

	(19) 대한민국특허청(KR) (12) 공개특허공보(A)	(11) 공개번호 10-2012-0091267 (43) 공개일자 2012년08월17일
(51) 국제특허분류(Int. Cl.) A61K 31/222 (2006.01) A61P 31/18 (2006.01) A61P 35/02 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)		(71) 출원인 바이오석세스 바이오텍 컴퍼니 미국, 캘리포니아 90036, 로스앤젤레스, 노쓰 맨 스필드 애비뉴 312
(21) 출원번호 10-2012-7014050 (분할)	(22) 출원일자(국제) 2008년01월30일 심사청구일자 없음	(72) 발명자 창, 리차드, 엘. 미국, 뉴저지 07058, 파인 브룩, 코너 에비뉴 107
(62) 원출원 특허 10-2009-7018188 원출원일자(국제) 2008년01월30일 심사청구일자 2009년08월31일	(85) 번역문제출일자 2012년05월30일 (86) 국제출원번호 PCT/US2008/001299 (87) 국제공개번호 WO 2008/094657 국제공개일자 2008년08월07일	(74) 대리인 특허법인가산 중국, 45000, 헤난, 정저우, 동밍 로드 4
(30) 우선권주장 60/898,810 2007년01월31일 미국(US)		

전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **포르볼 에스테르 조성물과 그의 사용 방법**

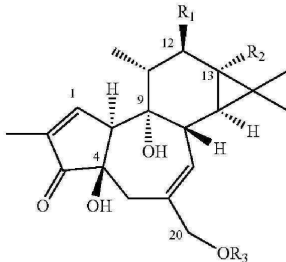
(57) 요약

세포 변형성 질환의 치료를 위한 포르볼 에스테르 또는 포르볼 에스테르의 유도체를 포함하는 조성물 및 방법을 제공한다. 세포 변형성 질환은 HIV 및 AIDS와 같은 바이러스 감염 또는 종양의 진행과 같은 다양한 수단에 의해 포유동물 대상체 내에서 야기된다. 본 발명의 상기 방법 및 조성물은 데 노보 HIV 감염의 억제, 잠재적 프로바이러스로부터 바이러스 발현으로의 증가, HIV-유도 세포 변형성 효과의 억제, HIV 수용체의 저하 조절, Th1 사이토카인 발현의 증가, Th2 사이토카인 발현의 감소, ERK 인산화 반응의 증가, 악성 종양 세포에서의 세포사멸 유도, 경감 유도, 경감 유지, 화학 요법의 약물로서, 뿐만 아니라, 세포 변형성 질환의 증상 및 이러한 질환과 수반되는 기회적 감염의 감소에 효과적이다. HAART 프로토콜에서 사용된 것들, HIV에 기인한 기회적 감염의 치료에 사용되는 치료학적 약물, 또는 화학 요법의 약물과 같은 적어도 하나의 추가 약물과 결합하여 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하여, 포유동물 대상체 내의 세포 변형성 질환에 대항하는 더욱 효과적인 추가적인 조성물 및 방법을 제공한다.

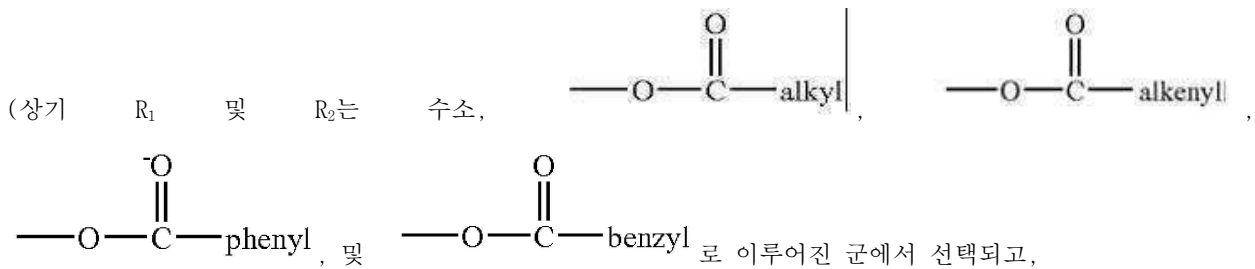
특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 I의 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염, 이성질체, 광학이성질체(enantiomer), 솔베이트(solvate), 수화물(hydrate) 또는 다형체(polymorph)를 포유동물 대상체에 투여하는 것을 포함하는, 포유동물 대상체에서 HIV 감염을 예방 또는 치료하는 방법.



화학식 I



R_3 는 수소 및 —C(=O)—alkenyl 에서 선택되고,

상기 화학식 I의 화합물은 약학적 유효량으로 투여되고,

상기 알킬(alkyl)기는 1 내지 15의 탄소 원자를 포함하고,

상기 알케닐(alkenyl)기는 1 내지 7의 탄소 원자를 포함한다)

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 대체로 세포 변형성 질환(cytopathic diseases)에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명은 포르볼 에스테르를 포함하는 조성물과 이를 사용하여 세포 변형성 컨디션(condition) 또는 이러한 세포 변형성 컨디션을 야기하는 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 포르볼(phorbol)은 디테르펜(diterpene)의 티글리안(tigliane)과의 천연의, 식물 유래의 유기 화합물(compound)이다. 이것은 1934년에, 원산지가 동남 아시아인 대극과(Euphorbiaceae family)의 광엽 관목(leafy shrub)인 크로톤 티글리움(*Croton tiglium*)의 종자에서 유래된 파두유(croton oil)의 가수분해 생성물에서 최초로 분리되었다. 다양한 포르볼의 에스테르는 중요한 생물학적 특징을 가지는데, 이는 미토겐 활성화 단백질 키나아제(Mitogen-Activated Protein Kinase; MAPK) 경로를 포함하는 세포 신호 전달 경로의 다운스트림(downstream)을 조절하는 활성화 단백질 키나아제(Protein Kinase C; PKC)와 디아크릴글리세롤(diacylglycerol)을 모방(mimic)하는 것으로 보고된 능력을 포함한다. 또한, 포르볼 에스테르는 키메라인(chimerins), Ras 활성화물(Ras activator)인 RasGRP, 및 소포 시발 단백질(vesicle-priming protein)인 Munc-13에 결합하는 것으로 여겨진다 (Brose N, Rosenmund C., JCell Sci; 115:4399-411 (2002)). 또한, 몇몇의

포르볼 에스테르는 핵 인자-카파 B (Nuclear Factor-kappa B; NF-κB)를 포함한다. 포르볼 에스테르의 가장 뛰어난 생리학적 특징은 암 프로모터(tumor promoter)의 역할을 하는 것으로 보고된 능력이다.

[0003] *12-0-테트라데카노일포르볼-13-아세테이트 (12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate; TPA)는, 포르볼-12-미리스테이트-13-아세테이트(phorbol-12-myristate-13-acetate; PMA)라고도 불리며, 포르볼 에스테르이고, 다수의 세포주(cell line)와 초기 세포(primary cell)에서 대한 분화(differentiation) 및/또는 세포 사멸(apoptosis)의 유도 물질(inducer)로서 발암(carcinogenesis)의 모델로 사용된다. TPA는 화학치료(chemotherapy)에 의해 골수 기능이 저하된 환자들에 있어서, 백혈구와 호중구(neutrophil)의 순환을 증가시키고(Han Z. T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 5363-5365 (1998)), MT-4 세포에 대한 HIV-세포 변형성 효과를 억제하는(Mekkwaty S. et al., Phytochemistry 53, 47-464 (2000)) 것으로 보고되고 있다. 그러나, 피부와 접촉하였을 때의 가성 반응(caustic reaction) 및 잠재적 독성에 대한 우려 등을 포함하는 다양한 요인들 때문에, HIV 또는 AIDS를 치료, 관리, 또는 예방하기 위한 효과적인 도구로 TPA를 제시하지 못하고 있다.

[0004] 다양한 형태의 종양 질환(neoplastic disease)과 같은 세포 변형성 질환과, HIV 및 AIDS와 같은 바이러스 질환(viral disease)에 대한 최신 치료법들은, 충분하지 못한 효과와 견딜 수 없는 부작용 등의 수많은 장애를 겪고 있다. 많은 환자들에게는, 단지 약물 치료를 중단하는 것으로 그들의 삶의 질을 손상시키는 치명적인 부작용이 발생한다. 어떤 환자들은, 순응성(compliance)이 한정되어서, 치료 계획이 매우 복잡하고 불편하다. 또 다른 환자들은, 초기에 우수한 결과를 경험하지만, 최적 치료 계획(therapeutic regimen)에 완전히 순응되었음에도 불구하고 병이 재발하기도 한다.

[0005] 대부분의 HIV 케이스에서 치료가 실패하는 것은 HIV의 저항 계통(resistant strain)이 출현했기 때문이다. 불충분한 약물 효능에 의한 불완전한 바이러스 억제, 복잡한 약물 치료 계획에 의한 열악한 순응성, 및 그 외의 다른 인자들이 이러한 문제를 야기시킨다. 또한, HIV감염에 대한 임상 잠복기(clinical latency)의 긴 기간 동안, 정지성 기억 CD4 T-세포(quiescent memory CD4 T-cell)의 서브셋(subset)은 통합되나 전사적으로 침묵하는(transcriptionally silent) 프로바이러스(provirus)를 숨겨준다. 이러한 저장소(reservoir)는 레트로바이러스 치료(retroviral therapy)로부터 잠복성 HIV를 보호하고, 감염된 환자 내에서 HIV의 박멸에 대한 실질적 장벽 역할을 한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 암치료는 일반적으로 수술, 화학 치료, 호르몬 치료, 및/또는 방사선 치료 등과 결합하여, 환자의 신생 세포(neoplastic cell)를 제거한다. 그러나, 이러한 접근은 모두 심한 장애(drawbacks) 및 감염에 대한 감수성 증가와 같은 추가 위험성을 내포한다. 예를 들어, 수술의 경우 환자의 건강 상태에 따라 금지될 수 있다. 또한, 암 주위의 마진을 명확하게 결정하기가 어려워, 신생 조직의 일부가 잔존하여 병의 재발 가능성이 증가할 수 있다. 최근의 거의 모든 화학 치료 약물은 독성이 있고, 화학 치료는 심한 메스꺼움, 골수 기능 저하, 및 면역 억제 등을 포함하는 심각한 부작용을 유발한다. 또한, 암세포에 특이적으로 공격(target)하지 못할 수 있어서, 암세포뿐만 아니라 건강한 세포도 죽일 수 있다. 또한, 최근 치료법에 저항성을 가진 재발성/난치성 신생물(relapsed/refractory neoplasm)이 빈번하게 존재한다.

[0007] 종양성 질환(neoplastic disease)뿐만 아니라 HIV 및 AIDS와 같은 바이러스성 감염에 의한 것을 포함하는 세포 변형성 질환을 겪는 환자들을 위해 새롭고 더욱 효과적인 치료가 당연히 필요하다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 실시예들의 요약

[0009] 본 발명은 세포 변형성 질환의 치료에 있어서, 포르볼 에스테르를 포함하는 조성물과 이를 사용하는 방법에 관한 것이다.

[0010] 본 발명의 일 실시예에서, 포르볼 에스테르 및 포르볼 에스테르의 유도체는 HIV와 같은 세포 변형성 질환 및 AIDS와 같은 연관성 질환을 치료하는 데에 사용된다. 본 발명에 따른 조성물 및 방법은, 가능한 모든 방법을 동원하여 HIV 및 AIDS와 같은 연관성 질환의 치료를 달성한다. 몇몇 실시예에서, 상기 조성물 및 방법은 포유 동물 대상체(mammalian subject) 내에서의 HIV 수용체(receptor)의 활성을 변경(modify)할 수 있다. 또 다른

실시예에서, 상기 조성물 및 방법은 HIV-감염 대상체 내의 HIV 저장소의 개수를 감소시킬 수 있다. 또 다른 실시예에서, 잠복성 프로-바이러스 세포(pro-viral cells) 내의 HIV 활성화를 강화할 수 있다. 또 다른 실시예에서, HIV-세포 변형성 효과를 억제할 수도 있다.

[0011] 또 다른 실시예에서, 포르볼 에스테르 및 포르볼 에스테르 유도체를 포함하는 조성물은, 포유동물 대상체에 대한 HIV 및 AID 증상의 치료 및 관리에 사용할 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법들이 적용되는 치료 및 관리에 대한 목적(targeted) 증상은, 구강 병변(oral lesions), 피로감, 피부 아구창(skin thrush), 발열(fever), 식욕 저하(poor appetite), 설사(diarrhea), 아프타성 궤양(apthous ulcers), 흡수장애(malabsorption), 혈소판감소증(thrombocytopenia), 체중 감소, 빈혈, 림프절 증대(lymph node enlargement), 및 미코박테리움 아비움 콤플렉스(mycobacterium avium complex), 살모넬라증(salmonellosis), 매독(syphilis), 신경매독(neurosyphilis), 결핵(tuberculosis; TB), 바실러리 안지오마토시스(bacillary angiomatosis), 아스페르질루스증(aspergillosis), 칸디다증(candidiasis), 콕시디오이데스 진균증(coccidioidomycosis), 리스테리아증(listeriosis), 골반 염증(pelvic inflammatory disease), 버킷 림프종(Burkitt's lymphoma), 크립토코쿠스 수막염(cryptococcal meningitis), 히스토플라스마증(histoplasmosis), 카포시 육종(Kaposi's sarcoma), 림프종(lymphoma), 시스템성 비-호지킨 림프종(non-Hodgkin's lymphoma; NHL), 프라이머리 CNS 림프종(primary CNS lymphoma), 크립토스포리디움증(cryptosporidiosis), 이소스포라증(isosporiasis), 미포자충증(microsporidiosis), 뉴모시스티스 카리니 폐렴(pneumocystis carinii pneumonia; PCP), 톡소플라스마증(toxoplasmosis), 사이토메갈로바이러스(cytomegalovirus; CMV), 간염(hepatitis), 헤르페스 심플렉스(herpes simplex), 헤르페스 조스터(herpes zoster), 인간 파필로마 바이러스(human papilloma virus) (HPV, 곤지름(genital warts), 자궁 경부암(cervical cancer)), 몰루스쿰 콘타기오썸(molluscum contagiosum), 구강 백반(oral hairy leukoplakia; OHL), 및 진행성 다발초점성 백질뇌병증(progressive multifocal leukoencephalopathy; PML)과 같은 2차 컨디션에 대한 민감성 및 심각성 등을 포함하나, 이에 한정되지는 않는다.

[0012] 또 다른 실시예에서, 포르볼 에스테르 및 포르볼 에스테르의 유도체를 포함하는 조성물은 종양성 질환과 같은 세포 변형성 컨디션을 치료하는데 사용될 수 있다. 이러한 종양(neoplasms)은 악성 또는 양성일 수 있다. 몇몇 실시예에서, 종양은 고형 또는 비고형 암일 수 있다. 또 다른 몇몇 실시예에서, 종양은 재발성일 수 있다. 또 다른 몇몇 실시예에서, 종양은 난치성일 수 있다. 예시적인 종양은 급성 골수성 백혈병(acute myeloid leukemia; AML), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia; CML), 만성 골수성 백혈병 아세포기(chronic myeloid leukemia blast crisis), 골수이형성증(myelodysplasia), 및 골수증식성 증후군(myeloproliferative syndrome)을 포함하는 백혈병(leukemia); 호지킨 및 비-호지킨 림프종을 포함하는 림프종; 피하 선암(subcutaneous adenocarcinoma); 난소 기형암종(ovarian teratocarcinoma); 및 전립선 암(prostate cancer)을 포함하되, 이에 한정되지 않는 혈액 종양(hematologic malignancies)/골수 질환(bone marrow disorders)을 포함하며, 이에 한정되지 않는다. 상기 방법 및 조성물을 이용한 치료를 적용할 수 있는 또 다른 종양성 컨디션은 여러 가지 타입의 고형암을 포함하는 또 다른 암 질환 및 컨디션을 포함하며, 여기서 성공적인 치료 및/또는 완화(remission)는 고형암의 크기 감소의 측정, 및/또는 조직학적 암 마크의 존재 또는 발현 레벨, 전이 상태(metastatic state) 또는 잠재 상태, 스테이지, 성장 등을 평가하는 조직병리학적 연구 등의 기존 방법에 따라 결정될 것이다.

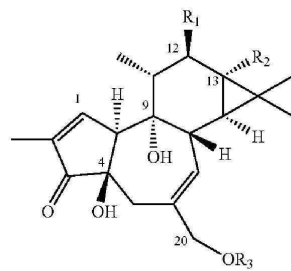
[0013] 또한, 본 발명의 조성물 및 방법은 빈혈(anemia); 만성 피로(chronic fatigue); 코, 잇몸, 및 피부 내(under the skin)의 출혈과 같은 과도하거나 빈번한 출혈(excessive or easy bleeding); 빈번한 타박상(easy bruising), 특히, 외관상 원인이 없는 타박상; 숨가쁨(shortness of breath); 점상출혈(petechiae); 회귀 열(recurrent fever); 잇몸 부음(swollen gums); 상처의 더딘 치유(slow healing of cuts); 골(bone) 및 관절(joint) 불편감; 재발 감염(recurrent infections); 체중 감소; 가려움증(itching); 수면증 식은땀(night sweats); 림프절 종창(lymph node swelling); 발열; 복부 통증 및 불편감(abdominal pain and discomfort); 시력 장애(disturbances in vision); 기침(coughing); 식욕 저하; 흉부 통증(pain in the chest); 목넘김 곤란(difficulty swallowing); 얼굴, 목 및 상지부(upper extremities)의 종창; 특히, 야간에, 잦은 배뇨 욕구(a need to urinate frequently); 배뇨 시작 또는 배뇨 제지 곤란(difficulty starting urination or holding back urine); 약하거나 중단된 소변 흐름(weak or interrupted flow of urine); 배뇨시 통증 또는 작열감(painful or burning urination); 발기 곤란(difficulty in having an erection); 사정시 통증(painful ejaculation); 소변 또는 정액 내 혈액(blood in urine or semen); 허리, 둔부, 또는 상부 대퇴부의 잦은 통증 또는 뻣뻣함(frequent pain or stiffness in lower back, hips, or upper thighs); 및 허약(weakness)을 포함하되, 이에 한정되지 않는 종양성 질환의 증상을 치료하는데 사용될 수 있다.

[0014] 또 다른 실시예에서, 본 발명의 포르볼 에스테르 및 포르볼 에스테르의 유도체는 세포 신호 경로(cell signaling pathways)를 조절하는데 사용될 수 있다. 이러한 조절은 다양한 결과를 포함할 수 있다. 예를 들어, 몇몇 실시예에서, 포르볼 에스테르 및 포르볼 에스테르의 유도체를 포함하는 조성물의 사용은 포유동물 대상체 내의 백혈구(white blood cell) 수를 증가시킬 수 있다. 또 다른 실시예에서, 포르볼 에스테르 및/또는 포르볼 에스테르 유도체를 포함하는 조성물은 포유동물 대상체 내의 Th1 사이토카인(cytokines)의 분비를 변경할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 포르볼 에스테르 및/또는 포르볼 에스테르 유도체를 포함하는 조성물은 포유동물 대상체 내의 인터루킨 2(interleukin 2; IL-2)의 분비를 변경할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 포르볼 에스테르 및/또는 포르볼 에스테르 유도체를 포함하는 조성물은 포유동물 대상체 내의 인터페론(interferon)의 분비를 변경할 수 있다. 또 다른 실시예에서, 포르볼 에스테르 및/또는 포르볼 에스테르 유도체를 포함하는 조성물은 ERK 인산화반응(phosphorylation)의 비율을 변경할 수 있다.

[0015] 본 발명은 하기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 조성물을 포함하는 조성물을 사용한 세포 신호 경로의 조절 및/또는 세포 변형성 질환 및 세포 변형성 질환 또는 컨디션에 대한 증상의 치료에 대한 신규하고 대단히 효과적인 조성물 및 방법을 제공함으로써, 상술한 것들을 달성할 수 있고, 추가적 목적 및 이점을 만족시킬 수 있다.

[0016]

[0017]



화학식 I

[0018]

(상기 R_1 및 R_2 는 수소; $\text{---O---C(=O)---alkyl}$, 상기 알킬(alkyl) 그룹은 1 내지 15 개의 탄소 원자를

포함; $\text{---O---C(=O)---lower alkenyl}$, $\text{---O---C(=O)---phenyl}$, $\text{---O---C(=O)---benzyl}$ 및 이들의 치환 유도체일 수 있다.)

[0019]

또 다른 실시예에서, R_1 및 R_2 중 적어도 하나는 수소의 다른 것이고, R_3 는 수소 또는

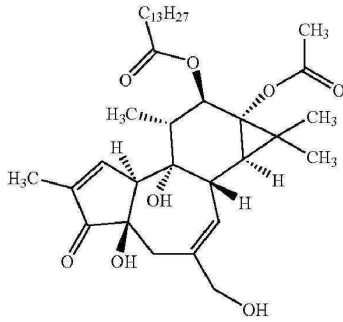
$\text{---O---C(=O)---lower alkenyl}$ 및 이들의 치환 유도체이다. 또 다른 실시예에서, R_1 및 R_2 중 어느 하나는 $\text{---O---C(=O)---C}_1\text{---C}_{15}$ 이고, R_1 및 R_2 중 다른 하나는 $\text{---O---C(=O)---lower alkyl}$ 이고, R_3 는 수소이다.

[0020]

본 발명에서, 상기 화학식의 상기 알킬, 알케닐(alkenyl), 페닐(phenyl) 및 벤질(benzyl) 그룹은 비치환된 또는 할로겐, 바람직하게는 클로린(chlorine), 플루오린(fluorine) 또는 브로민(bromine); 니트로(nitro); 아미노(amino); 및/또는 유사 타입의 라디칼(radicals)으로 치환된 것일 수 있다.

[0021]

또 다른 실시예에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 12-O-테트라데카노일포르볼-13-아세테이트(TPA)와 같은 예시적인 포르볼 에스테르 조성물을 사용한 세포 신호 경로의 조절 및/또는 세포 변형성 질환 또는 세포 변형성 질환과 연관된 컨디션의 치료에 대한 신규하고 대단히 효과적인 방법 및 조성물을 제공함으로써, 이러한 목적을 달성할 수 있고, 추가적 목적 및 이점들을 만족시킬 수 있다.



[0022]

[0023]

화학식 II

[0024]

본 발명의 유용한 포르볼 에스테르 및 포물레이션 내에서 관련된 화합물 및 유도체 및 방법은, 상기 화합물의 또 다른 조제학적으로 허용가능한(acceptable) 활성 염(active salt), 뿐만 아니라 상기 화합물의 활성 이성체(active isomers), 광학이성질체(enantiomers), 다형체(polymorphs), 글리코실화된 유도체(glycosylated derivatives), 솔베이트(solvates), 수산화물(hydrates), 및/또는 프로드러그(prodrugs)를 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 방법 및 조성물 내에서 사용되기 위한 포르볼 에스테르의 예시적인 형태는 포르볼 13-부틸레이트(butyrate); 포르볼 12-데카노에이트(decanoate); 포르볼 13-데카노에이트; 포르볼 12,13-디아세테이트(diacetate); 포르볼 13,20-디아세테이트; 포르볼 12,13-디벤조에이트(dibenzoate); 포르볼 12,13-디부틸레이트; 포르볼 12,13-디데카노에이트; 포르볼 12,13-디헥사노에이트(dihexanoate); 포르볼 12,13-디프로피오네이트(dipropionate); 포르볼 12-미리스테이트(myristate); 포르볼 13-미리스테이트; 포르볼 12-미리스테이트-13-아세테이트 (TPA 또는 PMA으로도 알려짐); 포르볼 12,13,20-트리아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-안젤레이트; 12-데옥시포르볼 13-안젤레이트 20-아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-이소부틸레이트; 12-데옥시포르볼 13-이소부틸레이트-20-아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-페닐아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-페닐아세테이트 20-아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-테트라데카노에이트; 포르볼 12-티글리에이트 13-데카노에이트; 12-데옥시포르볼 13-아세테이트; 포르볼 12-아세테이트; 및 포르볼 13-아세테이트를 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다.

[0025]

몇몇 실시예에서, 본 발명의 조성물 및 방법은 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 이용하여, HIV 및 AIDS 또는 그 외 질환의 증상 및 기회적 감염(opportunistic infections)과 같은 HIV 및 AIDS와 연관된 컨디션, 뿐만 아니라 종양성 질환 또는 그 외의 질환의 증상 및 종양성 질환과 연관된 컨디션을 포함하되, 이에 한정되지 않는 세포 변형성 질환의 증상을 예방 및/또는 방지한다.

