



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2009132345/15**, 30.01.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.01.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
31.01.2007 US 60/898,810

(43) Дата публикации заявки: **10.03.2011** Бюл. № 7

(45) Опубликовано: **20.01.2013** Бюл. № 2

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 6063814 A**, 16.05.2000. **RU 2197964 C2**, 10.02.2003. **WO 2007009055 A2**, 18.01.2007. **US 6080784 A**, 27.06.2000. **ZHONG YU et al. Novel phorbol esters exert dichotomous effects on inhibition of HIV-1 infection and activation of latent HIV-1 expression. // Antiviral Chemistry & Chemotherapy. 2005, v.16, 5, 303-313, p 304.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на национальной фазе: **31.08.2009**

(86) Заявка РСТ:
US 2008/001299 (30.01.2008)

(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2008/094657 (07.08.2008)

Адрес для переписки:

**191002, Санкт-Петербург, а/я 5, ООО
"Ляпунов и партнеры", пат.пов. Е.Г.Ильмеру,
рег.№ 1144**

(72) Автор(ы):

**ЧАН Ричард Л. (US),
ХАНЬ Чжэн Тао (CN)**

(73) Патентообладатель(и):

БИОСАКСЕСС БИОТЕХ КАМПАНИ (US)

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ ФОРБОЛОВЫХ ЭФИРОВ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к медицине, а именно к иммунологии и онкологии, и может быть использована для профилактики или лечения ВИЧ-инфекции или ВИЧ-заболевания у субъекта млекопитающего. Для этого указанному субъекту вводят эффективное количество 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетата (ТРА) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата для

поднятия уровней CD3, CD4 или CD8. Также предложены композиция для предотвращения или облегчения симптомов ВИЧ-инфекции, способ активации резервуаров латентных ВИЧ, способ увеличения экспрессии цитокинов T_H1, способ индукции апоптоза в неоплазмах и композиция для профилактики или лечения неопластического заболевания у субъекта млекопитающего. Группа изобретений обеспечивает лечение цитопатических

состояний и заболеваний, вызывающих такие
цитопатические состояния. 7 н. и 5 з.п.ф-лы, 7

табл., 10 пр.

RU 2 4 7 2 5 1 1 C 2

RU 2 4 7 2 5 1 1 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 31/55 (2006.01)**A61P 31/12** (2006.01)**A61P 35/02** (2006.01)**A01N 43/00** (2006.01)**A01N 43/46** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2009132345/15, 30.01.2008**(24) Effective date for property rights:
30.01.2008

Priority:

(30) Convention priority:
31.01.2007 US 60/898,810(43) Application published: **10.03.2011 Bull. 7**(45) Date of publication: **20.01.2013 Bull. 2**(85) Commencement of national phase: **31.08.2009**(86) PCT application:
US 2008/001299 (30.01.2008)(87) PCT publication:
WO 2008/094657 (07.08.2008)

Mail address:

**191002, Sankt-Peterburg, a/ja 5, OOO "Ljapunov i
partnery", pat.pov. E.G.Il'meru, reg.№ 1144**

(72) Inventor(s):

**ChAN Richard L. (US),
KhAN' Chzhehn Tao (CN)**

(73) Proprietor(s):

BIOSAKSESS BIOTEKH KAMPANI (US)**(54) COMPOSITIONS AND METHODS FOR APPLYING PHORBOL ESTERS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: group of inventions refers to medicine, namely immunology and oncology, and may be used for prevention and treatment of HIV-infection or HIV-disease in a mammal individual. For this purpose, an effective amount of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) or its pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate for increasing the CD3, CD4 or CD8 levels in said individual. There are also presented a composition

for preventing or relieving HIV-infection symptoms, a method for activation of latent HIV reservoirs, a method for increasing cytokine Th1 expression, a method for inducing apoptosis in neoplasms and a composition for preventing or treating a neoplastic disease in the mammal individual.

EFFECT: group of inventions provides treating cytopathic conditions and diseases inducing such cytopathic conditions.

12 cl, 7 tbl, 10 ex

Родственные заявки

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США №60/898810, поданной 31 января 2007, которая полностью включена сюда путем ссылки.

Область техники

[0002] Настоящее изобретение в общем относится к области цитопатических заболеваний. Более конкретно, изобретение относится к композициям, содержащим сложные эфиры форбола, и способам применения сложных эфиров форбола для лечения цитопатических состояний и заболеваний, вызывающих такие цитопатические состояния.

Предшествующий уровень техники

[0003] Форбол представляет собой натуральное органическое соединение растительного происхождения, относящееся к тиглиановому семейству дитерпенов. Он был впервые выделен в 1934 г. как продукт гидролиза кротонowego масла из семян *Croton tiglium*, листовенного растения семейства Euphorbiaceae, происходящего из юго-восточной Азии. Разнообразные сложные эфиры форбола обладают важными биологическими свойствами, в том числе сообщалось, что они способны имитировать свойства диацилглицеринов и активировать протеинкиназу C (PKC - protein kinase C), модулировать нисходящие сигнальные пути клетки, включая пути с участием митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK - mitogen activated protein kinase). Помимо этого считается, что сложные эфиры форбола связывают химерины, а именно активатор Ras RasGRP (Ras guanyl nucleotide releasing protein - белок Ras, высвобождающий гуаниловые нуклеотиды) и везикулярный праймер, белок Munc-13 (Brose N, Rosenmund C., J Cell Sci; 115: 4399-411 (2002)). Некоторые сложные эфиры форбола также индуцируют ядерный каппа-фактор В (NF-κB - nuclear factor κB). Наиболее примечательным физиологическим свойством сложных эфиров форбола является то, что они, как сообщалось, способны выступать как активаторы развития опухолей.

[0003] 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат (ТРА - 12-O-TetradecanoylPhorbol-13-Acetate), также называемый форбол-12-миристат-13-ацетатом (РМА), представляет собой сложный эфир форбола, применяемый в моделях канцерогенеза в качестве индуктора дифференциации и/или апоптоза в многочисленных линиях клеток и в зародышевых клетках. Также сообщалось, что ТРА вызывает увеличение количества лейкоцитов и нейтрофилов в кровяном русле у пациентов с подавленным вследствие химиотерапии функционированием костного мозга (Han Z.T. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 5363-5365 (1998)) и ингибирует цитопатические эффекты ВИЧ (вируса иммунодефицита человека) в клетках МТ-4 (Mekawu S. et al. Phytochemistry 53, 47-464 (2000)). Однако с учетом многообразных факторов, включая жжение при контакте с кожей и опасения потенциальной токсичности, ТРА не был рекомендован в качестве эффективного средства для лечения, ведения больных и профилактики ВИЧ-инфекции (инфекции вируса иммунодефицита человека) или СПИД (синдрома приобретенного иммунодефицита).

[0004] Имеющиеся в настоящее время способы терапии цитопатических заболеваний, такие как различные формы неопластических заболеваний и вирусных заболеваний, таких как ВИЧ-инфекция и СПИД, имеют ряд недостатков, таких как недостаточная эффективность и непереносимые побочные эффекты. Для многих пациентов токсические побочные эффекты настолько уменьшают качество жизни, что они просто перестают принимать препараты. Для других терапевтические процедуры являются такими сложными и неудобными, что выполнение терапевтических

предписаний производится не в полной мере. У третьих первоначально обнаруживаются великолепные результаты, но затем наступают рецидивы несмотря на полное выполнение терапевтических предписаний.

[0005] Неудачу лечения в большинстве случаев заболевания ВИЧ-инфекцией приписывают появлению резистентных линий ВИЧ. В эту проблему вносят вклад неполное подавление вируса, вызываемое недостаточной эффективностью лекарственного средства, плохое выполнение пациентом предписаний врача вследствие сложных схем приема лекарственного средства и другие факторы. Помимо этого в течение длительного клинически латентного периода ВИЧ-инфекции субпопуляция покоящихся CD4 Т-клеток памяти содержит интегрированные, но нетранскрибирующиеся провирусы. Этот резервуар предохраняет латентные вирусы ВИЧ от ретровирусной терапии и представляет собой существенное препятствие для полного уничтожения ВИЧ у инфицированных пациентов.

[0006] Для ликвидации неопластических клеток у пациента способы лечения рака обычно сочетают хирургию, химиотерапию, гормональную терапию и/или радиотерапию. Однако все эти подходы имеют значительные недостатки и связаны с дополнительными рисками, например, увеличения подверженности инфекции. Хирургия, например, может быть противопоказана из-за состояния здоровья пациента. К тому же бывает трудно обозначить точные границы опухоли, что приводит к тому, что часть неопластической ткани остается неудаленной, что обуславливает повышенный риск рецидива заболевания. Почти все известные к настоящему времени химиотерапевтические агенты являются токсичными, и химиотерапия вызывает значительные побочные эффекты, включая сильную тошноту, подавление костного мозга и подавление иммунитета. Также их невозможно специфически направить на опухолевые клетки, и поэтому они могут убивать здоровые клетки точно так же, как раковые. Вдобавок часто встречаются рецидивирующие/рефрактерные неоплазмы, резистентные к существующим способам терапии.

[0007] Очевидно, существует необходимость в новых и более эффективных способах лечения индивидов, страдающих цитопатическими расстройствами, включая те, которые обусловлены неопластическими заболеваниями и вирусными инфекциями, такими как ВИЧ-инфекция и СПИД.

Краткое описание взятых для примера воплощений изобретения

[0008] Настоящее изобретение относится к композициям, содержащим эфиры форбола, и к способам применения эфиров форбола для лечения цитопатических заболеваний.

[0009] В одном воплощении сложные эфиры форбола и производные сложных эфиров форбола применяют для лечения цитопатических заболеваний, таких как ВИЧ-инфекция, и связанных с ними состояний, таких как СПИД. Композиции и способы по настоящему изобретению позволяют выполнять лечение ВИЧ-инфекции и связанных с ней состояний, таких как СПИД, любыми возможными способами. В некоторых воплощениях композиции и способы могут модифицировать активность рецепторов у субъектов млекопитающих. В других воплощениях композиции и способы могут уменьшать количество латентных резервуаров ВИЧ у ВИЧ-инфицированного субъекта. В дополнительном воплощении возможно усиление активации ВИЧ в клетках, содержащих латентный провирус. В дополнительных воплощениях возможно ингибирование ВИЧ-цитопатических эффектов.

[0010] В другом воплощении композиции, содержащие сложные эфиры форбола и

производные сложных эфиров форбола, могут применяться у субъектов
 млекопитающих для лечения и симптоматической терапии ВИЧ-инфекции и СПИД.
 Целевые симптомы при лечении и симптоматической терапии, при которых
 применяют композиции и способы по изобретению, включают, не ограничиваясь
 5 перечисляемыми, повреждения полости рта, утомление, кандидозный кожный
 стоматит, лихорадку, потерю аппетита, диарею, негнойные язвы, синдром
 пониженного всасывания, тромбоцитопению, потерю массы тела, анемию, увеличение
 лимфатических узлов, восприимчивость к вторичным состояниям и их тяжесть, где
 10 состояния включают следующие: микобактериальная инфекция, сальмонеллез,
 сифилис, нейросифилис, туберкулез (ТВ - tubercule bacillus), бациллярный ангиоматоз,
 аспергиллез, кандидоз, кокцидиоидомикоз, листеррелез, воспалительная болезнь таза,
 лимфома Беркитта, криптококковый менингит, гистоплазмоз, саркома Капоши,
 15 лимфома, системная не-Ходжкинская лимфома (NHL - Non Hodgkin's lymphoma),
 первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС), криптоспоридиоз,
 изоспороз, микроспоридиоз, пневмония *Pneumocystis carinii* (PCP - *Pneumocystis carinii*
pneumonia), токсоплазмоз, цитомегаловирус (CMV - cytomegalovirus), гепатит, герпес
 симплекс, герпес зостер, вирус папилломы человека (HPV - human papilloma virus),
 20 остроконечные кондиломы, рак шейки матки, контагиозный моллюск, волосатая
 лейкоплакия полости рта (OHL - oral hairy leukoplakia) и прогрессирующая
 многоочаговая лейкоэнцефалопатия (PML - progressive multifocal leukoencephalopathy).

[0011] Еще в одном воплощении соединения, содержащие сложные эфиры форбола
 и производные сложных эфиров форбола, могут применять для лечения
 25 цитопатических состояний, таких как неопластические заболевания. Такие неоплазмы
 могут быть злокачественными или доброкачественными. В некоторых воплощениях
 неоплазмы могут быть солидными или несоллидными раками. В других воплощениях
 неоплазмы могут быть рецидивирующими. В еще одних воплощениях неоплазмы
 30 могут быть рефракторными.

