，但不包括 FA 或 AF 腫瘤。

表 3：處理對腫瘤數目、尺寸及腫瘤負荷之作用

組	處理 <sup>a</sup>	腫瘤數目	腫瘤負荷 公克/大鼠	腫瘤 平均值(g)	重量 中值(g)	MWW 測試 <sup>b</sup>
1	對照(媒劑)	32	4.7	1.91	0.8	
2	無 DMBA 對照(媒劑)	0	0	0	0	
3	RU486 (10 mg) <sup>c</sup>	27	2.47	1.19	0.16	p=0.012
4	孕酮(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：7,12-二甲基苯并(*a*)蒽；<sup>a</sup> 出現第一個腫瘤後處理 28 天；<sup>b</sup> 與對照中值腫瘤重量比較；<sup>c</sup> 以每公斤體重 10 mg 處理

孕酮明顯增加腫瘤負荷及腫瘤中值尺寸。然而，該等值與對照之彼等值相比在統計學上不顯著 ( $p>0.4$ ，曼恩-惠特尼-威爾卡遜測試)。孕酮資料與抗助孕素劑之彼等資料形成鮮明對比。RU486 及 CDB-4124 降低腫瘤負荷及中值腫瘤尺寸，在 RU486 之狀況下，降低 5 倍 ( $p<0.01$ ) 且在 CDB-4124 之狀況下，降低 10 倍 ( $p<0.001$ )。在其他組中腫瘤負荷及腫瘤尺寸之減少與 CDB-4124 在 10 mg/kg、2 mg/kg 及 1 mg/kg 下對腫瘤尺寸之影響相一致。CDB-4124 在最低處理量下無效且最高劑量之 CDB-4124 (20 mg/kg) 不如 10 mg/kg 劑量般有效。應注意某些腫瘤完全退化且不再可觸

知。在處理期間相繼出現之 11 個此類型腫瘤中，吾人在屍體剖檢時發現充有出血性物質之囊性結構，暗示退化。此等結構僅見於經 RU486 處理之組 ( $n=2$ )、經 20 mg/kg、10 mg/kg、2 mg/kg 或 1 mg/kg 之 CDB-4124 處理之彼等組 ( $n=7$ ) 或經 20 mg/kg CDB-4124 加上 10 mg/kg 孕酮處理之彼等組 ( $n=2$ ) 中。因為不可對其進行組織學評價，所以不可證實其特性。儘管如此，此等結果暗示抗助孕素劑可使腫瘤完全退化。

#### 實施例 8. 研究期間之動物體重

將對照動物之體重與接受激素治療之彼等動物之體重比較以更好地評定尤其歸因於 CDB-4124 之毒性。在 27 週研究時段期間每週給動物稱重。在實驗結束時，發現經處理之動物之體重與對照動物之體重不具有顯著差異，指示即便在高劑量水準下 CDB-4124 仍不具毒性。

#### 實施例 9. 腫瘤增殖及細胞凋亡

為了評定助孕素及抗助孕素劑對細胞增殖之作用，藉由使用 Ki-67 抗體 (NeoMarkers, Fremont, CA) 來量測增殖標記 Ki-67 之表現及免疫組織化學來檢查源自經處理及對照動物之 46 個個別大鼠腫瘤的組織切片。儘管組 3 及組 6 中之許多腫瘤在組 3 及組 6 中之處理後尺寸減少使得其太小以致不能再切割，但仍將來自組 1、3、4、6 及 11 之 7-12 個 ACA 再切割。增殖實驗之結果概述於表 4 中，其中增殖係按表現 Ki-67 之細胞之百分比量測：

表 4：藉由 Ki-67 之增殖腫瘤細胞

<u>組</u>	<u>處理</u>	<u>%陽性細胞</u>	<u>與對照比較 (t-測試)</u>	<u>n</u>
1	對照腫瘤	13.5±7.8		12
3	RU 486 (10 mg/kg)	12.9±7.0	p=0.85	10
4	P4 (孕酮) (10 mg/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>對照、RU486、4124+P4>4124] 藉由多範圍測試之事後分析	

與對照及經 CDB-4124 處理之動物相比，孕酮增加增殖細胞之百分比。孕酮產生最高比例之細胞增殖且其生長超過對照組、RU486 組或 CDB-4124 加孕酮組中所見之生長。單獨用 CDB-4124 處理產生低於任何其他處理之 Ki-67-陽性細胞比例且該比例低於對照中所見之比例。與來自經 RU 486 處理之大鼠的組織樣品相比，來自經 CDB-4124 處理之大鼠的組織樣品展現較少增殖（較少 Ki-67-陽性細胞）( $p=0.021$ , t-測試)。因此，CDB-4124 在防止乳房組織增殖方面比 RU 486 更有效( $p=0.011$ , 單尾 t-測試)。CDB-4124 之作用亦不同於 CDB-4124+P4 ( $p=0.048$ , t-測試)。此外，與單獨用 P4 處理相比，用 CDB-4124 加 P4 處理產生較少增殖細胞 ( $p=0.030$ , t-測試)。各組中之增殖按下列順序遞減：孕酮（最多增殖）>對照=RU486=CDB-4124+孕酮>單獨 CDB-4124。因此，即便在所添加之等量孕酮存在下，CDB-4124 亦使增殖細胞減少。