[0026]

본 발명의 방법에 의하여, 화학식 I의 포르볼 에스테르, 특히 TPA로 치료할 수 있는 포유동물 대상체는 HIV 및 AIDS를 가지는 대상체, 뿐만 아니라 HIV 및 AIDS와 연관된 2차 또는 기회적 질환 또는 증상, 예를 들어, 구강 병변, 피로감, 피부 아구창, 발열, 식욕 저하, 설사, 아프타성 궤양, 흡수장애, 혈소판 감소증, 체중 감소, 빈혈, 림프절 증대, 미코박테리움 아비움 콤플렉스, 살로넬라증, 매독, 신경매독, 결핵 (TB), 바실러리 안지오마토시스, 아스페르길루스증, 칸디다증, 콕시디오이데스 진균증, 리스테리아증, 골반 염증, 버킷 림프종, 크립토코쿠스 수막염, 히스토플라스마증, 카포시 육종, 림프종, 시스템성 비-호지킨 림프종 (NHL), 프라이머리 CNS 림프종, 크립토스포리디움증, 이소스포라증, 미포자충증, 뉴모시스티스 카리니 폐렴 (PCP), 톡소플라스마증, 사이토메갈로바이러스 (CMV), 간염, 헤르페스 심플렉스, 헤르페스 조스터, 인간 파필로마 바이러스 (HPV, 곤지름, 자궁 경부암), 몰루스균 콘타기오움, 구강 백반 (OHL), 및 진행성 다발초점성 백질뇌병증 (PML) 등을 가지는 대상체를 포함하며, 이에 한정되지 않는다.

[0027]

본 발명의 방법에 의하여, 화학식 I의 포르볼 에스테르, 특히 TPA로 치료할 수 있는 또 다른 포유동물 대상체는 고형 및 비-고형암과 같은 악성 종양 질환을 포함하는 종양성 질환을 겪는 대상체를 포함하며, 이에 한정되지 않는다. 비-고형암은, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 골수성 백혈병 아세포시, 골수이형성증, 골수증식성 증후군을 포함하는 백혈병을 포함하되, 이에 한정되지 않는 혈액 종양/골수 장애를 포함할 수 있다. 고형암은 호지킨 및 비-호지킨 림프종, 피부 선암, 난소 기형암종, 및 전립선 암을 포함하는 림프종을 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다. 화학식 I의 포르볼 에스테르, 특히 TPA로 치료할 수 있는 대상체는 이러한 종양성 질환의 증상, 예를 들어, 빈혈; 만성 피로; 코, 잇몸, 및 피부 내의 출혈과 같은 과도하거나 빈번한 출혈; 빈번한 타박상, 특히, 외관상 원인이 없는 타박상; 숨가쁨; 점상출혈; 회귀열; 잇몸 부음; 상처의 더딘 치유; 골 및 관절 불편감; 재발 간염; 체중 감소; 가려움증; 수면중 식은땀; 림프절 종창; 발열; 복부 통증 및 불편감; 시력 장애; 기침; 식욕 저하; 흉부 통증; 목넘김 곤란; 얼굴, 목

및 상지부의 종창; 특히, 야간에, 잦은 배뇨 욕구; 배뇨 시작 또는 배뇨 제지 곤란; 약하거나 중단된 요 흐름; 배뇨시 통증 또는 작열감; 발기 곤란; 사정시 통증; 소변 또는 정액 내 혈액; 허리, 둔부, 또는 상부 대퇴부의 잦은 통증 또는 뻣뻣함; 및 허약 등을 포함하되, 이에 한정되지 않는 증상을 겪고 있는 대상체들을 추가로 포함할 수 있다. 몇몇 실시예에서, 이러한 암은 재발된 것이거나 치료하기 어려운 것일 수 있다.

[0028]

이들 및 또 다른 대상체는, 바이러스 부하(viral load)의 방지 또는 감소, HIV의 잠복 저장소의 감소, 면역 반응의 증가, Th1 사이토카인 분비의 증가, HIV 및 AIDS와 연관된 컨디션 및 증상의 방지 또는 감소, 신생 세포의 감소 및/또는 제거, 백혈구 수의 증가, 완화 유도, 완화 유지, 악성 종양과 연관된 컨디션 및 증상의 방지 또는 감소, 및/또는 ERK 인산화반응의 증가에 충분한 화학식 I의 포르볼 에스테르의 유효량을 대상체에 투여함으로써, 예방적으로 및/또는 치료적으로 효과적으로 치료된다. 치료적으로 유용한 본 발명의 방법 및 포물레이션은 상술한 바와 같이, 상기 화합물의 어떠한 활성의, 조제학적으로 허용가능한 염, 뿐만 아니라 활성 이성체, 광학이성질체, 다형체, 솔베이트, 수산화물, 프로드러그, 및/또는 이들의 콤비네이션을 포함하는 다양한 형태의 화학식 I의 포르볼 에스테르를 효과적으로 사용할 것이다. 화학식 II의 TPA 는 후술할 본원 발명의 예시적인 실시예처럼 적용될 수 있다.

[0029]

본 발명의 또 다른 관점에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물과 결합적으로(combinatorially) 포물레이트되거나 대등하게(coordately) 투여되어 대상체에 효과적인 반응을 생성하는 하나 이상의 2차 또는 부속 활성 약물(secondary or adjunctive active agent(s))과 결합하여 화학식 I의 포르볼 에스테르 유효량을 적용하는 결합 포물레이션 및 방법들이 제공된다. HIV 및 AIDS와 같은 바이러스 세포 변형성 질환의 치료에서, 예시적인 결합 포물레이션(combinatorial fomulation) 및 대등한 치료 방법(coordinate treatment methods)은 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 하나 이상의 추가적인, 레트로바이러스의, HIV 또는 AIDS 치료를 치료하는 또는 또 다른 알려진 2차 또는 부속 치료 약물과 결합하여 적용한다. 이러한 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은, 예를 들어, 다양한 고 활성 항바이러스 요법 프로토콜(highly active antiretroviral therapy protocols; HAART protocols)에서 유래되거나 이에 뒤따르는 것일 수 있고, 또 다른 콤비네이션들 중에 두 개의 뉴클레오사이드 유사 역전사 억제제(nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor)에 하나 이상의 프로테아제 억제제(protease inhibitor) 또는 비-뉴클레오사이드 유사 역전사 억제제(non-nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor)를 더한 것과 같은 처방 계획(regimens)을 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다. 또 다른 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은, 예를 들어, 기회적 감염의 치료뿐만 아니라 HAART 프로토콜을 위한 화합물을 포함할 수 있다. 본 발명의 실시예들에서, 예를 들어, TPA와 결합하여 사용되는 상기 2차 또는 부속 치료 약물은 예를 들어, TPA와 결합하거나 단독으로, 직접 또는 간접적인 항바이러스 효과(antiviral effects)를 가질 수 있고, 예를 들어, TPA와 결합하여, 또 다른 유용한 부속 치료 활성을 나타낼 수 있고(HIV 예방, HIV 치료, HIV 저장소 활성화, Th1 사이토카인의 활성 증가 등); 또는 예를 들어, TPA와 결합하거나 단독으로, HIV와 연관된 기회 감염을 치료하는데 유용한 부속 치료 활성을 나타낼 수 있다.

[0030]

이러한 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법에서 유용한 부속 치료 약물은, 예를 들어, 사퀴나비르(saquinavir), 인디나비르(indinavir), 리토나비르(ritonavir), 넬피나비르(nelfinavir), 아타자나비르(atazanavir), 다루나비르(darunavir), 포삼프레나비르(fosamprenavir), 티프라나비르(tipranavir) 및 암프레나비르(amprenavir)를 포함하되, 이에 한정되지 않는 프로테아제 억제제(protease inhibitors); 지도부딘(zidovudine), 디다노신(didanosine), 스타부딘(stavudine), 라미부딘(lamivudine), 잘시타빈(zalcitabine), 엠트리시타빈(emtricitabine), 테노포비르 디소프록실 푸마레이트(tenofovir disoproxil fumarate), AVX754 및 아바카비르(abacavir)를 포함하되, 이에 한정되지 않는 뉴클레오사이드 역전사 억제제; 네바리핀(nevaripine), 델라비르딘(delavirdine), 칼라놀리드 A(calanolide A), TMC125 및 에파비렌즈(efavirenz)를 포함하되, 이에 한정되지 않는 비-뉴클레오사이드 역전사 억제제; 에파비렌즈/엠트리시타빈/테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 라미부딘/지도부딘, 아바카비르/라미부딘, 아바카비르/라미부딘/지도부딘, 엠트리시타빈/테노포비르 디소프록실 푸마레이트(tenofovir disoproxil fumarate), 술폰메톡사졸(sulfamethoxazole)/트리메토프림(trimethoprim), 및 로피나비르(lopinavir)/리토나비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 콤비네이션 약물(combination drugs); 엔푸비르티드(enfuvirtide), AMD070, BMS-488043, 포지부딘 티독실(fozividine tidoxil), GSK-873,140, PRO 140, PRO 542, 펩티드 T(Peptide T), SCH-D, TNX-355, 및 UK-427, 857를 포함하되, 이에 한정되지 않는 유입 및 융합 억제제(entry and fusion inhibitors); 아시클로비르(acyclovir), 아데포비르 디피복실(adeфовir dipivoxil), 알데스루킨(aldesleukin), 암포테리신 b(amphotericin b), 아지스로마이신(azithromycin), 칼슘 하이드록실아파타이트(calcium hydroxylapatite), 클라리스로마이신(clarithromycin), 독소루비신(doxorubicin), 드로나비놀(dronabinol), 엔테카비르(entecavir), 에포에틴 알

파(epoetin alfa), 에토포시드(etoposide), 플루코나졸(fluconazole), 간시클로비르(ganciclovir), 이뮤노글로불린(immunoglobulins), 인터페론 알파-2, 이소니아지드(isoniazid), 이트라코나졸(itraconazole), 메게스트롤(megestrol), 파클리탁셀(paclitaxel), 페그인터페론 알파-2(peginterferon alfa-2), 펜타미딘(pentamidine), 폴리-L-락틱산(poly-L-lactic acid), 리바비린(ribavirin), 리파부틴(rifabutin), 리팜핀(rifampin), 소마트로핀(somatropin), 테스토스테론(testosterone), 트리메트렉세이트(trimetrexate), 및 발간시클로비르(valganciclovir)를 포함하되, 이에 한정되지 않는 AIDS 및 HIV와 연관된 또 다른 컨디션 및 기회적 감염을 위한 치료제; GS 9137, MK-0518를 포함하되, 이에 한정되지 않는 인터그라제 억제제(integrase inhibitors); BMS-378806, C31G, 카르보폴(carbopol) 974P, 카라지난(carrageenan), 셀룰로오스 술페이트(cellulose sulfate), 시아노비린-N(cyanovirin-N), 텍스트란 술페이트(dextran sulfate), 히드록시에틸 셀룰로오스(hydroxyethyl cellulose), PRO 2000, SPL7013, 테노포비르, UC-781 및 IL-2를 포함하되, 이에 한정되지 않는 살균제(microbicides) 등을 포함한다.

[0031] 종양성 질환의 상기 치료에서 예시적인 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 하나 이상의 추가적인, 종양성 질환을 치료하는, 또는 또 다른 알려진 2차 또는 부속 치료 약물과 결합하여 적용한다. 이러한 실시예에서, 예를 들어, TPA와 결합하여 사용되는 상기 2차 또는 부속 치료 약물은, 예를 들어 TPA와 결합하거나 단독으로 직접 또는 간접적인 화학 요법 효과를 가질 수 있고, 예를 들어 TPA와 결합하여 또 다른 유용한 부속 치료 활성을 나타낼 수 있고(세포독성(cytotoxic), 항-염증성(anti-inflammatory), NF- κ B 억제, Th1 사이토카인의 활성 증가를 포함하는 세포 사멸등); 또는 예를 들어, TPA와 결합하거나 단독으로, 종양 또는 이와 연관된 증상을 치료하는데 유용한 부속 치료 활성을 나타낼 수 있다.

[0032] 이러한 결합 포물레이션과 대등한 치료 방법에서 유용한 부속 또는 2차 치료 약물은 독소루비신, 비타민 D3, 시타라빈(cytarabine), 시토신 아라비노시드(cytosine arabinoside), 다우노루비신(daunorubicin), 시클로포스파미드(cyclophosphamide), 겐투주맙 오조가미신(gemtuzumab ozogamicin), 이다루비신(idarubicin), 메르캅토피린(mercaptopurine), 미톡산트론(mitoxantrone), 티오구아닌(thioguanine), 알데스루킨, 아스파라기나제(asparaginase), 카르보플라틴(carboplatin), 에토포시드 포스페이트, 플루다라빈(fludarabine), 메토트렉세이트(methotrexate), 에토포시드, 덱사메타손(dexamethasone), 및 클로린 마그네슘 트리살리실레이트(choline magnesium trisalicylate)를 포함한다. 또한, 부속 또는 2차 치료는 방사선 치료, 호르몬 치료 및 수술 등에 사용될 수 있으며, 이에 한정되지 않는다.

[0033] 본원 발명의 상술한 그리고 추가적인 목적, 특징, 관점 및 이점은 후술할 구체적인 설명에 나타날 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0034] 본 발명의 실시예들의 상세한 설명

[0035] 신규 방법 및 조성물을 포유동물 대상체에서 세포 변형성 질환 및 컨디션의 치료 및/또는 예방에 사용됨을 증명한다. 다양한 몇몇 실시예에서, 상기 방법 및 조성물은 HIV 및 AIDS와 이와 관련된 컨디션, HIV 및 AIDS에 의해 유발된 질환, 및/또는 HIV 또는 AIDS 감염에 의해 발생한 질환을 예방하거나 치료하는데 효과적이다. 또 다른 몇몇 실시예에서, 상기 방법 및 조성물은 종양성 질환 및 이러한 질환의 증상을 예방하거나 치료하는데 효과적이다. 이러한 종양성 질환은 악성 종양일 수도 있고, 그렇지 않을 수도 있다. 몇몇 실시예에서, 상기 종양성 질환은 고형암 또는 비-고형암일 수 있다. 또 다른 몇몇 실시예에서, 상기 암은 난치성 또는 재발성일 수 있다.

[0036] 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 신규의 HIV 및 AIDS 치료 화합물로, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체(complexes), 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함한다.

[0037] 또한, 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 종양성 질환의 치료에 있어서, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함할 수 있다.

[0038] 바이러스 부하를 감소시키는 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은, 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 신규의 바이러스 부하 감소 약물로, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체, 염, 솔베

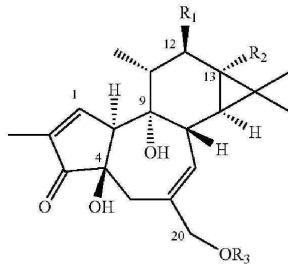
이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함할 수 있다.

- [0039] 세포 사멸을 유발하는 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은, 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 종양 내 세포 사멸을 유도하는 화학 요법 약물로, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함할 수 있다.
- [0040] 완화를 유발하는 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은, 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 항-종양 약물로, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함할 수 있다.
- [0041] 면역 반응을 증가시키는 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은, 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 면역 자극 화합물로, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함할 수 있다.
- [0042] Th 1사이토카인을 증가시키는 본 발명이 제공하는 포물레이션 및 방법은, 상기 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체 화합물을 적용하되, 신규 Th 1사이토카인 증가 약물로, 본 설명의 모든 활성 조제학적으로 허용가능한 화합물뿐만 아니라, 예견할 수 있고 용이하게 제공될 수 있는 이러한 화합물의 다양한 복합체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그 및 이들의 콤비네이션을 포함할 수 있다.
- [0043] 인간 대상체를 포함하는 광범위한 포유동물 대상체는, 본 발명의 포물레이션 및 방법을 사용한 치료에 적용 가능하다. 이러한 대상체는 종양성 질환 및 AIDS와 같은 바이러스 세포 변형성 질환을 포함하는 세포 변형성 질환 또는 조건을 겪는 개체를 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다.
- [0044] 치료 대상이 되는 대상체는, 구강 병변, 피로감, 피부 아구창, 발열, 식욕 저하, 설사, 아프타성 궤양, 흡수 장애, 혈소판 감소증, 체중 감소, 빈혈, 림프절 증대, 및 미코박테리움 아비움 콤플렉스, 살로넬라증, 매독, 신경매독, 결핵 (TB), 바실러리 안지오마토시스, 아스페르길루스증, 칸디다증, 콕시디오이데스 진균증, 리스테리아증, 골반 염증, 버킷 림프종, 크립토코쿠스 수막염, 히스토플라스마증, 카포시 육종, 림프종, 시스템성 비-호지킨 림프종 (NHL), 프라이머리 CNS 림프종, 크립토스포리디움증, 이소스포라증, 미포자충증, 뉴모시스티스 카리니 폐렴 (PCP), 토크스플라스마증, 사이토메갈로바이러스 (CMV), 간염, 헤르페스 심플렉스, 헤르페스 조스터, 인간 파필로마 바이러스 (HPV, 곤지름, 자궁 경부암), 몰루스쿰 콘타기오수, 구강 백반 (OHL), 및 진행성 다발초점성 백질뇌병증(PML) 등의 2차 조건에 대한 민감성 및 심각성을 나타내는 HIV+ 인간 및 또 다른 포유동물 대상체를 포함한다.
- [0045] 본 발명의 상기 방법 및 조성물에서, 본 발명에서 개시된 하나 이상의 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물은, HIV/AIDS 및/또는 연관된 장애를 치료하는데 효과적인 약물로서 유효하게 포물레이트되거나 투여될 수 있다. 몇몇 실시예에서, TPA는 조제학적 포물레이션 및 치료 방법에서, 하나 이상의 부속 치료 약물과 결합하거나 단독으로, 효과적인 약물이라는 것을 예시적으로 증명된다. 나아가, 본 발명은 천연 또는 합성 화합물의 형태로 추가적인 조제학적으로 허용가능한 포르볼 에스테르 화합물을 제공하되, 본 발명에 개시된 화합물의 복합체, 유도체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그, 및 이들의 콤비네이션을 포함하며, 이들은 HIV/AIDS 및 연관된 조건의 치료에 있어서, 본 발명의 상기 방법 및 조성물 내의 치료 약물로서 효과적이다.
- [0046] 후천성 면역 결핍증(Acquired immune deficiency syndrome 또는 acquired immunodeficiency syndrome; AIDS 또는Aids)은, 인간 면역 결핍 바이러스(human immunodeficiency virus; HIV) 감염에 의한 면역 시스템의 손상으로 인한 증상 및 감염의 집합이다. 면역 시스템의 손상은, 개체에 기회적 감염 및 종양에 걸리기 쉽도록 한다. AIDS 및 HIV의 치료가 바이러스의 진행 및 증상의 혹독성(severity)을 늦추도록 할 수 있을 지라도, 알려진 치료법은 없다.
- [0047] HIV는 레트로바이러스(retrovirus)로, CD4+ T 세포, 대식세포(macrophage) 및 수지상 세포(dendritic cell) 등과 같은 인간 면역 시스템의 구성 요소를 예비적으로 감염시킨다. CD4+ T 세포가 파괴되어 이들의 합계 (total count)가 혈액의 200 CD4+ T 세포/ μ l 아래로 감소하거나, 총 림프구(lymphocytes)의 비율(fraction)로 CD4+ T-세포의 백분율이 14% 보다 작게 내려가면, 세포 면역(cellular immunity)을 잃고, AIDS에 이르게 된다.

- [0048] T_h1 및 T_h2 사이토카인 균형(balance)에서의 변화는, HIV 감염과 연관된 면역 조절 장애(immune dysregulation)에 기여할 수 있다고 일반적으로 알려져있다. T_h1 세포는 세포독성 T 세포의 증식을 자극하는 사이토카인을 생산한다. T_h2 세포는 건강한 사람에 있어서, 체액성 면역 반응(humoral immune responses)을 활성화시키는 역할을 하는 사이토카인을 생산한다. HIV 감염에서 AIDS까지의 진행은 T_h2 사이토카인 IL-4, IL-5 및 IL-10 레벨의 증가와 함께 수반된 T_h1 사이토카인 IL-2, IL-12 및 IFN- γ 레벨의 감소로 특징 지을 수 있다. (Clerci, Immunology Today, v. 14, No. 3, p. 107-110, 1993; Becker, Virus Genes 28:1, 5-18 (2004)). 따라서, HIV 감염에 대한 저항성 및/또는 AIDS 로의 진행에 대한 저항성은 $T_h1 > T_h2$ 우세에 종속적일 수 있다.
- [0049] CD4+ 메모리 T 세포의 파편은 HIV에 대한 전사적으로 불활성인 프로바이러스에 통합되어 저장된다. 이러한 잠복성 저장소는 활성화되어, 특이적 항원 또는 사이토카인에 의해 활성화된 후에, 활성 감염 바이러스를 생산할 수 있다. 이러한 CD4 메모리 T 세포의 반감기는 적어도 44 개월로, HIV 박멸을 매우 어렵게 하고, 말초 혈액(peripheral blood)에서 HIV 레벨을 검출할 수 없을 지라도, 항레트로바이러스 치료를 연장하여 지속하도록 한다.
- [0050] 프로스트라틴(prostratin), 12-테옥시포르볼 13-아세테이트, 비-종양 촉진 포르볼 에스테르(a non-tumor promoting phorbol ester)는, 세포 파괴(killing) 및 바이러스 복제(viral replication)를 유발하는 HIV 억제에 대한 어느 정도 효과가 있다는 것이 알려졌다. 프로스트라틴은, 잠재적으로-감염된 세포주에서는 바이러스성 발현이 활성화되었지만, 만성적으로-감염된 세포주에서는 효과가 매우 적거나 거의 없었던 것으로 알려졌다. (Gulakowski, *et al.*, Antiviral Research v. 33, 87-97 (1997); Williams, *et al.*, JBC v. 279, No. 40, P. 42008-42017 (2004)). 프로스트라틴은 TPA와 같은 종양-촉진 포르볼 에스테르와 구별되는 독특한 생물학적 활성을 가지는 단백질 키나아제C 활성화제(protein kinase C activators)의 독특한(distinct) 서브클래스(subclass)를 대표한다.
- [0051] 또한, 본 발명의 방법에 따른 화학식 I의 포르볼 에스테르, 특히 TPA로 치료할 수 있는 포유동물 대상체는, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 골수성 백혈병 아세포기, 골수이형성증, 골수증식성 증후군을 포함하는 백혈병과 같은 혈액 종양/골수 장애; 호지킨 및 비-호지킨 림프종을 포함하는 림프종; 피부 선암; 난소 기형암종; 및 전립선 암을 포함하는 고형 및 비-고형암을 포함하는 종양성 질환을 가지는 포유동물 대상체를 포함하며, 이에 한정되지 않는다. 몇몇 실시예에서, 이러한 암은 재발성 또는 난치성일 수 있다.
- [0052] 본 발명의 상기 방법 및 조성물에서, 본 발명에서 개시된 하나 이상의 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물은, 종양성 질환을 치료하는데 효과적인 약물로서 유효하게 포몰레이트되거나 투여될 수 있다. 몇몇 실시예에서, TPA는 하나 이상의 부속 치료 약물과 결합하거나 단독으로, 효과적인 약물이라는 것을 예시적으로 증명된다. 나아가, 본 발명은 천연 또는 합성 화합물의 형태로 추가적인 조제학적으로 허용가능한 포르볼 에스테르 화합물을 제공하되, 본 발명에 개시된 화합물의 복합체, 유도체, 염, 솔베이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체 및 프로드러그, 및 이들의 콤비네이션을 포함하며, 이들은 종양성 질환 및 이러한 질환의 증상에 대한 치료에 있어서, 본 발명의 상기 방법 및 조성물 내의 치료 약물로서 효과적이다.
- [0053] 종양성 질환은 비정상적이고, 제어할 수 없는 세포 분열에 의해 유발된 종양 또는 어떠한 성장이며; 이것은 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 다른 부위로 전이될 수 있다. 이러한 성장은 악성 또는 양성, 고형 또는 비고형일 수 있다.
- [0054] 몇몇 실시예에서, 종양성 질환은 급성 골수성 백혈병과 같은 혈액 종양(hematological neoplasm)/골수 질환일 수 있다. AML(acute myelogenous leukemia, acute myeloblastic leukemia, acute granulocytic leukemia, 및 acute nonlymphocytic leukemia라고도 불림)은 급성 백혈병 중 성인들에게 가장 일반적인 타입이다. AML에서, 골수에 의해 생성된 줄기 세포(stem cells)는 일반적으로 골수아세포(myeloblasts 또는 myeloid blasts)라고 불리는 미숙 백혈구로 성장한다. AML을 겪는 개체에서, 이러한 골수아세포는 건강한 백혈구로 성숙하지 않는다. 또한, AML을 앓는 개체의 줄기 세포는 비정상적인 적혈구 또는 혈소판으로 성장한다. 정상적인 혈구가 부족하면, 감염, 빈혈, 및 쉬운 출혈의 발생률이 증가한다. 또한, 백혈병 세포는 혈액을 중추 신경계 (뇌 및 척수), 피부, 및 잇몸을 포함하는 신체의 다른 부위의 바깥으로 배출시킬 수 있다.
- [0055] AML을 가지는 환자의 평균 연령은 64세를 넘는다. 기준(standard) 화학 요법으로 AML 치료를 받는 60세 이상의 환자들은 20% 보다 작은 완화율을 보인다. 또한, 혈액 질환(hematologic disorder) 또는 백혈병유발 화학

요법(leukemogenic chemotherapy)/방사선 치료(radiation therapy)가 선행된 후에 AML이 진행된 환자들도 유사하게 열악한 결과를 보인다.