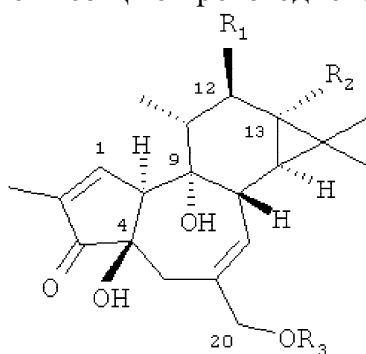
Примеры неоплазм включают, не ограничиваясь перечисляемыми, злокачественные
 заболевания крови/заболевания костного мозга, включая, но не ограничиваясь
 перечисляемыми, лейкоз, включая острый миелоидный лейкоз (AML - acute myeloid
 leukemia), хронический миелоидный лейкоз (CML - chronic myeloid leukemia), криз
 35 хронического бластного миелоидного лейкоза, миелодисплазию и
 миелопролиферативный синдром; лимфомы, включая Ходжкинскую и не-
 Ходжкинскую лимфомы; подкожную аденокарциному; тератокарциному яичников и
 рак простаты. Другие неопластические состояния, подлежащие лечению с
 40 применением способов и композиций, включают иные онкологические состояния, в
 том числе солидные опухоли различных типов, где возможно оценить успешность
 лечения и/или ремиссии традиционными способами, такими как определение
 уменьшения размера солидных опухолей и/или гистопатологические исследования по
 оценке роста, стадии, метастатического состояния или метастатического потенциала,
 45 уровней наличия или экспрессии гистологических маркеров рака и так далее.

[0012] Композиции и способы по изобретению также применимы для лечения
 симптомов неопластического заболевания, включая, но не ограничиваясь
 перечисляемыми, анемию; хроническую усталость; избыточное или легко вызываемое
 50 кровотечение, такое как носовое и подкожное кровотечение, кровотечение десен;
 легкое образование гематом, в особенности образование гематом без видимой
 причины; одышку; точечные кровоизлияния; возвратную лихорадку; вспухшие десны;
 медленное заживление порезов; дискомфорт в костях и суставах; возвратные

инфекции; потерю массы тела; зуд; ночную потливость; распухание лимфоузлов; лихорадку; боль и дискомфорт в брюшной полости; нарушения зрения; кашель; потерю аппетита; боль в грудной клетке; затруднения при глотании; опухлость лица, шеи и верхних конечностей; потребность в частом мочеиспускании, в особенности ночью; затруднения в начале мочеиспускания или задержку мочи; слабый и прерывающийся поток мочи; болезненное мочеиспускание или жжение при мочеиспускании; затруднения при наступлении эрекции; болезненную эякуляцию; кровь в моче или семени; частую боль или тугоподвижность в нижней части спины, тазобедренном суставе или верхней части бедер и слабость.

[0013] Еще в одном воплощении сложные эфиры форбола и производные сложных эфиров форбола могут применять для модулирования сигнального каскада в клетке. Такое модулирование может иметь многообразные последствия, например в некоторых воплощениях применение композиций, содержащих сложные эфиры форбола и производные сложных эфиров форбола, может увеличивать у субъектов млекопитающих концентрацию лейкоцитов. В других воплощениях композиции, содержащие сложные эфиры форбола и/или сложные эфиры производных форбола, могут изменять у субъектов млекопитающих высвобождение цитокинов T_H1 . Еще в одном воплощении композиции, содержащие сложные эфиры форбола и/или сложные эфиры производных форбола, у субъектов млекопитающих могут влиять на высвобождение интерлейкина 2 (IL-2). Еще в одном воплощении композиции, содержащие сложные эфиры форбола и/или сложные эфиры производных форбола, у субъектов млекопитающих могут влиять на высвобождение интерферона. В еще одном воплощении композиции, содержащие сложные эфиры форбола и/или сложные эфиры производных форбола, у субъектов млекопитающих могут изменять степень фосфорилирования ERK (Extracellular Regulated Kinase - внеклеточно регулируемая киназа).

[0014] Изобретение достигает вышеизложенных целей, решает дополнительные задачи и имеет дополнительные преимущества, предлагая новые и неожиданно эффективные способы и композиции для модулирования сигнальных путей в клетке и/или лечения цитопатических заболеваний и симптомов цитопатических заболеваний или состояний с помощью композиций, содержащих сложный эфир форбола или композицию производного Формулы I, приведенной ниже:



Формула I

где R_1 и R_2 может представлять собой водород; —O—C(=O)— - алкил, где алкильная группа содержит от 1 до 15 атомов углерода; —O—C(=O)— - низший алкенил, —O—C(=O)— -

фенил; $\text{—O—C}(=\text{O})\text{—}$ - бензил и их замещенные производные и R_3 может представлять

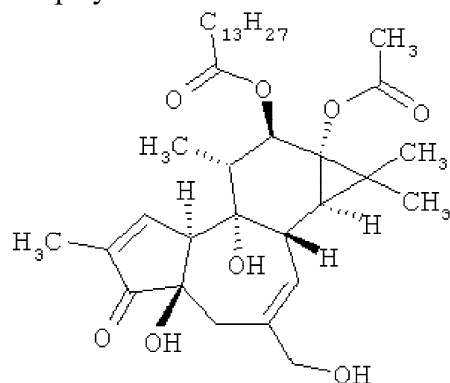
собой водород или $\text{—O—C}(=\text{O})\text{—}$ - низший алкенил и его замещенные производные.

[0015] В другом воплощении по меньшей мере один из радикалов R_1 и R_2 не представляет собой водород, а R_3 представляет собой водород или низший алкенил и его замещенные производные. В еще одном воплощении один из R_1 и R_2 представляет собой $\text{—O—C}(=\text{O})\text{—}$ - C_1 - C_{15} -алкил, второй из R_1 и R_2 представляет собой $\text{—O—C}(=\text{O})\text{—}$ -

низший алкил, а R_3 представляет собой водород.

[0016] Алкильные, алкенильные, фенильные или бензильные группы в приведенных здесь формулах могут быть незамещенными или замещенными галогенами, предпочтительно хлором, фтором или бромом, а также нитро-, amino- и/или подобными радикалами.

[0017] В еще одном воплощении изобретение достигает указанных целей, решает дополнительные задачи и имеет дополнительные преимущества, предлагая новые и неожиданно эффективные способы и композиции для модулирования сигнального каскада в клетке и/или лечения цитопатических заболеваний и симптомов цитопатических заболеваний или состояний, связанных с цитопатическими заболеваниями, с помощью приведенной для примера композиции форболового эфира, такого как 12-О-тетрадеcanoилфорбол-13-ацетат (ТРА) нижеприведенной Формулы II:



Формула II

[0018] Полезные сложные эфиры форбола и родственных соединений и производных в рамках композиций и способов по изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, другие фармацевтически приемлемые активные соли указанных соединений, так же как активные изомеры, энантиомеры, полиморфные соединения, гликозилированные производные, сольваты, гидраты и/или пролекарства указанных соединений. Приводимые для примера формы сложных эфиров форбола для применения в рамках композиций и способов по изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, форбол-13-бутират; форбол-12-деcanoат; форбол-13-деcanoат; форбол-12,13-диацетат; форбол-13,20-диацетат; форбол-12,13-дibenзоат; форбол-12,13-дибутират; форбол-12,13-дидеcanoат; форбол-12,13-дигексаноат; форбол-12,13-дипропионат; форбол-12-миристат; форбол-13-миристат; форбол-12-миристат-13-ацетат (также известный под названиями ТРА или РМА); форбол-12,13,20-триацетат; 12-дезоксифорбол-13-ангелат; 12-дезоксифорбол-13-ангелат-20-ацетат; 12-

дезоксифорбол-13-изобутират; 12-дезоксифорбол-13-изобутират-20-ацетат; 12-дезоксифорбол-13-фенилацетат; 12-дезоксифорбол-13-фенилацетат-20-ацетат; 12-дезоксифорбол-13-тетрадеканоат; форбол-12-тиглиат-13-деcanoат; 12-дезоксифорбол-13-ацетат; форбол-12-ацетат и форбол-13-ацетат.

[0019] В приводимых для примера воплощениях композиции и способы по изобретению включают сложный эфир форбола Формулы I для лечения и/или профилактики симптомов цитопатических заболеваний, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, симптомы ВИЧ-инфекции и СПИД или других заболеваний и состояний, связанных с ВИЧ-инфекцией и СПИД, таких как оппортунистические инфекции, а также симптомы неопластических заболеваний или других заболеваний или состояний, связанных с неопластическими заболеваниями.

[0020] Субъекты млекопитающих, восприимчивые к лечению сложными эфирами форбола Формулы I, в частности ТРА, согласно способам по настоящему изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, субъектов с ВИЧ-инфекцией и СПИД, а также субъектов с симптомами вторичных и оппортунистических заболеваний, связанных с ВИЧ-инфекцией и СПИД, таких как повреждения полости рта, утомление, кандидозный кожный стоматит, лихорадка, потеря аппетита, диарея, негнойные язвы, синдром пониженного всасывания, тромбоцитопения, потеря массы тела, анемия, увеличение лимфатических узлов, комплексная инфекция *Mycobacterium avium*, сальмонеллез, сифилис, нейросифилис, туберкулез (ТВ), бациллярный ангиоматоз, аспергиллез, кандидоз, кокцидиоидомикоз, листереллез, воспалительная болезнь таза, лимфома Беркитта, криптококковый менингит, гистоплазмоз, саркома Капоши, лимфома, системная не-Ходжкинская лимфома (NHL), первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС), криптоспоририоз, изоспороз, микроспоририоз, пневмония *Pneumocystis carinii* (PCP), токсоплазмоз, цитомегаловирус (CMV), гепатит, герпес симплекс, герпес зостер, вирус папилломы человека (HPV, остроконечные кондиломы, рак шейки матки), контагиозный моллюск, волосатая лейкоплакия полости рта (OHL) и прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия (PML).

[0021] Дополнительно субъекты млекопитающих, подлежащие лечению сложными эфирами форбола Формулы I, в частности ТРА, посредством способов по настоящему изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, субъектов, страдающих неопластическими заболеваниями, такими как солидные и несолидные раки.

Несолидные раки могут включать гематологические злокачественные новообразования/расстройства костного мозга, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, лейкоз, включая острый миелоидный лейкоз (AML), хронический миелоидный лейкоз (CML), криз хронического бластного миелоидного лейкоза, миелодисплазию и миелопролиферативный синдром. Солидные раки могут включать, не ограничиваясь перечисляемыми, лимфомы, включая Ходжкинскую и не-Ходжкинскую лимфомы; подкожную аденокарциному; тератокарциному яичников и рак простаты. Субъекты, подлежащие лечению сложными эфирами форбола Формулы I, в частности ТРА, дополнительно включают субъектов, страдающих от таких симптомов неопластических заболеваний как, не ограничиваясь перечисляемыми, анемия; хроническая усталость; избыточное или легко вызываемое кровотечение, такое как носовое и подкожное кровотечение, кровоточивость десен; легкое образование гематом, в особенности образование гематом без видимой причины; одышка; точечные кровоизлияния; возвратная лихорадка; вспухшие десны; медленное заживление порезов; дискомфорт в костях и суставах; возвратные

инфекции; потеря массы тела; зуд; ночная потливость; распухание лимфоузлов; лихорадка; боль и дискомфорт в брюшной полости; нарушения зрения; кашель; потеря аппетита; боль в грудной клетке; затруднения при глотании; опухлость лица, шеи и верхних конечностей; потребность в частом мочеиспускании, в особенности
 5 ночью; затруднения в начале мочеиспускания или задержка мочи; слабый и прерывающийся поток мочи; болезненное мочеиспускание или жжение при мочеиспускании; затруднения при наступлении эрекции; болезненная эякуляция; кровь в моче или семени; частая боль или тугоподвижность в нижней части спины, тазобедренном суставе или верхней части бедер и слабость. В некоторых воплощениях
 10 такие раки могут быть рецидивирующими или рефракторными.

[0022] Эти и другие субъекты эффективно поддаются профилактическому и/или терапевтическому лечению путем введения субъекту эффективного количества
 15 сложных эфиров форбола Формулы I, достаточного, чтобы предотвратить или уменьшить вирусную нагрузку, сократить резервуары латентных ВИЧ, увеличить иммунореактивность, увеличить высвобождение цитокинов T_H1 , предотвратить или уменьшить симптомы или состояния, связываемые с ВИЧ-инфекцией и СПИД, уменьшить количество и/или удалить неопластические клетки, увеличить
 20 концентрацию лейкоцитов, индуцировать ремиссию, поддерживать ремиссию, предупреждать симптомы и состояния, связываемые со злокачественностью и/или увеличить фосфорилирование ERK. В терапевтически полезных способах и композициях по изобретению будут, как было указано выше, эффективно применяться
 25 разнообразные формы сложных эфиров форбола Формулы I, включая любые активные фармацевтически приемлемые соли указанных соединений, а также активные изомеры, энантиомеры, полиморфные формы, сольваты, гидраты, пролекарства, а также их комбинации. В примерах, приведенных выше, в качестве иллюстративного воплощения изобретения используют ТРА Формулы II.