藉由細胞凋亡雜交套組 (Oncor, Gaithersburg, MD) 來評價相同腫瘤中之細胞凋亡。評價腫瘤周邊及遠離壞死之

區域中處於細胞凋亡狀態之細胞。每個腫瘤切片評價至少 1,000 個細胞。如表 5 中所示，相對於未經處理之對照動物之結果，處理組之間存在明顯差異：

表 5：細胞凋亡（處於漸進式細胞死亡狀態之腫瘤細胞 %）

<u>組</u>	<u>處理</u>	<u>%陽性細胞</u>	<u>與對照比較 (t-測試)</u>
1	對照腫瘤	0.81±0.31	
3	RU 486 (10 mg/kg)	3.34±2.57	p=0.003
4	P4 (孕酮) (10 mg/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> 對照、 P4 ; RU486 、 4124+P4>4124、對照] 藉由多範圍測試之事後分析

藉由多範圍測試之事後分析指示與對照或經孕酮處理之動物相比，CDB-4124 加孕酮誘導較高細胞凋亡。此外，與在對照腫瘤中所觀測到之細胞凋亡性細胞死亡相比，RU486、CDB-4124 及 CDB-4124 加孕酮誘導較高細胞凋亡性細胞死亡。用 CDB-4124 處理之作用不同於 RU486 之作用 ( $p=0.73$ ，t-測試)。類似地，CDB-4124 之作用與 CDB-4124+P4 之作用相同 ( $p=0.98$ ，t-測試)。此等結果暗示在大致等量之孕酮存在下，腫瘤回應於抗助孕素劑 CDB4124 以細胞凋亡。相反，與 P4 相比，CDB-4124 引起增加之細胞凋亡 ( $p=0.020$ ，t-測試)。CDB-4124 與孕酮之間不存在明顯協同作用。CDB-4124 減少增殖之能力似乎對於 CDB-4124 之腫瘤抑制劑活性而言係重要的，因為

CDB-4124 與 RU 486 之間的主要差異之一為與 RU 486 相比，CDB-4124 更有效地降低增殖。干擾或抑制孕酮之強增殖性作用為 CDB-4124 可降低增殖之似乎合理之機制。

#### 實施例 10.腫瘤組織中雌激素受體及孕酮受體（ER 及 PR）之表現

亦藉由免疫組織化學（IHC）來評定作增殖及細胞凋亡評價之腫瘤的雌激素受體及孕酮受體之表現。測定及分析 ER 及 PR 陽性之細胞的百分比。將腫瘤分成 4 個不同類別：具有 0% 之表現 ER 之細胞的腫瘤、具有 10% 之表現 ER 之細胞的腫瘤、具有 15% 至 30% 之表現 ER 之細胞的腫瘤及具有 30%-50% 之表現 ER 之細胞的腫瘤。一般而言，未處理之腫瘤一致地表現 ER。在所分析之 12 個腫瘤中，所有 12 個腫瘤皆表現 ER。此等 12 個腫瘤中有 4 者含有 30%-50% 之 ER 陽性細胞。與未經處理之對照腫瘤對比，所分析之經 CDB-4124 處理之 7 個腫瘤中有 3 者不含有表現 ER 之細胞，無一者含有 30%-50% 之表現 ER 之細胞且僅有一個樣品含有 15%-30% 之 ER 陽性細胞。因此，用 RU 486 或 CDB-4124 處理減少表現 ER 之細胞數目。

與來自經 CDB-4124 或 RU 486 處理之動物之樣品相比，用孕酮處理使得表現 ER 之細胞數目增加。CDB-4124 與孕酮之組合趨於產生與單獨 CDB-4124 處理之模式更為類似的模式。此結果與以下觀測相一致：10 mg/kg CDB-4124+10 mg/kg 孕酮之組合具有包括減少腫瘤數目、抑制腫瘤生長及減輕腫瘤重量之腫瘤抑制作用。一般而言，