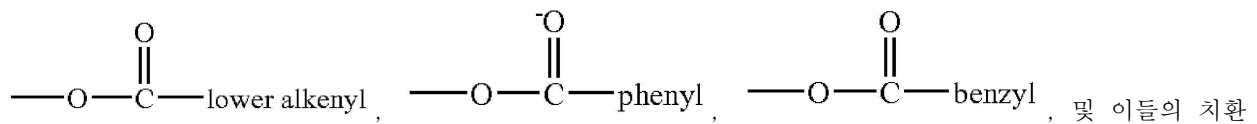
[0056] 포르볼은 디페르핀의 키글리안과의 천연의, 식물-유래의 폴리시클릭 알코올(polycyclic alcohol)이다. 이것은 1934년에, *Croton tiglium*의 종자에서 유래된 파두유의 가수분해 생성물에서 최초로 분리되었다. 이것은 대부분의 극성 유기 용매와 물에서 잘 용해된다. 포르볼의 에스테르는 하기의 화학식 I의 일반적인 구조를 가진다.



[0057]

[0058] 화학식 I

[0059] 상기 R₁ 및 R₂ 는 수소; $\text{---O---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C---alkyl}}$, 상기 알킬 그룹은 1 내지 15개의 탄소 원자를 포함하고,



유도체로 이루어진 그룹에서 선택되고, R₃ 는 수소, $\text{---O---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C---lower alkenyl}}$ 또는 이들의 치환 유도체일 수 있다.

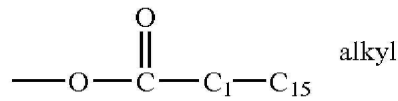
[0060] "저 알킬(lower alkyl)" 또는 "저 알케닐(lower alkenyl)"은 1-7 탄소원자를 포함하는 부분(moieties)을 의미할 수 있다. 상기 화학식 I의 화합물에서, 상기 알킬 또는 알케닐 그룹은 직쇄 또는 분쇄형(straight or branched chain)일 수 있다. 몇몇 실시예에서, R₁ 및 R₂ 중 어느 하나 또는 모두는 긴 체인(long chain) 탄소 부분이다(예를 들어, 화학식 I 은 데카노에이트 또는 미리스테이트임).

[0061] 상기 화학식의 상기 알킬, 알케닐, 페닐 및 벤질 그룹은 비치환되거나 할로젠, 바람직하게는, 클로린, 플루오린 또는 브로민; 니트로; 아미노 및 이와 유사한 타입의 라디칼로 치환된 것일 수 있다.

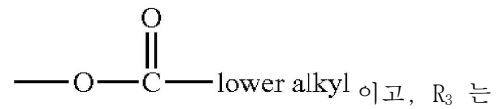
[0062] 포르볼 에스테르의 유기 및 합성 형태는, *croton tiglium*과 같은 약초 원천(herbal sources)으로부터의 추출물 또는 조제품을 포함하며, 이들은 본 발명의 실시예들에서 사용되는 포르볼 에스테르(또는 포르볼 에스테르 유사체, 연관 화합물 및/또는 유도체)를 포함하는 유용한 조성물에 해당된다. 본 발명의 실시예들에서 사용되는 유용한 포르볼 에스테르 및/또는 관련 화합물은 대체로 화학식 I로 표시되는 구조를 가질 것이다. 뿐만 아니라, 이러한 화합물들과 기능적으로 동등한 유사체, 복합체, 콘주게이트(conjugates), 및 유도체도 본 발명의 범위 내에서 당업자에 의해 인식될 것이다.

[0063] 더욱 구체적인 실시예에서, 상기 화학식 I 에 따른 예시적인 구조적 변형을 선택하여, HIV 및 AIDS 및/또는 종양성 질환을 예방 및/또는 치료하기 위한 유용한 후보 화합물을 제공할 수 있다. 이 때, R₁ 및 R₂ 중 적어도

하나는 수소 외의 다른 것이고, R₃는 수소, $\text{---O---}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C---lower alkenyl}}$ 및 이들의 치환 유도체로 이루어진 그룹에서 선택된 것이다. 또 다른 실시예에서, R₁ 및 R₂ 중 어느 하나는



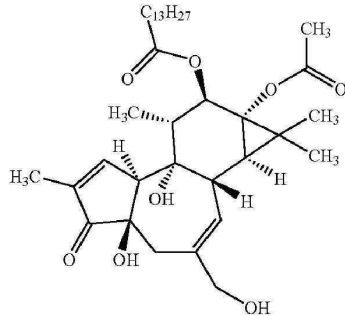
이고; R₁ 중 R₂ 나머지 하나는



수소이다.

[0064]

HIV 및 AIDS 및/또는 종양성 질환, 특히 AML과 같은 세포 변형성 질환을 치료하는데 유용한 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물의 일 실시예는, 하기 화학식 II로 나타낸 포르볼 12-미리스테이트-13-아세테이트(PMA 또는 12-O-테트라데카노일(tetradecanoyl)-포르볼-13-아세테이트 (TPA)로도 알려짐)에서 확인할 수 있다.



[0065]

[0066]

화학식 II

[0067]

본 발명의 추가적인 유용한 포르볼 에스테르 및 관련 화합물 및 상기 포물레이션 내의 유도체 및 방법은, 또 다른 조제학적으로 허용가능한 상기 화합물들의 활성 염, 뿐만 아니라 상기 화합물들의 활성 이성체, 광학이성질체, 다형체, 글리코실화된 유도체, 솔베이트, 수산화물, 및/또는 프로드러그를 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다. 본 발명의 유용한 포르볼 에스테르 및 관련 화합물 및 상기 포물레이션 내의 유도체 및 방법의 또 다른 예시적 형태는 포르볼 13-부티레이트; 포르볼 12-데카노에이트; 포르볼 13-데카노에이트; 포르볼 12,13-디아세테이트; 포르볼 13,20-디아세테이트; 포르볼 12,13-디벤조에이트; 포르볼 12,13-디부티레이트; 포르볼 12,13-디데카노에이트; 포르볼 12,13-디헥사노에이트; 포르볼 12,13-디프로피오네이트; 포르볼 12-미리스테이트; 포르볼 13-미리스테이트; 포르볼 12,13,20-트리아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-안젤레이트; 12-데옥시포르볼 13-안젤레이트 20-아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-이소부티레이트; 12-데옥시포르볼 13-이소부티레이트-20-아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-페닐아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-페닐아세테이트 20-아세테이트; 12-데옥시포르볼 13-테트라데카노에이트; 포르볼 12-티글리에이트 13-데카노에이트; 12-데옥시포르볼 13-아세테이트; 포르볼 12-아세테이트; 및 포르볼 13-아세테이트를 포함하되, 이에 한정되지 않는다.

[0068]

본 발명 내에서 세포 변형성 질환을 치료하는 조성물은, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물의 항-AIDS 유효량을 포함하는 HIV- 및 AIDS-치료 조성물을 포함하며, 이들은 포유동물 대상체 내에서 HIV, AIDS, 및/또는 기회적 감염을 포함하는 HIV-관련 증상의 치료 및/또는 예방에 효과적이다. 활성 화합물의 "항-HIV", "항-AIDS", 또는 "AIDS 치료" 유효량은, 하나 또는 다수의 단위 투여량 형태로, 치료적 개입(therapeutic intervention)의 특정 기간에 걸쳐, 대상체 내의 하나 이상의 AIDS 증상이 측정 가능하게 경감되는 것 및/또는 대상체 내의 하나 이상의 HIV 감염에 관련된 증상 또는 컨디션이 경감되는 것에 치료학적으로 효과적이다. 실시예 내의 본 발명의 상기 조성물은, HIV 감염에 취약한 인간 및 또 다른 포유동물 대상체의 AIDS의 증상 또는 다른 HIV-관련 컨디션을 경감시키는 치료 방법에 효과적이다.

[0069]

또한, 본 발명 내에서 세포 변형성 질환을 치료하는 조성물은, 화학식 I의 포르볼 에스테르 또는 유도체의 항-종양성 유효량을 포함하는 화학요법의 화합물을 포함할 수 있으며, 이는 포유동물 대상체 내에서 암에 의해 유발된 증상 또는 악성 종양의 유지 및 치료에 효과적이다. 활성 화합물의 "화학 요법의", "항-종양(항-종양)", "암 치료", "세포 사멸 유발(apoptosis inducing)", "완화 유발(remission inducing)", "완화 유지(remission maintaining)" 유효량은, 하나 또는 다수의 단위 투여량 형태로, 치료적 개입의 특정 기간에 걸쳐, 대상체 내의 하나 이상의 악성 종양이 측정 가능하도록 경감되는 것 및/또는 대상체 내의 하나 이상의 악성 종양에 관련된 증상 또는 컨디션이 경감되는 것에 치료학적으로 효과적이다. 실시예 내의 본 발명의 상기 조성물은 악성 종양에 취약한 인간 및 또 다른 포유동물 대상체의 종양성 질환 관련 컨디션의 증상을 경감시키는 치료 방법에 효과적이다.

[0070]

화학 요법 및 HIV 치료를 포함하는 세포 변형성 질환 치료에 대한, 본원 발명의 조성물은, 대체로 화학식 I의

포르볼 에스테르 화합물의 유효량 또는 단위 복용량 포함하며, 이는 안정성, 전달(delivery), 흡수, 반감기, 효능(efficacy), 약물동력학(pharmacokinetics), 및/또는 약력학(pharmacodynamics)을 향상시키거나, 부작용을 감소시키거나, 조제학적 이용에 또 다른 이점을 제공할 수 있는 하나 이상의 조제학적으로 허용가능한 캐리어(carriers), 첨가제(excipients), 비히클(vehicles), 유화제(emulsifiers), 안정제(stabilizers), 방부제(preservatives), 버퍼(buffers), 및/또는 또 다른 첨가제(additives)로 포물레이트될 수 있다. 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 또는 관련된 또는 유도체 화합물의 유효량(예를 들어, TPA 또는 TPA의 선택된 조제학적으로 허용가능한 염, 이성체, 광학이성질체, 솔베이트, 다형체 및/또는 프로드러그의 유효 농도/양을 포함하는 단위 복용량)은, 임상적 그리고 환자-특이적 인자에 따라, 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 인간을 포함하는 포유동물 대상체에 투여하기 위한 활성 화합물의 적절한 유효 단위 복용량은, 10 내지 1500 μ g, 20 내지 1000 μ g, 25 내지 750 μ g, 50 내지 500 μ g, 또는 150 내지 500 μ g의 범위일 수 있다. 몇몇 실시예에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 또는 관련된 또는 유도체 화합물의 세포 변형성 질환을 치료하는 유효 복용량은, 더 좁은 범위, 예를 들어, 10 내지 25 μ g, 30 내지 50 μ g, 75 내지 100 μ g, 100 내지 250 μ g, 또는 250 내지 500 μ g의 범위 내에서 선택될 수 있다. 이러한 그리고 또 다른 유효 단위 복용량은 한 번의 복용, 또는 매일, 매주 또는 매달마다 여러 번의 복용의 형태로 투여될 수 있다. 예를 들어, 1 내지 5, 또는 2 내지 3을 포함하는 복용 계획으로, 매일, 매주, 또는 매달 투여될 수 있다. 일 실시예에서, 10 내지 30 μ g, 30 내지 50 μ g, 50 내지 100 μ g, 100 내지 250 μ g, 또는 250 내지 500 μ g의 복용량은, 하루에 1, 2, 3, 4, 또는 5 회 투여될 수 있다. 더욱 구체적인 실시예에서, 50 내지 100 μ g, 100 내지 250 μ g, 250 내지 400 μ g, 또는 400 내지 600 μ g의 복용량은, 하루에 한 번 또는 두 번 투여될 수 있다. 또 다른 실시예에서, 50 내지 100 μ g, 100 내지 250 μ g, 250 내지 400 μ g, 또는 400 내지 600 μ g의 복용량은, 하루 걸러서(every other day) 투여될 수 있다. 또 다른 실시예에서, 복용량은 체중에 기초하여 계산되고, 예를 들어, 하루에 약 0.5 μ g/sq.m 내지 약 100 μ g/sq.m, 하루에 1 μ g/sq.m 내지 약 75 μ g/sq.m, 하루에 1 μ g/sq.m 내지 약 50 μ g/sq.m, 하루에 2 μ g/sq.m 내지 약 50 μ g/sq.m, 하루에 2 μ g/sq.m 내지 약 30 μ g/sq.m, 또는 하루에 3 μ g/sq.m 내지 약 30 μ g/sq.m의 양이 투여될 수 있다.

[0071] 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물의 세포 변형성 질환의 치료 유효량을 포함하는 본원 발명의 조성물의 전달 모드, 시간, 양 (AIDS 치료, HIV 예방, HIV 치료, HIV 저장고 활성화, Th1 사이토카인 증가, ERK 인산화반응 유발, 화학 요법의, 항-종양, 암 치료, 완화 유발, 완화 유지, 세포 사멸 유발 유효량)은, 몸무게, 나이, 성별, 및 개인의 컨디션과 같은 인자에 종속되는 개체 근거(individual basis), 세포 변형성 질환 및/또는 관련된 증상의 심각성, 상기 투여가 예방적인 것인지 아니면 치료적인 것인지, 및 약물 전달, 흡수, 반감기를 포함하는 약물동력학, 및 효능에 영향을 주는 것으로 알려진 또 다른 인자들에 근거하여 일반적으로 조절될 것이다.

[0072] 본원 발명의 즉각의(instant) 세포 변형성 질환 치료(또는, "AIDS 치료", "HIV 치료", "HIV 예방", "HIV 저장고 활성화", 또는 "Th1 사이토카인 증가", "ERK 인산화반응 유발", "화학 요법의", "항-종양", "암 치료", "완화 유발", "완화 유지", "세포 사멸 유발", "완화 유발", "완화 유지") 포물레이션을 위한 유효 복용 또는 수회-복용 치료 계획을 일반적으로 선택하여, 대상체 내에서 AIDS 또는 암과 같은 종양성 질환 및 관련된 기회적 질환을 포함하는 세포 변형성 질환의 증상을 실질적으로 예방하거나 경감시키는 것, 및/또는 대상체 내에서 AIDS 또는 암과 같은 종양성 질환과 연관된 하나 이상의 증상을 실질적으로 예방하거나 경감시키는 것에 필수적이고 충분한 최소 복용 계획에 접근시킨다. 복용 및 투여 프로토콜은 며칠 또는 일 주 이상 또는 몇 년의 코스에 걸친 반복 복용 치료를 종종 포함할 것이다. 또한, 유효 치료 계획은, 며칠, 몇주, 몇달 또는 몇 년까지의 코스에 걸쳐 지속되어 하루 또는 하루에 멀티-도즈(multi-dose)를 투여하는 예방 복용량을 포함할 수 있다.

[0073] 다양한 분석 및 모델 시스템에 용이하게 적용하여, 세포 변형성 질환 치료에 대한 치료학적 효과를 판단할 수 있다. 예를 들어, HIV 또는 AIDS 치료에 대한 효과는, 당업자에게 알려진 다른 효과 판단 방법 중에서, 바이러스 부하의 감소, CD4 수의 증가, CD3 수의 증가, IL-2 및 IFN 생산의 증가, IL-4 및 IL-10 생산의 감소, 및 AIDS의 증상의 감소 또는 소멸로 나타낼 수 있다.

[0074] 본 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 예를 들어, HIV 항체, 바이러스 부하, CD4 레벨, CD8 수, 및 CD3 수에 대한 혈액 테스트를 통해 증명될 수 있다. CD4의 정상적인 레벨은, 일반적으로 마이크로리터(microliter) 당 600 및 1200사이이거나, 림프구의 32 내지 68%일 수 있다. 350 보다 작은 CD4수를 가지는 개체는 약화된 면역 시스템을 가진다. 200 보다 작은 CD4수를 가지는 개체는 AIDS에 걸린 것으로 간주한다. 건강한 개체의 CD8 레벨은 일반적으로 마이크로리터 당 150에서 1000 사이이다. 건강한 개체의 CD3 레벨은 일반적으로 마이크로리터 당 약 885 내지 2270사이이다. CD3, CD4 및 CD8 세포의 레벨은, 예를 들어 유세포측정기(flow cytometry)

를 이용하여 측정할 수 있다. 본원 발명의 조성물의 유효량은, CD3, CD4 및 CD8 양성 세포의 레벨을 적어도 10%, 20%, 30%, 50% 또는 더 큰 감소까지, 75 내지 90%, 또는 95% 또는 그 이상까지 증가시킬 수 있다. 또한, 유효량은 개인의 CD3, CD4 및 CD8 프로파일(profile)을 당단백질(glycoprotein)의 각 타입에 대한 최적 카테고리 이동시킬 수 있다.

[0075] 개체는 베타₂-마이크로글로불린(beta₂-microglobulin; beta₂-M) 테스트를 이용하여 평가할 수 있다. 베타₂-마이크로글로불린은, 세포가 죽을 때 혈액 내로 분비되는 단백질이다. 베타₂-M 혈액 레벨의 증가를 이용하여, AIDS의 진행을 측정할 수 있다. 본 발명의 조성물의 유효량은 베타₂-M의 양이 증가하는 것을 중지시키거나 감소시킬 수 있도록 할 것이다.

[0076] 또한, 유효성은 전혈구측정(complete blood count; CBC)을 이용하여 증명할 수 있다. CBC에서 취득된 측정치는 백혈구수(white blood count; WBC), 적혈구수(red blood count; RBC), 적혈구(red cell) 분포 폭, 헤마토크리트(hematocrit), 및 헤모글로빈의 양을 포함한다. CBC에서 특정 AIDS-관련 표시는 낮은 헤마토크리트, 혈소판 수의 급감, 및 낮은 레벨의 호중구를 포함한다. 본 발명의 조성물의 유효량은, 전혈구수에서 측정된 레벨을 10%, 20%, 30%, 50% 또는 더 큰 증가까지, 75 내지 90%, 또는 95% 또는 그 이상까지 증가시킬 것이다. 유효량은 개인의 혈 단백질(blood protein)을 단백질의 각 타입에 대한 최적 카테고리로 이동시킬 것이다.

[0077] 또한, 본원 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 예를 들어, 구강 병변, 피로감, 피부 아구창, 발열, 식욕 저하, 설사, 아프타성 궤양, 흡수장애, 혈소판 감소증, 체중 감소, 빈혈, 및 림프절 증대를 포함하되, 이에 한정되지 않는 HIV 또는 AIDS의 증상의 감소로 나타낼 수 있다.

[0078] 또한, 본원 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 미코박테리움 아비움 콤플렉스, 살로넬라증, 매독, 신경매독, 결핵 (TB), 바실러리 안지오마토시스, 아스페르길루스증, 칸디다증, 콕시디오이데스 진균증, 리스테리아증, 골반 염증, 버킷 림프종, 크립토코쿠스 수막염, 히스포플라스마증, 카포시 육종, 림프종, 시스템성 비-호지킨 림프종 (NHL), 프라이머리 CNS 림프종, 크립토스포리디움증, 이소스포라증, 미포자충증, 뉴모시스티스 카리니페럼 (PCP), 톡소플라스마증, 사이토메갈로바이러스 (CMV), 간염, 헤르페스 심플렉스, 헤르페스 조스터, 인간 파필로마 바이러스 (HPV, 곤지름, 자궁 경부암), 몰루스쿰 콘타기오수, 구강 백반 (OHL), 및 진행성 다발초점성 백질뇌병증(PML) 등의 2차 또는 기회적 조건에 대한 민감성 및 심각성의 감소로 나타낼 수 있다.

[0079] 나아가, 유효성은 HIV-감염 대상체 내에서 탐지가능한 HIV의 감소; 정상 T 세포수의 유지; 또는 정상 p24 항원 레벨의 유지 등으로 나타낼 수 있다.

[0080] 또한, 종양성 질환의 치료에 대한 유효성은 수 많은 방법들, 예를 들어, ECOG 수행도(ECOG Performance Scale), 카르노프스키 수행도(Karnofsky Performance Scale), 혈구의 현미경 조사, 골수 천자(bone marrow aspiration) 및 생체검사(biopsy), 세포유전 분석(cytogenetic analysis), 생체검사, 면역표현형분석(immunophenotyping), 혈액의 화학적 분석(blood chemistry studies), 전 혈구 분석, 림프절 생체검사, 말초 혈액 도말(peripheral blood smear), 종양 또는 레전(lesion)의 시각적 분석(visual analysis), 또는 당업자에게 알려진 악성 종양 및 종양의 진행에 대한 평가 및/또는 진단하는 이 외의 또 다른 방법 등에 의해 측정될 수 있으며, 이에 한정되지 않는다.

[0081] 예를 들어, 혈액 종양/골수 질환 치료에 있어서, 본 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 예를 들어, 절대 호중구수(absolute neutrophil count; ANC)를 이용하여 평가할 수 있다. 정상적인 ANC는 1,500 내지 8,000/mm³ 사이이다. 혈액 종양/골수 질환을 앓고 있는 개체는 1500/mm³ 보다 낮은 ANC를 빈번하게 가지고, 심지어 500/mm³ 보다 낮은 레벨에 이를 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법의 유효량은, 개체의 ANC를 10%, 20%, 30%, 50% 또는 더 큰 증가까지, 75 내지 90%, 또는 95% 또는 그 이상까지 증가시킬 것이다. 유효량은 ANC이 1500/mm³를 넘도록 증가시킬 수 있다.

[0082] 또한, 혈액 종양/골수 질환 치료에 있어서, 본 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 예를 들어, 혈소판 수를 이용하여 평가할 수 있다. 혈소판 수는 정상적으로 마이크로 리터($\times 10^{-6}$ /Liter) 당 150,000 내지 450,000 혈소판 사이이다. 혈액 종양/골수 질환을 앓고 있는 개체는 마이크로 리터당 100,000 미만의 혈소판 수를 가질 수 있다. 본 발명의 조성물 및 방법의 유효량은, 개체의 혈소판 수를 10%, 20%, 30%, 50% 또는 더 큰 증가까지, 75 내지 90%, 또는 95% 또는 그 이상까지 증가시킬 것이다. 유효량은 혈소판 레벨이 마이크로 리터당 100,000을 넘도록 증가시킬 수 있다.

