



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112014017650-7 B1

(22) Data do Depósito: 18/01/2013

(45) Data de Concessão: 02/05/2023

(54) Título: USO DE ÉSTERES DE FORBOL PARA TRATAR OU PREVENIR UM OU MAIS DOS SINTOMAS DA DOENÇA DE PARKINSON

(51) Int.Cl.: A61K 31/22.

(30) Prioridade Unionista: 18/01/2012 US 61/588,162; 18/01/2012 US 61/588,165; 18/01/2012 US 61/588,167.

(73) Titular(es): BIOSUCCESS BIOTECH CO. LTD..

(72) Inventor(es): ZHENG TAO HAN; HUNG-FONG CHEN.

(86) Pedido PCT: PCT US2013022324 de 18/01/2013

(87) Publicação PCT: WO 2013/110006 de 25/07/2013

(85) Data do Início da Fase Nacional: 17/07/2014

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO E USO DE ÉSTERES DE FORBOL. Métodos e composições contendo um éster de forbol ou um derivado de um éster de forbol são fornecidos para o tratamento de condições crônicas e agudas. Ditas condições podem ser causadas por doença, ser sintomas ou sequências de doença. Condições crônicas e agudas podem ser devido a infecções virais como HIV e AIDS, doença neoplásicas, acidente vascular cerebral, doença renal, incontinência urinária, distúrbios autoimunes, doença de Parkinson, hipertrofia da próstata, envelhecimento, ou o tratamento de ditas doenças. Composições e métodos adicionais são fornecidos que empregam um éster de forbol ou composto derivado em combinação com pelo menos um agente adicional para gerar ferramentas de tratamento mais efetivas contra condições agudas e crônicas em sujeitos mamíferos.

" USO DE ÉSTERES DE FORBOL PARA TRATAR OU PREVENIR UM OU MAIS DOS SINTOMAS DA DOENÇA DE PARKINSON".

Pedidos relacionados

[0028] Este pedido é uma continuação em parte do Pedido de Patente US N.º de série 12/023.753, depositado em 31 de janeiro de 2008, que reivindica o benefício de prioridade do Pedido de patente provisório US N.º de série 60/898.810, depositado em 31 janeiro de 2007, Pedido de patente provisório US N.º de série 61/588.162, depositado em 18 de Janeiro de 2012, Pedido de patente provisório US N.º de série 61/588.165, depositado em 18 de Janeiro de 2012, e Pedido de Patente Provisório US N.º de série 61/588.167, depositado em 18 de Janeiro de 2012, cada uma dos quais é aqui incorporado na sua totalidade por referência.

Campo Técnico

[0029] A presente invenção refere-se genericamente à utilização terapêutica de ésteres de forbol.

Antecedentes

[0030] As plantas têm historicamente servido para muitos fins medicinais. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que 4 bilhões de pessoas, 80% da população mundial, atualmente usam a medicina fitoterápica para algum aspecto de cuidados de saúde primários. (OMS Fact Sheet N° 134 Dezembro de 2008) No entanto, pode ser difícil isolar o composto específico que tem o efeito medicinal e reproduzi-lo em escala comercial. Além disso, enquanto que os compostos ativos podem ser isolados a partir de uma planta, as outras partes de uma planta, como os sais minerais, vitaminas, óleos voláteis, glicosídeos, alcaloides, bioflavonoides, e outras substâncias podem também estar envolvidas no funcionamento do ingrediente ativo, ou o efeito medicinal para o qual a planta é conhecida tornando o uso, tratamento e comercialização de agentes farmacêuticos baseados em planta um desafio.

[004] Forbol é um composto orgânico de origem vegetal natural da família tigliano de diterpenos. Ele foi isolado pela primeira vez em 1934 como um produto de hidrólise de óleo de cróton derivado das sementes de *Croton tiglium*, um arbusto de folhas da família Euphorbiaceae que é nativa do sudeste da Ásia. Vários ésteres de forbol têm propriedades biológicas importantes (PKC), modulando vias de sinalização celular a jusante, incluindo a vias de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK). Ésteres de forbol são adicionalmente pensados para se ligar a quimaerinas, o ativador de Ras RasGRP, e a proteína iniciadora de vesícula Munc-13 (Brose N, Rosenmund C, JCell Sci., 115:4399-411 (2002)). Alguns ésteres de forbol também induzem fator nuclear capá B (NF-κB). A propriedade fisiológica mais notável dos ésteres de forbol é a sua capacidade reportada para agir como promotores de tumor. (Blumberg, 1988; Goel, G et al., Int., Journal of Toxicology 26, 279-288 (2007)).

[005] 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), também chamado de forbol-12-miristato-13-acetato (PMA), é um éster de forbol utilizado em modelos de carcinogênese como um indutor para diferenciação e/ou apoptose em múltiplas linhagens celulares e células primárias. TPA também tem sido relatado como causador de um aumento em células brancas do sangue circulantes e os neutrófilos em pacientes cuja medula óssea função tenha sido reprimida por quimioterapia (Han Z. T. et al., Proc Natl Acad Sci 95, 5363-5365 (1998)) e inibir os efeitos citopáticos do HIV em células MT-4. (Mekkawy S. et al., Phytochemistry 53, 47-464 (2000)). No entanto, devido a uma variedade de fatores, incluindo as reações cáusticas quando em contato com a pele e as preocupações para a sua toxicidade potencial, TPA não demonstrou ser uma ferramenta eficaz para tratar, gerir ou prevenir o HIV ou AIDS ou como um adjuvante para quimioterapia. De fato, como ésteres de forbol desempenham um

papel chave na ativação da proteína quinase C (PKC), que desencadeia várias respostas celulares, resultando em respostas inflamatórias e desenvolvimento de tumor (Goel et al., Int., Journal of Toxicology 26, 279-288 (2007)), ésteres de forbol, em geral, seriam excluídos como possíveis candidatos a tratamento para câncer ou doenças inflamatórias, como artrite reumatoide ou condições que envolvem as reações inflamatórias, como acidente vascular cerebral, doenças autoimunes ou hipertrofia da próstata.

[006] Como a medicina moderna se desenvolveu, as taxas de sobrevivência de ambas doença crônica e aguda tem aumentado, gerando novos desafios na gestão de ambas as condições crônicas e as sequelas da doença aguda e os efeitos colaterais do tratamento. Existe uma necessidade permanente para a identificação dos agentes farmacêuticos, incluindo agentes farmacêuticos à base de plantas, que podem ser utilizados para tratar a doença, prevenir os danos de episódios agudos, controlar os sintomas de condições de doença, e controlar os efeitos colaterais do tratamento de doenças. Enquanto direcionamento molecular tem produzido uma série de agentes farmacêuticos de sucesso, frequentemente múltiplas vias de sinalização estão envolvidas, e bloquear uma via pode ser facilmente compensado em outro lugar. Existe claramente uma necessidade de novos e mais eficazes tratamentos e gestão efeito colateral para indivíduos que sofrem de uma variedade de condições, particularmente condições crônicas ou recorrentes potencialmente como o câncer, doenças imunológicas, distúrbios autoimunes, acidente vascular cerebral, artrite reumatoide, inflamação, miomas uterinos, hipertrofia da próstata, incontinência urinária, doença de Parkinson e doença renal.

Sumário

[007] A presente invenção refere-se às composições contendo e

métodos de utilização de ésteres do forbol. Estas composições e métodos são eficazes no tratamento de doenças crônicas ou potencialmente recorrentes, ou para reparar o dano deixado por episódios agudos da doença em particular.

[008] Em uma modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol são utilizados para tratar doenças, como HIV e condições associadas, como a AIDS. As composições e os métodos da presente invenção podem realizar o tratamento do HIV e condições associadas, como a AIDS por todos os meios possíveis. Em algumas modalidades, as composições e métodos podem modificar a atividade do receptor do HIV em sujeitos mamíferos. Em outra modalidade, as composições e métodos como aqui descritos podem diminuir o número de reservatórios de HIV latente em um sujeito infectado com o HIV. Em outra modalidade, as composições e métodos como aqui descritos podem aumentar a ativação do HIV em células pró-virais latentes. Em modalidades adicionais, podem inibir os efeitos citopáticos de HIV.

[009] Em outra modalidade, as composições contendo ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol podem ser utilizadas para tratar e gerir sintomas do HIV e da AIDS em sujeitos mamíferos. Sintomas direcionados para o tratamento e de gestão empregando as composições e métodos aqui descritos incluem, entre outros, lesões orais, fadiga, aftas da pele, febre, perda de apetite, diarreia, úlceras aftosas, má absorção, a trombocitopenia, a perda de peso, anemia, alargamento de linfonodos, susceptibilidade e gravidade das condições secundárias, como o complexo de *Mycobacterium avium*, salmonelose, sífilis, neurosífilis, tuberculose (TB), angiomatose bacilar, aspergilose, candidíase, coccidioidomicose, listeriose, doença inflamatória pélvica, linfoma de Burkitt, meningite criptocócica, histoplasmose, sarcoma de Kaposi, linfoma, linfoma não Hodgkin sistêmico (NHL), linfoma primário do CNS, criptosporidiose,

isossporiase, microsporidiose, pneumonia por *Pneumocystis carinii* (PCP), toxoplasmose, citomegalovírus (CMV), hepatite, herpes simplex, herpes zoster, vírus papiloma humano (HPV, verrugas genitais, câncer cervical), molluscum contagiosum, leucoplasia pilosa oral (OHL), e leucoencefalopatia progressiva multifocal (PML).

[0010] Em outra modalidade, os compostos contendo os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol podem ser utilizados para tratar doenças neoplásicas. Tais neoplasmas podem ser malignos ou benignos. Em algumas modalidades, os neoplasmas podem ser cânceres sólidos ou não sólidos. Em outras modalidades, os neoplasmas podem ser recaídas. Em outra modalidade, os neoplasmas podem ser refratários. Exemplos de neoplasmas incluem, entre outros, malignidades hematológicas/distúrbios da medula óssea, incluindo, entre outros, leucemia, incluindo a leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crônica (CML), crise de blasto de leucemia mieloide crônica, mielodisplasia, e síndrome mieloproliferativa; linfoma, incluindo linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin; adenocarcinoma subcutâneo; teratocarcinoma de ovário; câncer de fígado; câncer de mama; câncer ósseo; câncer de pulmão; câncer pancreático, de próstata e de não pequenas de pulmão não pequenas. Outras condições neoplásicas susceptíveis ao tratamento utilizando os métodos e composições, como aqui descrito incluem outras doenças e condições cancerígenas, incluindo cânceres sólidos de vários tipos. O sucesso do tratamento e/ou remissão será determinado de acordo com os métodos convencionais, como a determinação da redução do tamanho de cânceres sólidos, e/ou estudos histopatológicos para avaliar o crescimento, estágio, estado metastático ou potencial, a presença ou níveis de expressão de marcadores histológicos de câncer, etc.

[0011] As composições e métodos aqui podem adicionalmente ser

utilizados para tratar os sintomas de doença neoplásica, incluindo, entre outras, anemia; fadiga crônica; sangramento excessivo ou fácil, como sangramento do nariz, gengivas, e sob a pele; contusões fáceis, particularmente hematomas sem causa aparente; falta de ar; petéquias; febre recorrente; gengivas inchadas; cicatrização lenta de cortes; dor óssea e nas articulações; infecções recorrentes; perda de peso; comichão; suores noturnos; linfonodos inchados; febre; dor e desconforto abdominal; distúrbios na visão; tosse; perda de apetite; dor no peito; dificuldade em engolir; inchaço da face, pescoço e membros superiores; uma necessidade de urinar com frequência, especialmente à noite; dificuldade para iniciar a micção ou retenção urinária; fluxo fraco ou interrompido de urina; dor ou ardor ao urinar; dificuldade em ter uma ereção; ejaculação dolorosa; sangue na urina ou sêmen; frequente dor ou rigidez na parte inferior das costas, quadris ou coxas; e fraqueza.

[0012] As composições e métodos aqui descritos podem ainda ser utilizados para tratar os efeitos colaterais da quimioterapia e radioterapia que são comumente utilizados como tratamentos para a doença neoplásica. Esses efeitos colaterais incluem, entre outros, alopecia, náuseas, vômitos, falta de apetite, dor, neutropenia, anemia, trombocitopenia, tontura, fadiga, constipação, úlceras orais, comichão na pele, descamação, dano em nervos e musculares, alterações auditivas, perda de peso, diarreia, imunossupressão, hematomas, lesão cardíaca, hemorragia, dano hepático, dano renal, edema, feridas na boca e garganta, infertilidade, fibrose, depilação, descamação úmida, ressecamento da mucosa, vertigem e encefalopatia.

[0013] Ainda em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados para modular as vias de sinalização celular. Tal modulação pode ter uma variedade de resultados, por exemplo, em algumas

modalidades, a utilização de composições contendo ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol pode aumentar as contagens de glóbulos brancos em sujeitos mamíferos. Em outra modalidade, as composições contendo ésteres de forbol e/ou derivados de ésteres de forbol podem alterar a liberação de citocinas Th1 em sujeitos mamíferos. Em outra modalidade, as composições contendo ésteres de forbol e/ou derivados de ésteres de forbol podem alterar a liberação de interleucina 2 (IL-2) em sujeitos mamíferos. Em uma modalidade adicional, as composições contendo ésteres de forbol e/ou derivados de ésteres de forbol podem alterar a liberação de interferon em sujeitos mamíferos. Ainda em outra modalidade, as composições contendo ésteres de forbol e/ou derivados de ésteres de forbol podem alterar a taxa de fosforilação de ERK.

[0014] Em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados na prevenção e tratamento do acidente vascular cerebral e danos devido a acidente vascular cerebral. Efeitos de acidente vascular cerebral que podem ser prevenidos ou tratados usando os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descrito incluem, entre outros, paralisia, comprometimento espacial, julgamento comprometido, negligência do lado esquerdo, perda de memória, afasia, problemas de coordenação e equilíbrio, náuseas, vômitos, comprometimento cognitivo, comprometimento de percepção, comprometimento de orientação, hemianopsia homônima e impulsividade.

[0015] Ainda em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados no tratamento de artrite reumatoide. Os sintomas da artrite reumatoide, que podem ser prevenidos ou tratados pelos ésteres de forbol e derivados de ésteres do forbol como aqui descritos incluem,

entre outros, dor nas articulações, rigidez matinal, solavancos firmes de tecido sob a pele dos braços, fadiga, perda de energia, falta de apetite, febre baixa ou dores musculares e articulares.

[0016] Em modalidades adicionais, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados no tratamento da hipertrofia da próstata. As composições e métodos como aqui descritos podem ser utilizados para prevenir ou tratar os sintomas da hipertrofia da próstata, incluindo, entre outros, gotejamento no fim da micção, retenção urinária, esvaziamento incompleto da bexiga, incontinência, frequência urinária excessiva, dor ao urinar, sangue na urina, micção atrasada, esforço para urinar, fluxo de urina fraco ou forte desejo e repentino de urinar.

[0017] Em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados no tratamento de doença renal.

[0018] Em uma modalidade adicional, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados no tratamento da incontinência urinária.

[0019] Em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descrito podem ser utilizados no tratamento de miomas uterinos.

[0020] Em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descrito podem ser utilizados no tratamento de demência.

[0021] Em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descrito podem ser utilizados no tratamento de diabetes.

[0022] Em uma modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados para diminuir os sinais visíveis de envelhecimento em indivíduos.

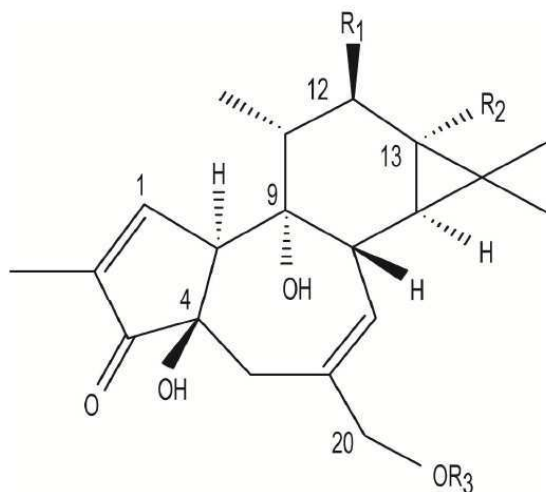
[0023] Em uma modalidade adicional, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser utilizados para diminuir o inchaço ao redor dos olhos.

[0024] Em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descritos podem ser usados no tratamento de distúrbios autoimunes, incluindo, entre outros, miastenia gravis. Os sintomas da miastenia grave, que podem ser prevenidos ou tratados através da utilização das composições e métodos aqui descritos incluem, entre outros, ptose, diplopia, perturbações da fala, fadigabilidade, fraqueza muscular, disfagia ou disartria.

[0025] Em uma modalidade adicional, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descrito podem ser utilizados no tratamento e prevenção de distúrbios do sistema nervoso central como a doença de Parkinson. Os sintomas da doença de Parkinson que podem ser tratados ou prevenidos pela utilização das composições e métodos aqui descritos incluem, entre outros, tremor de repouso, rigidez, bradicinesia, rigidez, perda da fala, disfunção cognitiva, demência, perturbações de humor, sonolência, insônia e instabilidade postural.

[0026] Ainda em outra modalidade, os ésteres de forbol e derivados de ésteres de forbol, como aqui descrito podem ser utilizados no tratamento e prevenção da síndrome de túnel do carpo.

[0027] A invenção atinge o acima descrito e satisfaz objetos e vantagens adicionais, fornecendo novos e surpreendentemente métodos eficazes e composições para a modulação de vias de sinalização celular e/ou o tratamento de doenças e sintomas de doenças ou condições utilizando composições contendo um éster de forbol ou a composição de derivado de Fórmula I, abaixo:



Fórmula I

em que R_1 e R_2 podem ser hidrogênio; hidroxila; —O—C(=O)—alquila , em que o grupo alquil contém 1 a 15 átomos de carbono;

$\text{—O—C(=O)—alquenila inferior}$, —O—C(=O)—fenil , —O—C(=O)—benzil e derivados substitu-

ídos dos mesmos e R_3 pode ser hidrogênio ou $\text{—C(=O)—alquila inferior}$ e derivados substituídos dos mesmos.

[0028] Em algumas modalidades, pelo menos um de R_1 e R_2 são

diferentes de hidrogênio e R_3 é hidrogênio ou $\text{—C(=O)—alquila inferior}$ e derivados substituídos dos mesmos. Em outra modalidade, R_1 ou R_2 é

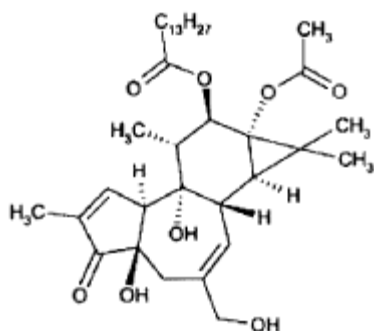
$\text{—O—C(=O)—C}_{1-15}\text{alquila}$ os demais R_1 ou R_2 são $\text{—O—C(=O)—alquila inferior}$ e R_3

é hidrogênio.

[0029] Os grupos alquila, alquenila, fenila e benzila das fórmulas aqui podem ser substituídos ou substituídos com átomos de halogênio, preferencialmente, cloro, flúor ou bromo; nitro; amino; e/ou tipos de radicais semelhante.

[0030] Em outra modalidade, a invenção atinge estes objetos e

satisfaz objetos e vantagens adicionais, fornecendo novos e surpreendentemente métodos eficazes e composições para a modulação de vias de sinalização celular e/ou tratamento de doenças ou condições associadas com doenças utilizando uma composição do éster de forbol exemplar como 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) de Fórmula II, abaixo:



Fórmula II

[0031] Os ésteres de forbol úteis e compostos relacionados e derivados no escopo das formulações e métodos da presente invenção relacionados incluem, entre outros, outros sais farmaceuticamente ativos aceitáveis de ditos compostos, bem como os isômeros ativos, enantiômeros, polimorfos, derivados glicosilados, solvatos, hidratos, e/ou profármacos de ditos compostos. Exemplos de formas de ésteres de forbol para uso e dentro das composições e métodos da invenção incluem, entre outros, forbol 13-butirato; forbol 12-decanoato; forbol 13-decanoato; forbol 12,13-diacetato; forbol 13,20-diacetato; forbol 12,13-dibenzoato; forbol 12,13-dibutirato; forbol 12,13-didecanoato; forbol 12,13-di-hexanoato; forbol 12,13-dipropionato; forbol 12-miristato; forbol 13-miristato; forbol 12-miristato-13-acetato (também conhecido como TPA ou PMA); forbol 12,13,20-triacetato; 12-deoxiforbol 13-angelato; 12-deoxiforbol 13-angelato 20-acetato; 12-deoxiforbol 13-isobutirato; 12-deoxiforbol 13-isobutirato-20-acetato; 12-deoxiforbol 13-fenilacetato; 12-deoxiforbol 13-fenilacetato 20-acetato; 12-deoxiforbol 13-tetradecanoato; forbol 12-tigliato 13-decanoato; 12-deoxiforbol 13-acetato; forbol 12-acetato; e forbol-13-

acetato.

[0032] Os sujeitos mamíferos susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da invenção incluem, entre outros, sujeitos com HIV e AIDS, bem como os indivíduos com sintomas ou doenças secundárias ou oportunistas associadas ao HIV e AIDS, como lesões orais, fadiga, aftas de pele, febre, falta de apetite, diarreia, úlceras aftosas, má absorção, trombocitopenia, perda de peso, anemia, linfonodomegalia, complexo *Mycobacterium avium*, salmonelose, sífilis, neurosífilis, tuberculose (TB), angiomatose bacilar, aspergilose, candidíase, micose, listeriose, doença inflamatória pélvica, linfoma de Burkitt, meningite criptocócica, histoplasmose, sarcoma de Kaposi, linfoma, linfoma sistêmico não Hodgkin (NHL), linfoma primário do CNS, criptosporidiose, isosporíase, microsporidiose, pneumonia *Pneumocystis carinii* (PCP), toxoplasmose, citomegalovírus (CMV), hepatite, herpes simples, herpes zoster, vírus papiloma humano (HPV, verrugas genitais, câncer cervical), molluscum contagioso, leucoplasia pilosa oral (OHL) e leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML).

[0033] Os sujeitos mamíferos adicionais susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, os sujeitos que sofrem de doenças neoplásicas, incluindo doenças malignas neoplásicas como cânceres sólidos e não sólidos. Cânceres não sólidos podem incluir, malignidades hematológicas/distúrbios de medula óssea, incluindo, entre outros, leucemia, incluindo a leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crônica (CML), crise de blasto de leucemia mieloide crônica, mielodisplasia, síndrome mieloproliferativa. Cânceres sólidos podem incluir, entre outros, linfoma, incluindo o linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, adenocarcinoma subcutânea, teratocarcinoma ovariano,

câncer do pulmão; câncer ósseo; câncer de mama; câncer de fígado; câncer de pâncreas; câncer de boca; câncer de pulmão células não pequenas e câncer de próstata.

[0034] Os sujeitos susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, incluem ainda aqueles que sofrem de sintomas de tais doenças neoplásicas, como, entre outras, anemia; fadiga crônica; sangramento excessivo ou fácil, como sangramento do nariz, gengivas, e sob a pele; contusões fáceis, particularmente hematomas sem causa aparente; falta de ar; petéquias; febre recorrente; gengivas inchadas; cicatrização lenta de cortes; dor óssea e nas articulações; infecções recorrentes; perda de peso; comichão; suores noturnos; linfonodo inchado; febre; dor e desconforto abdominal; distúrbios na visão; tosse; perda de apetite; dor no peito; dificuldade em engolir; inchaço da face, pescoço e membros superiores; uma necessidade de urinar com frequência, especialmente à noite; dificuldade para iniciar a micção ou retenção urinária; fluxo fraco ou interrompido de urina; dor ou ardor ao urinar; dificuldade em ter uma ereção; ejaculação dolorosa; sangue na urina ou sêmen; frequente dor ou rigidez na parte inferior das costas, quadris ou coxas; e fraqueza. Em algumas modalidades, estes cânceres podem ser recidivos ou refratários.

[0035] Outros sujeitos mamíferos que são susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos que sofrem de efeitos colaterais da quimioterapia ou radioterapia para o tratamento de doenças neoplásicas malignas incluindo doenças malignas neoplásicas, como cânceres sólidos e não sólidos. Tais efeitos colaterais incluem, entre outros alopecia, náuseas, vômitos, perda de apetite, dores, neutropenia, anemia, trombocitopenia, tonturas, fadiga, constipação, úlceras orais, comichão

na pele, descamação, danos em nervos e músculos, alterações auditivas, perda de peso, diarreia, imunossupressão, contusões fáceis, danos ao coração, hemorragia, dano hepático, dano renal, edema, feridas na boca e garganta, infertilidade, fibrose, depilação, e descamação úmida, mucosa seca, vertigem e encefalopatia.

[0036] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos e composições da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos que sofreram um acidente vascular cerebral. Sujeitos passíveis de tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, adicionalmente, incluem aqueles que sofrem dos efeitos de um acidente vascular cerebral, incluindo, entre outros, paralisia, comprometimento espacial, julgamento comprometido, negligência do lado esquerdo, perda de memória, afasia, problemas de coordenação e equilíbrio, náuseas, vômitos, comprometimento cognitivo, comprometimento de percepção, comprometimento de orientação, hemianopsia homônima e impulsividade.

[0037] Outros sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos que sofrem de artrite reumatoide. Os sintomas da artrite reumatoide, que podem ser prevenidos ou tratados pelos ésteres de forbol de Fórmula I, especialmente TPA, incluem, entre outros, dor nas articulações, rigidez matinal, solavancos firmes de tecido sob a pele dos braços, fadiga, perda de energia, falta de apetite, febre baixa ou dores musculares e articulares.

[0038] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos, suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, especialmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção

incluem sujeitos que sofrem de hipertrofia da próstata. As composições e métodos como aqui descritos podem ser utilizados para prevenir ou tratar os sintomas da hipertrofia da próstata, incluindo, entre outros, gotejamento no fim da micção, retenção urinária, esvaziamento incompleto da bexiga, incontinência, frequência urinária excessiva, dor ao urinar, sangue na urina, micção atrasada, esforço para urinar, fluxo urinário fraco ou forte desejo e repentino de urinar.

[0039] Outros sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos que sofrem de doença renal.

[0040] Outros sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos que sofrem de incontinência urinária.

[0041] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos que apresentavam sinais visíveis de envelhecimento.

[0042] Outros sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos com inchaço ao redor dos olhos.

[0043] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos com miomas uterinos.

[0044] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos,

susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos que sofrem de demência.

[0045] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, especialmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos com diabetes.

[0046] Outros sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, susceptíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem aqueles que sofrem de doenças autoimunes, incluindo, entre outras, miastenia gravis. Os sintomas da miastenia grave, que podem ser prevenidos ou tratados através da utilização das composições e métodos aqui descritos incluem, entre outros, ptose, diplopia, perda da fala, fadigabilidade, fraqueza muscular, disfagia ou disartria.

[0047] Os sujeitos mamíferos adicionais, incluindo seres humanos, suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente de TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem sujeitos com doença de Parkinson. Os sintomas da doença de Parkinson que podem ser tratados ou prevenidos pela utilização das composições e métodos aqui descritos incluem, entre outros, tremor de repouso, rigidez, bradicinesia, rigidez, perda da fala, disfunção cognitiva, demência, perturbações de humor, sonolência, insônia e instabilidade postural.

[0048] Ainda em outra modalidade, os sujeitos mamíferos com a síndrome do túnel do carpo podem ser tratados com os ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção.

[0049] Estes e outros objetos são tratados eficazmente,

profilaticamente e/ou terapeuticamente, por administração ao sujeito de uma quantidade eficaz de um éster de forbol de Fórmula I suficiente para impedir ou reduzir a carga viral, diminuir reservatórios latentes do HIV, aumentar a resposta imune, aumentar a liberação de citocinas Th1, prevenir ou reduzir os sintomas e condições associadas com HIV e AIDS, diminuir e/ou eliminar as células neoplásicas, aumentar a contagem de células brancas do sangue, induzir a remissão, manter a remissão, prevenir ou reduzir os sintomas e condições associadas com malignidades, aumentar a fosforilação de ERK, diminuir ou eliminar os danos provocados pela radiação, estimular o sistema imune, diminuir náusea, diminuir ou prevenir a perda de cabelo, aumento do apetite, diminuir a dor, aumentar os níveis de energia, aliviar distúrbios gastrointestinais, diminuir hematomas, eliminar úlceras orais, diminuir ou eliminar os danos da pele devido à radiação, aumentar ou manter os níveis de neutrófilos, aumentar ou manter os níveis de plaquetas, diminuir edema, diminuir ou eliminar descamação úmida, prevenir ou tratar a paralisia, aumentar a consciência espacial, diminuir a perda de memória, diminuir afasia, aumentar a coordenação e equilíbrio, melhorar a cognição, diminuir ou eliminar tremores, diminuir ou eliminar a rigidez, melhorar a qualidade do sono, aumentar a estabilidade, melhorar a mobilidade, melhorar o controle da bexiga, melhorar o apetite, aliviar dores musculares ou articulares, melhorar a visão, e/ou melhorar o controle muscular.

[0050] Os métodos terapeuticamente úteis e formulações da invenção efetivamente usarão um éster de forbol de Fórmula I, em uma variedade de formas, como notado acima, incluindo os sais farmaceuticamente aceitáveis ativos de ditos compostos, bem como os isômeros ativos, enantiômeros, polimorfos, solvatos, hidratos, profármacos, e/ou combinações dos mesmos. TPA de fórmula II é utilizado como uma modalidade ilustrativa da invenção dentro dos

exemplos aqui abaixo.

[0051] Nos aspectos adicionais da invenção, as formulações e os métodos combinatoriais são fornecidos que empregam uma quantidade eficaz de um éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agente ativo secundário ou adjunto que é combinatorialmente formulados ou administrados de forma coordenada com o composto de éster de forbol de Fórmula I para se obter uma resposta eficaz no sujeito.

[0052] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado no tratamento de doenças citopáticas virais, como HIV e AIDS empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais, retrovirais, para tratar HIV ou AIDS. Tais formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos de terapia antirretroviral altamente ativa (protocolos HAART) e incluem regimes, como, entre outros, dois análogos nucleosídeos inibidores da transcriptase reversa mais um ou mais inibidores da protease ou análogos não nucleosídeo inibidor da transcriptase reversa entre outras combinações. Outras formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir tratamentos para infecções oportunistas, bem como os compostos para os protocolos de HAART. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem possuir efeitos antivirais, diretos ou indiretos, por si só ou em combinação com, por exemplo, TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA (como prevenção de HIV, tratamento de HIV, reservatório de ativação de HIV, atividade que aumenta Th1 citocina); ou podem

apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento de infecções oportunistas associadas com a HIV isolado ou em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA.