[0023] В рамках дополнительных аспектов изобретения предлагаются
 30 комбинированные составы и способы, в которых применяется эффективное количество сложного эфира Формулы I в сочетании с одним или более дополнительным или вспомогательным активным агент(ом), которые включают в один и тот же состав или вводят координированно со сложными эфирами форбола
 35 Формулы I, с целью вызвать у субъекта эффективный ответ. В приводимых в качестве примера комбинированных составах и координированных способах лечения вирусных цитопатических заболеваний, таких как ВИЧ-инфекция и СПИД, применяют сложный эфир форбола Формулы I в сочетании с одним или более дополнительным вторичным
 40 или вспомогательным ретровирусным терапевтическим агентом для лечения ВИЧ-инфекции или СПИД или других показаний. Такие комбинированные составы и способы координированного лечения могут, например, следовать разнообразным протоколам высокоактивной антиретровирусной терапии (протоколы HAART - highly
 45 active antiretroviral therapy) или создаваться на их основе и включают, среди других комбинаций без ограничения указанным, такие схемы, как, например, два ингибитора обратной транскриптазы - аналоги нуклеозидов - плюс один или более ингибитор протеазы или ингибитор обратной транскриптазы, не являющийся аналогом нуклеозида. Другие комбинированные составы и способы координированного
 50 лечения могут, например, включать терапию оппортунистических инфекций, а также соединения согласно протоколам HAART. Дополнительные и вспомогательные терапевтические агенты, применяемые в комбинации, например, с ТРА, в этих воплощениях могут обладать прямыми или косвенными противовирусными

эффектами, сами по себе, или в комбинации, например, с ТРА, и могут оказывать также другую добавочную полезную терапевтическую активность в комбинации, например, с ТРА (такую, как профилактика ВИЧ-инфекции, лечение ВИЧ-инфекции, активация резервуара ВИЧ, увеличение активности цитокина T_H1); или, сами по себе, или в комбинации, например, с ТРА, могут проявлять дополнительную терапевтическую активность, полезную для лечения оппортунистических инфекций, связанных с ВИЧ.

[0024] Полезными дополнительными терапевтическими агентами в этих комбинированных составах являются, например, ингибиторы протеаз, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, саквинавир, индинавир, ритонавир, нельфинавир, атазанавир, дарунавир, фосампренавир, типранавир и ампренавир; ингибиторы нуклеозидной обратной транскриптазы, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, зидовудин, диданозин, ставудин, ламивудин, залцитабин, эмтрицитабин, тенофовир диизопроксилфумарат, AVX754 и абакавир; ингибиторы ненуклеозидной обратной транскриптазы, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, неварипин, делавирдин, каланолид А, ТМСИ 25 и эфавиренц; лекарственные препараты комбинированного действия, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, эфавиренц/эмтрицитабин/тенофовир диизопроксилфумарат, ламивудин/зидовудин, абакавир/ламивудин, абакавир/ламивудин/зидовудин, эмтрицитабин/тенофовир диизопроксилфумарат, сульфаметоксазол/триметоприм и лопинавир/ритонавир; ингибиторы слияния вируса иммунодефицита человека с клетками человека, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, энфувиртид, AMD070, BMS-488043, фозивудин тидоксил, GSK-873140, PRO 140, PRO 542, пептид Т, SCH-D, TNX-355 и UK-427, 857; лекарственные соединения для лечения оппортунистических инфекций и других состояний, связываемых со СПИД и ВИЧ, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, ацикловир, адефовир дипивоксил, альдеслейкин, амфотерицин b, азитромицин, гидроксипатит кальция, кларитромицин, доксорубицин, дронабинол, энтекавир, эпоетин альфа, этопозид, флуконазол, ганцикловир, иммуноглобулины, интерферон альфа-2, изониазид, итраконазол, мегестрол, паклитаксель, пегинтерферон альфа-2, пентамидин, поли-1-молочную кислоту, рибавирин, рифабутин, рифампин, соматропин, тестостерон, триметрексат и валганцикловир; ингибиторы интегразы, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, GS 9137, МК-0518; микробициды, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, BMS-378806, C31G, карбопол 974Р, каррагинан, сульфат целлюлозы, циановирин-М, сульфат декстрана, гидроксиэтилцеллюлозу, PRO 2000, SPL7013, тенофовир, UC-781 и IL-2.

[0025] Примеры комбинированных составов и способов координированного лечения при лечении неопластического заболевания включают сложный эфир форбола Формулы I в сочетании с одним или более дополнительным способом лечения неопластического заболевания или другими показанными к применению дополнительными или вспомогательными терапевтическими агентами. Дополнительные или вспомогательные терапевтические агенты, применяемые в сочетании, например, с ТРА, в этих воплощениях могут обладать прямыми или косвенными химиотерапевтическими эффектами сами по себе, или в комбинации, например с ТРА, могут оказывать другую полезную дополнительную терапевтическую активность в комбинации, например, с ТРА (такую, как цитотоксическая активность, противовоспалительная активность, ингибирование NF-κB, индукция апоптоза, увеличение активности цитокина T_H1), или могут проявлять

дополнительную терапевтическую активность, полезную при лечении неоплазм или связываемых с ними симптомов сами по себе или в комбинации, например, с ТРА.

[0026] Полезные дополнительные или вспомогательные терапевтические агенты в этих комбинированных составах и при координированных способах лечения включают доксорубицин, витамин D3, цитарабин, цитозинарабинозид, даунорубицин, циклофосфамид, гемтузумаб озогамидин, идарубицин, меркаптопурин, митоксантрон, тиогуанин, альдеслейкин, аспарагиназу, карбоплатин, этопозид фосфат, флударабин, метотрексат, этопозид, дексаметазон и холинтрисалицилат магния. Помимо этого могут применять дополнительные и вспомогательные виды терапии, такие как, не ограничиваясь перечисляемыми, радиационная терапия, гормонотерапия и хирургия.

[0027] Вышеизложенные и другие цели, признаки, аспекты и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из последующего подробного описания.

Подробное описание примеров воплощения изобретения

[0028] Были обнаружены новые способы и композиции для применения для профилактики и/или лечения цитопатических заболеваний и состояний у субъектов млекопитающих. В различных воплощениях способы и композиции являются эффективными для профилактики или лечения ВИЧ-инфекции и СПИД, а также связанных состояний и/или заболеваний, приобретенных из-за ВИЧ или СПИД-инфекции, в рамках других воплощений способы и композиции являются эффективными для профилактики или лечения неопластических заболеваний и симптомов таких заболеваний. Такие неопластические заболевания могут быть злокачественными или незлокачественными. В некоторых воплощениях неопластические заболевания могут представлять собой солидные и несолідные раки. В других воплощениях раки могут быть рефракторными или рецидивирующими.

[0029] В предлагаемых здесь композициях и способах применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения согласно данному описанию, а также различные предполагаемые или легко образующиеся комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве соединений для лечения ВИЧ-инфекции и СПИД.

[0030] В предлагаемых здесь композициях и способах дополнительно применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения согласно данному описанию, а также различные предполагаемые или легко образующиеся комплексы: соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве соединений для лечения ВИЧ-инфекции и СПИД. В предлагаемых здесь композициях и способах дополнительно применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения согласно данному описанию, а также различные предполагаемые или легко образующиеся комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве соединений для лечения неопластических заболеваний.

[0031] В предлагаемых здесь композициях и способах, уменьшающих вирусную нагрузку, применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения по данному описанию, а также различные предполагаемые или легко

образующиеся комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве новых агентов для снижения вирусной нагрузки.

5 [0032] В предлагаемых здесь композициях и способах, вызывающих апоптоз, применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения по
данному описанию, а также различные предполагаемые или легко образующиеся
10 комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве химиотерапевтических агентов, вызывающих апоптоз в неоплазмах.

[0033] В предлагаемых здесь композициях и способах, вызывающих ремиссию, применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения по
15 данному описанию, а также различные предполагаемые или легко образующиеся комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве антинеоплазматических агентов.

20 [0034] В предлагаемых здесь композициях и способах, увеличивающих иммунореактивность, применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения по данному описанию, а также различные предполагаемые
или легко образующиеся комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры,
25 полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве иммуностимуляторов.

[0035] В предлагаемых здесь композициях и способах, увеличивающих количество цитокина T_H1 , применяют сложный эфир форбола или вышеприведенное производное
30 соединение Формулы I, включая все активные фармацевтически приемлемые соединения по данному описанию, а также различные предполагаемые или легко образующиеся комплексы, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства этих соединений и их комбинации в качестве новых агентов, увеличивающих количество цитокина T_H1 .

35 [0036] К лечению с применением композиций и способов по изобретению восприимчив широкий диапазон субъектов млекопитающих, включая человека. Эти субъекты включают, не ограничиваясь перечисляемыми, индивидов, страдающих цитопатическими заболеваниями или состояниями, включая неоплазмы и вирусные
40 цитопатические заболевания, такие как ВИЧ-инфекция и СПИД.

[0037] В число субъектов, восприимчивых к лечению, включены ВИЧ-положительные субъекты человека, равно как и другие особи млекопитающих с повреждениями полости рта, утомлением, кандидозным кожным стоматитом, лихорадкой, потерей аппетита, диареей, негнойными язвами, синдромом пониженного
45 всасывания, тромбоцитопенией, потерей массы тела, анемией, увеличением лимфатических узлов, восприимчивостью к вторичным состояниям при их тяжести, таким как микобактериальная инфекция, сальмонеллез, сифилис, нейросифилис, туберкулез (ТВ), бацилярный ангиоматоз, аспергиллез, кандидоз, кокцидиоидомикоз, листереллез, воспалительная болезнь таза, лимфома Беркитта, криптококковый
50 менингит, гистоплазмоз, саркома Капоши, лимфома, системная не-Ходжкинская лимфома (NHL), первичная лимфома центральной нервной системы (ЦНС), криптоспоририоз, изоспороз, микроспоририоз, пневмония *Pneumocystis carinii* (PCP),

токсоплазмоз, цитомегаловирус (CMV), гепатит, герпес симплекс, герпес зостер, вирус папилломы человека (HPV, остроконечные кондиломы, рак шейки матки), контагиозный моллюск, волосатая (лейкоплакия) полости рта (ОНЛ) и прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия (PML).

[0038] В рамках способов и композиций по изобретению один или более из сложных эфиров форбола, соединения(ий) Формулы I согласно приводимому здесь описанию эффективно включают в состав или вводят пациенту в качестве агента, полезного для лечения ВИЧ-инфекции/СПИД и/или ассоциированных расстройств. В примерах воплощения в целях иллюстрации демонстрируется эффективность ТРА в качестве эффективного агента в фармацевтических композициях и способах терапии как самого по себе, так и в комбинации с одним или более дополнительным терапевтическим(и) агентом(ами). Настоящее описание далее дополнительно предлагает фармацевтически приемлемые соединения на основе сложных эфиров форбола в форме соединения естественного происхождения или синтетического продукта, включая комплексы, производные, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства описанных здесь соединений, которые являются эффективными в качестве терапевтических агентов в рамках способов и композиций по изобретению для лечения ВИЧ-инфекции/СПИД и ассоциированных состояний.

[0039] Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) представляет собой набор симптомов и инфекций, являющихся следствием повреждения иммунной системы, вызванного инфекцией вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Повреждение иммунной системы делает индивидов предрасположенными к оппортунистическим инфекциям и опухолям. Хотя существующие способы лечения СПИД и ВИЧ-инфекции замедляют прогрессию вируса и тяжесть симптомов, в настоящее время заболевание неизлечимо.

[0040] ВИЧ представляет собой ретровирус, в первую очередь инфицирующий компоненты иммунной системы человека, такие как клетки CD4+T, макрофаги и дендритные клетки. После уничтожения клеток CD4+T до уменьшения их общей концентрации в крови до значения менее 200 CD4+T клеток/мкл или когда процентное отношение клеток CD4+T в виде доли падает до значения менее чем 14%, клеточный иммунитет пропадает, что приводит к СПИД.

