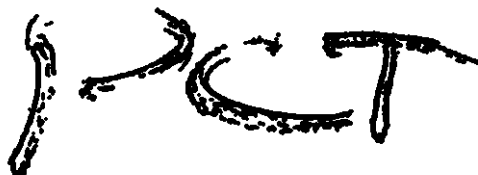




Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21 EXPEDIENTE N°

03-40572

54 TÍTULO *"Inhibición de la dependencia de células
tumurales del factor de crecimiento"*

51 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL *A61K 31/56*

71 SOLICITANTE *Schering Aktiengesellschaft*

DOMICILIO *Berlin, Alemania*

74 APODERADO *Gustavo Hollmann Restrepo*

22 BOGOTÁ, D. C. *15 de Mayo de 2003*

GP

PETITORIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

03 040572 00

Radicación : 03040572 00000000
Fecha (AMB): 2002-05-15 14:21:37
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 194

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

①

SOLICITUD DE :

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ Capítulo I.

☒ Capítulo II.

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT**

Dirección: **Müllerstrasse 178
13342 Berlin, Alemania**

Nacionalidad o Domicilio: **Berlin, Alemania**

Lugar de Constitución: **Alemania**

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual

Número

③

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO**

Dirección: **Cra. 11A No. 94-76-Of. 308**

Teléfono: **6161948** Fax: **6163976**

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NT ☐

C.E. ☐ Otro ☒

Cual

Número **2.878.023** TP **5903**

④

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: **LICHTNER, Rosemarie y
FUHRMANN, Ulrike**

Dirección: **Belziger Str. 39 y
Charlottenburger Ufer 6a**

Nacionalidad o Domicilio **10823 Berlin, Alemania y
10587 Berlin, Alemania, respectivamente.**

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/EP01/12004**

Fecha **Octubre 17 de 2001**

Publicación Internacional No. **W0 02/32429 A2**

Fecha **Abril 25 de 2002**

⑥ Título (54)

**"INHIBICION DE LA DEPENDENCIA DE CELULAS TUMORALES DEL FACTOR
DE CRECIMIENTO".**

⑦

Clasificación Internacional (51) **A61K 31/56**

⑧

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

**Alemania
Estados Unidos**

(32) Fecha

**Octubre 18, 2000
Octubre 18, 2000**

(31) Número de Solicitud

**100 51 609.2
60/241,010**

⑨

Comprobante de pago No. **33,175 y 23,188**

Fecha **Mayo 13, 2002**

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

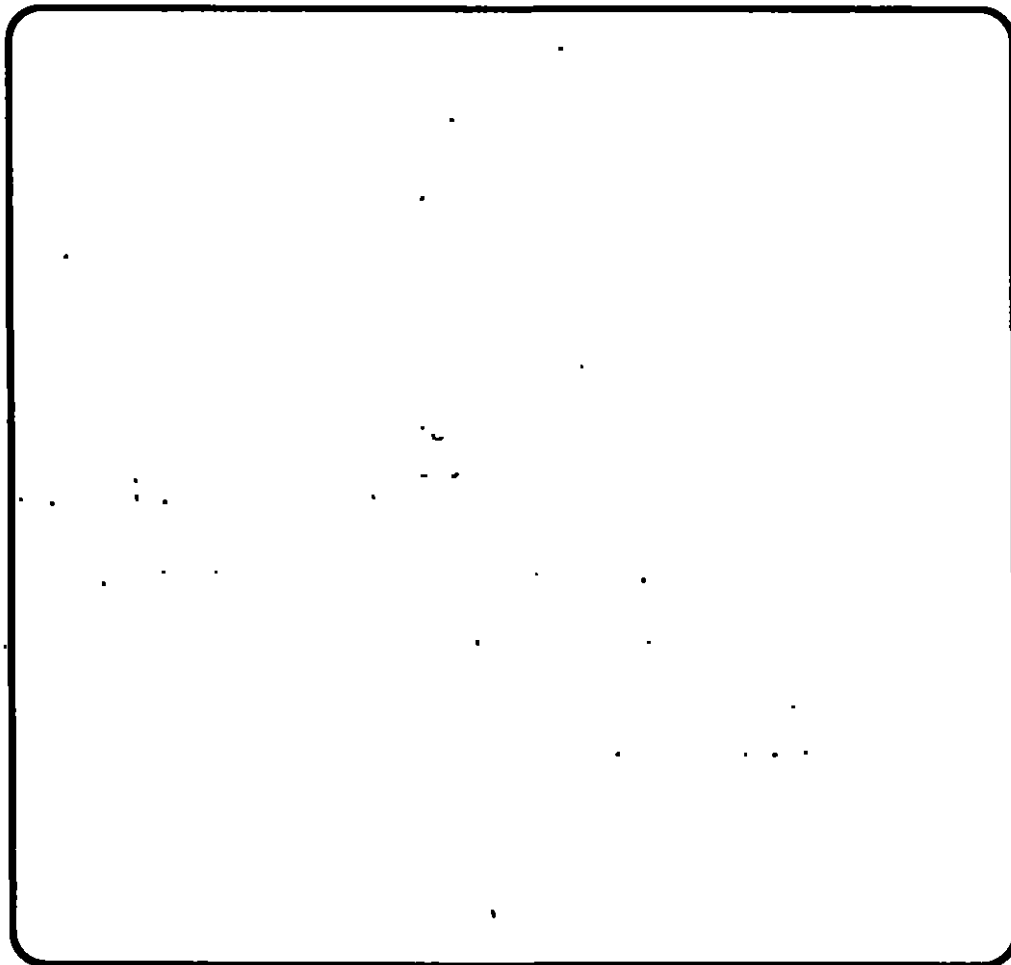
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Protocolizado bajo el No. 605**
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☒ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otro Reporte de búsqueda internacional.

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

FIRMA:

C.C. 22878-023 B/ TETP/ 15903K

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

Otros anexos que se acompañan a la solicitud.

Copia notificación recepción copia registro (Forma PCT/IB/301)

Copia notificación de comunicación del informe de Examen Preliminar Internacional (Regla PCT 71.1).

Copia notificación entrega o transmisión certificado de prioridad (Forma PCT/IB/304)

Copia de notificación al solicitante sobre la comunicación de la solicitud internacional a las oficinas designadas (Forma PCT/IB/308).

Copia del petitorio.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 0304057E 00000000 Folios: 194
Fecha (AMD): 2003-05-15 14:21:37
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INICI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2920 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 33,175
FECHA : MAYO 13 DE 2003

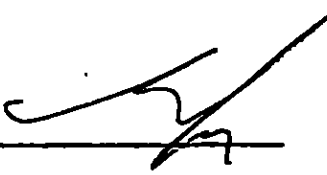
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
GUSTAVO HOLLNAN	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	030-00110-6	11724172	13/05/2003	5,098,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. CONTABILISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	400,000.
	TOTAL :	\$ 400,000.00

SON: CUATROCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____ 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

4
SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 03040572 00000000 Folios: 194
Fecha (MM): 2003-05-15 14:21:37
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE INICI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 33,180
FECHA : MAYO 13 DE 2003

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
GUSTAVO HOLLMAN	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	11724172	13/05/2003	5,098,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	82 INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN MU	112,000.00
	TOTAL :	\$ 112,000.00

SON: CIENTO DOCE MIL PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
25 April 2002 (25.04.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/32429 A2(51) International Patent Classification⁷: A61K 31/56, A61P 35/00

(21) International Application Number: PCT/EP01/13004

(22) International Filing Date: 17 October 2001 (17.10.2001)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
100 51 609.2 18 October 2000 (18.10.2000) DE
60/241,010 18 October 2000 (18.10.2000) US

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, A7, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GI, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IL, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CI, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Müllerstr. 178, 13353 Berlin (DE).

Published:

— without international search report and to be republished upon receipt of that report

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): LICHTNER, Rosemarie [DE/DE]; Belziger Str. 39, 10823 Berlin (DE). FUHRMANN, Ulrike [DE/DE]; Charlottenburger Ufer 6a, 10587 Berlin (DE).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(74) Common Representative: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; Müllerstr. 178, 13353 Berlin (DE).

WO 02/32429 A2

(54) Title: INHIBITION OF THE GROWTH FACTOR DEPENDENCY OF TUMOR CELLS

(57) Abstract: The invention relates to the use of progesterone receptor inhibitors for inhibition of growth-factor-dependency of tumor cells.

Inhibition of the Growth Factor Dependency of Tumor Cells

Description

The invention relates to the use of progesterone receptor inhibitors for inhibiting the growth factor dependency of tumor cells.

Estradiol and progesterone are involved in the development of breast cancer. At the time of diagnosis, however, only about 1/3 of the tumors show a steroid hormone dependency. It is assumed that in the majority of steroid hormone-resistant tumors, the proliferation control for local-acting autocrine or paracrine peptidic growth factors is taken over. In this case, invasive tumors with extremely poor prognosis that are growth-factor-receptor-positive and steroid hormone-resistant result (Elledge et al., Semin. Onkol. 19 (1992), 244-253).

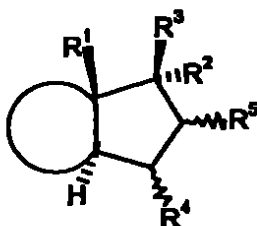
Growth factors regulate the cell growth by activation of intracellular signal transduction pathways after binding to highly affine tyrosine kinase receptors on the cell surface. More recent findings suggest that breast carcinoma cells can be sensitized by progestins for the mitogenic action of EGF (Groshong et al., Mol. Endocrinol. 11 (1997), 1593-1607). Thus, for example, it was possible for progesterone in the human breast carcinoma cell line T47D to induce the onset of cells in the S-phase accompanied by a transient increase of the activity of cyclin 1D and the cyclin-dependent kinase 4. The growth

stimulation is limited to a single cycle, however, and is followed by a growth arrest at the G1/S-transition of the second cycle (Groshong et al. (1997), supra: Musgrove et al., Mol. Cell. Biol. 13 (1993), 3577-3587). In its condition that is stopped by progesterone, the cells are sensitive to the proliferative action of EGF. In addition, it was shown that progesterone enhances the action of EGF on T47D cells by ramping up EGFR, Erb2 and Erb3 and increases the tyrosine phosphorylation of signal molecules (Lange et al., J. Biol. Chem. 273 (1998), 31308-31316; Richer et al., J. Biol. Chem. 273 (1998), 31317-31326). In contrast, it has not yet been possible to show an inhibition of the action of EGF on tumor cells by influencing the progesterone receptor.

Within the scope of tests leading to this invention, it has now been found, surprisingly enough, that inhibitors of the progesterone receptor, e.g., 17 α -fluoroalkyl steroids, can at least partially inhibit the binding of growth factors, such as EGF, to tumor cells, especially to tumor cells that have a high and/or constitutive expression of the progesterone receptor.

A subject of this invention is thus the use of an inhibitor of the progesterone receptor for the production of an agent for inhibiting the binding of growth factors to tumor cells and especially for inhibiting a proliferation of tumor cells or tumors that are produced by growth factors. An inhibitor of the progesterone receptor in terms of this invention is preferably a substance that competitively inhibits the binding of progesterone to its receptor. In this case, the inhibitor of the progesterone

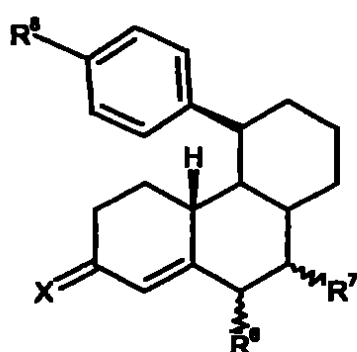
receptor is preferably selected from 17 α -fluoroalkyl steroids, as they are disclosed in, e.g., WO98/34947. These 17 α -fluoroalkyl steroids exhibit general formula I:



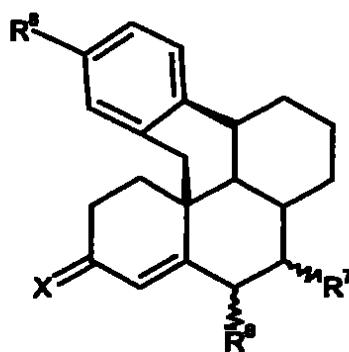
I

in which

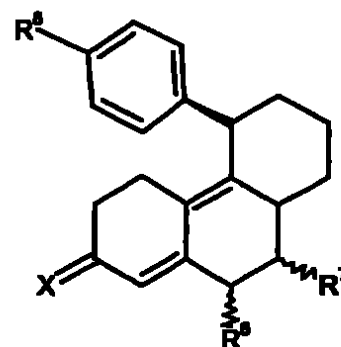
- R¹ stands for a methyl or ethyl group,
- R² stands for a radical of formula C_nF_mH_o, whereby n = 2, 3, 4, 5 or 6, m > 1 and m + o = 2n + 1,
- R³ stands for a free, etherified, or esterified hydroxy group,
- R⁴ and R⁵ each stand for a hydrogen atom, together for an additional bond or a methylene group,
- St_ stands for a steroidal ABC-ring system of partial formula A, B or C



A



B



C

in which

R^6 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group or a halogen atom,

R^7 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group, or, if St stands for a steroidal ABC-ring system A or B, in addition R^6 and R^7 together mean an additional bond,

X means an oxygen atom, a hydroxymino grouping = N - OH or two hydrogen atoms,

R^8 means a radical Y or an aryl radical that is optionally substituted with a group Y in several places, whereby Y is a hydrogen atom, a halogen atom, an -OH, -NO₂, -N₃, -CN, -NR^{9a}R^{9b}, -NHSO₂R⁹, -CO₂R⁹, C₁-C₁₀ alkoxy,

C_1-C_{10} alkanoyloxy, benzoyloxy- C_1-C_{10} alkanoyl, C_1-C_{10} hydroxyalkyl or benzoyl group,

and R^{9a} and R^{9b} are the same or different and like R^9

represent a hydrogen atom or a C_1-C_{10} alkyl group,

and for radicals $-NR^{9a}R^{9b}$, also their physiologically compatible salts with acids and for radicals $-CO_2R^9$ with R^9 in the meaning of hydrogen also their physiologically compatible salts with bases.

An especially preferred example of such inhibitors of the progesterone receptor is the compound 11β -(4-acetylphenyl)- 17β -hydroxy- 17α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)-estra-4,9-dien-3-one (compound A below). Moreover, other antiprogestins, for example onapristone (11β -[p-(dimethylamino)phenyl]- 17α -hydroxy-17-(3-hydroxypropyl)- 13α -estra-4,9-dien-3-one) are also suitable, however.

The action of the progesterone receptor inhibitors is found especially in the case of tumor cells that have a high and/or constitutive progesterone receptor expression, for example the progesterone receptor-positive breast carcinoma cell line T47D (Sartorius et al., Cancer Res. 54 (1994), 3668-3877).

The progesterone receptor inhibitors inhibit the progesterone-induced enhancement of the expression of growth factors, especially those factors that bind to growth factors of the EGF receptor family, such as, for example, the EGF receptor.

The inhibitors especially preferably inhibit the binding of EGF to human breast carcinoma cells.

According to this invention, the progesterone receptor inhibitors can therefore be used for tumor therapy in mammals and preferably in humans, specifically especially to block the progression of a tumor, especially a breast carcinoma of steroid-dependent growth to growth-factor-dependent growth. In this way, an effective treatment of the tumor can take place in the stage of the steroid-dependent growth, e.g. by antiestrogens, without the tumor being able to progress in the stage of the growth-factor-dependent growth, associated with a considerable worsening of the prognosis for the patient. The administration of the progesterone receptor inhibitors can also produce a slowing of tumor growth in the stage of the growth-factor-dependent growth.

For the purpose of this invention, non-steroidal antiestrogens, such as, e.g., tamoxifen and nafoxidine, and raloxifene and EM800, can be used. The two last-mentioned antiestrogens are representatives of the thus mentioned SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators); also, other compounds with the profile of action of the SERMS can be used according to the invention, e.g., the compounds that are mentioned in PCT/EP99/05093 and of the latter in turn especially the compound 5-(4-{5-[(RS)-4,4,5,5,5-pentafluoropentyl]sulfinyl}-pentyloxy}phenyl)-6-phenyl-8,9-dihydro-7H-benzocyclohepten-2-ol.

Examples of steroidal antiestrogens comprise those that are disclosed in EP 0 348 341 A, especially Faslodex, and those that are disclosed in WO98/07740, especially 11 β -fluoro-7 α -(5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio-propylamino)-pentyl]-

estra-1,3,5(10)triene-3,17 β -diol, or those that are described in WO99/33855, especially 11 β -fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluoro-decyl)-amino]-pentyl}-estra-1,3,5(10)triene-3,17 β -diol or pharmaceutically compatible derivatives or analogs thereof. Aromatase inhibitors with an antiestrogenic effect, such as, for example, those that are known from pages 7-8 of EP 0 495 825 B1, can likewise be used as antiestrogens.

The administration of the progesterone receptor inhibitors can be carried out according to commonly used methods, for example locally, topically, subcutaneously, enterally or parenterally. For enteral administration, especially tablets, coated tablets, capsules, pills, suspensions or solutions are suitable, which can be produced in the usual way with the additives and vehicles that are known in galenicals. For local or topical use, for example, vaginal suppositories or transdermal systems such as skin patches are suitable. The subcutaneous administration can be carried out by injection with an oily solution.

A dosage unit can contain, for example, 0.1 to 100 mg of active compound(s) (= inhibitor(s) of the progesterone receptor).

For administration in humans, the daily dose of the active compound(s) is approximately 0.1 to 400 mg, preferably approximately 10-100 mg and especially approximately 50 mg.

In addition, the invention is to be explained by the following examples and figures. Here:

- Figure 1 shows the antiproliferative action of test substances on the breast carcinoma cell line T47D.
- Figure 2 shows the amounts of protein of progesterone receptor (PR) and estrogen receptor (ER) in breast carcinoma cell line T47D.
- Figure 3 shows the transcriptional activity of the progesterone receptor in T47D cells.
- Figure 4 shows a Scatchard analysis of the binding of EGF to T47D cells as a function of the presence of test substances.
- Figure 5 shows the dependence of the binding of EGF to T47D cells on the presence of test substances.

Example

1. Materials and Methods

Materials:

¹²⁵I-EGF (100 mCi/mmol) was obtained by Amersham Buchler. Compound A, hydrotamoxifen (4-OH-Tam), ZM182780 and estradiol were synthesized in the Institut für Arzneimittelchemie [Institute for Pharmaceutical Agent Chemistry] of the Schering AG according to known methods.

Cell lines:

The human estrogen receptor (ER)- and progesterone receptor (PR)-positive breast carcinoma cell line T47D (Freaker et al., BBRC 101 (1981), 1131-1138) was used.

Growth studies:

The tumor cells were cultivated at 5000 cells/well in 96-well plates for 6 days in RPMI medium plus 10% bovine serum, 200 nM of insulin and 0.1 nM of estradiol in the presence of the compounds that are indicated in each case, and the growth was determined by staining with crystal violet.

Amount of PR and ER protein:

The amounts of PR and ER in cell lysates are determined with use of steroid binding assays with radiolabeled progesterone or

estradiol according to methods described in Fuhrmann et al. (Contraception 54 (1996), 243-251).

Binding of ^{125}I -EGF to tumor cells:

R5020-Pretreated T47D cells were incubated for 2 hours with ^{125}I -EGF at 4°C. The unspecific binding was always less than 10% of the total binding.

Transactivation assay:

T47D cells were transiently transfected with MTV-LUC (Cato et al., EMBO J., 9: 2237-40) and cultivated in the absence or the presence of 1 nM of R5020. In the test on a PR-mediated antagonism, the transiently transfected T47D cells were treated with R5020 and in addition with increasing concentrations of compound A or RU486. After 24 hours, a luciferase test was performed.

2. Results

Figure 1 shows the antiproliferative action of various test substances. T47D cells were cultivated in the presence (upper cross-hatching) or absence (lower cross-hatching) of 0.1 nM of E_2 plus increasing concentrations of compound A ($\blacktriangle$), onapristone ($\blacksquare$), ZK191703 ($\bullet$) or 4-OH-Tam ($\blacklozenge$). In the case of T47D cells, compound A also shows a significant antiproliferative action at extremely small concentrations.

Figure 2 shows the amounts of PR- and ER protein in T47D cells.

Figure 3 shows the transcriptional activity of PR in T47D cells, whereby the respective cells were transiently transfected with MTV-LUC and cultivated (a) in the absence of (Co) or the presence of 1 nM of R5020. In the test for a PR-mediated antagonism, the transiently transfected T47D cells were treated with 0.1 nM of R5020 and increasing concentrations of compound A or RU468 (b).

In Figure 4, a Scatchard analysis of the ^{125}I -EGF binding to T47D cells is shown. The cells were cultivated for 48 hours in the presence of 20 nM of R5020 with or without 20 nM of compound A and then washed. Then, the EGF-binding over a concentration range of 0.25 to 150 ng/ml of EGF was determined by incubation for 2 hours at 4°C. The insertions show the amount of bonded ligands relative to the logarithm of the free ligand concentration. It is clear that it was possible to block the increase of the EGF binding that is caused by R5020 (middle figure) relative to monitoring (upper figure) when compound A (lower figure) is added.

In figure 5, the binding of ^{125}I -EGF to intact T47D cells is shown. For this purpose, the cells were treated for 48 hours with 2 or 20 nM of R5020 plus compound A or onapristone or compound A alone. It can also be seen here that compound A blocks the increase of the EGF-binding to T47D cells caused by R5020. A similar -- although considerably weaker effect -- is also found for onapristone.

3. Discussion

The above results show that the estradiol-stimulated growth of T47D cells with high and constitutive PR contact was effectively blocked by compound A.

By transactivation assays, it was possible to show that the PR was transcriptionally active in the T47D cells and could be blocked by compound 1.

A stimulation of the T47D cells with R5020 resulted in a 2x to 3x-increased EGF-receptor expression, which was blocked by compound A. At the same time, the binding of EGF to the cells was increased 2- to 3-fold and could be prevented by compound A and less efficiently by onapristone. The increased EGF-binding to R5020-treated cells could be produced by an enhanced EGF-receptor expression or increased heterodimer formation between the EGF receptor and erbB2.

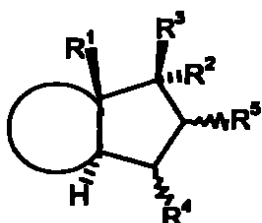
These results show the interactions between PR- and gr wth factor-signal systems in human breast carcinoma cells. By use of antiprogestins, the progression of tumor cells from steroid-dependent growth is inhibited or prevented for growth-factor-dependent growth.

Claims

1. Use of an inhibitor of the progesterone receptor for the production of an agent for the inhibition of the binding of growth factors to tumor cells and/or to a tumor.

2. Use according to claim 1, characterized in that a proliferation of the tumor cells and/or the tumor produced by growth factors is inhibited.

3. Use according to claim 1 or 2, wherein the inhibitor of the progesterone receptor is selected from 17 α -fluoroalkyl steroids of general formula I



I

in which

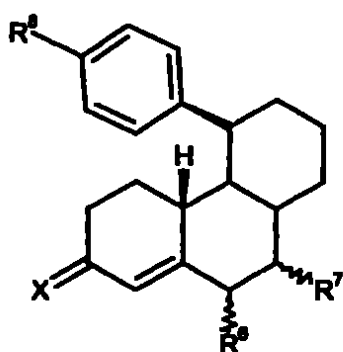
R^1 stands for a methyl or ethyl group,

R^2 stands for a radical of formula $C_nF_mH_o$, whereby n is 2, 3, 4, 5 or 6, $m > 1$ and $m + o = 2n + 1$,

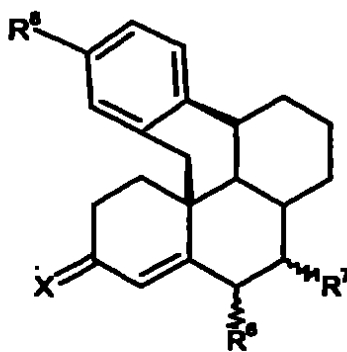
R^3 stands for a free, etherified, or esterified hydroxy group,

R^4 and R^5 each stand for a hydrogen atom, together for an additional bond or a methylene group,

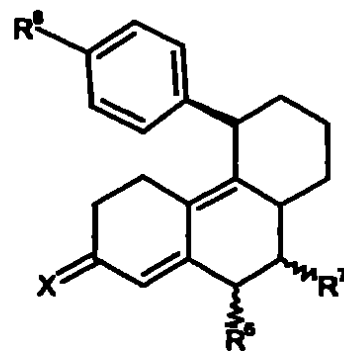
St stands for a steroidal ABC-ring system of partial formula A, B or C



A



B



C

in which

R^6 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group or a halogen atom,

R^7 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group, or, if St stands for a steroidal ABC-ring system A or B, in addition R^6 and R^7 together mean an additional bond,

X means an oxygen atom, a hydroxymino grouping $= N - OH$ or two hydrogen atoms,

R^8 means a radical Y or an aryl radical that is optionally substituted with a group Y in several places, whereby Y is a hydrogen atom, a halogen atom, an $-OH$, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-NR^{9a}R^{9b}$, $-NHSO_2R^9$, $-CO_2R^9$, C_1 - C_{10} alkoxy, C_1 - C_{10}

alkanoyloxy, benzoyloxy-C₁-C₁₀, alkanoyl, C₁-C₁₀

hydroxyalkyl or benzoyl group,

and R^{9a} and R^{9b} are the same or different and like R⁹

represent a hydrogen atom or a C₁-C₁₀ alkyl group,

and for radicals -NR^{9a}R^{9b}, also their physiologically compatible salts with acids and for radicals -CO₂R⁹ with R⁹ in the meaning of hydrogen also their physiologically compatible salts with bases.

4. Use according to claim 3, wherein the inhibitor of the progesterone receptor is the compound 11 β -(4-acetylphenyl)-17 β -hydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)estra-4,9-dien-3-one.

5. Use according to one of claims 1 to 4, wherein the tumor cells have a high and/or constitutive progesterone receptor expression.

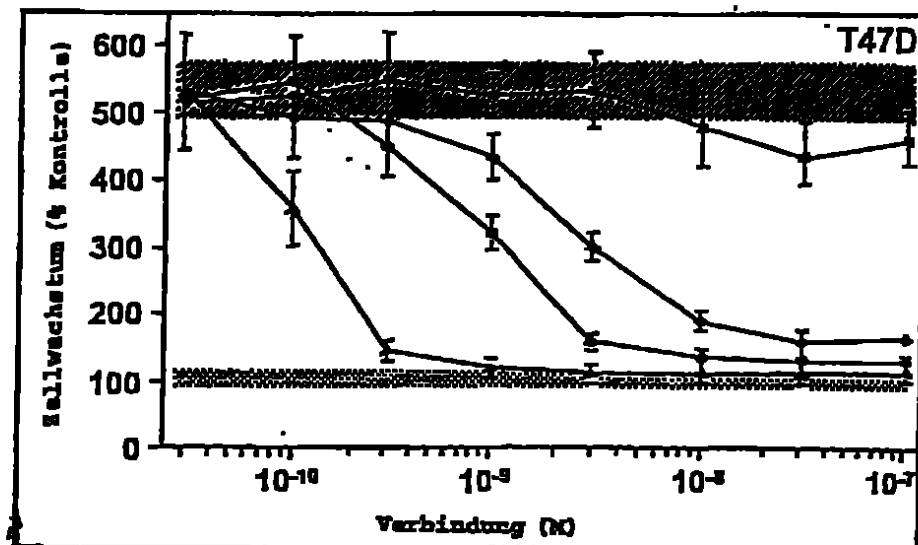
6. Use according to one of claims 1 to 5, wherein the tumor cells are breast carcinoma cells.

7. Use according to one of claims 1 to 6, wherein the binding of EGF and/or other factors, which bind to the EGF receptor, is inhibited in tumor cells.

8. Use according to one of claims 1 to 7, wherein the formation of heterodimers between the EGF receptor and erbB2 is inhibited.

9. Use according to one of claims 1 to 8 for tumor therapy.

10. Use according to claim 9 to inhibit the progression of a tumor of steroid-dependent growth to growth-factor-dependent growth.



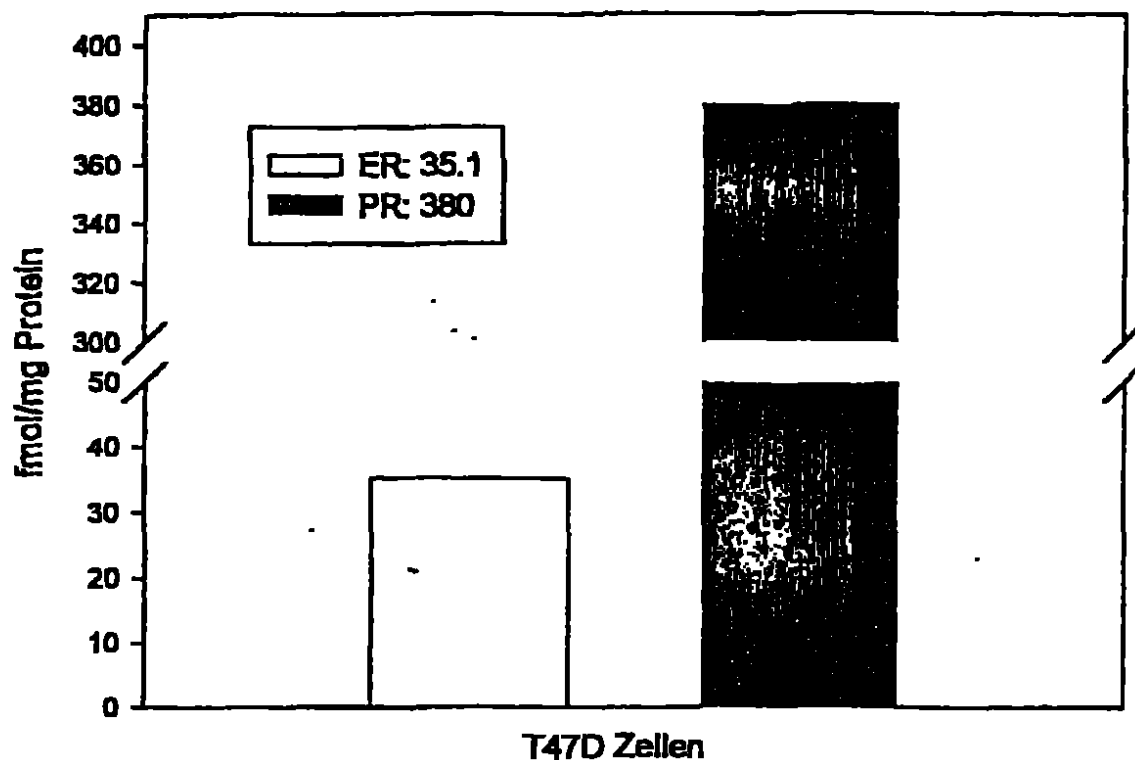
[Key to table:]

Zellwachstum (% Kontrolle) = cell growth (% control)

Verbindung (M) = compound (M)

Figure 1: Antiproliferative action. T47D cells were cultivated in the presence (upper cross-hatching) or absence (lower cross-hatching) of 0.1 nM of E_2 plus increasing concentrations of compound A (Δ), onapristone ($\blacksquare$), ZK191703 ($\bullet$) or 4-OH-Tam ($\blacklozenge$).

2/5

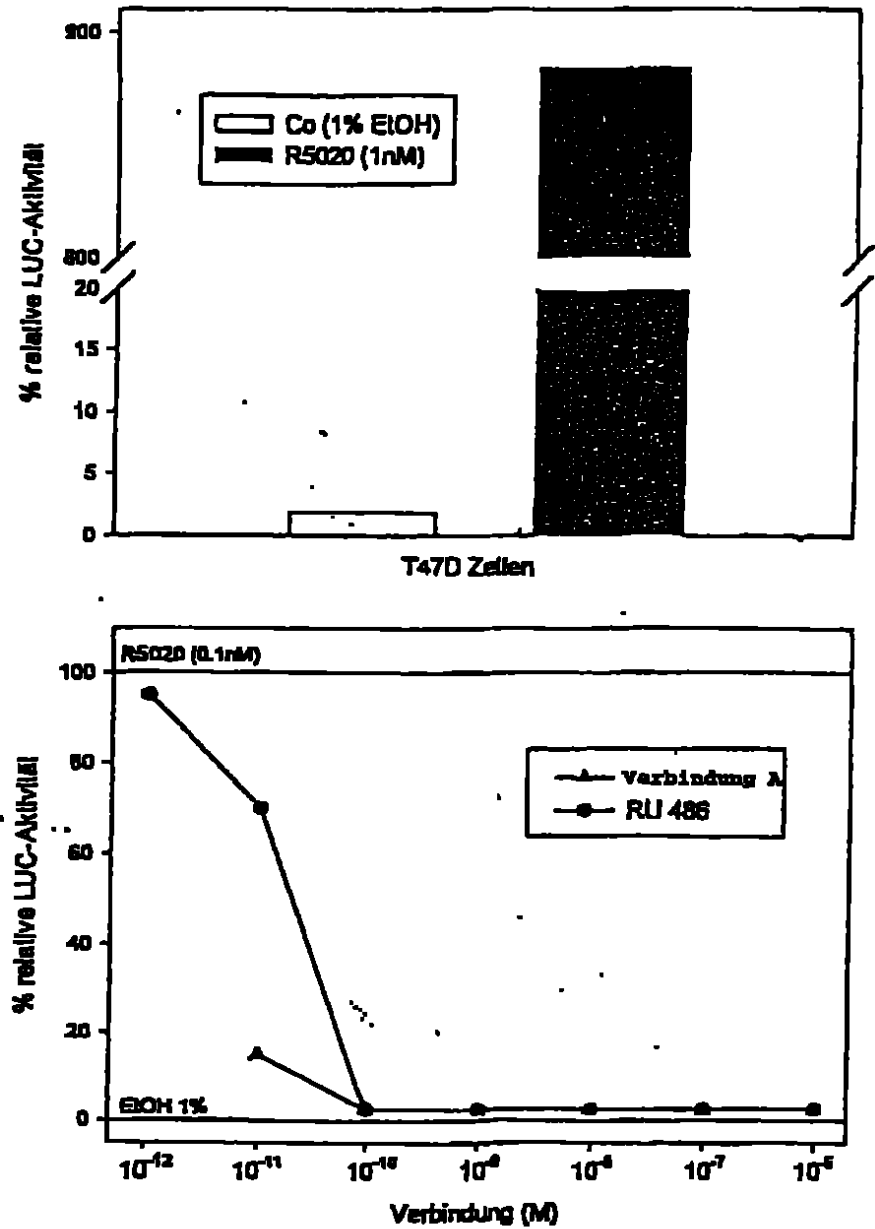


[Key to Table:]

T47D Zellen = T47D cells

Figure 2: Amounts of protein of progesterone receptor (PR) and estrogen receptor (ER) in T47D cells. The amounts of PR and ER were determined in cell lysates using steroid binding assays with radiolabeled progesterone or estradiol.