用抗助孕素劑長期處理趨於降低腫瘤中之 ER 含量，而孕酮趨於向相反方向作用。

#### 實施例 11. 腫瘤中孕酮受體 (PR) 之表現

未處理之腫瘤一致地表現 PR (12/12 個腫瘤)。一般而言，未經處理之腫瘤表現兩種受體 ER 及 PR，因此可能許多惡性腫瘤為此兩個轉錄因子之表現者。RU 486 處理對 PR 似乎無作用且 CDB-4124 降低 PR 表現量。有趣的是，在三個腫瘤中，RU 486 引起 ER 衰失但保持低 PR 陽性量。孕酮趨於升高 PR 表現。CDB-4124 與孕酮之組合趨於產生與單獨 CDB-4124 之模式更為類似的模式；其又與 10 mg/kg CDB-4124+10 mg/kg 孕酮之組合對腫瘤數目、生長模式及腫瘤重量之作用相一致。一般而言，用 CDB-4124 長期處理趨於降低腫瘤中之 PR 含量，而孕酮趨於向相反方向作用。因此，在孕酮存在下，腫瘤保持孕酮反應性。

#### 實施例 12. 測試抗助孕素劑對血清激素含量之作用。

在研究期間分三次測定類固醇激素之濃度：開始處理之前、處理 21 天後及最後在處理後處死時（其為最後一次 s.c. 注射後第 2-4 天）。所有樣品皆係藉由心臟穿刺獲得。獲得血清且在 -40°C 下保持冷凍。藉由 ELISA 測定類固醇激素含量。

表 6 中給出大鼠中之孕酮量測結果：

表 6：處理對血清孕酮之作用

組	處理 (TX)	血清孕酮 (ng/ml)			
		處理前	處理期間	處理後	
1	對照 媒劑	平均值 sd	53 37	42 15	46 27
2	無 DMBA 媒劑	平均值 sd	47 18	50 25	45 18
3	RU 486 10 mg/kg	平均值 sd	58 19	72* 30	52 20
4	孕酮 (P4) 10 mg/kg	平均值 sd	51 18	55 21	54 11
5	4124 20 mg/kg	平均值 sd	61 24	96* 27	58 11
6	4124 10 mg/kg	平均值 sd	52 28	77* 21	43 33
7	4124 2 mg/kg	平均值 sd	59 22	74* 16	56 19
8	4124 1 mg/kg	平均值 sd	64 24	47 21	42 30
9	4124 0.1 mg/kg	平均值 sd	54 20	53 25	53 28
10	4124+P4 20+10	平均值 sd	43 16	80= 21	66 32
11	4124+P4 10+10	平均值 sd	52 18	74= 12	55 14
12	4124+P4 2+10	平均值 sd	46 24	64 15	55 14
13	4124+P4 1+10	平均值 sd	58 20	70 19	40 18
14	4124+P4 0.1+10	平均值 sd	55 17	57 16	41 18
15	4059 10 mg/kg	平均值 sd	57 16	58 25	47 24

\* 化合物與對照（組 1）相比  $p < 0.05$  ; =，化合物與 P4 (組 4) 相比  $p < 0.05$

各組間之血清孕酮含量在處理前 ( $p = 0.49$ , ANOVA) 或處理後 ( $p = 0.35$ , ANOVA) 不存在差異，但在處理之情況下發現顯著變化 ( $p = 0.000$ , ANOVA)。與對照相比，多

種方案升高孕酮，尤其在接受最高量之 RU486 及 CDB-4124 之彼等組中（表 6）。處理 21 天之組之間所出現之顯著差異 ( $p=7 \times 10^{-6}$ ，克魯斯凱-沃利斯測試) 對於以下各組為特定的：RU 486、3 個最高劑量之 CDB-4124 及最高 2 個劑量之 CDB-4124 加孕酮。CDB-4059 在所測試之 10 mg/kg 劑量下不使血清孕酮含量升高而超過處理前所見之血清孕酮含量。當停止處理時，除接受 20 mg/kg CDB-4124 加孕酮之組（其未能展示血清孕酮下降 ( $p=0.004$ ，配對 t-測試，單尾)）以外，所有組之血清孕酮皆回復至第 0 天之含量。單獨孕酮不能升高其自身之血清濃度令人困惑但可歸因於高外源性孕酮抑制內源性產生之事實。外源性孕酮亦可在 s.c. 注射與 20-24 小時後所進行之抽血之間代謝。10 mg/kg 濃度之 CDB-4059 缺乏對女性內源性孕酮含量之作用可提供優於彼濃度之 CDB-4124 之優點。

#### · 實施例 13. 量測皮質醇

若干不同實驗系統支持以下結論：RU 486 增加皮質醇，因為 RU 486 在人類及靈長類動物中具有強抗糖皮質激素特性。

然而，經 10 mg/kg 之 RU 486 處理之大鼠未展示皮質醇含量之顯著差異。相反，與對照組之大鼠相比，經相同劑量水準之 CDB-4124 或 CDB-4059 處理之大鼠具有顯著較高之血清皮質醇含量。