- [0083] 혈액 중양/골수 질환 치료에 있어서, 본 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 예를 들어, 골수아세포의 수를 측정하여 평가할 수 있다. 골수아세포는, 정작적으로 골수 내에서 세포의 5% 보다 적게 나타나나, 순환 혈액(circulating blood)에서는 존재하지 않아야 한다. 본 발명의 조성물 및 방법의 유효량은 골수아세포의 수를 10%, 20%, 30%, 50% 또는 그 이상까지, 75 내지 90%, 또는 96% 또는 그 이상까지 감소시킬 것이다. 유효량은 골수아세포를 5% 보다 작도록 감소시킬 수 있다.
- [0084] 또한, 혈액 중양/골수 질환 치료에 있어서, 본 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 아우에르 소체(Auer rods)의 존재에 대한 골수아세포를 조사함으로써 평가할 수 있다. 본 발명의 조성물의 유효량은 육안으로 보이는 아우에르 소체의 수를 10%, 20%, 30%, 50% 또는 그 이상까지, 75 내지 90%, 또는 96% 또는 그 이상까지 감소시켜 아우에르 소체의 완전한 제거에 이를 때까지 감소시킬 것이다.
- [0085] 본 발명의 조성물 및 방법의 유효성은, 빈혈; 만성 피로; 코, 잇몸, 및 피부 내의 출혈과 같은 과도하거나 빈번한 출혈; 빈번한 타박상, 특히, 외관상 원인이 없는 타박상; 숨가쁨; 점상출혈; 회귀열; 잇몸 부음; 상처의 더딘 치유; 골 및 관절 불편감; 재발 간염; 체중 감소; 가려움증; 수면중 식은땀; 림프절 종창; 발열; 복부 통증 및 불편감; 시력 장애; 기침; 식욕 저하; 흉부 통증; 목넘김 곤란; 얼굴, 목 및 상지부의 종창; 특히, 야간에, 잦은 배뇨 욕구; 배뇨 시작 또는 배뇨 제지 곤란; 약하거나 중단된 요 흐름; 배뇨시 통증 또는 작열감; 발기 곤란; 사정시 통증; 소변 또는 정액 내 혈액; 허리, 둔부, 또는 상부 대퇴부의 잦은 통증 또는 뻣뻣함; 및 허약 등을 포함하되, 이에 한정되지 않는 중앙성 질환을 앓는 대상체의 증상의 감소로 나타낼 수 있다.
- [0086] 본 발명에 개시된 지시(indicated) 컨디션 각각에 대하여, 대상체 내의 세포 변형성 질환, 또는 관련된 질환 또는 컨디션에 의한 또는 연관된 하나 이상의 증상에 대하여, 플라시보-치료(placebo-treated) 또는 다른 적절한 대조 대상체와 비교하여 테스트 대상체는 또는 그 이상까지의 감소, 75 내지 90%, 또는 96% 또는 그 이상까지의 감소를 나타낼 것이다.
- [0087] 본 발명의 또 다른 관점에서, 결합적인(combinatorial) 세포 변형성 질환 치료(AIDS 치료, HIV 예방, HIV 치료, HIV 저장소 활성화, Th1 사이토카인 증가, ERK 인산화반응 유발, 세포 사멸 유발, 화학 요법의, 항-중양, 암 치료, 완화 유발, 완화 유지) 포물레이션 및 대등한 투여방법을 제공하되, 이들은 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물의 유효량과, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물과 결합적으로 포물레이트되거나 대응하게 투여되는 하나 이상의 2차 또는 부속적인 약물에 적용되어, 결합된, 복합-활성(multi-active) 세포 변형성 질환을 치료하는 조성물 또는 대등한 치료 방법을 수득한다.
- [0088] 본 발명에서 예시적인 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은, 화학식 I의 포르볼 에스테르를 선택된 결합 포물레이션 또는 대등한 치료 계획에서, 목적된 (또는 연관된) 질환, 컨디션 및/또는 증상의 치료 또는 예방에 유용한 하나 이상의 2차 항-AIDS 약물, 또는 하나 이상의 부속 치료 약물과 결합하여 적용한다. 본원 발명의 대부분의 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법에 대하여, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 또는 관련 또는 유도체 화합물을 하나 이상의 2차 또는 부속 치료 약물과 결합되어 포물레이트되거나 대응하게 투여하여, 대상체 내에서 HIV/AIDS 및/또는 기회적 또는 2차 질환 또는 컨디션의 하나 이상의 증상을 치료하는데 결합적으로 효과적이거나 대응하게 유용한 결합 포물레이션 또는 대등한 치료 방법을 획득한다. 본 발명에서 예시적인 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을, 예를 들어, 사퀴나비르, 인디나비르, 리토나비르, 넬피나비르, 아타자나비르, 다루나비르, 포삼프레나비르, 티프라나비르 및 암프레나비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 프로테아제 억제제; 지도부딘, 디다노신, 스타부딘, 라미부딘, 잘시타빈, 엠트리시타빈, 테노포비르 디소프록실 푸마레이트, AVX754 및 아바카비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 뉴클레오사이드 역전사 억제제; 네바리핀, 델라비르딘, 칼라놀리드 A, TMC125 및 에파비렌즈를 포함하되, 이에 한정되지 않는 비-뉴클레오사이드 역전사 억제제; 에파비렌즈/엠트리시타빈/테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 라미부딘/지도부딘, 아바카비르/라미부딘, 아바카비르/라미부딘/지도부딘, 엠트리시타빈/테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 술파메톡사졸/트리메토프림, 및 로피나비르/리토나비르를 포함하되 이에 한정되지 않는 콤비네이션 약물; 엔푸비르티드, AMD070, BMS-488043, 포지부딘 티독실, GSK-873,140, PRO 140, PRO 542, 켈티드 T, SCH-D, TNX-355, 및 UK-427, 857을 포함하되, 이에 한정되지 않는 유입 및 융합 억제제; 아시클로비르, 아데포비르 디피복실, 알테스루킨, 암포테리신 b, 아시스로마이신, 칼슘 하이드록실아파타이트, 클라리스로마이신, 독소루비신, 드로나비롤, 엔테카비르, 에포에틴 알파, 에토포시드, 플루코나졸, 간시클로비르, 이뮤노글로불린, 인터페론 알파-2, 이소니아지드, 이트라코나졸, 메게스트롤, 파클리탁셀, 페그인터페론 알파-2, 펜타미딘, 폴리-1-락티산, 리바비린, 리파부틴, 리팜핀, 소마트로핀, 테스토스테론, 트리메트렉세이트, 및 발간시클로비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 AIDS 및 HIV와 연관된 또 다른 컨디션 및

기회적 감염을 위한 치료제; GS 9137, MK-0518를 포함하되 이에 한정되지 않는 인터그라제 억제제; BMS-378806, C31G, 카르보폴 974P, 카라지난, 셀룰로오스 술페이트, 시아노비린-N, 텍스트란 술페이트, 히드록시 에틸 셀룰로오스, PRO 2000, SPL7013, 테노포비르, UC-781 및 IL-2를 포함하되 이에 한정되지 않는 살균제 중에서 선택된 하나 이상의 2차 또는 부속 치료 약물과 결합하여 적용한다.

[0089]

또 다른 예시적인 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은, 화학식 I의 포르볼 에스테르를 선택된 결합 포물레이션 또는 coordinate 치료 계획에서, 목적된 (또는 연관된) 질환, 컨디션 및/또는 증상의 치료 또는 예방에 유용한 하나 이상의 2차 항-종양 약물, 또는 하나 이상의 부속 치료 약물과 결합하여 적용할 수 있다. 본원 발명의 대부분의 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법에 대하여, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 또는 관련 또는 유도체 화합물을 하나 이상의 2차 또는 부속 치료 약물과 결합되어 포물레이트되거나 대등하게 투여하여, 대상체 내에서 종양성 질환 및 2차 질환 또는 컨디션의 하나 이상의 증상을 치료하는데 결합적으로 효과적이거나 대등하게 유용한 결합 포물레이션 또는 대등한 치료 방법을 획득한다. 본 발명에서 예시적인 결합 포물레이션 및 대등한 치료 방법은, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을, 예를 들어, 화학 요법의 약물, 항-염증성 약물, 독소루비신, 비타민 D3, 시타라빈, 시토신 아라비노시드, 다우노루비신, 시클로포스파미드, 겐투주맙 오조가미신, 이다루비신, 메르캅토포린, 미톡산트론, 티오구아닌, 알데스루킨, 아스파라기나제, 카르보플라틴, 에토포시드 포스페이트, 플루다라빈, 메토타렉세이트, 에토포시드, 텍사메타손, 및 클로린 마그네슘 트리살리실레이트 중에서 선택된 하나 이상의 2차 또는 부속 치료 약물과 결합하여 적용할 수 있다. 또한, 부속 또는 2차 치료는 방사선 치료, 호르몬 치료 및 수술 등을 이용할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다.

[0090]

몇몇 실시예에서, 본 발명은 세포 변형성 질환 치료 (AIDS 치료, HIV 예방, HIV 치료, HIV 저장소 활성화, Th1 사이토카인 증가, ERK 인산화반응 유발, 세포 사멸 유발, 화학 요법의, 항-종양, 암 치료, 완화 유발, 완화 유지) 포물레이션을 제공하되, 이는 세포 변형성 질환 치료 활성을 가지는 하나 이상의 부속적 약물 및 포르볼 에스테르를 포함한다. 이러한 결합 포물레이션 내에서, 세포 변형성 질환 치료 활성을 가지는 하나 이상의 부속적 약물 및 화학식 I의 포르볼 에스테르는, 세포 변형성 질환 치료 (AIDS 치료, HIV 예방, HIV 치료, HIV 저장소 활성화, Th1 사이토카인 증가, 세포 사멸 유발, ERK 인산화반응 유발, 화학 요법의, 항-종양, 암 치료, 완화 유발, 완화 유지) 유효량 내의 결합 포물레이션 내에, 단독으로 또는 결합하여 존재할 것이다. 몇몇 실시예에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 및 비-포르볼 에스테르 약물은 세포 변형성 질환 치료량 (즉, 대상체 내에서 검출가능한 증상 완화를 단독으로 유도할 단독 복용량(singular dosage)) 내에 각각 존재할 것이다. 또는, 상기 결합 포물레이션은, 서브-치료의 단독 복용량에서 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 및 비-포르볼 에스테르 약물 중 어느 하나 또는 둘 모두를 포함할 수 있으며, 둘 모두의 약물을 포함하는 상기 결합 포물레이션은, 세포 변형성 질환 또는 컨디션 증상의 경감 반응을 나타내는데 전체적으로 (collectively) 유효한 두 약물의 결합 복용량의 특징을 가진다. 따라서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 및 비-포르볼 에스테르 약물 중 어느 하나 또는 둘 모두는, 서브-치료 복용량에서, 투여 프로토콜로 투여되거나, 포물레이션 내에 존재할 수 있다. 그러나, 포물레이션 또는 방법 내에서 전체적으로, 이들은 대상체 내에서 세포 변형성 질환의 증상에서 탐지가능한 감소를 나타낸다. 예를 들어, 몇몇 실시예에서, 결합 포물레이션은, 또 다른 콤비네이션 중에서, 포르볼 에스테르와 결합된 고 활성 항바이러스 요법 프로토콜(HAART 프로토콜)로부터의 하나 이상의 화합물을 포함할 수 있다. 또 다른 결합 포물레이션은, 예를 들어, 포르볼 에스테르 및/또는 AIDS의 기회적 감염 치료에 효과적인 화합물뿐만 아니라 HAART 프로토콜로부터의 화합물을 포함할 수 있다. 또 다른 몇몇 실시예에서, 결합 포물레이션은 하나 이상의 추가적인 화학 요법의 약물을 포함할 수 있다.

[0091]

본 발명의 동등한 투여 방법을 실행하기 위해, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을, 본 발명에서 고려된 하나 이상의 2차 또는 부속 치료 약물로, 동등한 치료 프로토콜에서 동시 또는 순차로 투여할 수 있다. 따라서, 몇몇 실시예에서, 화합물은 상술한 바와 같이, 별개의 포물레이션 또는 결합 포물레이션을 이용하여 (즉, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 또는 관련된 또는 유도체 화합물, 및 비-포르볼 에스테르 치료 약물을 모두 포함), 본 발명에서 고려된 비-포르볼 에스테르 약물, 또는 다른 어떤 2차 또는 부속 치료 약물과 함께 동등하게 투여된다. 이러한 동등한(coordinate) 투여는, 동시 또는 어떤 순서든지(in either order) 순차로 수행될 수 있으며, 단 하나 또는 둘 모두(또는 전부)의 활성 치료 약물(active therapeutic agents)이 이들의 생물학적 활성을 개별적으로 및/또는 종합적으로 발휘하는 동안의 기간을 가질 수 있다.

[0092]

본 발명의 일 실시예에서, 이러한 대등한 치료 방법은, 예를 들어, 다양한 고 활성 항바이러스 요법 프로토콜(HAART 프로토콜)로부터 유래되거나 이에 뒤따르는 것일 수 있고, 또 다른 콤비네이션 중에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르와 함께 두 개의 뉴클레오사이드 유사 역전사 억제제에 하나 이상의 프로테아제 억제제 또는 비-뉴클레오사이드 유사 역전사 억제제를 더하는 등의 계획을 포함할 수 있으며, 이에 한정되지 않는다. 또 다른 대등한 치료 방법은, 예를 들어, 포르볼 에스테르 및/또는 기회적 감염을 위한 치료제뿐만 아니라 프로토

콜로부터의 화합물을 포함할 수 있다. 이러한 대등한 치료 방법 모두의 특징적인 관점은, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물이 적어도 몇몇의 활성을 나타내는 것이며, 이것은 상보적인(complementary) AIDS 증상 감소와 관련된 좋은(favorable) 임상적 반응, 또는 2차 또는 부속 치료 약물에 의해 제공되는 뚜렷한 임상적 반응을 획득한다. 종종, 2차 또는 부속 치료 약물을 포함하는 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물의 상기 대등한 투여는, 대상체 내에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물, 또는 2차 또는 부속 치료 약물의 단독 투여시 나타난 치료 효과를 넘어서는 향상된 치료 또는 예방 결과를 획득할 것이다. 이러한 능력은 직접적 효과, 뿐만 아니라 간접적 효과 모두에 대하여 예상된다.

[0093] 몇몇 실시예에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물은, 예를 들어, 사퀴나비르, 인디나비르, 리토나비르, 넬피나비르, 아타자나비르, 다루나비르, 포삼프레나비르, 티프라나비르 및 암프레나비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 프로테아제 억제제; 지도부딘, 디다노신, 스타부딘, 라미부딘, 잘시타빈, 엠트리시타빈, 테노포비르 디소프록실 푸마레이트, AVX754 및 아바카비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 뉴클레오사이드 역전사 억제제; 네바리핀, 텔라비르딘, 칼라놀리드 A, TMC125 및 에파비렌스를 포함하되, 이에 한정되지 않는 비-뉴클레오사이드 역전사 억제제; 에파비렌스/엠트리시타빈/테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 라미부딘/지도부딘, 아바카비르/라미부딘, 아바카비르/라미부딘/지도부딘, 엠트리시타빈/테노포비르 디소프록실 푸마레이트, 술파메톡사졸/트리메토프림, 및 로피나비르/리토나비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 콤비네이션 약품; 엔푸비르티드, AMD070, BMS-488043, 포지부딘 티독실, GSK-873,140, PRO 140, PRO 542, 켈티드 T, SCH-D, TNX-355, 및 UK-427, 857를 포함하되, 이에 한정되지 않는 유입 및 융합 억제제; 아시클로비르, 아테포비르 디피복실, 알테스루킨, 암포테리신 b, 아시스로마이신, 칼슘 하이드록시아파타이트, 클라리스로마이신, 독소루비신, 드로나비롤, 엔테카비르, 에포에틴 알파, 에토포시드, 플루코나졸, 간시클로비르, 이뮤노글로불린, 인터페론 알파-2, 이소니아지드, 이트라코나졸, 메게스트롤, 파클리탁셀, 페그인터페론 알파-2, 펜타미딘, 폴리-1-락틱산, 리바비린, 리파부틴, 리팜핀, 소마트로핀, 테스토스테론, 트리메트렉세이트, 및 발간시클로비르를 포함하되, 이에 한정되지 않는 AIDS 및 HIV 에 연관된 또 다른 컨디션 및 기회적 감염을 위한 치료제; GS 9137, MK-0518를 포함하되, 이에 한정되지 않는 인터그라제 억제제; BMS-378806, C31G, 카르보폴 974P, 카라지난, 셀룰로오스 술페이트, 시아노비린-N, 텍스트란 술페이트, 히드록시에틸 셀룰로오스, PRO 2000, SPL7013, 테노포비르, UC-781 및 IL-2를 포함하되, 이에 한정되지 않는 살균제로부터 선택된 하나 이상의 2차 HIV 치료 약물, 또는 또 다른 개시된 또는 부속 치료 약물과 함께 대등하게 투여될 것이다(동시 또는 순차로, 결합된 또는 별개의 포물레이션으로).

[0094] 또 다른 실시예에서, 이러한 대등한 치료 방법은 예를 들어, 다양한 화학 요법의 프로토콜에서 유래되거나 이에 뒤따르는 것일 수 있다. 또 다른 대등한 치료 방법은 예를 들어, 종양성 질환의 부가적인 증상을 위한 치료제 및/또는 포르볼 에스테르를 포함할 수 있다. 이러한 대등한 치료 방법 모두의 특징적 관점은, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물이 적어도 몇몇의 활성을 나타내는 것이며, 이것은 상보적인 종양성 질환 증상 감소와 관련된 좋은 임상적 반응, 또는 2차 또는 부속 치료 약물에 의해 제공되는 뚜렷한 임상적 반응을 획득한다. 종종, 2차 또는 부속 치료 약물을 포함하는 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물의 상기 대등한 투여는, 대상체 내에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물, 또는 2차 또는 부속 치료 약물의 단독 투여시 나타난 치료 효과를 넘어서는 향상된 치료 또는 예방 결과를 획득할 것이다. 이러한 능력은 직접적 효과, 뿐만 아니라 간접적 효과 모두에 대하여 예상된다.

[0095] 몇몇 실시예에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물은, 하나 이상의 2차 암 치료 약물, 또는 또 다른 개시된 또는 부속 치료 약물, 예를 들어, 독소루비신, 비타민 D3, 시타라빈, 시토신 아라비노시드, 다우노루비신, 시클로포스파미드, 겐투주맙 오조가미신, 이다루비신, 메르캅토프린, 미톡산트론, 티오구아닌, 알테스루킨, 아스파라기나제, 카르보플라틴, 에토포시드 포스페이트, 플루다라빈, 메토포렉세이트, 에토포시드, 텍사메타손, 및 클로린 마그네슘 트리살리실레이트와 함께 대등하게 투여될 것이다(동시 또는 순차로, 결합된 또는 별개의 포물레이션으로).

[0096] 상술한 바와 같이, 본 발명에서 고려된 다양한 실시예들 모두에서, 세포 변형성 질환 치료 방법 및 포물레이션은 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 대상체 화합물의 조제학적으로 허용가능한 염, 술페이트, 이성체, 광학이성질체, 다형체, 술페이트, 수산화물, 및/또는 프로드러그 중 어느 하나 또는 이의 조합을 포함하는 다양한 형태의 어떠한 것으로도 적용할 수 있다. 본 발명의 몇몇 실시예에서, TPA는 일 예로서 포물레이션 및 방법에 적용된다.

[0097] 본 발명의 조제학적 조성물은 이들의 의도된 치료 또는 예방의 목적을 달성하기 위한 어떠한 방식으로 투여될 수 있다. 본 발명의 조성물에 대한 투여의 적절한 경로는, 전통적인 전달 경로, 기구 및 정맥내

(intravenous), 근육내(intramuscular), 복막내(intraperitoneal), 척수내(intraspinal), 경막내(intrathecal), 뇌실내(intracerebroventricular), 동맥내(intraarterial), 피하(subcutaneous) 및 비강내(intranasal) 경로 등을 포함하되, 이에 한정되지 않는 주사 가능한 방법을 포함하는 방법을 포함하며, 이에 한정되지 않는다.

[0098] 또한, 본 발명의 상기 조성물은 적용되는 투여의 특정 모드에 적합한 조제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물의 복용 형태는 상술한 바와 같이, 복용 단위의 조제에 적합하도록 조제학적 혼합 분야에서 알려진 첨가제를 포함한다. 이러한 첨가제는, 바인더(binders), 필러(fillers), 윤활제, 유화제, 현탁제(suspending agents), 감미제(sweeteners), 향료(flavorings), 방부제, 버퍼, 습윤제(wetting agents), 분해제(disintegrants), 발포제(effervescent agents) 및 또 다른 전통적인 첨가제 및 첨가물을 포함하며, 이에 한정되지 않는다.

[0099] 경우에 따라서, 본 발명의 조성물은 저속 분비(slow release) 캐리어, 친수성(hydrophilic) 등의, 저속 분비 폴리머(polymer)를 사용하여 분비 형태를 조절하며 투여할 수 있다. 본 발명에서, 예시적으로 조절되는 분비 약물은, 약 100 cps 내지 약 100,000 cps 범위의 점도를 가지는 히드록시프로필 메틸 셀룰로오스(hydroxypropyl methyl cellulose), 또는 콜레스테롤(cholesterol)과 같은 또 다른 생체적합성 매트릭스(biocompatible matrices)를 포함하며, 이에 한정되지 않는다.

[0100] 본 발명의 화학식 I의 포르볼 에스테르 조성물 몇몇은, 비경구적 투여(parenteral administration), 예를 들어 정맥내, 근육내, 피하 또는 복막내 투여를 위해 설계될 수 있으며, 본 발명의 또 다른 고려된 조성물들과 같이, 포물레이션이 포유동물 대상체의 혈액과 등장성(isotonic)이 되도록하는 항-산화제(anti-oxidants), 버퍼, 박테리오스타트(bacteriostats) 및/또는 용질(solutes)을 선택적으로 포함하는 수성(aqueous) 및 비-수성 멸균 주사 용액(sterile injectable solutions); 및 현탁제 및/또는 농화제(thickening agents)를 포함할 수 있는 수성 및 비-수성 멸균 서스펜션(suspensions)을 포함할 수 있다. 상기 포물레이션은 단위-복용 또는 멀티-복용 컨테이너(container)로 나타낼 수 있다. 본 발명의 부가적인 조성물 및 포물레이션은, 비경구적 투여에 따른 확장된 분비를 위한 폴리머를 포함할 수 있다. 비경구적 조제(parenteral preparation)는, 이러한 투여에 적합한 액제(solutions), 분산제(dispersions) 또는 에멀전(emulsions) 일 수 있다. 또한, 상기 대상 약물(subject agents)은, 비경구적 투여에 따른 확장된 분비를 위한 폴리머와 포물레이트될 수 있다. 조제학적으로 허용가능한 포물레이션 및 성분은, 일반적으로 무균이거나 쉽게 멸균될 수 있고(sterile or readily sterilizable), 생물학적으로 활성이 없으며(biologically inert), 쉽게 투여할 수 있다. 이러한 폴리머 물질은 조제학적 혼합 분야에서 당업자에게 알려진 것이다. 비경구적 조제는, 일반적으로, 버퍼 약물 및 방부제, 그리고 주사가능한 유체, 예를 들어, 물, 생리적 식염수(physiological saline), 평형 염액(balanced salt solutions), 수성 덱스트로스(dextrose), 글리세롤(glycerol) 또는 이와 유사한 것 등의 조제학적으로, 생리학적으로 허용가능한 것을 포함한다. 즉석의(Extemporaneous) 주사 용제, 에멀전 및 서스펜션은, 앞서 개시된 바와 같이, 멸균 파우더(sterile powders), 미립(granules) 및 정제(tablets)로부터 조제할 수 있다. 바람직한 단위 복용 포물레이션은, 활성 성분의, 상술한 바와 같이, 하루 복용량 또는 단위, 하루 서브-복용량, 또는 그의 적절한 분할을 포함하는 것이다.

[0101] 더욱 구체적인 실시예에서, 본 발명의 조성물은, 마이크로캡슐(microcapsules), 마이크로파티클(microparticles), 또는 마이크로스피어(microspheres) 내에, 예를 들어, 코아세르베이션 기술(coacervation techniques) 또는 계면 중합(interfacial polymerization)에 의해 조제된, 예를 들어, 히드록시메틸셀룰로오스(hydroxymethylcellulose) 또는 젤라틴(gelatin)-마이크로캡슐 및 폴리(메틸메타실레이트(methylmethacrylate)) 마이크로캡슐, 각각에; 콜로이드 약물 전달 시스템(colloidal drug delivery systems) (예를 들어, 리포솜(liposomes), 알부민(albumin) 마이크로스피어, 마이크로에멀전, 나노-파티클 및 나노캡슐) 내에; 또는 마크로에멀전(macroemulsions) 내에 전달을 위해 캡슐화된 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 포함할 수 있다.