3/5

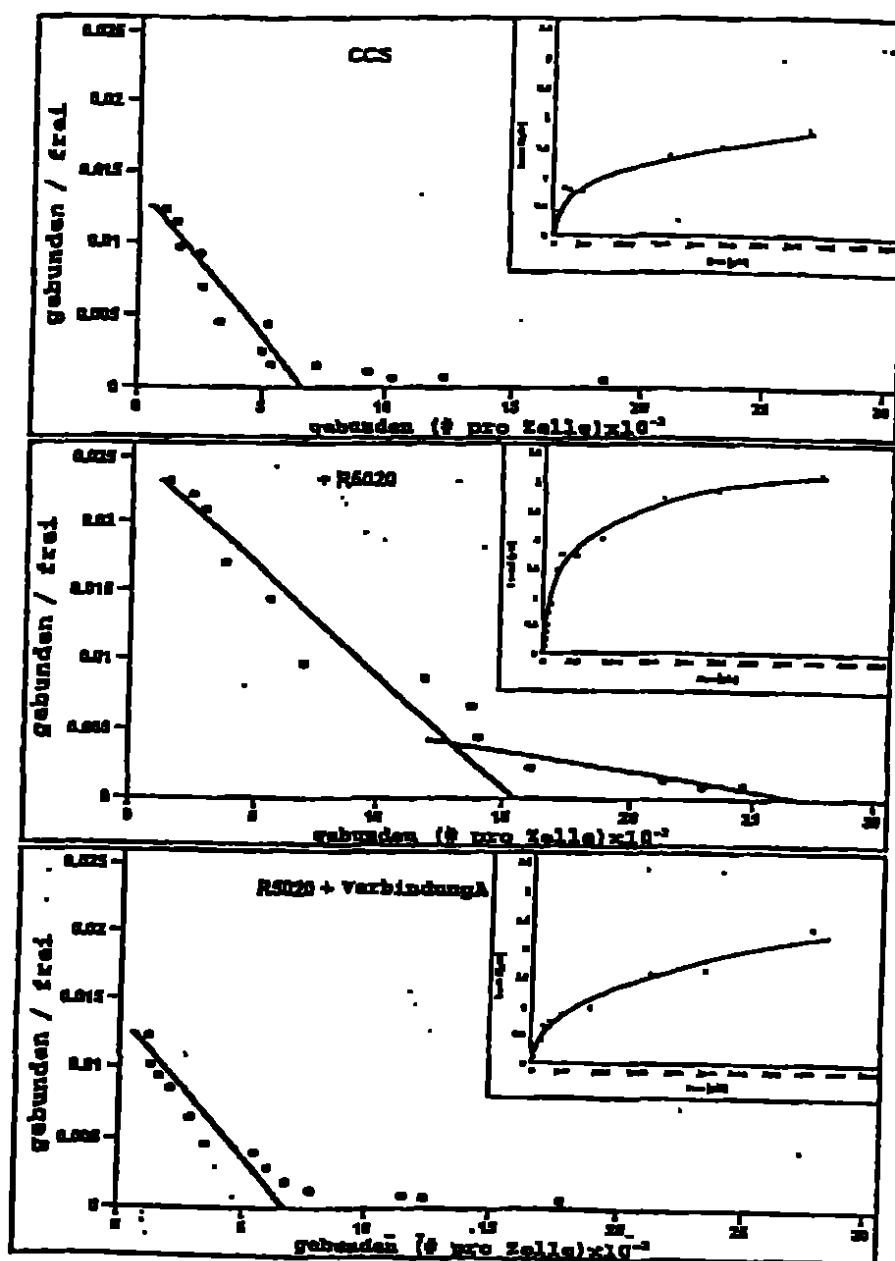


[Key to Table:]

%relative LUC-Aktivität = % of relative LUC activity

Verbindung (M) = compound (M)

Figure 3: Transcriptional activity of PR in T47D cells. A: T47D cells were transiently transfected with MTV-LUC and cultivated in the absence or in the presence of 1 nM of R5020. B. To test for a PR-mediated antagonism, the transiently transfected T47D cells were treated with 0.1 nM of R5020 and increasing concentrations of compound A or RU486.



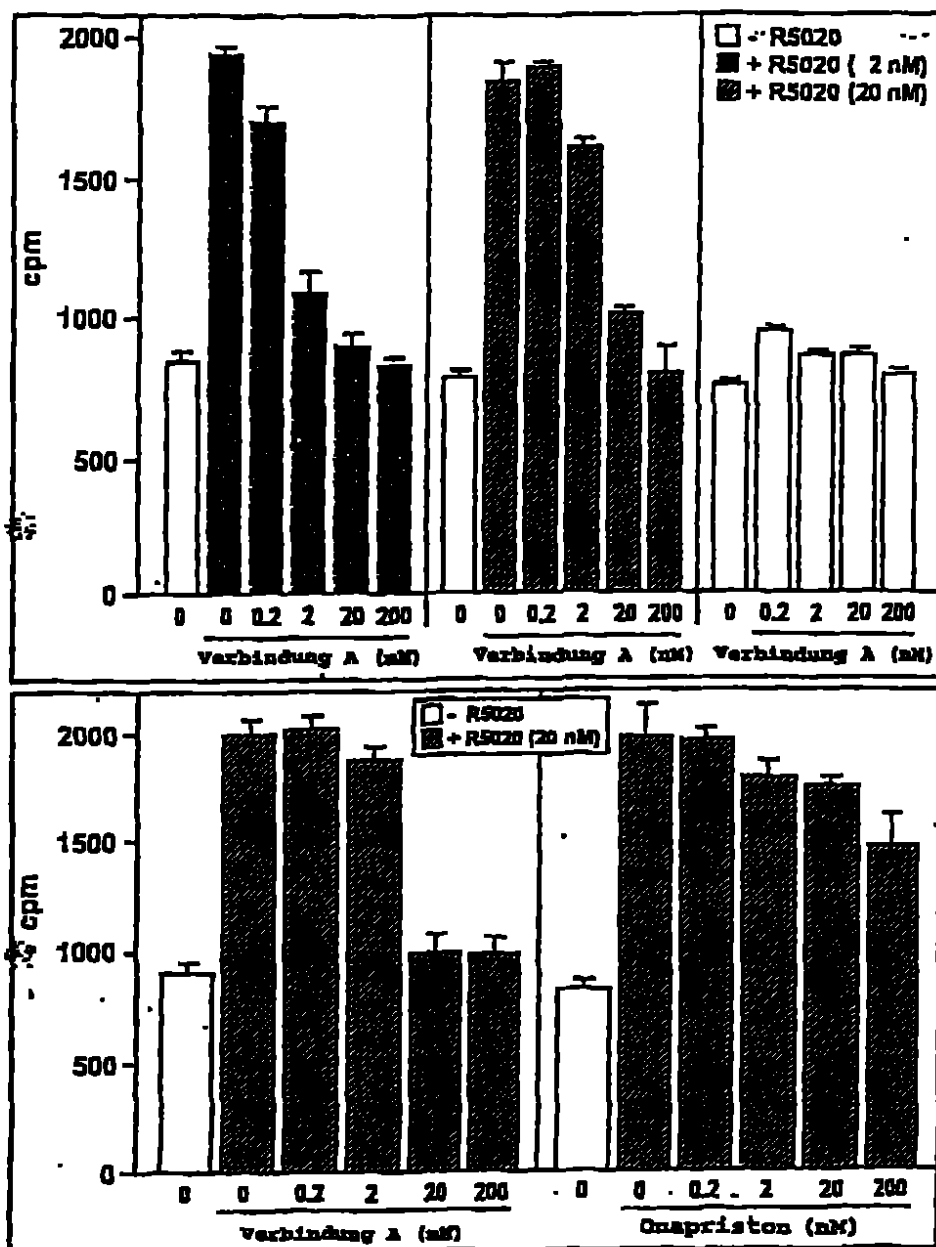
[Key to table:]

gebunden/free = bonded/free

gebunden (# pro Zelle) = bonded (# per cell)

Figure 4: Scatchard analysis of the ^{125}I -EGF binding. T47D cells were cultivated for 48 hours in the presence of 20 nM of R5020, with or without 50 nM of compound A, then washed and then the ^{125}I -EGF binding was determined over a range of 0.25-150 ng/ml of EGF by incubation for 2 hours at 4°C. The inserts show the amount of bonded ligands compared to the logarithm of the free ligand concentration.

5/5



[Key to table:]

Verbindung = compound

Onapriston = onapristone

Figure 5: Binding of ^{125}I -EGF to intact T47D cells. The cells were pretreated for 48 hours with 2 or 20 nM of R5020 plus compound A or onapristone, or with compound A alone.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP 01/12004	International filing date (day/month/year) 17/10/2001	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 18/10/2000
Applicant SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 6 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:



contained in the international application in written form.



filed together with the international application in computer readable form.



furnished subsequently to this Authority in written form.



furnished subsequently to this Authority in computer readable form.



the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.



the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

USE OF INHIBITORS OF PROGESTERON RECEPTOR FOR TREATING CANCER

5. With regard to the abstract,

the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

as suggested by the applicant.



because the applicant failed to suggest a figure.



because this figure better characterizes the invention.



None of the figures.

International Application No

PCT/EP 01/12004

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K31/56 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 34947 A (SCHERING AG) 13 August 1998 (1998-08-13) cited in the application claims 1,26-29 page 8, paragraph 5 -page 9, paragraph 2 page 27, line 2	1-5,7-9
A	---	6
X	EP 0 466 315 A (GILLESPIE LARRIAN) 15 January 1992 (1992-01-15) page 2, line 1 - line 49 page 3, line 22 - line 28	1,2,5-10
X	WO 00 46234 A (BIRON JEAN PHILIPPE ;POTIER PIERRE JEAN PAUL (FR); BESSELIEVRE RIC) 10 August 2000 (2000-08-10) page 1, paragraph 1 page 6, paragraph 1 ---	1,2,5-10
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 November 2002

Date of mailing of the international search report

27/11/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bonzano, C

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Present claims 1-2, 5-10 relate to a compound defined by reference to a desirable characteristic or property, namely the activity as inhibitor of progesterone receptor.

The claims cover all compounds having this characteristic or property, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such compounds. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the compound by reference to its pharmacological profile. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

Moreover, claims 1-5, 7,8 relate to the treatment of diseases which are acutally not well characterized. The use of the definitions "inhibition of the binding of growth factor to tumor cells" "... characterized in that a proliferation of the tumor cells and the tumor produced by the growth factor is inhibited", "... where the tumor cells have a high and constitutive progesterone receptor expression", "... wherein the binding of EGF, and of other factors, which bind to the EGF receptor is inhibited in tumor cells", "... wherein the formation of heterodimers between EGF receptor and erbB2 is inhibited" is considered to lead to a lack of clarity under article 6 PCT. This lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible.

Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to the compounds described in claims 3,4 for the treatment of tumor, with due regard to the general idea underlying the present invention.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 01/12004**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/12004

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9834947	A	13-08-1998	DE 19706061 A1 13-08-1998
			AT 216397 T 15-05-2002
			AU 742834 B2 10-01-2002
			AU 6100598 A 26-08-1998
			BG 103603 A 30-06-2000
			BR 9807667 A 15-02-2000
			CN 1324802 A 05-12-2001
			CN 1246865 T 08-03-2000
			DE 59803856 D1 23-05-2002
			DK 970103 T3 22-07-2002
			EE 9900339 A 15-02-2000
			WO 9834947 A1 13-08-1998
			EP 0970103 A1 12-01-2000
			HU 0000968 A2 28-10-2000
			JP 2001510479 T 31-07-2001
			NO 993811 A 04-10-1999
			NZ 336989 A 27-04-2001
			PL 334878 A1 27-03-2000
			SK 103899 A3 16-05-2000
			TR 9901855 T2 21-04-2000
			US 6316432 B1 13-11-2001
			US 2002045774 A1 18-04-2002
			ZA 9800985 A 03-08-1999
EP 0466315	A	15-01-1992	EP 0466315 A2 15-01-1992
WO 0046234	A	10-08-2000	FR 2789393 A1 11-08-2000
			AU 2445200 A 25-08-2000
			WO 0046234 A1 10-08-2000
WO 9933855	A	08-07-1999	DE 19758390 A1 01-07-1999
			DE 19806357 A1 12-08-1999
			AU 750801 B2 25-07-2002
			AU 2276399 A 19-07-1999
			BG 104553 A 28-02-2001
			BR 9814416 A 10-10-2000
			CA 2316444 A1 08-07-1999
			CN 1286693 T 07-03-2001
			EA 2623 B1 27-06-2002
			EE 200000380 A 17-12-2001
			WO 9933855 A1 08-07-1999
			EP 1042355 A1 11-10-2000
			HU 0100568 A2 28-08-2001
			JP 2001527088 T 25-12-2001
			NO 20003286 A 23-08-2000
			NZ 505348 A 25-10-2002
			PL 341299 A1 09-04-2001
			SK 9442000 A3 09-04-2001
			TR 200001973 T2 22-01-2001
			ZA 9811804 A 22-06-2000
US 5238950	A	24-08-1993	NONE

- (12) **Publicación de la solicitud internacional bajo PCT**
 (19) **Organización mundial de propiedad intelectual**
Oficina Internacional
 (43) **Fecha de publicación internacional : 25 de abril de 2002**
(25.04.2002)
 (10) **Número de publicación internacional: WO 02/32429 A2**
-

- (51) **Clasificación internacional de patentes: A61K 31/56**
A61P 35/00
 (21) **Número de solicitud internacional: PCT/EP01/12004**
 (22) **Fecha de presentación internacional: 17 de octubre de 2001**
(17.10.2001)
 (25) **Idioma de la presentación: Inglés**
 (26) **Idioma de la publicación: Inglés**
 (30) **Antecedentes de prioridad:**
 100 51 609.2 18 de octubre de 2000 (18.10.2000) DE
 60/241,010 18 de octubre de 2000 (18.10.2000) US
 (71) **Solicitante: (para todos los países designados excepto EEUU):**
SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE], Müllerstrasse 178,
13342 Berlin (DE).
 (72) **Inventor y**
 (75) **Inventores en la solicitud (para EEUU solamente): LICHTNER, Rosemarie [DE/DE];**
Belziger Str. 39, 10823 Berlin (DE). FUHRMANN, Ulrike [DE/DE]; Charlottenburger Ufer 6a,
10587 Berlin (DE).
 (74) **Representada por: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT; Müllerstr. 178, 13353 Berlin**
(DE).
 (81) **Estados designados(nacionales): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ,**
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
 (84) **Estados designados(regionales): Patentes ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL,**
SZ, TZ, UG, ZW), Patentes euroasiáticas (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Patentes
européas (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
Patentes OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- **sin informe de búsqueda internacional y a ser publicado nuevamente al recibir dicho informe.**
-

- (54) **Título: Inhibición de la dependencia de células tumorales del factor de crecimiento.**
 (57) **Resumen: La invención se refiere al uso de inhibidores del receptor de progesterona para**
inhibir la dependencia de las células tumorales, del factor de crecimiento.

Inhibición de la dependencia de células tumorales del factor de crecimiento

Descripción

La invención se refiere al uso de inhibidores de receptores de progesterona para inhibir la dependencia de las células tumorales del factor de crecimiento.

El estradiol y la progesterona participan en la evolución del cáncer de mama. Sin embargo, al tiempo del diagnóstico, sólo aproximadamente 1/3 de los tumores presentan una dependencia de las hormonas esteroides. Se supone que en la mayoría de los tumores resistentes a las hormonas esteroides, el control de la proliferación es asumido por factores de crecimiento peptídicos autocrinos y paracrinos de efecto local. Así resultan tumores invasivos de pronóstico extremadamente malo que son de receptor de factor de crecimiento positivo y resistentes a las hormonas esteroides. (Elledge et al, Semin. Onkol. 19 (1992), 244-253).

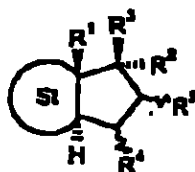
Los factores de crecimiento regulan el crecimiento celular por activación de vías de transducción de señales intracelulares después de fijarse en receptores de tirosinkinasa de gran afinidad de la superficie de las células. Nuevas investigaciones permiten suponer que las células de carcinoma de mama pueden ser sensibilizadas al efecto mitógeno de EGF por progestinas (Groshong et al, Mol. Endocrinol. 11 (1997), 1593-1607). Así es que por ejemplo, la progesterona

pudo inducir en línea de células de carcinoma de mama T47D, la entrada de las células en la fase S acompañado de un aumento transiente de la actividad de la ciclina 1D y de la kinasa 4, dependiente de la ciclina. Sin embargo, la estimulación del crecimiento está limitado a un único ciclo y seguido de una detención del crecimiento en la transición G1/S del segundo ciclo. (Groshong et al. (1997), véase más arriba; Musgrove et al, Mol.Cell.Biol. 13 (1993), 3577-3587). En su estado detenido por la progesterona, las células se hacen sensibles al efecto proliferativo de EGF. También se demostró que la progesterona intensifica el efecto de EGF en células T47D por regulación hacia arriba de EGFR, Erb2 y Erb3 y aumenta la fosforilación de tirosina de la molécula de señal. (Lange et al., J.Biol.Chem. 273 (1998), 31308-31376; Richer et al, J.Biol.Chem. 273 (1998), 31317-31326). Contrariamente a esto, hasta el presente no pudo demostrarse una inhibición del efecto de EGF en células tumorales por acción sobre el receptor de progesterona.

En el marco de los ensayos que condujeron a la presente invención se comprobó sorpresivamente, que los inhibidores del receptor de progesterona, p.ej. 17 α -fluoralquilesteroides, pueden impedir por lo menos parcialmente la fijación de factores de crecimiento tales como EGF, en células tumorales, especialmente en células tumorales que presentan una

expresión elevada y/o constitutiva del receptor de progesterona.

Un objeto de la presente invención es, por lo tanto, el uso de un inhibidor del receptor de progesterona para preparar un medicamento para inhibir la fijación de factores de crecimiento en células tumorales y especialmente para inhibir la proliferación de células tumorales o tumores provocada por factores de crecimiento. Un inhibidor del receptor de progesterona, en el contexto de la presente invención, es preferentemente una sustancia que inhibe competitivamente la fijación de progesterona en su receptor. Para ello, el inhibidor del receptor de progesterona se selecciona preferentemente de 17 α -fluoralquilesteroides, como los que se revelan p. ej. en la W098/34947. Estos 17 α -fluoralquilesteroides tienen la fórmula general 1 :



donde

R¹ es un grupo metilo o etilo,

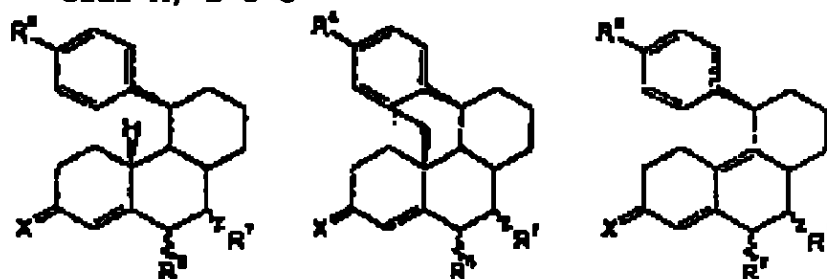
R² es un radical de la fórmula C_nF_mH_o, donde n = 2,3,4,5 o 6,

m > 1 y m+o = 2n+1,

R³ es un grupo hidroxilo libre, eterificado o esterificado,

R^4 y R^5 es, cada uno, un átomo de hidrógeno y juntos son un enlace adicional o un grupo metilo,

St es un sistema de anillo esteroide ABC de la fórmula parcial A, B o C



donde

R^6 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o un átomo de halógeno,

R^7 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o

si St es un sistema de anillo esteroide A o B, R^6 y R^7 juntos, son un enlace adicional,

X es un átomo de oxígeno, un agrupamiento hidroximino = N-OH o dos átomos de hidrógeno,

R^8 es un radical Y o un radical arilo que puede estar polisustituido con un grupo Y, donde Y es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo OH, NO_2 , N_3 , CN, $NR^{9a}R^{9b}$, $NHSO_2R^9$, CO_2R^9 , C_1-C_{10} -alcoxi, C_1-C_{10} -alcanoiloxi, benzoiloxi- C_1-C_{10} -alcanoilo, C_1-C_{10} -hidroxialquilo o benzoilo,

y R^{9a} y R^{9b} son iguales o diferentes y representan, al igual que R^9 , un átomo de hidrógeno o un grupo C_1-C_{10} -alquilo, y los radicales $NR^{9a}R^{9b}$ son también sus sales fisiológicamente tolerables con ácidos y los radicales CO_2R^9 , donde R^9 significa hidrógeno, también sus sales fisiológicamente tolerables con bases.

Un ejemplo particularmente preferido de tales inhibidores del receptor de progesterona es el compuesto 11β -(4-acetilfenil)- 17β -hidroxi- 17α -(1,1,2,2,2-pentafluoretil)-estra-4,9-dien-3-ona (de aquí en adelante, compuesto A). Sin embargo, también son apropiadas otras antiprogestinas, por ejemplo onapriston (11β -[p-(dimetilamino)fenil]- 17α -hidroxi-17-(3-hidroxipropil)- 13α -estra-4,9-dien-3-ona).

El efecto de los inhibidores de receptor de progesterona se encuentra especialmente en células tumorales que presentan una expresión elevada y/o constitutiva del receptor de progesterona, por ejemplo, la línea de células de carcinoma de mama T47D que tiene receptor de progesterona positivo (Sartorius et al., Cancer Res. 54 (1994), 3668-3877).

Los inhibidores de receptor de progesterona inhiben el aumento de la expresión de factores de crecimiento inducido por progesterona, especialmente de aquellos factores que se fijan en factores de crecimiento de la familia de receptores EGF, como por ejemplo el receptor EGF. Los inhibidores in-

hiben especialmente la fijación de EGF en células de carcinoma de mama humanas.

De allí que según la presente invención, los inhibidores del receptor de progesterona puede usarse para la terapia de tumores en mamíferos y preferentemente en humanos, especialmente para bloquear la progresión de un tumor, particularmente de un carcinoma de mama cuyo crecimiento es esteroide-dependiente a un crecimiento dependiente del factor de crecimiento. De esta manera puede realizarse un tratamiento efectivo del tumor en el estadio de crecimiento esteroide-dependiente, p.ej. con antiestrógenos, sin que el tumor pueda avanzar al estadio dependiente del factor de crecimiento que viene acompañado de un considerable empeoramiento del pronóstico para el paciente. También en el estadio del crecimiento dependiente del factor de crecimiento la administración de los inhibidores del receptor de progesterona pueden hacer que el crecimiento del tumor sea más lento.

A los fines de la presente invención pueden usarse antiestrógenos no-esteroides, p. ej. tamofixen y nafoxidina, así como también raloxifen y EM800. Los dos últimos son representantes de los denominados SERM (Selective Estrogen Receptor Modulators). Según la presente invención, también pueden usarse otros compuestos con el perfil de efecto de los SERM, p. ej. los compuestos que se mencionan en la PCT/EP99/05093 y de entre estos especialmente el compuesto

5-(4-{5-[(RS)-4,4,5,5,5pentafluoropentil)sulfinil]pentiloxi}fenil)-6-fenil-8,9-dihidro-7Hbenzociclohepten-2-ol.

Los ejemplos de estos antiestrógenos esteroides comprenden aquellos que se revelan en la EP 0 348 341A, particularmente faslodex, y aquellos que se revelan en la W098/07740, especialmente 11 β -flúor-7 α -{5- [N-metil-N-3-(4,4,5,5,5 pentafluorpentiltio-propilamino] -pentyl}-estra-1,3,5(10)trieno-3,17 β -diol, o aquellos que se describen en la W099/33855, particularmente 11 β -fluor7 α -{5-[metil-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluor-decil)-amino]-pentil}-estra-1,3,5(10)trien-3,17 β -diol o derivados farmacéticamente tolerables o análogos de los mismos. Los inhibidores de aromata-seína con efecto antiestrógeno como p. ej. aquellos que aparecen en las páginas 7 - 8 de la EP 0 495 825 B1 también pueden ser usados como antiestrógenos.

Los inhibidores de receptor de progesterona pueden administrarse según métodos habituales, p. ej. en forma local, tópica, por vía subcutánea, enteral o parenteral. Para la administración enteral se pueden usar tabletas, grageas, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones que se preparan de manera habitual con las sustancias aditivas y vehículos galénicamente conocidos. Para la aplicación local o tópica se pueden usar, p. ej. óvulos vaginales y sistemas transdérmicos como parches cutáneos. La aplicación subcutánea puede realizarse por inyección con una solución oleosa.

Una unidad posológica puede contener, por ejemplo, 0,1 a 100 mg de compuesto/s activo/s (inhibitor/es del receptor de progesterona). La dosis diaria del/de los compuesto/s activo/s en el humano es de aproximadamente 0,1 a 400 mg, preferentemente de aproximadamente 10-100 mg y particularmente de aproximadamente de 50 mg.

La invención se explicará a continuación por medio de los siguientes ejemplos y figuras:

Figura 1 Muestra el efecto antiproliferativo de sustancias de ensayo en la línea de células de carcinoma de mama T47D.

Figura 2 Indica la cantidad de proteína del receptor de progesterona (PR) y del receptor de estrógeno en la línea de células de carcinoma de mama T47D.

Figura 3 Describe la actividad de transcripción del receptor de progesterona en células T47D.

Figura 4 Es un análisis Scatchard de la fijación de EGF en células T47D según la presencia de sustancias de ensayo.

Figura 5 Muestra la fijación de EGF en células T47D dependiente de la presencia de sustancias de ensayo.

EJEMPLOS

1. Materiales y métodos

Materiales:

Se adquirió ^{125}I -EGF (100mCi/mmol) de Amersham Buchler. El compuesto A, el hidroxitamoxifen (4-OH-Tam), el ZM182780 y el estradiol fueron sintetizados en el Instituto Químico de Medicamentos de Schering AG según métodos conocidos.

Líneas de células:

Se usó la línea de células de carcinoma de mama humana T47D con receptores de estrógeno-(ER) y progesterona-(PR)-positivos (Freake et al., BBRC 101 (1981), 1131-1138).

Estudios de crecimiento:

Las células tumorales se cultivan a 5000 células/cerdilla en 96 cubetas de cultivo durante 6 días en medio RPMI + 10 % suero bovino, 200 nM insulina y 0,1 nM estradiol en presencia de los respectivos compuestos indicados y se determinó el crecimiento por coloración con cristal violeta.

Cantidad de proteína PR y ER:

La determinación de las cantidades de PR y ER se realizó en lisados de células utilizando ensayos de fijación de esteroide con progesterona o estradiol con marcado radioactivo, según el método descrito por Fuhrmann et al, (Contraception 54 t 1996), 243251).

Fijación de ^{125}I -EGF en células tumorales:

Se incubaron células T47D pretratadas con R5020 durante 2 h con ^{125}I -EGF a 4°C. La fijación no específica fue siempre de menos del 10 % de la fijación total.

Ensayo de transactivación:

Células T47D fueron conjugadas transientemente con MTV-LUC (Cato et al., EMBO J., 9:2237-40) y cultivadas en ausencia o en presencia de 1 nM R5020. Para comprobar un antagonismo intermediado por PR, las células T47D conjugadas transientemente fueron tratadas con R5020 y adicionalmente con concentraciones crecientes de compuesto A o RU486. Después de 24 h se realizó un ensayo de luciferasa.

Resultados

La figura 1 muestra el efecto antiproliferativo de diferentes sustancias de ensayo. Las células T47D fueron cultivadas en presencia (grisado superior) o en ausencia (grisado inferior) de 0,1 nM E_2 + concentraciones crecientes de compuesto A(^), onapriston (v), ZK 191703 (•) o 4-OH-Tam(•). En las células T47D, el compuesto A propiamente dicho presenta un efecto antiproliferativo significativo, aún en concentraciones extremadamente pequeñas.

La figura 2 muestra la cantidad de proteína PR y ER en células T47D.

La figura 3 muestra la actividad transcripcional de PR en células T47D, donde las respectivas células se conjugan transientemente con MTV-LUC y se cultivaron en ausencia (Co) o en presencia de 1 nM R5020 (a). Para comprobar un antagonismo intermediado por PR, las células T47D conjugadas tran-

sientemente fueron tratadas con 0,1 nM de R5020 y con concentraciones crecientes de compuesto A o RU486 (b).

En la figura 4 se observa un análisis Scatchard de la fijación de ^{125}I -EGF en células T47D. Las células fueron cultivadas durante 48 h en presencia de 20 nM R5020 con o sin 20 nM de compuesto A y a continuación fueron lavadas. Luego se determinó la fijación EGF en un rango de concentraciones de 0,25 a 150 ng/ml EGF por incubación durante 2 h a 4°C. Los insertos muestran la cantidad de ligandos fijados con respecto al logaritmo de la concentración libre de ligandos. Se comprueba que el aumento de la fijación de EGF provocado por R5020 (figura del centro) con respecto al control (figura superior) puede ser bloqueado agregando compuesto A (figura inferior).

En la figura 5 se aprecia la fijación de ^{125}I -EGF en células T47D intactas. Para ello, las células fueron tratadas durante 48 h con 2 o 20 nM R5020 + compuesto A o onapriston o compuesto A solo. También aquí se aprecia que el compuesto A bloquea el aumento de la fijación de EGF en células T47D provocada por R5020. Un efecto parecido, aunque considerablemente más débil, se observó al usar onapriston.

3. Debate

Los resultados que anteceden demuestran que el crecimiento de células T47D con contenido elevado o constitutivo

de PR, estimulado por estradiol, pudo ser bloqueado efectivamente por medio del compuesto A.

Por medio de ensayos de transactivación pudo demostrarse que el PR de las células era transcripcionalmente activo y que pudo ser bloqueado por el compuesto A.

La estimulación de las células T47D con R5020 produjo un aumento doble a triple de la expresión del receptor EGF, que fue bloqueado por el compuesto A. Al mismo tiempo, la fijación de EGF en las células sufrió un aumento doble a triple y pudo ser impedido por el compuesto A y de manera menos eficiente por onapriston. La fijación de EGF aumentada en células tratadas con R5020 podría ser provocada por una expresión de receptor EGF aumentada o un aumento de la formación de heterodímeros entre el receptor EGF y erbB2.

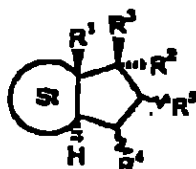
Estos resultados demuestran la interacción entre los sistemas de señal de PR y el factor de crecimiento en células de carcinoma de mama humanas. Mediante el uso de anti-progestinas es posible inhibir o impedir la progresión de células tumorales de su crecimiento esteroide-dependiente a su crecimiento dependiente del factor de crecimiento.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un inhibidor del receptor de progesterona para preparar un medicamento para inhibir la fijación de factores de crecimiento en células tumorales y/o en un tumor.

2. Uso según la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE, se inhibe la proliferación de las células tumorales o/y del tumor, provocada por factores de crecimiento.

3. Uso según la reivindicación 1 o 2, CARACTERIZADO PORQUE, el inhibidor del receptor de progesterona se selecciona de 17 α -fluoralquilesteroides de la fórmula general 1



donde

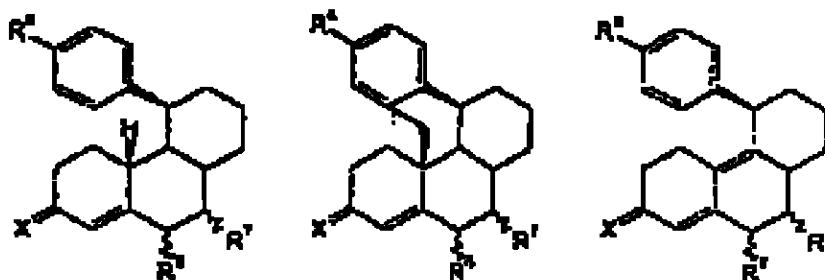
R¹ es un grupo metilo o etilo,

R² es un radical de la fórmula C_nF_mH_o, donde n = 2,3,4,5 o 6, m > 1 y m+o = 2n+1,

R³ es un grupo hidroxil libre, eterificado o esterificado,

R⁴ y R⁵ es, cada uno, un átomo de hidrógeno y juntos son un enlace adicional o un grupo metilo,

St es un sistema de anillo esteroide ABC de la fórmula parcial A, B o C



donde

R^6 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o un átomo de halógeno,

R^7 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o

si St es un sistema de anillo esteroide A o B, R^6 y R^7 juntos, son un enlace adicional,

X es un átomo de oxígeno, un agrupamiento hidroximinio = N-OH o dos átomos de hidrógeno,

R^8 es un radical Y o un radical arilo que puede estar polisustituido con un grupo Y, donde Y es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo OH, NO_2 , N_3 , CN, $NR^{9a}R^{9b}$, $NHSO_2R^9$, CO_2R^9 , C_1-C_{10} -alcoxi, C_1-C_{10} -alcanoiloxi, benzoiloxi- C_1-C_{10} -alcanoilo, C_1-C_{10} -hidroxialquilo o benzoilo,

y R^{9a} y R^{9b} son iguales o diferentes y representan, al igual que R^9 , un átomo de hidrógeno o un grupo C_1-C_{10} -alquilo,

y los radicales $NR^{9a}R^{9b}$ son también sus sales fisiológicamente tolerables con ácidos y los radicales CO_2R^9 , donde R^9 sig-

nifica hidrógeno, también son sus sales fisiológicamente tolerables con bases.

4. Uso según la reivindicación 3, CARACTERIZADO PORQUE, el inhibidor del receptor de progesterona es el compuesto 11β -(4-acetilfenil)- 17β -hidroxi- 17α -(1,1,2,2,2-pentafluoretil)-estra-4,9-dien-3-ona.

5. Uso según las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE, las células tumorales presentan expresión elevada o/y constitutiva del receptor de progesterona.

6. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO PORQUE, las células tumorales son células de carcinoma de mama.

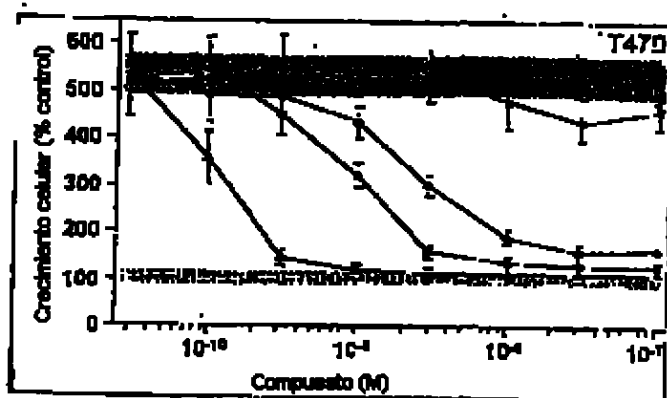
7. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 6, CARACTERIZADO PORQUE, la fijación de EGF o/y otros factores que se fijan en el receptor EGF es inhibida en células tumorales.

8. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 7, CARACTERIZADO PORQUE, se inhibe la formación de heterodímeros entre el factor EGF y erbB2.

9. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, para tratar tumores.

10. Uso según la reivindicación 9, para inhibir la progresión de un tumor de su crecimiento esteroide-dependiente a su crecimiento dependiente del factor de crecimiento.