[0053] Os agentes terapêuticos adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado incluem, por exemplo, inibidores da protease, incluindo, entre outros, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, atazanavir, darunavir, fosamprenavir, tipranavir e amprenavir; inibidores da transcriptase reversa de nucleosídeos, incluindo, entre outros, zidovudina, didanosina, estavudina, lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, tenofovir disoproxil fumarato, AVX754 e abacavir; inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos, incluindo, entre outros, nevirapina, delavirdina, calanolida A, TMC125 e efavirenz; combinação de fármacos, incluindo, entre outras, efavirenz/emtricitabina/tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina/zidovudina, abacavir/lamivudina, abacavir/lamivudina/zidovudina, emtricitabina/tenofovir disoproxil fumarato, sulfametoxazol/trimetoprim, e lopinavir/ritonavir; inibidores de entrada e fusão, incluindo, entre outros, enfuvirtida, AMD070, BMS-488043, fozivudina tidoxila, GSK-873, 140, PRO 140, PRO 542, Peptídeo T, SCH-D, TNX-355, e UK-427,857; tratamentos para infecções oportunistas e outras condições associadas com a AIDS e HIV, incluindo, entre outros, aciclovir, adefovir dipivoxila, aldesleucina, anfotericina b, azitromicina, hidroxiapatita de cálcio, claritromicina, doxorrubicina, dronabinol, entecavir, epoetina alfa, etoposídeo, fluconazol, ganciclovir, imunoglobulinas, interferon alfa-2, isoniazida, itraconazol, megestrol, paclitaxel, peginterferona alfa-2, pentamidina, ácido poli-1-láctico, ribavirina, rifabutina, rifampina, somatropina, testosterona, trimetrexato, e valganciclovir; inibidores de integrase, incluindo, entre outros, GS 9137, MK-0518; microbicidas, incluindo, entre outros, BMS-378806, C31G, carbopol 974P, carragenano, sulfato

de celulose, cianovirina-N, sulfato de dextrano, hidroxietil celulose, PRO 2000, SPL7013, tenofovir, UC-781 e IL-2.

[0054] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de doença neoplásica empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais para o tratamento de doenças neoplásicas ou outras indicadas. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades pode possuir efeitos quimioterápicos diretos ou indiretos, por si só ou em combinação com, por exemplo, TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA (como citotóxicos, anti-inflamatórios, inibidores de NF- κ B, indutores de apoptose, aumento da atividade de citocinas Th1); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento de neoplasmas ou sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0055] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de doenças neoplásicas incluem a doxorrubicina, vitamina D3, citarabina, citosina arabinosídeo, daunorrubicina, ciclofosfamida, gemtuzumab ozogamicina, idarrubicina, niercaptopurina, mitoxantrona, tioguanina, aldesleucina, asparaginase, carboplatina, fosfato de etoposídeo, fludarabina, metotrexato, etoposídeo, dexametasona, e trissalicilato magnésio colina. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas, como, entre outras, o tratamento com radiação, terapia hormonal e a cirurgia.

[0056] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou o tratamento de

efeitos colaterais da quimioterapia empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais, quimioprotetores ou outros indicados. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem possuir efeitos quimioprotetores diretos ou indiretos, por si só ou em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA; podem exibir outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA (como anti-inflamatório, estimulantes de neutrófilos, estimulador da eritropoiese, inibição da reabsorção óssea, o fortalecimento ósseo, antiemético, alívio da dor); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou a prevenção de efeitos colaterais da quimioterapia ou sintomas associados, isoladamente ou em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA.

[0057] Agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento dos efeitos colaterais da quimioterapia, em um sujeito mamífero incluem, entre outros, pegfilgrastim, epoetina alfa, darbepoetina alfa, alendronato de sódio, risedronato, ibandronato, G-CSF, antagonistas de receptores 5-HT₃, de antagonistas NK₁, olanzapina, corticosteroides, antagonistas da dopamina, antagonistas da serotonina, benzodiazepinas, aprepitant, e canabinoides.

[0058] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de efeitos colaterais da radioterapia como aqui contemplado empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais, de proteção da radiação ou outro indicado. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de

forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem possuir proteção direta ou indireta dos danos da radiação, isoladamente ou em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA (como o anti-inchaço, citoprotetor, anti-mucosite, estimulante epitelial, anti-fibrótico, estimulante de plaquetas); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou prevenção de efeitos colaterais da radioterapia ou de sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0059] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento dos efeitos colaterais da radioterapia de um sujeito mamífero incluem, entre outros, esteroides, amifostina, clorexidina, benzidamina, sucralfato, fator de crescimento de queratinócitos (KGF), palifermina, Cu/Zn superóxido dismutase, interleucina 11, ou prostaglandinas.

[0060] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de acidente vascular cerebral empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos indicados adicionais para prevenir, tratar acidente vascular cerebral prevenção ou outros. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuvantes utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem ter efeitos diretos ou indiretos na prevenção ou recuperação do acidente vascular cerebral, isoladamente ou em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com, por exemplo, TPA (como anticoagulante, anticolesterolêmicos, vasodilatadores, anti-hipertensivos); ou podem

apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para tratar ou prevenir acidente vascular cerebral, ou sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0061] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis para o tratamento dessas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou o tratamento de acidente vascular cerebral em um sujeito mamífero incluem, entre outros, ativador do plasminogênio tecidual, anticoagulante, estatina, bloqueadores dos receptores da angiotensina II, inibidor da enzima conversora da angiotensina, beta-bloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio, ou diuréticos. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas, como, entre outras, endarterectomia da carótida, angioplastia, colocação de stent, craniotomia, embolização de tubo endovascular, ou fechamento de forame oval patente.

[0062] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento da doença de Parkinson empregar m o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais adicional, o tratamento da doença de Parkinson ou outros agentes terapêuticos secundários ou adjuntos indicados. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem possuir efeitos anti-Parkinsonianos, diretos ou indiretos, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com, por exemplo, TPA (aumento de dopamina, inibição de catecol-O-metil-transferase, inibição de L-amino ácido aromático descarboxilase, inibição de dopamina agonista, neuroprotetor, anticolinérgicos); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou a prevenção de efeitos colaterais da

quimioterapia ou sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0063] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de sintomas da doença de Parkinson em um sujeito mamífero incluem, entre outros, levodopa, tolcapone, carbidopa, agonistas da dopamina, inibidores de MAO-B, piridoxina, amantidina, piridoxina, selegilina, rasagilina, ou anticolinérgicos. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas, como, entre outras, a estimulação cerebral profunda ou a formação da lesão.

[0064] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento da hipertrofia da próstata empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais para o tratamento da hipertrofia da próstata indicados. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem ter efeitos diretos ou indiretos, isoladamente ou em combinação; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com, por exemplo, TPA (inibidor de 5-alfa-redutase tipo II, relaxante muscular); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou prevenção de hipertrofia prostática ou os sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0065] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento da hipertrofia da próstata em um sujeito mamífero incluem, entre outros, finasterida, dutasterida, terazosina, doxazosina, tansulosina, ou um alfa bloqueador. Além

disso, terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas, como, entre outras, a ressecção transuretral da próstata, incisão transuretral da próstata, cirurgia a laser, ou prostatectomia.

[0066] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de artrite reumatoide empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais para tratar artrite reumatoide ou outro indicado. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem ter efeitos diretos ou indiretos, isoladamente ou em combinação com um éster de forbol, por exemplo TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA (como anti-inflamatório, imunossupressor, inibidor de TNF, antibióticos, inibidores da calcineurina, inibidor da síntese de pirimidina, inibidor da 5-LO, antifolato, antagonista do receptor da IL-1, inibidor de células T de coestimulação); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou prevenção de artrite reumatoide ou de sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0067] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis nestas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de artrite reumatoide em um sujeito mamífero incluem, entre outros, um agente anti-inflamatório não esteroide, esteroides, fármacos antirreumáticos modificadora de doença, um imunossupressor, inibidor de TNF- α , anacina, abatacept, adalimumabe, azatioprina, cloroquina, hidroxiclороquina, ciclosporina, D-penicilamina, etanercept, golimumabe, sais de ouro, infliximabe, leflunomida, metotrexato, minociclina, sulfassalazina, rituximabe, ou

tocilizumabe.

[0068] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de doenças autoimunes empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos, secundários ou adjuntos adicionais para o tratamento de doenças autoimunes ou outros indicados. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com um éster de forbol, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem ter efeitos diretos ou indiretos, isoladamente ou em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA; podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA (como imunossupressor, supressor de anticorpo, anticolinesterase); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou prevenção de distúrbios autoimunes, incluindo miastenia gravis ou sintomas associados isolados ou em combinação com o éster de forbol, por exemplo, TPA.

[0069] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis para o tratamento dessas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de distúrbios autoimunes em um sujeito mamífero incluem, entre outros, inibidor da colinesterase, corticosteroides, ou um agente imunossupressor.

[0070] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de doença renal empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais terapêuticos secundários ou adjuntos para tratar doença renal ou outros indicados. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem ter efeitos diretos ou indiretos, sozinho ou em combinação com, por exemplo, TPA, podem apresentar

outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com, por exemplo, TPA (como anticolinérgicos, antidepressivos); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou prevenção de doença renal ou de sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0071] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis para o tratamento dessas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de doença de rim em um mamífero incluem, entre outros, anticolinérgico, estrogênio tópico, imipramina ou duloxetina.

[0072] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para o tratamento de incontinência urinária empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais outros agentes terapêuticos secundários ou adjuntos para o tratamento de incontinência urinária ou outros indicados. Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos utilizados em combinação com, por exemplo, TPA, nestas modalidades podem ter efeitos diretos ou indiretos, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA, podem apresentar outra atividade terapêutica adjuvante útil em combinação com, por exemplo, TPA (como anticolinérgicos, antidepressivos); ou podem apresentar atividade terapêutica adjuvante útil para o tratamento ou prevenção da incontinência urinária ou de sintomas associados, isoladamente ou em combinação com, por exemplo, TPA.

[0073] Os agentes terapêuticos secundários ou adjuntos úteis para o tratamento dessas formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento da incontinência urinária em um indivíduo mamífero incluem, entre outros, anticolinérgico, estrogênio tópico, imipramina ou duloxetina.

[0074] O acima apresentado e objetos, características, aspectos e

vantagens adicionais da presente invenção irão tornar-se evidentes a partir da seguinte descrição detalhada.

Descrição Detalhada

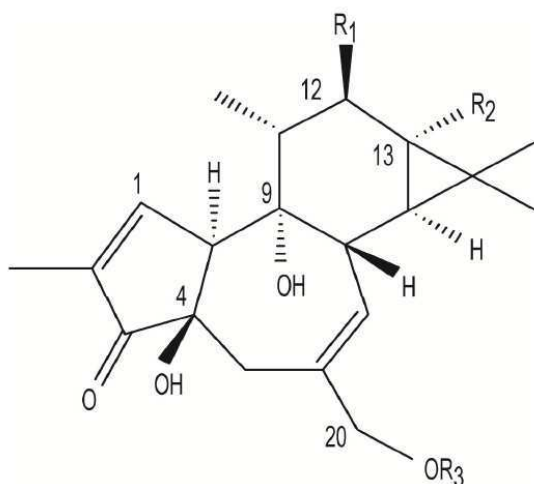
[0075] Novos métodos e composições foram identificados para uso no tratamento de doenças crônicas ou recorrentes, ou para reparar os danos deixados por episódios de doença ou tratamento da doença em sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos.

[0076] Em várias modalidades, os métodos e as composições são eficazes para prevenir ou tratar o HIV e AIDS e condições relacionadas, as doenças causadas pelo HIV e AIDS, sintomas de HIV e AIDS, e/ou doenças adquiridas por causa da infecção por HIV ou AIDS. Em outras modalidades, os métodos e as composições são eficazes para prevenir ou tratar doenças neoplásicas e os sintomas de tais doenças. Essas doenças neoplásicas podem ou não ser malignas. Em algumas modalidades, as doenças neoplásicas podem ser cânceres sólidos ou não sólidos. Em outras modalidades, os cânceres podem ser refratários ou recaídas. Em modalidades adicionais, os métodos e as composições são eficazes na prevenção ou melhoria de danos ou efeitos colaterais de agentes quimioterápicos. Em outras modalidades, os métodos e composições como aqui descritos são eficazes na prevenção ou melhoria de danos ou efeitos colaterais da radioterapia. Em outras modalidades, os métodos e as composições como aqui descritas são eficazes na prevenção ou tratamento de danos por acidente vascular cerebral. Em modalidades adicionais, os métodos e as composições como aqui descritas são eficazes no tratamento de artrite reumatoide. Em outras modalidades, os métodos e composições como aqui descritos são eficazes em diminuir os sinais do envelhecimento. Em outra modalidade, os métodos e composições como aqui descritos são eficazes no tratamento da hipertrofia da próstata. Em outras modalidades, os métodos e composições como

aqui descritos são eficazes no tratamento de distúrbios autoimunes. Em outras modalidades, os métodos e composições como aqui descritos são eficazes no tratamento da incontinência urinária. Em outras modalidades, os métodos e composições como aqui descritos são eficazes no tratamento de doença renal. Em modalidades adicionais, os métodos e composições como aqui descritos são eficazes no tratamento da doença de Parkinson.

[0077] A composição e os métodos como aqui descritos podem impedir ou reduzir a carga viral, diminuir reservatórios latentes do HIV, aumentar a capacidade de resposta imune, aumentar a liberação de citocinas Th1, prevenir ou reduzir os sintomas e condições associadas com HIV e AIDS, diminuir e/ou eliminar as células neoplásicas, aumentar as contagens de glóbulos brancos, induzir a remissão, manter a remissão, prevenir ou reduzir os sintomas e condições associadas com cânceres malignos, aumentar fosforilação de ERK, diminuir ou eliminar os danos da radiação, estimular o sistema imune, diminuir náuseas, diminuir ou prevenir a perda de cabelo, aumentar o apetite, diminuir dor, aumentar energia níveis, aliviar o desconforto gastrointestinal, diminuir hematomas, eliminar úlceras orais, diminuir ou eliminar os danos da pele devido à radiação, aumentar ou manter os níveis de neutrófilos, aumentar ou manter os níveis de plaquetas, diminuir o edema, diminuir ou eliminar descamação úmida, prevenir ou tratar a paralisia, aumentar conscientização espacial, diminuir a perda de memória, diminuir afasia, aumentar a coordenação e equilíbrio, melhorar a cognição, diminuir ou eliminar tremores, diminuir ou eliminar a rigidez e a rigidez, melhorar a qualidade do sono, aumentar a estabilidade, melhorar a mobilidade, melhorar o controle da bexiga, aumentar a continência, melhorar o apetite, melhorar dores musculares ou articulares, melhorar a visão, e/ou melhorar o controle muscular e fortalecimento do sistema imune.

[0078] As formulações e métodos aqui fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, como descrito mais completamente no Pedido de Patente US N.º 12/023.753, depositado em 31 de janeiro de 2008, que reivindica benefício de prioridade do pedido provisório de patente US N.º de Série 60/898.810, depositado em 31 de janeiro de 2007 cada um dos quais é aqui incorporado na sua totalidade por referência.



Fórmula I

em que R_1 e R_2 podem ser hidrogênio; hidroxila; —O—C(=O)—alquila , em que o grupo alquil contém 1 a 15 átomos de carbono;

$\text{—O—C(=O)—alquenila inferior}$, —O—C(=O)—fenil , —O—C(=O)—benzil e derivados substitu-

ídos dos mesmos e R_3 pode ser hidrogênio ou $\text{—C(=O)—alquila inferior}$, incluindo todos os compostos farmacologicamente ativos aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e pró-fármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como novos compostos para tratar HIV e AIDS.

[0079] As formulações e métodos para reduzir a carga viral aqui

fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos como novos agentes de redução da carga viral.

[0080] As formulações e métodos para aumentar a resposta imune aqui fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações destes compostos como estimulantes imunes.

[0081] As formulações e métodos para aumentar citocinas Th1 aqui fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como novos agentes para aumentar a citocina Th1.

[0082] As formulações e métodos aqui fornecidos, adicionalmente, empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos no tratamento de doenças neoplásicas.

[0083] As formulações e métodos aqui fornecidos que induzem

apoptose empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos como agentes quimioterápicos que induzem a apoptose em tumores.

[0084] As formulações e métodos aqui fornecidos que induzem remissão empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como agentes antineoplásicos.

[0085] As formulações e métodos aqui fornecidos empregam ainda um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos na prevenção ou no tratamento de efeitos colaterais da quimioterapia.

[0086] As formulações e métodos aqui fornecidos, adicionalmente, empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos aceitáveis farmaceuticamente desta descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros. polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos na prevenção ou no tratamento de efeitos colaterais da radioterapia.

[0087] As formulações e métodos aqui fornecidos para tratar acidente vascular cerebral empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como agentes anti-acidente vascular cerebral.

[0088] As formulações e métodos para tratar artrite reumatoide tratamento aqui fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como agentes anti-artrite reumatoide.

[0089] As formulações e métodos anti-parkinsonianos aqui fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis desta descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como agentes anti-Parkinsonianos.

[0090] As formulações e métodos aqui fornecidos também empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, no tratamento da hipertrofia da próstata.

[0091] As formulações e métodos aqui fornecidos, adicionalmente,

empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, no tratamento de distúrbios autoimunes.

[0092] As formulações e métodos aqui fornecidos empregam ainda um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, no tratamento da síndrome do túnel do carpo.

[0093] As formulações e métodos aqui fornecidos, adicionalmente, empregam um éster de forbol ou composto derivado de Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis desta descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, no tratamento da doença renal.

[0094] As formulações e métodos para induzir a continência aqui fornecidos empregam um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, acima, incluindo todos os compostos ativos farmaceuticamente aceitáveis da presente descrição, bem como vários complexos previstos e facilmente fornecidos, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos e profármacos destes compostos e combinações dos mesmos, como agentes de aumento da continência.

[0095] Uma ampla gama de sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, é suscetível ao tratamento com as formulações e métodos da invenção. Estes sujeitos incluem, entre outros, os sujeitos que

sofrem de doenças ou condições, incluindo doenças neoplásicas e doenças virais, como HIV e AIDS, bem como indivíduos que sofrem de doença de Parkinson, acidente vascular cerebral, artrite reumatoide, os efeitos colaterais da quimioterapia, efeitos colaterais da radioterapia, hipertrofia da próstata, incontinência urinária, miastenia gravis, e doença renal.

[0096] Sujeitos suscetíveis ao tratamento incluem sujeitos humanos HIV+ e outros mamíferos que apresentam lesões orais, fadiga, aftas na pele, febre, falta de apetite, diarreia, úlceras aftosas, má absorção, trombocitopenia, perda de peso, anemia, aumento de linfonodos, susceptibilidade à e gravidade das condições secundárias, como mycobacterium avium, salmonelose, sífilis, neurosífilis, tuberculose (TB), angiomatose bacilar, aspergilose, candidíase, micose, listeriose, doença inflamatória pélvica, linfoma de Burkitt, meningite criptocócica, histoplasmoses, sarcoma de Kaposi, linfoma, linfoma não Hodgkin sistêmico (LNH), linfoma do CNS primário, criptosporidiose, isosporíase, microsporidiose, pneumonia por Pneumocystis carinii (PCP), toxoplasmose, citomegalovírus (CMV), hepatite, herpes simplex, herpes zoster, vírus papiloma humano (HPV, verrugas genitais, câncer cervical), molluscum contagiosum, leucoplasia pilosa oral (OHL) e leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML).

[0097] Nos métodos e composições do presente invenção um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são eficazmente formulados ou administrados como um agente eficaz para o tratamento de HIV/AIDS e/ou doenças relacionadas. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um agente terapêutico ou mais adjuvantes. A presente descrição proporciona adicionalmente, compostos adicionais de ésteres de forbol

farmaceuticamente aceitáveis na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção no tratamento de HIV/AIDS e condições relacionadas.

[0098] A síndrome da imunodeficiência adquirida ou síndrome da deficiência imune adquirida (AIDS ou Aids) é um conjunto de sintomas e infecções resultantes do dano ao sistema imune causado por infecção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). O dano ao sistema imune deixa sujeitos propensos a infecções oportunistas e tumores. Embora existam tratamentos para a AIDS e HIV para retardar a progressão do vírus e a gravidade dos sintomas, não existe cura conhecida.

[0099] O HIV é um retrovírus que infecta principalmente os componentes do sistema imune humano, como as células T CD4+, macrófagos e as células dendríticas. Quando as células T CD4+ são destruídas e sua contagem total diminui para menos de 200 células T CD4+/ μ L de sangue ou a porcentagem de células T CD4+ como uma fração dos linfócitos totais cai para menos de 14%, a imunidade celular é perdida, levando a AIDS.

[00100] Acredita-se atualmente que uma mudança no equilíbrio de citocinas T_h1 e T_h2 contribuir para a desregulação imune associada com a infecção pelo HIV. As células T_h1 produzem citocinas que estimulam a proliferação de células T citotóxicas. As células T_h2 produzem citocinas que são responsáveis pela ativação da resposta imune humoral em pessoas saudáveis. A progressão da infecção por HIV para AIDS é caracterizada por uma diminuição nos níveis de citocinas T_h1 , IL-2, IL-12 e IFN- γ com um aumento concomitante nos níveis de citocinas de T_h2 IL-4, IL-5 e IL-10. (Clerci, Immunology

Today, v 14, No. 3, p 107-110, 1993.; Becker, Virus Genes 28: 1, 5-18 (2004)). A resistência à infecção por HIV e/ou a resistência à progressão para a AIDS podem, portanto, ser dependentes de uma dominância $T_h1 > T_h2$.

[00101] A fração de células de memória T CD4+ contém provírus transcricionalmente inativos para o HIV. Estes reservatórios latentes podem ser ativados para produzir vírus infeccioso ativo após a ativação por antígenos ou citocinas específicas. A meia-vida destas células T de memória CD4 é pelo menos de 44 meses o que torna extremamente difícil eliminar o HIV e que necessitam de continuação prolongada de terapia antirretroviral, mesmo quando os níveis de HIV no sangue periférico são indetectáveis.

[00102] Prostratina, 12-deoxiforbol 13-acetato, um éster de forbol não promovendo tumor, tem mostrado alguma eficácia, alegadamente para inibir a morte celular induzida pelo HIV e replicação viral. Prostratina alegadamente ativo a expressão viral em linhagens de células infectadas de forma latente, mas teve pouco ou nenhum efeito sobre linhagens de células cronicamente infectadas. (Gulakowski, et al., Antiviral Research v 33, 87-97 (1997); Williams, et al., JBC v 279, No. 40, p 42008-42017 (2004)). Prostratina representa uma subclasse diferente de ativadores de proteína C quinase, que tem atividades biológicas únicas que diferem a partir de ésteres de forbol que promovem tumor, como TPA.

[00103] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção, adicionalmente, incluem, entre outros, sujeitos mamíferos com doenças neoplásicas, incluindo cânceres sólidos e não sólidos, incluindo malignidades hematológicas/distúrbios da medula óssea, como leucemia, incluindo leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mieloide crônica (CML), crise de blasto de leucemia

mieloide crônica, mielodisplasia, síndrome mieloproliferativa; linfoma, incluindo linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin; adenocarcinoma subcutânea; teratocarcinoma de ovário; e câncer de próstata. Em algumas modalidades, tais cânceres podem ser recidivas ou refratários.

[00104] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para o tratamento de doenças neoplásicas. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos ou adjuvantes. A presente descrição fornece compostos ésteres de forbol farmaceuticamente aceitáveis adicionais na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção no tratamento de doenças e sintomas de tais doenças neoplásicas.

[00105] A doença neoplásica é qualquer crescimento ou tumor causado pela divisão celular anormal e descontrolada; pode propagar-se para outras partes do corpo através do sistema linfático ou corrente sanguínea. Tais crescimentos podem ser malignos ou benignos, sólidos ou não sólidos.

[00106] Em algumas modalidades, as doenças neoplásicas podem ser um malignidade hematológica/distúrbio de medula óssea, como leucemia mieloide aguda (AML). AML (também chamado de leucemia mieloide aguda, leucemia de mieloblastos aguda, leucemia granulocítica aguda, e leucemia não linfocítica aguda) é o tipo mais

comum de leucemia aguda em adultos. Na AML, as células-tronco produzidas pela medula óssea geralmente desenvolvem em um tipo de célula branca imatura chamada mieloblastos (ou blastos mieloides). Em sujeitos que sofrem de AML, estes mieloblastos não amadurecem em células brancas do sangue saudáveis. Além disso, as células-tronco, em indivíduos com AML podem tornar-se glóbulos vermelhos ou plaquetas anormais. A falta de células normais do sangue normais aumenta a incidência de infecção, anemia, e fácil hemorragia. Além disso, as células de leucemia podem difundir fora do sangue para outras partes do corpo, incluindo o sistema nervoso central (cérebro e medula espinal), pele, e gengivas.

[00107] A idade média de um paciente com AML é mais de 64 anos de idade. Pacientes com mais de 60 anos de idade tratados para AML com quimioterápicos padrões têm uma taxa de remissão de menos de 20%. Além disso, os pacientes que desenvolvem AML após uma doença hematológica antecedente ou quimioterapia/radioterapia leucemogênica antes ter resultados similarmente fracos.

[00108] A quimioterapia é o tratamento de câncer com uma fármaco anti-neoplásica ou uma combinação de tais fármacos. Quimioterapia funciona prejudicando a reprodução das células rapidamente se dividindo, uma propriedade comum em células cancerígenas. No entanto, não faz distinção ativamente entre as células saudáveis que também são células cancerígenas e que rapidamente se dividem e que têm uma série de efeitos colaterais, como, entre outros, alopecia, náuseas, vômitos, falta de apetite, dor, neutropenia, anemia, trombocitopenia, tonturas, fadiga, constipação, úlceras orais, comichão na pele, descamação, lepra dos nervos e músculos, alterações auditivas, problemas com sangue, perda de peso, diarreia, imunossupressão, contusões, tendência para sangrar facilmente, dano cardíaco, dano hepático, dano renal, vertigem e encefalopatia.

[00109] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem adicionalmente, entre outros, sujeitos mamíferos submetidos a quimioterapia.

[00110] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para a prevenção ou o tratamento de efeitos colaterais devido à quimioterapia. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos de éster de forbol farmaceuticamente aceitáveis adicionais na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento de efeitos colaterais devido à quimioterapia.

[00111] A radioterapia usa radiação de alta energia para reduzir cânceres e matar células cancerígenas. Pode ser aplicada externamente, internamente, ou sistemicamente. Pode causar efeitos colaterais agudos ou crônicos. Os efeitos colaterais agudos ocorrem durante o tratamento, e os efeitos colaterais crônicos ocorrem meses ou mesmo anos após o término do tratamento. Os efeitos colaterais que se desenvolvem dependem da região do corpo a ser tratada, a dose administrada por dia, a dose total administrada, condição médica geral do paciente, e outros tratamentos administrados ao mesmo tempo. (National Cancer Institute, 2011). Efeitos colaterais comuns da

radioterapia são descamação úmida, dor, diarreia, náuseas, vômitos, perda de apetite, constipação, comichão na pele, descamação, feridas na boca e garganta, edema, infertilidade, fibrose, depilação, e mucosa seca.

[00112] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem adicionalmente, entre outros, sujeitos mamíferos submetidos a radioterapia.

[00113] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para a prevenção ou o tratamento de efeitos colaterais devido à radioterapia. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos éster de forbol adicionais farmaceuticamente aceitáveis sob a forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento de efeitos colaterais devidos à radioterapia.

[00114] A artrite reumatoide afeta cerca de 1% da população dos EUA. Embora a causa seja desconhecida, acredita-se atualmente que seja causada por uma combinação de fatores genéticos e ambientais. É uma forma crônica de artrite que tipicamente ocorre em articulações em ambos os lados do corpo e também é considerada uma doença autoimune. Na artrite reumatoide, o sistema imune ataca a sinovia que

conduz à acumulação de líquido nas articulações, causando dor e inflamação sistêmica com frequência. Embora os sintomas se apresentem de forma diferente em pessoas diferentes, geralmente provoca dores nas articulações, rigidez, particularmente no período da manhã ou depois de se sentar por longos períodos de tempo, inchaço das articulações, febre, dores musculares, inflamação das articulações, e nódulos reumatoides.

[00115] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem adicionalmente, entre outros, sujeitos mamíferos com artrite reumatoide.

[00116] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descritos são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para prevenir ou tratar os sintomas da artrite reumatoide. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos éster de forbol adicionais, farmaceuticamente aceitáveis sob a forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento da artrite reumatoide e dos seus sintomas.

[00117] Estima-se que 4 a 6 milhões de pessoas no mundo sofrem de doença de Parkinson, uma doença cerebral neurodegenerativa crônica e progressiva. Acredita-se que tenha gatilhos genéticos e ambientais, mas a causa exata é desconhecida. Muitos dos sintomas

da doença de Parkinson resultam de uma falta de dopamina e os baixos níveis de noradrenalina. Caracteriza-se também pela presença de corpos de Lewy, embora sua função exata seja desconhecida. A doença de Parkinson é caracterizada por tremores, bradicinesia, rigidez, perturbações da fala, instabilidade postural e demência.

[00118] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos com doença de Parkinson.

[00119] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para a prevenção ou o tratamento da doença de Parkinson. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos de éster de forbol farmacêuticamente aceitáveis adicionais na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento da doença e dos seus sintomas de Parkinson.

[00120] No mundo todo, o acidente vascular cerebral é a segunda principal causa de morte, sendo responsável por 4,4 milhões (9 por cento) do total de 50,5 milhões de mortes por ano. (<http://www.theuniversityhospital.com/stroke/stats.htm>_University Hospital, Newark New Jersey, 2011) Noventa por cento dos sobreviventes de acidente vascular cerebral sofrem algum tipo de

deficiência e é a principal causa de incapacidade entre adultos nos EUA. Um acidente vascular cerebral ocorre quando um vaso sanguíneo no cérebro é bloqueado ou explode. Sem oxigênio, as células cerebrais começam a morrer causando dormência súbita, formigamento, fraqueza ou perda de movimentos na face, braço ou perna. Ela também pode causar alterações súbitas na visão, problemas na fala, confusão, problemas com o caminhar ou se equilibrar e, uma dor de cabeça súbita e grave. Depois de um acidente vascular cerebral, um indivíduo pode sofrer de paralisia, comprometimento espacial, julgamento comprometido, negligência do lado esquerdo, perda de memória, afasia, problemas de coordenação e equilíbrio, náuseas, vômitos, comprometimento cognitivo, comprometimento de percepção, comprometimento de orientação, hemianopsia homônima e impulsividade.

[00121] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos que sofreram ou estão em risco de um acidente vascular cerebral.

[00122] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para prevenir ou tratar os efeitos de um acidente vascular cerebral. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos éster de forbol adicionais, farmacêuticamente aceitáveis sob a forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e

profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento de acidentes vasculares cerebrais e dos seus sintomas.

[00123] A hipertrofia da próstata causa sintomas em mais da metade dos homens em seus sessenta e tantos como 90 por cento em seus setenta e oitenta anos. Como a próstata aumenta, a camada de tecido circundante nela a impede de expandir, fazendo com que a glândula pressione contra a uretra. A parede da bexiga torna-se mais espessa e irritada e começa a se contrair, mesmo quando contém pequenas quantidades de urina, causando micção mais frequente. Eventualmente, a bexiga enfraquece e perde a capacidade de se esvaziar. (NIH Publication N.º 07-3012, 2006) Os sintomas mais comuns da hipertrofia da próstata são um fluxo fraco hesitante, interrompido; urgência e vazamento ou gotejamento; e micção mais frequente, especialmente à noite. Sintomas adicionais incluem gotejamento no final da micção, retenção urinária, esvaziamento incompleto da bexiga, incontinência, frequência urinária, dor ao urinar, sangue na urina, micção retardado ou atrasada, ou força para urinar.

[00124] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos que sofreram ou estão em risco para a hipertrofia da próstata.

[00125] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para a prevenção ou tratamento da hipertrofia da próstata. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos

terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos de éster de forbol, farmaceuticamente aceitáveis adicionais na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção para prevenção ou tratamento da hipertrofia da próstata e dos seus sintomas.