此等較高含量在 3  $\mu\text{g}/\text{dl}$ -4  $\mu\text{g}/\text{dl}$  (30 ng/ml-40 ng/ml) 之範圍內。該等作用為劑量依賴性的，因為 CDB-4124 劑量

增加使得皮質醇增加。

RU 486 相較於 CDB-4124 或 CDB-4059 對皮質醇含量之此作用差異可藉由假定下列事實來解釋：在長期給藥 21 天後，與兩種 CDB 化合物中之任一者相比，大鼠肝臟能夠更好地代謝 RU 486。

#### 實施例 14. 量測皮質固酮

皮質固酮為大鼠中含量最高之糖皮質激素。SPRM 對皮質醇之作用可能繼發於對皮質固酮之強作用。為更好地研究此現象，量測展示最強之皮質醇含量變化之組（諸如經 20 mg/kg 或 10 mg/kg CDB-4124 處理之組）中的皮質固酮含量。出於比較之目的，亦檢定下列各組：接受 20 mg/kg CDB-4124 加 10 mg/kg 孕酮之組、接受 10 mg/kg CDB-4124 加 10 mg/kg 孕酮之組、接受 10 mg/kg RU 486 之組、單獨接受 10 mg/kg 孕酮之組、對照組及未接受 DMBA 且不具有腫瘤之組。皮質固酮含量比皮質醇含量高 10-40 倍。然而，就平均皮質固酮含量而言，在各組之間幾乎未觀測到差異。在處理前 ( $p=0.43$ ，克魯斯凱-沃利斯測試)、處理 21 天後 ( $p=0.57$ ，克魯斯凱-沃利斯測試) 或處理 28 天後及處死時 ( $p=0.061$ ，克魯斯凱-沃利斯測試) 8 個組之間不存在差異。第 21 天 ( $p=0.94$ ， $t$ -測試，雙尾) 或處死時 ( $p=0.37$ ， $t$ -測試，雙尾) 具有腫瘤之動物之皮質固酮含量與不具有腫瘤之動物之皮質固酮含量之間不存在統計學差異。

為量測外源性孕酮對血清皮質固酮之作用，比較 3 個成對組（其區別在於是否接受外源性孕酮）中之皮質固酮

含量(例如，對照與孕酮或 20 mg/kg CDB-4124 與 20 mg/kg CDB-4124 加孕酮，或 10 mg/kg CDB-4124 與 10 mg/kg CDB-4124 加孕酮之比較)。偵測到統計學上顯著之差異：在處理 21 天後，經孕酮處理之動物中之皮質固酮含量降低( $p=0.029$ ，曼恩-惠特尼-威爾卡遜測試，雙尾)。在處死時所採集之血清中未驗證此作用。在孕酮與 CDB-4124 組之間、孕酮與 RU-486 組之間或 RU-486 組與 CDB-4124 組之間未發現血清皮質固酮差異。

亦檢測各組中血清皮質醇與血清皮質固酮之間的關係。對於 20 mg/kg CDB-4124( $r^2=0.78$ )、10 mg/kg CDB-4124 ( $r^2=0.82$ ) 及 RU 486 ( $r^2=0.85$ ) 而言，血清皮質醇與血清皮質固酮之間存在強正線性相關。向前兩個 CDB-4124 組中添加孕酮使得該關係較弱(分別，對於組 10， $r^2=0.34$  且對於組 11， $r^2=0.37$ )。孕酮自身不展示該種正相關關係( $r^2=-1.0$ )。對照組不展示該兩種糖皮質激素之間的關係( $r^2=0.064$ )。因此，接受 CDB-4124 之組中之皮質醇含量增加與皮質固酮含量有關，此可能係由於自皮質固酮之轉化以某種方式增強。此結果與上文所見之 CDB-4124 作用相一致：對負責孕酮及皮質醇含量之代謝酶之作用。

儘管未發現 CDB-4124 對大鼠之主要糖皮質激素的強作用，然而，出於安全原因，在 I 期臨床試驗中，應監測接受 CDB-4124 或 CDB-4059 之患者可能出現之抗糖皮質激素作用，包括血清皮質醇、皮質固酮或 ACTH 可能增加。

實施例 15. 測試 SPRM 在他莫西芬抵抗性乳癌細胞中之

## 抗增殖作用

使用兩種細胞株：MCF-7（對抗雌激素劑他莫西芬敏感之細胞株）及 LY-2（抵抗他莫西芬之 MCF-7 變異體）。在 96 孔微量滴定板中量測增殖。將  $5 \times 10^3$  個細胞添加至各孔中。用 Perkin Elmer Cetus PRO/PETTE 將培養基及藥物溶液添加至孔中。培養基為補充有 5% 胎牛血清之 IMEM。自 0.078  $\mu\text{M}$  至 10  $\mu\text{M}$ ，測試 8 個藥物濃度，一式兩份。樣品包括單獨他莫西芬、本說明書之每一種化合物與他莫西芬之組合。