1/5



[Ejes de la tabla:]

Crecimiento celular (% de control) = crecimiento celular (% de control)

Compuesto (M) = compuesto (M)

Figura 1:

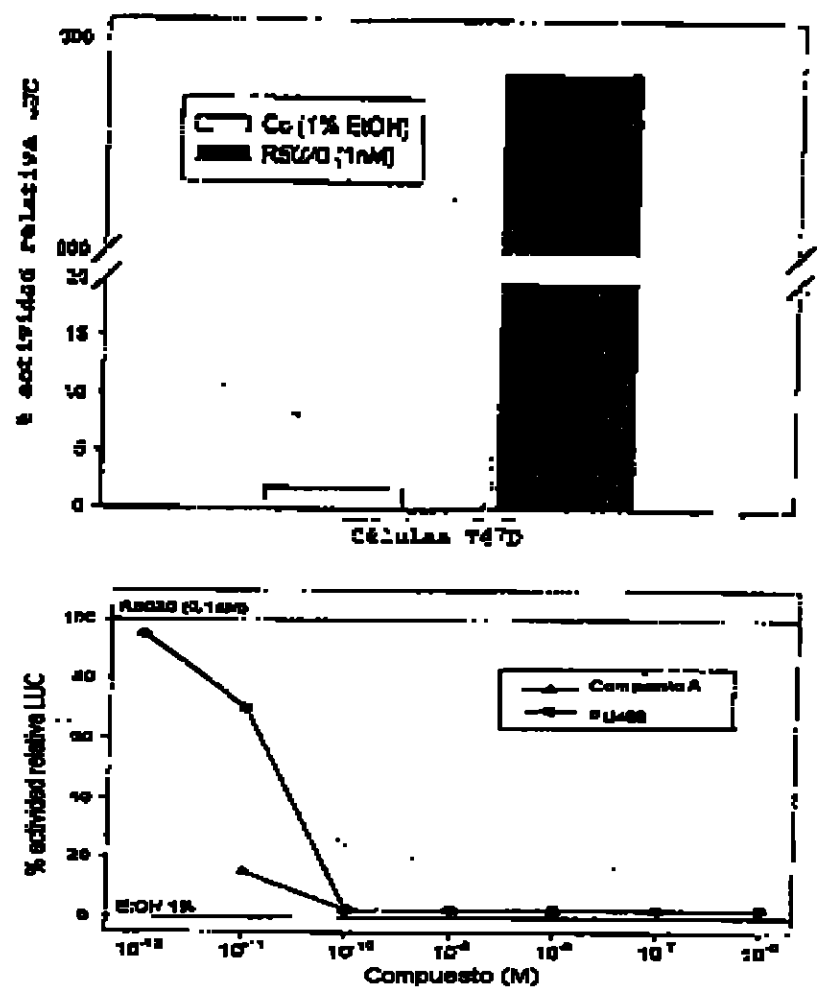
Efecto antiproliferativo. Las células T47D crecieron en presencia (grisado superior) o en ausencia (grisado inferior) de 0,1 nM E₂ + concentraciones crecientes de compuesto A ((σ), onapriston (v), ZK 191703 (*) o 4-OH-Tam(u)

2/5



[Ejes de la tabla:]
 Células T47D = células T47D

Figura 2:
 Cantidad del receptor de progesterona (PR) y del receptor de estrógeno (ER) en células T47D. Las cantidades de PR y ER fueron determinadas en lisados de células, utilizando ensayos de fijación de esteroide con progesterona o estradiol con marcado radioactivo.



[Ejes de la tabla:]

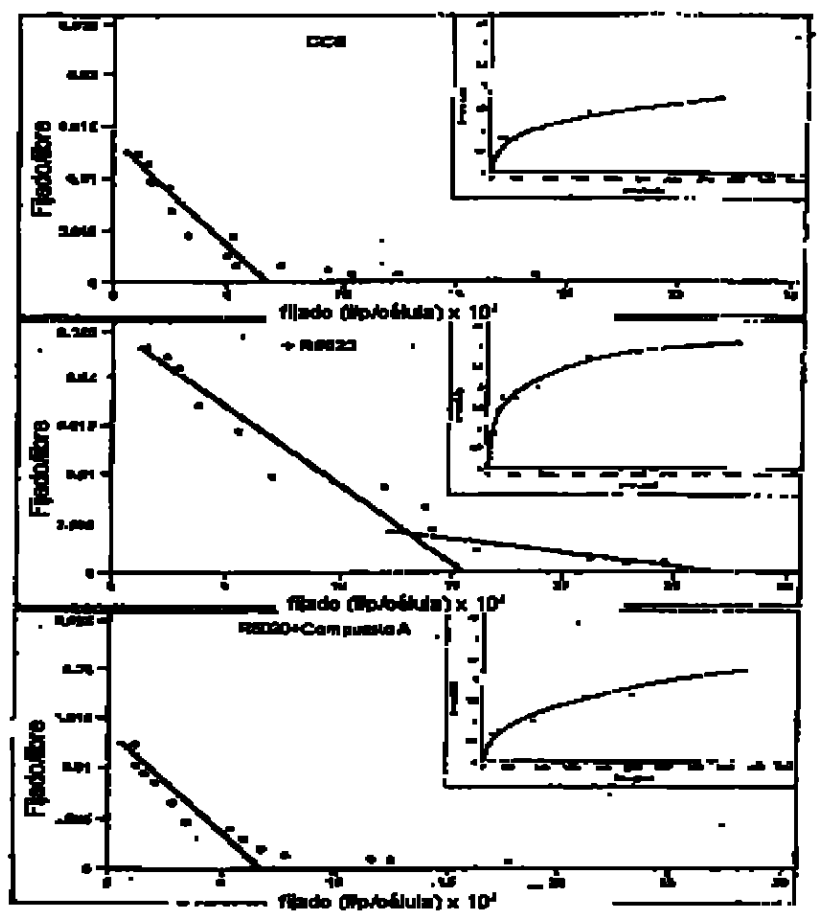
% de actividad LUC relativo = % de actividad LUC relativo

Compuesto (M) = compuesto (M)

Figura 3: Actividad transcripcional de PR en células T47D

A: Células T47D fueron conjugadas transientemente con MTV-LUC y cultivadas en ausencia o en presencia de 1 nM de R5020.

B: Para comprobar un antagonismo intermediado por PR, las células T47D conjugadas transientemente fueron tratadas con 0,1 nM de R5020 y adicionalmente con concentraciones crecientes de compuesto A o RU486.



[Ejes de la tabla:]

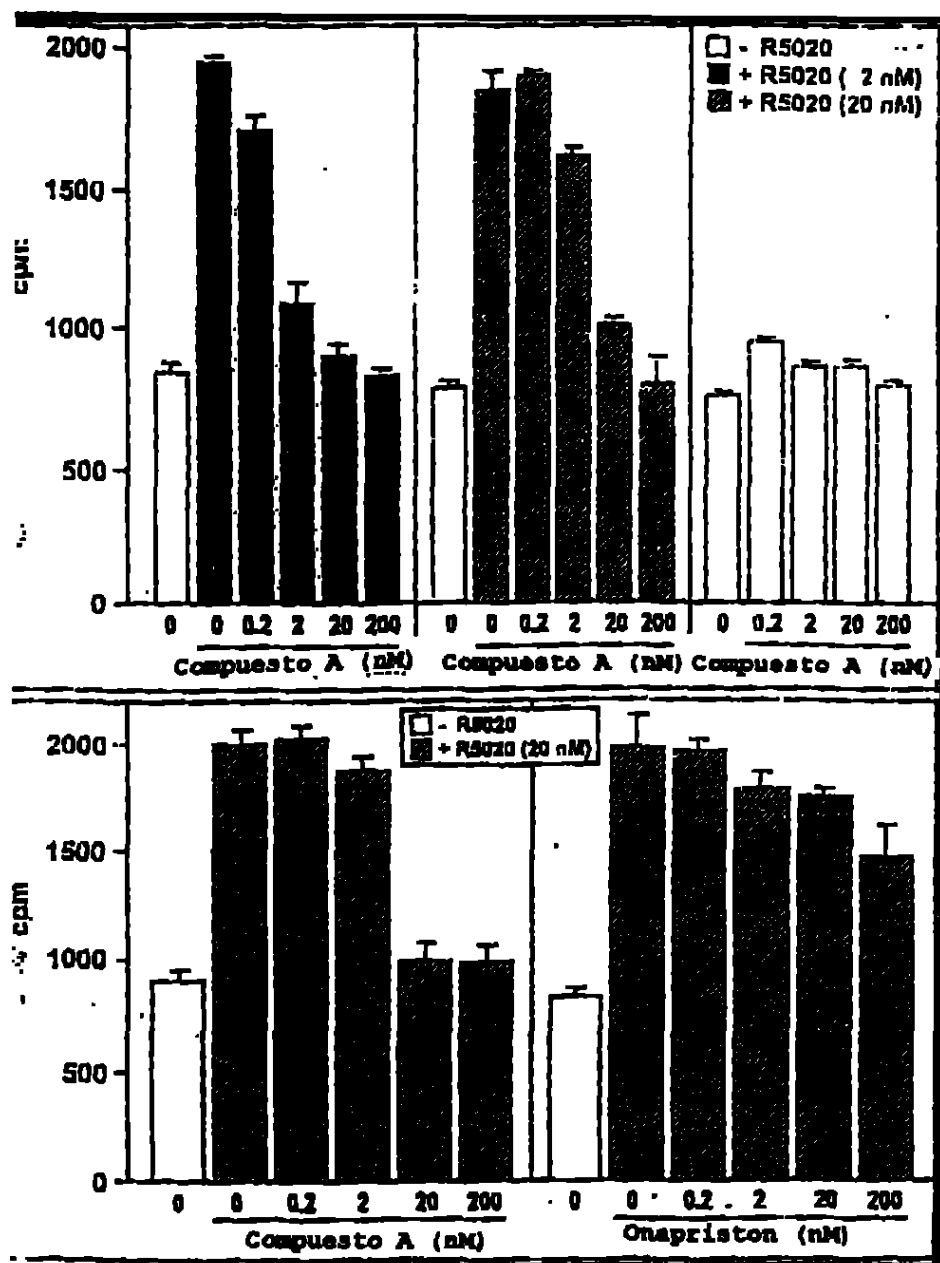
ligandos fijos/libres = ligandos fijos/libres
fijos (# por células) = fijos (# por células)

Figura 4: Análisis Scatchard de la fijación de ¹²⁵I-EGF en células T47D.

Las células fueron cultivadas durante 48 h en presencia de 20 nM R5020 con o sin 50 nM de compuesto A y a continuación

fueron lavadas. Luego se determinó la fijación EGF en un rango de concentraciones de 0,25 a 150 ng/ml EGF por incubación durante 2 h a 4°C. Los insertos muestran la cantidad de ligandos fijados con respecto al logaritmo de la concentración libre de ligandos.

5/5



[Ejes de la tabla:]
Compuesto = compuesto
Onapriston = onapriston

Figura 5:
Fijación de ^{125}I -EGF en células T47D.
Las células fueron pretratadas durante 48 h con 2 o 20 nM
R5020 + compuesto A o onapriston, o con compuesto A solo.

Inhibition of the Growth Factor Dependency of Tumor Cells

Description

The invention relates to the use of progesterone receptor inhibitors for inhibiting the growth factor dependency of tumor cells.

Estradiol and progesterone are involved in the development of breast cancer. At the time of diagnosis, however, only about 1/3 of the tumors show a steroid hormone dependency. It is assumed that in the majority of steroid hormone-resistant tumors, the proliferation control for local-acting autocrine or paracrine peptidic growth factors is taken over. In this case, invasive tumors with extremely poor prognosis that are growth-factor-receptor-positive and steroid hormone-resistant result (Elledge et al., Semin. Onkol. 19 (1992), 244-253).

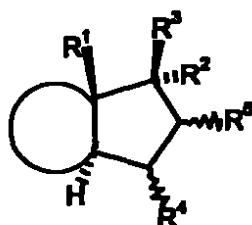
Growth factors regulate the cell growth by activation of intracellular signal transduction pathways after binding to highly affine tyrosine kinase receptors on the cell surface. More recent findings suggest that breast carcinoma cells can be sensitized by progestins for the mitogenic action of EGF (Groshong et al., Mol. Endocrinol. 11 (1997), 1593-1607). Thus, for example, it was possible for progesterone in the human breast carcinoma cell line T47D to induce the onset of cells in the S-phase accompanied by a transient increase of the activity of cyclin 1D and the cyclin-dependent kinase 4. The growth

stimulation is limited to a single cycle, however, and is followed by a growth arrest at the G1/S-transition of the second cycle (Groshong et al. (1997), supra: Musgrove et al., Mol. Cell. Biol. 13 (1993), 3577-3587). In its condition that is stopped by progesterone, the cells are sensitive to the proliferative action of EGF. In addition, it was shown that progesterone enhances the action of EGF on T47D cells by ramping up EGFR, Erb2 and Erb3 and increases the tyrosine phosphorylation of signal molecules (Lange et al., J. Biol. Chem. 273 (1998), 31308-31316; Richer et al., J. Biol. Chem. 273 (1998), 31317-31326). In contrast, it has not yet been possible to show an inhibition of the action of EGF on tumor cells by influencing the progesterone receptor.

Within the scope of tests leading to this invention, it has now been found, surprisingly enough, that inhibitors of the progesterone receptor, e.g., 17 α -fluoroalkyl steroids, can at least partially inhibit the binding of growth factors, such as EGF, to tumor cells, especially to tumor cells that have a high and/or constitutive expression of the progesterone receptor.

A subject of this invention is thus the use of an inhibitor of the progesterone receptor for the production of an agent for inhibiting the binding of growth factors to tumor cells and especially for inhibiting a proliferation of tumor cells or tumors that are produced by growth factors. An inhibitor of the progesterone receptor in terms of this invention is preferably a substance that competitively inhibits the binding of progesterone to its receptor. In this case, the inhibitor of the progesterone

receptor is preferably selected from 17 α -fluoroalkyl steroids, as they are disclosed in, e.g., WO98/34947. These 17 α -fluoroalkyl steroids exhibit general formula I:



I

in which

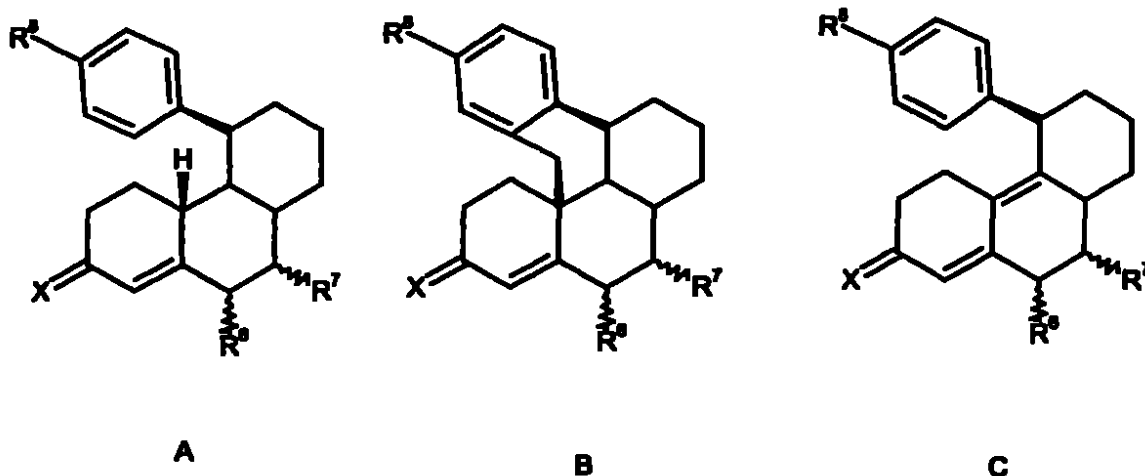
R¹ stands for a methyl or ethyl group,

R² stands for a radical of formula C_nF_mH_o, whereby n = 2, 3, 4, 5 or 6, m > 1 and m + o = 2n + 1,

R³ stands for a free, etherified, or esterified hydroxy group,

R⁴ and R⁵ each stand for a hydrogen atom, together for an additional bond or a methylene group,

St stands for a steroidal ABC-ring system of partial formula A, B or C



in which

R^6 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group or a halogen atom,

R^7 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group, or, if St stands for a steroidal ABC-ring system A or B, in addition R^6 and R^7 together mean an additional bond,

X means an oxygen atom, a hydroxymino grouping = N - OH or two hydrogen atoms,

R^8 means a radical Y or an aryl radical that is optionally substituted with a group Y in several places, whereby Y is a hydrogen atom, a halogen atom, an -OH, -NO₂, -N₃, -CN, -NR^{9a}R^{9b}, -NHSO₂R⁹, -CO₂R⁹, C_1 - C_{10} alkoxy,

C₁-C₁₀ alkanoyloxy, benzoyloxy-C₁-C₁₀ alkanoyl, C₁-C₁₀ hydroxyalkyl or benzoyl group,

and R^{sa} and R^{sb} are the same or different and like R^s represent a hydrogen atom or a C₁-C₁₀ alkyl group, and for radicals -NR^{sa}R^{sb}, also their physiologically compatible salts with acids and for radicals -CO₂R^s with R^s in the meaning of hydrogen also their physiologically compatible salts with bases.

An especially preferred example of such inhibitors of the progesterone receptor is the compound 11 β -(4-acetylphenyl)-17 β -hydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)-estra-4,9-dien-3-one (compound A below). Moreover, other antiprogestins, for example onapristone (11 β -[p-(dimethylamino)phenyl]-17 α -hydroxy-17-(3-hydroxypropyl)-13 α -estra-4,9-dien-3-one) are also suitable, however.

The action of the progesterone receptor inhibitors is found especially in the case of tumor cells that have a high and/or constitutive progesterone receptor expression, for example the progesterone receptor-positive breast carcinoma cell line T47D (Sartorius et al., Cancer Res. 54 (1994), 3668-3877).

The progesterone receptor inhibitors inhibit the progesterone-induced enhancement of the expression of growth factors, especially those factors that bind to growth factors of the EGF receptor family, such as, for example, the EGF receptor.

The inhibitors especially preferably inhibit the binding of EGF to human breast carcinoma cells.

According to this invention, the progesterone receptor inhibitors can therefore be used for tumor therapy in mammals and preferably in humans, specifically especially to block the progression of a tumor, especially a breast carcinoma of steroid-dependent growth to growth-factor-dependent growth. In this way, an effective treatment of the tumor can take place in the stage of the steroid-dependent growth, e.g. by antiestrogens, without the tumor being able to progress in the stage of the growth-factor-dependent growth, associated with a considerable worsening of the prognosis for the patient. The administration of the progesterone receptor inhibitors can also produce a slowing of tumor growth in the stage of the growth-factor-dependent growth.

For the purpose of this invention, non-steroidal antiestrogens, such as, e.g., tamoxifen and nafoxidine, and raloxifene and EM800, can be used. The two last-mentioned antiestrogens are representatives of the thus mentioned SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators); also, other compounds with the profile of action of the SERMs can be used according to the invention, e.g., the compounds that are mentioned in PCT/EP99/05093 and of the latter in turn especially the compound 5-(4-{5-[(RS)-4,4,5,5,5-pentafluoropentyl)sulfinyl]-pentyloxy}phenyl)-6-phenyl-8,9-dihydro-7H-benzocyclohepten-2-ol.

Examples of steroidal antiestrogens comprise those that are disclosed in EP 0 348 341 A, especially Faslodex, and those that are disclosed in WO98/07740, especially 11 β -fluoro-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio-propylamino)-pentyl]-

estra-1,3,5(10)triene-3,17 β -diol, or those that are described in WO99/33855, especially 11 β -fluoro-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluoro-decyl)-amino]-pentyl}-estra-1,3,5(10)triene-3,17 β -diol or pharmaceutically compatible derivatives or analogs thereof. Aromatase inhibitors with an antiestrogenic effect, such as, for example, those that are known from pages 7-8 of EP 0 495 825 B1, can likewise be used as antiestrogens.

The administration of the progesterone receptor inhibitors can be carried out according to commonly used methods, for example locally, topically, subcutaneously, enterally or parenterally. For enteral administration, especially tablets, coated tablets, capsules, pills, suspensions or solutions are suitable, which can be produced in the usual way with the additives and vehicles that are known in galenicals. For local or topical use, for example, vaginal suppositories or transdermal systems such as skin patches are suitable. The subcutaneous administration can be carried out by injection with an oily solution.

A dosage unit can contain, for example, 0.1 to 100 mg of active compound(s) (= inhibitor(s) of the progesterone receptor).

For administration in humans, the daily dose of the active compound(s) is approximately 0.1 to 400 mg, preferably approximately 10-100 mg and especially approximately 50 mg.

In addition, the invention is to be explained by the following examples and figures. Here:

- Figure 1 shows the antiproliferative action of test substances on the breast carcinoma cell line T47D.
- Figure 2 shows the amounts of protein of progesterone receptor (PR) and estrogen receptor (ER) in breast carcinoma cell line T47D.
- Figure 3 shows the transcriptional activity of the progesterone receptor in T47D cells.
- Figure 4 shows a Scatchard analysis of the binding of EGF to T47D cells as a function of the presence of test substances.
- Figure 5 shows the dependence of the binding of EGF to T47D cells on the presence of test substances.

Example

1. Materials and Methods

Materials:

^{125}I -EGF (100 mCi/mmol) was obtained by Amersham Buchler. Compound A, hydrotamoxifen (4-OH-Tam), ZM182780 and estradiol were synthesized in the Institut für Arzneimittelchemie [Institute for Pharmaceutical Agent Chemistry] of the Schering AG according to known methods.

Cell lines:

The human estrogen receptor (ER)- and progesterone receptor (PR)-positive breast carcinoma cell line T47D (Freaker et al., BBRC 101 (1981), 1131-1138) was used.

Growth studies:

The tumor cells were cultivated at 5000 cells/well in 96-well plates for 6 days in RPMI medium plus 10% bovine serum, 200 nM of insulin and 0.1 nM of estradiol in the presence of the compounds that are indicated in each case, and the growth was determined by staining with crystal violet.

Amount of PR and ER protein:

The amounts of PR and ER in cell lysates are determined with use of steroid binding assays with radiolabeled progesterone or

estradiol according to methods described in Fuhrmann et al. (Contraception 54 (1996), 243-251).

Binding of ^{125}I -EGF to tumor cells:

R5020-Pretreated T47D cells were incubated for 2 hours with ^{125}I -EGF at 4°C. The unspecific binding was always less than 10% of the total binding.

Transactivation assay:

T47D cells were transiently transfected with MTV-LUC (Cato et al., EMBO J., 9: 2237-40) and cultivated in the absence or the presence of 1 nM of R5020. In the test on a PR-mediated antagonism, the transiently transfected T47D cells were treated with R5020 and in addition with increasing concentrations of compound A or RU486. After 24 hours, a luciferase test was performed.

2. Results

Figure 1 shows the antiproliferative action of various test substances. T47D cells were cultivated in the presence- (upper ... cross-hatching) or absence (lower cross-hatching) of 0.1 nM of E_2 plus increasing concentrations of compound A ($\blacktriangle$), onapristone ($\blacksquare$), ZK191703 ($\bullet$) or 4-OH-Tam ($\blacklozenge$). In the case of T47D cells, compound A also shows a significant antiproliferative action at extremely small concentrations.

Figure 2 shows the amounts of PR- and ER protein in T47D cells.

Figure 3 shows the transcriptional activity of PR in T47D cells, whereby the respective cells were transiently transfected with MTV-LUC and cultivated (a) in the absence of (Co) or the presence of 1 nM of R5020. In the test for a PR-mediated antagonism, the transiently transfected T47D cells were treated with 0.1 nM of R5020 and increasing concentrations of compound A or RU468 (b).

In Figure 4, a Scatchard analysis of the ^{125}I -EGF binding to T47D cells is shown. The cells were cultivated for 48 hours in the presence of 20 nM of R5020 with or without 20 nM of compound A and then washed. Then, the EGF-binding over a concentration range of 0.25 to 150 ng/ml of EGF was determined by incubation for 2 hours at 4°C. The insertions show the amount of bonded ligands relative to the logarithm of the free ligand concentration. It is clear that it was possible to block the increase of the EGF binding that is caused by R5020 (middle figure) relative to monitoring (upper figure) when compound A (lower figure) is added.

In figure 5, the binding of ^{125}I -EGF to intact T47D-cells is shown. For this purpose, the cells were treated for 48 hours with 2 or 20 nM of R5020 plus compound A or onapristone or compound A alone. It can also be seen here that compound A blocks the increase of the EGF-binding to T47D cells caused by R5020. A similar -- although considerably weaker effect -- is also found for onapristone.

3. Discussion

The above results show that the estradiol-stimulated growth of T47D cells with high and constitutive PR content was effectively blocked by compound A.

By transactivation assays, it was possible to show that the PR was transcriptionally active in the T47D cells and could be blocked by compound 1.

A stimulation of the T47D cells with R5020 resulted in a 2x to 3x-increased EGF-receptor expression, which was blocked by compound A. At the same time, the binding of EGF to the cells was increased 2- to 3-fold and could be prevented by compound A and less efficiently by onapristone. The increased EGF-binding to R5020-treated cells could be produced by an enhanced EGF-receptor expression or increased heterodimer formation between the EGF receptor and erbB2.

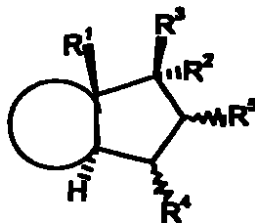
These results show the interactions between PR- and growth factor-signal systems in human breast carcinoma cells. By use of antiprogestins, the progression of tumor cells from steroid-dependent growth is inhibited or prevented for growth-factor-dependent growth.

Claims

1. Use of an inhibitor of the progesterone receptor for the production of an agent for the inhibition of the binding of growth factors to tumor cells and/or to a tumor.

2. Use according to claim 1, characterized in that a proliferation of the tumor cells and/or the tumor produced by growth factors is inhibited.

3. Use according to claim 1 or 2, wherein the inhibitor of the progesterone receptor is selected from 17 α -fluoroalkyl steroids of general formula I



I

in which

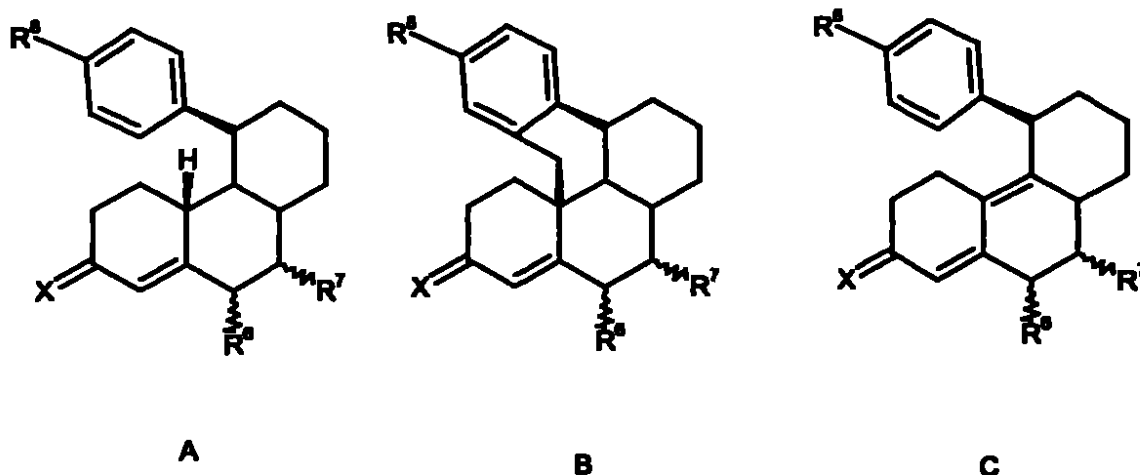
R¹ stands for a methyl or ethyl group,

R² stands for a radical of formula C_nF_mH_o, whereby n is 2, 3, 4, 5 or 6, m > 1 and m + o = 2n + 1,

R³ stands for a free, etherified, or esterified hydroxy group,

R⁴ and R⁵ each stand for a hydrogen atom, together for an additional bond or a methylene group,

St stands for a steroidal ABC-ring system of partial formula A, B or C



in which

R^6 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group or a halogen atom,

R^7 means a hydrogen atom, a straight-chain C_1 - C_4 alkyl group or a branched C_3 - C_4 alkyl group, or, if St stands for a steroidal ABC-ring system A or B, in addition R^6 and R^7 together mean an additional bond,

X means an oxygen atom, a hydroxymino grouping = N - OH or two hydrogen atoms,

R^8 means a radical Y or an aryl radical that is optionally substituted with a group Y in several places, whereby Y is a hydrogen atom, a halogen atom, an -OH, -NO₂, -N₃, -CN, -NR^{9a}R^{9b}, -NHSO₂R⁹, -CO₂R⁹, C₁-C₁₀ alkoxy, C₁-C₁₀

alkanoyloxy, benzoyloxy- C_1-C_{10} alkanoyl, C_1-C_{10}

hydroxyalkyl or benzoyl group,

and R^{9a} and R^{9b} are the same or different and like R^9

represent a hydrogen atom or a C_1-C_{10} alkyl group,

and for radicals $-NR^{9a}R^{9b}$, also their physiologically compatible salts with acids and for radicals $-CO_2R^9$ with R^9 in the meaning of hydrogen also their physiologically compatible salts with bases.

4. Use according to claim 3, wherein the inhibitor of the progesterone receptor is the compound 11β -(4-acetylphenyl)- 17β -hydroxy- 17α -(1,1,2,2,2-pentafluoroethyl)estra-4,9-dien-3-one.

5. Use according to one of claims 1 to 4, wherein the tumor cells have a high and/or constitutive progesterone receptor expression.

6. Use according to one of claims 1 to 5, wherein the tumor cells are breast carcinoma cells.

7. Use according to one of claims 1 to 6, wherein the binding of EGF and/or other factors, which bind to the EGF receptor, is inhibited in tumor cells.

8. Use according to one of claims 1 to 7, wherein the formation of heterodimers between the EGF receptor and erbB2 is inhibited.

9. Use according to one of claims 1 to 8 for tumor therapy.

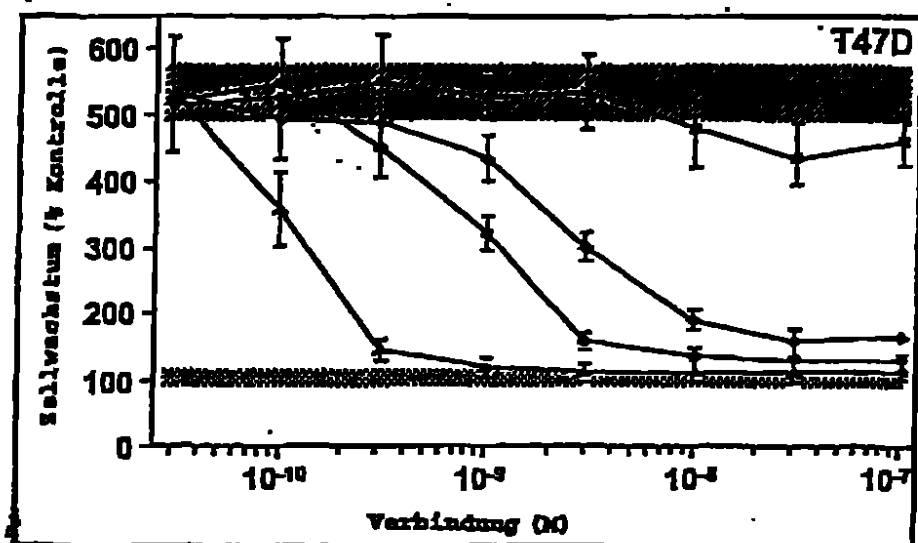
10. Use according to claim 9 to inhibit the progression of a tumor of steroid-dependent growth to growth-factor-dependent growth.

Abstract

The invention relates to the use of progesterone receptor inhibitors for inhibition of growth-factor-dependency of tumor cells.

ei/ANM/222921PDE 10[✓]/18/2000

1/5



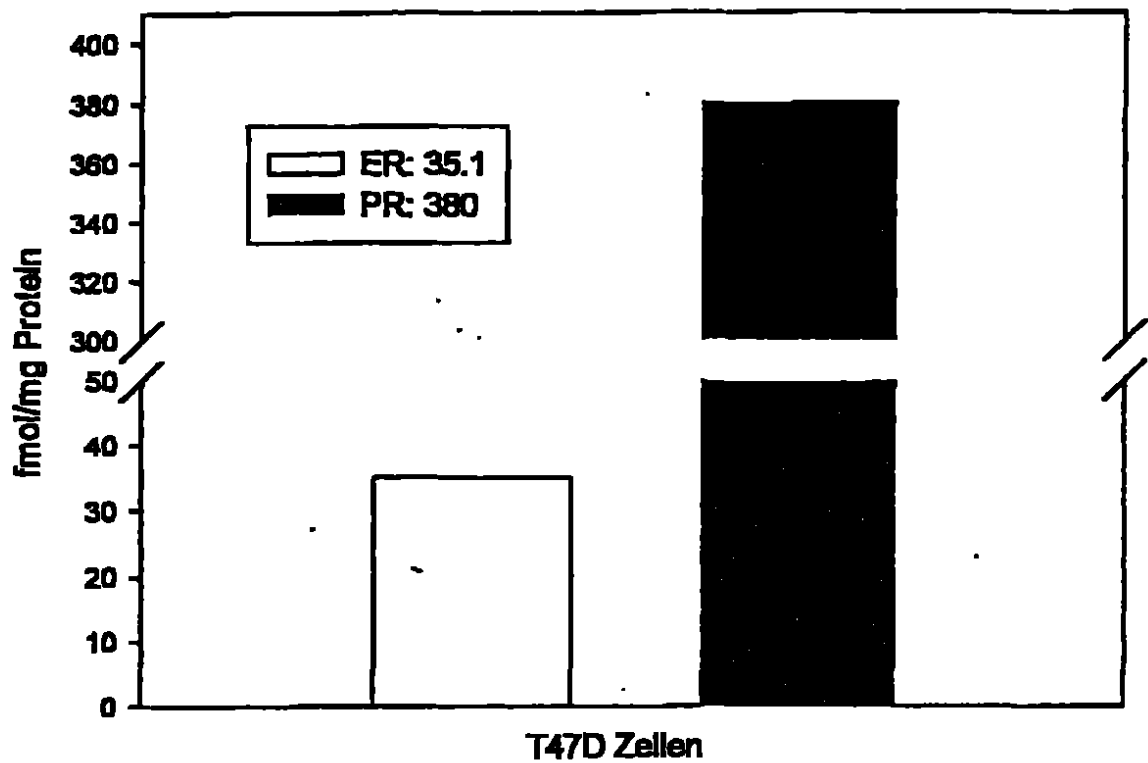
[Key to table:]

Zellwachstum (% Kontrolle) = cell growth (% control)

Verbindung (M) = compound (M)

Figure 1: Antiproliferative action. T47D cells were cultivated in the presence (upper cross-hatching) or absence (lower cross-hatching) of 0.1 nM of E₂ plus increasing concentrations of compound A (Δ), onapristone (■), ZK191703 (●) or 4-OH-Tam (◆).

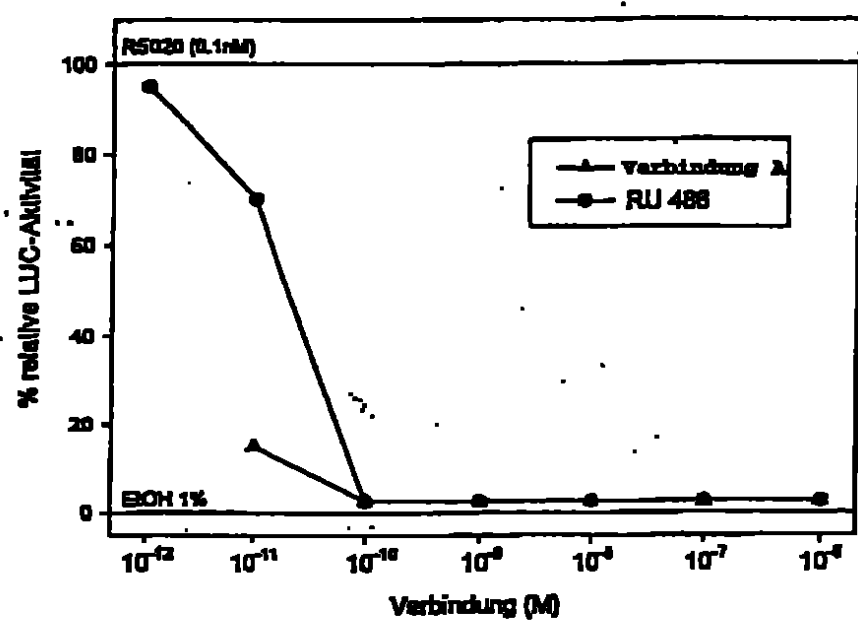
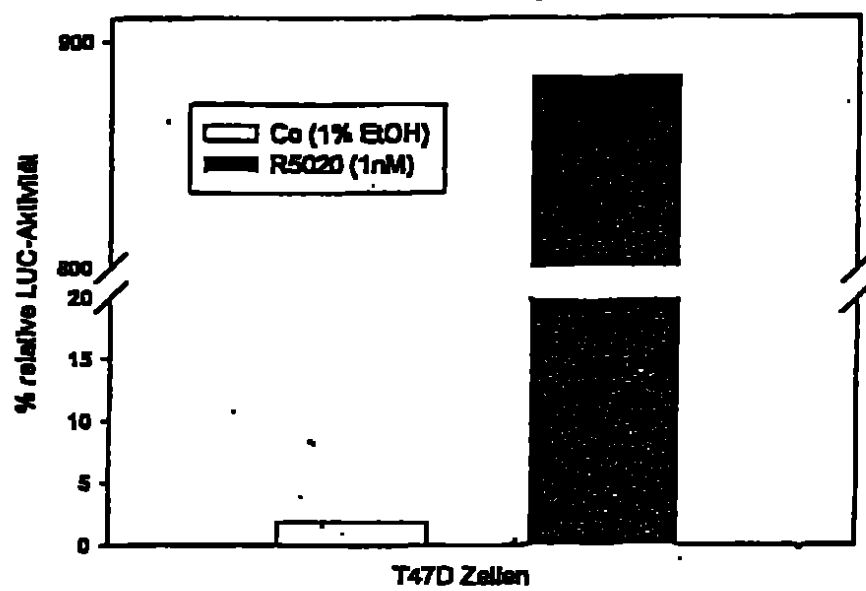
2/5



[Key to Table:]

T47D Zellen = T47D cells

Figure 2: Amounts of protein of progesterone receptor (PR) and estrogen receptor (ER) in T47D cells. The amounts of PR and ER were determined in cell lysates using steroid binding assays with radiolabeled progesterone or estradiol.