[0041] В настоящее время считают, что изменение баланса цитокинов T_H1 и T_H2 может вносить вклад в нарушение регуляции иммунитета, связанное с ВИЧ-инфекцией. Клетки T_H1 вырабатывают цитокины, стимулирующие пролиферацию цитотоксичных Т клеток. Клетки T_H2 вырабатывают цитокины, ответственные за активирование у здорового человека гуморального иммунного ответа. Развитие ВИЧ-инфекции в ходе СПИД характеризуется уменьшением уровней цитокинов T1 IL-2 (интерлейкина), IL-12 и IFN- γ (интерферона-гамма) с сопутствующим увеличением уровней цитокинов T_H2 IL-4, IL-5 и IL-10 (Clerci, Immunology Today, v.14, No.3, p.107-110, 1993; Becker, Virus Genes 28:1, 5-18 (2004)). Сопrotивляемость ВИЧ-инфекции или сопротивляемость прогрессированию СПИД поэтому может зависеть от преобладания T_H1 над T_H2 .

[0042] Часть CD4+ памяти Т клеток содержит интегрированные транскрипционно неактивные провирусы ВИЧ. Эти латентные резервуары могут быть активированы с образованием активного инфекционного вируса с последующей активацией специфическими антигенами и цитокинами. Период полужизни этих Т клеток с памятью CD4 составляет по меньшей мере 44 месяца, что делает крайне трудным устранение ВИЧ и требует продолжительной антиретровирусной терапии, даже когда

уровни ВИЧ в периферической крови становятся неопределимыми.

[0043] Простратин, 12-дезоксифорбол-13-ацетат, сложный эфир форбола, неканцерогенный и не являющийся опухолевым промотором, по сообщениям показал некоторую эффективность при ингибировании репликации вирусов и вызванной ВИЧ гибели клеток. По сообщениям простратин активировал экспрессию вирусов в латентно-инфицированных линиях клеток, однако оказался малоэффективным или неэффективным в хронически инфицированных линиях клеток (Gulakowski, et al. Antiviral Research, v.33, 87-97 (1997); Williams, et al. JBC, v.279, No.40, p.42008-42017 (2004)). Простратин, явно принадлежащий к подклассу активаторов протеинкиназы C, имеет уникальную биологическую активность, отличающуюся от сложных эфиров форбола, таких как ТРА, являющихся промоторами опухолей.

[0044] Субъекты млекопитающих, восприимчивые к лечению сложными эфирами форбола Формулы I, в частности ТРА, согласно способам по настоящему изобретению дополнительно включают субъектов млекопитающих с неопластическими заболеваниями, включая солидные и несолитные раки, не ограничиваясь перечисляемыми, включая злокачественные заболеваниями крови/расстройства костного мозга, лейкоз, включая острый миелоидный лейкоз (AML), хронический миелоидный лейкоз (CML), криз хронического бластного миелоидного лейкоза, миелодисплазию и миелопролиферативный синдром; лимфому, включая Ходжкинскую и не-Ходжкинскую лимфому; подкожную аденокарциному; тератокарциному яичников и рак простаты. В некоторых воплощениях такие раки могут являться рецидивирующими или рефракторными.

[0045] В рамках способов и композиций по изобретению один или более из сложных эфиров форбола, соединения(ий) Формулы I согласно приводимому здесь описанию эффективно вносятся(ятся) в состав или вводится(ятся) пациенту в качестве агента, полезного для лечения неопластических заболеваний. В примерах воплощений в целях иллюстрации демонстрируется эффективность ТРА в качестве эффективного агента в фармацевтических композициях и способах терапии как самого по себе, так и в комбинации с одним или более дополнительным терапевтическим(и) агентом(ами). Настоящее описание далее дополнительно предлагает фармацевтически приемлемые соединения на основе сложных эфиров форбола в виде соединений естественного происхождения или синтетического продукта, включая комплексы, производные, соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы и пролекарства здесь описанных соединений и их комбинаций, эффективных в качестве терапевтических агентов в рамках способов и композиций по изобретению для лечения неопластических заболеваний и симптомов таких заболеваний.

[0046] Неопластическое заболевание представляет собой любое новообразование или опухоль, обусловленные ненормальным и неконтролируемым делением клеток, которые могут разноситься в другие части тела по лимфатической системе или с кровотоком. Такие новообразования могут быть злокачественными или доброкачественными, солидными и несолитными.

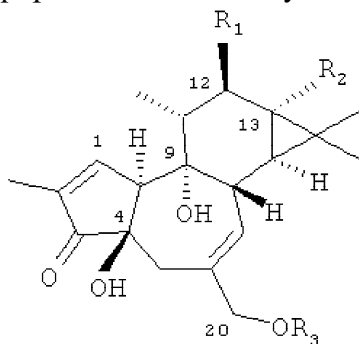
[0047] В некоторых воплощениях неопластические заболевания могут являться неоплазматическим расстройством костного мозга, таким как острый миелоидный лейкоз (AML). AML (также называемый острым миелогенным лейкозом, острым миелобластным лейкозом, острым гранулоцитарным лейкозом и острым нелимфоцитарным лейкозом) является наиболее распространенным типом острого лейкоза у взрослых. При AML стволовые клетки, производимые костным мозгом, обычно развиваются в незрелые лейкоциты типа, называемого миелобластами (или

миелоидными бластными клетками). У индивидов, страдающих АМЛ, эти миелобласты не развиваются в здоровые лейкоциты. Дополнительно стволовые клетки у индивидов с АМЛ могут развиваться в аномальные эритроциты или тромбоциты. Недостаток нормальных клеток крови увеличивает подверженность

инфекции, анемии и легко вызываемым кровотечениям. Дополнительно лейкозные клетки могут распространяться вне крови в другие части тела, включая центральную нервную систему (головной мозг и спинной мозг), кожу и десны.

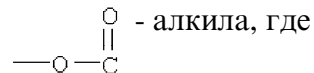
[0048] Средний возраст пациента с АМЛ превышает 64 года. Пациенты возраста более 60 лет с АМЛ, подвергающиеся лечению стандартными химиотерапевтическими препаратами, имеют вероятность ремиссии менее 20%. Дополнительно, пациенты с АМЛ, развившимся после предшествующего гематологического расстройства или ранее назначавшейся противолейкозной химиотерапии/радиотерапии, аналогично имеют плохие прогнозы.

[0049] Форбол представляет собой натуральное органическое соединение растительного происхождения тиглианового семейства дитерпенов. Он был впервые выделен в 1934 г. как продукт гидролиза кротонового масла из семян *Croton tiglium*. Он хорошо растворим в наиболее полярных растворителях и в воде. Сложные эфиры форбола имеют общую структуру, соответствующую нижеприведенной Формуле I:

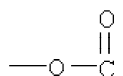
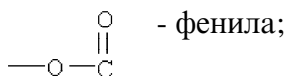
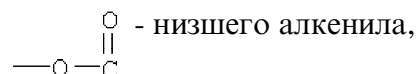


Формула I

где R_1 и R_2 выбраны из группы, состоящей из водорода;



алкильная группа содержит от 1 до 15 атомов углерода;



представлять собой водород,

$$-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{R} \quad \text{— низший алкенил или его замещенные}$$

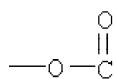
производные.

[0050] Применяемый здесь термин "низший алкил" или "низший алкенил" означает группировки, содержащие 1-7 атомов углерода. В соединениях Формулы I алкильные или алкенильные группы могут иметь прямую или разветвленную цепь. В некоторых воплощениях или R_1 , или R_2 , или оба представляют собой длинную углеводородную группировку (например, в Формуле I представляют собой деканоат или миристат).

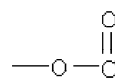
[0051] Алкильные, алкенильные, фенильные и бензильные группы согласно приводимым здесь формулам могут быть незамещенными или замещенными галогенами, предпочтительно, хлором, фтором или бромом; нитро-; amino- и подобного типа радикалами.

[0052] Органические и синтетические формы сложных эфиров форбола, включая любые препараты или экстракты из растительных источников, таких как *Croton tiglium*, рассматриваются в качестве полезных композиций, содержащих сложные эфиры форбола (или аналоги сложных эфиров форбола, родственные соединения и/или производные), для применения в рассматриваемых здесь воплощениях. Полезные сложные эфиры форбола и/или родственные соединения для применения в рассматриваемом здесь воплощении типично имеют структуру, иллюстрируемую Формулой I, хотя специалисты в данной области техники поймут, что функционально эквивалентные аналоги, комплексы, конъюгаты и производные таких соединений также попадают в объем настоящего изобретения.

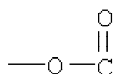
[0053] В более конкретных воплощениях будут выбраны иллюстративные структурные модификации согласно вышеприведенной Формуле I с целью предложить соединения, являющиеся перспективными кандидатами на роль агентов для лечения и/или предупреждения ВИЧ-инфекции и СПИД и/или неопластических заболеваний, где по меньшей мере один из R_1 и R_2 отличается от водорода, а R_3 выбран из группы, состоящей из водорода и



В другом воплощении один из R_1 и R_2 представляют собой

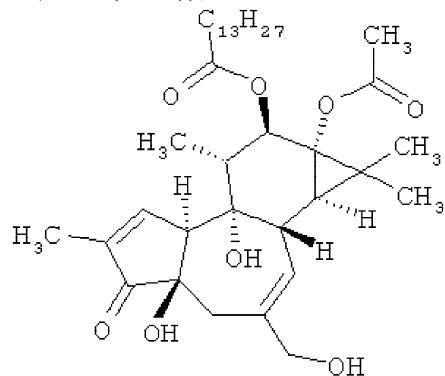


второй из R_1 и R_2 представляет собой



собой водород.

[0054] Примером воплощения сложного эфира форбола, соединения Формулы I, применяемого при лечении цитопатических заболеваний, таких как ВИЧ-инфекция и СПИД, и/или неопластических заболеваний, в особенности AML, является форбол-12-миристенат-13-ацетат (также известный как РМА или 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетат (ТРА)), имеющий нижеприведенную Формулу II.



Формула II

[0055] Дополнительно полезные сложные эфиры форбола и родственные соединения, а также производные в рамках композиций и способов по изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, другие фармацевтически приемлемые активные соли указанных соединений, а также активные изомеры, энантиомеры, полиморфные формы, гликозильированные соединения, сольваты, гидраты и/или пролекарства указанных соединений. Дополнительно, приводимые для примера формы сложных эфиров форбола для применения в композициях и способах по изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, форбол-13-бутират;

форбол-12-деcanoат; форбол-13-деcanoат; форбол-12,13-диацетат; форбол-13,20-диацетат; форбол-12,13-дibenзоат; форбол-12,13-дибутират; форбол-12,13-дидеcanoат; форбол-12,13-дигексаноат; форбол-12,13-дипропионат; форбол-12-миристат; форбол-13-миристат; форбол-12-миристат-13-ацетат (также известный под названиями ТРА или РМА); форбол-12,13,20-триацетат; 12-дезоксифорбол-13-ангелат; 12-дезоксифорбол-13-ангелат-20-ацетат; 12-дезоксифорбол-13-изобутират; 12-дезоксифорбол-13-изобутират-20-ацетат; 12-дезоксифорбол-13-фенилацетат; 12-дезоксифорбол-13-фенилацетат-20-ацетат; 12-дезоксифорбол-13-тетрадеcanoат; форбол-12-тиглиат-13-деcanoат; 12-дезоксифорбол-13-ацетат; форбол-12-ацетат и форбол-13-ацетат.

[0056] Рассматриваемые здесь композиции для лечения цитопатических заболеваний включают в себя композиции для лечения ВИЧ-инфекции и СПИД, содержащие эффективное против СПИД количество сложных эфиров форбола, соединения Формулы I, эффективного для профилактики и/или лечения ВИЧ-инфекции, СПИД, и/или симптомов, связанных с ВИЧ-инфекцией, включая оппортунистические инфекции субъекта млекопитающего. Эффективное количество "Анти-ВИЧ", "анти-СПИД" или "лечащего СПИД" активного соединения является терапевтически эффективным в лекарственной форме однократного или многократного применения в течение конкретного периода терапевтического вмешательства, заметно облегчая у субъекта один и более симптомов СПИД и/или облегчая у субъекта один или более симптом(ов) или состояние(я), связываемые с ВИЧ-инфекцией. В рамках примеров конкретных воплощений композиции по изобретению являются эффективными в способах лечения, облегчая симптомы СПИД или других состояний, связанных с ВИЧ, у человека и других субъектов млекопитающих, чувствительных к ВИЧ-инфекции.

[0057] Рассматриваемые здесь композиции для лечения цитопатических заболеваний дополнительно могут включать химиотерапевтические композиции, содержащие антинеопластически эффективное количество сложного эфира форбола или производного соединения Формулы I, эффективное для поддержания и лечения злокачественных новообразований или симптомов, обусловленных раком у особи млекопитающих. "Химиотерапевтическое", "противоопухолевое", "лечащее рак", "вызывающее апоптоз", "вызывающее ремиссию", "поддерживающее ремиссию" означает эффективное количество активного соединения, являющееся терапевтически эффективным в лекарственной форме однократного или многократного применения за конкретный период терапевтического вмешательства и заметно облегчающее у субъекта один и более симптомов злокачественного новообразования и/или облегчающее у субъекта один или более симптом(ов) или состояние(я), связанные со злокачественным новообразованием. В рамках примеров конкретных воплощений композиции по изобретению являются эффективными в способах лечения, облегчая симптомы состояний, относящихся к неопластическому заболеванию, у человека и других субъектов млекопитающих, у которых могут возникать злокачественные новообразования.