[0102] 상술한 바와 같이, 몇몇 실시예에서, 본 발명의 조성물 및 방법은 조제학적으로 허용가능한 염, 예를 들어, 상술한 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물 및/또는 관련된 또는 유도체 화합물의 산 부가(acid addition) 또는 염기 염(base salts)을 적용할 수 있다. 조제학적으로 허용가능한 첨가염(addition salts)의 예는 무기 및 유기 산 첨가 염을 포함한다. 적절한 산 첨가 염은 비-독성 염, 예를 들어, 히드로클로라이드(hydrochloride), 히드로브로마이드(hydrobromide), 히드로이오다이드(hydroiodide), 술페이트(sulphate), 수소 술페이트, 니트레이트(nitrate), 포스페이트(phosphate), 및 수소 포스페이트 염 등을 형성하는 산으로부터 형성된다. 추가적인 조제학적으로 허용가능한 염은, 소듐 염(sodium salts), 포타슘 염(potassium salts),

세슘 염(cesium salts) 및 그 밖의 것 등의 금속 염(metal salts); 칼슘 염(calcium salts), 마그네슘 염(magnesium salts) 및 그 밖의 것 등의 알칼리 토금속(alkaline earth metals); 트리에틸아민 염(triethylamine salts), 피리딘 염(pyridine salts), 피콜린 염(picoline salts), 에탄올아민 염(ethanolamine salts), 트리에탄올아민 염(triethanolamine salts), 디시클로헥실아민 염(dicyclohexylamine salts), N,N'-디벤질에틸렌디아민 염(N,N'-dibenzylethylenediamine salts) 및 그 밖의 것 등의 유기 아민 염(organic amine salts); 아세테이트, 시트레이트(citrate), 락테이트(lactate), 수시네이트(succinate), 타르트레이트(tartrate), 말리에이트(maleate), 푸마레이트(fumarate), 만델레이트(mandelate), 아세테이트, 디클로아세테이트, 트리플루오로아세테이트(trifluoroacetate), 옥살레이트(oxalate), 및 포르메이트 염(formate salts) 등의 유기 산 염(organic acid salts); 메탄술포네이트(methanesulfonate), 벤젠술포네이트(benzenesulfonate), 및 p-톨루엔술포네이트 염(p-toluenesulfonate salts) 등의 술포네이트(sulfonates); 및 아르기네이트(arginate), 아스파르기네이트(asparaginate), 글루타메이트(glutamate), 타르트레이트(tartrate), 및 글루코네이트 염(gluconate salts) 등의 아미노산 염(amino acid salts)을 포함하되, 이에 한정되지 않는다. 적절한 염기 염은, 예를 들어 알루미늄, 칼슘, 리튬, 마그네슘, 포타슘(potassium), 소듐(sodium), 아연(zinc) 및 디에탄올아민 염(diethanolamine salts)을 포함하는 비-독성 염을 형성하는 염기로부터 형성된 것이다.

[0103] 또 다른 구체적인 실시예에서, 본 발명의 방법 및 조성물은, 화학식 I의 포르볼 에스테르의 프로드러그에 적용될 수 있다. 프로드러그는 생체 내(*in vivo*)에서 활성 부모 약물(parent drug)을 분비하는 어떠한 공유 결합으로 연결된 (covalently bonded) 캐리어라고 할 수 있다. 본 발명에서 유용한 프로드러그의 예는, 치환기로 히드록시알킬 또는 아미노알킬을 가지는 에스테르 또는 아마이드를 포함하며, 이들은 상술한 바와 같이, 수시닉 안하이드라이드(succinic anhydride) 등의 안하이드라이드를 가지는 이러한 화합물들의 작용에 의해 제조될 수 있다.

[0104] 본 발명은 화학식 I의 포르볼 에스테르를 포함하는 조성물 및 방법이 상기 화합물의 생체내 대사 생성물(metabolic product)을 이용하는 것(대상 전구체(precursor)) 화합물을 투여한 후에 생체 내에서 생성된 것, 또는 대사 생성물 그 자체의 형태로 직접 투여한 것)을 포함하는 것으로 이해되어야 할 것이다. 이러한 물질은 예를 들어, 산화, 환원, 가수분해, 아마이드화(amidation), 에스테르화(esterification) 및 효소 과정(enzymatic processes)에 일차적으로 기인하는 그 밖의 투여 화합물에서 기인할 수 있다. 따라서, 본 발명은, 그의 대사 생성물을 획득하기에 충분한 시간 동안 포유동물 대상체에 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 접촉시키는 과정을 포함하는 과정에 의해 생성된 화합물을 적용하는 본 발명의 방법 및 조성물을 포함한다. 이러한 물질은, 일반적으로 방사성동위원소표지(radiolabelled)를 한 본 발명의 화합물을 준비하고, 그것을 쥐(rat), 마우스(mouse), 기니아 피그(guinea pig), 원숭이, 또는 인간 등의 동물에게 검출가능한 용량으로 비경구 투여하고, 물질대사(metabolism)가 발생하기에 충분한 시간 동안 두고, 소변, 혈액 또는 다른 생물학적 샘플로부터 전환 생성물(conversion products)을 분리함으로써, 확인된다.

[0105] 본 발명은, 포유동물 대상체에서, 리스크 레벨(risk level), 존재, 독성, 또는 치료 징후(treatment indicia)를 진단하기 위한 진단 조성물, 또는 백혈병과 같은 악성 종양 질환을 포함하는 종양성 질환, 및 AIDS 또는 관련 질환 또는 조건을 포함하되, 이에 한정되지 않는 세포 변형성 질환을 관리하는 것을 포함하는 것으로 이해될 것이며, 표시된 (예를 들어, 동위원소 표시(isotopically labeled), 형광 표시(fluorescent labeled), 또는 전통적인 방법을 사용하여 표시된 화합물을 검출할 수 있는 또 다른 표시) 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물을 위험 상태의 포유동물 대상체(예를 들어, 세포, 조직(tissue), 장기(organ), 또는 개체)에 접촉시키거나, 하나 이상의 증상 또는 암 및/또는 AIDS와 함께 나타내고, 그 후에 표시된 화합물의 존재, 위치, 물질대사, 및/또는 결합 상태 (예를 들어, HIV 수용체(receptor) 생리(physiology)/물질대사 또는 악성 종양의 세포 수용체 생리/물질대사와 관련된 비표시된 결합 파트너에 결합시키는 검출)를 알려진 분석의 광범위한 어레이 및 표시/검출 방식들 중 어떤 것을 이용하여 검출하는 것을 포함할 수 있다. 몇몇 실시예에서, 화학식 I의 포르볼 에스테르 화합물은, 서로 다른 원자 질량 또는 원자 번호를 가지는 원자에 의해 교체된 하나 이상의 원소를 포함함으로써 동위원소 표시된다. 개시된 화합물에 통합될 수 있는 동위원소의 예로, ²H, ³H, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F, 및 ³⁶Cl 등의 수소, 탄소, 질소, 산소, 인(phosphorous), 플루오린 및 클로린을 포함할 수 있다. 그 후, 동위원소-표시 화합물은, 개체 또는 다른 대상체에 투여되고, 그 후, 상술한 바와 같이, 검출하여, 전통적인 테크닉에 따라, 유용한 진단 및/또는 치료상의 관리 데이터를 획득한다.

- [0106] 실험예
- [0107] 이하의 실험들은 AIDS의 증상을 효과적으로 감소시킬 수 있는 HIV 치료 약물로서의 포르볼 에스테르 및 유도체 화합물에 대한 신규하고 효과적인(powerful) 용도를 증명한다. 예시적인 임상학적 시험들에서, HIV 및 AIDS에 대한 전통적인 치료에 반응이 없었던 개체들이 TPA를 이용한 치료에 반응을 보였다. TPA를 이용한 치료는 "동정적(compassionate)"으로 허가되었고, 몇몇 환자들의 회복은 주치의(attending physicians)에 따라 생명-보호(life-saving)를 고려하였다. 또한, 이하의 실험들은 종양성 질환의 치료에서 포르볼 에스테르 및 유도체 화합물의 유용성을 나타낸다. 이러한 발견은 이하의 실험예들에서추가로 확장되며, 밝혀진다.
- [0108] 실험예 I
- [0109] S180 세포-주입 마우스에서 말초 백혈구 및 헤모글로빈 수에 대한 TPA의 효과 (Effect of TPA on the Peripheral White Blood Cells (WBC) and Hemoglobin (Hb) Counts in S180 Cell-Injected Mice):
- [0110] 사르코마(Sarcoma 180; S180) 세포를 켄-밍 마우스(Kwen-Ming mice) 내에 주입했다. 셋째 날에, 상기 마우스에, TPA를, 50, 100 또는 200 $\mu\text{g/kg/day}$ 로 7일 동안 복강내(i.p.) 투여하였다. 상기 처리를 완료한 후 둘째 날에, 혈액 샘플을 WBC 및 Hb 분석을 위해 상기 처리된 마우스의 꼬리에서 채취하였다. 상기 처리된 그룹(7일간, 50, 100, 또는 200 $\mu\text{g/kg/day}$)의 WBC 수는 각각 16.1 ± 7.4 , 18.7 ± 3.0 및 $20.7 \pm 3.4 \times 10^9/\text{L}$; 대조군(control group)의 WBC 수는 $13.6 \pm 1.8 \times 10^9/\text{L}$ 이었다. 상기 처리된 그룹의 Hb는 136 ± 11 , 149 ± 12 및 $149 \pm 10\text{g/L}$ 이었고, 대조군의 Hb는 $134 \pm 15\text{g/L}$ 이었다. 이러한 결과는 TPA의 i.p. 주입은, 대조 마우스와 비교하여 TPA 처리된 마우스에서 Hb 레벨이 큰 영향을 받지 못한 것에 반해, 말초 WBC 수는 마우스 내에서 용량-종속적 방식으로 감소될 수 있음을 나타낸다.
- [0111] 실험예 II
- [0112] 용량 범위 결정 조사(Dose Ranging Study).
- [0113] TPA 적용에 의한 강력한 국소 자극성(local irritation) 때문에, TPA를 정맥내(intravenous; i.v.) 주입으로 투여하였다. 멸균 주사기(sterile syringe)내의 TPA 용액을 멸균 염수(sterile saline) 200 ml에 주입하였고, i.v. 주입액으로 충분히 혼합하였다.
- [0114] 서로 다른 TPA 용량으로 임상 주입된 경우의 독성 및 부작용:
- [0115] (1) 1 mg/patient/week로 TPA 투여:
- [0116] 용액 내 TPA 1 mg을, 정맥내 주입을 위해 멸균 염수 200ml와 충분히 혼합하되, 16 $\mu\text{g/min}$ 의 속도로 1 시간 내에 완료하였다. TPA 투여 1 시간 후, 환자들은 한기를 느끼기 시작하여 약 30분 동안 지속되었고, 약(light)에서 강(heavy)의 발한을 동반한 발열, (환자의 체온은 37.5-39.5°C에 도달했고, 3-5시간 동안 지속되었고, 이 후 정상으로 회복됨)이 뒤따랐다. 상기 증상들은 환자에게 글루코코르티코이드(glucocorticoids)를 투여하여 완화시킬 수 있었다. 상기 용량의 TPA는 소수의 환자들의 출혈을 야기했고, 몇몇 환자들에게는 짧은 시간 동안 호흡 곤란을 겪게 했으며, 소변에서 Hb가 검출되었다. 그러나, 이러한 부작용은 짧게 지속되었고, 원상태로 돌아갈 수 있었다. 심장(cardiac), 간장(hepatic), 신장(renal) 및 폐(pulmonary) 기능이 모두 정상임을 확인하였다.
- [0117] (2) 0.5 mg/patient $\times$ 2/week로 TPA 투여: (일주일에 2회 복용(two doses a week))
- [0118] 용액 내 TPA 0.5 mg을, 정맥내 주입을 위해 염수 200ml와 충분히 혼합하되, 8 $\mu\text{g/min}$ 의 속도로 1 시간 내에 완료하였다. TPA 투여 후의 반응은 1 mg TPA 복용의 경우와 유사했으나, 1mg 보다 적은 범위였다. 환자들은 더 낮은 복용량으로 더 쉽게 견뎠다. 때때로, Hb가 환자의 소변에서 검출되었다. 호흡 곤란은 관찰되지 않았다. 심장, 간장, 신장 및 폐 기능은 모두 정상이었다.
- [0119] (3) 0.25 mg/patient $\times$ 4/week로 TPA 투여:
- [0120] 용액 내 TPA 0.25 mg을, 정맥내 주입을 위해 염수 200ml와 충분히 혼합하되, 4 $\mu\text{g/min}$ 의 속도로 1 시간 내에

완료하였다. 투여 후에, 한기 및 발열 등의 증상이 또한 관찰되었으나, 더 높은 복용량들의 경우보다 훨씬 적은 범위였다. Hb는 소변에서 검출되지 않았고, 호흡 곤란을 겪은 환자는 없었다. 심장, 간장, 신장 및 폐 기능은 모두 정상이었다.

[0121] 실험예 III

[0122] TPA로 치료한 HIV+ 환자에 대한 첫번째 임상 조사 (First Clinical Study of HIV+ patients treated with TPA)

[0123] 35세 내지 52 세 사이의 12 명의 증상이 있는 환자(symptomatic patients) (남성 5명 및 여성 7명) 모두는, 수혈을 통해 1995년에 HIV에 감염되었으며, HIV에 대한 기준 치료에 대하여 재발한 사람들로, 이들을 TPA로 치료했다. 각각의 환자에게 체중으로 조절된 복용량의 TPA (75 μ g/sq m)를 멸균 염수200 ml 내에 정맥 내 주입(i.v.)으로 한 시간 넘게 투여하였다. 상기 용량을 치료의 처음 3일 동안 하루에 한번 투여하였다. 이어서, 각각의 환자에 4 째날 내지 18째날 (days 4 to 18) 동안 하루 걸러 상기 복용량을 투여하였고, 그 후, 이와 동일한 프로토콜에 따른 두번째 치료에 앞서 6 개월의 휴식 기간(rest period)을 가졌다.

[0124] 혈액 샘플을 상기 치료 주기의 TPA 첫번째 복용량 및 4째날 및 40째날(days 4 and 40)의 투여에 앞서 채취하였다. 말초 혈액에서의 CD3, CD4 및 CD8 레벨을 단일클론 항체(monoclonal antibodies) (Becton Dickson Scientific Co., Franklin Lakes, NJ) 및 유량 세포측정기(flow cytometer) (B.D. Bioscience, San Diego, CA)를 이용하여 측정하였다.

[0125] 표 1에 도시된 바와 같이, CD3, CD4, 또는 CD8 레벨에서, 일관된 변화 및 상관 관계 중 어느 것도 관찰되지 않았다.(좌측부터 CD4, CD8, CD3의 순서임)

표 1

[0126]

표 1(TABLE ONE)				
12명의 HIV 환자에 대한 CD ₄ , CD ₈ , CD ₃ 테스트 결과				
(CD ₄ , CD ₈ , CD ₃ TEST RESULTS OF TWELVE HIV PATIENTS)				
환자 번호 (PATIENT NO)	테스트 시간 (TEST TIME)	CD ₄	CD ₈	CD ₃
01-1	TPA 전	3	196	341
01-2	TPA 후 4일	3	180	299
01-3	TPA 후 42일	2	111	203
02-1	TPA 전	26	614	687
02-2	TPA 후 4일	105	<2000	2616
02-3	TPA 후 42일	54	700	799
03-1	TPA 전	32	524	543
03-2	TPA 후 4일	36	366	427
03-3	TPA 후 42일	33	374	424
04-1	TPA 전	173	735	975
04-2	TPA 후 4일	123	770	941
04-3	TPA 후 42일	44	493	581
05-1	TPA 전	106	1556	1646
05-2	TPA 후 4일	119	1330	1282
05-3	TPA 후 42일	191	1429	1643
06-1	TPA 전	232	865	1221
06-2	TPA 후 4일	179	570	808
06-3	TPA 후 42일	49	429	537
07-1	TPA 전	10	988	1022
07-2	TPA 후 4일	7	570	598
07-3	TPA 후 42일	1	139	146
08-1	TPA 전	524	725	1332
08-2	TPA 후 4일	318	355	739
08-3	TPA 후 42일	241	527	868
09-1	TPA 전	442	1021	1479

09-2	TPA 후	663	<2000	2920
10-1	TPA 전	407	328	778
10-2	TPA 후	445	591	1077
11-1	TPA 전	40	322	373
11-2	TPA 후	131	724	874
12-1	TPA 전	84	256	375
12-2	TPA 후	78	268	362

[0127] 아래의 표 2에 도시된 바와 같이, HIV의 증가를 가지는 5명의 환자들이 가지는 바이러스 부하의 변화에 있어서, 유사하게 일관되지 않은 결과가 나왔으며, 7명의 환자들에서는 변화 및 감소가 없었다.

표 2

[0128]

표 2 (TABLE TWO)				
TPA 치료 이전, 중간, 및 이후의 12명의 환자에 대한 혈액 HIV 수				
(BLOOD HIV COUNT OF THE TWELVE PATIENTS				
BEFORE DURING and AFTER THE TPA TREATMENT)				
환자 번호	테스트 시간	결과 (RESULTS) (copies/ml)	로그값 (LOG VALUE)	비고 (FOOT NOTE)
01-1	TPA 전 3일	3.36×10^5	5.526	
01-2	최초 TPA 후 4일	1.14×10^4	6.151	
01-3	최초 TPA 후 15일	2.02×10^4	4.306	
01-4	최초 TPA 후 25일	2.60×10^4	4.416	
02-1	TPA 전 3일	9.97×10^4	4.999	
02-2	최초 TPA 후 4일	9.72×10^6	6.899	
02-3	최초 TPA 후 15일	6.33×10^6	6.801	
02-4	최초 TPA 후 25일	8.72×10^6	6.941	
03-1	TPA 전 3일	3.77×10^5	5.577	
03-2	최초 TPA 후 4일	8.13×10^4	4.910	
03-3	최초 TPA 후 15일	6.11×10^3	3.786	
03-4	최초 TPA 후 25일	8.59×10^5	5.934	
04-1	TPA 전 3일	1.11×10^6	6.045	
04-2	최초 TPA 후 4일	1.75×10^7	7.243	
04-3	최초 TPA 후 15일	1.11×10^6	6.614	
04-4	최초 TPA 후 25일	1.21×10^4	4.084	
05-1	TPA 전 3일	2.49×10^4	6.637	
05-2	최초 TPA 후 4일	9.42×10^5	5.974	
05-3	최초 TPA 후 15일	2.34×10^7	7.369	
05-4	최초 TPA 후 25일	5.56×10^6	6.745	
06-1	TPA 전 3일	4.57×10^5	5.660	
06-2	최초 TPA 후 4일	1.44×10^4	4.160	

06-3	최초 TPA 후 15일	1.88×10^5	5.274	
06-4	최초 TPA 후 25일	2.28×10^6	6.357	
07-1	TPA 전 3일	2.40×10^5	5.623	
07-2	최초 TPA 후 4일	1.51×10^5	5.179	
07-3	최초 TPA 후 15일	9.74×10^4	4.988	
07-4	최초 TPA 후 25일	5.30×10^3	3.724	
08-1	TPA 전 3일	8.02×10^5	5.904	
08-2	최초 TPA 후 4일	9.09×10^5	5.959	
08-3	최초 TPA 후 15일	5.46×10^6	6.737	
08-4	최초 TPA 후 25일	7.77×10^6	6.890	
09-1	TPA 전 3일	검출불가능		
09-2	TPA 후 25일	검출불가능		
10-1	TPA 전 3일	1.51×10^4	4.180	두번째 주기 처리 (second cycle treatment)로부터 샘플 채취
10-2	TPA 후 25일	2.79×10^4	4.446	
11-1	TPA 전 3일	1.59×10^5	5.201	
11-2	TPA 후 25일	1.25×10^5	5.096	
12-1	TPA 전 3일	1.32×10^4	4.122	
12-2	TPA 후 25일	6.27×10^3	3.798	

[0129] 바이러스 레벨과 CD3, CD4 및 CD8 레벨 사이의 연관 관계가 부족함에도 불구하고, 11명의 환자는 치료 후에 상당한 개선을 보였다. 8명의 환자는 증상이 없어졌고, 이들 중 5명은 6개월 내지 12개월 동안 경감된 상태에 있었다. 3명의 추가 환자는 증상이 감소했다.

[0130] 실험예 IV

[0131] TPA로 치료한 HIV+ 환자에 대한 두번째 임상 조사

[0132] (Second Clinical Study of HIV+ patients treated with TPA)

[0133] 실험예 III에서 9명의 환자는 TPA 2차 치료를 진행하였다. 이들 9명 중 7명은 상기 두번째 실험의 초기에 증상이 있었다. 열번째 환자 (환자 #2a)를 조사에 추가하였으며, 이 환자는 증상이 있었고, 이전에 TPA로 치료한 적이 없었다. 각각의 환자에게 체중으로 조절된 복용량의 TPA ($75\mu\text{g}/\text{sq m}$)를 멸균 염수200 ml 내에 정맥내 주입으로 한 시간 넘게 투여하였다. 상기 용량을 각각의 환자에게 하루에 한번, 연속 10일간 투여한 후, 10일 간의 휴식 기간을 3번의 주기동안 진행하여, 총 TPA 30복용량을 투여하였다. 환자 5a, 6a, 및 8a는, TPA 치료를 시작하기 이전 1 개월 및 세 번째 주기 후 추가 1 개월 시작에 항-AIDS 약물 복용을 중지하였다. 환자 1-4a, 7a, 및 9a-10a는 치료 내내 항-AIDS 약물 복용을 계속하였다.

[0134] 혈액 샘플을 치료 시작 3일 전, TPA 주입의 첫번째 10 일 주기를 마친 후, 및 마지막 TPA 주입 후에 채취하였고, CD3, CD4, CD8, WBC, RBC, HGB 및 혈소판을 측정하였다.

[0135] 표 3에 도시된 바와 같이, 모든 환자에서 TPA의 첫번째 및 세번째 주입 후, CD3가 증가하였으며, 두 명의 환자(5a & 10a)를 제외하고, 세번째 주기 이후에 가장 높은 값을 나타냈다. CD8 및 CD4이 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 TPA 치료를 한 면역 시스템이 강화되었음을 의미한다. HIV 수에 대한 다양한 결과를 얻었다(표 4). 몇몇 환자들에서 HIV 측정값은, 다른 환자들에서는 다소 증가한 것에 반해, 상기 방법의 검출의

한계보다 낮았다(200 미만). WBC, RBC, HGB 및 혈소판 측정에서, 정상적인 편차가 있었다(Table 5).