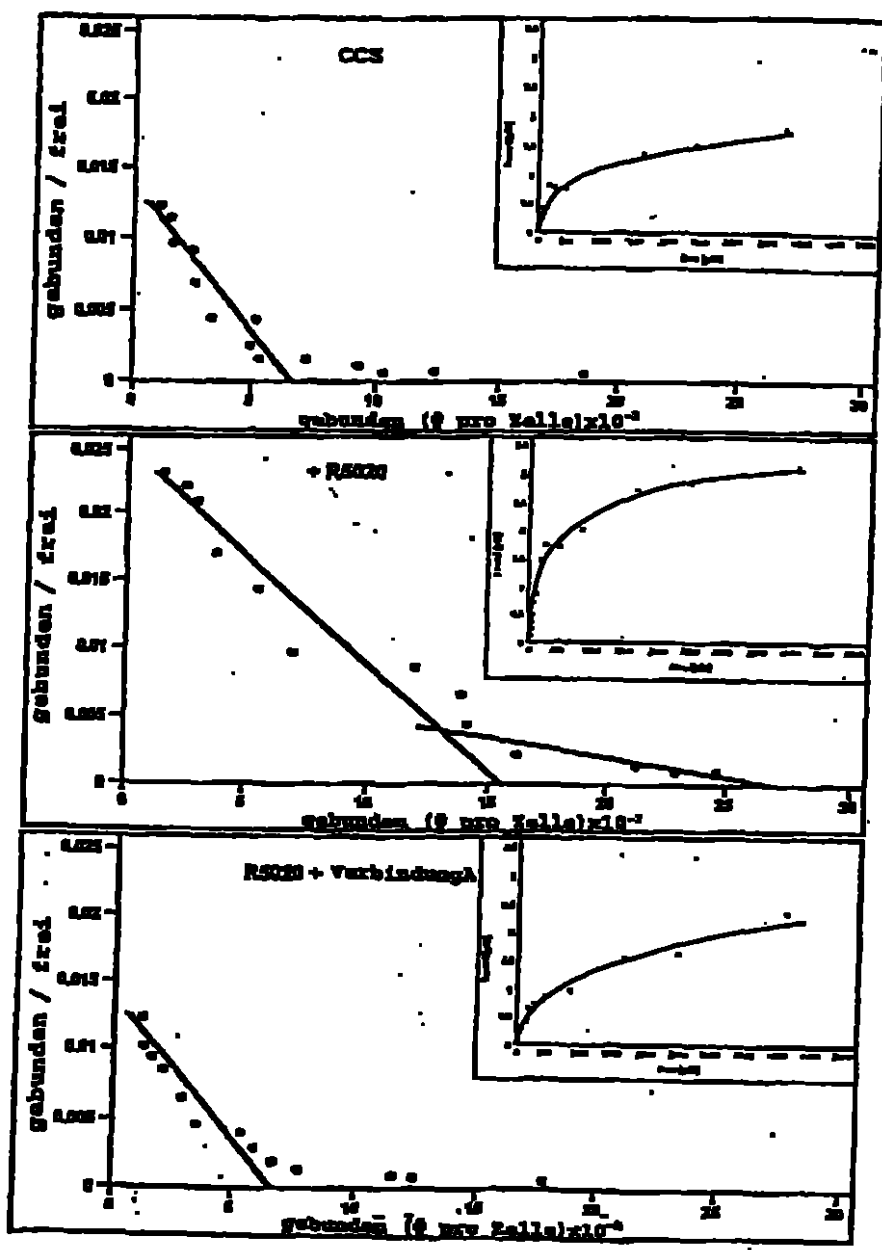


[Key to Table:]

%relative LUC-Aktivität = % of relative LUC activity

Verbindung (M) = compound (M)

Figure 3: Transcriptional activity of PR in T47D cells. A: T47D cells were transiently transfected with MTV-LUC and cultivated in the absence or in the presence of 1 nM of R5020. B. To test for a PR-mediated antagonism, the transiently transfected T47D cells were treated with 0.1 nM of R5020 and increasing concentrations of compound A or RU486.

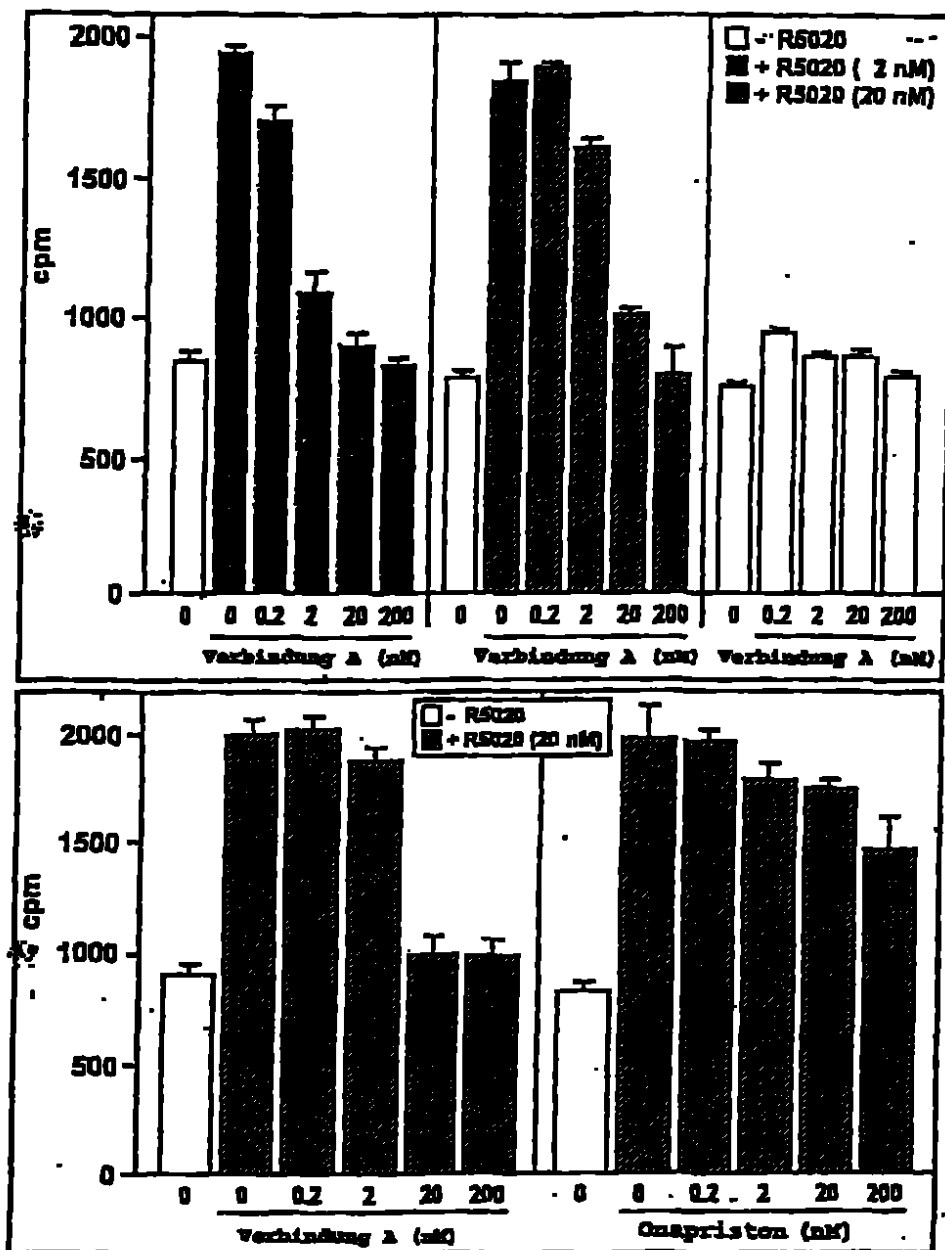


[Key to table:]

gebunden/free = bonded/free

gebunden (# pro Zelle) = bonded (# per cell)

Figure 4: Scatchard analysis of the ^{125}I -EGF binding. T47D cells were cultivated for 48 hours in the presence of 20 nM of R5020, with or without 50 nM of compound A, then washed and then the ^{125}I -EGF binding was determined over a range of 0.25-150 ng/ml of EGF by incubation for 2 hours at 4°C. The inserts show the amount of bonded ligands compared to the logarithm of the free ligand concentration.



[Key to table:]

Verbindung = compound

Onapriston = onapristone

Figur 5: Binding of ^{125}I -EGF to intact T47D cells. The cells were pretreated for 48 hours with 2 or 20 nM of R5020 plus compound A or onapristone, or with compound A alone.

Inhibición de la dependencia de células tumorales del factor de crecimiento

Descripción

La invención se refiere al uso de inhibidores de receptores de progesterona para inhibir la dependencia de las células tumorales del factor de crecimiento.

El estradiol y la progesterona participan en la evolución del cáncer de mama. Sin embargo, al tiempo del diagnóstico, sólo aproximadamente 1/3 de los tumores presentan una dependencia de las hormonas esteroides. Se supone que en la mayoría de los tumores resistentes a las hormonas esteroides, el control de la proliferación es asumido por factores de crecimiento peptídicos autocrinos y paracrinos de efecto local. Así resultan tumores invasivos de pronóstico extremadamente malo que son de receptor de factor de crecimiento positivo y resistentes a las hormonas esteroides. (Elledge et al, Semin. Onkol. 19 (1992), 244-253).

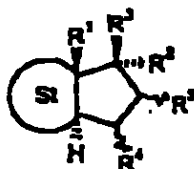
Los factores de crecimiento regulan el crecimiento celular por activación de vías de transducción de señales intracelulares después de fijarse en receptores de tirosinkinasa de gran afinidad de la superficie de las células. Nuevas investigaciones permiten suponer que las células de carcinoma de mama pueden ser sensibilizadas al efecto mitógeno de EGF por progestinas (Groshong et al, Mol. Endocrinol. 11 (1997), 1593-1607). Así es que por ejemplo, la progesterona

pudo inducir en línea de células de carcinoma de mama T47D, la entrada de las células en la fase S acompañado de un aumento transiente de la actividad de la ciclina 1D y de la kinasa 4, dependiente de la ciclina. Sin embargo, la estimulación del crecimiento está limitado a un único ciclo y seguido de una detención del crecimiento en la transición G1/S del segundo ciclo. (Groshong et al. (1997), véase más arriba; Musgrove et al, Mol.Cell.Biol. 13 (1993), 3577-3587). En su estado detenido por la progesterona, las células se hacen sensibles al efecto proliferativo de EGF. También se demostró que la progesterona intensifica el efecto de EGF en células T47D por regulación hacia arriba de EGFR, Erb2 y Erb3 y aumenta la fosforilación de tirosina de la molécula de señal. (Lange et al., J.Biol.Chem. 273 (1998), 31308-31376; Richer et al, J.Biol.Chem. 273 (1998), 31317-31326). Contrariamente a esto, hasta el presente no pudo demostrarse una inhibición del efecto de EGF en células tumorales por acción sobre el receptor de progesterona.

En el marco de los ensayos que condujeron a la presente invención se comprobó sorpresivamente, que los inhibidores del receptor de progesterona, p.ej. 17 α -fluoralquilesteroides, pueden impedir por lo menos parcialmente la fijación de factores de crecimiento tales como EGF, en células tumorales, especialmente en células tumorales que presentan una

expresión elevada y/o constitutiva del receptor de progesterona.

Un objeto de la presente invención es, por lo tanto, el uso de un inhibidor del receptor de progesterona para preparar un medicamento para inhibir la fijación de factores de crecimiento en células tumorales y especialmente para inhibir la proliferación de células tumorales o tumores provocada por factores de crecimiento. Un inhibidor del receptor de progesterona, en el contexto de la presente invención, es preferentemente una sustancia que inhibe competitivamente la fijación de progesterona en su receptor. Para ello, el inhibidor del receptor de progesterona se selecciona preferentemente de 17 α -fluoralquilesteroides, como los que se revelan p. ej. en la W098/34947. Estos 17 α -fluoralquilesteroides tienen la fórmula general 1 :



donde

R¹ es un grupo metilo o etilo,

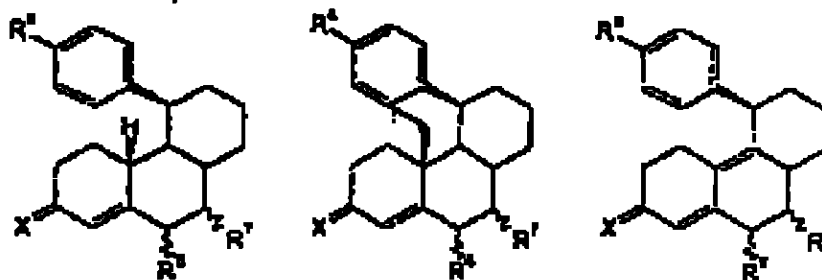
R² es un radical de la fórmula C_nF_mH_o, donde n = 2,3,4,5 o 6,

m > 1 y m+o = 2n+1,

R³ es un grupo hidroxilo libre, eterificado o esterificado,

R^4 y R^5 es, cada uno, un átomo de hidrógeno y juntos son un enlace adicional o un grupo metilo,

St es un sistema de anillo esteroide ABC de la fórmula parcial A, B o C



donde

R^6 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o un átomo de halógeno,

R^7 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o

si St es un sistema de anillo esteroide A o B, R^6 y R^7 juntos, son un enlace adicional,

X es un átomo de oxígeno, un agrupamiento hidroxilimino = N-OH o dos átomos de hidrógeno,

R^8 es un radical Y o un radical arilo que puede estar polisustituido con un grupo Y, donde Y es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo OH, NO_2 , N_3 , CN, $NR^{9a}R^{9b}$, $NHSO_2R^9$, CO_2R^9 , C_1-C_{10} -alcoxi, C_1-C_{10} -alcanoiloxi, benzoiloxi- C_1-C_{10} -alcanoilo, C_1-C_{10} -hidroxialquilo o benzoilo,

y R^{9a} y R^{9b} son iguales o diferentes y representan, al igual que R^9 , un átomo de hidrógeno o un grupo C_1-C_{10} -alquilo, y los radicales $NR^{9a}R^{9b}$ son también sus sales fisiológicamente tolerables con ácidos y los radicales CO_2R^9 , donde R^9 significa hidrógeno, también sus sales fisiológicamente tolerables con bases.

Un ejemplo particularmente preferido de tales inhibidores del receptor de progesterona es el compuesto 11 β -(4-acetilfenil)-17 β -hidroxi-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoretil)-estra-4,9-dien-3-ona (de aquí en adelante, compuesto A). Sin embargo, también son apropiadas otras antiprogestinas, por ejemplo onapriston (11 β -[p-(dimetilamino)fenil]-17 α -hidroxi-17-(3-hidroxipropil)-13 α -estra-4,9-dien-3-ona).

El efecto de los inhibidores de receptor de progesterona se encuentra especialmente en células tumorales que presentan una expresión elevada y/o constitutiva del receptor de progesterona, por ejemplo, la línea de células de carcinoma de mama T47D que tiene receptor de progesterona positivo (Sartorius et al., Cancer Res. 54 (1994), 3668-3877).

Los inhibidores de receptor de progesterona inhiben el aumento de la expresión de factores de crecimiento inducido por progesterona, especialmente de aquellos factores que se fijan en factores de crecimiento de la familia de receptores EGF, como por ejemplo el receptor EGF. Los inhibidores in-

hiben especialmente la fijación de EGF en células de carcinoma de mama humanas.

De allí que según la presente invención, los inhibidores del receptor de progesterona puede usarse para la terapia de tumores en mamíferos y preferentemente en humanos, especialmente para bloquear la progresión de un tumor, particularmente de un carcinoma de mama cuyo crecimiento es esteroide-dependiente a un crecimiento dependiente del factor de crecimiento. De esta manera puede realizarse un tratamiento efectivo del tumor en el estadio de crecimiento esteroide-dependiente, p.ej. con antiestrógenos, sin que el tumor pueda avanzar al estadio dependiente del factor de crecimiento que viene acompañado de un considerable empeoramiento del pronóstico para el paciente. También en el estadio del crecimiento dependiente del factor de crecimiento la administración de los inhibidores del receptor de progesterona pueden hacer que el crecimiento del tumor sea más lento.

A los fines de la presente invención pueden usarse antiestrógenos no-esteroides, p. ej. tamoxifen y nafoxidina, así como también raloxifen y EM800. Los dos últimos son representantes de los denominados SERM (Selective Estrogen Receptor Modulators). Según la presente invención, también pueden usarse otros compuestos con el perfil de efecto de los SERM, p. ej. los compuestos que se mencionan en la PCT/EP99/05093 y de entre estos especialmente el compuesto

5-(4-{5-[(RS)-4,4,5,5,5pentafluoropentil)sulfinil]pentiloxi}fenil)-6-fenil-8,9-dihidro-7Hbenzociclohepten-2-ol.

Los ejemplos de estos antiestrógenos esteroides comprenden aquellos que se revelan en la EP 0 348 341A, particularmente faslodex, y aquellos que se revelan en la W098/07740, especialmente 11 β -flúor-7 α -(5-[N-metil-N-3-(4,4,5,5,5 pentafluoropentiltio-propilamino] -pentyl)-estra-1,3,5(10)trieno-3,17 β -diol, o aquellos que se describen en la W099/33855, particularmente 11 β -fluor7 α -(5-[metil-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluor-decil)-amino]-pentil)-estra-1,3,5(10)trien-3,17 β -diol o derivados farmacéticamente tolerables o análogos de los mismos. Los inhibidores de aromata-seína con efecto antiestrógeno como p. ej. aquellos que aparecen en las páginas 7 - 8 de la EP 0 495 825 B1 también pueden ser usados como antiestrógenos.

Los inhibidores de receptor de progesterona pueden administrarse según métodos habituales, p. ej. en forma local, tópica, por vía subcutánea, enteral o parenteral. Para la administración enteral se pueden usar tabletas, grageas, cápsulas, comprimidos, suspensiones o soluciones que se preparan de manera habitual con las sustancias aditivas y vehículos galénicamente conocidos. Para la aplicación local o tópica se pueden usar, p. ej. óvulos vaginales y sistemas transdérmicos como parches cutáneos. La aplicación subcutánea puede realizarse por inyección con una solución oleosa.

Una unidad posológica puede contener, por ejemplo, 0,1 a 100 mg de compuesto/s activo/s (inhibitor/es del receptor de progesterona). La dosis diaria del/de los compuesto/s activo/s en el humano es de aproximadamente 0,1 a 400 mg, preferentemente de aproximadamente 10-100 mg y particularmente de aproximadamente de 50 mg.

La invención se explicará a continuación por medio de los siguientes ejemplos y figuras:

Figura 1 Muestra el efecto antiproliferativo de sustancias de ensayo en la línea de células de carcinoma de mama T47D.

Figura 2 Indica la cantidad de proteína del receptor de progesterona (PR) y del receptor de estrógeno en la línea de células de carcinoma de mama T47D.

Figura 3 Describe la actividad de transcripción del receptor de progesterona en células T47D.

Figura 4 Es un análisis Scatchard de la fijación de EGF en células T47D según la presencia de sustancias de ensayo.

Figura 5 Muestra la fijación de EGF en células T47D dependiente de la presencia de sustancias de ensayo.

EJEMPLOS

1. Materiales y métodos

Materiales:

Se adquirió ^{125}I -EGF (100mCi/mmol) de Amersham Buchler. El compuesto A, el hidroxitamoxifen (4-OH-Tam), el ZM182780 y el estradiol fueron sintetizados en el Instituto Químico de Medicamentos de Schering AG según métodos conocidos.

Líneas de células:

Se usó la línea de células de carcinoma de mama humana T47D con receptores de estrógeno-(ER) y progesterona-(PR)-positivos (Freake et al., BBRC 101 (1981), 1131-1138).

Estudios de crecimiento:

Las células tumorales se cultivan a 5000 células/cerdilla en 96 cubetas de cultivo durante 6 días en medio RPMI + 10 % suero bovino, 200 nM insulina y 0,1 nM estradiol en presencia de los respectivos compuestos indicados y se determinó el crecimiento por coloración con cristal violeta.

Cantidad de proteína PR y ER:

La determinación de las cantidades de PR y ER se realizó en lisados de células utilizando ensayos de fijación de esteroide con progesterona o estradiol con marcado radioactivo, según el método descrito por Fuhrmann et al, (Contraception 54 t 1996), 243251).

Fijación de ^{125}I -EGF en células tumorales:

Se incubaron células T47D pretratadas con R5020 durante 2 h con ^{125}I -EGF a 4°C. La fijación no específica fue siempre de menos del 10 % de la fijación total.

Ensayo de transactivación:

Células T47D fueron conjugadas transientemente con MTV-LUC (Cato et al., EMBO J., 9:2237-40) y cultivadas en ausencia o en presencia de 1 nM R5020. Para comprobar un antagonismo intermediado por PR, las células T47D conjugadas transientemente fueron tratadas con R5020 y adicionalmente con concentraciones crecientes de compuesto A o RU486. Después de 24 h se realizó un ensayo de luciferasa.

Resultados

La figura 1 muestra el efecto antiproliferativo de diferentes sustancias de ensayo. Las células T47D fueron cultivadas en presencia (grisado superior) o en ausencia (grisado inferior) de 0,1 nM E_2 + concentraciones crecientes de compuesto A(^), onapriston (v), ZK 191703 (•) o 4-OH-Tam(•). En las células T47D, el compuesto A propiamente dicho presenta un efecto antiproliferativo significativo, aún en concentraciones extremadamente pequeñas.

La figura 2 muestra la cantidad de proteína PR y ER en células T47D.

La figura 3 muestra la actividad transcripcional de PR en células T47D, donde las respectivas células se conjugan transientemente con MTV-LUC y se cultivaron en ausencia (Co) o en presencia de 1 nM R5020 (a). Para comprobar un antagonismo intermediado por PR, las células T47D conjugadas tran-

sientemente fueron tratadas con 0,1 nM de R5020 y con concentraciones crecientes de compuesto A o RU486 (b).

En la figura 4 se observa un análisis Scatchard de la fijación de ^{125}I -EGF en células T47D. Las células fueron cultivadas durante 48 h en presencia de 20 nM R5020 con o sin 20 nM de compuesto A y a continuación fueron lavadas. Luego se determinó la fijación EGF en un rango de concentraciones de 0,25 a 150 ng/ml EGF por incubación durante 2 h a 4°C. Los insertos muestran la cantidad de ligandos fijados con respecto al logaritmo de la concentración libre de ligandos. Se comprueba que el aumento de la fijación de EGF provocado por R5020 (figura del centro) con respecto al control (figura superior) puede ser bloqueado agregando compuesto A (figura inferior).

En la figura 5 se aprecia la fijación de ^{125}I -EGF en células T47D intactas. Para ello, las células fueron tratadas durante 48 h con 2 o 20 nM R5020 + compuesto A o onapriston o compuesto A solo. También aquí se aprecia que el compuesto A bloquea el aumento de la fijación de EGF en células T47D provocada por R5020. Un efecto parecido, aunque considerablemente más débil, se observó al usar onapriston.

3. Debate

Los resultados que anteceden demuestran que el crecimiento de células T47D con contenido elevado o constitutivo

de PR, estimulado por estradiol, pudo ser bloqueado efectivamente por medio del compuesto A.

Por medio de ensayos de transactivación pudo demostrarse que el PR de las células era transcripcionalmente activo y que pudo ser bloqueado por el compuesto A.

La estimulación de las células T47D con R5020 produjo un aumento doble a triple de la expresión del receptor EGF, que fue bloqueado por el compuesto A. Al mismo tiempo, la fijación de EGF en las células sufrió un aumento doble a triple y pudo ser impedido por el compuesto A y de manera menos eficiente por onapriston. La fijación de EGF aumentada en células tratadas con R5020 podría ser provocada por una expresión de receptor EGF aumentada o un aumento de la formación de heterodímeros entre el receptor EGF y erbB2.

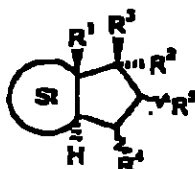
Estos resultados demuestran la interacción entre los sistemas de señal de PR y el factor de crecimiento en células de carcinoma de mama humanas. Mediante el uso de anti-progestinas es posible inhibir o impedir la progresión de células tumorales de su crecimiento esteroide-dependiente a su crecimiento dependiente del factor de crecimiento.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un inhibidor del receptor de progesterona para preparar un medicamento para inhibir la fijación de factores de crecimiento en células tumorales y/o en un tumor.

2. Uso según la reivindicación 1 CARACTERIZADO PORQUE, se inhibe la proliferación de las células tumorales o/y del tumor, provocada por factores de crecimiento.

3. Uso según la reivindicación 1 o 2, CARACTERIZADO PORQUE, el inhibidor del receptor de progesterona se selecciona de 17 α -fluoralquilesteroides de la fórmula general 1



donde

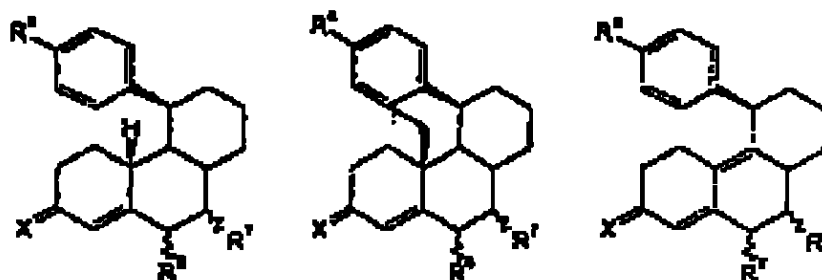
R¹ es un grupo metilo o etilo,

R² es un radical de la fórmula C_nF_mH_o, donde n = 2,3,4,5 o 6, m > 1 y m+o = 2n+1,

R³ es un grupo hidroxilo libre, eterificado o esterificado,

R⁴ y R⁵ es, cada uno, un átomo de hidrógeno y juntos son un enlace adicional o un grupo metilo,

St es un sistema de anillo esteroide ABC de la fórmula parcial A, B o C



donde

R^6 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o un átomo de halógeno,

R^7 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo- C_1-C_4 de cadena lineal o un grupo alquilo- C_3-C_4 ramificado o

si St es un sistema de anillo esteroide A o B, R^6 y R^7 juntos, son un enlace adicional,

X es un átomo de oxígeno, un agrupamiento hidroximinio = N-OH o dos átomos de hidrógeno,

R^8 es un radical Y o un radical arilo que puede estar polisustituido con un grupo Y, donde Y es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo OH, NO_2 , N_3 , CN, $NR^{9a}R^{9b}$, $NHSO_2R^9$, CO_2R^9 , C_1-C_{10} -alcoxi, C_1-C_{10} -alcanoiloxi, benzoiloxi- C_1-C_{10} -alcanoilo, C_1-C_{10} -hidroxialquilo o benzoilo,

y R^{9a} y R^{9b} son iguales o diferentes y representan, al igual que R^9 , un átomo de hidrógeno o un grupo C_1-C_{10} -alquilo,

y los radicales $NR^{9a}R^{9b}$ son también sus sales fisiológicamente tolerables con ácidos y los radicales CO_2R^9 , donde R^9 sig-

nifica hidrógeno, también son sus sales fisiológicamente tolerables con bases.

4. Uso según la reivindicación 3, CARACTERIZADO PORQUE, el inhibidor del receptor de progesterona es el compuesto 11 β -(4-acetilfenil)-17 β -hidroxi-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoretil)-estra-4,9-dien-3-ona.

5. Uso según las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE, las células tumorales presentan expresión elevada o/y constitutiva del receptor de progesterona.

6. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO PORQUE, las células tumorales son células de carcinoma de mama.

7. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 6, CARACTERIZADO PORQUE, la fijación de EGF o/y otros factores que se fijan en el receptor EGF es inhibida en células tumorales.

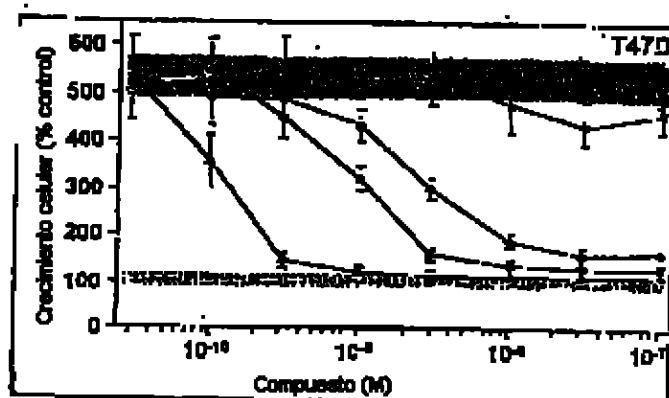
8. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 7, CARACTERIZADO PORQUE, se inhibe la formación de heterodímeros entre el factor EGF y erbB2.

9. Uso según una de las reivindicaciones 1 a 8, para tratar tumores.

10. Uso según la reivindicación 9, para inhibir la progresión de un tumor de su crecimiento esteroide-dependiente a su crecimiento dependiente del factor de crecimiento.

10 8 8

1/5



[Ejes de la tabla:]

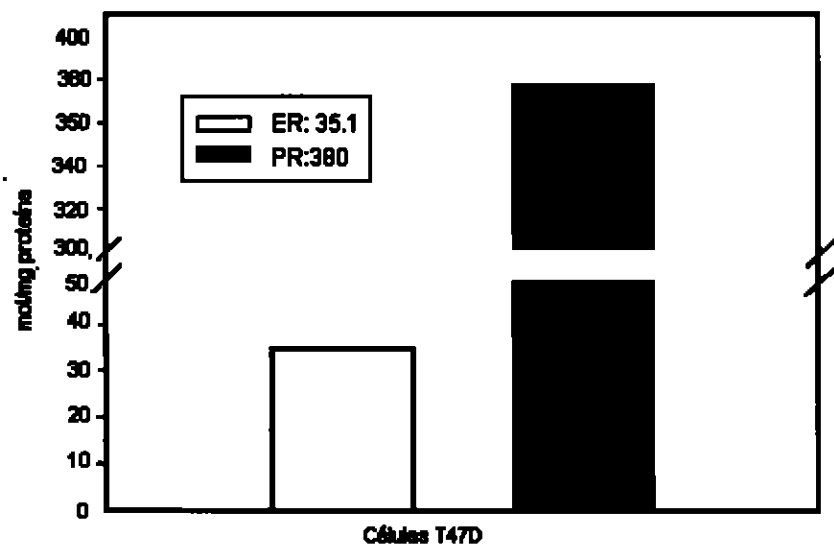
Crecimiento celular (% de control) = crecimiento celular (% de control)

Compuesto (M) = compuesto (M)

Figura 1:

Efecto antiproliferativo. Las células T47D crecieron en presencia (grisado superior) o en ausencia (grisado inferior) de 0,1 nM E_2 + concentraciones crecientes de compuesto A ((σ), onapriston (v), ZK 191703 (*)) o 4-OH-Tam(u)

2/5

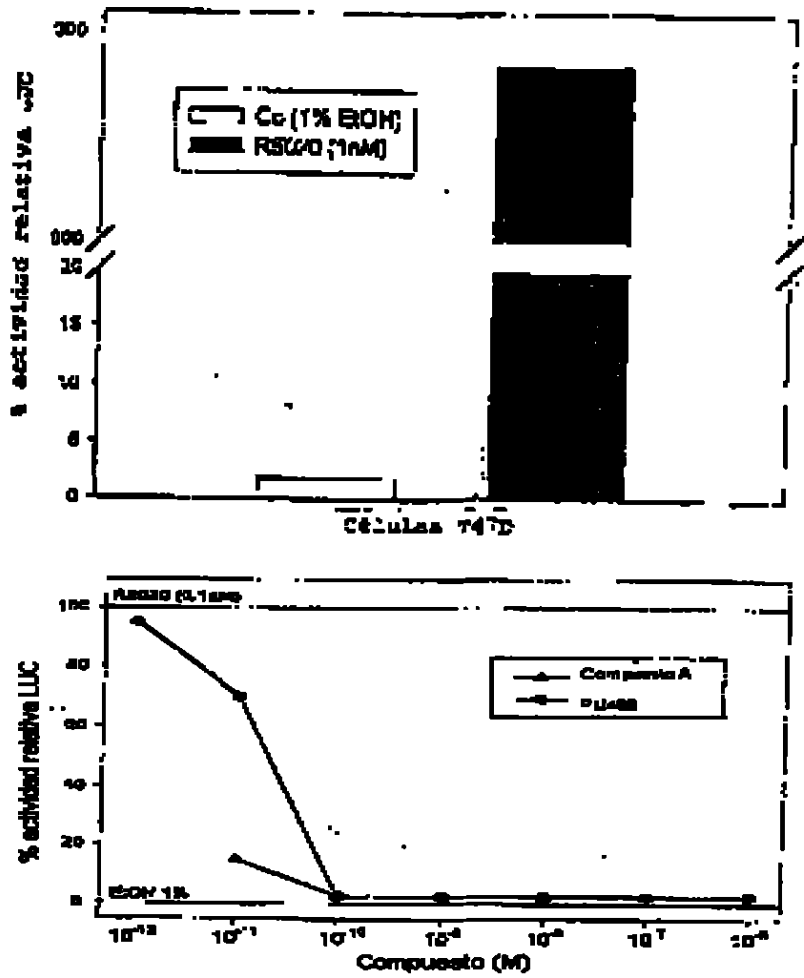


[Ejes de la tabla:]

Células T47D = células T47D

Figura 2:

Cantidad del receptor de progesterona (PR) y del receptor de estrógeno (ER) en células T47D. Las cantidades de PR y ER fueron determinadas en lisados de células, utilizando ensayos de fijación de esteroide con progesterona o estradiol con marcado radioactivo.