[0058] Композиции по изобретению для лечения цитопатических заболеваний, включая химиотерапевтическое лечение и лечение ВИЧ-инфекции, как правило содержат эффективное количество или единичную дозу сложного эфира форбола, соединения Формулы I, которое могут включать в состав совместно с одним или более фармацевтически приемлемым носителем, эксципиентом, наполнителем, эмульгатором, стабилизатором, консервантом, буферной смесью и/или другими

добавками, которые могли бы увеличить устойчивость, улучшить доставку, абсорбцию, увеличить период полужизни, улучшить эффективность, фармакокинетические и/или фармакодинамические параметры или обеспечить другие преимущества при фармацевтическом применении. Эффективные количества сложного эфира форбола, или родственного соединения, или производного соединения Формулы I (например, стандартную дозу, содержащую эффективную концентрацию/количество ТРА или, возможно, фармацевтически приемлемой соли, изомера, энантиомера, сольвата, полиморфной формы и/или пролекарства ТРА) легко сможет подобрать рядовой специалист в данной области техники, в зависимости от клинических факторов и факторов, специфичных для данного пациента. Количества активных соединений в эффективных стандартных дозах для введения субъектам млекопитающих, включая человека, могут изменяться в диапазоне от 10 до 1500 мкг, 20-1000 мкг, 25-750 мкг, 50-500 мкг или 150-500 мкг. В конкретных воплощениях эффективная доза сложного эфира форбола, или родственного соединения, или производного соединения Формулы 1 для лечения цитопатического заболевания может быть выбрана в более узких диапазонах, например 10-25 мкг, 30-50 мкг, 75-100 мкг, 100-250 мкг или 250-500 мкг. Эти и другие эффективные стандартные дозы могут вводиться однократно или многократно ежедневно, еженедельно или ежемесячно, например, с режимом дозирования, включающим от 1 до 5 или 2-3 доз, вводимых ежедневно, еженедельно или ежемесячно. В одном примере воплощения дозировки от 10 до 30 мкг, 30-50 мкг, 50-100 мкг, 100-250 мкг или 250-500 мкг вводят один раз, два, три, четыре или пять раз в день. В более конкретных воплощениях дозы 50-100 мкг, 100-250 мкг, 250-400 мкг или 400-600 мкг вводят один раз или два раза в день. В дополнительном воплощении дозы 50-100 мкг, 100-250 мкг, 250-400 мкг или 400-600 мкг вводят один раз через сутки. В альтернативных воплощениях дозы рассчитывают с учетом массы тела, и их можно вводить, например, в количествах от около 0,5 мкг/м² до около 100 мкг/м² в день, от 1 мкг/м² до около 75 мкг/м² в день, от 1 мкг/м² до около 50 мкг/м² в день, от 2 мкг/м² до около 50 мкг/м² в день, от 2 мкг/м² до около 30 мкг/м² в день или от 3 мкг/м² до около 30 мкг/м² в день.

[0059] Количество, выбор временных интервалов и способ доставки композиций по изобретению, содержащих эффективное для лечения цитопатических заболеваний количество сложного эфира форбола Формулы I (эффективное количество для лечения СПИД, профилактики ВИЧ-инфекции, лечения ВИЧ-инфекции, активации резервуара ВИЧ, возрастания содержания цитокина T_H1, индукции фосфорилирования ERK, химиотерапевтического, противоопухолевого лечения, лечения рака, индукции ремиссии, поддержания ремиссии, индукции апоптоза), будут в соответствии с установившейся практикой подбирать индивидуально, в зависимости от таких факторов, как масса тела, возраст, пол и состояние индивида, острота цитопатического заболевания и/или родственных симптомов, от того, является ли введение профилактическим или терапевтическим, а также на базе иных факторов, про которые известно, что они влияют на доставку лекарственного средства, абсорбцию, фармакокинетику, включая период полужизни и эффективность.

[0060] Эффективная доза или включающий многократные дозировки режим лечения имеющегося на данный момент цитопатического заболевания (иначе, "лечения СПИД", лечения "ВИЧ-инфекции", "профилактики ВИЧ-инфекции", "активации резервуара ВИЧ" или "увеличения уровня цитокина T_H1", "индукции фосфорилирования ERK", "химиотерапевтического", "противоопухолевого" лечения, "лечения рака", "индукции апоптоза", "индукции ремиссии", "поддержания ремиссии")

в композиции по изобретению будут в соответствии с общей практикой выбраны так, чтобы приблизиться к минимальному режиму дозировки, необходимому и достаточному для существенного предотвращения или облегчения симптомов цитопатического заболевания, включая СПИД или неопластические заболевания, такие как рак или родственные оппортунистические заболевания субъекта, и/или для существенного предотвращения или облегчения одного или более симптомов, связываемых со СПИД или неопластическими заболеваниями, такими как рак у субъекта. Дозировка и протокол введения часто включают терапию с многократным введением доз в течение нескольких дней или даже одной или более недель или лет. Режим эффективного лечения может также включать профилактическую дозировку на основе ежедневного однократного или многократного введения курсами, продолжающимися дни, недели, месяцы и даже годы.

[0061] Для определения терапевтической эффективности лечения цитопатических заболеваний можно легко применять различные способы анализа и модельные системы. Например, при лечении ВИЧ-инфекции или СПИД эффективность можно определить по уменьшению вирусной нагрузки, возрастанию уровней CD4, возрастанию уровней CD3, увеличению выработки IL-2 и IFN, уменьшению выработки IL-4 и IL-10 и уменьшению или исчезновению симптомов СПИД, а также другими способами определения эффективности, известными специалистам в данной области техники.

[0062] Эффективность композиций и способов по изобретению могут определять, например, с помощью анализа крови на антитела к ВИЧ, вирусную нагрузку, уровни CD4, уровни CD8 и уровни CD3. В норме уровни CD4 обычно составляют между 600 и 1200 единиц/микролитр или 32-68% лимфоцитов. Индивиды, имеющие менее 350 единиц CD4, имеют ослабленную иммунную систему. Тех, у кого количество единиц CD4 составляет менее 200, рассматривают как имеющих СПИД. У здорового индивида уровни CD8 обычно составляют между 150 и 1000 единиц/микролитр. У здорового индивида уровни CD3 обычно составляют между 885 и 2270 единиц/микролитр. Уровни клеток CD3, CD4 и CD8 можно измерять, например, с помощью проточной цитометрии. Эффективные количества композиций по изобретению приводят к увеличению уровней CD3, CD4 и CD8 положительных клеток по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 50% или, при сильном уменьшении, до 75-90% или 95% или больше. Эффективные количества также сдвигают профиль CD3, CD4 и CD8 индивида в сторону оптимальной категории для каждого типа гликопротеина.

[0063] Также возможна оценка индивидов при помощи бета₂-микроглобулинового (beta₂-M) теста. Бета₂-микроглобулин представляет собой белок, высвобождаемый в кровь, когда клетка умирает. Увеличение уровня бета₂-M в крови может служить показателем прогрессирования СПИД. Эффективные количества композиции по настоящему изобретению приводят к уменьшению или прекращению увеличения количества бета₂-M.

[0064] Помимо этого эффективность может быть продемонстрирована с помощью клинического анализа крови (CBC - complete blood count). Измерения, проводимые при клиническом анализе крови, включают подсчет лейкоцитов (WBC - white blood cell count), эритроцитов (RBC - red blood cell count), определение ширины распределения эритроцитов, гематокрита и количества гемоглобина. При CBC специфическими признаками, связанными со СПИД, являются низкий гематокрит, резкое уменьшение количества тромбоцитов в крови и низкий уровень нейтрофилов. Эффективное количество композиции по настоящему изобретению увеличивает указанные уровни

при клиническом анализе крови на 10%, 20%, 30%, 50% или более до 75-90% или 95% или более. Эффективные количества также сдвигают картину белков крови индивида в сторону оптимальной категории для каждого типа белка.

[0065] Эффективность композиций и способов по настоящему изобретению также могут определять по уменьшению симптомов ВИЧ или СПИД, включая, но не ограничиваясь указанным, повреждения полости рта, утомление, кандидозный стоматит, лихорадку, потерю аппетита, диарею, негнойные язвы, нарушение всасывания, тромбоцитопению, потерю массы тела, анемию и увеличение лимфатических узлов.

[0066] Эффективность композиций и способов по настоящему изобретению может быть продемонстрирована по уменьшению предрасположенности к оппортунистическим состояниям или их тяжести, где оппортунистические состояния выбраны из: микобактериальная инфекция, сальмонеллез, сифилис, нейросифилис, туберкулез (ТВ), бациллярный ангиоматоз, аспергиллез, кандидоз, кокцидиоидомикоз, листереллез, воспалительная болезнь таза, лимфома Беркитта, криптококковый менингит, гистоплазмоз, саркома Капоши, лимфома, системная не-Ходжкинская лимфома (NHL), первичная лимфома центральной нервной системы (CNS), криптоспоридиоз, изоспороз, микроспоридиоз, пневмония *Pneumocystis carinii* (PCP), токсоплазмоз, цитомегаловирус (CMV), гепатит, герпес симплекс, герпес зостер, вирус папилломы человека (HPV, остроконечные кондиломы, рак шейки матки), контагиозный моллюск, волосатая лейкоплакия полости рта (OHL) и прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия (PML), или их тяжести.

[0067] Эффективность дополнительно может быть продемонстрирована по уменьшению количества определяемых единиц ВИЧ у субъекта, инфицированного ВИЧ; сохранению нормального уровня Т клеток или поддержанию нормальных уровней антигена р24.

[0068] Эффективность лечения неопластических заболеваний также может определяться с помощью ряда способов, таких как, не ограничиваясь указанным, шкала оценки функциональной активности ECOG, шкала Карновского, микроскопический анализ клеток крови, аспирация или биопсия костного мозга, цитогенетический анализ, биопсия, определение иммунофенотипа, гематохимические исследования, клинический анализ крови, биопсия лимфатических узлов, мазки периферической крови, визуальный анализ опухоли или повреждения или любой другой способ оценки и/или диагностики злокачественных новообразований и прогрессии опухоли, известный специалистам в данной области техники.

[0069] Например, эффективность описываемых здесь композиций и способов при лечении злокачественных заболеваний крови/расстройств костного мозга может оцениваться с помощью абсолютного числа нейтрофилов (ANC - absolute neutrophil count). В норме ANC составляет между 1500 и 8000 единиц/мм³. Индивиды, страдающие злокачественными заболеваниями крови/расстройствами костного мозга, часто имеют ANC менее 1500/мм³ и даже менее 500/мм³. Эффективные, описываемые здесь, композиции и способы увеличивают ANC у индивидов на 10%, 20%, 30%, 50% или более до 75-90% или 95% или более. Эффективные количества могут увеличивать уровни ANC до значений более 1500/мм³.

[0070] Эффективность описываемых здесь композиций и способов при лечении злокачественных заболеваний крови/расстройств костного мозга дополнительно могут оценивать с помощью, например, подсчета тромбоцитов. В норме количество тромбоцитов составляет между 150000 и 450000 тромбоцитов на микролитр ($\times 10^6$ /л).

Индивиды, страдающие гематологическими новообразованиями/расстройствами костного мозга, могут иметь количество тромбоцитов менее 100000 на микролитр. Эффективные количества описываемых здесь композиций и способов увеличивают количество тромбоцитов у индивидов на 10%, 20%, 30%, 50% или более до 75-90% или 95% или более. Эффективные количества могут увеличивать количество тромбоцитов до концентрации выше 100000 единиц на микролитр.

[0071] Эффективность описываемых здесь композиций и способов при лечении гематологических новообразований/расстройств костного мозга дополнительно может оцениваться, например, путем измерения количества миелобластов. В норме миелобласты составляют менее 5% клеток костного мозга, но должны отсутствовать в циркулирующей крови. Эффективные количества описываемых здесь композиций и способов уменьшают количество миелобластов на 10%, 20%, 30%, 50% или более до 75-90%, 96% или более. Эффективные количества могут уменьшить количество миелобластов до менее 5% от первоначального.

[0072] Эффективность описываемых здесь композиций и способов при лечении гематологических новообразований/расстройств костного мозга дополнительно может оцениваться с путем исследования миелобластов на предмет наличия палочек Ауэра. Эффективные количества композиций по настоящему изобретению уменьшают количество видимых палочек Ауэра на 10%, 20%, 30%, 50% или более до 75-90%, 96% или более до полного исчезновения палочек Ауэра.