표 3

[0136]

표 3 (TABLE THREE)				
10명의 HIV 환자에 대한 CD ₄ CD ₈ CD ₃ 테스트 결과				
(CD ₄ CD ₈ CD ₃ TEST RESULTS OF 10 HIV PATIENTS)				
환자 번호	테스트 시간	CD ₄	CD ₈	CD ₃
01-1	TPA 전	5	576	1071
01-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	7	907	1323
01-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	19	1129	2037
02a-1	TPA 전	26	307	339
02a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	76	335	476
02a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	137	543	625
03a-1	TPA 전	295	571	870
03a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	460	729	1200
03a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	1002	980	2033
04a-1	TPA 전	152	672	896
04a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	189	584	823
04a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	205	916	1193
05a-1	TPA 전	92	1097	1175
05a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	91	1507	1598
05a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	94	1127	1257
06a-1	TPA 전	230	378	669
06a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	285	429	758
06a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	276	466	938
07a-1	TPA 전	567	1736	2258
07a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	729	>2000	3148
07a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	786	>2000	3347
08a-1	TPA 전	361	569	1023
08a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	519	547	1143
08a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	495	733	1295
09a-1	TPA 전	101	533	672
09a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	136	574	712
09a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	100	1221	1317
10a-1	TPA 전	49	178	240
10a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	74	261	333
10a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	63	208	308

표 4

[0137]

표4 (TABLE FOUR)			
3 개의 10-일 TPA 주입 이전, 중간 및 이후의 상기 10명의 환자에 대한 혈액 HIV 수			
BLOOD HIV COUNT OF THE TEN PATIENTS BEFORE			
DURING and AFTER THE THREE TENY-DAY TPA INFUSION			
환자 번호	테스트 시간	결과 (copies/ml)	로그 값
01-1	TPA 전 3일	4.57×10^6	6.660
01-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	2.99×10^5	5.475
01-3	세번째 주기 TPA 주입 후	9.41×10^5	5.973
02a-1	TPA 전 3일	2.71×10^5	5.433

02a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	3.09×10^5	5.490
02a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	9.24×10^5	5.966
03a-1	TPA 전 3일	검출불가능	-
03a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	500 이하	2.371
03a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	9.55×10^3	3.980
04a-1	TPA 전 3일	500 이하	2.312
04a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
04a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	2.38×10^3	3.376
05a-1	TPA 전 3일	검출불가능	-
05a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
05a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
06a-1	TPA 전 3일	검출불가능	-
06a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
06a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
07a-1	TPA 전 3일	검출불가능	-
07a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
07a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	검출불가능	-
08a-1	TPA 전 3일	1.13×10^4	4.054
08a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	6.68×10^4	4.825
08a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	6.20×10^4	4.792
09a-1	TPA 전 3일	1.38×10^5	5.139
09a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	1.65×10^5	5.217
09a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	2.35×10^5	5.371
10a-1	TPA 전 3일	7.20×10^5	5.857
10a-2	첫번째 주기 TPA 주입 후	2.82×10^5	5.450
10a-3	세번째 주기 TPA 주입 후	1.86×10^5	5.270

표 5

표 5 (TABLE FIVE)					
세 개의 10일 처리 이전 및 이후의 상기 10명의 환자에 대한 말초 혈액 수					
(PERIPHERY BLOOD COUNT OF THE TEN PATIENTS					
BEFORE and AFTER THE TPA THREE 10-DAY TREATMENT)					
환자 번호	테스트 시간	WBC ($\times 10^9$ /L)	RBC ($\times 10^{12}$ /L)	HGB (g/L)	PLt ($\times 10^9$ /L)
01-1	TPA 전	2.3	2.55	92	199
01-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	4.4	2.61	99	325
01-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	6.1	2.91	102	182
02a-1	TPA 전	5.7	2.44	114	227
02a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	3.7	2.14	88	238
02a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	11.1	2.52	100	124
03a-1	TPA 전	7.8	4.04	147	309
03a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	9.8	3.83	1.38	338
03a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	13.6	4.54	140	549
04a-1	TPA 전	3.9	3.34	127	232
04a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	3.6	2.92	107	306
04a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	9.2	2.85	105	105
05a-1	TPA 전	5.1	3.54	146	243

05a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	5.7	3.46	1.35	315
05a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	10.1	3.61	144	130
06a-1	TPA 전	5.0	4.21	171	198
06a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	4.2	3.48	142	256
06a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	6.5	3.66	154	169
07a-1	TPA 전	6.6	3.62	102	306
07a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	6.0	3.76	143	258
07a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	6.0	3.92	123	293
08a-1	TPA 전	3.1	4.03	125	116
08a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	4.3	3.86	128	221
08a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	6.8	4.19	128	138
09a-1	TPA 전	3.5	1.43	41	114
09a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	2.6	1.99	57	214
09a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	4.0	2.33	67	170
10a-1	TPA 전	2.6	2.65	78	297
10a-2	첫번째 10일TPA 주입 주기 후	2.9	2.58	92	187
10a-3	세번째 10일TPA 주입 주기 후	7.0	4.31	130	138

[0139] 9명의 환자들은 이전의 첫번째 임상 조사에서 TPA로 치료되었고, 단 한명(#9a)만이 두번째 임상 조사의 시작 이전에 몇 개의 AIDS 증상을 가졌다. 상기 두번째 조사에서 TPA의 세개의 주기로 치료함에 따라, 상기 환자들 및 그 외의 환자(#2a), 즉, TPA 로 치료한 적이 없는 환자는 AIDS 증상의 소멸을 경험하였고, 둘 모두 그들의 정상적인 활동을 재개하기에 충분히 건강해졌다. 또 다른 8명의 환자들은 AIDS 증상 없이 조사를 시작했고, 상기 조사가 끝날 때 증상이 없었다. 모든 환자들에 대한 관찰을 유지한다. 항-AIDS 약물을 이용한 치료가 중단되지 않도록 지속한다.

[0140] 표 4에 도시된 바와 같이, 모든 환자들에서, CD3, 4, 및 8 레벨이 증가하였고, CD3 레벨의 증가가 가장 현저하고 일관성이 있었다. HIV의 바이러스 부하는 다양했다. 3 명의 환자에서는 검출불가능했고(<200); 다른 6명은 다소 증가했으며, 1 명은 감소했다.

[0141] 실험예 V

[0142] TPA로 치료한 HIV+ 환자에 대한 세번째 3 임상 조사

[0143] (Thurd clinical study of HIV+ patients treated with TPA)

[0144] 6명의 환자, 37세 및 52세 사이의 2명의 남성 및 6명의 여성(환자 # 13-18)을 TPA로 치료하였다. 이들 환자 중 4명은, 앞선 2번의 임상 조사에서 항-HIV 약물과 결합한 TPA 치료를 이전에 받았다. 나머지 2명의 환자는 TPA 치료를 받은 적이 없지만, 이전에 항-HIV 약물 치료를 받은 적이 있다. 세번째 임상 조사를 시작하기 전 3일은, 모든 치료를 중지하였고, TPA 치료를 마친 후 60일까지 재개하지 않았다. 상기 기준 HIV 치료의 재개는 지방 보건 당국(local health authorities)에 의해 요청되었다.

[0145] 본 조사에서 각각의 환자들은 멸균 염수 200ml 내의 TPA 150 μ g를 정맥내 주입으로 1.5 내지 2 시간의 기간이 넘도록 투여받았으며, 이것을 총 투여량 9.0 mg에 대하여 60일 동안 매일 투여하였다. 60일의 TPA 치료를 완료된 후, 상기 환자들을 추가 치료없이 추가로 60일 동안 관찰하였다.

[0146] 말초 혈액 내의 CD3, CD4 및 CD8 레벨을, 치료를 시작하기 전, 그리고 30일 및 60일에, 유세포측정기 및 B.D. Bioscience, San Diego, CA 에서 취득한 적절한 항체를 이용하여 정량하였다. 바이러스 부하는, 중국의 베이징에 있는 광 안 멘 병원(Kuang Ann men Hospital, Beijing, China)에서 종래의 방법을 이용하여 측정하였다. 환자들의 RBC, WBC, 혈소판 및 헤모글로빈 레벨도 측정하였다.

[0147] 표 6에 도시된 바와 같이, 상기 6명의 환자들에서 바이러스 부하는, 상기 실험을 시작할 때에 낮거나 측정할 수 없었고, 전통적인 항레트로바이러스 치료를 중단했음에도 불구하고 임상 실험 기간 동안 낮은 상태를 유지하였다. 또한, ml 당 50 HIV 카피(copies)보다 적은 수의 플라스마(plasma) 바이러스 부하를 가지는 환자들에서 일어나는 것으로 이전까지 보고되었던 바대로, 항레트로바이러스 치료를 중단한 후 6일 내지 15일에, 바이러스 레벨에서 반발(rebound)은 없었다 (Harrigan *et al.*, AIDS 13, F59-F62 (1999)). 상기 CD3, CD4, 및 CD8 레벨은 가변적이고, 확정적이지 않았다.

표 6

[0148]

표 6 - 연구 3 (TABLE SIX-----STUDY 3)					
6명의 환자들에 대한 CD ₃ CD ₄ CD ₈ 및 HIV 부하 결과					
(CD ₃ CD ₄ CD ₈ and HIV LOAD RESULTS OF 6 PATIENTS)					
환자 #	*테스트 시간	CD3	CD4	CD8	**HIV (copies/ml)
13	1	3500	1135	>2000	검출불가능
	2	2771	735	1938	0.533
	3	2689	721	1897	0.133
14	1	1415	677	664	0.374
	2	1522	613	796	0.353
	3	902	369	485	0.038
15	1	759	9	542	0.533
	2	1865	8	1408	1.99
	3	2099	11	1507	검출불가능
16	1	1368	128	1166	검출불가능
	2	1477	105	1318	1.28
	3	1305	46	1220	0.012
17	1	428	95	297	0.002
	2	594	112	424	0.152
	3	317	31	246	0.056
18	1	1041	392	457	검출불가능
	2	703	229	343	0.174
	3	579	165	290	검출불가능

[0149]

*테스트 시간:

[0150]

1. TPA 전 2. TPA 후 13일 3. TPA 후 60일

[0151]

**모든 숫자는 백만 단위임(All figures are in the million)

[0152]

TPA 치료를 시작하기 전, TPA 치료를 시작한 후 15일, 30일, 45일, 및 60일, 그리고 TPA 치료를 중지한 후 30일에, 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), 헤모글로빈(Rb) 및 혈소판(PLt)을 측정하였다. 표 7에 도시된 바와 같이, 대부분의 수치는 정상 범위 내에 있었다.

[0153]

세번째 임상 실험에 관련된 환자들은, 항레트로바이러스 치료의 중단시 일반적으로 나타나는 바이러스 부하 반발을 경험하지 않았다. 또한, 이들은 120 일의 관찰 및 치료 기간 동안 AIDS 증상의 재발이 없었고, 정상으로 느꼈으며, 그들의 일상 생활을 수행할 수 있었다.

표 7

[0154]

표 7 - 연구 3 (TABLE SEVEN-----STUDY 3)					
6명의 환자에 대한 말초 혈액 프로파일					
(PERIPHERY BLOOD PROFILE OF 6 PATIENTS)					
환자 #	*테스트 시간	WBC($\times 10^9$ /L)	RBC($\times 10^{12}$ /L)	Rb(g/L)	PLt ($\times 10^9$ /L)
13	1	9	3.75	139	246
	2	9	3.88	140	240
	3	8.9	4.35	148	275
	4	3.6	3.9	125	304
	5	8.8	4.55	126	221
	6	7.5	4.55	130	272

14	1	4.2	4.16	111	118
	2	4.1	4.03	114	169
	3	5.9	4.48	116	232
	4	3.9	4.44	109	152
	5	4.4	4.31	96	227
	6	6.5	4.4	104	193
15	1	5.9	3.67	110	397
	2	5	3.41	101	219
	3	5.2	4.84	113	247
	4	6.2	4.13	110	262
	5	6.2	4.04	99	239
	6	8.4	3.9	110	278
16	1	6	3.62	144	297
	2	8.1	3.65	142	415
	3	4.3	4.03	145	345
	4	4.6	3.86	124	291
	5	5.1	4.1	123	276
	6	3.8	4.71	144	224
17	1	5.5	3.06	124	242
	2	6.4	2.98	118	151
	3	4	3.2	121	177
	4	3.9	3.49	116	131
	5	7.7	3.34	99	121
	6	4.8	3.42	100	178
18	1	7.4	3.91	156	240
	2	8.1	3.69	141	208
	3	4.5	4.32	154	228
	4	4.9	4.14	131	149
	5	3.5	4.56	136	222
	6	NA	NA	NA	NA

[0155] *테스트 시간:

[0156] 1. TPA 전 2. TPA 후 15일 3. TPA 후 30일 4. TPA 후 45일

[0157] 5. TPA 후 60일 6. TPA 중단 후 30일

[0158] 실험예 VI

[0159] 케이스 조사(Case Studies)

[0160] 초기에 증상이 있는 AIDS 환자들의 치료 결과는 실험예 III, IV, 및 V의 프로토콜에 따라 TPA로 치료한 것이다. 복수의 연구에 참가한 환자들은 몇몇 케이스에서 하나의 환자 번호 이상으로 식별된다. 모든 환자 식별 번호는 표 1 내지 표 7의 환자 번호에 대응된다.

[0161] **환자 # 1 및 15:** H.L.Y., 여성, 35세, 3개의 임상 실험에 모두 참가, AIDS 진단받음, 2003년에 이 질병의 명확한 증상을 가짐. 제1 실험을 시작할 때, 잦은 발열, 설사, 구강 병변, 식욕 저하, 체중 감소, 좌측 시력 상실(합포체(syncytia) 형성) 및 기침(결핵)을 가지고 있었다. 상기 환자는 2004년에 항바이러스 약물 치료 스타뷰딘 (D₄T), 라미뷰딘 (3TC), 네비라핀 (Nevirapine; NVP) 및 지도뷰딘 (AZT)를 받기 시작했다. 항-AIDS 약물에도 불구하고, 3의 CD4 수를 가졌고, 어떤 육체적 작업도 수행할 수 없었다.

[0162] 상기의 실험예 III의 프로토콜에 따른 첫번째 연구 동안, 그녀는 2 시간 내지 4시간 동안 지속된 4개의 서로 다른 경우에서, 38-39℃의 체온 상승을 경험했다. TPA 치료 후에, 증상이 점진적으로 개선되었다. 식욕이 향상되었고, 설사, 구강 병변, 및 피로감이 사라졌으나, 시력은 손상된 채로 남았다. 그녀는 체중이 다소 증가했고, 가사일을 재개할 수 있다고 보고했다. 그녀는 항바이러스 치료를 계속하여 받는다. 증상 개선과 그녀의 CD 3, 4, 8 레벨 및 바이러스 수의 변화 사이의 상호 관련성은 없는 것으로 보인다.

- [0163] H.L.Y.는 상기 실험에 IV에 기재된 두번째 연구에 참가하였다. 두번째 연구를 시작할 때, 어떠한 AIDS 증상도 없었다. 이러한 후속 TPA 치료 동안, 부작용을 겪지 않았다. TPA 치료의 첫 번째 및 세 번째 주기 둘 모두 이 후에, 그녀의 CD3, CD4, 및 CD8 레벨은 그녀의 백혈구 수와 같이 증가하였다. 그녀의 HIV 수는 다소 높았지만, 정상적으로 기능할 수 있었고, 어떠한 AIDS 증상도 없었다.
- [0164] H.L.Y.는 상기 실험에 V에 기재된 세번째 연구에 참가하였다. 세번째 연구를 시작할 때, 여전히 눈에 문제가 있었다. 세번째 연구 동안, TPA 주입의 3째날과 4째날 동안 38-38.5℃의 발열을 경험했다. 연구 및 60일 관찰 기간 동안, 어떠한 AIDS 증상도 재발하지 않았다. 시력을 제외하고, 그녀는 증상이 없어진 상태를 유지하며, 정상으로 느끼며, 일상 생활을 수행할 수 있다. 그녀는 60일 관찰 기간이 완료된 후 항바이러스 치료를 재개했고, 의사의 케어(care)를 받는다.
- [0165] **환자 #2:** C.X., 여성, 49세, 제1 임상 조사에 참가, AIDS 진단 받음, 2004년에 이 질환의 명확한 증상을 가짐. 순한 구강 병변, 피로감, 피부 아구창, 발열 및 식욕 저하를 가졌다. 몇몇의 이러한 증상은 헤르페스 바이러스에 의한 것이었다. 그녀는 AZT, DDI 및 NVP로 치료한 적이 있으나, 부작용 때문에 약물 치료를 종결하였다. 그녀는 TPA 치료 전 3 개월 동안 약물을 복용하지 않았다. 그녀는 자주 입원하였고, 일을 할 수 없었다. 치료 전 그녀의 CD4 수는 26이었다.
- [0166] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 그녀는 1 시간 내지 2 시간 동안 지속된 3 개의 서로 다른 경우에서, 37.5 내지 38 ℃의 체온 상승을 경험했다. TPA 치료 후에, 그녀의 구강 병변, 피부 아구창, 및 발열은 사라졌다. 그녀의 식욕은 충분히 향상되어, 체중이 증가하였고, 가사일을 재개할 수 있을 만큼 충분한 에너지를 가졌다. 그녀는 5 개월 동안 증상이 없는 채로 유지되었고, 이 기간 동안 어떠한 항-AIDS 약물도 복용하지 않았다. 증상 개선과 그녀의 CD 3, 4, 8 레벨 및 바이러스 수 사이의 상호 관련성은 없는 것으로 보인다.
- [0167] **환자 #2a:** M.S., 남성, 48세, 두번째 임상 조사에만 참가, 잦은 발열, 설사, 체중 감소, 약한 면역 시스템, 심한 우울 장애(depression)를 가지며, 일을 할 수 없음.
- [0168] 상기 실험에 IV의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 2 시간 내지 4 시간 동안 지속된 5 개의 경우에서, 그의 체온은 38.5 내지 39℃로 상승했다.
- [0169] TPA 치료의 세번째 주기 후, 발열 및 설사가 더 이상 문제되지 않았다. 그의 CD3, CD4, 및 CD8 수는, WBC 및 HIV 수와 같이 상승하는 경향이였다. 그의 육체적, 정신적 컨디션은 정상으로 돌아왔고, 일을 할 수 있다.
- [0170] 실험에 III에 기재된 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 1 시간 내지 2 시간 동안 지속된 3 개의 경우에서, 38 내지 39℃의 체온 증가를 경험했다. TPA 치료 후, 그의 증상에 현저한 개선이 있었고, 강한 노동을 포함하는 일로 돌아가며 평범한 생활을 누릴 수 있었다. TPA 치료 후 5 개월 동안, 증상이 없는 상태를 유지했으며, 이 기간 동안 항바이러스 약물 치료를 하지 않았다. 증상 개선과 CD 3, 4, 8 레벨 사이의 상호 관련성은 없는 것으로 보였으나, 바이러스 수는 약간 증가하였다.
- [0171] **환자 #4:** L.W., 남성, 34세, 첫번째 임상 연구에만 참가, HIV에 대해 양성으로 테스트되었으며, 2004년에 이 질환의 명백한 증상을 가짐. 그의 주요 증상은 설사, 발열, 체중 감소, 기침(결핵), 우측 목의 림프절 증대였으며, 일을 할 수 없었다. 치료에 대한 최초 반응은 열악했다. 3TC, DDI 및 NVP의 항바이러스 약물치료의 스케줄은 불규칙했고, TPA 치료 동안 중지하였다. 그의 최초 CD4 수는 173이었다.
- [0172] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 그는 0.5 시간 내지 1 시간 동안 지속된 5 개의 경우에서, 38 내지 39 ℃의 체온 상승을 경험했다. 치료 후에, 이따금씩의 한차례 설사는 항-설사 약물로 성공적으로 치료하였다. 식욕 개선으로 체중 과 에너지가 증가하였고, 규칙적인 작업 스케줄로 돌아갈 수 있었다. 림프절은 정상 크기로 돌아왔다. 그는 항-바이러스 약물 치료를 유지한다. 증상 개선, CD3, 4, 8 레벨 및 바이러스 수 간의 상호 관련성은 없는 것으로 보였다.
- [0173] **환자 #5 및 3a:** H.S., 여성, 37세, 처음 두개의 임상 연구(the first two clinical studies)에 참가, HIV에 대해 양성으로 테스트되었으며, 2004년에 이 질환의 명백한 증상을 가짐. 제1 연구를 시작할 때, 그녀의 주요 증상은 피부 아구창, 탈보, 구강 감염(mouth infection), 체중 감소 및 피로감이었다. D4T, DDI, 및 NVP 치료를 하고 있었으나, 신장 기능 손상 때문에 치료를 중단했다. 그녀의 최초 CD4 수는 106이었으나, 규칙적인 노동을 취급할 수 없었다.
- [0174] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 그녀는 0.5 시간 내지 1.0 시간 동안 지속된 5 개의 경우에서,

37.5 내지 38 ℃의 체온 상승을 경험했다. TPA 치료 후에, 증상 개선은 일어나지 않았다. 이전의 부작용의 재발 없이, 항-바이러스 약물 치료를 재개했고, 증상의 강도는 1 개월 후 감소되었다. 이러한 치료를 지속하고 있고, 일을 다시 하고 있다. 증상 개선 및 CD3, 4, 및 8 레벨 또는 HIV 수 사이의 상호 관련성은 없는 것으로 보였다.

[0175] 두번째 연구를 할 때, 그녀는 어떠한 AIDS 증상도 없었고, 실험에 IV에 기재된 치료 코스에 대한 역효과도 겪지 않았다. 제2 연구 이후, 그녀의 CD3, CD4, 및 CD8 레벨은 그녀의 백혈구 및 혈소판 레벨과 같이 상승하는 경향이였다. HIV 수는 초기에 검출불가능했으나, 치료의 세번째 주기 이후 증가하였다. 그녀는 현재 일을 할 수 있다.

[0176] **환자 #6, #4a, 및 #17:** H.S.C., 남성, 36세, 3개의 임상 연구에 모두 참가, HIV에 대해 양성으로 테스트되었으며, 2004년에 명백하지만 순한 증상을 가짐. 첫번째 연구를 시작할 때, 현기증(dizziness), 두통(headache), 식욕 저하 및 상부 기도 감염(upper respiratory tract infections)에 대한 민감성 증가를 겪었으나, 노동자로 규칙적인 근무가 가능했다. 항바이러스 약물 AZT, DDI 및 NVP로 치료중이었으나, 역반응(adverse reaction) 때문에 사용을 종결하였다. 초기 CD4 레벨을 232였다.

[0177] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 그는 체온 증가나 다른 부작용을 겪지 않았다. 치료 후, 그의 증상은 바뀌지 않은 채로 유지되었으며, 혈소판 감소가 TPA 치료와 연관되지 않고 나타났다. 그는 항바이러스 약물 치료를 지속하였고, 여전처럼 일을 할 수 있다. 증상 개선과 CD3, 4, 8 레벨 및 바이러스 부하 사이의 상호 관련성은 없는 것으로 보였다.

[0178] 두번째 연구를 할 때, 그는 어떠한 증상도 없었고, 그의 면역 시스템은 정상적으로 동작하는 것으로 보였다. 실험에 IV에 따른 두번째 연구 동안, 그는 부작용없이 다시 TPA 치료를 견뎌냈다. 그의 CD3, CD4, 및 CD8 수는 그의 백혈구 수와 같이 다소 증가했다. 바이러스 부하는 처음에 검출할 수 없었으나, 치료의 세번째 주기 이후 증가했다. 그러나, 그는 어떠한 AIDS 증상도 앓지 않았고, 일을 시작하였다.

[0179] 세번째 임상 연구의 초기에, 그는 어떠한 증상도 없었다. 실험에 V의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 32째날에 새어나오는(leaking) 바늘 때문에 국부 염증(irritation)이 발생하였으나, 3일만에 성공적으로 치료되었다. 그는 증상이 없어진 상태를 유지하며, 정상으로 느끼며, 강한 노동을 할 수 있다. 60일의 관찰 기간이 끝난 후에 그는 항바이러스 치료를 시작했고, 의사의 케어를 받는다.

[0180] **환자 #7, #5a 및 #16:** H. C. L., 남성, 49세, 3개의 임상 연구 모두에 참가, HIV에 대해 양성으로 테스트받았고, 2004년에 이 질환의 명확한 증상을 가짐. 첫번째 연구 시, 그의 주요 증상은 체중 감소, 피부 아구창, 피로감, 식욕 저하, 및 기침(결핵)이었으나, 그는 약간의 일은 할 수 있었다. D₄T, DDI, NVP 및 항결핵 치료 약물을 동시에 치료하였다. 초기 CD4 수는 10이었다.

[0181] 실험에 III에 기재된 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 그는 약한 현기증 및 두통을 동반한 2 가지 경우에서, 38℃로의 체온 증가를 경험했다. 치료 후, 그의 증상은 변하지 않은 채로 유지되었고, 항바이러스 치료를 1개월 간 재개하였다. 시간이 지남에 따라, 그의 기침, 식욕 및 에너지 레벨이 향상되었고, 그는 일을 할 수 있다. 그는 항바이러스와 항-결핵 약물 치료를 모두 지속하였다. 증상 개선과 그의 CD3, 4, 및 8 레벨 또는 바이러스 부하 사이의 상호 연관성은 없는 것으로 보였다.

[0182] 두번째 임상 연구 시에, 그는 어떠한 AIDS 증상도 겪지 않았고, 면역 시스템도 정상적으로 기능하는 것으로 보였다. 두번째 임상 연구 동안, 약효과 없이 TPA 치료를 견뎌냈다. 치료 후, 그의 CD4 레벨은 변하지 않았으나, CD3 및 CD8 레벨은 백혈구 수와 같이 상승하는 경향이였다. 바이러스 부하는 검출할 수 없었다. 그는 어떠한 AIDS 증상도 앓지 않으며, 일을 재개했다.

[0183] 세번째 임상 연구를 시작할 때, 그는 AIDS 증상을 겪지 않았다. 실험에 V에 기재된 프로토콜에 따른 치료 동안, 그는 한 번의 발열을 겪었다. 그는 증상이 없는 상태로 유지하며, 정상으로 느끼고, 강한 노동도 할 수 있다. 60일의 관찰 기간이 완료된 후 항바이러스 약물을 재개했으며, 의사의 케어를 받는다.