[00126] Distúrbios autoimunes são condições que ocorrem quando o sistema imune ataca erroneamente e destrói o tecido do corpo saudável. Em indivíduos com uma doença autoimune, o sistema imune não pode dizer a diferença entre o tecido do corpo saudável e antígenos. O resultado é uma resposta imune que destrói os tecidos normais do corpo. Em Miastenia Gravis, os anticorpos são dirigidos contra proteínas do próprio organismo. Os auto-anticorpos mais comumente atuam contra receptor de acetilcolina nicotínica (nAChR), o receptor na placa motora para o neurotransmissor acetilcolina que estimula a contração muscular. (Patrick J, Lindstrom J. Autoimmune response to acetylcholine receptor. Science (1973) 180:871-2.) Os sintomas de miastenia gravis incluem ptose, diplopia, comprometimento da fala, cansaço, fraqueza muscular, disfagia, ou disartria.

[00127] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de doenças autoimunes.

[00128] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz

para prevenir ou tratar doenças autoimunes, incluindo miastenia gravis. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos éster de forbol adicionais, farmacêuticamente aceitáveis sob a forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes quanto agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento de doenças autoimunes, incluindo miastenia gravis e dos seus sintomas.

[00129] A síndrome do túnel do carpo ocorre quando o nervo mediano, que vai do antebraço até a palma da mão, torna-se pressionado ou espremido no punho. Às vezes, espessamento de tendões irritados ou outros inchaços diminuem o túnel e fazem com que o nervo mediano seja compactado. O resultado pode ser dor, fraqueza ou dormência na mão e punho, irradiando-se ao braço. Embora sensações dolorosas possam indicar outras condições, a síndrome do túnel do carpo é a mais comum e amplamente conhecida das neuropatias de armadilha na qual os nervos periféricos do corpo são compactados ou traumatizados. (NIH Publication N.º 03-4898, 2002)

[00130] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de síndrome do túnel do carpo.

[00131] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são

efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para prevenir ou tratar a síndrome do túnel do carpo. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos éster de forbol adicionais, farmaceuticamente aceitáveis sob a forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos, e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento do carpo, síndrome do túnel do carpo.

[00132] A doença renal crônica são condições que danificam os rins e diminuem sua capacidade de regular o equilíbrio de água e eletrólitos, descarga de resíduos metabólicos e secretar hormônios essenciais ao corpo humano. Os sintomas da doença renal incluem a incontinência urinária, aumento da excreção de urina, uremia, e oligúria.

[00133] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de doença renal.

[00134] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para a prevenção ou o tratamento de doença renal. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes

terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos éster de forbol adicionais, farmaceuticamente aceitáveis na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são eficazes como agentes terapêuticos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento da doença renal e sintomas dos mesmos.

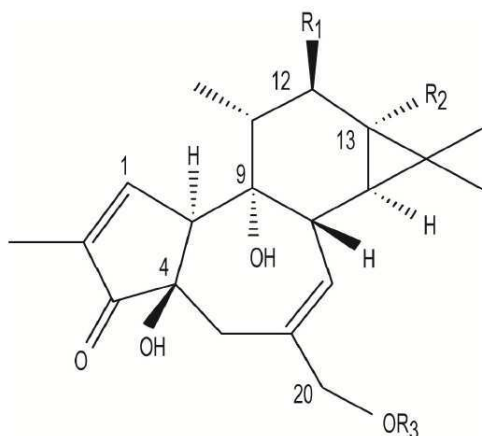
[00135] A incontinência urinária é um problema comum e muitas vezes embaraçoso. A gravidade pode variar de vez em quando com vazamento de urina ao tossir ou espirrar, a perder o controle completo. A incontinência urinária pode ser provocada por uma variedade de condições, incluindo infecção, a gravidez, o envelhecimento, pedras na bexiga, câncer da próstata, câncer da bexiga, obstrução, prostatite, histerectomia, e medicação. Ele pode ser transitória ou permanente.

[00136] Os sujeitos mamíferos suscetíveis ao tratamento com ésteres de forbol de Fórmula I, particularmente TPA, de acordo com os métodos da presente invenção incluem, entre outros, sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de incontinência urinária.

[00137] Nos métodos e composições da invenção, um ou mais compostos de éster de forbol de Fórmula I, como aqui descrito são efetivamente formulados ou administrados como um agente eficaz para a prevenção ou tratamento da incontinência urinária. Em modalidades exemplificativas, TPA é demonstrado para fins ilustrativos para ser um agente eficaz em formulações farmacêuticas e métodos terapêuticos, isoladamente ou em combinação com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos. A presente divulgação fornece ainda compostos de éster de forbol farmaceuticamente aceitáveis adicionais na forma de um composto nativo ou sintético, incluindo complexos, derivados, sais, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, e

profármacos dos compostos aqui descritos e as combinações dos mesmos, que são agentes terapêuticos efetivos dentro dos métodos e composições da invenção na prevenção ou tratamento de incontinência urinária e dos seus sintomas.

[00138] Forbol é um álcool policíclico de origem vegetal natural da família tigliano de diterpenos. Ele foi isolado pela primeira vez em 1934 como o produto da hidrólise de óleo de cróton derivado das sementes de *Croton tiglium*. É bem solúvel na maior parte dos solventes orgânicos polares e em água. Os ésteres de forbol têm a estrutura geral de Fórmula I, abaixo:

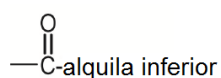


Fórmula I

em que R_1 e R_2 são selecionados do grupo que consiste em hidrogênio;

hidroxila; —O—C(=O)—alquila , em que o grupo alquil contém 1 a 15

átomos de carbono, $\text{—O—C(=O)—alquenila inferior}$, —O—C(=O)—fenil , —O—C(=O)—benzil e derivados substituídos dos mesmos e R_3 podem ser hidrogênio,



ou derivados substituídos dos mesmos.

[00139] O termo "alquila inferior" ou "alquenila inferior", como aqui utilizado, significa radicais contendo 1-7 átomos de carbono. Nos compostos da Fórmula I, os grupos alquil ou alquenil podem ser de

cadeia linear ou ramificada. Em algumas modalidades, um ou ambos R_1 ou R_2 são um radical de carbono de cadeia longa (isto é, Fórmula I é decanoato ou miristato).

[00140] Os grupos alquila, alquenila, fenila e benzila das fórmulas aqui podem ser substituídos ou substituídos com átomos de halogênio, preferencialmente, cloro, flúor ou bromo; nitro; amino e radicais de tipo semelhante.

[00141] Formas orgânicas e sintéticas de ésteres de forbol, incluindo as preparações ou extratos de fontes de ervas, como *cróton tiglium* são contemplados como composições úteis, compreendendo ésteres de forbol (ou análogos de éster de forbol, compostos e/ou derivados com estes relacionados) para uso dentro das modalidades aqui. Ésteres de forbol de interesse e/ou de compostos relacionados para uso nas modalidades aqui tipicamente terão uma estrutura como ilustrada na Fórmula I, embora análogos funcionalmente equivalentes, complexos, conjugados, e os derivados de tais compostos também serão apreciados por aqueles especialistas na técnica como dentro do escopo da invenção.

[00142] Em modalidades mais detalhados, as modificações estruturais ilustrativas de acordo com a Fórmula I acima, serão selecionadas para fornecer compostos candidatos úteis para o tratamento e/ou prevenção de HIV e AIDS e/ou de doenças neoplásicas, em que: pelo menos um de R_1 e R_2 são diferentes de hidrogênio e R_3 é selecionado de entre o grupo que consiste em

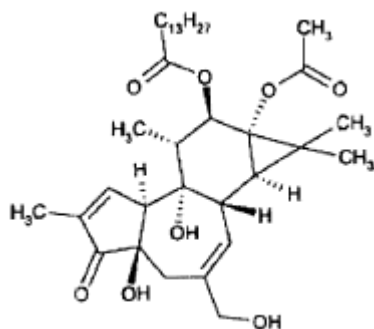
hidrogênio, $\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{—alquila inferior}$ e seus substituídos dos mesmos. Em outra

modalidade, R_1 ou R_2 é $\text{—}\text{O—}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{—C}_{15}\text{—alquila}$ os demais R_1 ou R_2 são

$\text{—}\text{O—}\overset{\text{O}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{—alquila inferior}$ e R_3 é hidrogênio.

[00143] Uma modalidade exemplar de um composto de éster de

forbol de Fórmula I úteis no tratamento de doenças citopáticas como HIV e da AIDS e/ou doenças neoplásicas, particularmente AML, é encontrada em forbol 12-miristato-13-acetato (também conhecida como PMA ou 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetato (TPA)) mostrado na Fórmula II, abaixo.



Fórmula II

[00144] Os ésteres de forbol adicionais úteis adicionais e compostos e derivados e nas formulações e os métodos da invenção incluem, entre outros, outros sais farmacologicamente ativos aceitáveis de ditos compostos, bem como isômeros ativos, enantiômeros, polimorfos, derivados glicosilados, solvatos, hidratos, e/ou profármacos de ditos compostos. Outros exemplos de formas de ésteres de forbol para utilização nas composições e métodos da invenção incluem, entre outros, forbol 13-butirato; forbol 12-decanoato; forbol 13-decanoato; forbol 12,13-diacetato; forbol 13,20-diacetato; forbol 12,13-dibenzoato; forbol 12,13-dibutirato; forbol 12,13-didecanoato; forbol 12,13-di-hexanoato; forbol 12,13-dipropionato; forbol 12-miristato; forbol 13-miristato; forbol 12,13,20-triacetato; 12-deoxiforbol 13-angelato; 12-deoxiforbol 13-angelato 20-acetato; 12-deoxiforbol 13-isobutirato; 12-deoxiforbol 13-isobutirato-20-acetato; 12-deoxiforbol 13-fenilacetato; 12-deoxiforbol 13-fenilacetato de 20-acetato; 12-deoxiforbol 13-tetradecanoato; forbol 12-tigliato 13-decanoato; 12-deoxiforbol 13-acetato; forbol 12-acetato; e forbol 13-acetato.

[00145] As composições de éster de forbol aqui compreendem

composições para tratar HIV e AIDS que compreendem uma quantidade anti-AIDS eficaz de um composto de éster de forbol de Fórmula I, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento do HIV, a AIDS, e/ou sintomas relacionados com o HIV, incluindo infecções oportunistas, em um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "anti-HIV", "anti-AIDS", ou "tratamento de AIDS" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica, para aliviar de modo mensurável um ou mais sintomas de AIDS em um sujeito, e/ou para aliviar um ou mais sintomas ou condições associadas com infecção por HIV no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para aliviar os sintomas da AIDS ou outras condições relacionadas com o HIV em humanos e outros sujeitos mamíferos vulneráveis à infecção pelo HIV.

[00146] As composições de éster de forbol aqui, adicionalmente, podem compreender composições quimioterápicas, compreendendo uma quantidade anti-neoplásica eficaz de um éster de forbol ou composto derivado da Fórmula I, que é eficaz para a manutenção e tratamento de malignidades ou de sintomas causados pelo câncer em um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "quimioterápico", "anti-tumor", "tratamento de câncer", "indutor de apoptose", "indutor de remissão", "manter a remissão" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica para aliviar de modo mensurável um ou mais sintomas da doença maligna em um indivíduo, e/ou para aliviar um ou mais sintomas ou condições associadas com malignidade no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para aliviar os sintomas de

condições relacionadas com a doença neoplásica em humanos e outros sujeitos mamíferos vulneráveis às malignidades.

[00147] As composições como aqui descritas compreendem composições de proteção de quimioterapia que compreendem uma quantidade eficaz de um composto de éster de forbol de Fórmula I para prevenir ou aliviar os efeitos colaterais da quimioterapia. Uma quantidade eficaz de composto ativo "quimiotetor", "anti-inflamatório", "estimulante de neutrófilos," "estimulante da eritropoiese", "inibição de reabsorção óssea," "fortalecimento dos ossos", "anti-emético," "aliviar a dor" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um período especificado de intervenção terapêutica para aliviar de modo mensurável um ou mais dos efeitos colaterais de quimioterapia em um paciente. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para aliviar os efeitos colaterais da quimioterapia em humanos e outros sujeitos mamíferos sujeitos a quimioterapia.

[00148] As composições como aqui descritas compreendem composições de proteção da radioterapia, compreendendo uma quantidade eficaz de um composto de éster de forbol de Fórmula I para prevenir ou aliviar os efeitos colaterais da radioterapia. Uma quantidade eficaz do composto ativo "radiação de proteção", "radioprotetora", "anti-inchaço". "citoprotetores", "anti-mucosite", "estímulo epitelial", "anti-fibrótico", "estimular plaquetas" é terapeuticamente eficaz, em forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica para aliviar de modo mensurável um ou mais dos efeitos colaterais dos quimioterapia em um sujeito. Nas modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para aliviar os efeitos colaterais da radioterapia em humanos e outros

sujeitos mamíferos submetidos à radioterapia.

[00149] As composições como aqui descritas compreendem composições para o tratamento de acidente vascular cerebral compreendendo uma quantidade eficaz para aliviar ou prevenir um dano do acidente vascular cerebral de um composto de éster de forbol de Fórmula I, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento de acidentes vasculares cerebrais ou sintomas ou sequelas de acidente vascular cerebral relacionadas em um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo para "tratar acidente vascular cerebral", "anti-coagulação," "anticoolesterolêmicos," "vasodilatar", "anti-hipertensivo," "neuroprotetor" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica para aliviar de modo mensurável um ou mais sintomas ou sequelas de acidente vascular cerebral no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para prevenir ou aliviar os sintomas de acidente vascular cerebral ou sequelas de acidente vascular cerebral em humanos e outros sujeitos mamíferos vulneráveis ou que sofreram um acidente vascular cerebral.

[00150] As composições como aqui descritas compreendem ainda o tratamento da doença de Parkinson, as composições que compreendem uma quantidade eficaz de um composto de éster de forbol de Fórmula I que é eficaz para a profilaxia da e/ou tratamento da doença de Parkinson ou sintomas relacionados em um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "tratar doença de Parkinson", "aumentar a dopamina," "inibir catecol-O-metil transferase", "inibir ácido L-amino aromático descarboxilase, "agonista da dopamina", "neuroprotetor", ou "anticolinérgica" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica para

aliviar de forma mensurável ou prevenir um ou mais dos sintomas da doença de Parkinson no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para prevenir ou aliviar os sintomas da doença de Parkinson em humanos e outros sujeitos mamíferos que sofrem de, ou estão em risco de doença de Parkinson.

[00151] As composições como aqui descritas compreendem, adicionalmente, as composições para o tratamento da hipertrofia da próstata que compreendem uma quantidade eficaz de um éster de forbol de um composto de Fórmula I, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento da hipertrofia da próstata ou sintomas relacionados ou sequelas de um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "tratar hipertrofia da próstata", "inibir 5-alfa-redutase tipo II," ou "relaxante muscular" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica, para de modo mensurável aliviar um ou mais sintomas ou sequelas da hipertrofia da próstata no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para prevenir ou aliviar os sintomas da hipertrofia da próstata ou sequelas em humanos e outros sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco para a hipertrofia da próstata.

[00152] As composições como aqui descritas compreendem ainda composições para o tratamento da artrite reumatoide compreendendo quantidades eficazes antirreumatoides de um éster de forbol de um composto de Fórmula I, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento de artrite reumatoide ou sintomas relacionados em um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "antirreumatoide," "anti-inflamatório", "imunossupressor, "inibidor de TNF", "antibióticos", "inibidor da calcineurina," "inibidor da síntese de pirimidina", "inibidor

de 5-LO," "antifolato", "agonista de receptor IL-1", ou "inibidor de coestimulação de células T" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica para aliviar de modo mensurável um ou mais sintomas da artrite reumatoide no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes no método de tratamento para prevenir ou aliviar os sintomas da artrite reumatoide em humanos e outros sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco para a artrite reumatoide.

[00153] As composições como aqui descritas compreendem, adicionalmente, composições para o tratamento da doença autoimune compreendendo uma doença autoimune, uma quantidade eficaz de éster de forbol de um composto de Fórmula I para tratar uma doença autoimune, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento de uma doença autoimune, como miastenia gravis ou sintomas relacionados ou sequelas de um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "tratando distúrbio autoimune", "tratando miastenia gravis", "imunossupressor", "supressor de anticorpo", ou "inibidor da colinesterase" é terapeuticamente eficaz, em uma forma única ou múltipla de unidade de dosagem, ao longo de um determinado período de intervenção terapêutica, para aliviar de modo mensurável um ou mais sintomas ou sequelas de doença autoimune, miastenia gravis especificamente no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para prevenir ou aliviar os sintomas de miastenia gravis em humanos e outros sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de miastenia gravis.

[00154] As composições como aqui descritas compreendem, adicionalmente, o tratamento da doença renal composições que compreendem uma quantidade eficaz de um éster de forbol de um

composto de Fórmula I, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento de doença renal ou sintomas ou sequelas relacionadas em um mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "tratando doença renal," "anticolinérgico", "antidepressivo" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica para aliviar de modo mensurável um ou mais sintomas ou sequelas da doença renal, incluindo incontinência no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para prevenir ou aliviar sintomas de doença renal em humanos e outros sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de doença renal.

[00155] As composições como aqui descritas compreender adicionalmente as composições para o tratamento da incontinência urinária que compreendem uma quantidade eficaz de um éster de forbol de um composto de Fórmula I, que é eficaz para a profilaxia e/ou tratamento da incontinência urinária em um sujeito mamífero. Uma quantidade eficaz do composto ativo "aumentando a continência", "anticolinérgico". "antibiótico", ou "antidepressivo" é terapeuticamente eficaz, em uma forma de unidade de dosagem única ou múltipla, durante um determinado período de intervenção terapêutica, de forma mensurável para aliviar um ou mais sintomas de incontinência urinária no sujeito. Dentro de modalidades exemplares, as composições da invenção são eficazes em métodos de tratamento para prevenir ou aliviar os sintomas de incontinência urinária em humanos e outros sujeitos mamíferos que têm ou estão em risco de doença renal.

[00156] O éster de forbol tratando, incluindo quimioterápico, quimioprotetor, radioprotetor, atenuar acidente vascular cerebral, doença de Parkinson, tratando hipertrofia da próstata tratamento, tratando artrite reumatoide, antienvelhecimento, tratando doença renal, aumentar a continência, tratando doença autoimune, e tratando HIV,

composições da invenção compreendem, tipicamente, uma quantidade eficaz ou dosagem unitária de um composto de éster de forbol de Fórmula I, que pode ser formulado com um ou mais carreadores farmacologicamente aceitáveis, excipientes, veículos, emulsificantes, estabilizantes, conservantes, tampões, e/ou outros aditivos que podem aumentar a estabilidade, a liberação, absorção, meia-vida, eficácia, farmacocinética, e/ou farmacodinâmica, reduzir os efeitos colaterais adversos, ou proporcionar outras vantagens para utilização farmacêutica. As quantidades eficazes de um composto de éster de forbol ou composto relacionado ou derivado de Fórmula I (por exemplo, uma dose unitária compreendendo uma concentração/quantidade eficaz de TPA, ou de um sal farmacologicamente aceitável selecionado, isômero, enantiômero, solvato, polimorfo e/ou profármaco de TPA) serão prontamente determinadas pelos especialistas na técnica, em função de fatores clínicos e específicos do paciente. As quantidades de dosagem unitárias eficazes adequadas dos compostos ativos para administração aos sujeitos mamíferos, incluindo seres humanos, podem variar entre cerca de 10 e cerca de 1500 µg, cerca de 20 a cerca de 1000 µg, cerca de 25 a cerca de 750 µg, cerca de 50 a cerca de 500 µg, cerca de 150 a cerca de 500 µg, cerca de 125 µg a cerca de 500 µg, cerca de 180 a cerca de 500 µg, cerca de 190 a cerca de 500 µg, cerca de 220 a cerca de 500 µg, cerca de 240 a cerca de 500 µg, cerca de 260 a cerca de 500 µg, cerca de 290 a cerca de 500 µg. Em certas modalidades, a dosagem eficaz de um composto de éster de forbol para tratamento da doença ou composto relacionado ou derivado de Fórmula I pode ser selecionado dentro de limites mais estreitos, por exemplo, 10 a 25 µg, 30 a 50 µg, 75 a 100 µg, 100 a 300 µg, ou 150 a 500 µg. Estas e outras quantidades de dosagem unitária eficazes podem ser administradas em uma dose unitária, ou na forma

de múltiplas doses diárias, semanais ou mensais, por exemplo, em um regime de dosagem que compreende de 1 a 5, ou 2 a 3 doses administradas por dia, por semana, ou por mês. Em uma modalidade exemplar, as dosagens de 10 a 30 µg, de 30 a 50 µg, 50 a 100 µg, 100 a 300 µg, ou 300 a 500 µg, são administradas uma, duas, três, quatro, ou cinco vezes por dia. Em modalidades mais detalhadas, as dosagens de 50-100 µg, 100-300 µg, 300-400 µg ou 400-600 µg são administradas uma vez ou duas vezes por dia. Em outra modalidade, as dosagens de 50-100 µg, 100-300 µg, 300-400 µg, ou 400-600 µg são administradas em dias alternados. Em modalidades alternativas, as dosagens são calculadas com base no peso corporal, e podem ser administradas, por exemplo, em quantidades de cerca de 0,5 µg/m² a cerca de 300 µg/m² por dia, cerca de 1 µg/m² a cerca de 200 µg/m², a cerca de 1 µg/m² a cerca de 187,5 µg/m² por dia, cerca de 1 µg/m² por dia a cerca de 175 µg/m² por dia, cerca de 1 µg/m² por dia a cerca de 157 µg/m² por dia, cerca de 1 µg/m² a cerca de 125 µg/m² por dia, cerca de 1 µg/m² a cerca de 75 µg/m² por dia, 1 µg/m² a cerca de 50 µg/m² por dia, 2 µg/m² a cerca de 50 µg/m² por dia, 2 µg/m² a cerca de 30 µg/m² por dia ou 3 µg/m² a cerca de 30 µg/m² por dia.

[00157] Em outras modalidades, as dosagens podem ser administradas menos frequentemente, por exemplo, 0,5 µg/m² a cerca de 300 µg/m² a cada dois dias, cerca de 1 µg/m² a cerca de 200 µg/m², cerca de 1 µg/m² a cerca de 187,5 µg/m² a cada dois dias, cerca de 1 µg/m² a cerca de 175 µg/m² a cada dois dias, cerca de 1 µg/m² por dia a cerca de 157 µg/m² a cada dois dias a cerca de 1 µg/m² a cerca de 125 µg/m² a cada dois dias, a cerca de 1 µg/m² a cerca de 75 µg/m² a cada dois dias, 1 µg/m² a cerca de 50 µg/m² a cada dois dias, 2 µg/m² a cerca de 50 µg/m² a cada dois dias, 2 µg/m² a cerca de 30 µg/m² por dia ou 3 µg/m² a cerca de 30 µg/m² por dia. Em modalidades adicionais, as dosagens podem ser administradas 3 vezes/semana, 4

vezes/semana, 5 vezes/semana, apenas nos dias de semana, apenas em conjunto com outros regimes de tratamento, em dias consecutivos, ou em qualquer regime de dosagem adequado, dependendo do paciente e fatores clínicos específicas.

[00158] A quantidade, tempo e modo de liberação das composições da invenção compreendendo uma quantidade eficaz de tratamento de doença citopática de um composto de éster de forbol de Fórmula I (tratamento de AIDS, prevenção de HIV, tratamento de HIV, ativação de reservatório de HIV, aumento de citocina Th1, indução de fosforilação de ERK, quimioterápicos, antitumor, tratamento de câncer, indução de remissão, manutenção de remissão, quantidade eficaz de indução de apoptose) serão ajustadas regularmente numa base individual, dependendo de fatores como peso, idade, sexo e condição do indivíduo, a intensidade da doença citopática e/ou sintomas relacionados, se a administração é profilática ou terapêutica, e em função de outros fatores conhecidos para efetuar a liberação de fármacos, a absorção, farmacocinética, incluindo meia-vida e a eficácia.

[00159] Uma dose eficaz ou regime de tratamento em doses múltiplas para o tratamento da doença imediata (alternativamente, "tratamento de AIDS", "tratamento de HIV", "prevenção do HIV", "ativação de reservatório de HIV", ou "aumento de citocina Th1", "indução de fosforilação de ERK", "quimioterápico", "antitumor", "tratamento de câncer", "indução de apoptose", "indução de remissão", "manutenção de remissão", "quimioprotetor", "anti-inflamatório", "estimulação de neutrófilos", "estimulação de eritropoiese," "inibição de reabsorção óssea", "fortalecimento de ossos", "antiemético", "alívio da dor", "radiação de proteção", "anti-inchaço", "citoprotetor", "anti-mucosite", "estimulante epitelial", "anti-fibrótica", "estimulante de plaquetas", "tratamento de acidente vascular cerebral",

"anticoagulante", "anticolesterolêmicos", "vasodilatador", "anti-hipertensivo," "tratamento de doença de Parkinson", "aumentar dopamina", "inibir catecol-O-metil-inibidora transferase", "inibir L-amino ácido aromático descarboxilase", "agonista da dopamina", "neuroprotetor", "anticolinérgica", "tratar hipertrofia da próstata", "inibidor de 5-alfa-redutase tipo II", "relaxante muscular", "antiartrite", "anti-inflamatório", "imunossupressor", "inibir TNF", "antibióticos", "inibidor de calcineurina", "inibidor da síntese de pirimidina", "inibidor de 5-LO", "antifolato", "antagonista do receptor de IL-1", "inibidor de coestimulação das células T", "tratar doença autoimune", "tratar miastenia gravis", "imunossupressora", "supressor de anticorpos", "inibidor da colinesterase", "tratamento de doença renal", "aumentar a continência", "antidepressivo") de formulações da invenção serão comumente selecionadas para aproximar um regime de dosagem mínima que é necessária e suficiente para prevenir ou aliviar substancialmente os sintomas da doença, incluindo a AIDS ou doenças neoplásicas, como câncer e doenças oportunistas relacionadas, acidente vascular cerebral, doença autoimune, doença renal, incontinência urinária, doença de Parkinson, síndrome do túnel do carpo, ou hipertrofia da próstata, no sujeito, e/ou para prevenir substancialmente ou aliviar um ou mais sintomas associados com a AIDS, as doenças neoplásicas, como câncer, acidente vascular cerebral, doenças autoimunes, envelhecimento, incontinência urinária, doença renal, doença de Parkinson, síndrome de túnel do carpo, hipertrofia da próstata, tratamento de quimioterapia ou radioterapia no sujeito. Um protocolo de dosagem e administração, muitas vezes, inclui a terapia de dose repetida ao longo de um curso de vários dias ou até mesmo uma ou mais semanas ou anos. Um regime de tratamento eficaz pode também envolver a dosagem profilática administrada em uma base diária ou múltiplas doses por dia durando

dias, semanas, meses ou mesmo anos.

[00160] Vários ensaios e sistemas de modelo podem ser prontamente utilizados para determinar a efetividade terapêutica do tratamento de doenças citopáticas. Por exemplo, no tratamento do HIV ou AIDS efetividade pode ser demonstrado por uma redução na carga viral, um aumento na contagem de CD4, um aumento na contagem de CD3, um aumento na produção de IL-2 e produção de IFN, uma diminuição na produção de IL-4 e IL-10, e uma redução ou eliminação dos sintomas de AIDS entre outros métodos de determinação da eficácia conhecida dos especialistas na técnica.

[00161] A efetividade das composições e métodos da invenção pode ser demonstrada, por exemplo, através de testes de sangue para anticorpos anti-HIV, carga viral, níveis de CD4, contagem de CD8, e contagens de CD3. Os níveis normais de CD4 são geralmente entre 600 e 1200 por microlitro, ou 32-68% dos linfócitos. Os sujeitos com uma contagem de CD4 inferior a 350 têm um sistema imune enfraquecido. Aqueles com uma contagem de CD4 inferior a 200 são considerados como tendo AIDS. Níveis de CD8 em um indivíduo saudável são geralmente entre 150-1000 por microlitro. Níveis de CD3 em um indivíduo saudável são geralmente entre cerca de 885-2270 por microlitro. Níveis de CD3, CD4 e CD8 podem ser medidos, por exemplo, utilizando citometria de fluxo. As quantidades eficazes das composições da invenção irão aumentar os níveis de células positivas para CD3, CD4 e CD8, pelo menos, 10%, 20%, 30%, 50% ou maior redução, até 75-90%, ou 95% ou maior. As quantidades eficazes também irão mover o perfil de CD3, CD4 e CD8 de um indivíduo para a categoria ideal para cada tipo de glicoproteína.

[00162] Os indivíduos podem também ser avaliados usando um teste beta₂-microglobulina (beta₂-M). Beta₂-microglobulina é uma proteína liberada no sangue quando uma célula morre. Um nível

sanguíneo de β_2 -M crescente pode ser usado para medir a progressão da AIDS. As quantidades eficazes de uma composição da presente invenção levarão a uma redução ou cessação do aumento da quantidade de β_2 -M.

[00163] A efetividade pode ainda ser demonstrada através de um hemograma completo (CBC). As medidas tomadas em uma CBC incluem uma contagem de glóbulos brancos (WBC), uma contagem de glóbulos vermelhos (RBC), da largura de distribuição dos eritrócitos, o hematócrito e a quantidade de hemoglobina. Sinais relacionados com a AIDS específicos em um CBC incluem um hematócrito baixo, uma diminuição acentuada do número de plaquetas sanguíneas, e um baixo nível de neutrófilos. Uma quantidade eficaz de uma composição da presente invenção irá aumentar os níveis medidos em uma contagem completa do sangue em 10%, 20%, 30%, 50% ou maior aumento, até 75-90%, ou 95% ou maior. As quantidades eficazes também irão mover a proteína do sangue de um indivíduo na direção da categoria ideal para cada tipo de proteína.

[00164] A efetividade das composições e métodos da invenção pode também ser demonstrada por uma diminuição nos sintomas de HIV ou AIDS, incluindo, entre outros, lesões orais, fadiga, aftas da pele, febre, perda de apetite, diarreia, úlceras aftosas, má absorção, trombocitopenia, perda de peso, anemia, e linfonodomegalia.

[00165] A efetividade das composições e métodos da invenção pode também ser demonstrada por uma diminuição da susceptibilidade e gravidade das condições secundárias ou oportunistas, como *Mycobacterium avium*, salmonelose, sífilis, neurosífilis, tuberculose (TB), angiomatose bacilar, aspergilose, candidíase, micose, listeriose, doença inflamatória pélvica, linfoma de Burkitt, meningite criptocócica, histoplasmose, sarcoma de Kaposi, linfoma, linfoma sistêmico não Hodgkin (NHL), linfoma primário do

CNS, criptosporidiose, isosporíase, microsporidiose, pneumonia por *Pneumocystis carinii* (PCP), toxoplasmose, citomegalovírus (CMV), hepatite, herpes simples, herpes zoster, vírus do papiloma humano (HPV, verrugas genitais, câncer cervical), molluscum contagiosum, leucoplasia pilosa oral (OHL) e leucoencefalopatia multifocal progressiva (PML).

[00166] A efetividade pode ser adicionalmente demonstrada por redução do HIV detectável no sujeito infectado com HIV; manter uma contagem normal de células T; ou manter níveis normais de antígeno p24.