[0073] Эффективность композиций и способов по изобретению может быть также продемонстрирована по уменьшению симптомов у субъектов, страдающих неопластическим заболеванием, включая, без ограничения перечисляемым, анемию; хроническую усталость; избыточное или легко вызываемое кровотечение, такое как носовое и подкожное кровотечение, кровотечение десен; легкое образование гематом, в особенности образование гематом без видимой причины; одышку; точечные кровоизлияния; возвратную лихорадку; вспухшие десны; медленное заживление порезов; дискомфорт в костях и суставах; возвратные инфекции; потерю массы тела; зуд; ночную потливость; распухание лимфоузлов; лихорадку; боль и дискомфорт в брюшной полости; нарушения зрения; кашель; потерю аппетита; боль в грудной клетке; затруднения при глотании; опухлость лица, шеи и верхних конечностей; потребность в частом мочеиспускании, в особенности ночью; затруднения в начале мочеиспускания или задержку мочи; слабый и прерывающийся поток мочи; болезненное мочеиспускание или жжение при мочеиспускании; затруднения при наступлении эрекции; болезненную эякуляцию; кровь в моче или семени; частую боль или тугоподвижность в нижней части спины, тазобедренном суставе или верхней части бедер и слабость.

[0074] Для каждого из описанных здесь вышеуказанных состояний испытуемые демонстрируют уменьшение до 10%, 20%, 30%, 50% или более сильное уменьшение до 75-90% или 96% или более в отношении одного или более симптомов, обусловленных или связываемых с цитопатическим заболеванием или родственными заболеваниями или состояниями субъекта, по сравнению с субъектами, получившими плацебо или другими подходящими контрольными субъектами.

[0075] В рамках дополнительных аспектов изобретения предложены составы и способы координированного введения для комбинированного лечения цитопатического заболевания (лечение СПИД, профилактика ВИЧ-инфекции, лечение ВИЧ-инфекции, активация резервуара ВИЧ, увеличение содержания цитокина T_H1 , индукция фосфорилирования ERK, индукция апоптоза, химиотерапевтическое,

противоопухолевое лечение, лечение рака, индукция ремиссии, поддержание ремиссии),
 задействующие эффективное количество сложного эфира форбола Формулы I и
 одного или более дополнительных или вспомогательных агентов, который(е)
 5 включают в комбинированный состав или вводят координированно со сложным
 эфиром форбола Формулы I, получая лечебную комбинированную
 многофункциональную композицию или способ координированного лечения.

[0076] В этом контексте примеры комбинированных составов и способов
 координированного лечения включают сложный эфир форбола Формулы I в
 10 комбинации с одним или более дополнительным анти-СПИД агентом(ами) или с
 одним или более дополнительным(ыми) терапевтическим(ыми) агентом(ами),
 полезным для лечения или профилактики излечиваемого (или связанного)
 заболевания, состояния и/или симптома(ов) в конкретном комбинированном составе
 или при конкретном режиме координированного лечения. Для большинства
 15 комбинированных составов и способов координированного лечения по изобретению
 сложный эфир форбола Формулы I, или родственное соединение, или производное
 соединение включают в один и тот же состав или вводят координированно в
 комбинации с одним или более дополнительным вспомогательным терапевтическим
 20 агентом, получая комбинированный состав или координированный способ лечения,
 комбинаторно эффективный или координационно полезный при лечении ВИЧ/СПИД
 и/или одного или более симптомов оппортунистического или вторичного заболевания
 или состояния субъекта. В этом контексте примеры комбинированных составов и
 координированных способов лечения включают сложный эфир форбола Формулы I в
 25 комбинации с одним или более вторичным или вспомогательным терапевтическим
 агентом, выбранным, например, из ингибиторов протеаз, включая, но не
 ограничиваясь перечисляемым, саквинавир, индинавир, ритонавир, нельфинавир,
 атазанавир, дарунавир, фосампренавир, типранавир и ампренавир; ингибиторы
 30 нуклеозидной обратной транскриптазы, включая, но не ограничиваясь
 перечисляемым, зидовудин, диданозин, ставудин, ламивудин, залцитабин,
 эмтрицитабин, тенофовир диизопроксилфумарат, AVX754 и абакавир; ингибиторы
 ненуклеозидной обратной транскриптазы, включая, но не ограничиваясь
 перечисляемым, неварипин, делавирдин, каланолид А, ТМСI 25 и эфавиренц;
 35 лекарственные средства комбинированного действия, включая, но не ограничиваясь
 перечисляемым, эфавиренц/эмтрицитабин/тенофовир диизопроксилфумарат,
 ламивудин/зидовудин, абакавир/ламивудин, абакавир/ламивудин/зидовудин,
 эмтрицитабин/тенофовир диизопроксилфумарат, сульфаметоксазол/триметоприм и
 40 лопинавир/ритонавир; ингибиторы слияния вируса иммунодефицита человека с
 клетками человека, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, энфувиртид,
 AMD070, BMS-488043, фозивудин тидоксил, GSK-873140, PRO 140, PRO 542, пептид Т,
 SCH-D, TNX-355 и UK-427, 857; лекарственные соединения для лечения
 оппортунистических инфекций и других состояний, связываемых со СПИД и ВИЧ,
 45 включая, но не ограничиваясь перечисляемым, ацикловир, адефовир дипивоксил,
 альдеслейкин, амфотерицин b, азитромицин, гидроксилатапатит кальция,
 кларитромицин, доксорубин, дронабинол, энтекавир, эпоетин альфа, этопозид,
 флуконазол, ганцикловир, иммуноглобулины, интерферон альфа-2, изониазид,
 50 итраконазол, мегестрол, паклитаксель, пегинтерферон альфа-2, пентамидин, поли-1-
 молочную кислоту, рибавирин, рифабутин, рифампин, соматропин, тестостерон,
 триметрексат и валганцикловир; ингибиторы интегразы, включая, но не
 ограничиваясь перечисляемыми, GS 9137, МК-0518; микробициды, включая, но не

ограничиваясь перечисляемыми, BMS-378806, C31G, карбопол 974P, каррагинан, сульфат целлюлозы, циановирин-N, сульфат декстрана, гидроксипропилцеллюлозу, PRO 2000, SPL7013, тенофовир, UC-781 и IL-2.

[0077] В дополнительных примерах комбинированных составов и способов координированного лечения можно в выбранном комбинированном составе или координированном режиме лечения дополнительно задействовать сложный эфир форбола Формулы I в комбинации с одним или более дополнительным противоопухолевым агентом(ами) или с одним или более вспомогательным агентом(ами), полезным(ыми) для лечения или профилактики заболевания, на которое направлено лечение, или сопутствующего заболевания, состояния и/или симптома(ов). В большинстве комбинированных составов и при координированных способах лечения по изобретению сложный эфир форбола Формулы I, или родственное, или производное соединение вводят в состав или вводят координированно в комбинации с одним или более дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом(ами), чтобы создать комбинированный состав или координированный способ лечения, комбинаторно эффективный или координационно полезный в лечении неопластических заболеваний и одного или более симптома(ов) вторичного заболевания или состояния у субъекта. В этом контексте примеры комбинированных составов и координированных способов лечения задействуют сложный эфир форбола Формулы I в комбинации с одним или более дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом, который выбран, например, из химиотерапевтических агентов, противовоспалительных агентов, доксорубицина, витамина D3, цитарабина, цитозинарабинозида, даунорубицина, циклофосфамида, гемтузумаба озогамицина, идарубицина, меркаптопурина, митоксантрона, тиогуанина, альдеслейкина, аспарагиназы, карбоплатина, этопозид фосфата, флударабина, метотрексата, этопозид, дексаметазон и холинтрисалицилата магния. В дополнение может применяться адъювантная и вторичная терапии, такие как, не ограничиваясь перечисляемыми, лечение радиацией, гормонотерапия и хирургия.

[0078] В определенных воплощениях изобретения предлагаются комбинированные составы для лечения цитопатического заболевания (лечение СПИД, профилактика ВИЧ-инфекции, лечение ВИЧ-инфекции, активирование резервуара ВИЧ, увеличение содержания цитокина T_H1 , индукция фосфорилирования ERK, индукция апоптоза, химиотерапевтическое, противоопухолевое лечение, лечение рака, индукция ремиссии, поддержание ремиссии), содержащие сложный эфир форбола и один или более дополнительный агент, обладающий активностью при лечении цитопатического заболевания. В рамках таких комбинированных составов сложный эфир форбола Формулы I и дополнительный агент(ы), обладающие активностью при лечении цитопатического заболевания (лечение СПИД, профилактика ВИЧ-инфекции, лечение ВИЧ-инфекции, активирование резервуара ВИЧ, увеличение содержания цитокина T_H1 , индукция фосфорилирования ERK, индукция апоптоза, химиотерапевтическое, противоопухолевое лечение, лечение рака, индукция ремиссии, поддержание ремиссии), сами по себе или в комбинации должны присутствовать в эффективных количествах в комбинированном составе для лечения цитопатического заболевания. В примерах воплощений настоящего изобретения сложный эфир форбола Формулы I и агент(ы), не являющийся сложным эфиром форбола, каждый должны присутствовать в количестве, эффективном против цитопатического заболевания (то есть в единичной дозировке, которая, будучи введена одна, вызывает определяемое облегчение симптомов у субъекта). В противоположность, комбинированный состав может

включать один или более сложный эфир форбола Формулы I и агенты, не являющиеся сложным эфиром форбола, в субтерапевтических дозах. В этом случае комбинированный состав обладает свойствами обоих агентов, которые образуют эффективное сочетание, вызывающее ответ на лечение, смягчающий симптом цитопатического заболевания или состояния. Так, одно из веществ - сложный эфир форбола Формулы I и агент, не являющийся сложным эфиром форбола, или оба этих вещества могут присутствовать в составе или вводиться по протоколу координированного введения в субтерапевтической дозе, но совместно в композиции или согласно способу они обуславливают заметное уменьшение симптомов цитопатического заболевания у субъекта. Например, в некоторых воплощениях комбинированная композиция из числа других комбинаций может включать одно или более соединение согласно высокоактивному антиретровирусному терапевтическому протоколу (протоколы HAART) в сочетании со сложным эфиром форбола. Другие комбинированные составы могут включать, например, сложный эфир форбола и/или соединения, эффективные при лечении оппортунистических инфекций, сопутствующих СПИД, а также соединения из протокола HAART. В других воплощениях комбинированный состав может включать дополнительные химиотерапевтические агенты.

[0079] При осуществлении на практике координированных способов введения по изобретению сложный эфир форбола Формулы I могут вводить одновременно или последовательно по протоколу координированного лечения с одним или более вторичным или дополнительным терапевтическим агентом из числа рассматриваемых здесь. Так, в конкретных воплощениях соединение вводят координированно с агентом, не являющимся сложным эфиром форбола или любым другим из рассматриваемых здесь дополнительных или вспомогательных терапевтических агентов, применяя отдельные составы или комбинированный состав, как описано выше (то есть содержащий как сложный эфир форбола Формулы I, или родственное, или производное соединение, так и терапевтический агент, не являющийся сложным эфиром форбола). Такое координированное введение могут осуществлять в любом порядке, одновременно или последовательно, и может иметь место период времени, когда только одно или оба (или все) активных терапевтических агента сами по себе и/или коллективно оказывают свое биологическое действие.

[0080] В одном воплощении такие способы координированного лечения могут, например, следовать или частично следовать различным протоколам высокоактивной антиретровирусной терапии (протоколам HAART) и включать режимы, такие как, не ограничиваясь перечисляемыми: два ингибитора обратной транскриптазы, представляющие собой аналоги нуклеозидов, плюс один или более ингибитор протеазы или ингибитор обратной транскриптазы, не являющийся аналогом нуклеозида, вместе со сложным эфиром форбола Формулы I, а также другие комбинации. Другие способы координированного лечения могут, например, включать сложный эфир форбола и/или средства лечения оппортунистических инфекций, а также соединения по протоколам HAART. Отличительный аспект всех таких способов координированного лечения состоит в том, что сложный эфир форбола Формулы I проявляет по меньшей мере некоторую активность, обуславливающую благоприятный клинический ответ в сочетании с сопутствующим ослаблением симптомов СПИД или явным клиническим ответом, обуславливаемым дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом. Часто координированное введение сложного эфира форбола Формулы I с дополнительным

или вспомогательным терапевтическим агентом обуславливает у субъекта улучшенный терапевтический или профилактический ответ, больший, чем терапевтический эффект, вызываемый сложным эфиром форбола Формулы I или дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом при введении поодиночке. Такая оценка включает как прямые эффекты, так и косвенные эффекты.