培養 4 天後，用含有藥物之新鮮培養基更換培養基，且總共 7 天後，用三氯乙酸固定細胞單層且用碘醯若丹明（sulforhodamine）染料染色。用 Titertek Multiscan 板讀取器量測所萃取之染料溶液之吸光度（492 nm）。繪製劑量反應曲線（佔對照吸光度之百分比對藥物濃度）以估算  $\text{IC}_{50}$  值， $\text{IC}_{50}$  值係定義為抑制 50% 增殖之藥物濃度（微莫耳）。 $\text{IC}_{50}$  值與所測試之藥物抑制細胞增殖之效能有關，且因此提供鑑別適於防止他莫西芬抵抗性乳癌細胞過度增殖之化合物所需之資訊。

### 實施例 16. CDB-4124 及芳香酶抑制劑 DL-氨基米特在過度表現芳香酶之 T47D 乳癌細胞中之抗增殖作用

芳香酶抑制已成為對類固醇受體陽性乳癌患者之一線治療。由於已知乳癌細胞表現極少之芳香酶活性，所以難於在試管內測定芳香酶抑制劑之功效。因此，藉由將來自人胎盤 cDNA 之芳香酶基因（hCYP19A1）選殖至哺乳動物

表現載體 pcDNA3.1 中且穩定轉染 T47D 乳癌細胞來建構過度表現芳香酶之 T47D 細胞株，保留空載體作為對照。攜帶 hCYP19A1 之重組 pcDNA3.1 之序列資料展示與 hCYP19A1 ORF 區之 100% Blast 匹配 (hit)。針對芳香酶活性蛋白之過度表現來篩選及選擇經芳香酶轉染之細胞。藉由 RT-PCR、西方墨點法、雌酮 ELISA 及細胞增殖檢定來證實單細胞純系 (T47D<sub>arom</sub>) 之芳香酶表現。RT-PCR 展示 T47D<sub>arom</sub> 中之芳香酶 mRNA 表現比親本 T47D 細胞中之芳香酶 mRNA 表現高約 32 倍，顯示在存在或不存在睪固酮誘導之情況下的高芳香酶 mRNA 表現。藉由西方墨點分析使用小鼠單株抗芳香酶抗體來證實 58 kD 芳香酶蛋白之表現。在 T47D 對照細胞中未偵測到芳香酶表現。藉由雌酮 ELISA 套組證實 T47D<sub>arom</sub> 細胞中之高芳香酶活性。簡而言之，與 T47D 對照細胞相比，在用 10 nM 雄固烯二酮處理 24 小時之時段的情況下偵測到高雌酮含量。雌酮 ELISA 展示與 T47D 對照細胞相比，T47D<sub>arom</sub> 細胞在 450 nM 下之吸收度較小。

將 T47D<sub>arom</sub> 細胞以 10,000 個細胞/孔塗於 24 孔板中，培養 2 天，接著在正常培養 (10% 經炭吸附 (charcoal strip) 之 FBS/無苯酚 MEM 培養基) 條件下用濃度為 1 μM、2 μM、3 μM、4 μM 及 5 μM 之 CDB-4124 處理 4 天之時段。未經處理之細胞用作對照。使用結晶紫檢定來量測細胞增殖。此檢定中之染料結晶紫將 DNA 染色。溶解後，可在分光光度計中對由細胞吸收之染料量進行定量。用 CDB-4124 處理以劑量依賴性方式抑制 T47D<sub>arom</sub> 細胞增殖。參見圖 2。

接著將 T47D<sub>arom</sub> 細胞以 10,000 個細胞/孔塗於 24 孔板中且在培養 2 天後，在 1 nM 雄固酮存在下在正常培養下用 50 μM、75 μM、100 μM 或 150 μM 之 DL-氨基魯米特 (AGM) 處理 4 天之時段且量測對細胞增殖之作用。結果提供於圖 3 中。

接著將 T47D<sub>arom</sub> 細胞以 10,000 個細胞/孔塗於 24 孔板中，且在培養 2 天後，在 1 nM 雄固酮存在下，在正常培養條件下，用以下各者處理 4 天之時段：(1) 100 μM DL-氨基魯米特 (AGM) +1 μM CDB-4124；(2) 100 μM DL-氨基魯米特 (AGM) +2 μM CDB-4124；(3) 100 μM DL-氨基魯米特 (AGM) +3 μM CDB-4124；或 (4) 100 μM DL-氨基魯米特 (AGM) +4 μM CDB-4124，且量測對細胞增殖之作用。結果展示於圖 4 中。在用 AGM 與 CDB-4124 之組合處理期間，對細胞增殖之抑制為劑量依賴性的。驚人地，觀測到 AGM 與 CDB-4124 之組合在抑制表現芳香酶之乳癌細胞增殖方面之協同作用。參見圖 4，其表明與在單獨 4 μM CDB-4124 及 100 μM AGM 之情況下所觀測到之小於 30% 之抑制相比，在 4 μM CDB-4124 與 100 μM AGM 之組合情況下觀測到接近 70% 之細胞增殖抑制。換言之，在用 AGM 與 CDB-4124 之組合處理期間所觀測到之細胞增殖抑制大於基於單獨 AGM 或 CDB-4124 情況下所觀測到之抑制所預期之細胞增殖抑制。