[00167] A efetividade no tratamento de doenças neoplásicas pode também ser determinada por uma série de métodos, como, entre outros, Escala de desempenho ECOG, a escala de desempenho de Karnofsky, o exame microscópico das células do sangue, aspirado de medula óssea e biópsias, análise citogenética, biópsia, imunofenotipagem, estudos de química de sangue, um hemograma completo, biópsia de linfonodo, esfregaço de sangue periférico, análise visual de um tumor ou lesão, ou qualquer outro método de avaliação e/ou diagnóstico de neoplasias malignas e progressão do tumor conhecidos dos especialistas na técnica.

[00168] Por exemplo, a efetividade das composições e métodos aqui no tratamento de malignidades hematológicas/distúrbios de medula óssea pode ser avaliada utilizando, uma contagem de neutrófilos absolutos (ANC). Uma ANC normal é entre 1.500 a 8000/mm³. Os sujeitos que sofrem de malignidades hematológicas/doenças da medula óssea têm frequentemente uma ANC abaixo de 1500/mm³, e pode até mesmo chegar a níveis abaixo de 500/mm³. As quantidades eficazes das composições e métodos aqui aumentarão a ANC de um indivíduo de 10%, 20%, 30%, 50% ou maior aumento, até um 75-90%, ou 95% ou maior. Quantidades

eficazes podem aumentar os níveis do ANC acima 1.500/mm³.

[00169] A efetividade das composições e métodos aqui no tratamento de malignidades hematológicas/distúrbios de medula óssea pode ainda ser avaliada utilizando, por exemplo, uma contagem de plaquetas. A contagem de plaquetas é normalmente entre 150.000 a 450.000 plaquetas por microlitro ($\times 10^{-6}$ /Litro). Os sujeitos que sofrem de malignidades hematológicas/distúrbio da medula óssea podem ter contagem de plaquetas abaixo de 100.000 por microlitro. As quantidades eficazes das composições e métodos aqui aumentarão a contagem de plaquetas de um indivíduo de 10%, 20%, 30%, 50% ou maior aumento, até um 75-90%, ou 95% ou maior. Quantidades eficazes podem aumentar os níveis de plaquetas acima de 100.000 por microlitro

[00170] A efetividade das composições e métodos aqui no tratamento de malignidades hematológicas/distúrbios de medula óssea pode, adicionalmente, ser avaliada, por exemplo, através da medição do número de mieloblastos. Mieloblastos normalmente representarão menos do que 5% das células na medula óssea, mas não deverão estar presentes no sangue em circulação. As quantidades eficazes das composições e métodos aqui diminuirão o número de mieloblastos em 10%, 20%, 30%, 50% ou mais, até um 75-90%, 96% ou maior redução. As quantidades eficazes podem diminuir mieloblastos para abaixo de 5%.

[00171] A efetividade das composições e métodos aqui no tratamento de malignidades hematológicas/distúrbios de medula óssea pode ainda ser avaliada examinando mieloblastos para a presença de hastes Auer. As quantidades eficazes das composições da presente invenção diminuirão o número de hastes Auer visíveis em 10%, 20%, 30%, 50% ou mais, até um 75-90%, 96% ou maior redução até a eliminação completa de hastes Auer.

[00172] A efetividade das composições e métodos da invenção pode também ser demonstrada por uma diminuição nos sintomas de sujeitos que sofrem de distúrbios de doença neoplástica, incluindo, entre outros, a anemia; fadiga crônica; sangramento excessivo ou fácil, como sangramento do nariz, gengivas, e sob a pele; contusões fáceis, particularmente hematomas sem causa aparente; falta de ar; petéquias; febre recorrente; gengivas inchadas; cicatrização lenta de cortes; dor óssea e nas articulações; infecções recorrentes; perda de peso; comichão; suores noturnos; linfonodo inchado; febre; dor e desconforto abdominal; distúrbios na visão; tosse; perda de apetite; dor no peito; dificuldade em engolir; inchaço da face, pescoço e membros superiores; uma necessidade de urinar com frequência, especialmente à noite; dificuldade para iniciar a micção ou retenção urinária; fluxo fraco ou interrompido de urina; dor ou ardor ao urinar; dificuldade em ter uma ereção; ejaculação dolorosa; sangue na urina ou sêmen; frequente dor ou rigidez na parte inferior das costas, quadris ou coxas; e fraqueza.

[00173] A efetividade das composições e métodos da invenção pode também ser demonstrada por uma diminuição nos sintomas de tratamento quimioterápico, incluindo, entre outros, a alopecia, náuseas, vômitos, perda de apetite, dores, neutropenia, anemia, trombocitopenia, tonturas, fadiga, constipação, úlceras orais, comichão na pele, descamação, lepra nervosa e muscular, alterações auditivas, problemas com sangue, perda de peso, diarreia, imunossupressão, contusões fáceis, tendência para sangrar facilmente, dano cardíaco, dano hepático, dano renal, vertigem e encefalopatia.

[00174] A efetividade das composições e métodos da invenção pode também ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas que acompanham a radioterapia, incluindo, entre outros, descamação úmida, dor, diarreia, náuseas, vômitos, perda de apetite, prisão de

ventre, prurido pele, descamação, feridas na boca e garganta, edema, infertilidade, fibrose, depilação e secura da mucosa em comparação com outros que receberam tratamentos de radioterapia semelhantes.

[00175] A efetividade no tratamento da artrite reumatoide pode ser demonstrada, por exemplo, por meio de uso de uma variedade de modelos animais, incluindo artrite induzida por colágeno, como descrito abaixo no Exemplo 30, a artrite induzida por pristano, artrite induzida por adjuvante, artrite induzida por parede de células de estreptococos, artrite induzida por ovalbumina, artrite induzida por antígeno, ou o modelo de bolsa de ar.

[00176] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento da artrite reumatoide pode também ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas da artrite reumatoide, incluindo, entre outros, dor nas articulações, rigidez, particularmente na parte da manhã, ou depois de se sentar por longos períodos de tempo, o inchaço das articulações, febre, dores musculares, inflamação das articulações, e nódulos reumatoides.

[00177] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento da artrite reumatoide pode também ser demonstrada por uma alteração na taxa de sedimentação de eritrócitos. Sujeitos com artrite reumatoide frequentemente têm níveis elevados de sedimentação de eritrócitos. Uma quantidade eficaz das composições da invenção diminui os níveis de sedimentação de eritrócitos de 10%, 20%, 30%, 50% ou mais, até um 75-90%, 96% ou maior redução nos níveis de diagnóstico iniciais de sedimentação de eritrócitos. A efetividade pode também ser demonstrada por uma alteração nos níveis de fator reumatoide e anticorpos anti-citrulinados cíclicos.

[00178] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento da doença de Parkinson pode ser demonstrada por uma diminuição nos sintomas de Parkinson, incluindo, entre outros,

tremores, bradicinesia, rigidez, perda da fala, instabilidade postural e demência. Efetividade dos compostos de éster de forbol da presente invenção no tratamento da doença de Parkinson pode ser adicionalmente demonstrada por um aumento nos níveis de dopamina e/ou noradrenalina. Tais níveis podem aumentar a 10%, 20%, 30%, 50% ou maior aumento, até um 75-90%, ou 95% ou mais dos níveis normais.

[00179] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento da doença de Parkinson pode ser adicionalmente demonstrada por um decréscimo na presença de corpos de Lewy. A efetividade pode também demonstrada através da utilização de modelos animais, como Parkinson induzida por MPTP, Parkinson induzida por retenone, Parkinson induzida cirurgicamente, Parkinson induzida por paraquat, Parkinson induzida por 6-OHDA, ou camundongos que super expressam sinucleína. O uso das composições e métodos da presente invenção diminuirão os sintomas da doença de Parkinson expressa nestes modelos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até um 75-90%, 96% ou maior redução sobre os animais controle.

[00180] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento de acidente vascular cerebral pode ser demonstrada utilizando uma variedade de sistemas de modelos, incluindo a oclusão da artéria cerebral média temporária, como mostrado no Exemplo 22, a oclusão permanente da artéria cerebral média como mostrado no Exemplo 21, oclusão da artéria cerebral média por filamento endovascular, oclusão da artéria cerebral média embólico como mostrado no Exemplo 20, a constrição induzida por endotelina-1 de artérias e veias, ou fototrombose cerebrocortical. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados pelos sistemas modelo em 0%, 20%, 30%,

50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução sobre os animais de controle.

[00181] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento de acidente vascular cerebral pode ser adicionalmente demonstrada por um decréscimo nos sintomas exibidos em sujeitos que sofreram um acidente vascular cerebral. Tais sintomas incluem, entre outros, paralisia, comprometimento espacial, julgamento comprometido, negligência do lado esquerdo, perda de memória, afasia, problemas de coordenação e equilíbrio, náuseas, vômitos, comprometimento cognitivo, comprometimento de percepção, comprometimento de orientação, hemianopsia homônima e impulsividade. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados por sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução de mais de estados iniciais.

[00182] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento da hipertrofia de próstata pode ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas associados com a hipertrofia da próstata, incluindo, entre outros, fluxo hesitante, interrompido, fraco; urgência e vazamento ou gotejamento; micção mais frequente; gotejamento ao final de micção; retenção urinária; esvaziamento incompleto da bexiga; incontinência; aumento da frequência urinária; dor ao urinar; sangue na urina; micção retardada ou atrasada; ou força para urinar. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados por sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução sobre estados iniciais.

[00183] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento da hipertrofia de próstata pode ser adicionalmente demonstrada por meio da utilização de vários ensaios, como o teste de

urina residual pós-vazio, estudos de fluxo de pressão ou uma cistoscopia. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá a quantidade de urina residual, ou aumentar a pressão do fluxo em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior sobre os resultados antes do tratamento com um composto de éster de forbol.

[00184] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento de Miastenia gravis pode ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas associados com Miastenia gravis, incluindo, entre outros, ptose, diplopia, discurso comprometido, cansaço, fraqueza muscular, disfagia, ou disartria. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados por sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução sobre estados iniciais.

[00185] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento de Miastenia gravis pode também ser determinada utilizando o teste de Tensilon ou o teste de gelo, estudos de condução nervosa, EMG de fibra única, ou a detecção de anticorpos no soro para o receptor de acetilcolina. A efetividade pode ainda ser determinada utilizando modelos animais de Miastenia gravis, como por imunização de animais com receptores de acetilcolina torpedo californica (AChR) em adjuvante de Freund completo. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados por sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até uma redução de 75-90%, 96% ou mais sobre os estados iniciais e/ou controles.

[00186] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento de síndrome do túnel do carpo pode ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas associados com a síndrome do túnel do carpo, incluindo, entre outros, dor, fraqueza ou paralisia na mão e do

pulso, irradiando-se ao braço. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados por sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução sobre os estados iniciais.

[00187] A efetividade das composições e métodos da invenção no tratamento de doença renal pode ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas associados com doenças renais, incluindo, entre outros, a incontinência urinária, aumento da excreção de urina, uremia, ou oligúria. Utilização das composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados pelos sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução sobre os estados iniciais.

[00188] A efetividade das composições e métodos da invenção para o tratamento de incontinência urinária pode ser demonstrada por uma diminuição dos sintomas associados com a incontinência urinária. Utilização de composições de éster de forbol da presente invenção diminuirá os sintomas apresentados por sujeitos em 0%, 20%, 30%, 50% ou mais, até 75-90%, 96% ou maior redução sobre os estados iniciais.

[00189] Para cada uma das condições indicadas aqui descritas, os sujeitos de teste apresentarão uma redução 10%, 20%, 30%, 50% ou maior, até 75-90%, ou 96% ou superior, redução, um ou mais sintomas causados por, ou associados com, a doença, ou relacionados com doenças ou condições do sujeito, em comparação com outros sujeitos de controle adequados ou tratados com placebo.

[00190] Dentro dos aspectos da invenção, o tratamento de doença combinatorial ("tratar AIDS", "prevenir o HIV", "tratar o HIV", "ativar reservatório do HIV", "aumentar citocinas Th1", "induzir a fosforilação de ERK", "induzir apoptose", "quimioterápico", "antitumor", "tratar câncer", "induzir remissão", "manter remissão", "quimioprotetor", "anti-

inflamatório", "estimular neutrófilos", "estimular eritropoiese", "inibir reabsorção óssea", "fortalecimento dos ossos", "antiemético", "alívio da dor", "radiação de proteção", "anti-inchaço", "citoprotetor", "anti-mucosite", "estimulante epitelial", "anti-fibrótica", "estimulante de plaquetas", "tratar acidente vascular cerebral", "anticoagulante", "anticolesterolêmicos", "vasodilatador", "anti-hipertensivo", "aumentar a continência", "tratar doença de Parkinson", "aumentar a dopamina", "inibir catecol-O-metil-transferase", "inibir L-aminoácido aromático descarboxilase", "agonista da dopamina", "neuroprotetor", "anticolinérgica", "tratar hipertrofia da próstata", "inibidor de 5-alfa-redutase tipo II", "relaxante muscular", "antiartrite", "anti-inflamatório", "imunossupressor", "inibidor de TNF", "antibióticos", "inibidor da calcineurina", "inibidor da síntese de pirimidina", "inibidor de 5-LO", "antifolato", "antagonista do receptor da IL-1", "inibidor de coestimulação de células T", "tratamento de doença autoimune", "tratar miastenia gravis", "supressor de anticorpo", "inibidor da colinesterase", "tratamento de doença renal," "antidepressivo") formulações e métodos de administração são fornecidos que empregam uma quantidade eficaz de um composto de éster de forbol de Fórmula I e um ou mais agentes secundários ou adjuntos que são combinatorialmente formulados ou administrados de forma coordenada com o composto éster de forbol de Fórmula I para se obter uma composição ou método de tratamento coordenado para tratar doença multiativa combinada.

[00191] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado, neste contexto, empregam o éster de forbol de Fórmula I em combinação com o um ou mais agente anti-AIDS secundário, ou com um ou mais agentes terapêuticos adjuvantes que são úteis para o tratamento ou para a profilaxia da doença alvo (ou associada), condição e/ou sintomas na formulação combinatorial

selecionada ou regime de tratamento coordenado. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz de modo combinatorial ou coordenado útil para o tratamento do HIV/AIDS e/ou um ou mais sintomas de uma doença ou condição ou oportunista secundária no sujeito. Formulações combinatórias exemplares e métodos de tratamento coordenado neste contexto empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de, por exemplo, inibidores da protease, incluindo, entre outros, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, atazanavir, darunavir, fosamprenavir, tipranavir e amprenavir; inibidores da transcriptase reversa de nucleosídeos, incluindo, entre outros, zidovudina, didanosina, estavudina, lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, tenofovir disoproxil fumarato, AVX754 e abacavir; inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos, incluindo, entre outros, nevirapina, delavirdina, calanolida A, TMC125 e efavirenz; combinação de fármacos, incluindo, entre outros, efavirenz/emtricitabina/tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina/zidovudina, abacavir/lamivudina, abacavir/lamivudina/Zidovudina, emtricitabina/tenofovir disoproxil fumarato, sulfametoxazol/trimetoprim, e lopinavir/ritonavir; inibidores de entrada e de fusão, incluindo, entre outros, enfuvirtida, AMD070, BMS-488043, fozivudina tidoxila, GSK-873, 140, PRO 140, PRO 542, Peptídeo T, SCH-D, TNX-355, e UK-427, 857; tratamentos para infecções oportunistas e outras condições associadas com a AIDS e HIV, incluindo, entre outros, aciclovir, adefovir dipivoxila, aldesleucina,

anfotericina B, azitromicina, hidroxiapatita de cálcio, claritromicina, doxorrubicina, dronabinol, entecavir, epoetina alfa, etoposídeo, fluconazol, ganciclovir, imunoglobulinas, interferon alfa-2, isoniazida, itraconazol, megestrol, paclitaxel, peginterferona alfa-2, pentamidina, ácido poli-L-láctico, ribavirina, rifabutina, rifampina, somatropina, testosterona, trimetrexato, e valganciclovir; inibidores de integrase, incluindo, entre outros, GS 9137, MK-0518; microbicidas, incluindo, entre outros. BMS-378806, C31G, carbopol 974P, carragenano, sulfato de celulose, Cianovirina-N, sulfato de dextrano, hidroxietil celulose, PRO 2000, SPL7013, tenofovir, UC-781 e IL-2.

[00192] As formulações combinatórias exemplares adicionais e métodos de tratamento coordenado podem empregar, adicionalmente, o éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agente anti-tumoral secundários, ou com um ou mais agentes terapêuticos adjuntos que são úteis para o tratamento ou para a profilaxia da doença alvo (ou associada), condição e/ou sintomas na formulação combinatorial selecionada ou métodos de tratamento coordenado. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para o tratamento de doenças neoplásicas e um ou mais sintomas de uma doença secundária ou condição no sujeito. Exemplos de formulações combinatórias e método de tratamento coordenado, neste contexto, empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de, por exemplo, agentes

quimioterápicos, agentes anti-inflamatórios, doxorubicina, vitamina D3, citarabina, citosina arabinosídeo, daunorrubicina, ciclofosfamida, gemtuzumab ozogamicina, idarubicina, mercaptopurina, mitoxantrona, tioguanina, aldesleucina, asparaginase, carboplatina, fosfato de etoposídeo, fludarabina, metotrexato, etoposídeo, dexametasona, e trissalicilato magnésio colina. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas, como, entre outros, o tratamento com radiação, terapia hormonal e a cirurgia.

[00193] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou o tratamento de efeitos colaterais da quimioterapia empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais, quimioprotetores ou outros, que são úteis para o tratamento ou profilaxia da doença, condição e/ou sintoma alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar os efeitos colaterais da quimioterapia no sujeito. Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento de coordenado, neste contexto, empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de pegfilgrastim, epoetina alfa, darbepoetina alfa, alendronato de sódio, risedronato, ibandronato, G-CSF, antagonistas de receptores 5-HT₃, antagonistas de NK₁, olanzapina, corticosteroides, antagonistas da dopamina, antagonistas da serotonina, benzodiazepinas, aprepitant, e

canabinoides.

[00194] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de efeitos colaterais da radioterapia empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais, radioprotetores ou outros que são úteis para o tratamento ou para a profilaxia da condição e/ou sintomas alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou de um composto relacionado ou derivado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter um formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar os efeitos colaterais da radioterapia do sujeito. Exemplos de formulações combinatória e métodos de tratamento coordenado neste contexto empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos ou adjuvantes secundárias selecionados a partir de esteroides, amifostina, clorexidina, benzydamina, sucralfato, fator de crescimento de queratinócitos (KGF), palifermina, Cu/Zn superóxido dismutase, interleucina 11, ou as prostaglandinas.

[00195] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de acidente vascular cerebral empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, ou outros indicados que são úteis para tratamento adicional, ou outro neuroprotetor ou profilaxia da doença, condição e/ou sintomas alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de

éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar acidente vascular cerebral, ou os efeitos do acidente vascular cerebral. Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento de coordenadas, neste contexto, empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de ativador do plasminogênio tecidual, um anticoagulante, uma estatina, os bloqueadores dos receptores da angiotensina II, inibidores da enzima conversora de angiotensina, beta-bloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio, ou diurético.

[00196] As formulações combinatórias exemplificativas e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento da doença de Parkinson empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais ou neuroprotetor ou outros indicados que são úteis para o tratamento ou profilaxia da doença, condição e/ou sintomas alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar a doença de Parkinson. Exemplos de formulações combinatórias e método de tratamento coordenado, neste contexto, empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou

mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de inibidores da MAO-B, piridoxina, amantidina, piridoxina, selegilina, rasagilina, ou anticolinérgicos.

[00197] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento da hipertrofia da próstata empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuvantes indicados que são úteis para o tratamento ou profilaxia da doença, condição e/ou sintomas alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar a hipertrofia da próstata. Exemplos de formulações combinatórias e método de tratamento coordenado, neste contexto, empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de finasterida, dutasterida, terazosina, doxazosina, tansulosina, ou um bloqueador alfa.

[00198] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento da artrite reumatoide empregam o composto éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos adicionais, anti-artrite ou outros indicados que são úteis para o tratamento ou profilaxia da doença, condição e/ou sintomas alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol

de Fórmula I ou de um composto relacionado ou derivado é formulado ou administrado coordenadamente, em combinação com uma ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz combinatoriamente ou coordenadamente útil para prevenir ou tratar a artrite reumatoide. Exemplos de formulações combinatórias e método de tratamento coordenado, neste contexto, empregam um composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de um agente anti-inflamatório não esteroide, esteroides, fármacos antirreumáticos modificadores da doença, imunossupressor, inibidor de TNF- α , anakinra, abatacepte, adalimumabe, azatioprina, cloroquina, hidroxicloroquina, ciclosporina, D-penicilamina, etanercept, golimumabe, sais de ouro, infliximab, leflunomida, metotrexato, sulfassalazina, minociclina, rituximab, ou tocilizumabe.

[00199] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de miastenia gravis empregam o composto de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos indicados, secundários ou adjuvantes que são úteis para o tratamento ou profilaxia da doença, condição e/ou sintoma alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar miastenia gravis. As formulações exemplares combinatórias e método de tratamento coordenado, neste contexto, empregam um composto

de éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos selecionados a partir de anticolinoesterase, corticosteroides, ou um agente imunossupressor.

[00200] Exemplos de formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado para a prevenção ou tratamento de doença renal empregam composto éster de forbol de Fórmula I em combinação com um ou mais agentes terapêuticos indicados, secundários ou adjuvantes anti-incontinência ou outros que são úteis para o tratamento ou profilaxia da doença, condição e/ou sintomas alvo. Para a maioria das formulações combinatórias e métodos de tratamento coordenado da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto derivado ou relacionado é formulado, ou administrado de forma coordenada, em combinação com um ou mais agentes terapêuticos secundários ou adjuntos, para se obter uma formulação combinada ou método de tratamento coordenado que seja eficaz ou combinatorialmente coordenadamente útil para prevenir ou tratar a doença renal. Formulações combinatória exemplar e métodos de tratamento coordenado neste contexto empregam anticolinérgicos, estrogênio tópico, imipramina ou duloxetina.

[00201] Em certas modalidades, a invenção fornece o tratamento de doenças combinatorial ("tratar AIDS", "prevenção do HIV", "tratar o HIV", "ativar reservatório do HIV", "aumentar citocinas Th1", "induzir a fosforilação de ERK", "induzir apoptose", "quimioterápico", "antitumor", "tratar câncer", "induzir remissão", "manter remissão", "quimioprotetor", "anti-inflamatório", "estimular neutrófilos", "estimular eritropoiese", "inibir reabsorção óssea", "fortalecimento dos ossos", "antiemético", "alívio da dor", "radiação de proteção", "anti-inchaço", "citoprotetor", "anti-mucosite", "estimulante epitelial", "anti-fibrótica", "estimulante de plaquetas", "tratar acidente vascular cerebral", "anticoagulante", "anticolesterolêmicos", "vasodilatador", "anti-hipertensivo", "tratar

doença de Parkinson", "aumentar a dopamina", "inibir catecol-O-metil-transferase", "inibir L-aminoácido aromático descarboxilase", "agonista da dopamina", "neuroprotetor", "anticolinérgica", "tratar hipertrofia da próstata", "inibidor de 5-alfa-redutase tipo II", "relaxante muscular", "antiartrite", "anti-inflamatório", "imunossupressor", "inibidor de TNF", "antibióticos", "inibidor da calcineurina", "inibidor da síntese de pirimidina", "inibidor de 5-LO", "antifolato", "antagonista do receptor da IL-1", "inibidor de coestimulação de células T", "tratamento de doença autoimune", "tratar miastenia gravis", "imunossupressor", "supressor de anticorpo", "inibidor da colinesterase", "tratamento de doença renal," "antidepressivo") formulações compreendendo um éster de forbol e um ou mais agente adjuntos com atividade para tratar a doença. Dentro de tais formulações combinatórias, um éster de forbol de Fórmula I e os agentes adjuntos possuindo a atividade para tratar a doença irão estar presente em uma formulação combinada no tratamento da doença ("tratar AIDS", "prevenção do HIV", "tratar o HIV," "ativar reservatório do HIV", "aumentar citocinas Th1", "induzir a fosforilação de ERK", "induzir apoptose, "quimioterápico", "antitumor", "tratar câncer", "induzir remissão", "manter remissão", "quimioprotetor", "anti-inflamatório", "estimular neutrófilos", "estimular eritropoiese", "inibir reabsorção óssea", "fortalecimento dos ossos", "antiemético", "alívio da dor", "radiação de proteção", "anti-inchaço", "citoprotetor", "anti-mucosite", "estimulante epitelial", "anti-fibrótica", "estimulante de plaquetas", "tratar acidente vascular cerebral", "anticoagulante", "anticolesterolêmicos", "vasodilatador", "anti-hipertensivo", "tratar doença de Parkinson", "aumentar a dopamina", "inibir catecol-O-metil-transferase", "inibir L-aminoácido aromático descarboxilase", "agonista da dopamina", "neuroprotetor", "anticolinérgica", "tratar hipertrofia da próstata", "inibidor de 5-alfa-redutase tipo II", "relaxante muscular", "antirreumatoide", "anti-inflamatório", "imunossupressor", "inibidor de

TNF", "antibióticos", "inibidor da calcineurina", "inibidor da síntese de pirimidina", "inibidor de 5-LO", "antifolato", "antagonista do receptor da IL-1", "inibidor de coestimulação de células T", "tratamento de doença autoimune", "tratar miastenia gravis", "aumentar a continência", "imunossupressor", "supressor de anticorpo", "inibidor da colinesterase", "tratamento de doença renal," "antidepressivo") em quantidades eficazes, isolados ou em combinação. Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I e um agente de não éster de forbol estará presente em cada quantidade para tratar/prevenir a doença (ou seja, na dosagem singular que isoladamente vai provocar um alívio de sintomas detectáveis no sujeito). Alternativamente, a formulação combinatorial pode compreender um ou ambos o composto de éster de forbol de Fórmula I e os agentes de não ésteres de forbol em quantidade sub-terapêutica de dosagem singular, em que a formulação combinatorial compreendendo ambos os agentes caracteriza uma dosagem combinada de ambos os agentes que é coletivamente eficaz na indução de uma resposta de alívio de sintoma, condição ou doença citopática. Assim, um ou ambos o éster de forbol de Fórmula I e os agentes não ésteres de forbol podem estar presentes na formulação, ou administrados em um protocolo administração coordenada, em uma dose sub-terapêutica, mas coletivamente na formulação ou método que eles provocam uma diminuição detectável em sintomas de doença citopática no sujeito. Por exemplo, em algumas modalidades, a formulação combinatorial pode incluir um ou mais compostos a partir de um protocolo de terapia antirretroviral altamente ativa (protocolos HAART) em combinação com um éster de forbol, entre outras combinações. Outras formulações combinatórias podem, por exemplo, incluem um éster de forbol e/ou compostos eficazes no tratamento de infecções oportunistas da AIDS, bem como compostos de protocolos

de HAART. Em outras modalidades, a formulação combinatorial pode incluir um ou mais agentes quimioterápicos adicionais. Em outra modalidade, a formulação combinatorial pode incluir um ou mais agentes quimioprotetores adicionais. Em outras modalidades, a formulação combinatorial pode incluir um ou mais agentes radioprotetores. Ainda em outra modalidade, a formulação combinatorial pode incluir um ou mais agentes neuroprotetores. Em outra modalidade, a formulação combinatorial pode incluir um ou mais agentes anti-inflamatórios ou outros agentes terapêuticos adicionais ou secundários como aqui descritos.

[00202] Para a prática de métodos de administração coordenada da invenção, um composto de éster de forbol de Fórmula I pode ser administrado, simultânea ou sequencialmente, em um protocolo de tratamento coordenado com um ou mais dos agentes terapêuticos secundários ou adjuntos aqui contemplados. Assim, em certas modalidades de um composto é administrado de forma coordenada com um agente não éster de forbol, ou qualquer outro agente terapêutico secundário ou adjunto aqui contemplado, utilizando formulações separadas ou uma formulação combinatória como descrito acima (ou seja, compreendendo tanto um composto de éster de forbol de Fórmula I ou composto relacionado ou derivado, e um agente terapêutico não éster de forbol). Esta administração coordenada pode ser feita simultaneamente ou sequencialmente em qualquer ordem, e pode haver um período de tempo enquanto que apenas um ou ambos (ou todos) os agentes terapêuticos ativos individualmente e/ou coletivamente, exercem as suas atividades biológicas.

[00203] Em uma modalidade, tal métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivado de vários protocolos de terapia antirretroviral altamente ativa (protocolos

HAART) e incluem esquemas, como, entre outros, dois análogos nucleosídeos inibidores da transcriptase mais um ou mais inibidores da protease ou inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo com um éster de forbol de Fórmula I, entre outras combinações. Outros métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para infecções oportunistas, bem como compostos de protocolos de HAART. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com uma redução de sintoma AIDS complementar, ou resposta clínica distinta proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente terapêutico secundário ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico provocado pelo composto de éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00204] Em modalidades exemplares, um composto éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em conjunto ou em formulação separada), com um ou mais agentes secundários terapêuticos adjuvantes ou outros indicados para tratamento do HIV, por exemplo, selecionados a partir de, por exemplo, inibidores da protease, incluindo, entre outros, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, atazanavir, darunavir, fosamprenavir, tipranavir e amprenavir; inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos incluindo, entre outros, zidovudina, didanosina, estavudina, lamivudina, zalcitabina, emtricitabina, tenofovir disoproxil fumarato, AVX754 e abacavir;

inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos, incluindo, entre outros, nevirapina, delavirdina, calanolida A, TMC125 e efavirenz; combinação de fármacos, incluindo, entre outras, efavirenz/emtricitabina/tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina/zidovudina, abacavir/lamivudina, abacavir/lamivudina/zidovudina, emtricitabina/tenofovir disoproxil fumarato, sulfametoxazol/trimetoprim, e lopinavir/ritonavir; inibidores de entrada e de fusão, incluindo, entre outros, enfuvirtida, AMD070, BMS-488043, tidoxil fozivudina, GSK-873, 140, PRO 140, PRO 542, Peptídeo T, SCH-D, TNX-355, e UK-427857; tratamentos para infecções oportunistas e outras condições associadas com a AIDS e HIV, incluindo, entre outros, aciclovir, adefovir dipivoxila, aldesleucina, anfotericina B, azitromicina, hidroxiapatita de cálcio, claritromicina, doxorrubicina, dronabinol, entecavir, epoetina alfa, etoposídeo, fluconazol, ganciclovir, imunoglobulinas, interferon alfa-2, isoniazida, itraconazol, megestrol, paclitaxel, peginterferona alfa-2, pentamidina, ácido poli-l-láctico, ribavirina, rifabutina, rifampina, somatropina, testosterona, trimetrexato, e valganciclovir; inibidores de integrase, incluindo, entre outros, GS 9137, MK-0518; microbicidas, incluindo, entre outros, BMS-378806, C31G carbopol 974P, carragenano, sulfato de celulose, Cianovirina-N, sulfato de dextrano, hidroxietil celulose, PRO 2000, SPL7013, tenofovir, e UC-781 e IL-2.

[00205] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos quimioterápicos. Outros métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluem um éster de forbol e/ou tratamentos de sintomas adicionais de doenças neoplásicas. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com uma

redução de sintoma de doença neoplásica complementar, ou resposta clínica distinta, proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou coadjuvante. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente terapêutico secundário ou adjunto irá produzir resultados terapêuticos ou profiláticos melhorados no sujeito além de um efeito terapêutico provocado pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00206] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I serão administrados de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, formulação em combinada ou separada), com um ou mais agentes de tratamento secundários do câncer, ou outros agentes terapêuticos ou adjuntos indicados ou, por exemplo, doxorubicina, vitamina D3, citarabina, citosina arabinosídeo, daunorubicina, ciclofosfamida, gemtuzumab ozogamicina, idarrubicina, mercaptopurina, mitoxantrona, tioguanina, aldesleucina, asparaginase, carboplatina, fosfato de etoposídeo, fludarabina, metotrexato, etoposídeo, dexametasona, e trissalicilato magnésio colina.