[0081] В рамках примеров воплощений сложный эфир форбола Формулы I вводят координированно (одновременно или последовательно в комбинированных или отдельных композициях) с одним или более дополнительным агентом для лечения ВИЧ-инфекции или другими показанными к применению или дополнительными терапевтическими агентами, например, выбранными из ингибиторов протеаз, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, саквинавир, индинавир, ритонавир, нельфинавир, атазанавир, дарунавир, фосампренавир, типранавир и ампренавир; ингибиторы нуклеозидной обратной транскриптазы, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, зидовудин, диданозин, ставудин, ламивудин, залцитабин, эмтрицитабин, тенофовир диизопроксилфумарат, AVX754 и абакавир; ингибиторы ненуклеозидной обратной транскриптазы, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, неварипин, делавирдин, каланолид А, TMC125 и эфавиренц; лекарственные препараты комбинированного действия, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, эфавиренц/эмтрицитабин/тенофовир диизопроксилфумарат, ламивудин/зидовудин, абакавир/ламивудин, абакавир/ламивудин/зидовудин, эмтрицитабин/тенофовир диизопроксилфумарат, сульфаметоксазол/триметоприм и лопинавир/ритонавир; ингибиторы слияния вируса иммунодефицита человека с клетками человека, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, энфувиртид, AMD070, BMS-488043, фозивудин тидоксил, GSK-873140, PRO 140, PRO 542, пептид T, SCH-D, TNX-355 и UK-427857; лекарственные соединения для лечения оппортунистических инфекций и других состояний, связываемых с СПИД и ВИЧ, включая, но не ограничиваясь перечисляемым, ацикловир, адефовир дипивоксил, альдеслейкин, амфотерицин b, азитромицин, гидроксипатит кальция, кларитромицин, доксорубин, дронабинол, энтекавир, эпоетин альфа, этопозид, флуконазол, ганцикловир, иммуноглобулины, интерферон альфа-2, изониазид, итраконазол, мегестрол, паклитаксель, пегинтерферон альфа-2, пентамидин, поли-1-молочную кислоту, рибавирин, рифабутин, рифампин, соматропин, тестостерон, триметрексат и валганцикловир; ингибиторы интегразы, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, GS 9137, MK-0518; микробициды, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, BMS-378806, C31G, карбопол 974P, каррагинан, сульфат целлюлозы, циановирин-N, сульфат декстрана, гидроксипропилцеллюлозу, PRO 2000, SPL7013, тенофовир, UC-781 и IL-2.

[0082] В другом воплощении такие координированные способы лечения могут, например, следовать различным химиотерапевтическим протоколам или создаваться на основе различных химиотерапевтических протоколов. Другие координированные способы лечения могут, например, включать сложный эфир форбола и/или другие соединения для лечения симптомов неопластических заболеваний. Отличительный аспект всех таких координированных способов лечения состоит в том, что сложный эфир соединения Формулы I проявляет по меньшей мере некоторую активность, вызывающую благоприятный клинический ответ в сочетании с сопутствующим ослаблением симптомов неопластического заболевания или явным клиническим ответом, обуславливаемым дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом. Часто координированное введение соединения сложного эфира форбола

Формулы I с дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом обуславливает у субъекта улучшенный терапевтический или профилактический ответ, больший, чем терапевтический эффект, вызываемый сложным эфиром форбола

5 Формулы I или дополнительным или вспомогательным терапевтическим агентом при введении поодиночке. Такая оценка включает как прямые эффекты, так и косвенные эффекты.

[0083] В рамках примеров конкретных воплощений сложный эфир форбола Формулы I вводят координированно (одновременно или последовательно в

10 комбинированных или раздельных составах), с одним или более дополнительным или вспомогательным противораковым агентом или другими показанными для лечения или дополнительными терапевтическими агентами, например доксорубицином, витамином D3, цитарабином, цитозинарабинозидом, даунорубицином,

15 циклофосфамидом, гемтузумабом озогамицином, идарубицином, меркаптопурином, митоксантроном, тиогуанином, альдеслейкином, аспарагиназой, карбоплатином, этопозидом фосфатом, флударабином, метотрексатом, этопозидом, дексаметазоном и холинтрисалицилатом магния.

[0084] Как было отмечено выше, во всех рассматриваемых здесь различных

20 воплощениях изобретения в способах лечения цитопатических заболеваний и композициях могут применять сложный эфир форбола Формулы I в любой из возможных форм, включая любое из таких веществ, как фармацевтически приемлемые для субъекта соли, сольваты, изомеры, энантиомеры, полиморфные формы, сольваты, гидраты и/или пролекарства или смеси таких веществ. В примерах воплощений

25 изобретения в терапевтических композициях и способах для иллюстрации применяют ТРА.

[0085] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить любым способом, обеспечивающим достижение желаемой терапевтической или

30 профилактической цели. Пригодные способы введения композиций по изобретению включают, не ограничиваясь перечисляемыми, традиционные пути доставки, устройства и способы, включая инъекционные способы, такие как, не ограничиваясь перечисляемыми, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный,

35 интраспинальный, интратекальный, интрацеребровентрикулярный, внутриартериальный, подкожный и интраназальный пути введения.

[0086] Композиции по настоящему изобретению могут дополнительно включать фармацевтически приемлемый носитель, соответствующий конкретному

40 применяемому способу введения. Лекарственные формы композиций по настоящему изобретению включают эксципиенты, считающиеся в области создания лекарственных форм пригодными для приготовления обсуждавшихся выше стандартных лекарственных форм. Такие эксципиенты включают, не ограничиваясь

45 перечисляемыми, связующие, наполнители, лубриканты, эмульгаторы, суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы, консерванты, буферные растворы, смачивающие агенты, размельчители, шипучие агенты и другие традиционные эксципиенты и добавки.

[0087] При желании соединения по изобретению можно вводить в форме с контролируемым высвобождением, применяя носитель с замедленным

50 высвобождением, такой как гидрофильный полимер замедленного высвобождения. В этом контексте примеры агентов с контролируемым высвобождением включают, не ограничиваясь перечисляемым, гидроксипропилметилцеллюлозу, имеющую вязкость в диапазоне от около 100 сП (сантипуаз) до около 100000 сП или другие

биосовместимые матрицы, такие как холестерин.

[0088] Некоторые композиции, включающие сложный эфир форбола Формулы I по изобретению, предназначены для парентерального введения, например для внутривенного, внутримышечного, подкожного или внутрибрюшинного введения, включая водные и неводные стерильные инъекционные растворы, которые, как и многие другие рассматриваемые композиции по изобретению, могут дополнительно содержать антиоксиданты, буферные растворы, бактериостатические факторы и/или растворенные вещества, которые придают композиции изотоничность по отношению к крови субъекта млекопитающего, и водные и неводные стерильные суспензии, возможно содержащие суспендирующие агенты и/или загустители. Композиции могут поставляться в контейнерах для стандартных доз или многодозовых контейнерах. Дополнительно композиции и рецептуры по изобретению могут также включать полимеры для пролонгированного высвобождения после парентерального введения. Препараты для парентерального введения могут представлять собой растворы, дисперсии или эмульсии, пригодные для такого введения. Рассматриваемые агенты также могут вводиться в композицию вместе с полимерами для пролонгированного высвобождения после парентерального введения. Фармацевтически приемлемые композиции и ингредиенты, как правило, являются стерильными или легко стерилизуемыми, биологически инертными и вводятся без затруднений. Такие полимерные материалы хорошо известны рядовым специалистам в области фармации. Препараты для парентерального введения типично содержат агенты для буферных растворов и консерванты и фармацевтически и физиологически приемлемые инъекционные жидкости, такие как вода, физиологический раствор, сбалансированные солевые растворы, водную декстрозу, глицерин и тому подобное. Экстремпоральные инъекционные растворы, эмульсии и суспензии могут быть приготовлены из стерильных порошков и суспензий и таблеток, таких как было описано ранее. Предпочтительными составами для стандартных лекарственных форм являются композиции, содержащие суточную дозу, долю суточной дозы, как здесь описано выше, или соответствующую фракцию суточной дозы или доли суточной дозы активного ингредиента(ов).

[0089] В более конкретных воплощениях композиции по изобретению могут содержать сложный эфир форбола Формулы I, инкапсулированный для доставки в микрокапсулах, микрочастицах или микросферах, приготовленных, например, техникой коацервации или межфазной полимеризации, например гидроксиметилцеллюлозные или желатиновые микрокапсулы и поли(метилметакрилатные)микрокапсулы соответственно; в коллоидных системах доставки лекарственных препаратов (например, в липосомах, альбуминовых микросферах, микроэмульсиях, наночастицах и нанокапсулах); или в составе макроэмульсий.

[0090] Как было отмечено выше, в определенных воплощениях способов и композиций по изобретению могут использовать фармацевтически приемлемые соли, например кислотно-аддитивные соли или основные соли вышеописанных сложных эфиров форбола Формулы I и/или родственных или производных соединений. Примеры фармацевтически приемлемых аддитивных солей включают неорганические и органические кислотно-аддитивные соли. Подходящие кислотно-аддитивные соли образуются из кислот, образующих нетоксичные соли, например такие соли, как: гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, гидросульфат, нитрат, фосфат и гидрофосфат. Дополнительно фармацевтически приемлемые соли включают, не

ограничиваясь перечисляемым, соли металлов, такие как натриевые соли, калиевые соли, цезиевые соли и тому подобное; соли щелочноземельных металлов, такие как кальциевые соли, магниевые соли и тому подобное; соли органических аминов, такие как соли триэтиламина, соли пиридина, соли пиколина, соли этаноламина, соли триэтаноламина, соли дициклогексиламина, соли N_2N' -дибензилэтилендиамин и тому подобное; соли органических кислот, такие как ацетаты, цитраты, лактаты, сукцинаты, тартраты, малеаты, фумараты, манделаты, ацетаты, дихлорацетаты, трифторацетаты, оксалаты и формиаты; сульфонаты, такие как метансульфонаты, бензолсульфонаты и пара-толуолсульфонаты и соли аминокислот, такие как аргинаты, аспарагинаты, глутаматы, тартраты и глюконаты. Подходящие основные соли получают из оснований, образующих нетоксичные соли, например соли алюминия, кальция, лития, магния, калия, цинка и диэтаноламина.

[0091] В других конкретных воплощениях способов и композиций по изобретению задействуют пролекарства сложных эфиров форбола Формулы I. Считается, что пролекарствами являются любые ковалентно связанные носители, высвобождающие активное материнское соединение *in vivo*. Примерами пролекарств, полезных в рамках изобретения, являются сложные эфиры или амиды с гидроксильными или аминоалькильными группами в качестве заместителя и соединения, которые можно приготовить путем реакции вышеописанных соединений с ангидридами, такими как ангидрид янтарной кислоты.

[0092] Следует также понимать, что описываемое здесь изобретение охватывает способы и композиции, содержащие сложные эфиры форбола Формулы I, где используются продукты метаболизма *in vivo* указанных соединений (либо образующиеся *in vivo* после введения субъекту соединения предшественника, либо прямо вводимые в форме самого метаболического продукта). Такие продукты могут, например, образовываться в результате окисления, восстановления, гидролиза, амидирования, этерификации и т.д. вводимого соединения, прежде всего в результате ферментативных процессов. Соответственно, изобретение включает способы и композиции по изобретению, где задействованы соединения, получаемые способом, подразумевающим контакт сложного эфира форбола Формулы I с субъектом млекопитающего, достаточный для образования из него метаболического продукта. Такие продукты, как правило, идентифицируют путем приготовления соединения по изобретению, меченого радионуклидом, его парентерального введения в определенной дозе животному, такому как крыса, мышь, морская свинка, обезьяна или человек, и инкубирования животного в течение времени, достаточного для протекания метаболизма и выделения продуктов конверсии из мочи, крови и других биологических образцов.

[0093] Следует также понимать, что раскрытое здесь изобретение охватывает диагностические композиции для определения уровня риска, наличия, тяжести или показаний к лечению или для иных мероприятий по ведению больных с цитопатическими заболеваниями, включая, но не ограничиваясь перечисляемыми, неопластические заболевания, включая злокачественные неопластические заболевания, такие как лейкоз и СПИД или родственное заболевание или состояние субъекта млекопитающего, включающие контакт сложного эфира форбола Формулы I, меченого таким образом, чтобы позволить детектирование меченого соединения традиционными способами (например, меченого изотопами, меченого флуоресцентными метками или меченого иным способом) с млекопитающим (например, с клеткой, тканью, органом или индивидом), имеющим риск или наличие

одного или более симптомов рака и/или СПИД, и в заключение детектирование наличия, локализации, метаболизма и/или связанного состояния (например, детектирование связывания с немеченым партнером по связыванию, вовлеченным в физиологию/метаболизм ВИЧ рецептора или физиологию/метаболизм рецептора злокачественной клетки) меченого соединения, с применением любого из широкого набора известных способов исследования и способов мечения/детектирования. В примерах конкретных воплощений сложный эфир форбола Формулы I является меченым изотопами, то есть один или более атомов замещен атомом, имеющим иную атомную массу или массовое число. Примеры изотопов, которые могут быть включены в рассматриваемые соединения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F и ^{36}Cl соответственно. Меченное изотопами соединение затем вводят индивиду или другому объекту и впоследствии детектируют, как описано выше, получая с помощью традиционных способов полезную диагностическую информацию и/или информацию, относящуюся к лечебным мероприятиям.