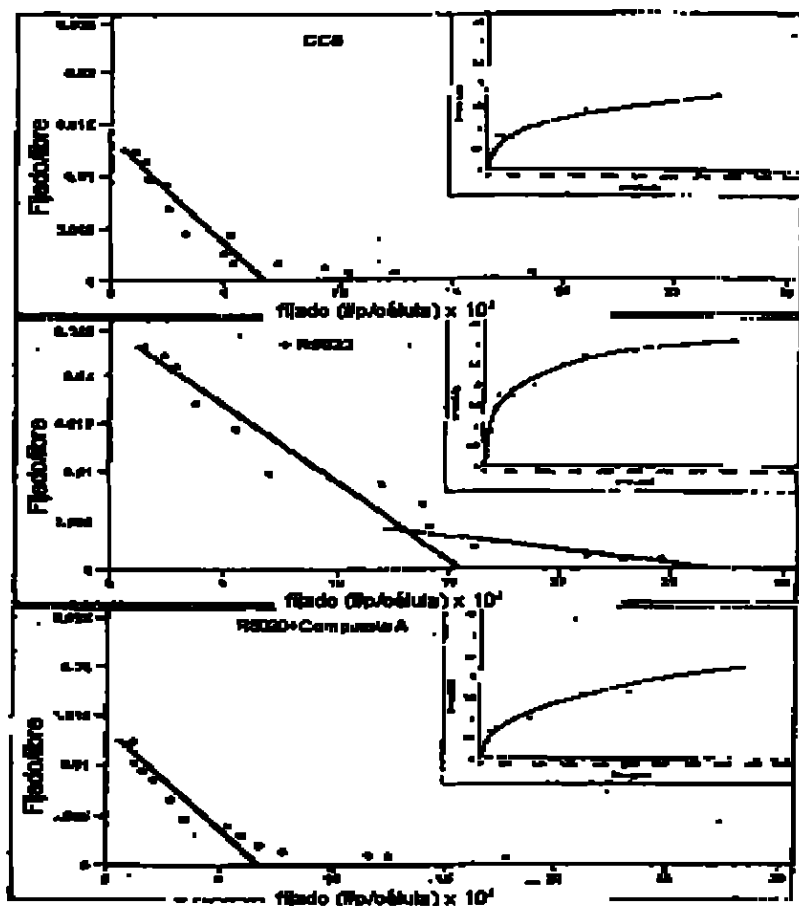
[Ejes de la tabla:]

% de actividad LUC relativo = % de actividad LUC relativo
Compuesto (M) = compuesto (M)

Figura 3: Actividad transcripcional de PR en células T47D
A: Células T47D fueron conjugadas transientemente con MTV-LUC y cultivadas en ausencia o en presencia de 1 nM de R5020.

B: Para comprobar un antagonismo intermediado por PR, las células T47D conjugadas transientemente fueron tratadas con 0,1 nM de R5020 y adicionalmente con concentraciones crecientes de compuesto A o RU486.

4/5



[Ejes de la tabla:]

ligandos fijos/libres = ligandos fijos/libres

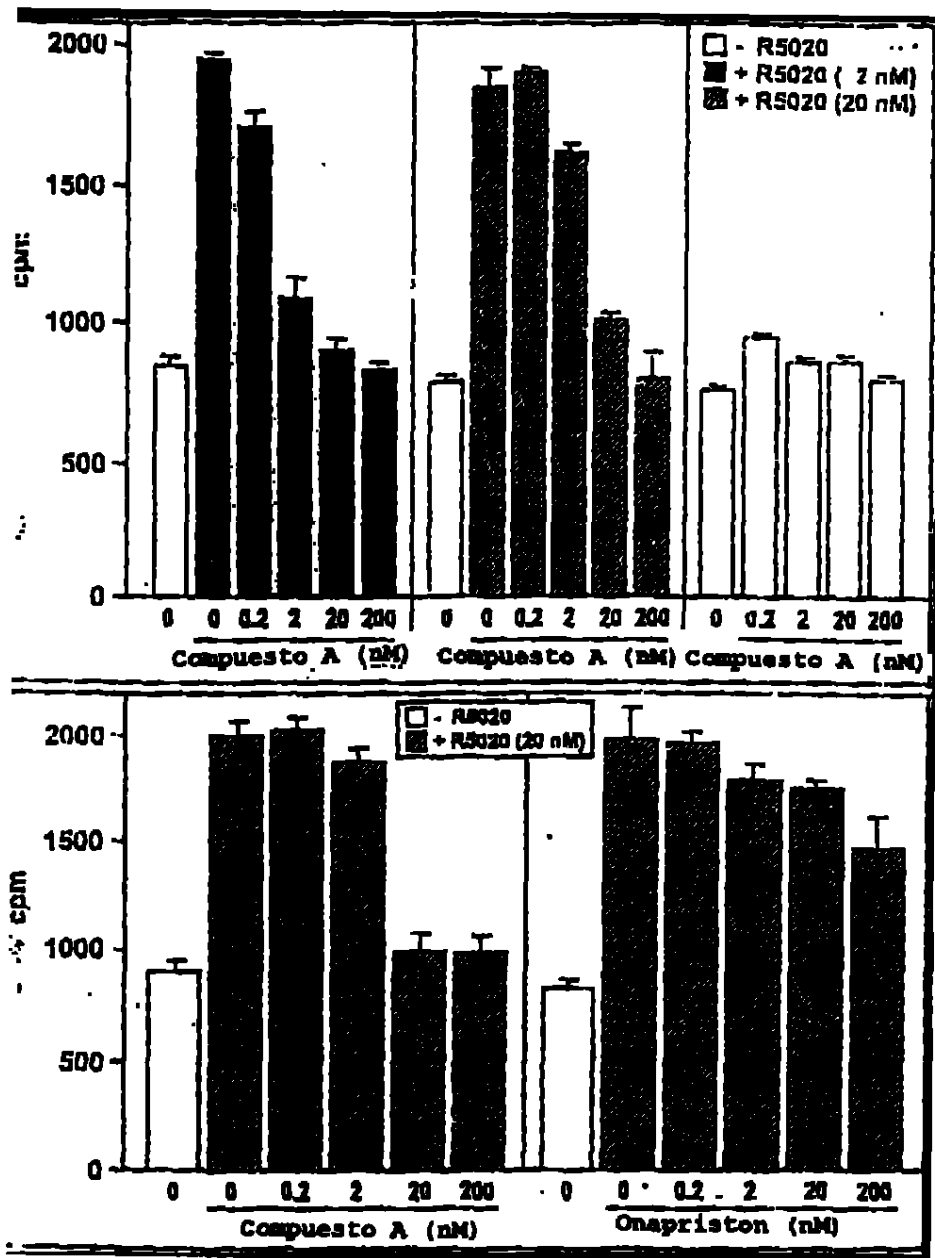
fijos (# por células) = fijos (# por células)

Figura 4: Análisis Scatchard de la fijación de ^{125}I -EGF en células T47D.

Las células fueron cultivadas durante 48 h en presencia de 20 nM R5020 con o sin 50 nM de compuesto A y a continuación

fueron lavadas. Luego se determinó la fijación EGF en un rango de concentraciones de 0,25 a 150 ng/ml EGF por incubación durante 2 h a 4°C. Los insertos muestran la cantidad de ligandos fijados con respecto al logaritmo de la concentración libre de ligandos.

5/5



[Ejes de la tabla:]
Compuesto = compuesto
Onapriston = onapriston

Figura 5:
 Fijación de ^{125}I -EGF en células T47D.
 Las células fueron pretratadas durante 48 h con 2 o 20 nM
 R5020 + compuesto A o onapriston, o con compuesto A solo.

Bitte ablesen geben ✓

96

1/4

PCT REQUEST

51861AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:29:41 AM

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form - PCT/ROH01 PCT Request	
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.03.2001)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	European Patent Office (EPO) .. (RO/EP)
0-7	Applicant's or agent's file reference	51861AWOM1XX
I	Title of invention	INHIBITION OF THE GROWTH FACTOR DEPENDENCY OF TUMOR CELLS
II	Applicant	
II-1	This person is:	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
II-5	Address:	Müllerstr. 178 D-13353 Berlin Germany
II-6	State of nationality	DE
II-7	State of residence	DE
II-8	Telephone No.	030 4681 1532
II-9	Facsimile No.	030 4681 2058
II-10	e-mail	Andreas.Broesamle@Schering.DE
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is:	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	LICHTNER, Rosemarie
III-1-5	Address:	Belziger Str. 39 D-10823 Berlin Germany
III-1-6	State of nationality	DE
III-1-7	State of residence	DE

PCT REQUEST

51881AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:29:41 AM

III-2	Applicant and/or inventor	
III-2-1	This person is:	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	FUHRMANN, Ulrike
III-2-5	Address:	Charlottenburger Ufer 6a D-10587 Berlin Germany
III-2-6	State of nationality	DE
III-2-7	State of residence	DE
IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	common representative
IV-1-1	Name	SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
IV-1-2	Address:	Müllerstr. 178 D-13353 Berlin Germany
IV-1-3	Telephone No.	030 4681 1532
IV-1-4	Facsimile No.	030 4681 2058
IV-1-5	e-mail	Andreas.Broesamle@Schering.DE
V	Designation of States	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AP: GH GM KE LS MW ME SD SL SZ TZ UG ZW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE TR and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT
V-2	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ DK DM DZ EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NO NZ PH PL PT RO RU SD SE SG SI SK SL TJ TM TR TT TZ UA UG US UZ VN YU ZA ZW

PCT REQUEST

51861AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:29:41 AM

V-5	Precautionary Designation Statement In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-6 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.		
V-6	Exclusion(s) from precautionary designations	NONE	
VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	18 October 2000 (18.10.2000)	
VI-1-2	Number	100 51 609.2	
VI-1-3	Country	DE	
VI-2	Priority claim of earlier national application		
VI-2-1	Filing date	18 October 2000 (18.10.2000)	
VI-2-2	Number	60/241,010	
VI-2-3	Country	US	
VII-1	International Searching Authority Chosen	European Patent Office (EPO) (ISA/EP)	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor		
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent		
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application		
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)		
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty		
IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	4	-
IX-2	Description	12	-
IX-3	Claims	3	-
IX-4	Abstract	1	EZABST00.TXT
IX-5	Drawings	8	-
IX-7	TOTAL	28	

PCT REQUEST

51881AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:28:41 AM

	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-11	Copy of general power of attorney	✓	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name	SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT	
X-1-2	Name of signatory	i.V. Dr. Brösamle	
X-2	Signature of applicant, agent or common representative		
X-2-1	Name	SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT	
X-2-2	Name of signatory	i.A. S. Kurilla	

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/EP
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

51861AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:29:42 AM

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

0	For receiving Office use only			
0-1	International Application No.			
0-2	Date stamp of the receiving Office			
0-4	Form - PCT/RO101 (Annex) PCT Fee Calculation Sheet			
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.03.2001)		
0-8	Applicant's or agent's file reference	51861AWOM1XX		
2	Applicant	SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT, et al.		
12	Calculation of prescribed fees	fee amount/multiplier	total amounts (EUR)	
12-1	Transmittal fee T	⇒	102	
12-2	Search fee S	⇒	945	
12-3	International fee			
	Basic fee (first 30 sheets) b1	409		
12-4	Remaining sheets	0		
12-5	Additional amount (X)	9		
12-6	Total additional amount b2	0		
12-7	b1 + b2 = B	409		
12-8	Designation fees			
	Number of designations contained in international application	89		
12-9	Number of designation fees payable (maximum 6)	6		
12-10	Amount of designation fee (Q)	88		
12-11	Total designation fees D	528		
12-12	PCT-EASY fee reduction R	-126		
12-13	Total international fee (B+D-R) I	⇒	811	
12-17	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+I+P)	⇒	1.858	
12-19	Mode of payment	authorization to charge deposit account		
12-20	Deposit account instructions			
	The receiving Office:	European Patent Office (EPO) (RO/EP)		
12-20-1	Authorization to charge the total fees indicated above.	✓		
12-20-2	Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above.	✓		
12-20-3	Authorization to charge the fee for priority document.	✓		
12-21	Deposit account No.	28000019		
12-22	Date	17 October 2001 (17.10.2001)		

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

51861AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:29:42 AM

12-23	Name and signature	SCHERING AKTIENGESSELLSCHAFT
-------	--------------------	------------------------------

VALIDATION LOG AND REMARKS

13-2-2	Validation messages States	Green? More designations could be made. The following States have not been designated: DE. Please verify.
13-2-7	Validation messages Contents	Green? Figure of the drawings which should accompany the abstract not specified. Please verify.
		Green? Priority 1. The priority document is not enclosed. (The applicant must furnish it within 16 months from the earliest priority date claimed)
		Green? Priority 2. The priority document is not enclosed. (The applicant must furnish it within 16 months from the earliest priority date claimed)
		Green? Reference number for attached copy of general power of attorney not indicated.
13-2-8	Validation messages Fees	Green? Please confirm that fee schedule utilized is the latest available
13-2-9	Validation messages Payment	Green? Please ensure that you have a valid deposit account with the receiving Office selected.
13-2-10	Validation messages Annotate	Green? The name of the person signing the request or/and the capacity in which the person signs has/have not been indicated. Please be informed that some receiving Offices require that this information be present along with the signature.

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

51881AWOM1XX

Draft (NOT for submission) - printed on 17.10.2001 09:29:42 AM

		Green? The name of the person signing the request or/and the capacity in which the person signs has/have not been indicated. Please be informed that some receiving Offices require that this information be present along with the signature.
		Yellow! The maintenance tables are more than six months old. It is strongly recommended that you contact the PCT-EASY Help Desk to update them.

PATENT COOPERATION TREATY

103

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX00+P	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP01/12004	International filing date (day/month/year) 17/10/2001	Priority date (day/month/year) 18/10/2000
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K31/56		
Applicant SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 38.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 807 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 03/04/2002	Date of completion of this report 24.02.2003
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office - P.B. 5818 Patenlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 51 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3018	Authorized officer Bonzano, C  Telephone No. +31 70 340 2202

104

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP01/12004

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the International application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17):*

Description, pages:

1-12 as originally filed

Claims, No.:

1-10 as originally filed:

Drawings, sheets:

1/5-5/5 as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the International search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the International application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the International application in written form.
- ☐ filed together with the International application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the International application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP01/12004

☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application.☒ claims Nos. 1-10 partially.

because:

☐ the said international application, or the said claims Nos. relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):☐ the claims, or said claims Nos. are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.☒ no international search report has been established for the said claims Nos. 1-10.

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)

Yes: Claims -

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/EP01/12004

Re Item III**N n-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability**

In the present application, the International Searching Authority has restricted the search following objections under Articles 5 and 6 PCT.

The International Preliminary Examination Authority fully agrees with these objections, and will limit the International Preliminary Examination accordingly.

Re Item V**Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. The following documents (D) are referred to in this communication; the numbering will be adhered to in the rest of the procedure:

D1: WO 98 34947 A (SCHERING AG) 13 August 1998 (1998-08-13) cited in the application

D2: WO 00/46234 A1

2. For the assessment of the present claims 1-10 on the question whether they are industrially applicable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognize as industrially applicable the subject-matter of claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow, however, claims to a known compound for first use in medical treatment and the use of such a compound for the manufacture of a medicament for a new medical treatment.

3. The document D1 discloses the use of 17 alpha fluoro alkyl steroids such as claimed, and in particular the preferred compound of claim 4, in the therapy for the treatment of hormone dependent tumours (see D1: claim 25, page 27, line 2; page 8, paragraph 5- page 9, paragraph 2). They show a strong antitumour activity in models of human breast cell lines in vitro and in vivo (breast tumours in mice and rats). Document D2 discloses progesterone antagonists as being useful in the treatment of hormone dependent cancers such as ovarian, breast cancer (see D2: page 1, paragraph 1; page 6, lines 1-10).

The Applicant's attention is drawn to the fact that the mere explanation of an effect

INTERNATIONAL PRELIMINARY

International application No. PCT/EP01/12004

EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET

obtained when using a compound in a known process, even if the explanation relates to a pharmaceutical effect which was not known for that compound, cannot confer novelty to said process. In the present case, the newly discovered technical effect of inhibiting the binding of the growth factors to tumor cells does not confer novelty on the claims directed to the use of a known progesterone inhibitor, in particular corresponding to formula I for a known purpose (treatment of tumors). No novelty exists, if the claim is directed to the use of a known compound for a known purpose, even if a newly discovered technical effect (the inhibition of the binding of the growth factors to tumor cells) underlying said known use is indicated in that claim (see decision T892/94; T254/93).

The subject-matter of claims 1-10, as far as the treatment of tumor is concerned, is therefore not new as it is anticipated by the content of document D1 (Article 33(2) PCT).

Moreover, the subject-matter of claims 1-2, 5-10 is not new over D2 (Article 33(2) PCT).

4. Claims 1-10, being not novel, are also not inventive.

Tratado de Cooperación en Materia de Patentes

Informe de Examen Preliminar Internacional

Artículo PCT 36 y Regla 70)

Referencia del solicitante o agente: 51861AWOM1XX

Para acción futura: Véase la Notificación de Comunicación del Informe de Examen Preliminar Internacional (Formulario PCT/IPEA/416)

Solicitud Internacional No. PCT/EP01/12004

Fecha de presentación internacional: 17/10/2001

Fecha de Prioridad: 18/10/2000

Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC: A61K31/56

Solicitante: Schering Aktiengesellschaft y otros

1. Este Informe de Examen Preliminar Internacional ha sido preparado por esta Autoridad de Examen Preliminar Internacional y es comunicado al solicitante de acuerdo con el Artículo 36.

2. Este Informe consiste de un total de 5 hojas, incluyendo esta carátula

A este informe también se le acompañan anexos, p.ej. hojas conteniendo la descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido corregidos y que son la base para este informe y/o hojas que contienen rectificaciones hechas ante esta Autoridad (véase Regla

70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas bajo el PCT).

Estos anexos comprenden un total de hojas.

3. Este informe contiene indicaciones en relación con los siguientes items:

I (X) Base del informe

II Prioridad

III (X) No-emisión de opinión en relación con la novedad, altura inventiva y aplicabilidad industrial

IV falta de unidad inventiva

V (X) Declaración razonada bajo el Artículo 35(2) en relación con la novedad, altura inventiva o aplicabilidad industrial; citas y explicaciones que soportan tal declaración

VI Ciertos documentos citados

VII Ciertos defectos en la solicitud internacional

VIII Ciertas observaciones con respecto a la solicitud internacional.

Fecha de comunicación de la solicitud: 03/04/2002

Fecha de terminación de este informe: 24.02.2003

Informe de Examen preliminar Internacional

Solicitud internacional No. PCT/EP01/12004

I. Base del Informe

1. Con respecto a los elementos de la solicitud internacional (hojas de reemplazo que han sido provistas a la oficina receptora

en respuesta a una invitación bajo Artículo 14 son mencionadas en este informe como "originalmente presentadas" y no están anexadas a este informe ya que no contienen modificaciones (Reglas 70.16 y 70.17))

Descripción, hojas

1-12 como originalmente presentadas

Reivindicación, No.

1-10 como originalmente presentadas

Dibujos, hojas

1/5-5/5 como originalmente presentadas

2. Con respecto al idioma, todos los elementos indicados más arriba estaban disponibles o fueron provistos a esta Autoridad en el idioma en el cual fue presentada la solicitud internacional, a menos que esté indicado bajo este item.

Estos elementos estaban disponibles o fueron provistos a esta Autoridad en el siguiente idioma: , que es:

El idioma de una traducción provista a los fines de la búsqueda internacional (bajo Regla 23.1(b)).

El idioma de la publicación de la solicitud internacional (bajo Regla 48.3(b)).

El idioma de una traducción provista a los fines del examen preliminar internacional (bajo Regla 55.2 y/o 55.3).

3. Con respecto a cualquier nucleótido y/o secuencia de aminoácidos divulgada en la solicitud internacional, el examen

preliminar internacional fue llevado a cabo sobre la base de los listados de secuencias:

Contenido en forma escrita en la solicitud internacional

Presentado junto con la solicitud internacional en una forma leíble por computadora

Provista subsecuentemente a esta Autoridad en forma escrita

Provista subsecuentemente a esta Autoridad en una forma leíble por computadora

La declaración de que el listado de secuencias provisto subsecuentemente no va más allá de lo divulgado en la solicitud internacional tal como fuera presentada

La declaración de que ha sido provista la información grabada en forma leíble por computadora es idéntica al listado de secuencias escrito

4. Las correcciones han dado como resultado la cancelación de la descripción, páginas:

las reivindicaciones, Nrs.:

los dibujos, hojas:

5. Este informe fue emitido como si (algunas de) las correcciones no hubieran sido hechas, porque han sido consideradas como que van más allá de la divulgación tal cual fue presentada (Regla 70.2^o):

(Cualquier hoja de reemplazo que contenga este tipo de correcciones debe ser mencionada bajo el ítem 1 y anexada a este informe.

6. Observaciones adicionales, de ser necesario:

III. No-emisión de opinión con respecto a la novedad, altura inventiva y aplicación industrial

1. La pregunta si la invención reivindicada presenta novedad, tener altura inventiva (ser no-obvia), o tener aplicación industrial no han sido examinada con respecto a toda la solicitud (x) las reivindicaciones 1-10 parcialmente

porque

la mencionada solicitud internacional, o las mencionadas reivindicación No. se refieren al siguiente objeto inventivo que no requiere un examen preliminar internacional (especificar):

la descripción, reivindicaciones o dibujos (indicar elementos particulares más abajo) o las mencionadas reivindicaciones No. son tan poco claras que no se pudo formar una opinión que tenga sentido (especificar):

las reivindicaciones o las mencionadas reivindicaciones No. están inadecuadamente avaladas por la descripción que no se pudo formar una opinión que tenga sentido

(X) no se realizó el informe de búsqueda internacional para las mencionadas reivindicaciones No. 1-10.

2. Un examen preliminar internacional que tenga sentido no puede ser llevado a cabo debido a que la lista de nucleótidos y/o secuencias de aminoácidos no cumple con el estándar provisto por el Anexo C de las instrucciones administrativas:

el formulario escrito no fue aportado o no está de acuerdo con el estándar

el formulario leíble por computadora no ha sido aportado o no está de acuerdo con el estándar

V. Declaración razonada bajo Artículo 35(2) con respecto a novedad, altura inventiva y aplicación industrial, citas y explicaciones que avalen dicha declaración

1. Declaración

Novedad (N) Si: Reivindicaciones -

Informe de Examen Preliminar Internacional

Hoja separada

Solicitud internacional No. PCT/EP01/12004

En relación con el ítem III

No emisión de la opinión con respecto a la novedad, altura inventiva y aplicación industrial

En la presente solicitud, la Autoridad de Búsqueda Internacional ha restringido la búsqueda de acuerdo con las objeciones bajo Artículos 5 y 6 PCT.

La Autoridad de Examen Preliminar Internacional está en un todo de acuerdo con estas objeciones y limitará el Examen Preliminar Internacional en consecuencia.

En relación con el ítem V

Declaración razonada bajo Regla 66.2(a)(ii) con respecto a la novedad, altura inventiva o aplicación industrial: citas y explicaciones que avalen dicha declaración.

1. Se hace referencia a los siguientes documentos (D) en esta comunicación; la numeración será mantenida hasta el final del procedimiento:

D1: WO 98 34947 A (Schering AG) 13 de agosto de 1998 (1998-08-13)
citada en la solicitud

D2: WO 00/46234 A1

2. Para determinar en las presentes reivindicaciones 1-10 la cuestión de si tienen aplicación industrial, no existe un

criterio unificado entre los Estados miembros del PCT. La patentabilidad también puede depender de la formulación de las reivindicaciones. La Oficina Europea de Patentes, p.ej. no reconoce como industrialmente aplicable el objeto inventivo de reivindicaciones referidas al uso de un compuesto en un tratamiento médico, pero puede aceptar, sin embargo, reivindicaciones referidas a un compuesto conocido para el primer uso en un tratamiento médico y el uso de tal compuesto para la elaboración de un medicamento para un nuevo tratamiento médico.

3. El documento D1 describe el uso de esteroides 17 alfa fluoroalquilo tales como son reivindicados y en particular, el compuesto preferido de la reivindicación 4, en la terapia para el tratamiento de tumores hormona-dependientes (ver D1: reivindicación 25, página 27, línea 2, página 8, párrafo 5-página 9, párrafo 2). Muestran una actividad antitumoral fuerte en modelos de líneas de células de mamas humanas in vitro e in vivo (tumores de mama en ratones y ratas).

El documento D2 describe antagonistas de progesterona como útiles en el tratamiento de cánceres hormona-dependientes tales como cáncer de ovario, de mama (ver D2, página 1, párrafo 1, página 6, líneas 1-10).

Se llama la atención al solicitante sobre el hecho de que la mera explicación de un efecto obtenido al usar un compuesto en un procedimiento conocido, aún si la explicación se refiere a un

efecto farmacéutico que no era conocido para ese compuesto, no puede conferir novedad a dicho procedimiento. En el presente caso, los últimamente efectos técnicos descubiertos para inhibir la dependencia de los factores de crecimiento de células tumorales no le confieren novedad a las reivindicaciones dirigidas al uso de un inhibidor de progesterona conocido, correspondiendo en particular a la fórmula I para un propósito conocido (tratamiento de tumores). No existe novedad si la reivindicación está dirigida al uso de un compuesto conocido para un propósito conocido, aún si un efecto técnico recientemente descubierto (la inhibición de la dependencia o los factores de crecimiento de células tumorales) subyacente a dicho uso conocido es indicado en esa reivindicación (ver decisión T 892/94; T254/93).

El objeto inventivo de las reivindicaciones 1-10, en cuanto se refiere al tratamiento de tumores, por lo tanto no es nuevo debido a que está anticipado por el contenido del documento D1 (Artículo 33(2) PCT).

Además, el objeto inventivo de las reivindicaciones 1-2, 5-10 no es nuevo por D2 (Artículo 33(2) PCT).

4. Las reivindicaciones 1-10, al no ser nuevas, tampoco tienen altura inventiva.

PATENT COOPERATION TREATY

10/11/2004
119

PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

ON /
A3

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
Müllerstr. 178
13353 Berlin
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 18 January 2002 (18.01.02)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX 00 + P	International application No. PCT/EP01/12004

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT (for all designated States except US)
LICHTNER, Rosemarie et al (for US)

International filing date : 17 October 2001 (17.10.01)
Priority date(s) claimed : 18 October 2000 (18.10.00)
18 October 2000 (18.10.00)

Date of receipt of the record copy
by the International Bureau : 14 January 2002 (14.01.02)

List of designated Offices :

AP : GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW
EA : AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM
EP : AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR
OA : BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG
National : AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DK,DM,DZ,EC,
EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,
MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,
UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: Céline Faust Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--

Continuation of Form PCT/IB/301

NOTIFICATION OF RECEIPT OF RECORD COPY

Date of mailing (day/month/year) 18 January 2002 (18.01.02)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX	International application No. PCT/EP01/12004

ATTENTION

The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- ☒ time limits for entry into the national phase
- ☒ confirmation of precautionary designations
- ☒ requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

PATENT COOPERATION TREATY

//

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
Müllerstr. 178
13353 Berlin
ALLEMAGNE42
OK

Br

L

Date of mailing (day/month/year) 25 April 2002 (25.04.02)		
Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX00 +?		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/EP01/12004	International filing date (day/month/year) 17 October 2001 (17.10.01)	Priority date (day/month/year) 18 October 2000 (18.10.00)
Applicant SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

KP, KR, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AG, AL, AM, AP, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EA, EC, EE, EP, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OA, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, US,

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 25 April 2002 (25.04.02) under No. WO 02/32429

4. TIME LIMITS for filing a demand for international preliminary examination and for entry into national phase

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 18 months from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of the designated Office. For further details, see PCT Gazette No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the PCT Newsletter, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the PCT Gazette, the PCT Newsletter and the PCT Applicant's Guide, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a demand for international preliminary examination, see the PCT Applicant's Guide, Volume I/A, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II.)

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these limits.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.91.11

PATENT COOPERATION TREATY

129

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
Müllerstr. 178
13353 Berlin
ALLEMAGNEPB
ON

18 OCT 2001

B6

Date of mailing (day/month/year) 27 March 2002 (27.03.02)	
Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX00+P	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP01/12004 ✓	International filing date (day/month/year) 17 October 2001 (17.10.01) ✓
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 18 October 2000 (18.10.00)
Applicant SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT et al	

- The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
- An asterisk appearing next to a date of receipt in the right-hand column denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
18 Octo 2000 (18.10.00)	100 51 609.2	DE	04 Febr 2002 (04.02.02)
18 Octo 2000 (18.10.00)	60/241,010	US	19 Marc 2002 (19.03.02)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Somsak THIPHRAKESONE

Telephone No. (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

120

To: SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT Müllerstrasse 178 D-13353 Berlin ALLEMAGNE <i>27.12.</i> <i>RIPS not of</i>		WRITTEN OPINION (PCT Rule 66)	
Applicant's or agent's file reference 51861AWOM1XX00+P		Date of mailing (day/month/year) 27/11/2002	
International application No. PCT/EP 01/ 12004		REPLY DUE within 1 / 00 months/days from the above date of mailing	International filing date (day/month/year) 17/10/2001
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC A61K31/56		Priority date (day/month/year) 18/10/2000	
Applicant SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT			

1. This written opinion is the first drawn up by this International Preliminary Examining Authority.

2. This opinion contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the opinion
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Rule 66.2(a)(ii) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

3. The applicant is hereby invited to reply to this opinion.

When? See the time limit indicated above. The applicant may, before the expiration of that time limit, request this Authority to grant an extension, see Rule 66.2(d).

How? By submitting a written reply, accompanied, where appropriate, by amendments, according to Rule 66.3. For the form and the language of the amendments, see Rules 66.8 and 66.9.

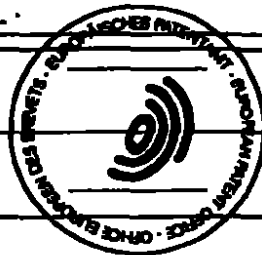
Also For an additional opportunity to submit amendments, see Rule 66.4.
For the examiner's obligation to consider amendments and/or arguments, see Rule 66.4bis.
For an informal communication with the examiner, see Rule 66.5.

If no reply is filed, the international preliminary examination report will be established on the basis of this opinion.

4. The final date by which the international preliminary examination report must be established according to Rule 69.2 is: **18/02/2003**

Name and mailing address of the IPEA/  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Netherlands Tel.: (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Examiner Formalities officer (incl. extension of time limits) Tel. (+49-89) 2399 2828
--	--

Form PCT/IPEA/408 (cover sheet) (march 2002)



WRITTEN OPINION

International application No. PCT/EP 01/12004

II. Draft of the opinion

The basis of this written opinion is the application as originally filed.

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The question of whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step, or to be industrially applicable has not been and will not be the subject of the international preliminary examination in respect of the claims which have not been searched (Article 17(2)(a) or (3) and Rule 66.1(e) PCT; see also international search report).

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability

1. To the extent that the international preliminary examination has been carried out (see item III above), the following is pointed out:
2. In light of the documents cited in the international search report, it is considered that the invention as defined in at least some of the claims, which have been the subject of an international search report, does not appear to meet the criteria mentioned in Article 33(1) PCT, i.e. does not appear to be novel and/or to involve an inventive step (see international search report, in particular the documents cited X and/or Y and corresponding claim references).
3. If amendments are filed, the applicant should comply with the requirements of Rule 66.8 PCT and indicate the basis of the amendments in the documents of the application as originally filed (Article 34 (2) (b) PCT) otherwise these amendments may not be taken into consideration for the establishment of the international preliminary examination report. The attention of the applicant is drawn to the fact that if the application contains an unnecessary plurality of independent claims, no examination of any of the claims will be carried out.

NB: Should the applicant decide to request detailed substantive examination, then an international preliminary examination report will normally be established directly. Exceptionally the examiner may draw up a second written opinion, should this be explicitly requested.

Tratado de Cooperación en Materia de Patentes

De la Autoridad de Examen Preliminar Internacional

Fecha de envío: 27/11/2002

Referencia del solicitante o agente: 51861AWOM1XX00+P

Plazo para responder: dentro de 1 mes desde la fecha de envío mencionada.

Solicitud Internacional No. PCT/EP 01/12004

Fecha de presentación internacional: 17/10/2001

Fecha de Prioridad: 18/10/2000

Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC: A61K31/56

Solicitante: Schering Aktiengesellschaft

1. Esta opinión escrita es la primera emitida por esta Autoridad de Examen Preliminar Internacional

2. Esta opinión contiene indicaciones relacionadas con los siguientes puntos:

I (X) Base de la opinion

II Prioridad

III (X) No emisión de opinión con respecto a la novedad, altura inventiva y aplicación industrial

IV Falta de unidad inventiva

V(X) Declaración razonada bajo Regla 66.2 (a)(ii) con respecto a novedad, altura inventiva o aplicación

industrial; citas y explicaciones que apoyan tal declaración.

VI Ciertos documentos citados

VII Ciertos defectos de la solicitud internacional

VIII Ciertas observaciones con respecto a la solicitud internacional

3. Se invita por la presente al solicitante a responder a esta opinión.

Cuándo? Vease el límite de tiempo indicado más arriba. El solicitante puede, antes del vencimiento del límite de tiempo, solicitar una extensión a esta Autoridad (ver Regla 66.2(d)).

Cómo? Enviando una contestación escrita, acompañada por correcciones, si fuera apropiado, de acuerdo con la Regla 66.3. Para la forma y el idioma de las correcciones, ver reglas 66.8 y 66.9.

También Para una oportunidad adicional de presentar correcciones, ver Regla 66.4. Para la obligación del examinador de tomar en consideración correcciones y/o argumentos, ver Regla 66.4bis. Para una comunicación informal con el examinador, ver Regla 66.6.

Si no se presenta una contestación, el informe de examen preliminar internacional será establecido sobre la base de esta opinión.

4. La fecha final en que el informe de examen preliminar internacional debe ser establecido, de acuerdo con la Regla 69.2, es: 18/02/2003

OPINIÓN ESCRITA

I. Base de la opinión

Esta opinión escrita se basa en la solicitud como fue presentada originalmente

III. No-emisión de opinión en relación con novedad, altura inventiva y aplicación industrial

La pregunta de si la invención reivindicada presenta novedad, altura inventiva o es industrialmente aplicable no ha sido y no será objeto del examen preliminar internacional con respecto a las reivindicaciones que aún no han sido sometidas a la búsqueda (Artículo 17(2)(a) o (3) y Regla 66.1(e) PCT: véase también el informe de búsqueda internacional.

V. Declaración razonada según Regla 66.2(a)(ii) con respecto a novedad, altura inventiva o aplicación industrial

1. Hasta el punto en que el examen preliminar internacional ha sido llevado a cabo (véase ítem III más arriba), se puntualiza lo siguiente:

2. En vista de los documentos citados en el informe de búsqueda internacional, se considera que la invención, como es definida en al menos algunas de las reivindicaciones, que han sido objeto de un informe de búsqueda internacional, no parece alcanzar el

criterio mencionado en el Artículo 33(1)PCT, es decir que no parece ser nueva y/o tener altura inventiva (ver el informe de búsqueda internacional, en particular los documentos citados con "X" y/o "Y" y las correspondientes referencias a las reivindicaciones.

3. Si se presentan correcciones, el solicitante debería cumplimentar los requisitos de la Regla 66.8PCT e indicar los fundamentos de las correcciones de los documentos de la solicitud como fue presentada originalmente (Artículo 34 (2) (b) PCT) de otro modo estas correcciones pueden no ser tenidas en cuenta para el establecimiento del informe de examen preliminar internacional. Se llama la atención del solicitante sobre el hecho de que si la solicitud contiene una pluralidad innecesaria de reivindicaciones independientes, no se llevará a cabo el examen de ninguna de estas reivindicaciones.

Nota: Si el solicitante decidiera petitionar un examen de fondo detallado, entonces normalmente se establecerá directamente un informe de examen preliminar internacional. Excepcionalmente el examinador puede emitir una segunda opinión escrita, si esto fuera solicitado explícitamente.