[0184] **환자 #8, #6a, 및 18:** Y.X.O., 여성, 36세, 3개의 임상 연구에 모두 참가, 2004년 HIV에 대해 양성으로 테스트받음. 첫번째 연구 시, 그녀의 주요 증상은 상부 기도 감염에 대한 민감성 증가였다. 그녀는 AZT, DDI 및 NVP로 치료했었다. 상기 연구를 시작할 때, CD4 레벨은 524였고, 규칙적인 노동을 처리할 수 있었다.

[0185] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 4시간 동안 지속된 하나의 경우에서, 38.5℃로의 체온 상승을 경험했다. 치료 후, 감기의 빈도가 감소하였고, 또 다른 증상은 없었다. 그녀는 항바이러스 약물 치료를 지속

하였고, 일을 할 수 있다. 증상 개선과 그녀의 CD3, 4, 8 레벨 또는 바이러스 부하 사이의 상호 관련성은 없는 것으로 보였다.

[0186] 두번째 임상 연구를 할 때, 그녀는 어떠한 증상도 없었고, 그의 면역 시스템은 정상적으로 동작하는 것으로 보였다. 실험에 IV에 따른 두번째 연구 동안, 체온이 단 하나의 경우에서 2 시간 동안 38.5 °C로 다시 증가했다. 치료 후, CD3 및 CD8 레벨은 다소 증가했으나, CD4 및 백혈구 수는 변하지 않은 채로 유지되었다. 바이러스 부하는 검출할 수 없다. 그녀는 정상으로 보이며, 육체적으로 요구되는 임무를 수행할 수 있다.

[0187] 세번째 임상 연구를 할 때, 그녀는 증상이 없었다. 실험에 V의 프로토콜에 따른 치료로부터의 부작용만이 있었는데, 상기 치료의 둘째 날에 38-39 °C의 발열이 2시간 동안 지속되었고, 36째날에 새어나오는 바늘 때문에 피부 염증이 발생하였으나 2일 만에 처리되었다. 그녀는 증상이 없어진 상태를 유지하며, 정상으로 느끼며, 강한 노동을 할 수 있다. 60일의 관찰 기간이 끝난 후에 그녀는 항바이러스 치료를 시작했고, 의사의 케어를 받는다.

[0188] **환자 #9 및 #7a:** C.T.F., 남성, 44세, 처음 두 개의 임상 연구에 참가, HIV에 대해 양성으로 테스트받았고, 2004년에 이 질환의 명확한 증상을 가짐. 첫번째 연구를 시작할 때, 그의 증상은 지속적인 설사, 현기증, 두통, 식욕 저하, 체중 감소 및 피로감을 포함하였다. 그는 AZT, DDI 및 NVP 치료에 양성으로 반응했으며, 혈액 HIV 수는 최저 한계에 가까웠다. 이러한 양성 반응에도 불구하고, 그의 증상은 지속되었고, 20일 동안 지속된 설사로 인해 병원에 입원하였다. 그는 매우 쇠약했으며, 어떤 일도 할 수 없었다.

[0189] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 2시간 내지 4시간 동안 지속된 6개의 경우에서 37.5 내지 38 °C의 체온 상승을 경험했다. 한 번의 TPA 투여 동안 새어나오는 바늘로 인해 심각한 피부 염증이 유발되었으나, 성공적으로 치료되었다. TPA치료 8번 후에, 약한 현기증 및 두통이 지속되었지만, 설사의 빈도가 감소하기 시작했고, 식욕도 개선되었다. 1주일 후, 설사는 완전히 사라졌고, 식욕도 정상적이 되었다. 그는 일을 재개할 수 있었고, 항바이러스 약물 치료를 받고 있다. CD3, 4, 8 레벨은 증가하는 경향을 보였고, HIV 수는 검출할 수 없었다.

[0190] 두번째 임상 연구를 할 때, 그는 어떠한 AIDS 증상도 없었고, 면역 시스템은 정상적으로 기능하는 것으로 보였다. 실험에 IV의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 어떠한 부작용도 겪지 않았다. 치료 후, 그의 CD3, CD4 및 CD8 레벨은 다소 증가했으나, 백혈구 수는 변하지 않고 유지되었다. HIV 수는 여전히 검출할 수 없다. 그는 활발한(strenuous) 업무를 할 수 있다.

[0191] **환자 #10 및 #8a:** W.F.W., 여성, 47세, 처음 2개의 연구에 참가, HIV에 대해 양성으로 테스트되었고, 2003년에 이 질환의 명백한 증상을 가짐. 제1 연구를 시작할 때, 그녀의 증상은 저체온, 설사, 낮은 혈소판 수, 피섞인 기침(coughing blood), 피섞인 장 운동(bloody bowel movements), 현기증, 두통, 식욕 저하, 체중 감소, 약한 피부 아구창을 가지는 피로감 및 심한 우울 장애를 포함하였다. 피섞인 장 운동 때문에 두 달 동안 한 번 입원했다. 그녀는 매우 우울하고, 일을 할 수 없었다. 그녀는 AZT, DDI 및 NVP 치료에 양성으로 반응하지 않았고, 그녀의 증상은 제어할 수 없었다.

[0192] 실험에 III의 프로토콜에 따른 TPA 치료 동안, 4 시간 동안 지속된 하나의 경우에서, 38.5 °C로의 체온 상승을 경험했다. TPA 처리 후, 현기증, 두통 및 설사는 점차적으로 줄어들었다. 마침내, 그녀의 식욕이 체중을 증가시키고, 에너지 레벨을 개선시켰다. 혈소판 수는 마이크로리터 당 30,000 내지 110,000 로 증가했고, 피부 아구창 및 설사는 없어졌다. 그녀는 다시 일을 할 수 있었고, 항바이러스 약물로 치료하였다. 그녀는 때때로 발열과 설사를 하지만, 약으로 조절할 수 있었다.

[0193] 6개월 후, 그녀는 약한 두통 및 현기증을 앓았고, 두 번째 TPA치료를 받았다. 두 번째 TPA 치료 동안, 그녀는 2시간 내지 4시간 동안 지속되는 5 번의 경우에서 37.5 내지 38 °C로의 체온 증가를 경험했다. TPA의 13번째 주입 후 24시간에서, 그녀의 체온은 40.5°C에 이르러 몇 시간 동안 지속되었다. 이러한 체온의 증가는 TPA 치료와 무관한 것으로 판단된다.

[0194] 두 번째 TPA 치료 후에, 그녀의 증상은 사라졌고, 식욕이 개선되어 체중이 증가했다. 이로써 그녀는 에너지를 다시 찾을 수 있었고, 일을 재개할 수 있었으며, 일상적인 생활을 할 수 있었다. 그녀는 1년 동안 증상이 없었으며, 두 번째 TPA 치료 후 처음 6개월 내에 감기도 거의 없었다. CD3, 4, 및 8 레벨과 HIV 수는 상승하는 경향을 보였다.

[0195] 실험에 IV의 프로토콜에 따른 두번째 임상 실험을 할 때, 상기 환자는 어떠한 AIDS 증상도 나타내지 않고 이를 지속하였으며, 면역 시스템도 정상적으로 기능하는 것으로 보였다. 그녀는 치료 동안 어떠한 부작용도 겪

지 않았다. 치료 후, CD3, CD4, 및 CD8 수는 WBC와 같이 다소 증가했다. 이러한 연구들 때문에, 그녀는 건강하고, 힘든 일에 종사하였다.

- [0196] **환자 #11 및 9a:** C.T.L., 여성, 40세, 처음 두개의 연구에 참가, AIDS 진단 받음, 2003년에 이 질환의 명확한 증상을 가짐. 제1 연구를 시작할 때, 그녀는 지속적인 설사, 저 체온, 구강 병변, 심각한 피부 아구창, 가려움증, 얼굴과 입술의 자반병(purple blotches), 현기증, 두통, 식욕 저하, 및 피로감 그리고 우울 장애가 있었다. AZT, 3TC 및 NVP 치료에 열악하게 반응했다. 그녀의 증상은 제어할 수 없었고, 그녀는 일을 할 수 없었다. 초기 CD4 수는 40이었다.
- [0197] 첫 번째 TPA 치료 동안, 그녀는 2시간 내지 4시간 동안 지속된 4 번의 경우에 38 내지 39℃로의 체온 상승을 경험했다. 각각 20 내지 30 분간 지속되는 두 번의 숨가쁨이 있었다.
- [0198] TPA의 6번째 복용 후, 그녀의 피부 아구창은 사라지기 시작했고, TPA 치료를 마쳤을 때, 현기증, 두통, 발열 및 피부 아구창은 개선되어 점차 사라졌다. 그녀의 식욕, 육체적 컨디션 및 우울 장애는 성공적으로 개선되어 일을 재개할 수 있었다.
- [0199] 이 환자는, 약한 피부 아구창, 설사 및 현기증을 포함하는 증상의 재발로 인해, 18 개월 후 두 번째 TPA 치료를 받았다. 이 두 번째 치료 동안, 그녀는 2시간 내지 4시간 동안 지속되는 37.5 내지 38℃로의 체온 상승을 3번 경험했다. 또 다른 부작용은 없었다. TPA 치료 후, 그녀의 증상은 완전히 사라졌고, 육체적 컨디션은 일을 재개할 수 있을 만큼 충분히 개선되었다. 그녀는 1년 동안 증상이 없는 상태로 유지했고, 감기에 거의 걸리지 않았다. CD3, 4, 및 8 레벨은 증가하는 경향을 보이나, HIV 수는 변하지 않았다.
- [0200] 실험에 IV의 프로토콜에 따른 두번째 임상 연구를 할 때, 이 환자는 두통, 현기증, 식욕 저하 및 약한 면역 기능을 포함하는 AIDS 증상을 나타냈다. 그녀는 치료 진행 중에 어떠한 부작용도 겪지 않았다. 치료 후, CD3 및 CD8 레벨을 증가하였으나, CD4 수는 변하지 않았다. HIV 수는 약간 증가하였으나, 이 외의 변화는 관찰되지 않았다. 정신적, 육체적 컨디션이 상당히 개선되어, 활발한 육체적 노동을 하고 있다.
- [0201] **환자 #12 및 #10a:** C.C.L., 여성, 39세, 처음 2 개의 연구에 참가, AIDS 진단 받음, 2003년에 이 질환의 명확한 증상을 가짐. 제1 연구를 시작할 때, 그녀는 지속적인 저 체온, 피부 아구창, 현기증, 두통, 식욕 저하, 구강 병변, 피로감 및 심한 우울 장애를 가지고 있었다. AZT, 3TC 및 NVP 으로 치료했으나, 열악한 결과를 얻었으며, 일을 할 수 없었다. 초기 CD4 수는 84였다.
- [0202] 이 환자는 2005년 3월 내지 2006년 3월의 기간 동안 두 번의 TPA 치료를 진행했다. 첫 번째 TPA 치료 동안, 2 시간 내지 4시간 동안 지속되는 8 번의 경우에 38 내지 38.5℃의 체온 상승을 경험했다. 그녀는 15분 동안의 한번의 숨가쁨을 경험했고, 새어나오는 바늘로 인한 피부 염증을 겪었다.
- [0203] 7번째 주입 후, 그녀의 구강 병변이 사라졌다. 모든 주입이 끝나고 난 후, 모든 증상은 사라졌고, 그녀의 육체적 컨디션은 일을 재개하기에 충분히 개선되었다.
- [0204] 6개월 후, 이 환자는 설사 및 현기증의 재발로 TPA 치료를 재개했다. 2 내지 6시간동안 지속된 TPA 투여와 연관된 6 번의 경우에, 37.5 내지 38 ℃로의 체온 상승을 경험했다. 8번째 주입을 시작할 때, 복용량을 TPA 약 150 μ g 에서 250 μ g로 증가시켰다. 부작용은 일어나지 않았다. TPA 치료가 완료될 때, 모든 증상이 사라졌다. 육체적인 컨디션이 정상으로 돌아와서 일을 재개할 수 있었고, 일상적인 생활을 영위하고 있다. 그녀는 1년 동안 증상이 없는 상태를 유지하며, 감기에 거의 걸리지 않는다. CD3, 4, 또는 8 레벨에는 변화가 없었으나, HIV 수는 증가했다.
- [0205] 두번째 임상 연구를 할 때, 이 환자는 어떠한 AIDS 증상도 겪지 않았으나, 약화된 면역 시스템을 가지고 있었다. 실험에 IV의 프로토콜에 따라 치료하였으며, 어떠한 부작용도 겪지 않았다. 치료 후, CD3, CD4, 및 CD8에 약간의 증가가 있었으며, WBC, RBC 및 HGB에 적당한 증가가 있었으나, 혈소판은 감소하였다. HIV 수는 다소 감소했다. 그녀는 건강하고, 치료 덕분에 활발한 육체 노동에 종사하고 있다.
- [0206] **환자 #13:** L.F.L., 여성, 53세, 2004년에 AIDS 진단 받음, 세번째 임상 연구에만 참가. 그녀는 식욕 저하 및 체중 감소의 약한 증상을 보였다. 장기간의 항바이러스 약물은 효과적이었으나, 바이러스 수가 검출가능한 레벨 아래로 감소하고, CD3, CD4 및 CD8 수가 고 레벨로 증가하는 원인이 되었다. 그녀는 TPA 치료 이전에 어떠한 증상도 겪지 않았으며, TPA 투여로 부작용을 겪지 않았다. 그녀는 증상이 없는 상태를 유지하며, 정상으로 느끼고, 정상적인 활동을 수행할 수 있다. 그녀는 60일의 관찰 기간이 완료된 후, 항바이러스 약물 치료를 재개했다.

- [0207] **환자 #14:** K.S.M., 여성, 45세, 2004년에 AIDS 진단 받음, 세번째 임상 연구에만 참가. 그녀의 증상은 온화했으며(mild), 식욕 저하와 잦은 감기로 이루어졌다. 그녀는 항바이러스 약물로 치료한 적이 있지만, 심각한 간독성 때문에 중단했다. TPA 치료 전에 증상은 없었으며, TPA 부작용은 43일만에 새어나오는 바늘로 인한 염증뿐이었으며, 이는 쉽게 치료되었다. 전체의 치료 및 관찰 기간 동안 AIDS 증상은 일어나지 않았다. 그녀는 정상으로 느끼고, 일상적인 활동을 수행할 수 있다. 60일의 관찰 기간이 완료된 후, 그녀는 연구에서 빠졌고, 항바이러스 치료를 재개하지 않았다.
- [0208] 실험예 VII
- [0209] 재발성/난치성 악성 종양의 TPA치료
- [0210] (Treatment of relapsed/refractory malignancies with TPA)
- [0211] 조직학적으로 보고된 재발성/난치성 혈액 종양/골수 질환을 앓는 환자들을 TPA (Xichuan Pharmaceuticals, Nan Yang, Henan, China), 텍사메타손 및 클로린 마그네슘 트리살리실레이트(choline magnesium trislicylate)의 콤비네이션으로 치료한다. 급성 골수성 백혈병 (AML)의 치료에서, TPA의 치료학적 사용을 증명하기 위해 이하에서 개시하는 비교가능한 방법을 적용하여, 또 다른 종양성 컨디션 및 악성 종양의 치료에 대한 TPA의 사용을 증명할 것이다. 본 발명의 조성물 및 방법을 사용한 치료가 적용되는 또 다른 종양성 컨디션 및 악성 종양 질환은, 혈액 및 골 종양과 다양한 타입의 고형 암을 포함하는 다양한 형태의 암을 포함한다. 본 발명의 구체적 프로토콜에 더하여, 성공적인 치료 및/또는 완화는, 어떤 광범위한 종류의 잘 알려진 암 검출 및 평가 방법 - 예를 들어, 고형 암의 크기 감소 측정, 암 성장, 단계, 전이 능력(metastatic potential), 조직학적 암 마커의 존재/발현 레벨, 기타 등등을 이용해서, 서로 다른 목적된 종양성 및 악성 종양성 컨디션에 대하여 판단할 수 있다.
- [0212] AML은 긴급하고 집중적인 치료를 요하는 공격적인 질환이다. AML 진단에 대한 평균 환자 나이는 64세 내지 68세이며, 기준 화학치료를 받은 60세가 넘는 환자들은 상기 시간의 20%미만으로 그들의 질환을 치료한다. 또한, 혈액 질환 또는 백혈병유발 화학요법/방사선 치료가 선행된 후에 AML이 진행된 환자들도, 특정한 역 세 포유전적, 임상적 특징과 연관된 질병을 가지는 환자들처럼, 유사하게 열악한 결과를 보인다. 따라서, AML 진단을 받은 대부분의 사람들은, 매우 열악한 예후(prognosis)와 연관된 지속적 및/또는 질환-연관적 특징을 가진다. 재발성 질환을 가지는 환자들에 있어서, 어떠한 기준 비-이식 치료(standard non-transplant therapy)도 치료 능력을 나타내지 못한다. 이러한 환자들에 있어서, AML은 종종 치명적인 질환이다. AML 치료에 대한 새로운 접근이 요구된다.
- [0213] 본 발명의 방법 및 조성물에 적용하는 TPA는, 세포간(intracellular) 신호 전달 경로를 조절하는 TPA의 신규한 역할, 세포주에서 분화 및/또는 세포 사멸을 유도하는 그것의 능력, 및 골수 종양(myeloid malignancies)을 포함하는 종양성 및 악성 종양 질환의 치료에서 TPA의 효능을 보여주는 임상 데이터에 기초하여, AML을 치료하는 환자들을 위한 치료 약물로 개발하였다.
- [0214] 상술한 바에서, TPA의 임상적 평가는, 세포 생존(cell viability) 및 세포 사멸 분석으로 측정된 바와 같이, TPA가 AML 케이스의 적어도 서브셋에서, 치료상의 세포 독성 효과에 기여한다는 것을 나타낸다. 웨스턴 분석(Western analysis)에 의해 분석된 모든 초기 배양(primary culture)에서, TPA는 1시간 배양에 의해 ERK 인산화 반응을 강하게 유도하였다. 초기 AML 세포에 대한 TPA의 세포독성 효과는, 24시간 생체 외 노출(ex vivo exposure) 후에, 후속된 포스포르-ERK 전-생존 신호(phosphor-ERK pro-survival signal)의 소실과 연관된다. 이러한 관찰은, PD98059, U0126 및 PD 184352와 같은 MEK 억제제에 의해 ERK 신호 전달의 약리학적 방해(pharmacological interruption) 후에, 초기 AML 생존이 감소하였다는 다른 연구들과 잘 합치한다. 또 다른 연구에서, ERK 신호 전달의 소실은 ERK 포스파테아제(phosphatases)의 유도와 연관되었다.
- [0215] 단백질 키나아제 C와 ERK 활성화에 더하여, TPA는 종종 AML 아세포(blasts) 및 백혈병 줄기 세포(leukemic stem cell)에서 종종 구성적으로(constitutively) 활성화된 프로-생존 전사 인자(pro-survival transcription factor)인 NF- κ B의 유도 물질로 알려져 있다. 우리의 실험실로부터의 최근 작업은 AML 세포 NF- κ B는 텍사메타손+클로린 마그네슘 트리살리실레이트 (CMT)의 치료 48 시간 내에 생체 내(in vivo)에서 억제될 수 있음을 증명한다. 또한, AML 샘플에 대하여 텍사메타손이 MKP-1 ERK 포스파테아제 발현을 유도하고, TPA 세포독성을 강화할 수 있음을 보였다. 본 발명의 설명에서, 이하의 몇몇 실시예에 대한, TPA 치료 24시간 전(pre) 및 24시간 후(post)에 사용될 부속 약물로 텍사메타손과 CMT를 사용하는 것으로 선택했다. 이러한 치료약물은 잘

-견디고, 치료의 염증성 부작용을 감소시키고, ERK 포스포타아제 발현의 증가와 NF- κ B의 억제로 인한 TPA 세포독성이 강화되는 것을 예상할 수 있다. 또한, 텍사메타손 및 CMT은 부속약물로 사용될 것이다. 왜냐하면, 이들은 항-염증성이고, 부작용을 개선할 수 있으며, 신호 전달 경로 활성을 감소시키는 포스포타아제의 유도 및 구성 NF- κ B 발현의 항-세포사멸 효과를 억제함으로써 항-백혈병 활성을 강화시킬 수 있다.

[0216] 초기 TPA 단계(Phase) 1 연구는, 35명의 환자[재발성/난치성 AML을 가진 23명, 또 다른 골수 악성 종양(CML-아세포기, 과도한 아세포를 포함하는 골수이형성증)을 가진 2명, 호지킨 질환을 가진 3명, 비-호지킨 림프종을 가진 3명, 및 고형암을 가진 4명]이 등록하였다. 환자들의 대다수는 재발성/난치성 AML이었다. 우리의 임상 결과는, 5개월이 넘는 기간 동안 안정적 질환을 가진 AML 환자를 포함하였고, 이 사람은 8번의 TPA를 주입받았다. 두 번째 AML 환자에서, TPA 투여 이후 순환하는 아세포의 수에 있어서 명백한 (5-배(fold)) 감소를 보였다. 백혈병 아세포의 이러한 감소는 4주 동안 지속되었으며, 상기 환자는 균성(fungal) 감염으로 결국 사망했다. 마침내, 재발성, 난치성 호지킨 질병을 가진 환자는, 자가조직의(autologous) 줄기 세포 rescue를 포함한 고 용량의 화학치료에도 불구하고, TPA 투여후 흉벽 종괴(chest wall mass)의 부분적 완화가 있었다. d1-5 및 8-12에 대한 0.125mg/m²/d 단일 약물로서 최대 저항(tolerated) TPA 용량을 세운, 단계(grade) III 비-혈액 용량 제한 독성(non-hematologic dose limiting toxicities; DLT)을 경험한 d1-5, 8-12에 대한 0.188mg/m² 용량으로 치료된 3명의 환자 중 마지막 코호트(cohort) 2에서, TPA 복용량의 단계적 증가를 완료하였다.

[0217] AML 및 그 외의 혈액 종양의 경우에서, 환자들에게 TPA 1 mg/week $\times$ 3 주 (1, 8, 15째날(days 1, 8, 15))의 초기 용량을, 지속적인/간헐적인(continuous/intermittent) 맥박 산소측정(pulse oximetry)과 함께, 6시간 동안 투여하였다. TPA 치료를 시작하기 24시간 전에, 환자들에게 매 6시간마다 텍사메타손 10mg과 매 8시간마다 클로린 마그네슘 트리살리실레이트 (CMT) 1500mg를 투여하였고, TPA 투여 후 24시간까지 지속하였다. TPA의 초기 복용량의 투여 이후, 환자들은 2주의 휴식 기간을 가졌고, 이후 그들은 재평가될 수 있다. TPA의 초기 복용으로부터 질환 반응 또는 안정화를 겪은 환자들은, 하기의 프로토콜에 따른 28일의 6번 주기까지 치료되었다.

[0218] 2 주의 휴식 기간 이후, 환자들은 타이레놀(Tylenol) 650 mg 및 베나드릴(Benadryl) 25-50 mg (환자의 체구 및 연령에 종속됨)로 TPA 투여 전 30분에 전-약물주입(pre-medicate)을 하였다. 이어서, TPA를 중심 정맥 카테터(central venous catheter)를 통해, 연속 2주 동안 일주일에 5일 간 매일, TPA를 정맥내 주입하였다. TPA는 1시간 넘게 정장 살린(saline) 200ml 내에 1mg 용량으로 투여한다. TPA 치료 전 24 시간에, 환자들에게 매 6시간 마다 텍사메타손 10 mg과, 매 8시간 마다 클로린 마그네슘 트리살리실레이트 1500 mg 를 투여하였으며, TPA 투여 후 24시간까지 지속하였다.

[0219] TPA의 혈액 레벨을 주입 이전과 이후에, 분화 활성을 추출할 수 있는 유기 용매를 측정하는 바이오분석을 통해 측정하였다. 혈액 1ml을 에틸아세테이트 5ml로 2회 추출하고, 추출 잔여물(residue)을 에탄올 50uL에 다시 녹이고, HL60 세포의 엘리쿼트(aliquot)을 부가한다. 48시간 후에, 부착된 세포를 검출하였다.

[0220] 테스트를 TPA 주입 이전과 이후에 채취한 혈액 샘플에도 진행하여, 백혈구, 혈소판, 및 호중구 레벨을 측정하였다. 상기 샘플은 추가적으로 골수아세포 및 아우에르 소체의 존재 여부에 대하여 분석하였다. 이러한 실험과 계속되는 실험은, TPA 가 AML 및 또 다른 종양성 및 악성 종양 컨디션에서 신생 세포에 대항하는 치료학적 세포독성 및 또 다른 효과를 추가로 밝혀줄 것이다.