[00207] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivado de vários protocolos de quimioterapia paliativa para os pacientes. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para efeitos colaterais adicionais de quimioterapia. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um alívio complementar de efeito colateral do quimioterápico, ou uma resposta clínica distinta, proporcionada pelo

agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente terapêutico secundário ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00208] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários de alívio de efeito lateral do quimioterápico ou outros agentes terapêuticos ou adjuvantes indicados, por exemplo, pegfilgrastim, epoetina alfa, darbepoetina alfa, alendronato de sódio, risedronato, ibandronato, G-CSF, antagonistas dos receptores 5-HT₃, os antagonistas de NK₁, olanzapina, corticosteroides, antagonistas da dopamina, antagonistas da serotonina, benzodiazepinas, aprepitante, e canabinoides.

[00209] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivado de vários protocolos paliativos para pacientes em radioterapia. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para efeitos colaterais adicionais da radioterapia. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce pelo menos alguma atividade, que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um alívio complementar de efeito colateral da radioterapia, ou uma resposta clínica distinta proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula

I com o agente secundário terapêutico ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00210] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários que aliviam o efeito colateral de radioterapia ou outros agentes terapêuticos ou adjuntos indicados, por exemplo, esteroides, amifostina, clorexidina, benzidamina, sucralfato, fator de crescimento de queratinócitos (KGF), palifermina, Cu/Zn superóxido dismutase, interleucina 11, ou prostaglandinas.

[00211] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento de acidente vascular cerebral. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento de danos causados por um acidente vascular cerebral. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para tratar ou prevenir acidente vascular cerebral, ou resposta clínica distinta proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente secundário terapêutico ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico

induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00212] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar acidente vascular cerebral ou outros agentes terapêuticos ou adjuntos indicados, por exemplo, ativador de plasminogênio de tecido, um anticoagulante, uma estatina, bloqueadores dos receptores da angiotensina II, inibidores da enzima de conversão da angiotensina, beta-bloqueadores, bloqueadores do canal de cálcio, ou diurético. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas no tratamento de acidente vascular cerebral ou os efeitos do acidente vascular cerebral, como, entre outros, endarterectomia da carótida, angioplastia, colocação de stent, craniotomia, embolização de tubo endovascular, ou fechamento de forame oval patente.

[00213] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento da doença de Parkinson. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento da doença de Parkinson. Um aspecto distintivo de todos essas métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para tratar ou prevenir a doença de Parkinson, ou resposta clínica distinta fornecida pelo agente terapêutico secundário ou coadjuvante. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de

forbol de Fórmula I com o agente terapêutico secundário ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00214] Nas modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar a doença de Parkinson ou outros agentes terapêuticos secundários ou adjuntos indicados, por exemplo, levodopa, tolcapona, carbidopa, agonista da dopamina, inibidores da MAO-B, piridoxina, amantadina, piridoxina, selegilina, rasagilina, ou anticolinérgicos. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas no tratamento de doença de Parkinson, como, entre outros, a estimulação cerebral profunda ou a formação da lesão.

[00215] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento da hipertrofia da próstata. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento da hipertrofia da próstata. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para tratar ou prevenir a hipertrofia da próstata ou a resposta clínica distinta proporcionada pela agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente secundário terapêutico ou adjunto irá produzir

resultados terapêuticos ou profiláticos melhorados no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00216] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado coordenadamente (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar a hipertrofia da próstata ou outros agentes terapêuticos adjuntos indicados, por exemplo, finasterida, dutasterida, terazosina, doxazosina, tansulosina, ou um bloqueador alfa. Além disso, as terapias adjuvantes ou secundárias podem ser utilizadas no tratamento da hipertrofia da próstata, como, entre outras, a ressecção transuretral da próstata, incisão transuretral da próstata, cirurgia de laser, ou prostatectomia.

[00217] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento de artrite reumatoide. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento da artrite reumatoide. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para tratar ou prevenir artrite reumatoide ou agente terapêutico adjunto, ou resposta clínica distinta proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente secundário terapêutico ou adjunto irá produzir melhores resultados

terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00218] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar artrite reumatoide ou outros agentes terapêuticos secundários ou adjuntos indicados, por exemplo, um agente anti-inflamatório não esteroide, esteroides, fármacos antirreumáticos modificadores da doença, um imunossupressor, um inibidor de TNF- α , anakinra, abatacepte, adalimumabe, azatioprina, cloroquina, hidroxiclороquina, ciclosporina, D-penicilamina, etanercept, golimumab, sais de ouro, infliximabe, leflunomida, metotrexato, sulfassalazina, minociclina, rituximab, ou tocilizumabe.

[00219] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento de doença autoimune. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento de miastenia gravis. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para prevenir ou tratar miastenia gravis, ou resposta clínica distinta proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente secundário terapêutico ou adjunto irá produzir

melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00220] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado coordenadamente (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar miastenia gravis ou outros agentes terapêuticos adjuntos ou indicados, por exemplo anticolinesterase, corticosteroides, ou agente imunossupressor.

[00221] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento de doença renal. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento da doença renal e sintomas de doença renal. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para tratar ou prevenir doença renal, ou resposta clínica distinta proporcionada pelo agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração coordenada do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente secundário terapêutico ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I, ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00222] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar doenças renais ou outros agentes terapêuticos adjuntos ou indicados, por exemplo, anticolinérgicos, estrogênio tópico, imipramina ou duloxetina.

[00223] Em outra modalidade, tais métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, seguir ou ser derivados de vários protocolos para o tratamento de incontinência urinária. Métodos de tratamento coordenado podem, por exemplo, incluir um éster de forbol e/ou tratamentos para a prevenção ou tratamento de incontinência urinária. Um aspecto distintivo de todos estes métodos de tratamento coordenado é que o composto de éster de forbol de Fórmula I exerce, pelo menos, alguma atividade, o que produz uma resposta clínica favorável em conjunto com um agente complementar para prevenir ou tratar a incontinência urinária, ou resposta clínica distinta proporcionada pela agente terapêutico secundário ou adjunto. Muitas vezes, a administração do composto de éster de forbol de Fórmula I com o agente terapêutico secundário ou adjunto irá produzir melhores resultados terapêuticos ou profiláticos no sujeito além de um efeito terapêutico induzido pelo composto éster de forbol de Fórmula I ou o agente terapêutico secundário ou adjunto administrado isoladamente. Esta qualificação contempla ambos os efeitos diretos, bem como efeitos indiretos.

[00224] Em modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I será administrado de forma coordenada (simultaneamente ou sequencialmente, em formulação combinada ou separada), com um ou mais compostos secundários para tratar a incontinência urinária ou outros agentes terapêuticos ou adjuntos ou

indicados, por exemplo, anticolinérgicos, estrogênio tópico, imipramina ou duloxetina.

[00225] Como mencionado acima, em todas as várias modalidades da invenção aqui contempladas, os métodos para tratar a doença e formulações podem empregar um composto de éster de forbol de Fórmula I, em qualquer uma de uma variedade de formas, incluindo qualquer um ou combinação de sais farmaceuticamente aceitáveis do composto objeto, solvatos, isômeros, enantiômeros, polimorfos, solvatos, hidratos, e/ou profármacos. Nas modalidades exemplares da invenção, TPA é empregado nas formulações terapêuticas e métodos para fins ilustrativos.

[00226] As composições farmacêuticas da presente invenção podem ser administradas por qualquer meio que atinja o seu objetivo terapêutico ou profilático pretendido. As vias adequadas de administração para as composições da invenção incluem, entre outras, vias de administração convencionais, dispositivos e métodos, incluindo os métodos injetáveis, como, entre outros, via intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intra-espinal, intratecal, intracerebroventricular, intra-arterial, subcutâneos e intranasais.

[00227] As composições da presente invenção podem ainda incluir um transportador farmaceuticamente aceitável adequado para o modo particular de administração a ser empregue. As formas de dosagem das composições da presente invenção incluem excipientes reconhecidos na técnica de formulação farmacêutica como sendo adequado para a preparação de unidades de dosagem, como discutido acima. Tais excipientes incluem, entre outros, ligantes, preenchedores, lubrificantes, emulsionantes, agentes de suspensão, edulcorantes, aromatizantes, conservantes, tampões, agentes umectantes, desintegrantes, agentes efervescentes e outros excipientes e aditivos convencionais.

[00228] Se desejado, as composições da invenção podem ser administradas em uma forma de liberação controlada através do uso de um carreador de liberação lenta, como um polímero hidrofílico de liberação lenta. Os agentes exemplares de liberação controlada, neste contexto, incluem, entre outros, hidroxipropilmetilcelulose, possuindo uma viscosidade na faixa de cerca de 100 cps a cerca de 100.000 cps ou outras matrizes biocompatíveis, como o colesterol.

[00229] Algumas composições de éster de forbol de Fórmula I da presente invenção são concebidas para administração parenteral, por exemplo, para ser administrada por via intravenosa, intramuscular, subcutânea ou intraperitoneal, incluindo soluções injetáveis estéreis aquosas e não aquosas que, como muitas outras composições contempladas da invenção, podem opcionalmente conter antioxidantes, tampões, bacteriostáticos e/ou solutos que tornam a formulação isotônica com o sangue do sujeito mamífero; e suspensões estéreis aquosas e não aquosas que podem incluir agentes de suspensão e/ou agentes espessantes. As formulações podem ser apresentadas em recipientes de dose unitária ou multidose. As composições e formulações da invenção podem incluir polímeros adicionais para a liberação prolongada após a administração parenteral. As preparações parenterais podem ser soluções, dispersões ou emulsões adequadas para tal administração. Os agentes em questão também podem ser formulados em polímeros de liberação prolongada após a administração parenteral. As formulações e ingredientes farmacêuticamente aceitáveis normalmente serão estéreis ou prontamente esterilizáveis, biologicamente inertes, e facilmente administrados. Tais materiais poliméricos são bem conhecidos dos especialistas na técnica de formulação farmacêutica. As preparações parenterais contêm tipicamente agentes conservantes e tamponantes, e fluidos injetáveis que são farmacêuticamente e

fisiologicamente aceitáveis, como água, salina, soluções salinas equilibradas, dextrose aquosa, glicerol ou semelhantes. Soluções para injeção extemporâneas, emulsões e suspensões podem ser preparadas a partir de pós estéreis, grânulos e comprimidos do tipo anteriormente descrito. As formulações de dosagem unitárias preferenciais são aquelas contendo uma dose diária ou unidade, subdose diária, como aqui descrito acima, ou uma fração apropriada do mesmo, dos ingredientes ativos.

[00230] Em modalidades mais detalhadas, as composições da invenção podem compreender um composto de éster de forbol de Fórmula I encapsulado para liberação em microcápsulas, micropartículas, microesferas, ou preparados, por exemplo, por técnicas de coacervação ou por polimerização interfacial, por exemplo, hidroximetilcelulose ou microcápsulas de gelatina e poli(metilmetacrilato), respectivamente; em sistemas de liberação de fármacos coloidais (por exemplo, lipossomas, microesferas de albumina, microemulsões, nanopartículas e nanocápsulas); ou dentro de macroemulsões.

[00231] Como notado acima, em certas modalidades os métodos e composições da invenção podem empregar os sais farmaceuticamente aceitáveis, por exemplo, de adição de ácido ou base dos compostos de éster de forbol acima descritos de Fórmula I e/ou compostos relacionados ou derivados. Exemplos de sais de adição farmaceuticamente aceitáveis incluem sais de adição de ácidos inorgânicos e orgânicos. Os sais de adição de ácido adequados são formados a partir de ácidos que formam sais não tóxicos, por exemplo, cloridrato, bromidrato, iodidrato, sulfato, sulfato de hidrogênio, nitrato, fosfato, e sais de fosfato de hidrogênio. Sais farmaceuticamente aceitáveis adicionais incluem, entre outros, sais de metais, como sais de sódio, sais de potássio, sais de cério e semelhantes; metais

alcalino-terrosos, como sais de cálcio, sais de magnésio e semelhantes; sais de amina orgânicos, como sais de trietilamina, sais de piridina, sais de picolina, sais de etanolamina, sais de trietanolamina, sais de diciclohexilamina, sais de N,N'-dibenziletilenodiamina e semelhantes; sais de ácidos orgânicos como acetato, citrato, lactato, succinato, tartarato, maleato, fumarato, mandelato, acetato, dicloroacetato, trifluoroacetato, oxalato, e sais de formato; sulfonatos como metanossulfonato, benzenossulfonato e p-toluenossulfonato; e sais de aminoácidos como arginato, asparginato, glutamato, tartarato e gluconato. Os sais de base adequados são formados a partir de bases que formam sais não tóxicos, por exemplo, sais de alumínio, cálcio, lítio, magnésio, potássio, sódio, zinco e dietanolamina.

[00232] Outras modalidades detalhadas, os métodos e composições da invenção para empregar profármacos de ésteres de forbol de Fórmula I. As profármacos são consideradas como quaisquer veículos ligados covalentemente os quais liberam a fármaco parente ativa *in vivo*. Exemplos de profármacos úteis na invenção incluem ésteres ou amidas com hidroalquila ou aminoalquila, como um substituinte, e estes podem ser preparados pela reação de tais compostos, como descrito acima, com anidridos, como anidrido succínico.

[00233] A invenção aqui descrita também será entendida para abranger métodos e composições compreendendo ésteres de forbol de Fórmula I utilizando *in vivo* produtos metabólicos de ditos compostos (ou gerados *in vivo*, após a administração do composto precursor objeto, ou administrados diretamente na forma do próprio produto metabólico). Tais produtos podem resultar, por exemplo, a partir da oxidação, redução, hidrólise, amidação, esterificação e semelhantes do composto administrado, principalmente devido aos

processos enzimáticos. Deste modo, a invenção inclui métodos e composições da invenção empregando compostos produzidos por um processo que compreende o contato de um composto de éster de forbol de Fórmula I com um sujeito mamífero durante um período de tempo suficiente para se obter um produto metabólico do mesmo. Tais produtos são tipicamente identificados por preparação de um composto radioativamente da invenção, administrando-o por via parenteral em uma dose detectável a um animal, como rato, camundongo, cobaia, macaco, ou ao homem, permitindo tempo suficiente para o metabolismo ocorrer e isolar seus produtos de conversão provenientes da urina, sangue ou outras amostras biológicas.

[00234] A invenção aqui descrita também será entendida para abranger composições de diagnóstico para diagnosticar o grau de risco, presença, gravidade, ou o tratamento dos indícios, ou de outro modo o controle das doenças, incluindo, entre outros, doenças neoplásicas incluindo malignidades neoplásicas como a leucemia, acidente vascular cerebral, doença de Parkinson, miastenia gravis, artrite reumatoide, doença renal, hipertrofia da próstata, e AIDS, ou uma doença relacionada ou condição em um sujeito mamífero, que compreende contatar um composto de éster de forbol de Fórmula I marcado (por exemplo, marcado com isótopos, marcação fluorescente ou de outra forma marcado para permitir a detecção do composto marcado usando métodos convencionais) a um sujeito mamífero (por exemplo, uma célula, tecido, órgão ou indivíduo) em risco ou apresentando-se com um ou mais sintomas de câncer, acidente vascular cerebral, doença de Parkinson, miastenia gravis, artrite reumatoide, doença renal, hipertrofia da próstata, e/ou AIDS, e em seguida detectar a presença, localização, metabolismo, e/ou ligação de estado (por exemplo, a detecção de ligação a um parceiro de

ligação não marcado envolvido na fisiologia/metabolismo dos receptores de HIV ou fisiologia/metabolismo do receptor de célula maligna) do composto marcado usando qualquer um de uma ampla variedade de ensaios conhecidos e os métodos de marcação/detecção. Nas modalidades exemplares, um composto de éster de forbol de Fórmula I é marcado isotopicamente tendo um ou mais átomos substituídos por um átomo tendo uma massa atômica ou número de massa diferente. Exemplos de isótopos que podem ser incorporados nos compostos descritos incluem os isótopos de hidrogênio, carbono, nitrogênio, oxigênio, fósforo, flúor e cloro, como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , e ^{36}Cl , respectivamente. O composto marcado isotopicamente é então administrado a um indivíduo ou outro sujeito e, posteriormente, detectado como descrito acima, gerando os dados úteis de gestão de diagnóstico e/ou terapêuticos, de acordo com técnicas convencionais.

Exemplos

[00235] Os experimentos descritos abaixo demonstram novos e poderosos usos para ésteres de forbol e compostos derivados como fármacos para tratar HIV que podem diminuir efetivamente os sintomas da AIDS. Em ensaios clínicos exemplares, os indivíduos que não respondiam aos tratamentos tradicionais para HIV e AIDS foram responsivos aos tratamentos com TPA. O tratamento com TPA foi permitido como "compassivo" e a recuperação de alguns pacientes foi considerada de acordo com os médicos assistentes para salvar vidas. Os experimentos descritos a seguir adicionalmente demonstram a utilidade de ésteres de forbol e compostos derivados no tratamento de doenças neoplásicas, como quimioprotetores, radioprotetores, no tratamento de acidente vascular cerebral, doença de Parkinson, a hipertrofia da próstata, a artrite reumatoide, doenças renais, incontinência urinária e miastenia gravis. Ésteres de forbol

adicionalmente forneceram resultados cosméticos inesperados sob a forma de diminuição do aparecimento de círculos escuros e aumentando a juventude da pele. Estas e outras descobertas são ainda mais expandidas e elucidadas nos exemplos seguintes.

Exemplo I

Efeito de TPA sobre a contagem de células brancas do sangue periférico (WBC) e hemoglobina (Hb) em camundongos injetados com células S180:

[00236] Células de Sarcoma 180 (S180) foram injetadas em ratos Kwen-Ming. No terceiro dia, os camundongos receberam TPA intraperitoneal (i.p.) a 50, 100 ou 200 µg/kg/dia durante 7 dias. No segundo dia após o término do tratamento, as amostras de sangue foram tomadas a partir das caudas dos camundongos tratados por WBC e análise de Hb. As contagens de WBC para os grupos tratados (50, 100, ou 200 µg/kg/dia durante 7 dias) foram $16,1 \pm 7,4$, $18,7 \pm 3,0$ e $20,7 \pm 3,4 \times 10^9/L$, respectivamente; a contagem de WBC para o grupo controle foi de $13,6 \pm 1,8 \times 10^9/L$. A Hb dos grupos tratados foram 136 ± 11 , 149 ± 12 e 149 ± 10 g/L, e a Hb do grupo de controle foi de 134 ± 15 g/L. Os resultados indicam que a injeção i.p. de TPA pode aumentar as contagens de WBC periféricos em camundongos de uma forma dependente da dose, enquanto que os níveis de hemoglobina não foram significativamente afetados em camundongos tratados com TPA quando comparados com os camundongos de controle.

Exemplo II

Estudo de variação de dose.

[00237] Devido à forte irritação local causada pela aplicação de TPA, TPA foi administrado aos pacientes por infusão intravenosa (i.v.). Solução de TPA em uma seringa estéril foi injetada em 200 ml de solução salina estéril e misturado bem para infusão i.v.

[00238] A toxicidade e os efeitos colaterais de doses diferentes de

TPA administradas clinicamente:

[00239] (1) TPA administrado a 1 mg/paciente/semana:

[00240] Um mg de TPA em solução foi bem misturado com 200 ml de solução salina estéril para infusão intravenosa que foi completada em 1 h, em taxa de 16 g/min. Uma hora após a administração de TPA, os pacientes passaram a ter calafrios que duraram cerca de 30 minutos, seguido por febre, (a temperatura do paciente atingiu 37,5-39,5°C. que durou 3-5 h, depois voltou ao normal) com transpiração leve à excessiva. Os sintomas acima poderiam ser aliviados por administração de glicocorticoides aos pacientes. TPA nesta dose causou sangramento a uma minoria de pacientes, vários pacientes sofreram durante um curto período de tempo na dificuldade de respiração, e Hb foi detectada na urina. No entanto, estes efeitos colaterais foram de curta duração e reversíveis. As funções cardíaca, hepática, renal e pulmonar foram todas encontradas como normais.

[00241] (2) TPA administrado a 0,5 mg/paciente x 2/semana: (duas doses por semana)

[00242] 0,5 mg de TPA em solução foi bem misturado com 200 ml de solução salina para infusão intravenosa que foi completada em 1 h a uma taxa de 8 µg/ml. As reações depois da administração foram semelhante às de 1 mg TPA de dosagem, mas em menor extensão do que a dose de 1 mg. Os pacientes toleraram a dose mais baixa com mais facilidade. Ocasionalmente, Hb foi detectado na urina dos pacientes. Dificuldade em respirar não foi observada. As funções cardíacas, hepáticas, renais e pulmonares foram todas normais.

[00243] (3) TPA administrado a 0,25 mg/paciente x 4/semana:

[00244] 0,25 mg de TPA em solução foi bem misturado com 200 ml de solução salina para infusão intravenosa que foi completada em 1 h, em taxa de 4 g/min. Após a administração, foram também observados sintomas como febre e calafrios, mas em um grau muito menor do que

com as doses mais elevadas. Nenhuma Hb foi detectada na urina, e nenhum paciente sofreu dificuldades respiratórias. As funções cardíacas, hepáticas, renais e pulmonares foram todas normais.

Exemplo III

Primeiro estudo clínico de pacientes HIV + tratados com TPA

[00245] Doze pacientes sintomáticos (cinco homens e sete mulheres) com idades entre 35 a 52 que foram infectadas com o HIV em 1995, através de transfusão de sangue e eram refratários aos tratamentos padrão para HIV foram tratadas com TPA. Cada paciente foi administrado com uma dose ajustada ao peso do TPA (75µg/metros quadrados) em 200 ml de soro fisiológico estéril por i.v. durante uma hora. Esta dose foi administrada uma vez por dia durante os três primeiros dias de tratamento. Cada paciente foi, então, administrado com esta dose em dias alternados para os dias 4 a 18, seguido por um período de repouso de seis meses antes de um segundo ciclo de tratamento de acordo com o mesmo protocolo.

[00246] As amostras de sangue foram coletadas antes da administração da primeira dose de TPA e nos dias 4 e 40 do ciclo de tratamento. Níveis de CD3, CD4 e CD8 no sangue periférico foram medidos utilizando os anticorpos monoclonais (Becton Dickson Scientific Co., Franklin Lakes, NJ) e um citômetro de fluxo (BD Bioscience, San Diego, CA).

[00247] Como pode ser visto na Tabela 1, nenhuma alteração consistente ou correlação foi observada em níveis de CD3, CD4, ou CD8.

<u>TABELA UM</u>				
<u>RESULTADOS DE TESTE CD₄ CD₈ CD₃ DE DOZE PACIENTES</u>				
<u>COM HIV</u>				
Nº DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	CD₄	CD₈	CD₃
01-1	Antes de TPA	3	196	341
01-2	Quatro dias após TPA	3	180	299
01-3	Quarenta e dois dias após TPA	2	111	203
02-1	Antes de TPA	26	614	687
02-2	Quatro dias após TPA	105	<2000	2616
02-3	Quarenta e dois dias após TPA	54	700	799
03-1	Antes de TPA	32	524	543
03-2	Quatro dias após TPA	36	366	427
03-3	Quarenta e dois dias após TPA	33	374	424
04-1	Antes de TPA	173	735	975
04-2	Quatro dias após TPA	123	770	941
04-3	Quarenta e dois dias após TPA	44	493	581
05-1	Antes de TPA	106	1556	1646
05-2	Quatro dias após TPA	119	1330	1282
05-3	Quarenta e dois dias após TPA	191	1429	1643
06-1	Antes de TPA	232	865	1221
06-2	Quatro dias após TPA	179	570	808

<u>TABELA UM</u>				
<u>RESULTADOS DE TESTE CD₄ CD₈ CD₃ DE DOZE PACIENTES COM HIV</u>				
Nº DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	CD₄	CD₈	CD₃
06-3	Quarenta e dois dias após TPA	49	429	537
07-1	Antes de TPA	10	988	1022
07-2	Quatro dias após TPA	7	570	598
07-3	Quarenta e dois dias após TPA	1	139	146
08-1	Antes de TPA	524	725	1332
08-2	Quatro dias após TPA	318	355	739
08-3	Quarenta e dois dias após TPA	241	527	858
09-1	Antes de TPA	442	1021	1479
09-2	Depois de TPA	663	<2000	2920
10-1	Antes de TPA	407	328	778
10-2	Depois de TPA	445	591	1077
11-1	Antes de TPA	40	322	373
11-2	Depois de TPA	131	724	874
12-1	Antes de TPA	84	256	375
12-2	Depois de TPA	78	268	362

[00248] Como pode ser visto na Tabela 2, abaixo, houve resultados similarmente inconsistentes na mudança da carga viral com cinco pacientes tendo um aumento do HIV e nenhuma mudança ou uma redução em sete outros.

<u>TABELA DOIS</u>				
<u>CONTAGEM SANGUÍNEA DE HIV DOD DOZE PACIENTES</u>				
<u>ANTES, DURANTE E APÓS O TRATAMENTO DE TPA</u>				
N.º DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	RESULTADOS (cópias/ml)	VALOR LOG	NOTA
01-1	3 dias antes de TPA	$3,36 \times 10^5$	5,526	
01-2	4 dias após TPA inicial	$1,41 \times 10^4$	6,151	
01-3	15 dias após TPA inicial	$2,02 \times 10^4$	4,306	
01-4	25 dias após TPA inicial	$2,60 \times 10^4$	4,416	
02-1	3 dias antes de TPA	$9,97 \times 10^4$	4,999	
02-2	4 dias após TPA inicial	$7,92 \times 10^6$	6,899	
02-3	15 dias após TPA inicial	$6,33 \times 10^6$	6,801	
02-4	25 dias após TPA inicial	$8,72 \times 10^6$	6,941	
03-1	3 dias antes de TPA	$3,77 \times 10^5$	5,577	
03-2	4 dias após TPA inicial	$8,13 \times 10^4$	4,910	
03-3	15 dias após TPA inicial	$6,11 \times 10^3$	3,786	
03-4	25 dias após TPA inicial	$8,59 \times 10^5$	5,934	
04-1	3 dias antes de TPA	$1,11 \times 10^6$	6,045	
04-2	4 dias após TPA inicial	$1,75 \times 10^7$	7,243	
04-3	15 dias após TPA inicial	$1,11 \times 10^6$	6,614	

<u>TABELA DOIS</u>				
<u>CONTAGEM SANGUÍNEA DE HIV DOD DOZE PACIENTES</u>				
<u>ANTES, DURANTE E APÓS O TRATAMENTO DE TPA</u>				
N.º DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	RESULTADOS (cópias/ml)	VALOR LOG	NOTA
04-4	25 dias após TPA inicial	$1,21 \times 10^4$	4,084	
05-1	3 dias antes de TPA	$2,49 \times 10^4$	6,637	
05-2	4 dias após TPA inicial	$9,42 \times 10^5$	5,974	
05-3	15 dias após TPA inicial	$2,34 \times 10^7$	7,369	
05-4	25 dias após TPA inicial	$5,56 \times 10^6$	6,745	
06-1	3 dias antes de TPA	$4,57 \times 10^5$	5,660	
06-2	4 dias após TPA inicial	$1,44 \times 10^4$	4,160	
06-3	15 dias após TPA inicial	$1,88 \times 10^5$	5,274	
06-4	7 dias após TPA	$2,28 \times 10^6$	6,357	
07-1	3 dias antes de TPA	$2,40 \times 10^5$	5,623	
07-2	4 dias após TPA inicial	$1,51 \times 10^5$	5,179	
07-3	15º dia durante TPA	$9,74 \times 10^4$	4,988	
07-4	25 dias após TPA inicial	$5,30 \times 10^3$	3,724	
08-1	3 dias antes de TPA	$8,02 \times 10^5$	5,904	
08-2	4 dias após TPA inicial	$9,09 \times 10^5$	5,959	

<u>TABELA DOIS</u>				
<u>CONTAGEM SANGUÍNEA DE HIV DOD DOZE PACIENTES</u>				
<u>ANTES, DURANTE E APÓS O TRATAMENTO DE TPA</u>				
N.º DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	RESULTADOS (cópias/ml)	VALOR LOG	NOTA
08-3	15 dias após TPA inicial	$5,46 \times 10^6$	6,737	
08-4	25 dias após TPA inicial	$7,77 \times 10^6$	6,890	
09-1	3 dias antes de TPA	indetectável		
09-2	25 dias após TPA	indetectável		
10-1	3 dias antes de TPA	$1,51 \times 10^4$	4,180	Amostra retirada do
10-2	25 dias após TPA inicial	$2,79 \times 10^4$	4,446	segundo ciclo de tratamento
11-1	3 dias antes de TPA	$1,59 \times 10^5$	5,201	Amostra retirada do
11-2	25 dias após TPA inicial	$1,25 \times 10^5$	5,096	segundo ciclo de tratamento
12-1	3 dias antes de TPA	$1,32 \times 10^4$	4,122	Amostra retirada do
12-2	25 dias após TPA inicial	$6,27 \times 10^3$	3,798	segundo ciclo de tratamento

[00249] Apesar da falta de correlação com níveis virais e de CD3, CD4 e CD9, onze dos pacientes apresentaram melhora significativa após o tratamento. Oito pacientes ficaram livre de sintomas e cinco deles ficaram em remissão por 6 a 12 meses. Três pacientes adicionais tiveram uma diminuição nos sintomas.

Exemplo IV

Segundo estudo clínico de HIV + pacientes tratados com TPA

[00250] Nove dos pacientes do Exemplo III receberam um segundo tratamento da TPA. Destes nove, sete eram assintomáticos no início do segundo estudo. Um décimo paciente (paciente #2a) que era sintomática e não tinha sido previamente tratado com TPA foi adicionado ao estudo. Cada paciente foi administrado com uma dose ajustada ao peso do TPA ($75\mu\text{g}/\text{m}^2$) em 200 ml de soro fisiológico estéril por via intravenosa ao longo de uma hora. Esta dosagem foi administrada a cada paciente uma vez por dia durante dez dias consecutivos, seguido por um período de repouso de 10 dias, durante três ciclos e com um total de 30 doses de TPA. Pacientes 5a, 6a e 8a pararam de tomar as fármacos anti-AIDS um mês antes do início do tratamento com TPA e recomeçaram um mês após o terceiro ciclo. Pacientes 1-4a, 7a e 9a-10a continuaram a tomar as fármacos anti-AIDS em todo o tratamento.

[00251] As amostras de sangue foram feitas três dias antes do início do tratamento, após a conclusão do primeiro ciclo de 10 dias de infusão de TPA e novamente após a última infusão TPA e CD3, CD4, CD8, WBC, RBC, HGB e plaquetas foram medidos.

[00252] Como mostrado na Tabela 3, houve um aumento em CD3 em todos os pacientes após a primeira e terceira perfusão com TPA com o mais alto valor que ocorre após o terceiro ciclo, com a exceção de dois pacientes (5a e 10a). Houve uma tendência para o aumento do CD8 e em CD4. Estes resultados sugerem um fortalecimento dos sistemas imunes com tratamento com TPA. Resultados variados foram obtidos na contagem de HIV (Tabela 4). As medições de HIV em alguns dos pacientes estavam abaixo dos limites de detecção do método (menos do que 200), enquanto que um aumentou de alguma forma em outros. Houve variação normal na medição de WBC, RBC, HGB e plaquetas (Tabela 5).