Patent

27. Feb. 2003

Frist:

PCT

AB
DN
126From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

To:

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
Müllerstrasse 178
D-13353 Berlin
ALLEMAGNENOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

24.02.2003

Applicant's or agent's file reference

51861AWOM1XX00+P

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/EP01/12004

International filing date (day/month/year)

17/10/2001

Priority date (day/month/year)

18/10/2000

Applicant

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

For the purpose of deciding whether the claimed invention is patentable or not, the elected Offices may apply criteria additional to or different from the criteria on which the international preliminary examination report is based (see Articles 27(5), 39(6)). Additional criteria may include e.g. exemptions from patentability and the requirements of enabling disclosure and of clarity and support of claims.

Name and mailing address of the IPEA/

European Patent Office - P.B. 5518 Patentkanal 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040 Tlx 31 851 epo nl
Fax: +31 70 340 - 3018

Authorized officer

Cardenas, C

Tel. +31 70 340-3370



Tratado de Cooperación en Materia de Patentes

De la Autoridad de Examen Preliminar Internacional

A Schering Aktiengesellschaft

Notificación de comunicación del informe de Examen Preliminar Internacional (Regla PCT 71.1)

Fecha de envío postal: 24/02/2003

Referencia del solicitante o agente: 51861AWOM1XX

Notificación Importante

Solicitud Internacional No. PCT/EP01/12004

Fecha de presentación internacional: 17/10/2001

Fecha de Prioridad: 18/10/2000

Solicitante: Schering Aktiengesellschaft

1. Por la presente el solicitante es notificado que esta Autoridad de Examen Preliminar Internacional emite el Informe de Examen Preliminar Internacional y sus anexos, en caso de haberlos, pedido en la solicitud internacional.
2. Una copia del informe y sus anexos, en caso de haberlos, está siendo transmitido a la Oficina Internacional para que sea comunicado a todas las oficinas elegida.
3. La Oficina Internacional preparará una traducción al inglés del informe (pero no de todos los anexos) y transmitirá dicha traducción a las oficinas elegidas que lo requieran.
4. Recordatorio: El solicitante debe iniciar la fase nacional en cada oficina elegida mediante la realización de ciertos actos

(presentación de traducciones y pago de impuestos nacionales) dentro de los 30 meses contados desde la fecha de prioridad (o más tarde en algunas oficinas) Artículo 39(1)) (Véase también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional con el Formulario PCT/IB/301).

Cuando la traducción de la solicitud internacional deba ser entregada a una oficina elegida y esa traducción deba contener una traducción de cada anexo al informe de examen preliminar internacional, es responsabilidad del solicitante el preparar y proveer dicha traducción directamente a cada una de las oficinas elegidas.

Para más detalles a los límites de tiempo aplicables y requerimientos de las oficinas elegidas, véase el Volumen II de la Guía del solicitante de PCT.

A fin de decidir si la invención reivindicada es patentable o no, las oficinas elegidas pueden aplicar criterios adicionales o diferentes de los criterios sobre los que está basado el informe de examen preliminar internacional (véase Artículos 27(5), 33(5). Criterios adicionales pueden incluir p.ej. excepciones a la patentabilidad y requerimientos de permiso de divulgación y de claridad y soporte de las reivindicaciones.



Schering Aktiengesellschaft
Corporate Patents

EUROPÄISCHES PATENTAMT
ERHARDTSTRASSE 27

D-80298 MÜNCHEN

Ihre Zeichen	Ihre Nachricht vom	Unser Zeichen (bei Antwort angeben)	Telefon	Datum
		ab/ku	+49-30-468-14748 +49-30-4 68-11 11	2003-01-24
			Telefax	+49-30-468-12058

International Patent Application No. PCT/EP01/12004
Our Ref.: 51861AWOM1XX00-P

Response to the Written Opinion (PCT Rule 66) of 27-11-2002

The Applicant herewith substitutes the request for detailed substantive examination filed on December 30, 2002 by the present letter now being signed by two employees of the applicant.

With respect to the references cited in the International Search Report applicant submits that none of these references neither anticipates the presently claimed subject matter nor renders it obvious.

o WO 98/34947

WO 98/34947 generally mentions the use of antiprogestins (i.e. PR (progesterone receptor) inhibitors) of formula I in the treatment of hormone-dependent, in particular progesterone-dependent tumors, however, it does not disclose the specific use of these PR inhibitors for inhibiting the binding of growth factors to tumor cells and/or tumors as claimed in present claim 1 of the present application. By inhibiting the binding of growth factors such as the EGF to tumor cells, it is prevented that tumors progress from a steroid-dependent growth (in which they may be targeted by traditional anti-tumor therapeutics such as antiestrogens) to a growth factor dependent growth, which is more difficult to treat, cf. page 6, first sentence of the present application. The second sentence of the first paragraph of the present application, that is, "in particular, for the treatment of tumors", is not disclosed in the present application.

Empfänger

Unser Zeichen

ab/ku

Datum

2003-01-24

Blatt

2



present invention to show an inhibition of a growth factor, in particular EGF, by means of influencing the PR.

Therefore, applicant is of the opinion that the subject matter of claim 1 of the present application is novel (and based on an inventive step) vis-à-vis WO 98/34947, since WO 98/34947 neither generally discloses the use of PR inhibitors for inhibiting binding of growth factors to tumor cells nor specifically discloses the use of the antiprogestins of formula I of WO 98/34947 for this particular purpose.

o EP 0466315

EP 0466315 relates to compositions containing xylan sulfates alone or in combination with steroids, for affecting growth factor function and for inhibiting fibroblast proliferation.

Nowhere in this reference, and in particular not in the passages indicated as being relevant in the ISR, is there a hint or even a specific disclosure that PR inhibitors are capable of inhibiting the binding of growth factors to tumor cells and/or tumors as claimed in the present claim 1 of the above-captioned application. In contrast, at page 3, lines 22/23 of EP 0 466 315 A2 it is stated that breast cancer development "may respond favourably to an agent providing growth factor stimulation" (emphasis added), and not growth factor inhibition as is aimed at in the present application.

At page 5, lines 1 and 2, as well as page 7, lines 22/23, several examples of suitable steroids that may be used according to EP 0 466 315 A2 in combination with the xylan sulfates are disclosed. The steroids disclosed do not comprise any PR inhibitors.

Since EP 0 466 315 A2 neither generally nor specifically refers to the use of PR inhibitors according to the present application for inhibiting growth factor binding to tumor cells and/or tumors, this reference is not relevant for assessing novelty and/or inventive step with respect to the present application.

o WO 00/46234

This reference pertains to steroid derivatives of general formula (I) (cf. e.g. page 2 of WO 00/46234), which is distinct in principle from WO 98/34947, in that, according to the above-captioned application in that the latter strictly requires a fluoroalkyl substituent in the 17 α position of the steroid framework, whereas the compounds according to WO 00/46234 exhibit a



Unter Zeichen
ab/ku

Datum
2003-01-24

Blatt
3

different substitution pattern.

Furthermore, although WO 00/46234 at page 6, first paragraph mentions that the compounds claimed therein are PR antagonists and that they may be used in treating PR-dependent tumors, such as mammary or ovarian cancer, it is nowhere hinted at or even disclosed that PR inhibitors, let alone the specific PR inhibitors according to formula I of the above-captioned application, are suitable for inhibiting the binding of growth factors to tumor cells and/or tumors as claimed in claim 1 of the present application.

Therefore, also WO 00/46234 is not considered relevant with respect to novelty and inventive step of the subject matter claimed in the present application.

o WO 99/33855 and US 5,238,950

WO 99/33855 and US 5,238,950 are identified in the ISR merely as "A"-references, i.e., pertaining to the general technical background. Indeed, WO 99/33855 only discloses antiestrogens for use e.g. in tumor treatment. US 5,238,950 relates to certain non-steroidal compounds that are inhibitors of platelet-derived growth factors. Thus, none of these two references has to be considered with respect to the patentability of the presently claimed subject matter.

In the light of the above comments on the prior art cited in the International Search Report applicant asks the International Preliminary Examination Authority to issue a favorable IPER acknowledging novelty of and an inventive step for the claimed subject matter.

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT

i.V.

— 4

Dr. Brösamle

i.A.

—

Kurilla

SCHERING AG - Corporate Patents

A la Oficina Europea de Patentes

Solicitud Internacional No. PCT/EP01/12004

Solicitante: Schering Aktiengesellschaft

Nuestra referencia: 51861AWOM1XX00-P

Respuesta a la Opinión Escrita de acuerdo con la Regla 66 del 27-11-2000

Por la presente el solicitante sustituye el pedido de examen de fondo detallado presentado el 30 de diciembre de 2002 por la presente carta, firmada por dos empleados de la solicitante.

Con respecto a las referencias citadas en el Informe de Búsqueda Internacional el solicitante declara que ninguna de estas referencias anticipan el objeto reivindicado ni lo hacen obvio.

WO 98/34947

WO98/34947 en general menciona el uso de antiprogestinas (p.ej. PR (inhibidores del receptor de progesterona) de fórmula I en el tratamiento de tumores hormona-dependientes, en particular progesterona-dependientes, sin embargo, no describe el uso específico de estos inhibidores de PR para inhibir la dependencia de factores de crecimiento a células tumorales y/o tumores tal como es reivindicado en la presente reivindicación 1 de la presente solicitud. Al inhibir la dependencia de factores de crecimiento tales como el EGF a células tumorales, se previene el progreso de los tumores del crecimiento dependiente de esteroides

(en el cual pueden ser atacados con medicamentos anti-tumorales tradicionales como los antiestrógenos) a un crecimiento dependiente del factor de crecimiento que es más difícil de tratar, ver pág. 6, primer párrafo de la presente solicitud. Tal como se explica en la hoja 2, última oración del primer párrafo de la presente solicitud, aparentemente no ha sido posible antes de la presente invención mostrar una inhibición del factor de crecimiento, en particular EGF, mediante el influenciamiento de PR.

Por ello, el solicitante es de la opinión que el objeto de la reivindicación 1 de la presente solicitud es nuevo (y tiene altura inventiva) frente a WO98/34947, debido a que WO 98/34947 ni describe en general el uso de inhibidores PR para inhibir la dependencia de factores de crecimiento a células tumorales ni describe específicamente el uso de antiprogestinas de fórmula I de WO 98/34947 para este propósito particular.

EP 0466315

EP 0466315 se refiere a composiciones que contienen sulfatos de xylano solos o en combinación con esteroides, para afectar la función de factor de crecimiento y por inhibir la proliferación fibroblástica.

En ningún lado de esta referencia, y particularmente en los pasajes relevantes indicados en el Informe de Búsqueda Internacional, existe una alusión o mejor aún una descripción específica de que los inhibidores PR son capaces de inhibir la dependencia de factores de crecimiento a células tumorales y/o tumores tal como está reivindicado en la presente reivindicación 1 de la solicitud mencionada más arriba. Por el contrario, en la página 3, líneas 22/23 de EP 0466315 A2 se establece que el desarrollo del cáncer de mama "puede responder favorablemente a un agente que provea una estimulación del factor de crecimiento" (agregado subrayado) y no una inhibición del factor de crecimiento como es el objetivo de la presente invención.

En la página 5, líneas 1 y 2, así como en la página 7, líneas 22/23, se describen varios ejemplos de esteroides apropiados que pueden ser usados de acuerdo con EP 0466 315 A2 en combinación con los sulfatos de xylano. Los esteroides descriptos no comprenden inhibidores PR.

Debido a que EP 0466 315 A2 ni en forma general ni en forma específica se refiere al uso de inhibidores PR de acuerdo con la presente solicitud para inhibir la dependencia del factor de crecimiento de células tumorales y/o tumores, esta referencia no es relevante para establecer novedad o altura inventiva con respecto a la presente solicitud.

WO 00/46234

Esta referencia se refiere a derivados esteroides de fórmula general (I) (ver p. ej. página 2 de WO 00/46234, cuya fórmula difiere de la fórmula I de acuerdo con la solicitud mencionada más arriba en que la última estrictamente requiere un sustituyente fluoroalquilo en la posición 17alfa del marco esteroide, mientras que los compuestos de acuerdo con WO 00/46234 exhiben un esquema de sustitución diferente.

Además, a pesar de que WO 00/46234 en la página 6, primer párrafo, menciona que los compuestos reivindicados en ella son antagonistas de PR y que pueden ser usados para tratar tumores dependientes de PR, tales como cáncer de mama o de ovarios, en ningún lugar se menciona o describe que los inhibidores de PR, y mucho menos los inhibidores de PR específicos de acuerdo con la fórmula I de la solicitud mencionada más arriba, son aptos para inhibir la dependencia de factores de crecimiento de células tumorales y/o tumores tal como está reivindicado en la reivindicación 1 de la presente solicitud.

Por lo tanto, tampoco WO 00/46234 es considerada relevante con respecto a la novedad y altura inventiva del objeto reivindicado en la presente invención.

WO99/33855 y US 5,238,950

WO 99/33855 y US 5,238,950 están indicadas en el Informe de Búsqueda Internacional meramente como referencias "A", es decir que se refieren al estado general de la técnica. En efecto, WO 99/33855 solo describe antiestrógenos para el uso, p.ej. en el tratamiento de tumores. US 5,238,950 se refiere a ciertos compuestos no-esteroides que son inhibidores de factores de crecimiento derivados de plaquetas. Por lo tanto, ninguna de estas dos referencias deben ser consideradas en relación con la patentabilidad del objeto inventivo reivindicado.

En vista de los comentarios precedentes con respecto al arte previo citado en el Informe de Búsqueda Internacional, el solicitante pide a la Autoridad de Examen Preliminar Internacional emitir un Informe de Examen Preliminar Internacional favorable reconociendo la novedad y la altura inventiva del objeto inventivo reivindicado.



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 100 51 609.2

Anmeldetag: 18. Oktober 2000

Anmelder/Inhaber: Schering Aktiengesellschaft, Berlin/DE

Bezeichnung: Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen

IPC: A 61 K 31/567

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 13. September 2001
Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

Im Auftrag

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'J. Kunt'.

' aust

Example
WEICKMANN & WEICKMANN



138

Patentanwälte
European Patent Attorneys · European Trade Mark Attorneys

DIPL.-ING. H. WEICKMANN
DIPL.-ING. F. A. WEICKMANN
DIPL.-CHEM. B. HUBER
DIPL.-ING. H. LISK
DIPL.-PHYS. DR. J. PRECHTEL
DIPL.-CHEM. DR. B. BOHM
DIPL.-CHEM. DR. W. WEISS
DIPL.-PHYS. DR. J. TIESMEYER
DIPL.-PHYS. DR. M. HERZOG
DIPL.-PHYS. B. RUTTENSPERGER
DIPL.-PHYS. DR.-ING. V. JORDAN

Unser Zeichen:
22921P DE/WWei

18. Okt. 2000

Anmelder:
Schering Aktiengesellschaft
Müllerstrasse 178

13342 Berlin

Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Progesteronrezeptor-Inhibitoren
5 zur Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen.

ei/ANM/22921PDE 18.10.2000

10

Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen

Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Progesteronrezeptor-Inhibitoren zur Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen.

10

Estradiol und Progesteron sind an der Entwicklung von Brustkrebs beteiligt. Zum Zeitpunkt der Diagnose zeigt jedoch nur etwa 1/3 der Tumore eine Steroidhormonabhängigkeit. Man nimmt an, dass bei der Mehrzahl steroidhormonresistenter Tumoren die Proliferationskontrolle von lokalwirkenden autokrinen oder parakrinen peptidischen Wachstumsfaktoren übernommen wird. Dabei resultieren invasive Tumoren mit äußerst schlechter Prognose, die Wachstumsfaktor-Rezeptor positiv und Steroidhormon resistent sind (Elledge et al, Semin. Onkol. 19 (1992), 244-253).

15

Wachstumsfaktoren regulieren das Zellwachstum durch Aktivierung intrazellulärer Signaltransduktionswege nach Bindung an hochaffine Tyrosinkinase-Rezeptoren auf der Zelloberfläche. Neuere Erkenntnisse lassen vermuten, dass Mammakarzinomzellen durch Progestine für die mitogene Wirkung von EGF sensibilisiert werden können (Groshong et al, Mol. Endocrinol. 11 (1997), 1593-1607). So konnte beispielsweise Progesteron in der humanen Mammakarzinomzelllinie T47D den Eintritt von Zellen in die S-Phase begleitet von einem transienten Anstieg der Aktivität von Cyclin 1D und der cyclinabhängigen Kinase 4 induzieren. Die Wachstumsstimulation ist jedoch auf einen einzigen Zyklus beschränkt und von einem Wachstumsarrest am G1/S-Übergang des zweiten Zyklus gefolgt (Groshong et al. (1997), supra; Musgrove et al, Mol. Cell. Biol. 13 (1993), 3577-3587). In ihrem durch Progesteron arretierten Zustand werden die Zellen für die proliferative Wirkung von EGF sensitiv. Weiterhin wurde gezeigt, dass Progesteron die Wirkung von EGF auf T47D Zellen durch Hochregulation

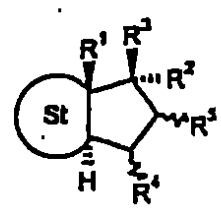
25

30

von EGFR, Erb2 und Erb3 verstärkt und die Tyrosinphosphorylierung von Signalmolekülen erhöht (Lange et al, J. Biol. Chem. 273 (1998), 31308-31316; Richer et al, J. Biol. Chem. 273 (1998), 31317-31326). Im Gegensatz dazu konnte eine Hemmung der Wirkung von EGF auf Tumorzellen durch Beeinflussung des Progesteronrezeptors bisher nicht gezeigt werden.

Im Rahmen der zur vorliegenden Erfindung führenden Versuche wurde nun überraschenderweise festgestellt, dass Inhibitoren des Progesteronrezeptors, z.B. 17 α -Fluoralkylsteroiden die Bindung von Wachstumsfaktoren wie EGF an Tumorzellen zumindest teilweise verhindern können, insbesondere an Tumorzellen, die eine hohe oder/und konstitutive Expression des Progesteronrezeptors aufweisen.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit die Verwendung eines Inhibitors des Progesteronrezeptors zur Herstellung eines Mittels für die Hemmung der Bindung von Wachstumsfaktoren an Tumorzellen und insbesondere zur Hemmung einer durch Wachstumsfaktoren bewirkten Proliferation von Tumorzellen bzw. Tumoren. Ein Inhibitor des Progesteronrezeptors im Sinne der vorliegenden Erfindung ist vorzugsweise eine Substanz, welche kompetitiv die Bindung von Progesteron an seinen Rezeptor hemmt. Der Inhibitor des Progesteronrezeptors wird dabei vorzugsweise ausgewählt aus 17 α -Fluoralkylsteroiden, wie sie z.B. in WO98/34947 offenbart sind. Diese 17 α -Fluoralkylsteroiden weisen die allgemeine Formel I auf:



I

worin

R^1 für eine Methyl- oder Ethylgruppe,

R^2 für einen Rest der Formel $C_nF_mH_o$, wobei $n = 2, 3, 4, 5$ oder $6, m > 1$ und $m + o = 2n + 1$,

5

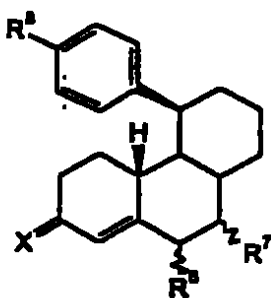
R^3 für eine freie, veretherte oder veresterte Hydroxygruppe,

R^4 und R^5 je für ein Wasserstoffatom, gemeinsam für eine zusätzliche Bindung oder eine Methylengruppe,

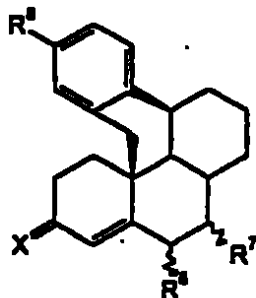
10,

St. für ein steroidales ABC-Ringsystem der Teilformel A, B oder C

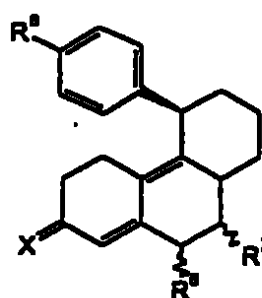
15



A



B



C

20

stehen,

worin

25

R^6 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 -oder verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe oder ein Halogenatom,

R^7 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 - oder eine verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe, oder,

30

wenn St für ein steroidales ABC-Ringsystem A oder B steht, außerdem R⁶ und R⁷ gemeinsam eine zusätzliche Bindung,

5 X ein Sauerstoffatom, eine Hydroxyminogruppierung = N~OH oder zwei Wasserstoffatome,

R⁸ einen Rest Y oder einen ggf. mehrfach mit einer Gruppe Y substituierten Arylrest, wobei Y ein Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine -OH, -NO₂, -N₃, -CN, -NR^{9a}R^{9b}, -NHSO₂R⁹, -CO₂R⁹, C₁-C₁₀-Alkoxy-, C₁-C₁₀-Alkanoyloxy-,
10 Benzoyloxy-C₁-C₁₀-Alkanoyl-, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl- oder Benzoylgruppe ist

und R^{9a} und R^{9b} gleich oder verschieden sind und wie R⁹ ein Wasserstoffatom oder eine C₁-C₁₀-Alkylgruppe darstellen,

15 bedeuten,

sowie für die Reste-NR^{9a}R^{9b} auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Säuren und für die Reste -CO₂R⁹ mit R⁹ in der Bedeutung von Wasserstoff auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Basen.

20

Ein besonders bevorzugtes Beispiel für derartige Inhibitoren des Progesteronrezeptors ist die Verbindung 11β-(4-Acetylphenyl)-17β-hydroxy-17α-(1,1,2,2,2-pentafluorethyl)-estra-4,9-dien-3-on (im Folgenden Verbindung A). Darüber hinaus sind jedoch auch andere Antiprogestine
25 geeignet, beispielsweise Onapriston (11β-[p-(Dimethylamino)phenyl]-17α-hydroxy-17-(3-hydroxypropyl)-13α-estra-4,9-dien-3-on).

30

Die Wirkung der Progesteronrezeptor-Inhibitoren wird insbesondere bei Tumorzellen gefunden, die eine hohe oder/und konstitutive Progesteronrezeptor-Expression aufweisen, beispielsweise der Progesteronrezeptor-positiven Mammakarzinomzelllinie T47D (Sartorius et al., Cancer Res. 54 (1994), 3668-3877).

144

Die Progesteronrezeptor-Inhibitoren hemmen die durch Progesteron induzierte Erhöhung der Expression von Wachstumsfaktoren, insbesondere von solchen Faktoren, die an Wachstumsfaktoren der EGF-Rezeptorfamilie wie etwa den EGF Rezeptor binden. Besonders bevorzugt hemmen die Inhibitoren die Bindung von EGF an humane Mammakarzinomzellen.

Gemäß vorliegender Erfindung können daher die Progesteronrezeptor-Inhibitoren für die Tumorthherapie bei Säugern und vorzugsweise beim Menschen eingesetzt werden, und zwar insbesondere um die Progression eines Tumors, insbesondere eines Mammakarzinoms von steroidabhängigem Wachstum zu wachstumsfaktorabhängigem Wachstum zu blockieren. Auf diese Weise kann eine wirksame Behandlung des Tumors im Stadium des steroidabhängigen Wachstums, z.B. durch Antiöstrogene erfolgen, ohne dass der Tumor zum Stadium des wachstumsfaktorabhängigen Wachstums, verbunden mit einer erheblichen Verschlechterung der Prognose für den Patienten, fortschreiten kann. Auch im Stadium des wachstumsfaktorabhängigen Wachstums kann das Verabreichen der Progesteronrezeptor-Inhibitoren eine Verlangsamung des Tumorwachstums bewirken.

20

Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung können nicht-steroidale Antiöstrogene wie z.B. Tamoxifen und Nafoxidin als auch Raloxifen und EM800 verwendet werden. Die beiden letztgenannten sind Vertreter der so genannten SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators); auch andere Verbindungen mit dem Wirkprofil der SERMs sind erfindungsgemäß verwendbar, z.B. die in der PCT/EP99/05093 genannten Verbindungen und von diesen wiederum insbesondere die Verbindung 5-(4-{5-[(RS)-4,4,5,5,5-Pentafluorpentyl)sulfinyl]pentyloxy}phenyl)-6-phenyl-8,9-dihydro-7H-benzocyclohepten-2-ol.

30

Beispiele für steroidale Antiöstrogene umfassen jene, die in EP 0 348 341 A, insbesondere Faslodex, und jene, die in WO98/07740 offenbart sind, insbesondere 11 β -Fluor-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio-propylamino)-pentyl]-estra-1,3,5(10)trien-3,17 β -diol, oder jene, die in WO99/33855 beschrieben sind, insbesondere 11 β -Fluor-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluor-decyl)-amino]-pentyl]-estra-1,3,5(10)trien-3,17 β -diol oder pharmazeutisch verträgliche Derivate oder Analoge davon. Aromataseinhibitoren mit einem antiöstrogenen Effekt, wie beispielsweise diejenigen, die aus den Seiten 7 - 8 der EP 0 495 825 B1 hervorgehen, können gleichfalls als Antiöstrogene verwendet werden.

Die Verabreichung der Progesteronrezeptor-Inhibitoren kann nach üblichen Methoden beispielsweise lokal, topisch, subkutan, enteral oder parenteral erfolgen. Für die enterale Applikation kommen insbesondere Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Suspensionen oder Lösungen in Betracht, die in üblicher Weise mit den in der Gallenik bekannten Zusätzen und Trägersubstanzen hergestellt werden können. Für die lokale oder topische Anwendung kommen beispielsweise Vaginalzäpfchen oder transdermale Systeme wie Hautpflaster in Betracht. Die subkutane Applikation kann durch Injektion mit einer öligen Lösung erfolgen.

Eine Doseinheit kann beispielsweise 0,1 bis 100 mg aktiver Verbindung(en) (= Inhibitor(en) des Progesteronrezeptors) enthalten. Für die Gabe beim Menschen beträgt die tägliche Dosis der aktiven Verbindung(en) ungefähr 0,1 bis 400 mg, vorzugsweise ungefähr 10 - 100 mg und insbesondere ungefähr 50 mg.

Weiterhin soll die Erfindung durch die nachfolgenden Beispiele und Figuren erläutert werden. Es zeigen:

30

Figur 1 Die antiproliferative Wirksamkeit von Testsubstanzen auf die Mammakarzinomzelllinie T47D.

Figur 2 Die Proteinmengen des Progesteronrezeptors (PR) und des Estrogenrezeptors (ER) in der Mammakarzinomzelllinie T47D.

5 Figur 3 Die transkriptionelle Aktivität des Progesteronrezeptors in T47D Zellen.

Figur 4 Eine Scatchard-Analyse der Bindung von EGF an T47D Zellen in Abhängigkeit von der Anwesenheit von Testsubstanzen.

10 Figur 5 Die Abhängigkeit der Bindung von EGF an T47D Zellen von der Anwesenheit von Testsubstanzen.

Beispiel

15

1. Materialien und Methoden

Materialien:

20 ^{125}I -EGF (100mCi/mmol) wurde von Amersham Buchler bezogen. Verbindung A, Hydroxytamoxifen (4-OH-Tam), ZM182780 und Estradiol wurden im Institut für Arzneimittelchemie der Schering AG nach bekannten Methoden synthetisiert.

25 Zelllinien:

Es wurde die humane Estrogenrezeptor (ER)- und Progesteronrezeptor (PR)-positive Mammakarzinomzelllinie T47D (Freake et al., BBRC 101 (1981), 1131-1138) verwendet.

30

Wachstumsstudien:

Die Tumorzellen wurden bei 5000 Zellen/Well in 96-Well-Platten für 6 Tage in RPMI Medium plus 10 % Rinderserum, 200 nM Insulin und 0,1 nM Estradiol in Anwesenheit der jeweils angegebenen Verbindungen kultiviert und das Wachstum durch Anfärbung mit Kristallviolett bestimmt.

PR und ER Proteinmenge:

Die Bestimmung der PR und ER Mengen erfolgt in Zelllysaten unter Verwendung von Steroid-Bindeassays mit radioaktiv markiertem Progesteron bzw. Estradiol nach der bei Fuhrmann et al. (Contraception 54 (1996), 243-251) beschriebenen Methode.

Bindung von ^{125}I -EGF an Tumorzellen:

R5020-vorbehandelte T47D Zellen wurden für 2 h mit ^{125}I -EGF bei 4°C inkubiert. Die unspezifische Bindung war immer weniger als 10 % der Gesamtbindung.

Transaktivierungsassay:

T47D Zellen wurden transient mit MTV-LUC (Cato et al., EMBO J., 9: 2237-40) transfiziert und in Abwesenheit bzw. Gegenwart von 1 nM R5020 kultiviert. Zum Test auf einen PR-vermittelten Antagonismus wurden die transient transfizierten T47D Zellen mit R5020 und zusätzlich mit zunehmenden Konzentrationen an Verbindung A oder RU486 behandelt. Nach 24 h wurde ein Luziferasetest durchgeführt.

2. Ergebnisse

Figur 1 zeigt die antiproliferative Wirksamkeit verschiedener Testsubstanzen. T47D Zellen wurden in Gegenwart (obere Schraffierung) oder Abwesenheit (untere Schraffierung) von 0,1 nM E₂ plus zunehmende Konzentrationen von Verbindung A (▲), Onapriston (■), ZK191703 (●) oder 4-OH-Tam (◆) kultiviert. Bei T47D Zellen zeigt Verbindung A selbst in extrem geringen Konzentrationen eine signifikante antiproliferative Wirkung.

Figur 2 zeigt die PR- und ER-Proteinmengen in T47D Zellen.

Figur 3 zeigt die transkriptionelle Aktivität von PR in T47D Zellen, wobei die jeweiligen Zellen transient mit MTV-LUC transfiziert und in Abwesenheit (Co) oder Gegenwart von 1 nM R5020 kultiviert wurden (a). Zum Test auf einem PR-vermittelten Antagonismus wurden die transient transfizierten T47D Zellen mit 0,1 nM R5020 und zunehmenden Konzentrationen an Verbindung A oder RU468 behandelt (b).

In Figur 4 ist eine Scatchard-Analyse der ¹²⁵I-EGF Bindung an T47D Zellen gezeigt. Die Zellen wurden für 48 h in Gegenwart von 20 nM R5020 mit oder ohne 20 nM Verbindung A kultiviert und dann gewaschen. Anschließend wurde die EGF-Bindung über einen Konzentrationsbereich von 0,25 bis 150 ng/ml EGF durch Inkubation für 2 h bei 4°C bestimmt. Die Insertionen zeigen die Menge an gebundenem Liganden gegenüber dem Logarithmus der freien Ligandenkonzentration. Es ist zu erkennen, dass die durch R5020 verursachte Erhöhung der EGF-Bindung (mittleres Bild) gegenüber der Kontrolle (oberes Bild) bei Zugabe von Verbindung A (unteres Bild) blockiert werden konnte.

In Figur 5 ist die Bindung von ¹²⁵I-EGF an intakte T47D Zellen gezeigt. Die Zellen wurden hierzu für 48 h mit 2 bzw. 20 nM R5020 plus Verbindung A oder Onapriston oder Verbindung A alleine behandelt. Auch hier ist zu

erkennen, dass Verbindung A die durch R5020 hervorgerufene Erhöhung der EGF-Bindung an T47D Zellen blockiert. Ein ähnlicher - wenn auch erheblich schwächerer - Effekt wird auch für Onapriston gefunden.

5 3. Diskussion

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen, dass das Estradiol-stimulierte Wachstum von T47D Zellen mit hohem und konstitutivem PR-Gehalt wirksam durch Verbindung A blockiert wurde.

10

Durch Transaktivierungsassays konnte gezeigt werden, dass der PR in den T47D Zellen transkriptionell aktiv war und durch Verbindung A blockiert werden konnte.

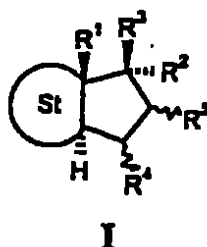
15 Eine Stimulierung der T47D Zellen mit R5020 führte zu einer 2- bis 3-fach erhöhten EGF-Rezeptorexpression, die durch Verbindung A blockiert wurde. Gleichzeitig war die Bindung von EGF an die Zellen 2- bis 3-fach erhöht und konnte durch Verbindung A und weniger effizient durch Onapriston verhindert werden. Die erhöhte EGF-Bindung an R5020 behandelte Zellen
20 könnte durch eine erhöhte EGF-Rezeptor-Expression oder erhöhte Heterodimerbildung zwischen EGF-Rezeptor und erbB2 hervorgerufen sein.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen die Wechselwirkungen zwischen PR- und Wachstumsfaktor-Signalsystemen in humanen Mammakarzinomzellen.

25 Durch Einsatz von Antiprogestinen kann die Progression von Tumorzellen vom steroidabhängigen Wachstum zum wachstumsfaktorabhängigen Wachstum gehemmt bzw. verhindert werden.

Ansprüche

1. Verwendung eines Inhibitors des Progesteronrezeptors zur Herstellung eines Mittels für die Hemmung der Bindung von Wachstumsfaktoren an Tumorzellen oder/und an einen Tumor.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass eine durch Wachstumsfaktoren bewirkte Proliferation der Tumorzellen oder/und des Tumors gehemmt wird.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Inhibitor des Progesteronrezeptors ausgewählt wird aus 17 α -Fluoralkylsteroiden der allgemeinen Formel I



worin

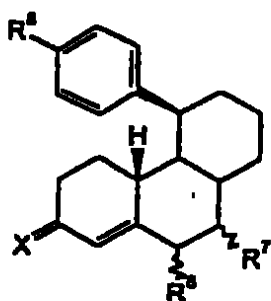
R¹ für eine Methyl- oder Ethylgruppe,

R² für einen Rest der Formel C_nF_mH_o, wobei n 2,3,4,5 oder 6, m > 1 und m + o = 2n + 1 ist,

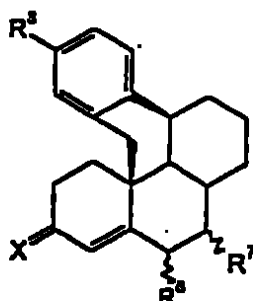
R³ für eine freie, veretherte oder veresterte Hydroxygruppe,

R⁴ und R⁵ je für ein Wasserstoffatom, gemeinsam für eine zusätzliche Bindung oder eine Methylengruppe,

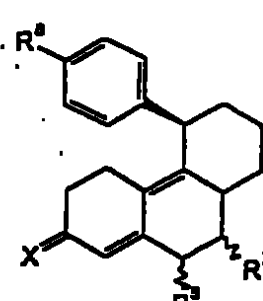
St für ein steroidales ABC-Ringsystem der Teilformel A, B oder C stehen,



A



B



C

worin

R^8 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 -oder verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe oder ein Halogenatom,

R^7 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 - oder eine verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe, oder,

wenn St für ein steroidales ABC-Ringsystem A oder B steht, außerdem R^8 und R^7 gemeinsam eine zusätzliche Bindung,

X ein Sauerstoffatom, eine Hydroxyminogruppierung $=N-OH$ oder zwei Wasserstoffatome,

R^9 einen Rest Y oder einen ggf. mehrfach mit einer Gruppe Y substituierten Arylrest, wobei Y ein Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine $-OH$, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-NR^{9a}R^{9b}$, $-NHSO_2R^9$, $-CO_2R^9$, C_1 - C_{10} -Alkoxy-, C_1 - C_{10} -Alkanoyloxy-, Benzoyloxy- C_1 - C_{10} -Alkanoyl-, C_1 - C_{10} -Hydroxyalkyl- oder Benzoylgruppe ist

und R^{9a} und R^{9b} gleich oder verschieden sind und wie R^9 ein Wasserstoffatom oder eine C_1 - C_{10} -Alkylgruppe darstellen,

bedeuten,

sowie für die Reste- $\text{NR}^{\text{a}}\text{R}^{\text{b}}$ auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Säuren und für die Reste $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{g}}$ mit R^{g} in der Bedeutung von Wasserstoff auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Basen.