[0221] 실험예 VIII

[0222] ERK 활성의 조절에 대한 측정

[0223] (Measurement of the Modulation of ERK activation)

[0224] 포스포-ERK(phospho-ERK) 레벨을 백혈병을 가진 환자의 순환하는 악성 세포와, 림프종/고형 암 환자의 말초 혈액 단핵 세포에서 측정하였다. 실험예 VII의 프로토콜에 따라 치료된 환자들로부터, 혈액 샘플을 TPA 투여 이전 및 이후에 채취하였다.

[0225] uL당 WBC $\geq$ 1000인 백혈병 환자에서, 혈액 샘플에 유세포측정(flow cytometry)를 수행하였으며, 이는 형광표지(flurophores) (BD Biosciences, San Jose, CA)와 직접 콘주게이트된 세포 계면 항원-특이적, 포스포포-ERK(phosphor-ERK) 특이적 항체를 이용하였다. TPA의 전-투여 및 실험예 VII의 프로토콜에 따른 초기 치료에서 1, 2, 11째날과, 후속 주기에서 1 및 11째날의 TPA 주입 후에 샘플을 채취하였다. 절대 백혈병 유세포수가

μL 당 2500이상인 백혈병 환자들 및 또 다른 비-백혈병 환자들에서, 말초 혈액 샘플을, 실험에 VII의 프로토콜에 따른 최초 주기의 1, 8 및 15째 날의 주입 이전 및 주입 이후 1시간 및 4시간에 채취하였다. 샘플을 웨스턴 블랏을 이용하여 포스포르-ERK 및 총 ERK1/2 레벨에 대해 분석하여, 유세포 측정기로부터 결과와 임상학적 반응과 연관된 결과를 확인하였다.

[0226] 상술한 분석은, primary AML 세포에 의해 예시된 TPA의 악성 종양 세포에 대한 세포독성 효과와, 포스포르-ERK 전-생존 신호의 TPA에 의한 연관 감소를 포함하는 종양성 및 악성 종양 컨디션의 치료에 대한 TPA의 역할을 더욱 명료하게 밝혀줄 것이다.

[0227] 실험예 IX

[0228] NF-κB 조절의 측정 (Measurement of NF-κB modulation)

[0229] 상술한 연구에서, 우리는 텍사메타손과 함께 TPA 를 투여한 후의 환자에서 NF-κB 활성이 조절될 수 있다는 것을 보였다. 또한, 텍사메타손이 MKP-1 ERK 포스포타아제 발현을 유발시키고, TPA 세포독성을 강화시키는 것을 보였다. NF-κB활성이 TPA와 텍사메타손을 더하여 치료한 환자들내에서 치료학적으로 조절되는 것을 밝히기 위해, 이하의 연구를 설계하였다.

[0230] NF-κB 결합(binding)을 실험예 VII에 따라 TPA 치료를 한 환자들로부터 주입 이전 및 이후에, 기준선(baseline)에서환자의 말초 혈액 샘플내에서 측정하였고, ELISA-기초 분석(ELISA-based assays) (BD Bioscience, San Jose, USA)을 이용하였다. NF-κB 레벨을 화학적발광 강도(chemiluminescent intensity)를 이용해 정량화하여, 96-웰 포맷(96-well format)을 이용하여 세포 추출물의 제한 양 내의 결합을 측정하였다. 또한, 전기이동 기동성 교대 분석(electrophoretic mobility shift assays)을 수행하여, 절대 백혈병 아세포 수가 μL 당 2500 이상인 백혈병 환자 및 정상 백혈구 수를 가지는 비-백혈병 환자로부터 말초 혈액 샘플 내의 NF-κB 결합을 측정하였다.

[0231] 상기 연구는 PA가 NF-κB의 유도 물질임을 밝혀줄 것이나, 이러한 실험은 AML 세포 NF-κB가 텍사메타손 및 클로린 마그네슘 트리살리실레이트를 이용한 치료를 억제할 수 있음을 증명하였다.

[0232] 실험예 X

[0233] 백혈병 유전자 발현의 변화에 대한 측정

[0234] (Determination of changes in Leukemic Gene Expression)

[0235] TPA는 전-생존 ERK 경로 신호 전달을 종결시킬 수 있는 몇몇의 듀얼 특이성 포스포타아제의 RNA 레벨을 유발한다. 실험예 VII에 따른 TPA 치료된 AML을 가진 환자들로부터 주입 이전 및 이후에 채취된 혈액 샘플은, MAPK-특이적 DUSPs 와 같은 AML 신호 전달 요소의 RNA 발현 연구에 사용하였으며, 정량적인 실시간 RT-PCR 및 올리고뉴클레오티드 마이크로어레이 분석을 이용하였다.

[0236] 상술한 발명에 대한 명확한 이해를 위해 실험예의 방식으로 구체적으로 기술하였지만, 상술한 내용에 한정되지 않고, 본원 발명의 범위 내에서 어떠한 변경 및 변형을 적용할 수 있다. 본 발명에서, 설명의 편의를 위해, 상술한 개시 내에서 다양한 출판물 및 또 다른 참고 문헌을 이용하였다. 이러한 참고 문헌 각각은 모든 목적을 위해 전체로 통합되어질 수 있다. 그러나, 본 발명에서 언급된 다양한 출판물은 본 출원의 출원일 이전에 개시된 것에 대해서만 통합되고, 발명자들은 선행 발명에 의해 이러한 개시를 예견할 수 있는 권리를 가진다.

[0237] References

[0238] Abrahm J. L., Gerson S. L., Hoxie J. A., Tannenbaum s.h., Cassileth p. A., Cooper R. A. Differential effects of phorbol esters on normal myeloid precursors and leukemic cells. Cancer Res. 46, 3711-3716 (1986).

[0239] Altuwaijri S, Lin H K, Chuang K H, Lin W J, Yeh S, Hanchett L A, Rahman M M, Kang H Y, Tsai M Y, Zhang

Y, Yang L, and Chang C. Interruption of nuclear factor kappaB signaling by the androgen receptor facilitates 12-O-tetradecanoylphorbolacetate-induced apoptosis in androgen-sensitive prostate cancer LNCaP cells. *Cancer Res* 2003; 63: 7106-12.

- [0240] Ando I., Crawford D. H. *et al.* Phorbol ester-induced expression and function of the interleukin 2 receptor in human B lymphocytes. *Eur J Immunol.* 15(4), 341-4 (1985).
- [0241] Aye M. T., Dunne J.V. Opposing effects of 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate on human myeloid and lymphoid cell proliferation. *J Cell Physiol.* 114(2), 209-14 (1983).
- [0242] Bauer I., Al Sarraj J. *et al.* interleukin-I beta and tetradecanoylphorbol acetate-induced biosynthesis of tumor necrosis factor alpha in human hepatoma cells involved the transcription factors ATF2 and c-Jun and stress-activated protein kinases. *J Cell Biochem.* 100(1), 242-255 (Epub ahead of print), (2006).
- [0243] Beaupre D M and Kurzrock R. RAS and leukemia: from basic mechanisms to gene-directed therapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1071-9.
- [0244] Becker Y. The changes in the T helper I (TH1) and T helper (TH2) cytokine balance during HIV infection are indicative of an allergic response to viral proteins that may be reversed by TH2 cytokine inhibitors and immune response modifiers -a review and hypothesis. *Virus Genes* 28(1). 5-18 (2004).
- [0245] Beetz A., Messer G. *et al.* Induction of interleukin 6 by ionizing radiation in a human epithelial cell line: controlled by corticosteroids. *Int j Radiat Biol* 72(1), 33-43 (1997).
- [0246] Berenblum I. A re-evaluation of the concept of co-carcinogenesis. *Prog. Exp. Tumor Res.* 11, 21-30 (1969).
- [0247] Blockland S. *et al.* Activation of latent HIV-1 expression by the potent anti-tumor promoter 12-deoxyphorbol-13-phenylacetate. *Antiviral Res.* 59, 89-98 (2003).
- [0248] Boutwell R.K. Biochemical mechanism of tumor promotion, in mechanisms of tumor promotion and co-carcinogenesis. Eds. Slaga, T.J., Sivak, A.J. and Boutwell, R.K. Raven, New York, 49-58 (1978).
- [0249] Boutwell R.K. The function and mechanism of promoters of carcinogenesis. *CRC Crit. Rev. Toxicol* 2, 419-443 (1974).
- [0250] Brose N, Rosenmund C. Move over protein kinase C, you've got company: alternative effectors of diacylglycerol and phorbol esters. *JCell Sci*;155:4399-411 (2002).
- [0251] *Cancer Chemother Pharmacol.* Jun;57(6):789-95 (2006).
- [0252] Cheson B D, Cassileth P A, Head D R, Schiffer C A, Bennett J M, Bloomfield C D, Brunning R, Gale R P, Grever M R, Keating M J, and *et al.* Report of the National Cancer Institute-sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 813-9.
- [0253] Chun T.W., Siliciano R. R. *et al.* Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* 387 (8), 183-188 (1997).
- [0254] Clerici M., Sheare G. M. A TH1?TH2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol.Today* 14(3), 107-110 (1993).
- [0255] Cui X X, Chang R L, Zheng X, Woodward D, Strair R, and Conney A H. A sensitive bioassay for measuring blood levels of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) in patients: preliminary pharmacokinetic studies. *Oncol Res* 2002; 13: 169-74.
- [0256] Deegan M. J., Maeda k. Differentiation of chronic lymphocytic leukemia cells after in vitro treatment with Epstein-Barr virus or phorbol ester. Immunologic and morphologic studies. *Am J Hematol.* 17(4), 335-47 (1984).
- [0257] Falcioni F., Rautmann A. *et al.* Influence of TPA (12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate) on human B

lymphocyte function. Clin Exp Immunol. 62(3), 163-2 (1985).

- [0258] Forbes I. J., Zalewski P. D., Letarte M. Human B-lymphocyte maturation sequence revealed by TPA-induced differentiation of leukaemia cells. Immunobiology 163(1), 1-6 (1982).
- [0259] Fujisawa K., Nasu K. *et al.* Production of interleukin (IL)-6 and IL-8 by a chorio-carcinoma cell line, BeWo. Placenta 21(4), 354-60 (2000).
- [0260] Gogusev J., Barbey S., Nezelof C. Regulation of TNF- α and IL-1 gene expression during TPA-induced differentiation of "Malignant histiocytosis"DEL cell line t(5:6) (q35:P21). Anticancer Res. 16(1), 455-60 (1996)
- [0261] Gulakowski R. J., McMahon J. B., Bukheit Jr., *et al.* Antireplicative and anti-cytopathic activities of prostratin, a non-tumor-promoting phorbol ester against human immunodeficiency virus (HIV). Antiviral Research 33, 87-97 (1997).
- [0262] Han Z T, Zhu X X, Yang R Y, Sun J Z, Tian G F, Liu X J, Cao G S, Newmark H L, Conney A H, and Chang R L. Effect of intravenous infusions of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) in patients with myelocytic leukemia: preliminary studies on therapeutic efficacy and toxicity. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95: 5357-61.
- [0263] Han Z. T., Tong Y. K., He L. M., Zhang Y., Sun J. Z., Wang T. Y., Zhang H., Cui Y. L., Newmark H. L., Conney A. H., Chang R. L. 12-O-Tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) -induced increase in depressed white blood cell counts in patients treated with cytotoxic cancer chemotherapeutic drugs. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 5363-5365 (1998).
- [0264] Han Z.T., Zhu X. X., Yang R. Y., Sun J. Z., Tian G. F., Liu X. J., Cao G. S., NewMark H. L., Conney A. H., and Chang R. L. Effect of intravenous infusion of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) in patients with myelocytic leukemia: preliminary studies on therapeutic efficacy and toxicity. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 5357-5361 (1998).
- [0265] Harada S. *et al.*: Tumor Promoter, TPA, Enhances Replication of HTLV-III/LAV. Virology 154, 249-258 (1986).
- [0266] Harrigan, P. R., Whaley, M., Montaner, J.S.G. Rate of HIV-1 RNA rebound upon stopping antiretroviral therapy. AIDS 13, F59-F62 (1999).
- [0267] Hecker E. In handbuch der allgemeinen pathologie, ed. Grundmann, E. (Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, Vol. IV 16, 651-676 (1975).
- [0268] Hecker E. Structure -activity relationships in diterpene esters irritant and co-carcinogenic to mouse skin, in mechanisms of tumor promotion and co-carcinogenesis. Eds. Slaga, T. J., Sevak, A. j. and Boutwell, R.K. Raven, New York, 11-49 (1978).
- [0269] Hofmann J. The potential for isoenzyme-selective modulation of protein kinase C. FASEB J. 11, 649-669 (1997).
- [0270] Huberman E, Callahan M. F. Induction of terminal differentiation in human promyelocytic leukemia cells by tumor-promoting agents. Proc. Natl. Acad. Sci. 76, 1293-1297 (1979).
- [0271] Hunter T. Signaling 2000 and beyond. Cell 100, 113-117 (2000).
- [0272] Jordan C T., Unique molecular and cellular features of acute myelogenous leukemia stem cells. Leukemia 2002; 16: 559-62.
- [0273] Kassel O, Sancono A, Kratzschmar J, Kreft B, Stassen M, and Cato A C. Glucocorticoids inhibit MAP kinase via increased expression and decreased degradation of MKP-1. Embo J 2001; 20: 7108-16.
- [0274] Kawakami A., Eguchi K. *et al.* Inhibitory effects of interleukin-10 on synovial cells of rheumatoid arthritis. Immunology 81(2), 252-9 (1997).
- [0275] Kazanietz M.G. Eyes Wide Shut: protein kinase C isoenzymes are not the only receptors for the phorbol

ester tumor promoters. *Mol. Carcinog.* 28, 5-12 (2000).

- [0276] Koeffler H. P., Bar-Eli M., Territo M. C. Phorbol ester effect on differentiation of human myeloid leukemia cells lines blocked at different stages of maturation. *Cancer Res.* 41, 919-926 (1981).
- [0277] Kim S C, Hahn J S, Min Y H, Yoo N C, Ko Y W, and Lee W J. Constitutive activation of extracellular signal-regulated kinase in human acute leukemias: combined rol of activation of MEK, hyperexpression of extracellular signal-regulated kinase, and downregulation of a phosphatase, PAC1. *Blood* 1999; 93: 3893-9.
- [0278] Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, Yokota S, Minami S, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Jinnai I, Shimazaki C, Akiyama H, Saito K, Oh H, Motoji T, Omoto E, Saito H, Ohno R, and Ueda R. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 1999; 93: 3074-80.
- [0279] Kobayashi M., Okada N. *et al.* Intracellular interleukin-1 alpha production in human gingival fibroblasts is differentially regulated by various cytokines. *J Dent Res.* 78(4), 840-9 (1999).
- [0280] Koeffler H. P. Phorbol diester-induced macrophge diffrentiation of leukemic blasts from patients with human myelogenous leukemia. *J. Clin. Invest.* 66, 1101-1108 (1980).
- [0281] Kulkosky J., Merantz R. J. *et al.* Prostratin: activation of latent HIV-1 expression suggested a potential inductive adjuvant therapy for HAART. *Blood* 98 (10), 3006-3015 (2001).
- [0282] Lebien T. W., Bollum F. J. *et al.* Phorbol ester-induced differentiatiion of a non-T, non-B leudemic cell line: model for human lymphoid progenitor cell development. *J Immunol.* 128(3), 1316-20 (1982).
- [0283] Lehrman G., Hogue I. B., Palme S. *et al.* Depletion of Latent HIV-V infection in vivo: a proof-of-concept study. *Lancet* 366 (9485), 523-524 (2005).
- [0284] Lotem J., Sachs L. Regulation of normal differentiation in mouse and human myeloid leukemia cells by phorbol esters and the mechanism of tumor promotion. *Pro. Natl. Acad. Sci.* 76 5158-5162 (1979).
- [0285] MD Iqbal Hossain Chowdhury *et al.* The Phorbol Ester TPA Strongly Inhibits HIV-1 Induced Syncytia Formation but Enhances Virus Production: possible involvement of protein kinase C pathway. *Virology* 176, 126-132, (1990).
- [0286] Meinhardt G, Roth J, and Totok G. Protein kinase C activation modulates pro- and anti-apoptotic signaling pathways. *Eur J Cell Biol* 2000; 79: 824-33.
- [0287] Meinhardt G., Roth J., Hass R. Activation of protein kinase C relays distinct signaling pathways in the same cell type: differentiation and caspase-mediated apoptosis. *Cell Death Differ.* 7, 795-803 (2000).
- [0288] Milella M, Kornblau S M, Estrov Z, Carter B Z, Lapillonne H, Harris D, Konopleva M, Zhao S, Estey E, and Andreeff M. Therapeutic targeting of the MEK/MAPK signal transduction module in acute myeloid leukemia. *J Clin Invest* 2001; 108: 851-9.
- [0289] Mochty-Rosen D., Kauvar L. M. Modulating protein kinase C signal transduction. *Adv. Pharmacol.* 44, 91-145 (1998).
- [0290] Morgan M A, Dolp O, and Reuter C W. Cell-cycle-dependent activation of mitogen-activated protein kinase kinase (MEK-1/2) in myeloid leukemia cell lines and induction of growth inhibition and apoptosis by inhibitors of RAS signaling, *Blood* 2001; 97: 1823-34.
- [0291] Nagasawa K., Chechgik B. E. *et al.* Modulation of human T-cell differentiation markers by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Thymus.* 3(4-5), 307-18, (1981).
- [0292] Nakao Y., Matsuda S. *et al.* Paradoxical anti-leukemic effects of plant-derived tumor promoters on a human thymic lymphoblast cell line. *Int J Cancer* 30(6), 687-95 (1982).
- [0293] Nakao Y., Matsuda S. *et al.* Phorbol ester-induced differentiation of human T-lymphoblastic cell line

HPB-ALL. Cancer Res. 42(9), 33843-50 (1982).

- [0294] Newton A.C. Protein kinase C: structure, function and regulation. J. Biol. Chem. 270, 28495-28499 (1995).
- [0295] Niederman T. M. J., Ratner L. *et al.* Human Immunodeficiency Virus Type I Nef Protein Inhibits NF- κ B Induction in Human T Cells. J. Virology 66 (10), 6313-6219 (1992).
- [0296] Norwell P., Shankey T. V. *et al.* Proliferation, differentiation and cytogenetics of chronic leukemic B lymphocytes cultured with mitomycin-treated normal cells. Blood 57(3), 444-51 (1981).
- [0297] O'banion M. K., Miller J. C. *et al.* Interleukin-1 beta induces prostaglandin G/H synthase-2 (cyclooxygenase-2) in primary murine astrocyte cultures. J Neurochem 66(6), 2532-40 (1996).
- [0298] Okamura J., Geffand E. W., Letarte M. Heterogeneity of the response of chronic lymphocytic leukemia cells to phorbol ester. Blood 60(5), 1082-8 (1982).
- [0299] Palella FJ, Jr, Delaney KM, Moorman AC, *et al.* Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. N Engl J Med. 338:853-860 (1998).
- [0300] Palombella V J, Rando O J, Goldberg A L, and Maniatis T. The ubiquitin-proteasome pathway is required for processing the NF- κ B precursor protein and the activation of NF- κ B. Cell 1994; 78: 773-85.
- [0301] Persaud D., Theodore P., Siliciano R. F. *et al.* A stable latent reservoir for HIV-1 in resting CD4⁺ T lymphocytes in infected children. J. Clin. Invest. 115 (7), 995-1003 (2000).
- [0302] Plataniias L C. Map kinase signaling pathways and hematologic malignancies. Blood 2003; 101: 4667-79.
- [0303] Polliack A., Leizerowitz R., Korkesh A., Gurfel D., Gamliel H., Galili U. Exposure to TPA in vitro as an aid in the classification of blasts in human myelogenous and lymphoid leukemias. Am. J. Hematol. 13, 199-211 (1982).
- [0304] Redondo P., Garcı-Foncillas J. *et al.* Differential modulation of IL-8 and TNF- α expression in human keratinocytes by buffomedit chlorhydrate and pentoxifylline. Exp. Dermatol. 6(4), 186-94 (1997).
- [0305] Rovera G., Santoli D., Damsky C. Human promyelocytic cells in culture differentiate into macrophage-like cells treated with a phorbol diester. Pro. Natl. Acad. Sci. 7, 2779-2783 (1979).
- [0306] Rullas J., Alcamı J. *et al.* Receptors in peripheral blood lymphocytes. Antivir. Ther. 9 (4). 545-554 (2004).
- [0307] Sahar El-Mekkawy *et al.* Anti-HIV-1 phorbol esters from the seeds of Croton tiglium. Phytochemistry 53, 457-464 (2000).
- [0308] Schaar D, Goodell L, Aisner J, Cui XX, Han ZT, Chang R, Martin J, Grospe S, Dudek L, Riley J, Manago J, Lin Y, Rubin EH, Conney A, Strair RK. A phase I clinical trial of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate for patients with relapsed/refractory malignancies.
- [0309] Scheinman R I, Cogswell P C, Lofquist A K, and Baldwin A S, Jr. Role of Transcriptional Activation of IkappaBalpha in Mediation of Immunosuppression by Glucocorticoids. Science 1995; 270: 283-286.
- [0310] Shkolnick T., Schlossman S. F., Griffin J. D. Acute undifferentiated leukemia: induction of partial differentiation by phorbol ester. Leuk. Res. 9, 11-17 (1985).
- [0311] Shwarz M. *et al.* High-level IL-10 production by monoclonal antibody-stimulated human T cells. Immunology 86, 364-371 (1995).
- [0312] Siliciano J. D., Siliciano R. F. *et al.* Longterm follow-up studies confirm the stability of the

latent reservoir for HIV-1 in resting CD4⁺ T cells. *Nature Med.* 9(6) 727-728 (2003).

- [0313] Staber P B, Linkesch W, Zauner D, Beham-Schmid C, Guelly C, Schauer S, Sill H, and Hoefler G. Common alterations in gene expression and increased proliferation in recurrent acute myeloid leukemia. *Oncogene* 2004; 23: 894-904.
- [0314] Steube K. G., Meyer C., Drexler H. G. Constitutive excretion of hematopoietic cytokines by human carcinoma cell lines and its up-regulation by interleukin-1 and phorbol ester. *Oncol. Rep.* 6(20), 427-32 (1999).
- [0315] Strair R K, Schaar D, Goodell L, Aisner J, Chin K V, Eid J, Senzon R, Cui X X, Han Z T, Knox B, Rabson A B, Chang R, and Conney A. Administration of a phorbol ester to patients with hematological malignancies: preliminary results from a phase I clinical trial of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2512-8
- [0316] Sumitomo M, Shen R, Goldberg J S, Dai J, Navarro D, and Nanus D M. Neutral endopeptidase promotes phorbol ester-induced apoptosis in prostate cancer cells by inhibiting neuropeptide-induced protein kinase C delta degradation. *Cancer Res* 2000; 60: 6590-6.
- [0317] Totterman T. H., Nilsson K., Sundstrom C. Phorbol ester-induced differentiation of chronic lymphocytic leukaemia cells. *Nature* 288(5787), 176-8 (1980)
- [0318] Towatari M, Iida H, Tanimoto M, Iwata H, Hamaguchi M, and Saito H. Constitutive activation of mitogen-activated protein kinase pathway in acute leukemia cells. *Leukemia* 1997; 11: 497-84.
- [0319] Van Duuren, B.L. Tumor-promoting agents in two-stage carcinogenesis. *Prog. Exp. Tumor Res.* 11, 31-68 (1969).
- [0320] Williams S. W. *et al.* Prostratin Antagonize HIV Latency by Activating NF-KB. *J. Biol. Chem.* 279, 42008-42017 (2004).
- [0321] Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Saito K, Nishimura M, Motoji T, Shinagaw K, Takeshita A, Saito H, Ueda R, Ohno R, and Naoe T. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood* 2001; 97: 2434-9.
- [0322] YIP, Y.K. *et al.* Stimulation of human gamma interferon production by diterpene esters. *Infection and Immunity* 34(1) 131-139 (1981).
- [0323] Zhao J., Sharma Y., Agarwal R. Significant inhibition by the flavonoid antioxidant silymarin against 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate-caused modulation of antioxidant and inflammatory enzymes and cyclooxygenase2 and interleukin-I alpha expression in SENCAR mouse epidermis: implications in the prevention of state I tumor promotion. *Mol Carcinog.* 26(4), 321-33 (1999).