<u>TABELA TRÊS</u>				
<u>RESULTADOS DE TESTE CD₄ CD₈ CD₃ DE 10 PACIENTES COM HIV</u>				
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	CD₄	CD₈	CD₃
01-1	Antes de TPA	5	576	1071
01-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	7	907	1323
01-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	19	1129	2037
02a-1	Antes de TPA	26	307	339
02a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	76	335	476
02a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	137	543	625
03a-1	Antes de TPA	295	571	870
03a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	460	729	1200
03a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	1002	980	2033
04a-1	Antes de TPA	152	672	896
04a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	189	584	823
04a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	205	916	1193
05a-1	Antes de TPA	92	1097	1175

<u>TABELA TRÊS</u>				
<u>RESULTADOS DE TESTE CD₄ CD₈ CD₃ DE 10 PACIENTES COM HIV</u>				
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	CD₄	CD₈	CD₃
05a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	91	1507	1598
05a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	94	1127	1257
06a-1	Antes de TPA	230	378	669
06a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	285	429	758
06a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	276	466	938
07a-1	Antes de TPA	567	1736	2258
07a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	729	>2000	3148
07a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	786	>2000	3347
08a-1	Antes de TPA	361	569	1023
08a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	519	547	1143
08a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	495	733	1295
09a-1	Antes de TPA	101	533	672

<u>TABELA TRÊS</u>				
<u>RESULTADOS DE TESTE CD₄ CD₈ CD₃ DE 10 PACIENTES COM HIV</u>				
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	CD₄	CD₈	CD₃
09a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	136	574	712
09a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	100	1221	1317
10a-1	Antes de TPA	49	178	240
10a-2	Após primeiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	74	261	333
10a-3	Após terceiro ciclo de infusão de TPA de 10 dias	63	208	308

<u>TABELA QUATRO</u>			
<u>CONTAGEM SANGUÍNEA DE HIV DOS DEZ PACIENTES ANTES DURANTE E APÓS AS TRÊS INFUSÕES DE TPA DE DEZ DIAS</u>			
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	RESULTADOS (cópias/ml)	VALOR DE LOG
01-1	3 dias antes de TPA	$4,57 \times 10^6$	6,660
01-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	$2,99 \times 10^5$	5,475
01-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$9,41 \times 10^5$	5,973
02a-1	3 dias antes de TPA	$2,71 \times 10^5$	5,433
02a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	$3,09 \times 10^5$	5,490
02a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$9,24 \times 10^5$	5,966

<u>TABELA QUATRO</u>			
<u>CONTAGEM SANGUÍNEA DE HIV DOS DEZ PACIENTES ANTES DURANTE E APÓS AS TRÊS INFUSÕES DE TPA DE DEZ DIAS</u>			
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	RESULTADOS (cópias/ml)	VALOR DE LOG
03a-1	3 dias antes de TPA	indetectável	-
03a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	menor do que 500	2,371
03a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$9,55 \times 10^3$	3,980
04a-1	3 dias antes de TPA	menor do que 500	2,312
04a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
04a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$2,38 \times 10^3$	3,376
05a-1	3 dias antes de TPA	indetectável	-
05a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
05a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
06a-1	3 dias antes de TPA	indetectável	-
06a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
06a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
07a-1	3 dias antes de TPA	indetectável	-
07a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
07a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	indetectável	-
08a-1	3 dias antes de TPA	$1,13 \times 10^4$	4,054
08a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	$6,68 \times 10^4$	4,825

<u>TABELA QUATRO</u>			
<u>CONTAGEM SANGUÍNEA DE HIV DOS DEZ PACIENTES ANTES DURANTE E APÓS AS TRÊS INFUSÕES DE TPA DE DEZ DIAS</u>			
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	RESULTADOS (cópias/ml)	VALOR DE LOG
08a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$6,20 \times 10^4$	4,792
09a-1	3 dias antes de TPA	$1,38 \times 10^5$	5,139
09a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	$1,65 \times 10^5$	5,217
09a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$2,35 \times 10^5$	5,371
10a-1	3 dias antes de TPA	$7,20 \times 10^5$	5,857
10a-2	após primeiro ciclo de infusão de TPA	$2,82 \times 10^5$	5,450
10a-3	após terceiro ciclo de infusão de TPA	$1,86 \times 10^5$	5,270

<u>TABELA CINCO</u>					
<u>CONTAGEM DE SANGUE PERIFÉRICO DOS DEZ PACIENTES ANTES E DEPOIS DOS TRATAMENTOS DE 10 DIAS COM TPA</u>					
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	WBC (X10⁹/L)	RBC (X10¹²/L)	HGB (g/L)	PLt (X10⁹/L)
01-1	Antes de TPA	2,3	2,55	92	199
01-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	4,4	2,61	99	325
01-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	6,1	2,91	102	182
02a-1	Antes de TPA	5,7	2,44	114	227
02a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	3,7	2,14	88	238

<u>TABELA CINCO</u>					
<u>CONTAGEM DE SANGUE PERIFÉRICO DOS DEZ PACIENTES ANTES E DEPOIS DOS TRATAMENTOS DE 10 DIAS COM TPA</u>					
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	WBC (X10⁹/L)	RBC (X10¹²/L)	HGB (g/L)	PLt (X10⁹/L)
02a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	11,1	2,52	100	124
03a-1	Antes de TPA	7,8	4,04	147	309
03a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	9,8	3,83	1,38	338
03a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	13,6	4,54	140	549
04a-1	Antes de TPA	3,9	3,34	127	232
04a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	3,6	2,92	107	306
04a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	9,2	2,85	105	105
05a-1	Antes de TPA	5,1	3,54	146	243
05a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	5,7	3,46	1,35	315
05a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	10,1	3,61	144	130
06a-1	Antes de TPA	5,0	4,21	171	198
06a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	4,2	3,48	142	256
06a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	6,5	3,66	154	169
07a-1	Antes de TPA	6,6	3,62	102	306

<u>TABELA CINCO</u>					
<u>CONTAGEM DE SANGUE PERIFÉRICO DOS DEZ PACIENTES ANTES E DEPOIS DOS TRATAMENTOS DE 10 DIAS COM TPA</u>					
NO DO PACIENTE	TEMPO DO TESTE	WBC (X10⁹/L)	RBC (X10¹²/L)	HGB (g/L)	PLt (X10⁹/L)
07a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	6,0	3,76	143	258
07a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	6,0	3,92	123	293
08a-1	Antes de TPA	3,1	4,03	125	116
08a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	4,3	3,86	128	221
08a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	6,8	4,19	128	138
09a-1	Antes de TPA	3,5	1,43	41	114
09a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	2,6	1,99	57	214
09a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	4,0	2,33	67	170
10a-1	Antes de TPA	2,6	2,65	78	297
10a-2	Após primeira infusão de TPA de 10 dias	2,9	2,58	92	187
10a-3	Após terceira infusão de TPA de 10 dias	7,0	4,31	130	138

[00253] Dos nove pacientes previamente tratados com TPA no primeiro estudo clínico, apenas um (#9a) apresentou alguns sintomas de AIDS antes do início do segundo estudo clínico. Após o tratamento com três ciclos de TPA no segundo estudo, este paciente e outro (#2a), que nunca tinham sido tratados com TPA, experimentaram um

desaparecimento dos sintomas da AIDS e os dois tornaram-se suficientemente bem para retomar suas atividades normais. Os outros oito pacientes iniciaram o estudo, sem sintomas da AIDS e estavam sem sintomas no final do estudo. Todos os pacientes permanecem sob observação. O tratamento com fármacos anti-AIDS continua ininterrupto.

[00254] Como pode ser observado na Tabela 4, verificou-se um aumento em todos os pacientes nos níveis de CD3, 4 e 8 com os aumentos de níveis mais marcantes e consistentes nos níveis de CD3. A carga viral do HIV variou. Esta não foi detectada em três pacientes (<200); aumentou um pouco em seis outros e foi reduzida em um.

Exemplo V

Terceiro Estudo Clínico de pacientes HIV+ tratados com TPA

[00255] Seis pacientes, dois homens e quatro mulheres, com idades entre 37 e 52 anos de idade (pacientes # 13-18), foram tratados com TPA. Quatro destes pacientes receberam anteriormente tratamento com TPA, em combinação com fármacos anti-HIV em dois estudos clínicos anteriores. Os dois pacientes restantes nunca tinham sido tratados com TPA, mas tinham recebido anteriormente regimes de fármacos anti-HIV. Todos os tratamentos foram interrompidos três dias antes do início do terceiro estudo clínico e não foram retomados até 60 dias após a conclusão do tratamento com TPA. A retomada dos tratamentos padrão de HIV foi requerida pelas autoridades de saúde locais.

[00256] Cada paciente no estudo recebeu 150µg de TPA em 200ml de solução salina estéril por perfusão intravenosa durante um período de 1,5 a 2 horas diárias durante 60 dias, para uma dose total administrada de 9,0 mg. Após a conclusão dos 60 dias de terapia TPA, estes pacientes permaneceram em observação por mais 60 dias, porém não receberam nenhum tratamento adicional.

[00257] Os níveis de CD3, CD4 e CD8 do sangue periférico foram quantificados antes de se iniciar o tratamento, e novamente aos 30 e 60 dias por meio de citometria de fluxo e os anticorpos adequados obtidos a partir de B.D. Bioscience, San Diego, CA. A carga viral foi determinada utilizando métodos convencionais de Kuang Ann men Hospital, Beijing, China. RBC, WBC, plaquetas e os níveis de hemoglobina dos pacientes também foram medidos.

[00258] Como pode ser observado na Tabela 6, a carga viral nos seis pacientes foi baixa ou indetectável no início do estudo e manteve-se baixa durante todo o período do estudo clínico, apesar da interrupção da terapia antirretroviral tradicional. Além disso, não houve recuperação nos níveis virais 6 a 15 dias após a interrupção do tratamento antirretroviral como previamente relatado como ocorre em pacientes com carga viral plasmática abaixo das 50 cópias de HIV por ml. (Harrigan et al., AIDS 13, F59-F62 (1999)). Os níveis de CD3, CD4 e CD8 foram variáveis e inconclusivos.

<u>TABELA SEIS</u> <u>Estudo 3</u>					
<u>RESULTADOS DE CD4 CD8 CD3 E CARGA DE HIV DE 6</u> <u>PACIENTES</u>					
Nº DO PACIENTE	*TEMPO DO TESTE	CD3	CD4	CD8	**HIV(cópias/ ml)
13	1.	3500	1135	>2000	Indetectável
	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	Indetectável
16	1.	1368	128	1166	Indetectável

<u>TABELA SEIS</u>					
<u>Estudo 3</u>					
<u>RESULTADOS DE CD4 CD8 CD3 E CARGA DE HIV DE 6</u>					
<u>PACIENTES</u>					
Nº DO PACIENTE	*TEMPO DO TESTE	CD3	CD4	CD8	**HIV(cópias/ ml)
	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	Indetectável
	2.	703	229	343	0,174
	3.	579	165	290	Indetectável

* Tempo de teste:

1. Antes de TPA
2. Trinta dias após TPA
3. Sessenta dias após TPA

** Todos os valores em Milhões

[00259] Os glóbulos brancos (WBC), glóbulos vermelhos (RBC), hemoglobina (Rb) e plaquetas (PLt) foram medidos antes de iniciar o tratamento com TPA, 15, 30, 45 e 60 dias após o início do tratamento com TPA e 30 dias após a interrupção do tratamento de TPA. Como pode ser observado na Tabela 7, a maioria dos valores estava dentro da faixa normal.

[00260] Os pacientes envolvidos no terceiro estudo clínico não experimentaram nenhum aumento da carga viral como normalmente observado quando terapias antirretrovirais são interrompidas. Eles também não tiveram recorrência de sintomas da AIDS durante a observação de 120 dias e período de tratamento, se sentiram normais, e foram capazes de conduzir suas atividades habituais de vida.

<u>TABELA SETE</u>					
<u>Estudo 3</u>					
<u>PERFIL DE SANGUE PERIFÉRICO DE 6 PACIENTES</u>					
Nº DO PCIENTE	*TEMPO DO TESTE	WBC (x10⁹/L)	RBC (x10¹²/L)	Rb (g/L)	PLt (x10⁹/L)
13	1.	9	3,75	139	246
	2.	9	3,88	140	240
	3.	8,9	4,35	148	275
	4.	4,6	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	188
	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	3,83	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

<u>TABELA SETE</u>					
<u>Estudo 3</u>					
<u>PERFIL DE SANGUE PERIFÉRICO DE 6 PACIENTES</u>					
Nº DO PCIENTE	*TEMPO DO TESTE	WBC (x10⁹/L)	RBC (x10¹²/L)	Rb (g/L)	PLt (x10⁹/L)
	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

*Tempo de teste

1. Antes de TPA
2. Quinze dias depois de TPA
3. Trinta dias depois de TPA
4. Quarenta dias depois de TPA
5. Sessenta dias depois de TPA
6. Trinta dias depois de interromper TPA

Exemplo VI

Estudos de Casos

[00261] Os resultados do tratamento de pacientes com AIDS inicialmente sintomáticos tratados com TPA de acordo com os protocolos do Exemplo III, IV e V. Os pacientes que participaram em vários estudos são, em alguns casos identificados por mais de um número de paciente. Todos os números de identificação do paciente correspondem aos números de pacientes nas Tabelas 1-7.

[00262] **Paciente #1 e 15:** H.L.Y., sexo feminino, 35 anos, participou de todos os três estudos clínicos, com diagnóstico de AIDS e tinha sintomas claros da doença em 2003. Na época que o primeiro estudo começou, ela tinha febre frequente, diarreia, lesões orais, falta

de apetite, perda de peso, perda de visão do olho esquerdo (formação de sincícios) e tosse (tuberculose). A paciente começou a receber medicamentos antivirais Estavudina (D₄T), lamivudina (3TC), nevirapina (NVP) e zidovudina (AZT) em 2004. Apesar das fármacos anti-AIDS, ela tinha uma contagem de CD4 de 3 e era incapaz de realizar qualquer trabalho físico.

[00263] Durante o primeiro estudo seguindo o protocolo do Exemplo III, acima, ela experimentou um aumento na temperatura do corpo de 38-39°C, em quatro ocasiões diferentes, que duraram 2-4 horas. Depois do tratamento com TPA, houve uma melhora gradual nos sintomas. Seu apetite melhorou e diarreia, lesões orais, e fadiga desapareceram, mas sua visão permaneceu prejudicada. Ela ganhou um pouco de peso e relatou ser capaz de retomar o trabalho doméstico. Ela continua a receber a terapia antiviral. Não parece haver nenhuma correlação em melhorias nos sintomas e mudanças em seus níveis de CD 3, 4, 8 e contagem viral.

[00264] H.L.Y. participou do segundo estudo descrito no Exemplo IV, acima. No início do segundo estudo, ela não tinha sintomas da AIDS. Durante este tratamento subsequente com TPA ela não experimentou efeitos adversos. Depois de ambos o primeiro e terceiro ciclo de tratamento com TPA, seus níveis de CD3, CD4, CD8 e aumentaram assim como sua contagem de glóbulos brancos. Sua contagem de HIV foi um pouco maior, mas ela é capaz de funcionar normalmente e continua não tendo sintomas da AIDS.

[00265] H.L.Y. participou do terceiro estudo descrito no Exemplo V, cima. No início do terceiro estudo, ela ainda estava tendo problemas com seu olho. Durante o terceiro estudo, ela experimentou uma febre de 38-38,5°C, durante o terceiro e quarto dias de infusão de TPA. Nenhum dos sintomas de AIDS voltou durante o estudo ou o período de observação de 60 dias. Exceto por sua visão, ela permanece livre

de sintomas, se sente normal e é capaz de realizar atividades normais. Ela reiniciou a terapia antiviral após a conclusão do período de observação 60 dias e permanece sob os cuidados de um médico.

[00266] **Paciente #2:** C.X., sexo feminino, 49 anos, participou do primeiro estudo clínico, com diagnóstico de AIDS e tinha sintomas claros da doença em 2004. Ela tinha lesões leves orais, fadiga, aftas na pele, febre e falta de apetite. Alguns destes sintomas eram devido ao vírus do herpes. Ela tinha sido tratada com AZT, DDI e NVP, mas o tratamento medicamentoso foi encerrado devido aos efeitos colaterais. Ela não recebeu nenhuma fármaco durante 3 meses antes do tratamento TPA. Ela era hospitalizada com frequência e era incapaz de trabalhar. Sua contagem de CD4 antes do tratamento era de 26.

[00267] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo do Exemplo III, ela experimentou um aumento na temperatura corporal de 37,5 a 38 graus centígrados, em três ocasiões diferentes, que durou 1-2 horas. Após o tratamento com TPA, suas lesões orais, aftas pele e febre desapareceram. Seu apetite melhorou o suficiente para que ela ganhasse peso e teve energia suficiente para retomar o trabalho doméstico. Ela permaneceu sem sintomas por cinco meses e não recebeu qualquer fármaco anti-AIDS durante este período. Não parecia haver nenhuma correlação entre a melhora dos sintomas e seus níveis de CD3, 4, 8 e contagem viral.

[00268] **Paciente # 2a** M.S., masculino, 48 anos, participou apenas do segundo estudo clínico, com febre frequente, diarreia, perda de peso, um sistema imune fraco, depressão grave e era incapaz de trabalhar.

[00269] Durante o tratamento com TPA de acordo com os protocolos do Exemplo IV, a temperatura corporal aumentou para 38,5-39 graus centígrados, por cinco vezes, durante 2 a 4 horas.

[00270] Após o terceiro ciclo de tratamento com TPA, a febre e

diarreia já não eram um problema. Suas contagens de CD3, CD4 e CD8 tinham tendência ascendente assim como contagem de WBC e HIV. Suas condições física e mental voltaram ao normal e ele estava apto para trabalhar.

[00271] **Paciente #3:** Y.P., sexo masculino, 51 anos, participou apenas do primeiro estudo clínico, com diagnóstico de AIDS e tinha sintomas claros da doença em 2004. Seus principais sintomas foram diarreia, fadiga, perda de peso, anemia e marcas roxas na pele de ambas as pernas; e ele só poderia fazer trabalho leve. Ele estava sendo tratado com AZT, DDI e NVP, mas uma séria anemia resultou no término do tratamento com a fármaco quatro meses antes de ser administrado TPA. Sua contagem inicial de células CD4 foi de 32.

[00272] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo descrito no Exemplo III, experimentou um aumento na temperatura do corpo de 38 até 39°C em três ocasiões, que durou 1-2 horas. Após o tratamento com TPA, houve uma melhoria significativa em seus sintomas e ele foi capaz de voltar ao trabalho que envolve trabalho pesado e está levando uma vida normal. Ele estava livre de sintomas por cinco meses após a terapia com TPA, e não foi tratado com fármacos antivirais durante este período. Não parecia haver nenhuma correlação entre níveis de CD3, 4 e 8 e melhoria nos sintomas, mas houve algum aumento na contagem viral.

[00273] **Paciente #4:** L.W., sexo masculino, 34 anos, participou de apenas do primeiro estudo clínico, testou positivo para HIV e tinha sintomas claros da doença em 2004. Seus principais sintomas eram diarreia, febre, perda de peso, tosse (tuberculose), alargamento de linfonodo do lado direito e ele era incapaz de trabalhar. Sua resposta inicial ao tratamento foi fraca. O cronograma de medicação antiviral de 3TC, DDI e NVP era irregular e foi interrompido durante a terapia com TPA. Sua contagem inicial de células CD4 foi de 173.

[00274] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo do Exemplo III, experimentou um aumento de temperatura do corpo de 38 a 39°C em cinco ocasiões, que durou 0,5-1 hora. Após o tratamento, o ataque ocasional de diarreia foi tratado com sucesso com e um medicamento antidiarreia. Uma melhoria no apetite resultou em um aumento de peso e de energia, que resultou em seu retorno a um cronograma do trabalho regular. O linfonodo voltou ao tamanho normal. Continua sendo tratado com fármacos antivirais. Não parecia haver nenhuma correlação entre as melhorias nos sintomas, níveis de CD3, 4, 8 e contagem viral.

[00275] **Paciente #5 e 3a:** H.S., sexo feminino, 37 anos, participou dos dois primeiros estudos clínicos, testou positivo para HIV e tinha sintomas claros da doença em de 2004. No momento em que o primeiro estudo começou, seus principais sintomas eram aftas na pele, perda de cabelo, infecção na boca, perda de peso e fadiga. Ela estava sendo tratada com D₄T, DDI, e NVP, mas o tratamento foi interrompido devido à perda da função renal. Ela tinha uma contagem de CD4 inicial de 106, mas poderia lidar com o trabalho de modo regular.

[00276] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo do Exemplo III, ela experimentou aumento da temperatura corporal de 37,5 a 38°C em cinco ocasiões, que durou 0,5 a 1,0 horas. Após o tratamento com TPA, nenhuma melhoria dos sintomas ocorreu. O tratamento com fármacos antivirais foi retomado sem retorno dos efeitos colaterais anteriores e a intensidade dos sintomas foi reduzida após um mês. Este tratamento está sendo continuado e ela voltou a trabalhar. Não parecia haver nenhuma correlação entre a melhoria nos sintomas e mudanças em níveis de CD3, 4, e 8 ou a contagem de HIV.

[00277] Na época do segundo estudo, ela não tinha sintomas de AIDS e não sofria nenhum efeito adverso no curso do tratamento como descrito no Exemplo IV. Depois do segundo estudo, os níveis de CD3,

CD4 e CD8 tiveram tendência ascendente como fizeram seus níveis de hemograma e plaquetas brancas. Sua contagem de HIV foi inicialmente detectada, mas aumentou após o terceiro ciclo de tratamento. Atualmente, ela é capaz de trabalhar.

[00278] **Paciente #6, #4a, e #17:** H.S.C., sexo masculino, 36 anos, participou de todos os três estudos clínicos, testou positivo para HIV e tinha claros sintomas, mas leves em 2004. Na época que o primeiro estudo começou, sofreu tontura, dor de cabeça, falta de apetite e um aumento da susceptibilidade a infecções do trato respiratório superior, mas foi capaz de trabalhar regularmente como operário. Ele estava sendo tratado com medicamentos antivirais AZT, DDI e NVP, mas encerrou o seu uso devido às reações adversas. Seu nível de CD4 inicial era 232.

[00279] Durante o tratamento com TPA acordo com o protocolo do Exemplo III, ele não experimentou um aumento na temperatura do corpo ou qualquer outro efeito colateral. Após o tratamento, os sintomas permaneceram inalterados e uma redução do número de plaquetas parecia relacionado com o tratamento com TPA. Ele continuou a ser tratado com fármacos antivirais e é capaz de trabalhar como antes. Não parecia haver nenhuma correlação entre a melhora dos sintomas e níveis de CD3, 4 e 8 e carga viral.

[00280] Na época do segundo estudo, ele não tinha sintomas e seu sistema imune parecia estar funcionando normalmente. No segundo estudo, de acordo com o exemplo IV, ele novamente não sofreu efeitos colaterais do tratamento com TPA. Seus CD3, CD4, CD8 e contagem aumentaram um pouco assim como sua contagem de glóbulos brancos. A carga viral foi inicialmente detectada, mas aumentou após o terceiro ciclo de tratamento. No entanto, ele não tem quaisquer sintomas de AIDS e voltou a trabalhar.

[00281] No início do terceiro estudo clínico, ele não tinha nenhum

sintoma. Durante o tratamento com TPA acordo com o protocolo do Exemplo V, ele experimentou um incidente de irritação local devido a um vazamento de agulha no dia 32, mas foi tratado com sucesso em três dias. Ele permanece livre de sintomas, se sente normal, e é capaz de realizar o trabalho pesado. Ele começou a terapia antiviral após a conclusão dos períodos de observação de 60 dias e permanece sob os cuidados de um médico.

[00282] **Paciente #7, #5a e #16:** HCL, sexo masculino, 49 anos, participou de todos os três estudos clínicos, testou positivo para HIV e tinha sintomas claros da doença em 2004. Seus principais sintomas na época do primeiro estudo foram perda de peso, aftas na pele, fadiga, falta de apetite e tosse (tuberculose), mas ele foi capaz de realizar trabalho leve. Ele foi tratado simultaneamente com D₄T, DDI, NVP e medicamentos antituberculose. Sua contagem inicial de células CD4 foi de 10.

[00283] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo descrito no Exemplo III, experimentou um aumento na temperatura do corpo a 38°C, por duas vezes acompanhado de tonturas e dor de cabeça leve. Após o tratamento, os sintomas permaneceram inalterados e foi retomada a terapia antiviral, um mês depois. Com o tempo, o nível da tosse, o apetite e a energia melhoraram e ele é capaz de trabalhar. Ele continuou com as fármacos antiviral e antituberculose. Não parecia haver nenhuma correlação entre a melhora dos sintomas e seus níveis de CD3, 4 e 8 ou carga viral.

[00284] Na época do segundo estudo clínico, ele não tinha sintomas da AIDS e seu sistema imune parecia estar funcionando normalmente. Ele não sofreu nenhum efeito adverso do tratamento TPA durante a segunda investigação clínica. Após o tratamento, o seu nível de CD4 não foi alterado, mas seus níveis de CD3 e CD8 tiveram tendência ascendente assim como sua contagem de glóbulos brancos.

Sua carga viral era indetectável. Ele não teve nenhum sintoma da AIDS e voltou a trabalhar.

[00285] No início do terceiro estudo clínico, ele não estava sentindo os sintomas da AIDS. Durante o tratamento de acordo com o protocolo descrito no Exemplo V, ele teve febre em uma ocasião. Ele permanece livre dos sintomas, se sente normal, e é capaz de realizar o trabalho pesado. Ele reiniciou as fármacos antivirais após a conclusão do período de observação 60 dias e permanece sob os cuidados de um médico.

[00286] **Paciente #8, #6 e 18:** Y.X.O., sexo feminino, 36 anos, participou de todos os três estudos clínicos, testou positivo para HIV, em 2004. Seu principal sintoma na época do primeiro estudo foi um aumento da susceptibilidade para infecção do trato respiratório superior. Foi tratada com AZT, DDI e NVP. No início do estudo, o seu nível de CD4 era de 524 e ela poderia lidar com trabalho de modo regular.

[00287] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo do Exemplo III, ela experimentou um aumento na temperatura corporal para 38,5°C em uma ocasião, que durou quatro horas. Após o tratamento, a frequência de suas constipações diminuiu e ela não tinha outros sintomas. Ela continuou a ser tratada com fármacos antivirais e é capaz de trabalhar. Não parecia haver nenhuma correlação entre a melhora dos sintomas e seus níveis CD3, 4, ou 8 ou carga viral.

[00288] Na época do segundo estudo clínico, ela não tinha sintomas da AIDS e seu sistema imune parecia estar funcionando normalmente. Durante o segundo estudo, de acordo com os protocolos do Exemplo IV, a temperatura do corpo aumentou de novo para 38,5 graus centígrados durante duas horas em uma única ocasião. Após o tratamento, os níveis de CD3 e CD8 aumentaram ligeiramente, enquanto seu CD4 e contagem de glóbulos brancos permaneceram

inalterados. Sua carga viral está indetectável. Ela parece normal e é capaz de trabalhar em tarefas fisicamente exigentes.

[00289] Na altura do terceiro estudo clínico ela estava livre de sintomas. Os únicos efeitos colaterais do tratamento de acordo com o protocolo do Exemplo V foram a febre de 38-39°C, no segundo dia do tratamento, que se prolongou por duas horas e a irritação da pele a partir de um vazamento da agulha no dia 36, que resolveu em dois dias. Ela permanece livre de sintomas, se sente normal e é capaz de realizar o trabalho pesado. Ela reiniciou a terapia antiviral após a conclusão do período de observação 60 dias e permanece sob os cuidados de um médico.

[00290] **Paciente #9 e #7:** C.T.F., sexo masculino, 44 anos, participou dos dois primeiros estudos clínicos, testou positivo para HIV e tinha sintomas claros da doença, em 2004. Seus sintomas no início do primeiro estudo incluíram diarreia persistente, tonturas, dores de cabeça, falta de apetite, perda de peso e fadiga. Ele teve uma resposta positiva ao AZT, DDI e NVP tratamento e contagem de HIV no sangue estava perto do limite mais baixo. Apesar da resposta positiva, os sintomas persistiram e ele foi verificado no hospital devido à diarreia, que persistiu por 20 dias. Ele estava muito deprimido e incapaz de realizar qualquer trabalho.

[00291] Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo do exemplo III, experimentou um aumento na temperatura corporal de 37,5-38°C em seis ocasiões que duraram 2-4 horas. Um vazamento na agulha causou uma irritação da pele grave durante uma administração da TPA, mas foi tratado com sucesso. Depois de oito tratamentos com TPA, a dor de cabeça e tontura leve persistiram, mas a incidência de diarreia começou a reduzir e o apetite melhorou. Uma semana depois, sua diarreia desapareceu completamente e ele tinha um apetite normal. Ele foi capaz de retornar ao trabalho e está recebendo a

terapia de fármaco antiviral. Parecia haver uma tendência de aumento de níveis de CD3, 4, 8 e a contagem de HIV era indetectável.

[00292] Na época do segundo estudo clínico, ele não tinha nenhum sintoma da AIDS e seu sistema imune parecia estar funcionando normalmente. Durante o tratamento com TPA de acordo com o protocolo do Exemplo IV, não sofreu efeitos colaterais. Após o tratamento, os seus níveis de CD3, CD4 e CD8 aumentaram ligeiramente, enquanto sua contagem de glóbulos brancos permaneceu inalterada. Sua contagem de HIV continua a ser indetectável. Ele é capaz de realizar um trabalho extenuante.

[00293] **Paciente #10 e #8:** W.F.W., sexo feminino, 47 anos, participou dos dois primeiros estudos, testou positivo para HIV e tinha sintomas claros da doença em 2003. Seus sintomas no início do primeiro estudo incluíam baixa temperatura do corpo, diarreia, baixa contagem de plaquetas, sangue ao tossir, evacuações com sangue, tonturas, dor de cabeça, falta de apetite, perda de peso, fadiga com aftas leves na pele e profunda depressão. Ela foi hospitalizada em uma ocasião por dois meses por causa de evacuações sangrentas. Ela estava muito deprimida e incapaz de trabalhar. Ela não respondeu positivamente ao tratamento com AZT, DDI e NVP e seus sintomas não estavam sob controle.

[00294] Durante o seu primeiro tratamento com TPA de acordo com o protocolo do Exemplo III, ela experimentou um aumento da temperatura corporal para 38,5°C em uma ocasião, que durou 4 horas. Após o tratamento TPA, suas tonturas, dor de cabeça e diarreia gradualmente diminuíram. Eventualmente, seu apetite levou a um ganho de peso e uma melhora em seu nível de energia. Sua contagem de plaquetas aumentou de 30.000 para 110.000 por microlitro e as aftas na pele e diarreia foram eliminadas. Ela foi capaz de trabalhar de novo e foi tratada com medicamentos antivirais. Ela tinha febre e

diarreia, ocasionalmente, que ela era capaz de controlar com medicamentos.

[00295] Seis meses depois, ela sofreu de dores de cabeça e tonturas leves e foi submetida a um segundo tratamento com TPA. Durante o seu segundo tratamento com TPA, ela experimentou um aumento da temperatura corporal para 37,5 e 38°C em cinco ocasiões, com duração de 2 a 4 horas. Vinte horas após a 13ª injeção de TPA, a temperatura chegou a 40,5 graus centígrados e durou várias horas. Concluiu-se que o aumento de temperatura não foi relacionado com a terapia de TPA.