4. Verwendung nach Anspruch 3,
dadurch gekennzeichnet,

dass der Inhibitor des Progesteronrezeptors die Verbindung 11 β -(4-Acetylphenyl)-17 β -hydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluorethyl)estra-4,9-dien-3-on ist.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,

dass die Tumorzellen eine hohe oder/und konstitutive Progesteronrezeptor-Expression aufweisen.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,

dass die Tumorzellen Mammakarzinomzellen sind.

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,

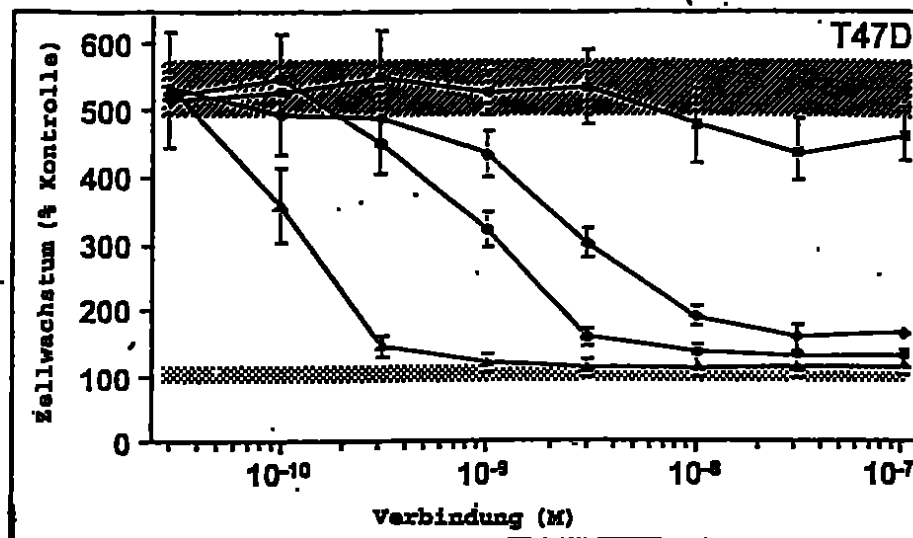
dass die Bindung von EGF oder/und anderen Faktoren, die an den EGF-Rezeptor binden, an Tumorzellen gehemmt wird.

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,

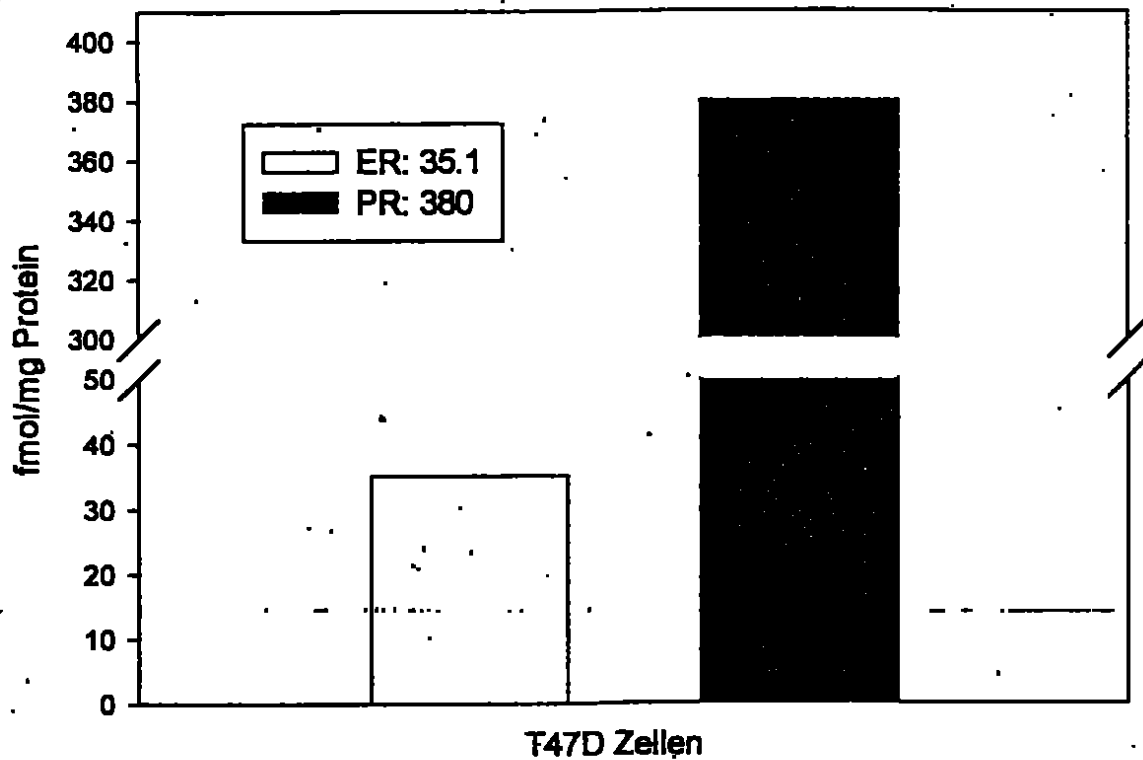
dass die Bildung von Heterodimeren zwischen dem EGF-Rezeptor und erbB2 gehemmt wird.

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 für die Tumorthherapie.

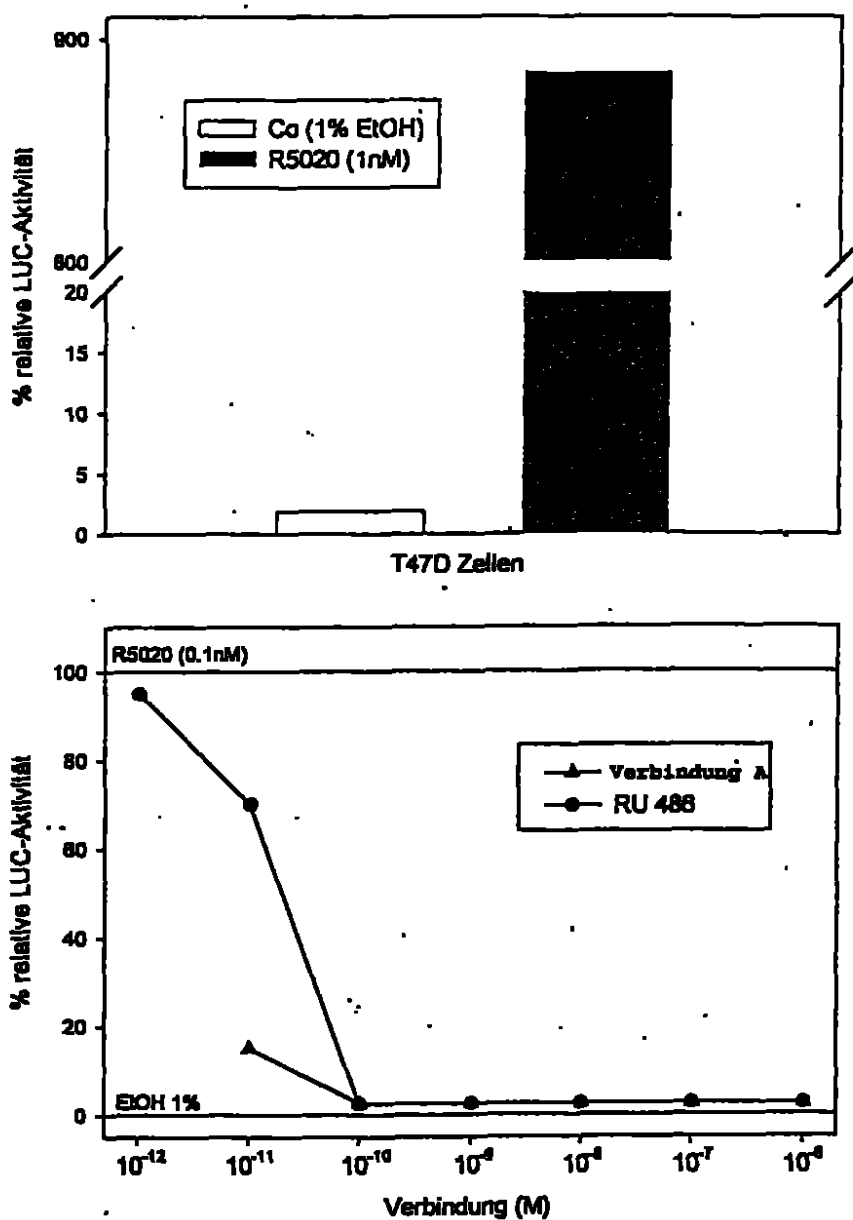
5 10. Verwendung nach Anspruch 9, um die Progression eines Tumors von steroidabhängigem Wachstum zu wachstumsfaktorabhängigem Wachstum zu hemmen.



Figur 1: Antiproliferative Wirksamkeit . T47D Zellen wuchsen in Gegenwart (obere) oder Abwesenheit (untere Schraffierungen) von 0.1 nM E_2 plus zunehmende Konzentrationen von Verbindung A (Δ), Onapriston ($\blacksquare$), ZK191703 ($\bullet$) oder 4-OH-Tam ($\blacklozenge$).

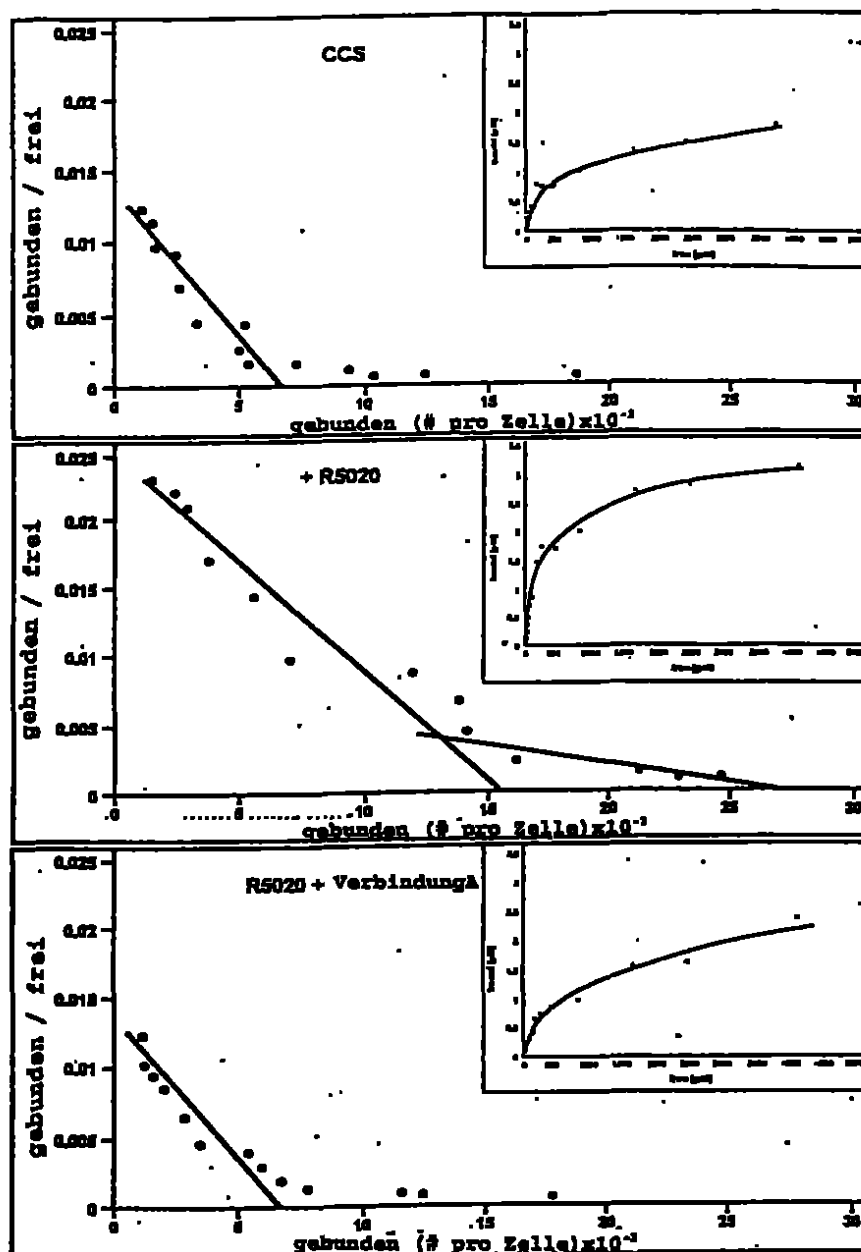


Figur 2: Proteinmengen des Progesteronrezeptors (PR) und des Estrogenrezeptors (ER) in T47D Zellen: Die PR- und ER-Mengen wurden in Zelllysaten unter Verwendung von Steroidbindeassays mit radioaktiv markiertem Progesteron bzw. Estradiol bestimmt.

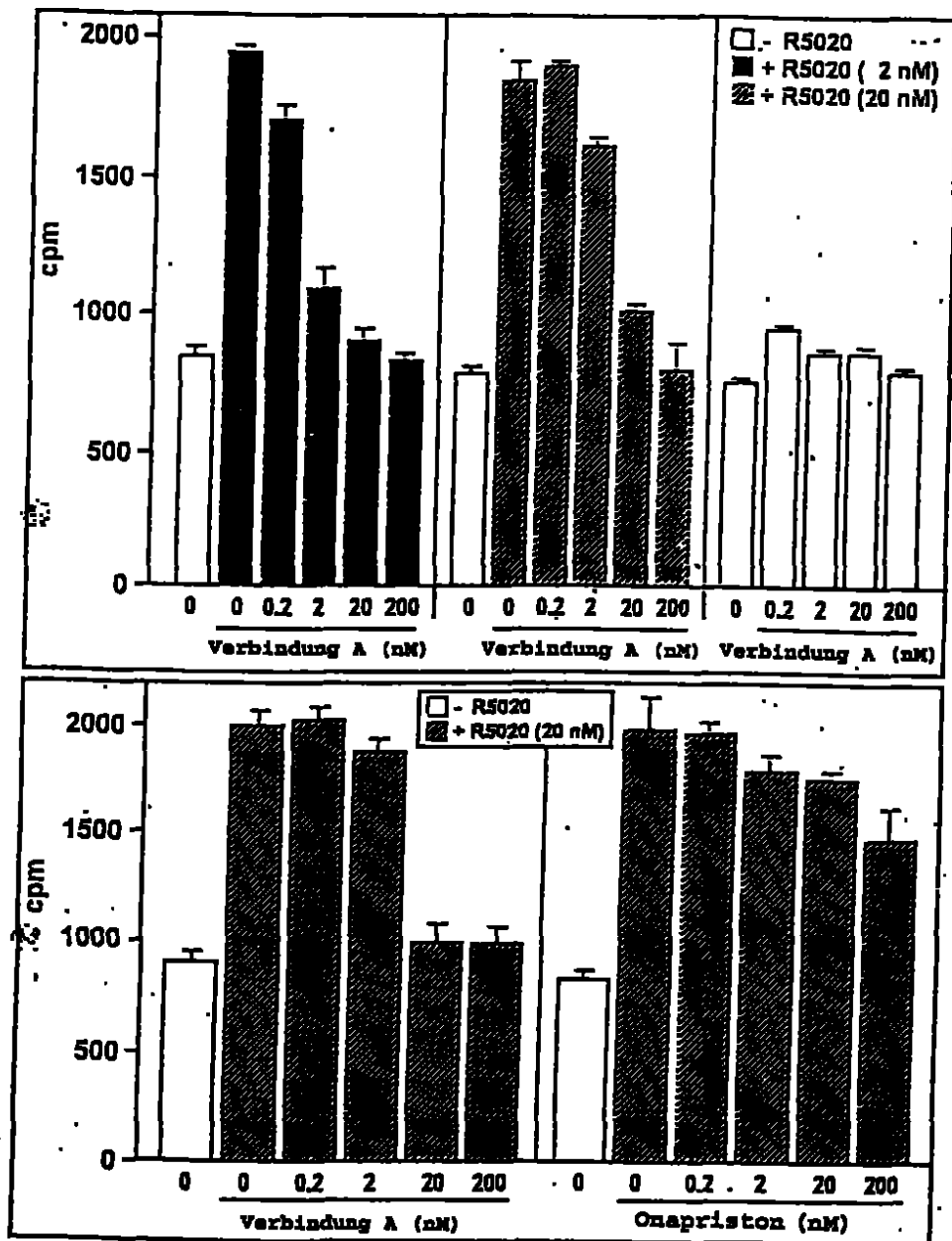


Figur 3: Transkriptionelle Aktivität von PR in T47D Zellen. A: T47D Zellen wurden transient mit MTV-LUC transfiziert und in Abwesenheit oder Gegenwart von 1 nM R5020 kultiviert. B: Zur Untersuchung eines PR-vermittelten Antagonismus wurden die transient transfizierten T47D Zellen mit 0,1 nM R5020 und zunehmenden Konzentrationen an Verbindung A oder RU486 behandelt.

157
17



Figur 4: Scatchard-Analyse der ^{125}I -EGF-Bindung. T47D-Zellen wurden für 48 Stunden in Gegenwart von 20 nM R5020, mit oder ohne 50 nM Verbindung A gezüchtet, dann gewaschen und anschließend wurde die ^{125}I -EGF-Bindung über einen Bereich von 0.25-150 ng/ml EGF durch Inkubation für 2 Stunden bei 4°C bestimmt. Die Inserts zeigen die Menge an gebundenem Liganden gegen den Logarithmus der freien Ligandkonzentration.



Figur 5: Bindung von ^{125}I -EGF an intakte T47D Zellen. Die Zellen wurden für 48 Stunden mit 2 oder 20 nM R5020 plus Verbindung A bzw. Onapriston, oder mit Verbindung A alleine, vorbehandelt.

REPÚBLICA FEDERAL DE ALEMANIA

**Certificado de Prioridad sobre la Presentación
de una Solicitud de Patente**

Referencia: 100 51 609.2

Fecha de solicitud: 18 de Octubre del 2000

Solicitante/Propietario: Schering Aktiengesellschaft,
Berlín/Alemania

Título: Inhibición de la dependencia de
factores de crecimiento de las
células tumorales

Cl. inter. de patentes: A 61 K 31/567

Los documentos adjuntos son una copia fiel y exacta de los documentos originales de esta solicitud de patente.

Munich, 13 de Septiembre del 2001

Oficina Alemana de Patentes y Marcas

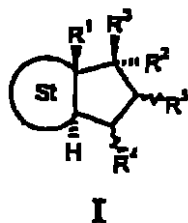
El Presidente

Por encargo: Faust

(Firma y Sello Oficial)

REIVINDICACIONES

1. Uso de un inhibidor del receptor de progesterona para la preparación de un medicamento para la inhibición del enlace de factores de crecimiento a células tumorales y/o a un tumor.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que se inhibe una proliferación de las células tumorales y/o del tumor causada por factores de crecimiento.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por el hecho de que el inhibidor del receptor de progesterona se elige entre 17 α -fluoroalquilesteroides de la fórmula general I



en la cual

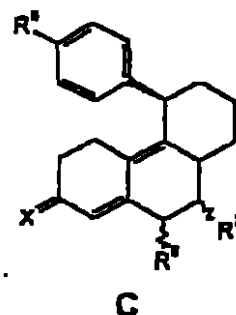
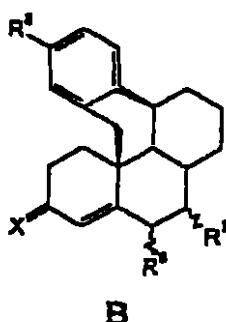
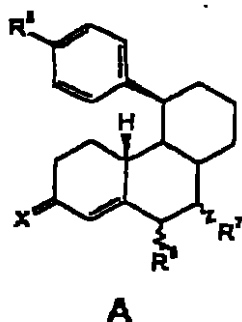
R¹ representa un grupo metilo o un grupo etilo,

R² representa un radical de la fórmula C_nF_mH_o, siendo n 2, 3, 4, 5 o 6, m > 1 y m+o = 2n+1,

R³ representa un grupo hidroxilo libre eterizado o esterificado

Cada uno de R⁴ y R⁵ representa un átomo de hidrógeno común para un enlace adicional o un grupo metileno,

St representa un sistema de anillo ABC esteroideal de la fórmula parcial A, B o C



en donde

- R^6 representa un átomo de hidrógeno, un grupo C_1-C_4 -alquilo de cadena lineal o un grupo C_3-C_4 -alquilo ramificado o un átomo halógeno,
- R^7 representa un átomo de hidrógeno, un grupo C_1-C_4 -alquilo de cadena lineal o un grupo C_3-C_4 -alquilo ramificado o, si St representa un sistema de anillo ABC esteroideal A o B, entonces R^6 y R^7 conjuntamente representan un enlace adicional,
- X representa un átomo de oxígeno, una agrupación hidroximino $= N - OH$ o dos átomos de hidrógeno,
- R^8 representa un radical Y o un radical alquilo eventualmente substituido varias veces con un grupo Y, para lo cual Y es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo $-OH$, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-NR^{9a}R^{9b}$, $-NHSO_2R^9$, $-CO_2R^9$, C_1-C_{10} -alcoxi, C_1-C_{10} -alcanoiloxi, benzoiloxi- C_1-C_{10} -alcanoil, C_1-C_{10} -hidroxialquilo o benzoilo
- y R^{9a} y R^{9b} son iguales o diferentes y al igual que R^9 representan un átomo de hidrógeno o un grupo C_1-C_{10} -alquilo, así como para los radicales $-NR^{9a}R^{9b}$ también sus sales fisiológicamente compatibles con ácidos y para los radicales $-CO_2R^9$ con R^9 significando hidrógeno también sus sales fisiológicamente compatibles con bases.

4. Uso de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por el hecho de que el inhibidor del receptor de progesterona es el compuesto 11 β -(4-acetilfenil)-17 β -hidroxi-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroetil)-estr-4,9-dien-3-ona.

5. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por el hecho de que las células tumorales muestran una elevada o/y constitutiva expresión del receptor de progesterona.

6. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por el hecho de que las células tumorales son células carcinomas mamarias.

7. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por el hecho de que se inhibe el enlace de EGF y/o de otros factores que se enlazan al receptor EGF a las células tumorales.
8. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por el hecho de que se inhibe la formación de heterodímeros entre el receptor EGF y erbB2.
9. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8 para la terapia de tumores.
10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9 para inhibir la progresión de un tumor de un crecimiento dependiente de esteroides hacia un crecimiento dependiente de factores de crecimiento

PA 531563

THE UNITED STATES OF AMERICA

**TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:
UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE**

United States Patent and Trademark Office

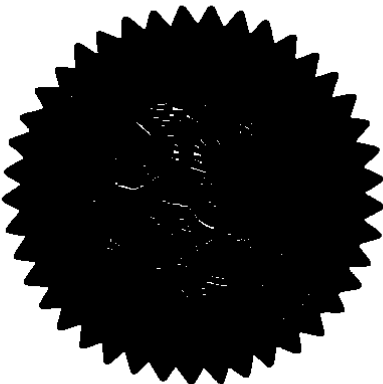
March 04, 2002

**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM
THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK
OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT
APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A
FILING DATE UNDER 35 USC 111.**

APPLICATION NUMBER: 60/241,010

FILING DATE: October 18, 2000

**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**



M. Lee

**M. LEE
Certifying Officer**

JCS91 U.S. PTO
10/18/00

PROVISIONAL APPLICATION COVER SHEET

JCS91 U.S. PTO
60/41010
10/18/00

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION under 37 CFR 1.53(c).

Docket Number SCH-1783-VI ~

INVENTOR(s)/APPLICANT(s)			
LAST NAME	FIRST NAME	MIDDLE INITIAL	RESIDENCE (CITY AND EITHER STATE OR FOREIGN COUNTRY)
LICHTNER	Rosemarie		Berlin, Germany

☐ Additional inventors are named on separately numbered sheets attached hereto.

TITLE OF THE INVENTION (280 CHARACTERS MAX)
HEMMUNG DER WACHSTUMSFAKTORABHAENGIGKEIT VON TUMORZELLEN

CORRESPONDENCE ADDRESS
MILLEN, WHITE, ZELANO & BRANIGAN, P.C.
2200 Charendon Blvd., Suite 1400
Arlington, Virginia 22201
Phone: (703) 243-6333 Fax: (703) 243-6410

ENCLOSED APPLICATION PARTS IN GERMAN

☐ Abstract	☐ Small Entity Statement
☐ Specification <i>Number of Pages:</i> 10	☐ Language:
☐ Claims <i>Number of Pages:</i> 4	☐ Other (specify):
☐ Drawing(s) <i>Number of Sheets:</i> 5	

METHOD OF PAYMENT

☒ A check or money order is enclosed to cover the Provisional Filing Fees	PROVISIONAL FILING FEE AMOUNT
☐ The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees and credit any overpayment to Deposit Account Number 13-3402	

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

- ☒ No.
- ☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:

Respectfully Submitted,

October 18, 2000
DATE


Anthony J. Zelano
Registration Number 27,969

PROVISIONAL APPLICATION FILING ONLY

Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen

Beschreibung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Progesteronrezeptor-Inhibitoren zur Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen.

Estradiol und Progesteron sind an der Entwicklung von Brustkrebs beteiligt. Zum Zeitpunkt der Diagnose zeigt jedoch nur etwa 1/3 der Tumore eine Steroidhormonabhängigkeit. Man nimmt an, dass bei der Mehrzahl steroidhormonresistanter Tumoren die Proliferationskontrolle von lokalwirkenden autokrinen oder parakrinen peptidischen Wachstumsfaktoren übernommen wird. Dabei resultieren invasive Tumoren mit äußerst schlechter Prognose, die Wachstumsfaktor-Rezeptor positiv und Steroidhormon resistent sind (Elledge et al, Semin. Onkol. 19 (1992), 244-253).

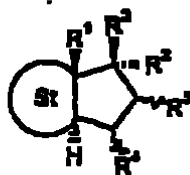
Wachstumsfaktoren regulieren das Zellwachstum durch Aktivierung intrazellulärer Signaltransduktionswege nach Bindung an hochaffine Tyrosinkinase-Rezeptoren auf der Zelloberfläche. Neuere Erkenntnisse lassen vermuten, dass Mammakarzinomzellen durch Progestine für die mitogene Wirkung von EGF sensibilisiert werden können (Groshong et al, Mol. Endocrinol. 11 (1997), 1593-1607). So konnte beispielsweise Progesteron in der humanen Mammakarzinomzelllinie T47D den Eintritt von Zellen in die S-Phase begleitet von einem transienten Anstieg der Aktivität von Cyclin 1D und der cyclinabhängigen Kinase 4 induzieren. Die Wachstumsstimulation ist jedoch auf einen einzigen Zyklus beschränkt und von einem Wachstumsarrest am G1/S-Übergang des zweiten Zyklus gefolgt (Groshong et al. (1997). supra; Musgrove et al, Mol. Cell. Biol. 13 (1993), 3577-3587). In ihrem durch Progesteron arretierten Zustand werden die Zellen für die proliferative Wirkung von EGF sensitiv. Weiterhin wurde gezeigt, dass Progesteron die Wirkung von EGF auf T47D Zellen durch Hochregulation

- 2 -

von EGFR, Erb2 und Erb3 verstärkt und die Tyrosinphosphorylierung von Signalmolekülen erhöht (Lange et al, J. Biol. Chem. 273 (1998), 31308-31316; Richer et al, J. Biol. Chem. 273 (1998), 31317-31326). Im Gegensatz dazu konnte eine Hemmung der Wirkung von EGF auf Tumorzellen durch Beeinflussung des Progesteronrezeptors bisher nicht gezeigt werden.

Im Rahmen der zur vorliegenden Erfindung führenden Versuche wurde nun überraschenderweise festgestellt, dass Inhibitoren des Progesteronrezeptors, z.B. 17 α -Fluoralkylsterolide die Bindung von Wachstumsfaktoren wie EGF an Tumorzellen zumindest teilweise verhindern können, insbesondere an Tumorzellen, die eine hohe oder/und konstitutive Expression des Progesteronrezeptors aufweisen.

Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit die Verwendung eines Inhibitors des Progesteronrezeptors zur Herstellung eines Mittels für die Hemmung der Bindung von Wachstumsfaktoren an Tumorzellen und insbesondere zur Hemmung einer durch Wachstumsfaktoren bewirkten Proliferation von Tumorzellen bzw. Tumoren. Ein Inhibitor des Progesteronrezeptors im Sinne der vorliegenden Erfindung ist vorzugsweise eine Substanz, welche kompetitiv die Bindung von Progesteron an seinen Rezeptor hemmt. Der Inhibitor des Progesteronrezeptors wird dabei vorzugsweise ausgewählt aus 17 α -Fluoralkylsteroiden, wie sie z.B. in WO98/34947 offenbart sind. Diese 17 α -Fluoralkylsterolide weisen die allgemeine Formel I auf:



worin

- 3 -

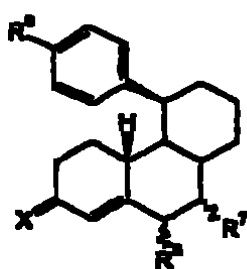
R^1 für eine Methyl- oder Ethylgruppe,

R^2 für einen Rest der Formel $C_nF_mH_o$, wobei $n = 2, 3, 4, 5$ oder $6, m > 1$ und $m + o = 2n + 1$,

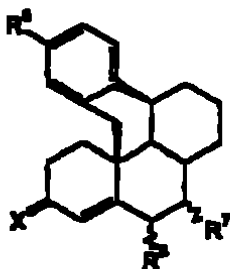
R^3 für eine freie, veretherte oder veresterte Hydroxygruppe,

R^4 und R^5 je für ein Wasserstoffatom, gemeinsam für eine zusätzliche Bindung oder eine Methylengruppe,

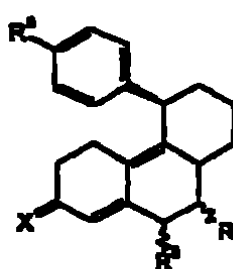
St für ein steroidales ABC-Ringsystem der Teilformel A, B oder C



A



B



C

stehen,

worin

R^6 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 -oder verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe oder ein Halogenatom,

R^7 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 - oder eine verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe, oder,

wenn St für ein steroidales ABC-Ringsystem A oder B steht, außerdem R⁶ und R⁷ gemeinsam eine zusätzliche Bindung,

X ein Sauerstoffatom, eine Hydroxyminogruppierung =N~OH oder zwei Wasserstoffatome,

R⁸ einen Rest Y oder einen ggf. mehrfach mit einer Gruppe Y substituierten Arylrest, wobei Y ein Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine -OH, -NO₂, -N₃, -CN, -NR^{9a}R^{9b}, -NHSO₂R⁹, -CO₂R⁹, C₁-C₁₀-Alkoxy-, C₁-C₁₀-Alkanoyloxy-, Benzoyloxy-C₁-C₁₀-Alkanoyl-, C₁-C₁₀-Hydroxyalkyl- oder Benzoylgruppe ist

und R^{9a} und R^{9b} gleich oder verschieden sind und wie R⁸ ein Wasserstoffatom oder eine C₁-C₁₀-Alkylgruppe darstellen,

bedeuten,

sowie für die Reste-NR^{9a}R^{9b} auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Säuren und für die Reste -CO₂R⁹ mit R⁹ in der Bedeutung von Wasserstoff auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Basen.

Ein besonders bevorzugtes Beispiel für derartige Inhibitoren des Progesteronrezeptors ist die Verbindung 11β-(4-Acetylphenyl)-17β-hydroxy-17α-[1,1,2,2,2-pentafluorethyl]-estra-4,9-dien-3-on (Im Folgenden Verbindung A). Darüber hinaus sind jedoch auch andere Antiprogestine geeignet, beispielsweise Onapriston (11β-[p-(Dimethylamino)phenyl]-17α-hydroxy-17-(3-hydroxypropyl)-13α-estra-4,9-dien-3-on).

Die Wirkung der Progesteronrezeptor-Inhibitoren wird insbesondere bei Tumorzellen gefunden, die eine hohe oder/und konstitutive Progesteronrezeptor-Expression aufweisen, beispielsweise der Progesteronrezeptor-positiven Mammakarzinomzelllinie T47D (Sartorius et al., Cancer Res. 54 (1994), 3668-3877).

60241010.101800

Die Progesteronrezeptor-Inhibitoren hemmen die durch Progesteron induzierte Erhöhung der Expression von Wachstumsfaktoren, insbesondere von solchen Faktoren, die an Wachstumsfaktoren der EGF-Rezeptorfamilie wie etwa den EGF Rezeptor binden. Besonders bevorzugt hemmen die Inhibitoren die Bindung von EGF an humane Mammakarzinomzellen.

Gemäß vorliegender Erfindung können daher die Progesteronrezeptor-Inhibitoren für die Tumorthherapie bei Säugern und vorzugsweise beim Menschen eingesetzt werden, und zwar insbesondere um die Progression eines Tumors, insbesondere eines Mammakarzinoms von steroidabhängigem Wachstum zu wachstumsfaktorabhängigem Wachstum zu blockieren. Auf diese Weise kann eine wirksame Behandlung des Tumors im Stadium des steroidabhängigen Wachstums, z.B. durch Antiestrogene erfolgen, ohne dass der Tumor zum Stadium des wachstumsfaktorabhängigen Wachstums, verbunden mit einer erheblichen Verschlechterung der Prognose für den Patienten, fortschreiten kann. Auch im Stadium des wachstumsfaktorabhängigen Wachstums kann das Verabreichen der Progesteronrezeptor-Inhibitoren eine Verlangsamung des Tumorwachstums bewirken.

Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung können nicht-steroidale Antiestrogene wie z.B. Tamoxifen und Nafoxidin als auch Raloxifen und EM800 verwendet werden. Die beiden letztgenannten sind Vertreter der so genannten SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators); auch andere Verbindungen mit dem Wirkprofil der SERMs sind erfindungsgemäß verwendbar, z.B. die in der PCT/EP98/05083 genannten Verbindungen und von diesen wiederum insbesondere die Verbindung 5-(4-{5-[(RS)-4,4,5,5,5-Pentafluoropentyl)sulfinyl]pentyloxy}phenyl)-6-phenyl-8,9-dihydro-7H-benzocycloheptan-2-ol.

Beispiele für steroidale Antiestrogene umfassen jene, die in EP 0 348 341 A, insbesondere Faslodex, und jene, die in WO98/07740 offenbart sind, insbesondere 11 β -Fluor-7 α -{5-[N-methyl-N-3-(4,4,5,5,5-pentafluoropentylthio-propylamino)-pentyl]-estra-1,3,5(10)trien-3,17 β -diol, oder jene, die in WO99/33855 beschrieben sind, insbesondere 11 β -Fluor-7 α -{5-[methyl-(7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluor-decyl)-amino]-pentyl]-estra-1,3,5(10)trien-3,17 β -diol oder pharmazeutisch verträgliche Derivate oder Analoge davon. Aromataseinhibitoren mit einem antiestrogenen Effekt, wie beispielsweise diejenigen, die aus den Seiten 7 - 8 der EP 0 495 825 B1 hervorgehen, können gleichfalls als Antiestrogene verwendet werden.

Die Verabreichung der Progesteronrezeptor-Inhibitoren kann nach üblichen Methoden beispielsweise lokal, topisch, subkutan, enteral oder parenteral erfolgen. Für die enterale Applikation kommen insbesondere Tabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Suspensionen oder Lösungen in Betracht, die in üblicher Weise mit den in der Gallenik bekannten Zusätzen und Trägersubstanzen hergestellt werden können. Für die lokale oder topische Anwendung kommen beispielsweise Vaginalzäpfchen oder transdermale Systeme wie Hautpflaster in Betracht. Die subkutane Applikation kann durch Injektion mit einer ölligen Lösung erfolgen.