此等結果表明高劑量之 CDB-4124 與芳香酶抑制一起提供在乳癌治療中協同增強之化學治療作用之指示。當將

CDB-4124 與其他芳香酶抑制劑組合時，將預期對細胞增殖之類似協同作用。

### 【圖式簡單說明】

圖 1 為描述在不作處理 (C=對照)、用 10 mg RU-486 (RU) 處理、用 10 mg 孕酮 (P4) 處理、用 20 mg、10 mg、2 mg、1 mg、0.1 mg CDB-4124 (4124) 處理及用相同濃度之 CDB-4124+10 mg 孕酮 (4124+P4) 處理之情況下之大鼠腫瘤生長模式的圖表。將經 28 天檢查時段橫截面面積增加至少 33% 之腫瘤視作生長 (黑色方框)。將經相同時段橫截面面積減少 33% 之彼等腫瘤視作退化 (白色方塊)。其他腫瘤視作靜止 (灰色方塊)。展示顯示腫瘤之各處理組之各生長模式類型之百分比。

圖 2 為描述濃度為 1  $\mu\text{M}$ 、2  $\mu\text{M}$ 、3  $\mu\text{M}$ 、4  $\mu\text{M}$  及 5  $\mu\text{M}$  之 CDB-4124 (Proellex) 對經工程化以表現高芳香酶含量之 T47D (人乳癌) 細胞 ( $\text{T47D}_{\text{arom}}$  細胞) 之作用的圖表。未經處理之細胞用作對照。該圖表表明以 CDB-4124 之處理以劑量依賴性方式抑制  $\text{T47D}_{\text{arom}}$  細胞增殖。

圖 3 為描述在 1 nM 睾固酮存在下 50  $\mu\text{M}$ 、75  $\mu\text{M}$ 、100  $\mu\text{M}$  或 150  $\mu\text{M}$  之 DL-氨基魯米特 (AGM) 對睅固酮誘導之過度表現芳香酶之  $\text{T47D}_{\text{arom}}$  細胞增殖之作用的圖表。

圖 4 為描述在 1 nM 睾固酮存在下，以下各組合對睅固酮誘導之過度表現芳香酶之  $\text{T47D}_{\text{arom}}$  細胞之作用的圖表：

- (1) 100  $\mu\text{M}$  DL-氨基魯米特 (AGM) + 1  $\mu\text{M}$  CDB-4124

( Proellex ) ; ( 2 ) 100  $\mu\text{M}$  DL-氨基魯米特 ( AGM ) +2  $\mu\text{M}$  CDB-4124 ; ( 3 ) 100  $\mu\text{M}$  DL-氨基魯米特 ( AGM ) +3  $\mu\text{M}$  CDB-4124 ; 或 ( 4 ) 100  $\mu\text{M}$  DL-氨基魯米特 ( AGM ) +4  $\mu\text{M}$  CDB-4124。該圖表表明 AGM 與 CDB-4124 之組合在抑制表現芳香酶之乳癌細胞增殖方面之協同作用。與在單獨 4  $\mu\text{M}$  CDB-4124 及 100  $\mu\text{M}$  AGM 之情況下所觀測到之少於 30% 之抑制相比，在 4  $\mu\text{M}$  CDB-4124 與 100  $\mu\text{M}$  AGM 之組合情況下觀測到接近 70% 之細胞增殖抑制。

#### 【主要元件符號說明】

無

## 七、申請專利範圍：

1. 一種化合物 CDB-4124 (21-甲氧基-17 $\alpha$ -乙醯氧基-11 $\beta$ -[4-N,N-二甲基胺苯基]-19-去甲孕甾(norpregna)-4,9-二烯-3,20-二酮) 之用途，其係用於製備用於在有需要的人類女性中治療雌激素受體陽性和孕酮受體陽性(ER $^+$ /PR $^+$ )之乳癌之醫藥品，其中該乳癌含有過度表現芳香酶的細胞。