[00296] Depois de seu segundo tratamento com TPA, seus sintomas desapareceram, o apetite melhorou e ela ganhou peso, o que lhe permitiu recuperar a energia, voltar a trabalhar e levar uma vida normal. Ela estava livre de sintomas por um ano e teve poucas constipações nos primeiros seis meses após o segundo tratamento com TPA. Parece haver uma tendência crescente para os níveis de CD3, 4 e 8 e as contagens de HIV.

[00297] Na época do segundo ensaio clínico de acordo com o protocolo do Exemplo IV, esta paciente continuou a não apresentar nenhum sintoma da AIDS e seu sistema imune parecia estar funcionando normalmente. Ela não sofreu efeitos adversos durante o tratamento. Após o tratamento, as contagens de CD3, CD4 e CD8 aumentaram um pouco assim como o WBC. Sua contagem de HIV aumentou um pouco. Desde os estudos, ela tem estado saudável e engajada no trabalho laborioso.

[00298] **Paciente #11 e 9a:** C.T.L., sexo feminino, 40 anos, participou dos dois primeiros estudos, foi diagnosticada com AIDS e tinha sintomas claros da doença em 2003. No início do primeiro estudo que teve diarreia persistente, temperatura corporal baixa, lesões orais, aftas graves na pele, coceira, manchas roxas no rosto e lábios,

tonturas, dor de cabeça, falta de apetite, fadiga e depressão. Ela respondeu mal ao AZT, 3TC e NVP tratamento. Seus sintomas não estavam sob controle e ela era incapaz de trabalhar. A contagem inicial de células CD4 foi de 40.

[00299] Durante o seu primeiro tratamento com TPA, ela experimentou um aumento na temperatura corporal para 38-39°C por quatro vezes com duração de 2 a 4 horas. Ela teve falta de ar em duas ocasiões, que durou de 20 a 30 minutos cada.

[00300] Após a sexta dose de TPA, suas aftas na pele começaram a desaparecer e após a conclusão do tratamento TPA, a tontura, dor de cabeça, febre e aftas na pele foram melhorando gradualmente e desapareceram. Seu apetite, condição física e depressão melhoraram suficientemente para ela voltar ao trabalho.

[00301] Este paciente teve um segundo tratamento com TPA 18 meses mais tarde, devido ao retorno de sintomas, incluindo aftas na pele leves, diarreia e tonturas. Durante este segundo tratamento, ela experimentou um aumento da temperatura corporal para 37,5 e 38°C três vezes com duração de 2 a 4 horas. Não houve outras reações adversas. Após o tratamento com TPA, seus sintomas desapareceram completamente e sua condição física melhorou o suficiente para permitir voltar ao trabalho. Ela ficou sem sintomas por um ano e ela raramente tinha um resfriado. Parece haver uma tendência de aumento em níveis de CD3, 4 e 8, mas suas contagens de HIV não se alteraram.

[00302] Na época do segundo estudo clínico de acordo com o protocolo do Exemplo IV, este paciente apresentou sintomas de AIDS, incluindo dores de cabeça, tonturas, falta de apetite e uma função imune fraca. Ela não sofreu efeitos adversos durante o tratamento. Após o tratamento, os níveis de CD3 e CD8 aumentaram enquanto sua contagem de células CD4 não foi alterada. Sua contagem de HIV

aumentou ligeiramente, mas não foram observadas outras alterações. Sua condição física e mental melhorou consideravelmente e ela está fazendo um trabalho físico extenuante.

[00303] **Paciente #12 e #10a:** C.C.L., sexo feminino, 39 anos, participou dos dois primeiros estudos, com diagnóstico de AIDS e tinha sintomas claros da doença em 2003. No início do primeiro estudo teve temperatura corporal persistente baixa, aftas na pele, tontura, dor de cabeça, falta de apetite, lesões orais, fadiga e depressão profunda. Foi tratada com AZT, 3TC e NVP, mas teve resultados ruins e ela estava incapaz de trabalhar. A contagem inicial de células CD4 foi de 84.

[00304] Esta paciente foi tratada com TPA duas vezes durante o período de março de 2005 a março de 2006. Durante o primeiro tratamento com TPA, ela experimentou um aumento na temperatura do corpo para 38 a 38,5°C em oito ocasiões que durou 2 a 4 horas. Ela experimentou falta de ar em uma ocasião, por 15 minutos e sofreu uma irritação da pele devido a uma agulha vazando.

[00305] Após a sétima injeção, suas lesões orais desapareceram. Após a conclusão de todas as injeções, todos os sintomas desapareceram e sua condição física melhorou suficientemente para ela voltar ao trabalho.

[00306] Seis meses depois, a paciente foi novamente tratada com TPA devido ao retorno de diarreia leve e tonturas. Ela experimentou um aumento da temperatura corporal para 37,5 e 38°C centígrados por seis vezes associados com a administração de TPA que durou 2-6 horas. Começando com a oitava injeção, a dose foi aumentada de aproximadamente 150 µg para 250 µg de TPA. Não ocorreram efeitos adversos. Após a conclusão da terapia TPA, todos os sintomas desapareceram. Sua condição física foi restaurada ao normal e ela voltou a trabalhar e teve uma vida normal. Ela estava livre de sintomas por um ano e raramente tinha um resfriado. Não houve mudanças em

níveis de CD3, 4 ou 8, mas sua contagem de HIV aumentou.

[00307] Na época do segundo estudo clínico, a paciente não tinha sintomas de AIDS embora ela tinha um sistema imune enfraquecido. Ela foi tratada de acordo com o protocolo do Exemplo IV e não sofreu nenhum efeito adverso. Após o tratamento, houve um ligeiro aumento em seus CD3, CD4 e CD8, e aumentos modestos na WBC, RBC e HGB enquanto plaquetas pareceram diminuir. A contagem de HIV foi ligeiramente reduzida. Ela tem estado saudável e engajada em trabalho físico extenuante desde seus tratamentos.

[00308] **Paciente #13:** L.F.L., sexo feminino, 53 anos, diagnosticada com AIDS em 2004 participou apenas do terceiro estudo clínico. Ela apresentou sintomas leves de falta de apetite e perda de peso. Fármacos antivirais de longo prazo foram eficazes e fizeram com que sua contagem de vírus diminuísse abaixo dos níveis detectáveis e contagens de CD3, CD4 e CD8 para aumentar a um nível elevado. Ela não tinha sintomas antes do tratamento de TPA e não teve efeitos colaterais de sua administração. Ela permanece livre de sintomas, se sente normal, e é capaz de realizar atividades normais. Ela reiniciou a terapia com fármaco antiviral após a conclusão do período de observação de 60 dias.

[00309] **Paciente #14:** K.S.M., sexo feminino, 45 anos, diagnosticada com AIDS em 2004, participou apenas do terceiro estudo clínico. Seus sintomas foram leves e consistiam de falta de apetite e resfriados frequentes. Ela havia sido tratada com fármacos antivirais, mas parou devido à toxicidade hepática grave. Ela não tinha sintomas antes do tratamento com TPA e o único efeito colateral de TPA foi irritação devido a um vazamento de agulha no dia 43 que foi facilmente tratada. Nenhum sintoma de AIDS ocorreu durante todo o período de tratamento e observação. Ela se sente normal e é capaz de realizar suas atividades habituais. Após a conclusão do período de

observação de 60 dias foi perdida do estudo e não renovou a terapia antiviral.

Exemplo VII

Tratamento de malignidades recidivas/refratárias com TPA

[00310] Os pacientes com diagnóstico histológico documentado de malignidades hematológicas/distúrbios de medula óssea recidivos/refratários são tratados com uma combinação de TPA (Xichuan Pharmaceuticals, Nan Yang, Henan, China), dexametasona e colina magnésio trissalicilato. Métodos comparáveis conforme descrito abaixo para demonstrar o uso terapêutico de TPA no tratamento de leucemia mieloide aguda (AML) serão aplicados para demonstrar o uso de TPA para o tratamento de outras condições neoplásicas e malignidades. Outras condições neoplásicas e distúrbios malignos susceptíveis ao tratamento utilizando os métodos e composições da presente invenção incluem várias formas de câncer, incluindo sangue e malignidades ósseas e cânceres sólidos de vários tipos. Além dos protocolos específicos aqui, o sucesso do tratamento e/ou remissão será determinado para diferentes condições neoplásicas malignas e direcionadas usando qualquer um de uma ampla variedade de métodos de detecção e métodos de avaliação do câncer bem conhecidos, por exemplo, por determinação da redução do tamanho dos cânceres sólidos, estudos histopatológico para avaliar o crescimento do tumor, estágio, potencial metastático, níveis de presença/expressão marcadores de câncer histológicas, etc.

[00311] AML é uma doença agressiva que geralmente garante terapia urgente e intensiva. A idade média dos pacientes no diagnóstico de AML é de 64-68 anos de idade, e pacientes com mais de 60 anos de idade tratados com quimioterapia padrão são curados das suas doenças <20% das vezes. Os pacientes que desenvolvem AML após uma doença hematológica antecedente ou

quimioterapia/radioterapia leucemogênicos anterior têm resultados fracos da mesma forma, assim como os pacientes cuja doença está associada a características citogenéticas e características clínicas adversas específicas. Por isso, a maioria dos pacientes diagnosticados com AML tem características relacionadas ao paciente e/ou à doença que estão associadas com um prognóstico muito fraco. Para os pacientes com recidiva de doença, nenhuma terapia não transplante padrão tem demonstrado a capacidade de cura. Para estes pacientes, AML é frequentemente uma doença fatal. São necessárias novas abordagens para o tratamento da AML.

[00312] Utilizando os métodos e composições da presente invenção, TPA, é desenvolvido como um agente terapêutico para o tratamento de pacientes com leucemia mieloide aguda, com base no novo papel de TPA na modulação de vias de sinalização intracelular, que é a capacidade para induzir a diferenciação e/ou apoptose em linhagens celulares, e os dados clínicos, que indicam a efetividade de TPA no tratamento de doenças neoplásicas e malignas, incluindo mieloides.

[00313] Assim, a avaliação clínica de TPA demonstrou que TPA exerce efeitos terapêuticos citotóxicos diretos em, pelo menos, um subconjunto dos casos de AML, como medido pela viabilidade celular e ensaios de apoptose. Em todas as culturas primárias analisadas por análise de Western, TPA induziu fortemente a fosforilação de ERK por 1 hora em cultura. Efeito citotóxico de TPA em células AML primárias está associado com a perda subsequente de sinal pro-fosfo-ERK pró-sobrevivência após 24 horas de exposição *ex vivo*. Esta observação está de acordo com outros estudos que relataram diminuição da sobrevivência de AML primária após a interrupção farmacológica de sinalização ERK por inibidores de MEK, como PD98059, U0126 e PD 184352. Em nossos estudos, a perda da sinalização ERK foi

associada com a indução de fosfatases ERK.

[00314] Além da proteína quinase C e ativação de ERK, TPA é um indutor conhecido de NF- κ B, um fator de transcrição pró-sobrevivência, muitas vezes constitutivamente ativo em blastos AML e células-tronco leucêmicas. O trabalho recente do nosso laboratório demonstrou que células AML NF- κ B podem ser inibidas *in vivo*, com 48 h de tratamento com dexametasona + colina trissalicilato magnésio (CMT). Além disso, mostramos que a dexametasona pode induzir expressão de MKP-1 ERK da fosfatase e melhorar citotoxicidade de TPA em amostras de AML primária. Neste contexto, nós escolhemos em modalidades exemplares abaixo usar dexametasona e CMT como medicamentos adjuvantes para serem usados 24 horas antes e 24 horas após o tratamento com TPA. Estes medicamentos são bem tolerados e antecipados para reduzir os efeitos adversos inflamatórios do tratamento e melhorar citotoxicidade de TPA aumentando expressão de ERK fosfatase e da inibição de NF- κ B. Em adição a dexametasona e CMT serão utilizados como medicamentos adjuvantes, porque são anti-inflamatórios, podem melhorar os efeitos adversos, e podem aumentar a atividade anti-leucêmica por inibição dos efeitos anti-apoptóticos de expressão constitutiva de NF- κ B e indução de fosfatases que diminuem sinalização de atividade da via.

[00315] Um estudo inicial de Fase 1 de TPA incluiu 35 pacientes [23 com AML recidiva/refratária, 2 com outras malignidades mieloides (crise de blasto CML, mielodisplasia com excesso de blastos), 3 com a doença de Hodgkin, 3 com linfoma não Hodgkin e 4 com tumores sólidos]. A maioria dos pacientes tinha uma AML recidiva/refratária. Nossos resultados clínicos incluem um paciente AML com doença estável por > 5 meses, que recebeu oito infusões de TPA. Em um segundo paciente AML, um declínio (5 vezes) pronunciado do número de blastos em circulação foi observado após a administração de TPA.

Este declínio em blastos leucêmicos persistiu por 4 semanas, e o paciente acabou morrendo de uma infecção fúngica. Finalmente, um paciente com recaída da doença de Hodgkin e refratária, apesar de dose elevada de quimioterapia com resgate de células-tronco autólogas tiveram uma remissão parcial da massa da parede torácica após a administração de TPA. O escalonamento de dose de TPA foi concluído, na última coorte em 2 de 3 pacientes tratados com uma dose de 0,188mg/m² dl-5, 8-12 experimentaram toxicidades limitantes de dose não hematológicas de grau III (DLT), que institui a dose máxima tolerada de TPA como um único agente de 0,125mg/m²/d em d1-5 e 8-12.

[00316] No caso de AML e outras malignidades hematológicas, os pacientes recebem uma dose inicial de TPA de 1 mg/semana x 3 semanas (dias 1, 8, 15) com administração oximetria de pulso constante/intermitente durante 6 horas. Vinte e quatro horas antes do início do tratamento com TPA, os pacientes recebem 10 mg de dexametasona a cada seis horas e 1500 mg de trissalicilato magnésio colina (CMT) a cada oito horas prosseguindo até 24 horas após a administração da TPA. Após a administração da dose inicial de TPA, os pacientes têm um período de repouso de duas semanas, após o qual eles podem ser reavaliados. Esses pacientes que têm uma resposta da doença ou a estabilização da dose inicial de TPA são tratados durante seis ciclos de 28 dias de acordo com o protocolo abaixo.

[00317] Após o período de repouso de duas semanas, os pacientes são pré-medicados com Tylenol 650 mg e Benadryl 25-50 mg (dependendo do tamanho do paciente e da idade) 30 minutos antes da administração de TPA. Eles são, em seguida, administrados com infusão intravenosa de TPA através de um cateter venoso central, diariamente, durante 5 dias por semana durante duas semanas

consecutivas, seguido de um período de repouso de duas semanas. TPA é administrado a uma dose de 1 mg em 200 ml de solução salina normal por 1 hora. Vinte e quatro horas antes do início da terapia com TPA, os pacientes recebem 10 mg de dexametasona, de seis em seis horas e 1500 mg de colina trissalicilato magnésio continuando a cada oito horas, até 24 horas após a administração de TPA.

[00318] Os níveis sanguíneos de TPA são medidos antes e após a infusão utilizando um ensaio biológico que mede atividade diferenciação extraível de solvente orgânico. 1 ml de sangue é extraído duas vezes com 5 ml de acetato de etila, novamente dissolvendo o resíduo de extração em 50 µl de etanol e adição de uma alíquota de células HL60. Após 48 horas, as células aderentes são medidas.

[00319] Os testes também são executados em amostras de sangue coletadas antes e após a infusão com TPA para determinar os níveis de glóbulos brancos, plaquetas e neutrófilos. As amostras são, adicionalmente, analisadas relativamente à presença de mieloblastos e hastes Auer. Estes e os experimentos de continuação irão ainda elucidar o citotóxico terapêutico e outros efeitos que TPA induz contra células neoplásicas em AML e outras condições neoplásicas e malignas.

Exemplo VIII

Medição da modulação de ativação de ERK

[00320] Os níveis de fosfo-ERK são medidos em células malignas circulantes em pacientes com leucemia e em células mononucleares do sangue periférico nos pacientes com linfoma/tumores sólidos. Uma amostra de sangue é tirada a partir de pacientes tratados de acordo com o protocolo do Exemplo VII, antes e após a administração de TPA.

[00321] Em pacientes com leucemia com WBC ≥ 1000 por µL,

citometria de fluxo é realizada em uma amostra de sangue utilizando anticorpos específicos para antígeno de superfície celular e fosfo-ERK diretamente conjugados a fluoróforos (BD Biosciences, San Jose, CA). São recolhidas amostras de pré-administração de TPA e uma hora após a infusão de TPA nos dias 1, 2, e 11 para o tratamento inicial de acordo com o protocolo do Exemplo VII e dias 1 e 11 em ciclos subsequentes. Em pacientes com leucemia, com um número de blastos leucêmicos absoluto ≥ 2500 por μL e outros pacientes não leucêmicos, as amostras de sangue periférico são tomadas nos dias 1, 8 e 15 do ciclo inicial de acordo com o protocolo do Exemplo VII, antes e 1 e 4 horas após a infusão. As amostras são também analisadas por análise de Western blot de fósforo-ERK, e $\frac{1}{2}$ níveis de ERK total para confirmar os resultados obtidos com a citometria de fluxo e correlacionados com a resposta clínica.

[00322] As análises anteriores irão elucidar o papel do TPA no tratamento de condições neoplásicas e malignas, incluindo o efeito citotóxico de TPA sobre as células malignas, exemplificadas por células AML primárias, e a redução associada pela TPA do sinal pro-sobrevivência de fósforo-ERK.

Exemplo IX

Medição de Modulação de NF- κ B

[00323] Nos estudos anteriores demonstramos que a atividade de NF- κ B pode ser modulada em pacientes após a administração de TPA com dexametasona. Além disso, a dexametasona demonstrou induzir expressão MKP-1 ERK de fosfatase e melhorar citotoxicidade de TPA. Os estudos seguintes destinam-se a elucidar como a atividade de NF- κ B é modulada terapeuticamente em pacientes tratados com TPA e dexametasona.

[00324] A ligação NF- κ B é medida em amostras de sangue periférico de pacientes no início do estudo e pré e pós infusão de

pacientes tratados com TPA de acordo com o Exemplo VII usando ensaios baseados em ELISA (BD Bioscience, San Jose, EUA). Níveis de NF- κ B são quantificados utilizando intensidade de quimioluminescência para detectar ligação em quantidades limitantes de extrato celular utilizando um formato de 96 poços. Além disso, os ensaios de mudança de mobilidade eletroforética são realizados para medir a ligação NF- κ B em amostras de sangue periférico de paciente com leucemia com um número de blastos leucêmicos absoluto ≥ 2500 por μ L e outros pacientes não leucêmicas com a contagem de células brancas do sangue normais.

[00325] Nos estudos acima PA é um indutor de NF- κ B, no entanto estes experimentos demonstram que NF- κ B de célula de AML pode ser inibida com tratamento com dexametasona e colina magnésio trissalicilato.

Exemplo X

Determinação das alterações em expressão gênica leucêmica

[00326] TPA induz níveis de RNA de várias fosfatases de dupla especificidade capaz de terminar via de sinalização pró-sobrevivência ERK. Uma amostra de sangue colhida de pré e pós-infusão de pacientes com AML tratados com TPA de acordo com o Exemplo VII é utilizada para estudar a expressão de RNA de componentes da sinalização em AML, como os DUSPs específicos para MAPK usando RT-PCR quantitativa em tempo real e análise de oligonucleotídeos de microarranjo.

[00327] Embora a invenção anterior tenha sido descrita em detalhes, a título de exemplo, para fins de clareza de compreensão, será evidente para o especialista que certas alterações e modificações podem ser praticadas dentro do escopo das reivindicações em anexo, que são apresentadas a título de ilustração não limitante. Neste contexto, várias publicações e outras referências têm sido citadas com

a descrição anterior para a economia de descrição. Cada uma destas referências é aqui incorporada por referência na sua totalidade para todos os fins. Note-se, porém, que as diversas publicações aqui discutidas são incorporadas apenas para a sua divulgação antes da data de depósito do presente pedido, e os inventores reservam o direito de antecipar a divulgação em virtude da invenção anterior.

Exemplo XI

Tratamento de Linfoma

[00328] Paciente M.J., 60 anos de idade, sexo masculino, foi diagnosticado com uma recorrência de linfoma e uma massa de 3,5 centímetros de diâmetro. O paciente recebeu 15 injeções de 0,19mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) todos os dias durante 30 dias e a massa desapareceu. Desde 2011, ele está em remissão por três anos.

Exemplo XII

Tratamento do Câncer de Mama

[00329] Paciente M.L., sexo feminino, 50 anos de idade, foi diagnosticada com câncer de mama terminal. Ela era insensível à radiação ou quimioterapia e o câncer gerou metástase no osso deixando-a em cadeira de rodas. Ela recebeu 35 injeções de TPA com uma dose progredindo a partir de 0,18 mg de TPA ($1 \times 0,125 \text{ mg/m}^2$) a 0,26 mg de TPA ($1,5 \times 0,125 \text{ mg/m}^2$), três a quatro vezes, uma semana e está agora em remissão e capazes de andar normalmente.

Exemplo XIII

Tratamento do Câncer de Pulmão

[00330] Paciente J.L., sexo masculino, 56 anos, foi diagnosticado com câncer de pulmão terminal que foi refratário à quimioterapia. O câncer gerou metástase em seus ossos deixando-o incapaz de andar. Depois de 35 injeções de TPA com uma dose progredindo de 0,19 mg de TPA ($1 \times 0,125 \text{ mg/m}^2$) a 0,26 mg de TPA ($1,5 \times 0,125 \text{ mg/m}^2$) três a quatro vezes por semana, ele está em remissão e capaz a andar

normalmente.

Exemplo XIV

Tratamento do câncer de fígado

[00331] Paciente X, sexo masculino, idade? foi diagnosticado com câncer hepático metastático. Seu nível de alfa-fetoproteína inicial era 48.813. Ele recebeu tratamentos de quimioterapia e radiação, mas seu nível de alfa-fetoproteína permaneceu elevado em 50.000+. Ele, então, recebeu três injeções de 0,19 mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) e seus níveis de alfa fetoproteína começaram a cair e voltaram aos níveis normais dentro de quatro meses

Exemplo XV

TPA como adjuvante aos tratamentos tradicionais de neoplasias

[00332] Paciente N.K., sexo feminino, 54 anos, foi diagnosticada com câncer de pâncreas em metástase terminal. Ela recebeu cinco injeções de 0,18 mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) por semana durante 12 semanas, em adição à quimioterapia. Seu tratamento reduziu o tumor no pâncreas de 6,3 centímetros a 2,4 cm. A paciente manteve seu apetite, não perdeu seu cabelo e tinha significativamente menos vômitos e náuseas do que em tratamentos de quimioterapia anteriores sem TPA.

[00333] Paciente P.T., sexo masculino, 42 anos, foi diagnosticado com câncer de pulmão de células não pequenas. O câncer gerou metástase e foi refratário ao Tarceva® (erlotinib) e Iressa™ (gefitinibe). O paciente foi tratado com uma combinação de gemcitabina e cisplatina de acordo com protocolos padrões, acompanhados por uma injeção de 0,19mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) cada dia da semana, durante oito semanas. Durante a quimioterapia combinada e tratamento de TPA não perdeu cabelo e teve significativamente menos náuseas do que havia experimentado durante os tratamentos de quimioterapia. Ele esteve em remissão desde 30 de junho de 2010.

[00334] Paciente B.L., sexo masculino, 59 anos de idade, foi diagnosticado com carcinoma nasofaríngeo terminal e tratado com quimioterapia e radioterapia. Recebeu injeções de 0,19mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) de TPA por dia durante cinco dias antes de iniciar a radioterapia e, em seguida, 0,19mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) em dias alternados durante um total de 20 injeções. Ele esteve em remissão por dois anos e meio e não sofreu qualquer dano de pele resultante do tratamento de radiação.

Exemplo XVI

Efeito quimioprotetor de TPA

[00335] Um ensaio de formação de colônias, incluindo meio semissólido formulado com DMEM e 0,5% de ágar é usado. Para estas culturas, as células mononucleares foram semeadas a uma concentração de cerca de $2,5 \times 10^5$ células/mL e GM-CSF e G-CSF são adicionados a uma concentração de cerca de 100 U/mL. As células são cultivadas durante 14 dias em uma incubadora de 5% CO_2 , com 100% de umidade a 37°C . No final do período de cultura, as colônias de 50 ou mais células foram contadas utilizando um microscópio invertido por dois visores independentes. (Hamburger, 1977)

[00336] As células-tronco periféricas são randomizadas em 4 grupos, em uma concentração de 5×10^5 células/ml em DMEM suplementado com 10% de soro fetal de bezerro. Os grupos 1 e 4 são o controle não tratado e os grupos 2 e 3 foram incubados durante 24 horas em $0,05 \text{ }\mu\text{g/ml}$ de TPA. Após 24 horas, as células são lavadas com DMEM 10% de soro fetal de bezerro. Os grupos 3 e 4 são então incubados com $25 \text{ }\mu\text{g/mL}$ de 5-fluordesoxiuridina-monofosfato, o metabólito de fluoruracila, durante 20 horas. Subsequentemente, todos os grupos foram lavados duas vezes e as células são colocadas em placas em meio semissólido. As colônias são contadas em 14 dias.

Exemplo XVIIUso de TPA para proteger contra os danos da radiação

[00337] As três linhagens de células são utilizadas para determinar a efetividade de TPA contra danos da radiação: linhagem de célula progenitora hematopoiética de murino dependente de interleucina-3, linhagem de célula estromal de medula óssea humana KM101, e células epiteliais brônquicas (células IB3). Linhagem de célula progenitora hematopoiética de murino dependente de interleucina 3 (IL-3) 32D cl 3 é derivada de uma cultura de medula óssea de longo prazo de um camundongo C3H/HeJ conforme descrito no Epperly, 2008. Células são passadas em 15% de meio condicionado de célula WEHI-3 (como uma fonte de IL-3). 10% de soro fetal bovino (FBS) (Hyclone Laboratories, Logan, UT), e meio suplementado de McCoy. A linhagem de célula estromal de medula óssea humana KM101 são passadas semanalmente em 24 cm³ de frascos plásticos Falcon em meio modificado de McCoy 5A (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD) suplementado com 10% de FBS (Hyclone Laboratories, Logan, UT). As células IB3 são passadas duas vezes por semana em meio de Eagle modificado por Dulbecco padrão (DMEM) (Lonza, Allendale, NJ), suplementado com FBS a 10% (Hyclone laboratories, Logan, UT), 1% de L-glutamina (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD) e 1% de penicilina-estreptomicina (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD) em frascos de cultura de tecidos Falcon não revestidos de 75 cm³ em uma incubadora 5% de CO₂ a 37°C durante 48-72 horas para alcançar 80% de confluência, como descrito em Rwigema, 2011.

[00338] As células de cada linhagem celular são suspensas a 1 x 10⁵ células/mL e irradiadas em 0 a 8 Gy. TPA é adicionado às células irradiadas 10 minutos após irradiação. As células são então semeadas em quádruplo e incubadas em uma incubadora a 37°C de umidade elevada com 95% de ar/5% de CO₂ durante 7 dias, em cujo tempo as

células são coradas com violeta de cristal e as colônias maiores do que 50 células são contadas. Cada experimento é realizado 3 vezes separadas em três dias diferentes. Os dados são analisados utilizando modelos lineares quadráticos e de hit único, multialvo (Ver Epperley, 2001). O fator de redução de dose (DRF) para TPA é calculado como a razão entre a dose que origina 50% de sobrevivência das células no grupo tratado dividido pela dose de 50% de sobrevivência no grupo de células de controle.

Exemplo XVIII

Efeito protetor de TPA contra danos causados por radiação em camundongos

[00339] Camundongos fêmeas adultas C57BL/6 NHsd (20 a 22 g, Harlan Sprague Dawley, Chicago, IL) (n = 15 por grupo) são irradiados com 9,5 Gy TBI para conseguir a dose (DL 50/30) utilizando uma taxa de dose de irradiação gama beta (74 cGy/min) e receber uma injeção intraperitoneal 10 minutos depois de 0,125 mg/m² de TPA. Os camundongos são monitorados para a sobrevivência (Rigwema, 2011).

Exemplo XIX

Tratamento de sujeitos que sofreram um acidente vascular cerebral.

[00340] Paciente N.C., sexo masculino, 68 anos, sofreu um acidente vascular cerebral 18 meses antes do tratamento com TPA. Na época tratamento com TPA foi iniciado, ele era incapaz de andar sem bengala, tinha dificuldade com ambos mão esquerda e perna esquerda e estava cansado e fraco. Ele recebeu injeções de 1 ampola contendo 0,19mg de TPA (0,125 mg/m²) a cada dois dias, durante quatro semanas, em seguida, 0,24 mg de TPA (1,25 x 0,125 mg/m²) em dias alternados durante 2 semanas, e depois 0,26 mg de TPA (1,5 x 0,125 mg/m²) em dias alternados durante mais 3 semanas. O paciente se recuperou totalmente.

[00341] Paciente M.C., sexo masculino, 65 anos de idade, sofreu um acidente vascular cerebral, sete anos antes de se iniciar o tratamento com TPA. Ele recebeu 3-4 injeções de 0,19 mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) por semana durante 10 semanas para um total de 35 injeções. Ele recuperou a mobilidade no rosto e teve uma melhora de 80% na mobilidade do seu lado direito.

Exemplo XX

Tratamento de Modelo de derrame embólico com TPA

[00342] Ratos machos Sprague-Dawley (Charles River Japão) tendo cada um deles um peso corporal de 280-350 g são usados. Um derrame embólico é induzido seguindo uma modificação do método de Kudo et al. (1982) Os ratos utilizados para a coleta de sangue são anestesiados com 1,0% de halotano (FluorthaneTM; Takeda, Osaka, Japão) sob respiração espontânea. Um SurfloTM de calibre 24 (Terumo Medical Products, Elkton, MD) é preso na artéria femoral e 0,1 mL de sangue arterial é tomado com uma seringa de 1 ml para injeção (Terumo Medical Products, Elkton, MD). O sangue arterial na seringa é incubado a 30°C durante 2 dias para formar um coágulo de sangue. Depois disso, 0,1 ml de solução salina fisiológica é adicionada à seringa para injeção e passada através de uma agulha de injeção de calibre 26 (Terumo Medical Products, Elkton, MD), por duas vezes, de modo que o coágulo de sangue seja esmagado.

[00343] Os ratos em que um derrame embólico cerebral é induzido são anestesiados com 1,0% de halotano sob respiração espontânea. O pescoço dos ratos é submetido a uma incisão na linha média e artéria carótida externa, artéria tireoidiana superior, artéria occipital e da artéria pterigopalatina são cauterizados com um coagulador bipolar (T-45; Keisei Medical Industrial Co. Ltd, Tóquio, Japão). Embolia cerebral é induzida por injeção de 0,1 ml do coágulo sanguíneo esmagado na carótida interna.

[00344] A avaliação da formação de uma embolia cerebral é realizada utilizando um fluxômetro Doppler a laser (FloCI; Omegawave, Tóquio, Japão). A diminuição do fluxo de sangue cerebral para um nível de 30% ou menos é considerada como uma evidência positiva de formação de embolia. O fluxo sanguíneo cerebral pode ser monitorado durante 30 minutos após a infusão do coágulo de sangue e o fluxo sanguíneo é monitorado como remanescente a 50% ou menos do fluxo antes da injeção do coágulo de sangue. Depois disso, uma cânula (PE50), para a administração do medicamento é protegida na veia jugular e os animais estão acordados.