Eine Dosisseinheit kann beispielsweise 0,1 bis 100 mg aktiver Verbindung(en) (= Inhibitor(en) des Progesteronrezeptors) enthalten. Für die Gabe beim Menschen beträgt die tägliche Dosis der aktiven Verbindung(en) ungefähr 0,1 bis 400 mg, vorzugsweise ungefähr 10 - 100 mg und insbesondere ungefähr 50 mg.

Weiterhin soll die Erfindung durch die nachfolgenden Beispiele und Figuren erläutert werden. Es zeigen:

Figur 1 Die antiproliferative Wirksamkeit von Testsubstanzen auf die Mammakarzinomzelllinie T47D.

60241010-101800

Figur 2 Die Proteinmengen des Progesteronrezeptors (PR) und des Estrogenrezeptors (ER) in der Mammakarzinomzelllinie T47D.

Figur 3 Die transkriptionelle Aktivität des Progesteronrezeptors in T47D Zellen.

Figur 4 Eine Scatchard-Analyse der Bindung von EGF an T47D Zellen in Abhängigkeit von der Anwesenheit von Testsubstanzen.

Figur 5 Die Abhängigkeit der Bindung von EGF an T47D Zellen von der Anwesenheit von Testsubstanzen.

Beispiel

1. Materialien und Methoden

Materialien:

¹²⁵I-EGF(100mCi/mmol) wurde von Amersham Buchler bezogen. Verbindung A, Hydroxytamoxifen(4-OH-Tam), ZM182780 und Estradiol wurden im Institut für Arzneimittelchemie der Schering AG nach bekannten Methoden synthetisiert.

Zelllinien:

Es wurde die humane Estrogenrezeptor (ER)- und Progesteronrezeptor (PR)-positive Mammakarzinomzelllinie T47D (Freake et al., BBRC 101 (1981), 1131-1138) verwendet.

- 8 -

Wachstumsstudien:

Die Tumorzellen wurden bei 5000 Zellen/Well in 96-Well-Platten für 6 Tage in RPMI Medium plus 10 % Rinderserum, 200 nM Insulin und 0,1 nM Estradiol in Anwesenheit der jeweils angegebenen Verbindungen kultiviert und das Wachstum durch Anfärbung mit Kristallviolett bestimmt.

PR und ER Proteinmenge:

Die Bestimmung der PR und ER Mengen erfolgt in Zelllysaten unter Verwendung von Steroid-Bindeassays mit radioaktiv markiertem Progesteron bzw. Estradiol nach der bei Fuhrmann et al. (Contraception 54 (1996), 243-251) beschriebenen Methode.

Bindung von 125 I-EGF an Tumorzellen:

R5020-vorbehandelte T47D Zellen wurden für 2 h mit 125 I-EGF bei 4°C inkubiert. Die unspezifische Bindung war immer weniger als 10 % der Gesamtbindung.

Transaktivierungsassay:

T47D Zellen wurden transient mit MTV-LUC (Cato et al., EMBO J., 9: 2237-40) transfiziert und in Abwesenheit bzw. Gegenwart von 1 nM R5020 kultiviert. Zum Test auf einen PR-vermittelten Antagonismus wurden die transient transfizierten T47D Zellen mit R5020 und zusätzlich mit zunehmenden Konzentrationen an Verbindung A oder RU486 behandelt. Nach 24 h wurde ein Luziferasetest durchgeführt.

2. Ergebnisse

Figur 1 zeigt die antiproliferative Wirksamkeit verschiedener Testsubstanzen. T47D Zellen wurden in Gegenwart (obere Schraffierung) oder Abwesenheit (untere Schraffierung) von 0,1 nM E_2 plus zunehmende Konzentrationen von Verbindung A (Δ), Onapriston ($\equiv$), ZK191703 ($\circ$) oder 4-OH-Tam ($\diamond$) kultiviert. Bei T47D Zellen zeigt Verbindung A selbst in extrem geringen Konzentrationen eine signifikante antiproliferative Wirkung.

Figur 2 zeigt die PR- und ER-Proteinmengen in T47D Zellen.

Figur 3 zeigt die transkriptionelle Aktivität von PR in T47D Zellen, wobei die jeweiligen Zellen transient mit MTV-LUC transfiziert und in Abwesenheit (Co) oder Gegenwart von 1 nM R5020 kultiviert wurden (a). Zum Test auf einem PR-vermittelten Antagonismus wurden die transient transfizierten T47D Zellen mit 0,1 nM R5020 und zunehmenden Konzentrationen an Verbindung A oder RU488 behandelt (b).

In Figur 4 ist eine Scatchard-Analyse der ^{125}I -EGF Bindung an T47D Zellen gezeigt. Die Zellen wurden für 48 h in Gegenwart von 20 nM R5020 mit oder ohne 20 nM Verbindung A kultiviert und dann gewaschen. Anschließend wurde die EGF-Bindung über einen Konzentrationsbereich von 0,25 bis 150 ng/ml EGF durch Inkubation für 2 h bei 4°C bestimmt. Die Insertionen zeigen die Menge an gebundenem Liganden gegenüber dem Logarithmus der freien Ligandenkonzentration. Es ist zu erkennen, dass die durch R5020 verursachte Erhöhung der EGF-Bindung (mittleres Bild) gegenüber der Kontrolle (oberes Bild) bei Zugabe von Verbindung A (unteres Bild) blockiert werden konnte.

In Figur 5 ist die Bindung von ^{125}I -EGF an Intakte T47D Zellen gezeigt. Die Zellen wurden hierzu für 48 h mit 2 bzw. 20 nM R5020 plus Verbindung A oder Onapriston oder Verbindung A alleine behandelt. Auch hier ist zu

erkennen, dass Verbindung A die durch R5020 hervorgerufene Erhöhung der EGF-Bindung an T47D Zellen blockiert. Ein ähnlicher - wenn auch erheblich schwächerer -Effekt wird auch für Onapriston gefunden.

5 3. Diskussion

Die vorstehenden Ergebnisse zeigen, dass das Estradiol-stimulierte Wachstum von T47D Zellen mit hohem und konstitutivem PR-Gehalt wirksam durch Verbindung A blockiert wurde.

10

Durch Transaktivierungsassays konnte gezeigt werden, dass der PR in den T47D Zellen transkriptionell aktiv war und durch Verbindung A blockiert werden konnte.

15

Eine Stimulierung der T47D Zellen mit R5020 führte zu einer 2- bis 3-fach erhöhten EGF-Rezeptorexpression, die durch Verbindung A blockiert wurde. Gleichzeitig war die Bindung von EGF an die Zellen 2- bis 3-fach erhöht und konnte durch Verbindung A und weniger effizient durch Onapriston verhindert werden. Die erhöhte EGF-Bindung an R5020 behandelte Zellen könnte durch eine erhöhte EGF-Rezeptor-Expression oder erhöhte Heterodimerbildung zwischen EGF-Rezeptor und erbB2 hervorgerufen sein.

20

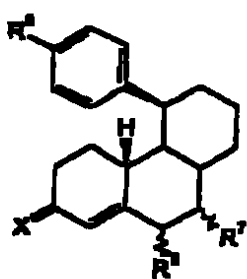
Die vorliegenden Ergebnisse zeigen die Wechselwirkungen zwischen PR- und Wachstumsfaktor-Signalsystemen in humanen Mammakarzinomzellen.

25

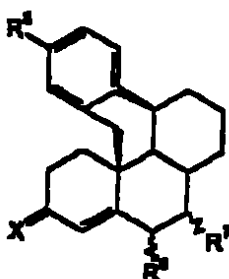
Durch Einsatz von Antiprogastinen kann die Progression von Tumorzellen vom steroidabhängigen Wachstum zum wachstumsfaktorabhängigen Wachstum gehemmt bzw. verhindert werden.

- 12 -

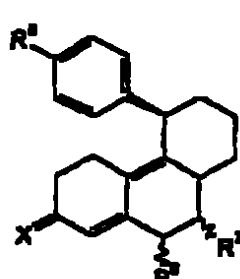
St für ein steroidales ABC-Ringsystem der Teilformel A, B oder C stehen,



A



B



C

worin

R^6 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 -oder verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe oder ein Halogenatom,

R^7 ein Wasserstoffatom, eine geradkettige C_1 - C_4 - oder eine verzweigte C_3 - C_4 -Alkylgruppe, oder,

wenn St für ein steroidales ABC-Ringsystem A oder B steht, außerdem R^6 und R^7 gemeinsam eine zusätzliche Bindung,

X ein Sauerstoffatom, eine Hydroxyminogruppierung $=N-OH$ oder zwei Wasserstoffatome,

R^8 einen Rest Y oder einen ggf. mehrfach mit einer Gruppe Y substituierten Arylrest, wobei Y ein Wasserstoffatom, ein Halogenatom, eine $-OH$, $-NO_2$, $-N_3$, $-CN$, $-NR^{8a}R^{8b}$, $-NHSO_2R^8$, $-CO_2R^8$, C_1 - C_{10} -Alkoxy-, C_1 - C_{10} -Alkanoyloxy-, Benzoyloxy- C_1 - C_{10} -Alkanoyl-, C_1 - C_{10} -Hydroxyalkyl- oder Benzoylgruppe ist

und R^{8a} und R^{8b} gleich oder verschieden sind und wie R^8 ein Wasserstoffatom oder eine C_1 - C_{10} -Alkylgruppe darstellen,

60241010-10180

bedeuten,

sowie für die Reste-NR^aR^b auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Säuren und für die Reste -CO₂R^a mit R^a in der Bedeutung von Wasserstoff auch deren physiologisch verträgliche Salze mit Basen.

4. Verwendung nach Anspruch 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Inhibitor des Progesteronrezeptors die Verbindung 11 β -(4-Acetylphenyl)-17 β -hydroxy-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluorethyl)estra-4,9-dien-3-on ist.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Tumorzellen eine hohe oder/und konstitutive Progesteronrezeptor-Expression aufweisen.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Tumorzellen Mammakarzinomzellen sind.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Bindung von EGF oder/und anderen Faktoren, die an den EGF-Rezeptor binden, an Tumorzellen gehemmt wird.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Bildung von Heterodimeren zwischen dem EGF-Rezeptor und erbB2 gehemmt wird.

008701-0101-4203

- 14 -

9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8 für die Tumorthherapie.

10. Verwendung nach Anspruch 9, um die Progression eines Tumors von steroidabhängigem Wachstum zu wachstumsfaktoreabhängigem Wachstum zu hemmen.

60241010-101800

- 15 -

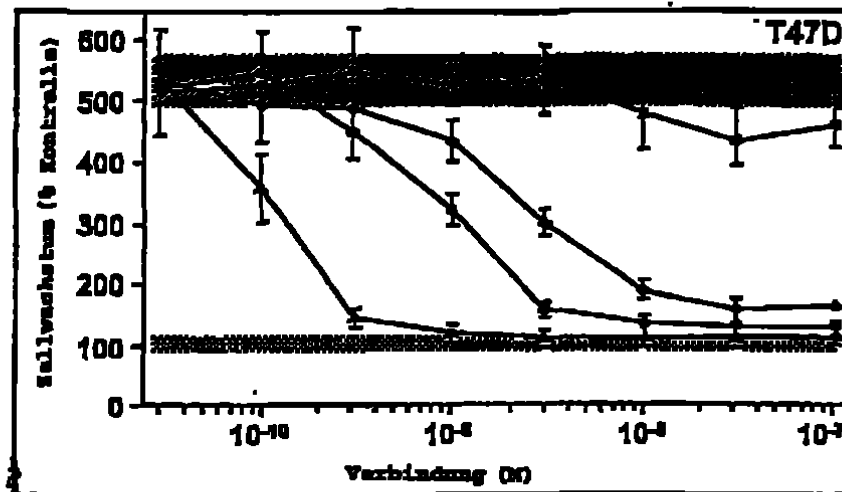
Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Progesteronrezeptor-Inhibitoren
5 zur Hemmung der Wachstumsfaktorabhängigkeit von Tumorzellen.

el/ANM/22921PDE 18.10.2000

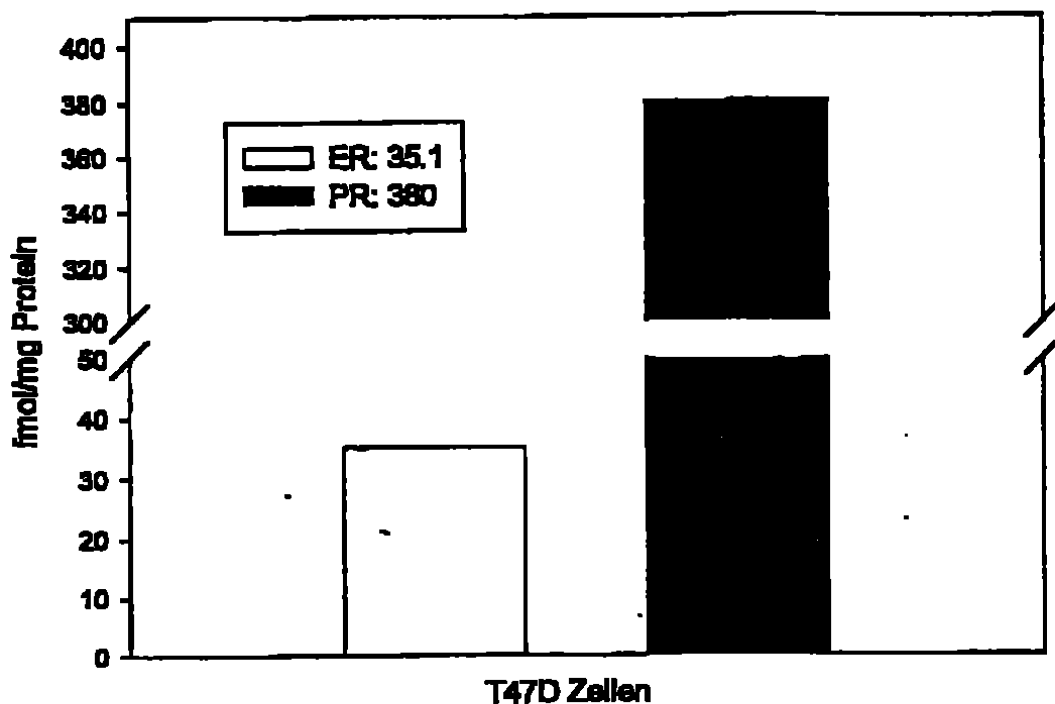
10

008101-0101h209



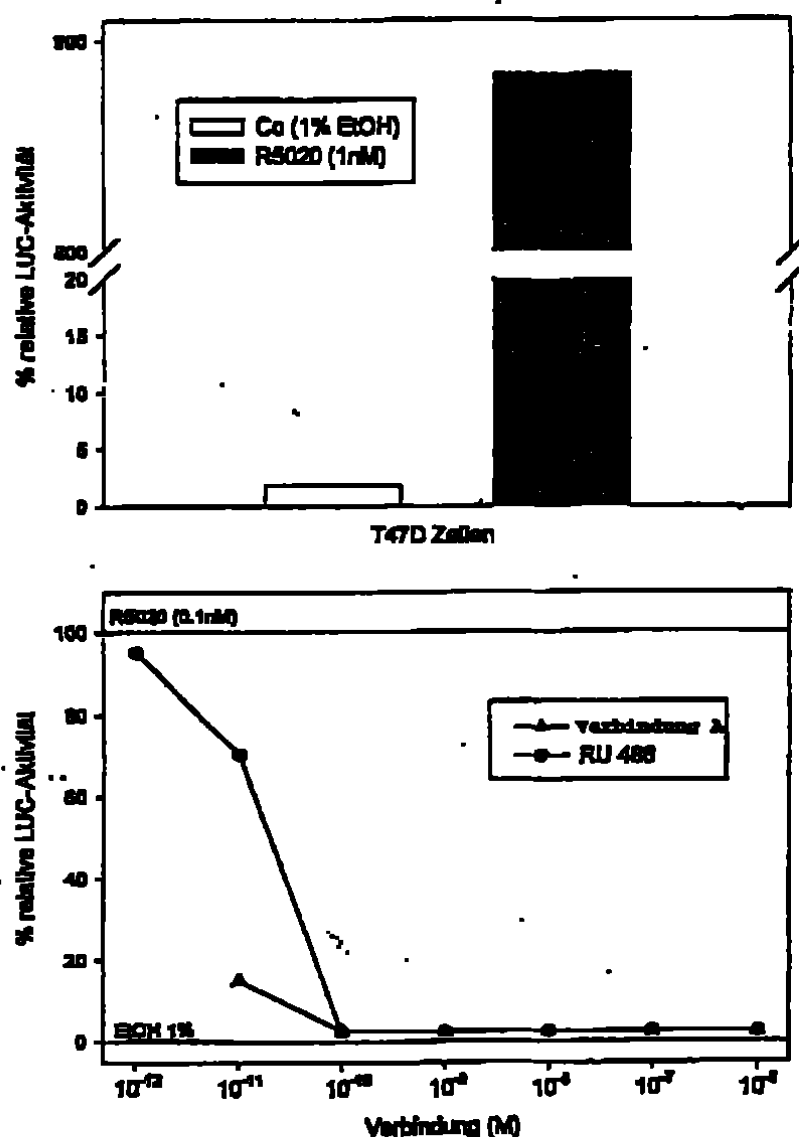
Figur 1: Antiproliferative Wirksamkeit . T47D Zellen wuchsen in Gegenwart (obere) oder Abwesenheit (untere Schraffierungen) von 0.1 nM E₂ plus zunehmende Konzentrationen von Verbindung A (▲), Onapriston (■), ZK191703 (●) oder 4-OH-Tam (◆).

- 2 / 5 -



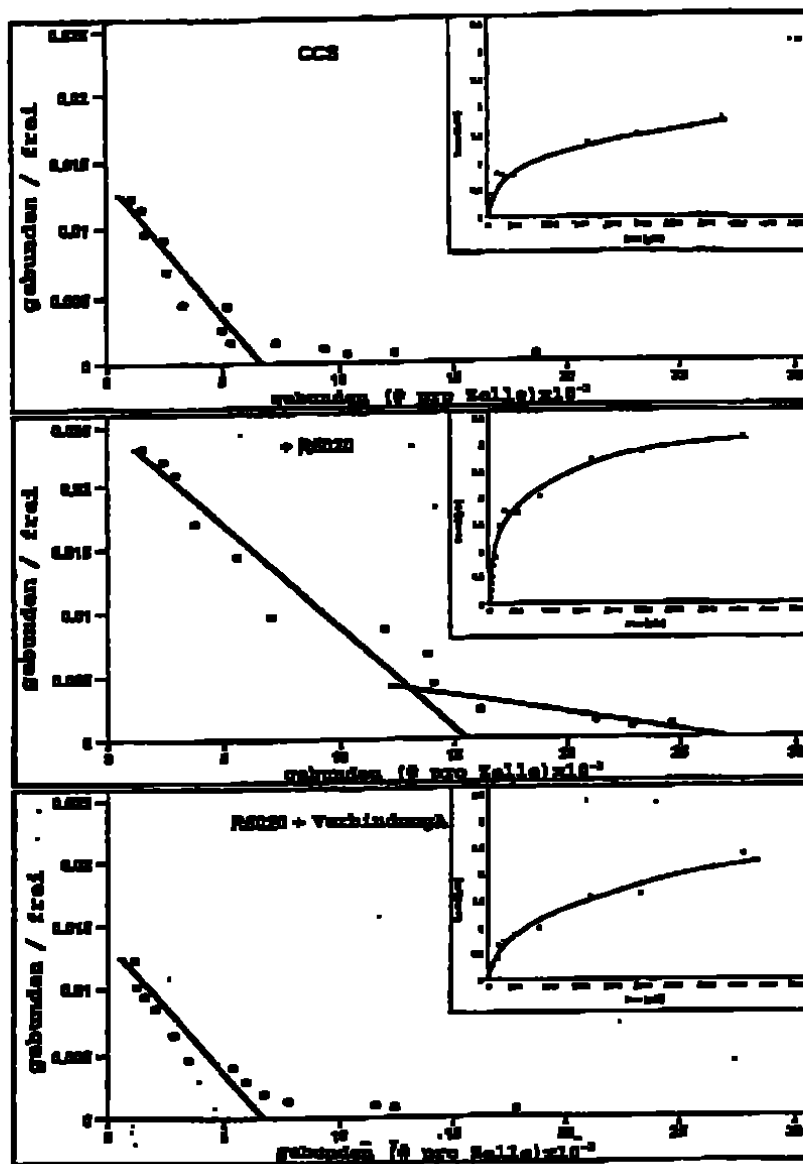
Figur 2: Proteinmengen des Progesteronrezeptors (PR) und des Estrogenrezeptors (ER) in T47D Zellen. Die PR- und ER-Mengen wurden in Zelllysaten unter Verwendung von Steroidbindeassays mit radioaktiv markiertem Progesteron bzw. Estradiol bestimmt.

- 3 / 5 -

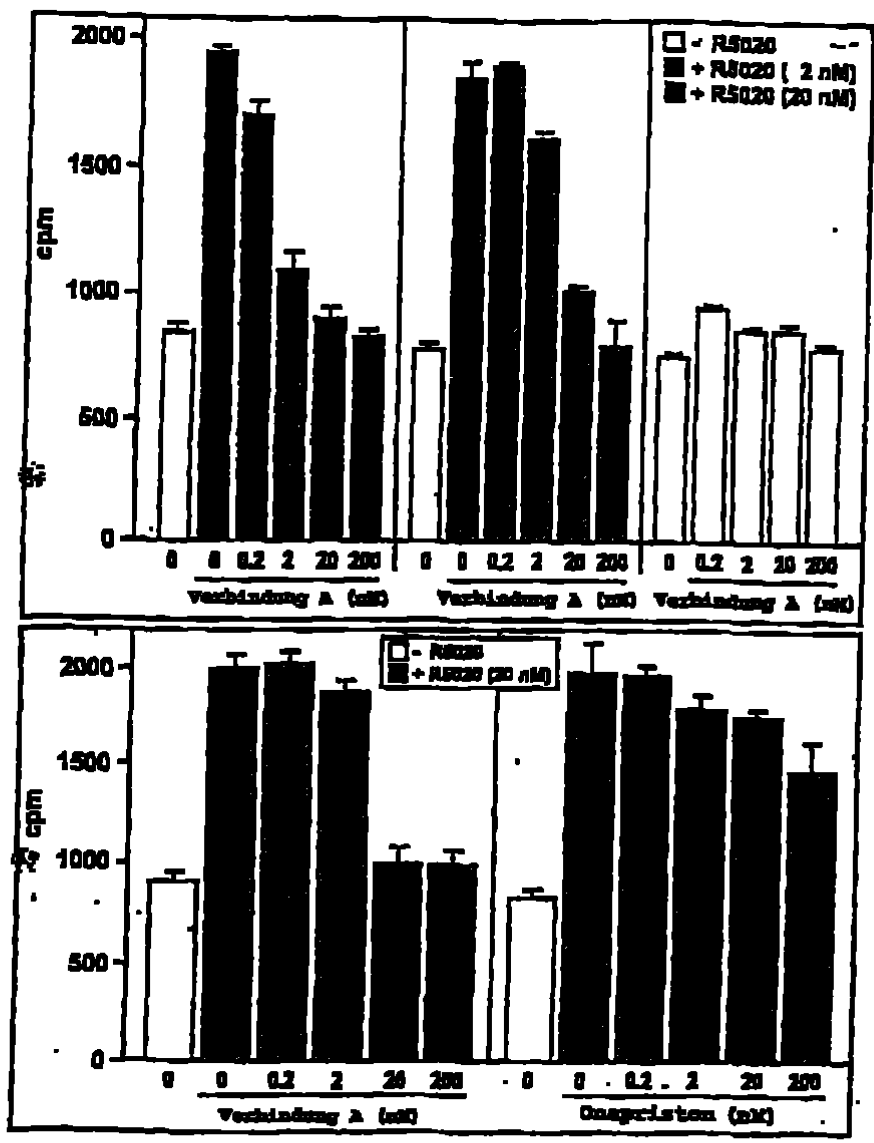


Figur 3: Transkriptionelle Aktivität von PR in T47D Zellen. A: T47D Zellen wurden transient mit MTV-LUC transfiziert und in Abwesenheit oder Gegenwart von 1 nM R5020 kultiviert. B: Zur Untersuchung eines PR-vermittelten Antagonismus wurden die transient transfizierten T47D Zellen mit 0,1 nM R5020 und zunehmenden Konzentrationen an Verbindung A oder RU486 behandelt.

- 4 / 5 -



Figur 4: Scatchard-Analyse der ^{125}I -EGF-Bindung. T47D-Zellen wurden für 48 Stunden in Gegenwart von 20 nM R5020, mit oder ohne 50 nM Verbindung A gezüchtet, dann gewaschen und anschließend wurde die ^{125}I -EGF-Bindung über einen Bereich von 0.25-150 ng/ml EGF durch Inkubation für 2 Stunden bei 4°C bestimmt. Die Inserts zeigen die Menge an gebundenem Liganden gegen den Logarithmus der freien Ligandkonzentration.



25 Figur 5: Bindung von ¹²⁵I-EGF an intakte T47D Zellen. Die Zellen wurden für 48 Stunden mit 2 oder 20 nM R5020 plus Verblindung A bzw. Onapriston, oder mit Verblindung A alleine, vorbehandelt.

286
185

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

A TODOS CUANTOS LAS PRESENTES VIEREN:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

Marzo 04 del 2002

SE CERTIFICA QUE ADJUNTO SE ENCUENTRA UNA COPIA FIEL Y EXACTA DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS RESPECTO A LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA ABAJO, LA CUAL CUMPLIO CON LOS REQUISITOS PARA QUE SE LE OTORGARA UNA FECHA DE PRESENTACION DE CONFORMIDAD CON 35 USC 111.

SOLICITUD NUMERO: 60/241,010

FECHA DE PRESENTACION: Octubre 18 del 2000

Por Autoridad del

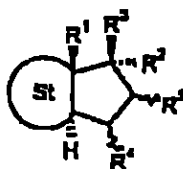
COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS

M. LEE, Funcionario de Certificaciones

(Firma y Sello Oficial)

REIVINDICACIONES

1. Uso de un inhibidor del receptor de progesterona para la preparación de un medicamento para la inhibición del enlace de factores de crecimiento a células tumorales y/o a un tumor.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que se inhibe una proliferación de las células tumorales y/o del tumor causada por factores de crecimiento.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizado por el hecho de que el inhibidor del receptor de progesterona se elige entre 17 α -fluoroalquilesteroides de la fórmula general I



I

en la cual

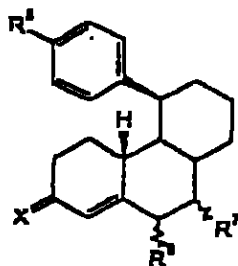
R^1 representa un grupo metilo o un grupo etilo,

R^2 representa un radical de la fórmula $C_nF_mH_o$, siendo n 2, 3, 4, 5 o 6, $m > 1$ y $m+o = 2n+1$,

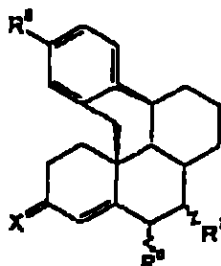
R^3 representa un grupo hidroxilo libre eterizado o esterificado

Cada uno de R^4 y R^5 representa un átomo de hidrógeno común para un enlace adicional o un grupo metileno,

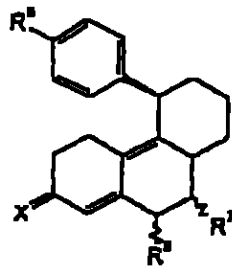
St representa un sistema de anillo ABC esteroideal de la fórmula parcial A, B o C



A



B



C

en donde

- R^6 representa un átomo de hidrógeno, un grupo C_1 - C_4 -alquilo de cadena lineal o un grupo C_3 - C_4 -alquilo ramificado o un átomo halógeno,
- R^7 representa un átomo de hidrógeno, un grupo C_1 - C_4 -alquilo de cadena lineal o un grupo C_3 - C_4 -alquilo ramificado o, si St representa un sistema de anillo ABC esteroidal A o B, entonces R^6 y R^7 conjuntamente representan un enlace adicional,
- X representa un átomo de oxígeno, una agrupación hidroximino = N - OH o dos átomos de hidrógeno,
- R^8 representa un radical Y o un radical alquilo eventualmente substituido varias veces con un grupo Y, para lo cual Y es un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, un grupo -OH, -NO₂, -N₃, -CN, -NR^{9a}R^{9b}, -NHSO₂R⁹, -CO₂R⁹, C₁-C₁₀-alcoxi, C₁-C₁₀-alcanoiloxi, benzoiloxi-C₁-C₁₀-alcanoil, C₁-C₁₀-hidroxialquilo o benzoilo
- y R^{9a} y R^{9b} son iguales o diferentes y al igual que R^9 representan un átomo de hidrógeno o un grupo C₁-C₁₀-alquilo, así como para los radicales -NR^{9a}R^{9b} también sus sales fisiológicamente compatibles con ácidos y para los radicales -CO₂R⁹ con R⁹ significando hidrógeno también sus sales fisiológicamente compatibles con bases.

4. Uso de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por el hecho de que el inhibidor del receptor de progesterona es el compuesto 11 β -(4-acetilfenil)-17 β -hidroxi-17 α -(1,1,2,2,2-pentafluoroetil)-estr-4,9-dien-3-ona.

5. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por el hecho de que las células tumorales muestran una elevada o/y constitutiva expresión del receptor de progesterona.

6. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por el hecho de que las células tumorales son células carcinomas mamarias.

7. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por el hecho de que se inhibe el enlace de EGF y/o de otros factores que se enlazan al receptor EGF a las células tumorales.

8. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por el hecho de que se inhibe la formación de heterodímeros entre el receptor EGF y erbB2.

9. Uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 8 para la terapia de tumores.

10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9 para inhibir la progresión de un tumor de un crecimiento dependiente de esteroides hacia un crecimiento dependiente de factores de crecimiento

DOCUMENTO DE CESIÓN ASSIGNMENT DOCUMENT

Los suscritos,
(We, the undersigned)

- 1) ROSEMARIE LICHTNER
con domicilio en Berlin, Rep. Fed. de Alemania
(domiciled in)
- 2) ULRIKE FUHRMANN
con domicilio en Berlin, Rep. Fed. de Alemania
(domiciled in)

declaramos que somos los inventores de la invención que lleva el título
(declare that we are the inventors of the invention titled)

Inhibition of the Growth Factor Dependency of Tumor Cells

y que hemos cedido el derecho sobre esta invención en Colombia, junto con los
privilegios
(and that we have assigned our rights over this invention in Colombia, together with its
privileges)

y anexidades a favor de SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT
(and attachments, to) Berlin, Rep. Fed. de Alemania

1) Rosemarie Lichtner
Rosemarie Lichtner

2) Ulrike Fuhrmann
Ulrike Fuhrmann

191
190

Ich habe das Mitwirkungsverbot nach § 3 Abs. 1 Nr. 7 BeurkG erläutert. Meine Frage, ob eine Vorbefassung im Sinne der Vorschrift vorliege, wurde verneint.

Die vor mir geleisteten Unterschriften

der Frau Rosemarie **L i c h t n e r**,
geboren am 21. April 1949,

der Frau Dr. Ulrike **F u h r m a n n**,
geboren am 12. Mai 1959,

- von Person bekannt -

beide geschäftsansässig in 13353 Berlin, Müllerstraße 178,

beglaubige ich.

Berlin, 31. März 2003


Notar

Kostenberechnung gem. §§ 141, 154 KostO

Geschäftswert: 12.000,00 €

Beglaubigungsgebühr §§ 32, 45 I

15,00 €

Wegegebühr gem. § 58

15,00 €

Schreibauslagen §§ 136, 152

1,00 €

Postauslagen §§ 137, 152

1,44 €

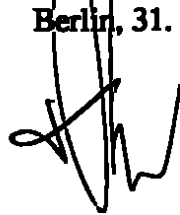
32,44 €

16 % Mehrwertsteuer

5,19 €

37,63 €

Berlin, 31. März 2003


Notar

A p o s t i l l e
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Bundesrepublik Deutschland

Diese öffentliche Urkunde

2. ist unterschrieben von Dimitri R e m p e n

3. in seiner Eigenschaft als Notar

4. sie ist versehen mit dem Siegel
des Notars

Bestätigt

5. in Berlin

6. am 4. April 2003

7. durch den Präsidenten des Landgerichts in Berlin

8. unter Nr. 9101 a E - F. 1009/2003

9. Siegel



10. Unterschrift

im Auftrage

(Kupfernagel)

Vorsitzender Richter am Landgericht

Traducción Oficial del Alemán de la certificación la nota de gastos y la apostilla adjuntas al Documento de Cesión suscrito entre las inventoras Rosemarie Lichtner y Dra. Ulrike Fuhrmann y la compañía Schering Aktiengesellschaft domiciliada en Berlín, Alemania.

Registro Notarial Número R 164/2003

Habiendo explicado la prohibición de participación conforme al Artículo 3 inciso 1 Numeral 1 de la Ley de Notarización, yo les pregunté a las participantes si existe algún impedimento en el sentido de dicha Ley. La respuesta fue negativa.

Auténtico las firmas que aparecen anteriormente, las cuales fueron ejecutadas en mi presencia y pertenecen a

- 1) Señora Rosemarie Lichtner, nacida el 21 de Abril de 1949,
- 2) Señora Dra. Ulrike Fuhrmann, nacida el 12 de Mayo de 1959,

ambas conocidas personalmente por el suscrito notario y domiciliadas comercialmente en 13353 Berlín, Müllerstraße 178.

Berlín, 31 de Marzo del 2003

Dimitri Rempen, Notario en Berlín
(Firma y Sello Oficial)

------(continúa en la 2ª página)-----

Nota de gastos según Artículos 141, 154 Disposición Impuestos:

Valor del negocio: 12.000,00 EUROS

Impuesto Artículo 32, 45I Disp. Impuestos	15,00 EUROS
Impuesto Artículo 58 Disp. Impuestos	15,00 EUROS
Impuesto Artículos 136, 152 Disp. Impuestos	1,00 EUROS
Impuesto Artículos 137, 152 Disp. Impuestos	1,44 EUROS
I.V.A. 16%	5,19 EUROS
Total:	37,63 EUROS

Berlín, 31 de Marzo del 2003

Dimitri Rempen, Notario (firma)

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

1. País: República Federal de Alemania
Este documento público
2. Ha sido firmado por: Dimitri Rempen
3. En su calidad de: Notario
4. Y lleva el sello: Del mencionado Notario

Confirmado

5. En: Berlín
6. El día: 4 de Abril del 2003
7. Por: El Presidente del Tribunal Regional en Berlín
8. Bajo el No.: 9101 a E-F 1009/2003
9. Sello: EL PRESIDENTE DEL TRIBUNAL REGIONAL EN BERLIN
10. Firma: Por encargo: Kupfernagel,
Juez Presidente en el Tribunal Regional


ADOLF WATZKE
Traductor Oficial
Res. 2433 Minjusticia

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓	()	()
MODELO DE UTILIDAD	()	()
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
- Descripción de la invención.	()	()
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()

COMPLETA () INCOMPLETA ()

DISEÑO INDUSTRIAL ()

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()

COMPLETA () INCOMPLETA ()

ESQUEMA DE TRAZADO ()

- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()

COMPLETA () INCOMPLETA ()

Firma Responsable:



Fecha:



Folio 195

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor:
Gustavo Hollmann Restrepo
Apoderado
Schering Aktiengesellschaft

Oficio N° 07279

ASUNTO:	Radicación N°	03-040572
	Solicitud Internacional	PCT/EP2001/12004
	Fecha inicio fase nacional	18/05/2003
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- Los dibujos adjuntos no son legibles o copiables para trámites posteriores de publicación y título.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones.

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha, 05 SET. 2003.