2. 如申請專利範圍第1項之用途，其中CDB-4124係用於以0.5 mg/kg至500 mg/kg的劑量之投予。

3. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該有需要的女性為經受激素替代療法之女性。

4. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該醫藥品是用於每日投予。

5. 如申請專利範圍第1項之用途，其中該乳癌可抵抗他莫西芬(tamoxifen)之治療。

6. 如申請專利範圍第1項之用途，其中投予該醫藥品至少五年的期間。

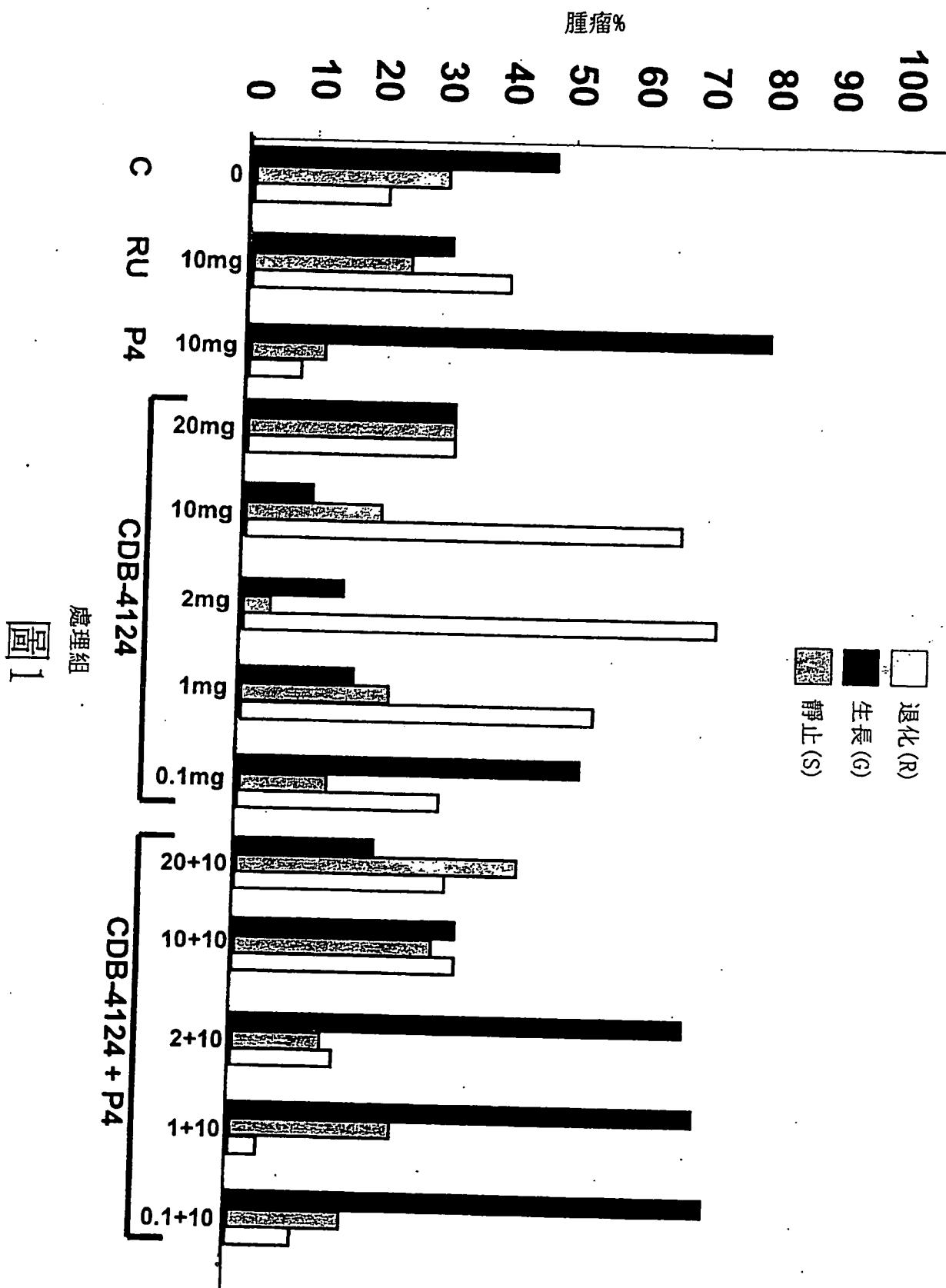
## 八、圖式：

(如次頁)