[00345] Os ratos que formaram com êxito uma embolia cerebral, são divididos em quatro grupos. O primeiro grupo de ratos é administrado com uma injeção de solução salina a cada dois dias. Grupos de 2-4 são administrados com 0,125 mg/m² de injeção a cada dois dias, durante quatro semanas. O Grupo 2 é então sacrificado. Grupos 3-4 recebem mais 0,156 mg/m² a cada dois dias, durante duas semanas e, em seguida, o Grupo 3 é sacrificado. Grupo 4 é administrado com 0,18775 mg/m² a cada dois dias, durante três semanas e, em seguida, sacrificado.

[00346] Os cérebros são retirados depois de os animais serem sacrificados e cortados em dez secções em intervalos de 1 mm usando um cortador de tecido Mclwain (Mickle Laboratory Engineering, UK) e são corados por meio de imersão durante 20 minutos em um TTC a 2% (2,3,5-trifeniltetrazólio; Tokyo Kasei) a 37°C. Imagens das fatias coradas com TTC são enviadas para um computador usando uma câmera digital (HC-2500; Fuji Photofilm) e Phatograb-2500 (Fuji Photo Film) e volume de infarto é calculado usando o Mac Scope (Mitani, Japão). O volume de infarto é determinado por um valor médio \pm erro padrão. No que diz respeito ao teste estatístico do resultado do volume de infarto, a avaliação é feita através da realização de um teste

de Dunnett para o grupo controle e para cada um dos grupos administrados com TPA, em comparação com o grupo de controle e, em seguida, realizando o teste t para o grupo administrado com TPA.

[00347] Os sintomas neurológicos são observados diariamente até o sacrifício e os ratos são avaliados de acordo com três testes: (1) Os ratos são segurados suavemente pela cauda, suspensos um metro acima do chão, e observado para flexão dos membros anteriores; (2) Os ratos são colocados em uma grande folha de plástico revestida de papel macio, que pode ser agarrado firmemente por suas garras. Com a cauda presa pela mão, suave pressão lateral é aplicada atrás do ombro do rato até que os membros anteriores deslizem vários centímetros; (3) Os ratos são autorizados a circular livremente e são observados para comportamento de circulação. Pontuação dos sintomas neurológicos é realizada de acordo com a escala desenvolvida por Bederson et al. (1986) como se segue: 0: sem déficit observável; 1: flexão dos membros anteriores; 2: redução da resistência à pressão lateral, sem circular; 3: mesmo comportamento de grau 2, circulando.

[00348] Os sintomas neurológicos são avaliados através de um teste de Steel para o grupo controle e para cada um dos grupos administrados com TPA em comparação com o grupo controle e, em seguida, através da realização de um teste de Wilcoxon para o grupo administrado com TPA. Em qualquer um dos testes, o valor de $p < 0,05$ é definido como sendo estatisticamente significativo.

Exemplo XXI

Efetividade de TPA no tratamento do acidente vascular cerebral usando um modelo de oclusão de artéria cerebral média permanente

[00349] Ratos Wistar machos (250-320 g) são usados para este estudo. Os animais são anestesiados com isoflurano (3% de indução, manutenção de 1-2%). A anestesia é monitorada pelo beliscão com o

dedo. A técnica asséptica é usada para todos os procedimentos durante este estudo. O local da cirurgia é cortado e limpo com álcool e esfregão cirúrgico. O animal é colocado sobre uma almofada de aquecimento de água quente para manter a temperatura corporal. Uma incisão é feita paramediana no pescoço sobre a artéria carótida. O tecido é francamente dissecado para revelar a artéria carótida e a bifurcação. As suturas são colocadas em volta da porção proximal ou a carótida comum e a artéria carótida externa. Estas suturas são amarradas. É feita uma incisão na artéria carótida comum, distal à ligação. Um filamento pré-preparado (4-0 sutura de monofilamento ou material semelhante) é colocado na carótida e avançado para dentro da artéria carótida interna. O filamento é avançado cerca de 20 mm após a bifurcação carotídea até ligeira resistência ser sentida conforme se cunha na artéria cerebral média. Deve ser tomado cuidado para não romper a artéria após a inserção do filamento. O filamento é amarrado no local e a incisão na pele fechada. O animal é avaliado quando acordado para oclusão de sucesso utilizando a escala de Bederson como descrito anteriormente. (Ver Bederson et al., (1986), Stroke, 17: 1304-1308). A temperatura do corpo é medida a cada 15 minutos para manutenção da temperatura. Os animais que foram submetidos ao procedimento de oclusão da artéria cerebral média podem ter dificuldade em termorregulação por algumas horas após a cirurgia. Os animais são colocados em uma caixa de resfriamento ou aquecimento, conforme determinado pela sua temperatura. A temperatura do corpo é mantida a 37,5°C. Os animais são monitorados durante 6 horas após a artéria cerebral média e, em seguida, são colocados em gaiolas durante a noite.

[00350] Os ratos são divididos em quatro grupos. O primeiro grupo de ratos é administrado com injeções de solução salina a cada dois dias. Grupos de 2-4 recebem 0,125 mg/m² de injeção a cada dois dias,

durante quatro semanas. O Grupo 2 é então sacrificado. Grupos 3-4 recebem mais $0,156\text{mg/m}^2$ todos os dias durante duas semanas e, em seguida, Grupo 3 é sacrificado. O Grupo 4 é administrado com $0,18775\text{mg/m}^2$ a cada dois dias, durante três semanas e, em seguida, sacrificado.

[00351] Os cérebros são retirados depois de os animais serem sacrificados e cortados em dez secções em intervalos de 1 mm usando um cortador de tecido Mclwain (Mickle Laboratory Engineering, UK) e são coradas por meio de imersão durante 20 minutos em um TTC a 2% (2,3,5-trifeniltetrazólio; Tokyo Kasei) a 37°C . Imagens das fatias coradas por TTC são enviadas para um computador usando uma câmera digital (HC-2500; Fuji Photofilm) e PhaLtograb-2500 (Fuji PhotoFilm.) Fatias do cérebro são fotografadas e analisadas para a dimensão do infarto, o volume de infarto, penumbra, e edema.

[00352] Os sintomas neurológicos são observados diariamente até o sacrifício. Os sintomas neurológicos são observados diariamente até o sacrifício e os ratos são avaliadas de acordo com três testes. (1) Os ratos são segurados suavemente pela cauda, suspensos um metro acima do chão, e observados para flexão de membro anterior. (2) Os ratos são colocados em uma grande folha de plástico revestida de papel macio, que pode ser agarrado firmemente por suas garras. Com a cauda segura pela mão, suave pressão lateral é aplicada atrás do ombro do rato até que os membros anteriores deslizem vários centímetros. (3) Os ratos são deixados a circular livremente e são observados para comportamento de circular. Pontuação dos sintomas neurológicos é realizado de acordo com a escala desenvolvida por Bederson et al.(1986) como se segue: 0: sem déficit observável; 1: flexão dos membros anteriores; 2: redução da resistência à pressão lateral, sem circular; 3: mesmo comportamento de grau 2, circulando.

[00353] Os sintomas neurológicos são avaliados através de um

teste de Steel para o grupo controle e para cada um dos grupos administrados com TPA em comparação com o grupo controle e, em seguida, através da realização de um teste de Wilcoxon para o grupo administrado com TPA. Em qualquer um dos testes, o valor de $p < 0,05$ é definido como sendo estatisticamente significativo.

Exemplo XXII

Efetividade da TPA no tratamento de acidente vascular cerebral usando um modelo de oclusão de artéria cerebral média temporária

[00354] Os camundongos machos C57B16 (25-30 g) são usados neste estudo. Os camundongos são anestesiados com isoflurano (3% de indução, manutenção de 1-2%). O local da cirurgia é cortado e limpo com álcool e esfregões cirúrgicos. A incisão na linha do pescoço é feita sobre a artéria carótida e a artéria é dissecada até sua bifurcação. Uma sutura de monofilamento é introduzida na artéria carótida interna e avançada até que se aloja na artéria cerebral média. A sutura é colocada amarrada e a incisão é fechada. Duas horas após a oclusão os ratos serão novamente anestesiados e a sutura vai ser removida da MCA. A temperatura do corpo é mantida através da utilização de uma almofada de aquecimento durante e após a cirurgia. Os animais são monitorados durante 4 horas após a oclusão da artéria cerebral média.

[00355] Os ratos foram divididos em quatro grupos. O primeiro grupo de ratos recebeu injeções de solução salina a cada dois dias. Grupos de 2-4 foram administrados com injeção de 0,125mg/m a cada dois dias, durante quatro semanas. O Grupo 2 é então sacrificado. Grupos 3-4 recebem mais 0,156mg/m² todos os dias durante duas semanas e, em seguida, Grupo 3, foi sacrificado. O Grupo 4 é administrado com 0,18775mg/m² a cada dois dias, durante três semanas e, em seguida, sacrificado.

[00356] Os cérebros são retirados depois de os animais serem

sacrificados e cortados em dez seções em intervalos de 1 mm usando um cortador de tecido Mclwain (Mickle Laboratory Engineering, UK) e são coradas por imersão por 20 minutos em um TTC a 2% (2,3,5-trifeniltetrazólio; Tokyo Kasei) a 37°C. Imagens das fatias coradas com TTC enviadas para um computador usando uma câmera digital (HC-2500; Fuji Photofilm) e Photograb-2500 (Fuji PhotoFilm). As fatias do cérebro são fotografadas e analisadas para o tamanho do infarto, o volume de infarto, penumbra e edema.

[00357] Os sintomas neurológicos são observados diariamente até o sacrifício e os ratos são avaliados de acordo com três testes. (1) Os ratos são segurados suavemente pela cauda, suspensos um metro acima do chão, e observados por flexão de membro anterior. (2) Os ratos são colocados em uma grande folha de plástico revestida de papel macio, que pode ser agarrado firmemente por suas garras. Com a cauda segura pela mão, suave pressão lateral é aplicada atrás do ombro do rato até que os membros anteriores deslizem vários centímetros. (3) Os ratos são autorizados a circular livremente e são observados para comportamento circular. A pontuação dos sintomas neurológicos é realizada de acordo com a escala desenvolvida por Bederson et al. (1986) como se segue: 0: sem déficit observável; 1: flexão dos membros anteriores; 2: diminuição da resistência à pressão lateral, sem circular; 3: mesmo comportamento de grau 2, circulando.

[00358] Os sintomas neurológicos são avaliados através de um teste de Steel para o grupo controle e para cada um dos grupos administrados com TPA em comparação com o grupo controle e, em seguida, através da realização de um teste de Wilcoxon para o grupo administrado com TPA. Em qualquer um dos testes, o valor de $p < 0,05$ é definido como sendo estatisticamente significativo.

Exemplo XXIII

Efetividade clínica do uso de TPA para tratar acidente vascular

cerebral

[00359] Homens e Mulheres com idade entre 30-72 anos que sofreram um acidente vascular cerebral menos de um mês já são recrutados para a participação em um estudo de 10 semanas com TPA.

[00360] Os sujeitos recrutados assinam um termo de consentimento e são avaliados através de tomografia computadorizada (TC), exames físicos e neurológicos, verificação neurológica, nível de sedação, Pesquisa de Acidente vascular cerebral do National Institute of Health (NIHSS), eletrocardiograma de 12 derivações, telemetria de eletrocardiograma, pulso de medição de oxigênio, sinais vitais, peso corporal, histórico do paciente, teste de gravidez, medida de medicamento na urina, exame hematológico, painel de coagulação, teste clínico geral, teste de urina. Testes laboratoriais clínicos incluem um Painel metabólico completo (Na, K, Cl, CO₂, Glu, BUN, Cr, Ca, TP, Alb, TBili, AP, AST, ALT), Hematologia CBC (Hb, Hct, RBC, WBC, Plt, Diff) e Soro hCG para todas as mulheres.

[00361] Os sujeitos são administrados com 0,125 mg/m² de TPA ou placebo a cada dois dias, durante quatro semanas, em seguida, 1,25 x 0,125 mg/m² ou placebo a cada dois dias pelas semanas cinco e seis e 1,5 x 0,125 mg/m² ou placebo todos os dias durante sete a nove semanas. Os sujeitos são monitorados durante e até duas horas após a administração de TPA ou placebo.

[00362] Nas semana cinco e semana dez, os sujeitos são avaliados usando o índice NIHSS (escala de acidente vascular cerebral NIH), o índice de Barthel ADL (Granger, 1979), e uma escala de Rankin modificada (Farrell, 1991).

[00363] A efetividade é determinada através da medição da alteração da linha de base em NIHSS nos sujeitos tratados com TPA, em comparação com o placebo. Variáveis secundárias de efetividade

são o índice de Barthel ADL e uma escala de Rankin modificada. As medidas de segurança são coletadas e avaliadas através do estudo, medindo especificamente mudanças da linha de base da visita para a semana 5. Estas medidas incluem relatos de eventos adversos, exames físicos, sinais vitais, medidas de peso, ECGs, resultados de testes de laboratório clínico e os sinais vitais, bem como pontuação por comportamentos e/ou ideação suicida. Os eventos adversos são qualquer evento médico desagradável que ocorre em um sujeito administrado com o fármaco do estudo, independentemente de saber se tem uma relação causal com o fármaco em estudo. Um evento adverso pode, portanto, ser qualquer sinal desfavorável ou não intencional (incluindo achados laboratoriais anormais, por exemplo), sintoma ou doença temporariamente associada ao fármaco em estudo, seja ou não considerada relacionada com o fármaco em estudo.

[00364] Os sujeitos são considerados como tendo concluído o estudo se concluírem todas as visitas. Podem ser terminados a partir do estudo se eles não conseguirem cumprir os critérios de inclusão/exclusão; sofrem de um evento adverso, têm uma resposta terapêutica insuficiente, retiram o seu consentimento, violam o protocolo, param de vir, ou morrem.

Exemplo XXIV

Redução de hiperpigmentação periorbital

[00365] 6 mulheres e 1 homem com hiperpigmentação periorbital excessiva foram tratados com TPA. O tratamento reduziu a inflamação e hiperpigmentação na área periorbital.

Exemplo XXV

Tratamento da Síndrome do Túnel do Carpo

[00366] Paciente do sexo feminino, 50 anos de idade, com ardor, formigamento, dor e dormência nos dedos. Foi tratada com TPA e recuperou a plena utilização de suas mãos.

Exemplo XXVIPropriedades antienvelhecimento da TPA

[00367] Paciente W.L., sexo masculino, 82 anos estava sendo tratado para hipertrofia da próstata com 1,25 ampolas de 0,125 mg/m² a cada dois dias, durante dois meses. Depois do tratamento com TPA, a pele tornou-se mais suave e tinha menos rugas.

Exemplo XXVIITratamento da Doença de Parkinson

[00368] Paciente S.K., 55 anos, foi diagnosticado com a doença de Parkinson. Ele foi injetado com uma ampola contendo 0,19mg de TPA (0,125 mg/m²) de TPA a cada dois dias, durante quatro semanas, em seguida, 0,24 mg de TPA (1,25 x 0,125 mg/m²) em dias alternados durante 2 semanas, e 0,26 mg de TPA (1,5 x 0,125 mg/m²) em dias alternados por mais 3 semanas. O paciente já não está apresentando tremores.

Exemplo XXVIIITratamento da hipertrofia da próstata

[00369] Paciente W.L., sexo masculino, 82 anos, com diagnóstico de hipertrofia da próstata. Ele foi injetado com uma ampola contendo 0,19mg de TPA (0,125 mg/m²) em dias alternados durante quatro semanas, em seguida, 0,24 mg de TPA (1,25 x 0,125 mg/m²) em dias alternados durante 2 semanas, e 0,26 mg de TPA (1,5 x 0,125 mg/m²) em dias alternados durante mais 3 semanas. Seu índice de PSA é agora inferior a 3,0. O paciente também desenvolveu uma aparência mais jovem.

Exemplo XXIXTratamento de Artrite Reumatoide

[00370] Paciente recebeu múltiplas injeções de TPA e observou uma redução na rigidez nas articulações e um aumento de funcionalidade em suas mãos.

Exemplo XXXTratamento de Artrite Induzida por colágeno com TPA

[00371] A artrite induzida por colágeno (CIA) é induzida, como descrito anteriormente (Rosloniec 2001), com modificações menores. Resumidamente, camundongos machos DBA/1J foram injetados por via intradérmica na base da cauda com 100 µg de colágeno tipo II de galinha (Chondrex, Redmond, WA) em 0,05M de ácido acético emulsionado em adjuvante completo de Freund (Difco, Detroit, MI). Vinte e um dias após a imunização primária, os camundongos são administrados com uma injeção de reforço de colágeno do tipo II ao mesmo nível de dose.

[00372] Os camundongos são cuidadosamente examinados a cada dia a partir do dia 18 após a primeira injeção de colágeno para a aparência visual de artrite em articulações periféricas. A gravidade clínica da artrite é classificada da seguinte forma: 1 ponto para cada dígito inchado, exceto o polegar (máximo, 4), 1 ponto para articulação do tarso ou do carpo, e 1 ponto para articulação metatarso ou metacarpo com uma pontuação máxima de 6 para uma pata traseira e 5 para uma pata dianteira. Cada pata é classificada individualmente, a pontuação da artrite clínica acumulada por rato atingindo um máximo de 22 pontos.

[00373] Depois de receber a dose de reforço, os camundongos são divididos em dois grupos e receberam veículo ou 0,125 mg/m² de TPA por via intraperitoneal, nos dias 0, 2, 4, 6, e 8. No dia 30 após a injeção inicial, os camundongos são sacrificados e os joelhos foram dissecados e fixados em formalina a 10% tamponada, durante 7 dias. Tecidos fixos são descalcificados durante 3 semanas em 15% de EDTA, desidratados, e embebidos em parafina. Seções sagitais (8 µm) de toda a articulação do joelho são coradas com safranina-O e contrastadas com verde rápido/hematoxilina de ferro. Os cortes

histológicos são classificados de forma independente por dois observadores sem saber do tratamento do animal, utilizando um sistema estabelecido de pontuação para a hiperplasia sinovial (de 0, sem hiperplasia, a 3, hiperplasia mais grave) e células inflamatórias na membrana sinovial (0, sem inflamação, a 3, articulação severamente inflamadas). O dano na cartilagem é determinado por coloração com Safranina-O (a partir de 0, nenhuma alteração da articulação do joelho não artrítico normal, cartilagem totalmente corada, a 3, a perda total de coloração de Safranina-O), como descrito em Marty, 2001.

Exemplo XXXI

Tratamento da Miastenia Gravis

[00374] O paciente C.L., sexo masculino, 63 anos de idade, sofria de miastenia gravis há mais de 40 anos. Ele estava tomando dexametasona e ao mesmo tempo e foi injetado com uma ampola contendo 0,19mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) em dias alternados durante quatro semanas, em seguida, 0,24 mg de TPA ($1,25 \times 0,125 \text{ mg/m}^2$) em dias alternados por 2 semanas, e 0,26 mg de TPA ($1,5 \times 0,125 \text{ mg/m}^2$) em dias alternados por mais 3 semanas para um total de 35 injeções de TPA. Ele já não precisa da dexametasona e agora é assintomático.

Exemplo XXXII

Tratamento da incontinência urinária

[00375] Paciente W. C, sexo feminino, 61 anos, sofreu de incontinência urinária por mais de 30 anos. Ela recebeu seis injeções de 0,18mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) e recuperou a frequência urinária normal.

[00376] Paciente L.J., sexo feminino, 48 anos, sofreu de incontinência urinária por quinze anos. Ela recebeu nove injeções de 0,18mg de TPA ($0,125 \text{ mg/m}^2$) e recuperou a frequência urinária normal.

Referências

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).

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.

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). Aye M. T., Dunne J.V. Opposing effects of 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate on human myeloid and lymphoid cell proliferation. *J Cell Physiol.* 142(2), 209-14 (1983).

Bauer I., Al Sarraj J. et al. Interleukin-1 beta and tetradecanoyl [phorbol 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).

Beaupre D M and Kurzrock R. RAS and leukemia: from basic mechanisms to gene-directed therapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1071 -9.

Becker Y. The changes in the T helper 1 (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).

Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*. 1986; 17: 472-476.

Beetz A., Messer G. et al. Induction of interleukin 6 by ionizing radiation in a human epithelial cell line: control by corticosteroids. *Int J Radiat Biol* 72(1), 33-43 (1997). Berenblum I. A re-evaluation of the concept of co-carcinogenesis. *Prog. Exp. Tumor Res.* 11, 21-30 (1969).

Blockland S. et al. Activation of latent HIV-1 expression by the potent anti-tumor promoter 12-dexyphorbol-13-phenylacetate. *Antiviral Res.* 59, 89-98 (2003).

Blumberg PM., Protein kinase C as the receptor for the phorbol ester tumor promoters: sixth Rhoads memorial award lecture. *Cancer Res.* 1988 Jan 1 ;48(1): 1-8.

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).

Boutwell R.K. The function and mechanism of promoters of carcinogenesis. *CRC Crit. Rev. Toxicol* 2, 419-443 (1974).

Brose N, Rosenmund C. Move over protein kinase C, you've got company: alternative effectors of diacylglycerol and phorbol esters. *J Cell Sci*; 115:4399— 411 (2002). *Cancer Chemother Pharmacol.* Jun;57(6):789-95 (2006).

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.

Chun T.W., Siliciano R. F. et al. Quantification of latent

tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* 387 (8), 183-188 (1997).

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).

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.

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).

Epperly MW, Gretton JE, Sikora CA, et al. Mitochondrial localization of superoxide dismutase is required for decreasing radiation-induced cellular damage. *Radiat Res.* 2003;160:568-578.

Epperly MW, Gretton J A, DeFilippi SJ, et al. Modulation of radiation-induced cytokine elevation associated with esophagitis and esophageal stricture by manganese superoxide dismutase-plasmid/liposome (SOZ)-PL gene therapy. *Radiat Res.* 2001;155:2-14. Falcioni F., Rautmann A. et al. Influence of TPA (12-O-tetradodecanoyl-phorbol-13-acetate) on human B lymphocyte function. *Clin Exp Immunol.* 62(3), 163-2 (1985).

Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C, et al. (1991). "The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54 (12): 1044-1054.

Forbes I. J., Zalewski P. D., Letarte M. Human B-lymphocyte maturation sequence revealed by TPA-induced differentiation of leukaemic cells. *Immunobiology* 163(1), 1-6 (1982).

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).

Gunjan Goel, Harinder P. S. Makkar, George Francis, and Klaus Becker. Phorbol Esters: Structure, Biological Activity, and Toxicity in Animals. *International Journal of*

Toxicology, 26:279-288, 2007. Gogusev J., Barbey S., Nezelof C. Regulation of TNF-alpha 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). Granger CV, Devis LS, Peters MC, Sherwood CC, Barrett JE. Stroke rehabilitation: analysis of repeated Barthel Index measures. *Arch Phys Med Rehabil.* 1979;60: 14-17. 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).

Hamburger, A. W., and Salmon, S. E. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science (Wash. DC)*, 797: 461-463, 1977.

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.

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). 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).

Harada S. et al. : Tumor Promoter, TPA, Enhances Replication of HTLV-III/LAV. *Virology* 154, 249-258 (1986).

Harrigan, P.R., Whaley, M., Montaner, J.S.G. Rate of HIV- 1 RNA rebound upon stopping antiretroviral therapy. *AIDS* 13, F59-F62 (1999).

Hecker E. In *handbuch der allgemeinen pathologie*, ed. Grundmann, E. (Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, Vol. IV 16, 651-676 (1975).

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, 1 1-49 (1978).

Hofmann J. The potential for isoenzyme-selective modulation of protein kinase C. *FASEB J.* 11, 649-669 (1997).

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).

Hunter T. Signaling 2000 and beyond. *Cell* 100, 13-17 (2000).

Jordan C T. Unique molecular and cellular features of acute myelogenous leukemia stem cells. *Leukemia* 2002; 16: 559-62.

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.

Kawakami A., Eguchi K. et al. Inhibitory effects of interleukin- 10 on synovial cells of rheumatoid arthritis. *Immunology*

81 (2), 252-9 (1997).

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).

Keoeffler 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).

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 role of activation of MEK, hyperexpression of extracellular signal-regulated kinase, and downregulation of a phosphatase, PAC1. *Blood* 1999; 93: 3893-9.

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.

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).

Koeffler H. P. Phorbol diester-induced macrophage differentiation of leukemic blasts from patients with human myelogenous leukemia. *J. Clin. Invest.* 66, 1 101 -1 108 (1980).

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).

Kudo M., Aoyama A., Ichimori S. and Fukunaga N. An animal model of cerebral infarction: homologous blood clot emboli in rats. *Stroke* 13 : 505-508 (1982)

Lebien T. W., Bollum F. J. et al. Phorbol ester-induced

differentiation of a non-T, non-B leudemic cell line: model for human lymphoid progenitor cell development. *J Immunol.* 128(3), 1316-20 (1982).

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).

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).

MD Iqbal Hossain Chowdhury et al. The Phorbol Ester TP A Strongly Inhibits HIV-1 Induced Syncytia Formation but Enhances Virus Production: possible involvement of protein kinase C pathway. *Virology* 176, 126-132, (1990).

Marty, Ingrid et al., Amelioration of collagen-induced arthritis by thrombin inhibition. *J Clin Invest.* 2001 March 1 ; 107(5): 631-640. 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.

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).

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.

Mochty-Rosen D., Kauvar L. M. Modulating protein kinase C signal transduction. *Adv. Pharmacol.* 44, 91-145 (1998).

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.

Nagasawa ., 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).

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). 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).

Newton A.C. Protein kinase C: structure, function and regulation. *J. Biol. Chem*. 270, 28495-28499 (1995).

Niederman T. M. J., Ratner L. et al. Human Immunodeficiency Virus Type I Nef Protein Inhibits NF-KB Induction in Human T Cells. *J. Virology* 66 (10), 6313-6219 (1992).

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).

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).

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).

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).

Palombella V J, Rando O J, Goldberg A L, and Maniatis T.

The ubiquitin-proteasome pathway is required for processing the NF-kappa B precursor protein and the activation of NF-kappa B. *Cell* 1994; 78: 773-85.

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.* 105 (7), 995-1003 (2000).

Platanias L. C. Map kinase signaling pathways and hematologic malignancies. *Blood* 2003; 101 : 4667-79.

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).

Redondo P., Garci-Foncillas J. et al. Differential modulation of IL-8 and TNF-alpha expression in human keratinocytes by buffomeditol chlorhydrate and pentoxifylline. *Exp. Dermatol.* 6(4), 186-94 (1997).

Rosloniec EF, Cremer M, Kang A, Myers LK. Collagen-induced arthritis. In: Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Strober W, editors. *Current protocols in immunology*. New York: John Wiley & Sons; 2001. p. 15.5.1.

Rovera G., Santoli D., Damsky C. Human promyelocytic cells in culture differentiate into macrophage-like cells treated with a phorbol diester. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 7, 2779-2783 (1979).

Rullas J., Alcamí J. et al. Receptors in peripheral blood lymphocytes. *Antivir. Ther.* 9 (4). 545-554 (2004).

Rwigyema JC, Beck B, Wang W, Doemling A, Epperly MW, Shields D, Goff JP, Franicola D, Dixon T, Frantz MC, Wipf P, Tyurina Y, Kagan VE, Wang

H, Greenberger JS. Two strategies for the development of mitochondrion-targeted small molecule radiation damage mitigators. *Int*

J Radiat Oncol Biol Phys. 201 1 Jul

I ;80(3):860-8. Epub 201 1 Apr 13Sahar El-Mekkawy et .al. Anti-HIV-1 phorbol esters from the seeds of Croton tiglium. Phytochemistry 53, 457-464 (2000).

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-1 -acetate for patients with relapsed/refractory malignancies.

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.

Shkolnick T., Schlossman S. F., Griffin J. D. Acute undifferentiated leukemia: induction of partial differentiation by phorbol ester. Leuk. Res. 9, 1 1-17 (1985).

Shwarz M. et .al. High-level IL-10 production by monoclonal antibody-stimulated human T cells. Immunology 86, 364-371 (1995).

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). 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.

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).

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

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.

Totterman T. H., Nilsson K., Sundstrom C. Phorbol ester-induced differentiation of chronic lymphocytic leukaemia cells. *Nature* 288(5787), 176-8 (1980)

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 : 479-84.

Van Duuren, B.L. Tumor-promoting agents in two-stage carcinogenesis. *Prog. Exp. Tumor Res.* 11, 31-68 (1969).

Williams S. W. et al. Prostratin Antagonize HIV Latency by Activating NF- κ B. *J. Biol. Chem.* 279, 42008-42017 (2004).

Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kidera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Saito K, Nishimura M, Motoji T, Shinagawa 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.

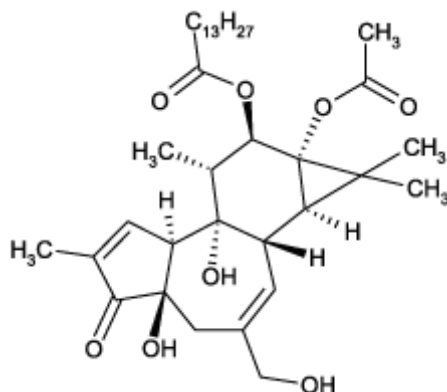
YIP, Y.K. et al. Stimulation of human gamma interferon production by diterpene esters. *Infection and Immunity* 34(1) 131 -139 (1981).

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-1 alpha expression in SENCAR mouse epidermis: implications in the prevention of stage 1 tumor promotion. *Mol Carcinog.* 26(4), 321-33 (1999).

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de uma quantidade eficaz de éster de forbol de Fórmula II ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que a Fórmula II é representada por



Fórmula II

e, opcionalmente, pelo menos um agente terapêutico secundário ou adjunto, caracterizado pelo fato de ser na preparação de uma composição para tratar ou prevenir um ou mais dos sintomas da doença de Parkinson em um sujeito mamífero; em que o pelo menos um agente terapêutico secundário ou adjunto é eficaz em uma formulação combinatória ou regime de tratamento coordenado com dito éster de forbol de Fórmula II ou derivado do mesmo,

em que o um ou mais sintomas de doença de Parkinson é tremor ao repouso, rigidez, bradicinesia, rigidez, comprometimento da fala, comprometimento cognitivo, demência, comprometimento do humor, sonolência, insônia e instabilidade postural, e

em que o pelo menos um agente terapêutico secundário ou adjunto é selecionado do grupo que consiste em: levodopa, carbidopa, piridoxina, selegilina, rasagilina, tolcapone, agonista de dopamina, inibidores de MAO-B, amantidina e anticolinérgicos.

2. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o pelo menos um agente terapêutico secundário ou adjunto é administrado ao dito sujeito em um protocolo de administração

coordenado simultaneamente com, antes de, ou após, administração de dito éster de forbol ao dito sujeito.

3. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que dois agentes terapêuticos secundários ou adjuntos são administrados ao dito sujeito.

4. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que dita quantidade eficaz compreende entre 10 e 1500 µg de dito éster de forbol ou composto derivado de Fórmula II a cada dia.

5. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que dita quantidade eficaz compreende entre 150 a 500 µg de dito éster de forbol ou composto derivado de Fórmula II a cada dia.

6. Uso, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que tratar ou prevenir um ou mais sintomas de doença de Parkinson compreende ainda intervenção cirúrgica em combinação com éster de forbol ou composto derivado de Fórmula II.

7. Uso, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a intervenção cirúrgica é estimulação profunda do cérebro ou formação de lesão.