1539953

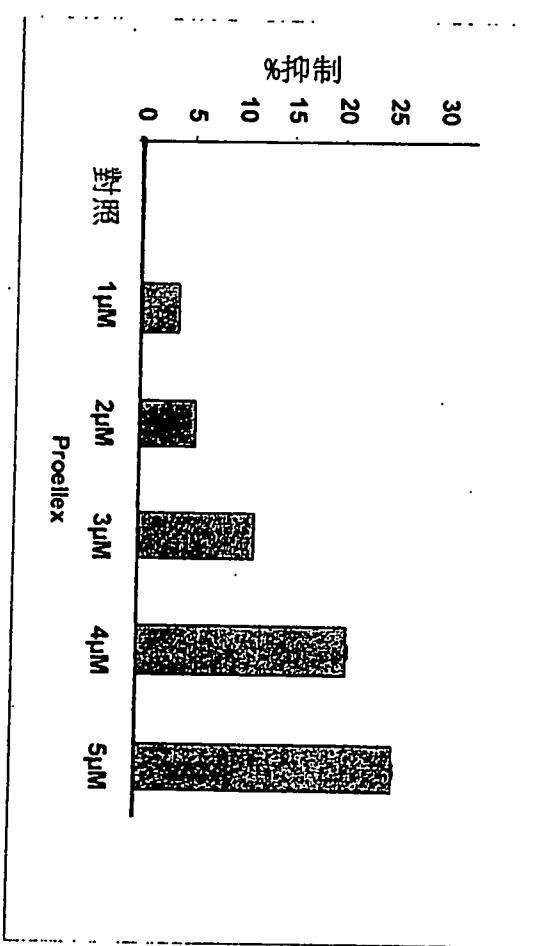
103.7.11

103.7.11 五三

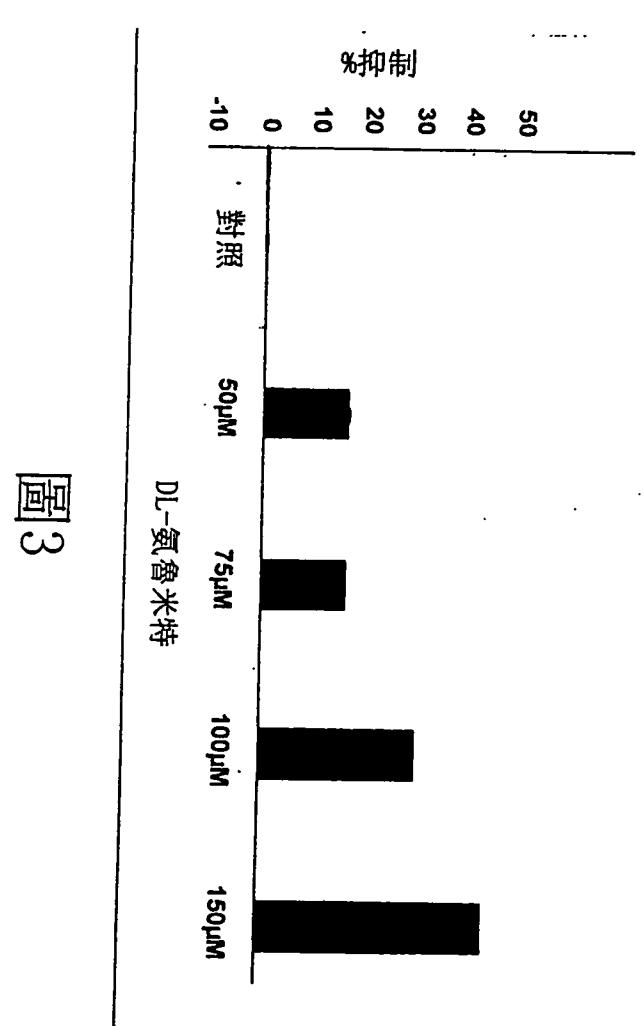


I539953

圖2



I539953



I539953

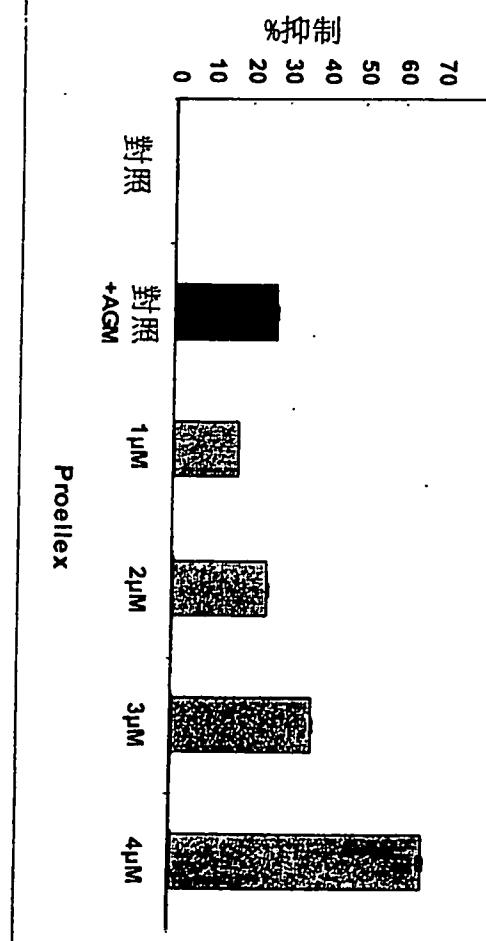


圖 4