Примеры

[0094] Нижеописанные эксперименты демонстрируют новые и высокоэффективные применения сложных эфиров форбола и производных соединений в качестве лекарственных средств для лечения ВИЧ-инфекции, эффективно ослабляющие симптомы СПИД. В примерах клинических испытаний индивиды, не чувствительные к традиционным способам лечения ВИЧ-инфекции и СПИД, оказались чувствительными к лечению с применением ТРА. Лечение ТРА было допущено как "благотворительно-испытательное", и лечащие врачи считали выздоровление некоторых пациентов спасением жизни. Нижеописанные эксперименты дополнительно демонстрируют полезность сложных эфиров форбола и производных соединений в лечении неопластических заболеваний. Эти и дополнительные данные дополнительно подробно излагаются и разъясняются в следующих примерах.

Пример I

Влияние ТРА на периферические лейкоциты (WBC - white blood cells) и гемоглобин (Hb - Hemoglobin) у мышей с инъецированными клетками S 180

[0095] Клетки саркомы 180 (S 180) вводили путем инъекции мышам Kwen-Ming. На третьи сутки мышам вводили ТРА внутрибрюшинно (i.p.) по 50, 100 или 200 мкг/кг/сутки в течение 7 суток. На вторые сутки после завершения лечения с целью анализа на содержание WBC и Hb из хвостов обработанных мышей брали пробы крови. Концентрации WBC в обработанных ТРА группах (50, 100 или 200 мкг/кг/сутки в течение 7 суток) составили $16,1 \pm 7,4$, $18,7 \pm 3,0$ и $20,7 \pm 3,4 \times 10^9$ /л соответственно; в контрольной группе концентрация WBC составила $13,6 \pm 1,8 \times 10^9$ /л. Концентрация Hb в обработанных группах составила 136 ± 11 , 149 ± 12 и 149 ± 10 г/л, в контрольной группе концентрация Hb составила 134 ± 15 г/л. Результаты показали, что i.p. инъекция ТРА в зависимости от дозы может увеличивать концентрацию WBC в периферической крови, в то время как ТРА не влияет заметно на уровни Hb по сравнению с контрольными мышами.

Пример II

Выбор диапазона доз

[0096] Из-за сильного местного раздражения при введении ТРА ТРА вводили пациентам путем внутривенной инфузии (i.v.). Раствор ТРА в стерильном шприце впрыскивали в 200 мл стерильного физиологического раствора и перед i.v. инфузией перемешивали.

[0097] Токсичность и побочные эффекты от различных доз ТРА, вводимых клинически:

[0098] (1) ТРА вводят в дозе 1 мг/пациент/неделя.

5 [0099] Один мг раствора ТРА тщательно перемешивали с 200 мл стерильного физиологического раствора для внутривенной инфузии, которую проводили в течение 1 ч со скоростью 16 мкг/мин. Через час после введения ТРА у пациентов начался озноб, который длился в течение 30 мин, с последующей лихорадкой (температура пациентов достигала 37,5-39,5°C, удерживалась в течение 3-5 ч, затем
10 возвращалась до нормальной) и потливостью от слабой до сильной. Вышеупомянутые симптомы смягчались, когда пациентам вводили глюкокортикоиды. При этой дозе ТРА у меньшей части пациентов обнаружилось кровотечение, некоторые пациенты в течение короткого периода времени страдали затруднением дыхания, и в моче обнаруживался Нб. Однако эти побочные эффекты были кратковременными и
15 обратимыми. Функционирование сердца, печени, почек и легких, как было обнаружено, было нормальным.

[00100] (2) ТРА вводят в дозе 0,5 мг/пациент×2/неделя (две дозы в неделю).

[00101] 0,5 мг раствора ТРА в растворе тщательно перемешивали с 200 мл солевого
20 раствора для внутривенной инфузии, которую проводили в течение 1 ч со скоростью 8 мкг/мин. Симптомы после введения были похожи на те, что возникали при дозе ТРА 1 мкг, но проявлялись в меньшей степени, чем при дозе 1 мг. Пациенты легче переносили меньшую дозу. Эпизодически в моче пациентов обнаруживали Нб. Затруднения в дыхании не наблюдалось. Функционирование сердца, печени, почек и
25 легких было нормальным.

[00102] (3) ТРА вводят в дозе 0,25 мг/пациент×4/неделя.

[00103] 0,25 мг раствора ТРА тщательно перемешивали с 200 мл солевого раствора для внутривенной инфузии, которую проводили в течение 1 ч со скоростью 4 мкг/мин.
30 После введения также наблюдались такие симптомы, как озноб и лихорадка, но проявлялись они в намного меньшей степени, чем при более высоких дозах. В моче Нб не обнаруживался, и никто из пациентов не страдал затруднениями дыхания. Функционирование сердца, печени, почек и легких было нормальным.

Пример III

35 Первое клиническое исследование ВИЧ-положительных пациентов, получавших ТРА

[00104] Двенадцать имеющих симптомы пациентов (пять мужчин и семь женщин) в возрасте 35-52 лет, все инфицированные ВИЧ в 1995 при трансфузии крови и
40 рефракторные к стандартным способам лечения, получали ТРА. Каждому пациенту вводили ТРА i.v. в дозах, скорректированных в соответствии с массой тела (75 мкг/м²) в 200 мл стерильного физиологического раствора в течение одного часа. Эту дозу вводили ежедневно в течение первых трех суток лечения. Каждый пациент затем получал эту дозу через день на 4-е - 18-е сутки с момента начала лечения с
45 последующим периодом отдыха в течение 6 месяцев, за чем следовал второй курс лечения по тому же протоколу.

[00105] Образцы крови отбирали перед введением первой дозы ТРА и на 4-е - 40-е
50 сутки от начала лечебного цикла. Уровни CD3, CD4 и CD8 в периферической крови измеряли с помощью моноклональных антител (Becton Dickson Scientific Co., Franklin Lakes, NJ) и проточного цитометра (B. D. Bioscience, San Diego, CA).

[00106] Как видно из Таблицы 1, не было обнаружено единообразного изменения или корреляции уровней CD3, CD4 или CD8.

ТАБЛИЦА 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ТЕСТОВ CD4, CD8 CD3 У ДВЕНАДЦАТИ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ

	Пациент №	Время теста	CD4	CD8	CD3
5	01-1	Перед ТРА	3	196	34
	01-2	4 сут после ТРА	3	180	299
	01-3	42 сут после ТРА	2	111	203
10	02-1	Перед ТРА	26	614	687
	02-2	4 сут после ТРА	105	Менее 2000	2616
	02-3	42 сут после ТРА	54	700	799
	03-1	Перед ТРА	32	524	543
15	03-2	4 сут после ТРА	36	366	427
	03-3	42 сут после ТРА	33	374	424
	04-1	Перед ТРА	173	735	975
20	04-2	4 сут после ТРА	123	770	941
	04-3	42 сут после ТРА	44	493	581
	05-1	Перед ТРА	106	1556	1646
	05-2	4 сут после ТРА	119	1330	1282
25	05-3	42 сут после ТРА	191	1429	1643
	06-1	Перед ТРА	232	865	1221
	06-2	4 сут после ТРА	179	570	808
	06-3	42 сут после ТРА	49	429	537
30	07-1	Перед ТРА	10	988	1022
	07-2	4 сут после ТРА	7	570	598
	07-3	42 сут после ТРА	1	139	146
35	08-1	Перед ТРА	524	725	1332
	08-2	4 сут после ТРА	318	355	739
	08-3	42 сут после ТРА	241	527	858
	09-1	Перед ТРА	442	1021	1479
40	09-2	После ТРА	663	Менее 2000	2920
	10-1	Перед ТРА	407	328	778
	10-2	После ТРА	445	591	1077
45	11-1	Перед ТРА	40	322	373
	11-2	После ТРА	131	724	874
	12-1	Перед ТРА	84	256	375
	12-2	После ТРА	78	268	362

50 [00107] Как видно из Таблицы 2, приведенной ниже, у пяти пациентов, демонстрировавших увеличение количества ВИЧ, были схожие противоречивые результаты в отношении изменения вирусной нагрузки, в то время как у семи других не было изменения или уменьшения.

ТАБЛИЦА 2
КОНЦЕНТРАЦИЯ ВИЧ В КРОВИ 12 ПАЦИЕНТОВ ДО, ВО ВРЕМЯ И ПОСЛЕ
ЛЕЧЕНИЯ ТРА

5	Пациент №	Время теста	Результаты	Значение	Примечание
			(копии/мл)	логарифма	
	01-1	3 сут до ТРА	$3,36 \times 10^5$	5,526	
10	01-2	4 сут после начала ТРА	$1,41 \times 10^4$	6,151	
	01-3	15 сут после начала ТРА	$2,02 \times 10^4$	4,306	
15	01-4	25 сут после начала ТРА	$2,60 \times 10^4$	4,416	
	02-1	3 сут до ТРА	$9,97 \times 10^4$	4,999	
20	02-2	4 сут после начала ТРА	$7,92 \times 10^6$	6,899	
	02-3	15 сут после начала ТРА	$6,33 \times 10^6$	6,801	
25	02-4	25 сут после начала ТРА	$8,72 \times 10^6$	6,941	
	03-1	3 сут до ТРА	$3,77 \times 10^6$	5,577	
30	03-2	4 сут после начала ТРА	$8,13 \times 10^4$	4,910	
	03-3	15 сут после начала ТРА	$6,11 \times 10^3$	3,786	
35	03-4	25 сут после начала ТРА	$8,59 \times 10^5$	5,934	
	04-1	3 сут до ТРА	$1,11 \times 10^6$	6,045	
40	04-2	4 сут после начала ТРА	$1,75 \times 10^7$	7,243	
	04-3	15 сут после	$1,11 \times 10^5$	6,614	

45

50

		начала ТРА			
	04-4	25 сут после	$1,41 \times 10^4$	4,084	
		начала ТРА			
5	05-1	3 сут до ТРА	$2,49 \times 10^4$	6,637	
	05-2	4 сут после	$9,42 \times 10^5$	5,974	
		начала ТРА			
10	05-3	15 сут после	$2,34 \times 10^7$	7,369	
		начала ТРА			
	05-4	25 сут после	$5,56 \times 10^6$	6,745	
		начала ТРА			
15	06-1	3 сут до ТРА	$4,57 \times 10^5$	5,660	
	06-2	4 сут после	$1,44 \times 10^4$	4,160	
		начала ТРА			
20	06-3	15 сут после	$1,88 \times 10^5$	5,274	
		начала ТРА			
	06-4	7 сут после	$2,28 \times 10^6$	6,357	
		начала ТРА			
25	07-1	3 сут до ТРА	$2,4 \times 10^5$	5,623	
	07-2	4 сут после	$1,51 \times 10^5$	5,179	
		начала ТРА			
30	07-3	15 сут в течение ТРА	$9,74 \times 10^4$	4,988	
	07-4	25 сут после	$5,30 \times 10^3$	3,724	
		начала ТРА			
35	08-1	3 сут до ТРА	$8,02 \times 10^5$	5,904	
	08-2	4 сут после	$9,09 \times 10^5$	5,959	
		начала ТРА			
40	08-3	15 сут после	$5,46 \times 10^6$	6,737	
		начала ТРА			
	08-4	25 сут после	$7,77 \times 10^8$	6,890	
		начала ТРА			
45	09-1	3 сут до ТРА	Не определимо		
	09-2	25 сут после	Не определимо		
		начала ТРА			
	10-1	3 сут до ТРА	$1,51 \times 10^4$	4,180	Образец взят
50	10-2	25 сут после	$2,79 \times 10^4$	4,446	во время

		начала ТРА			второго цикла лечения
	11-1	3 сут до ТРА	$1,59 \times 10^5$	5,201	Образец взят
5	11-2	25 сут после начала ТРА	$1,25 \times 10^5$	5,096	во время второго цикла лечения
10	12-1	3 сут до ТРА	$1,32 \times 10^4$	4,122	Образец взят
	12-2	25 сут после начала ТРА	$6,27 \times 10^3$	3,798	во время второго цикла лечения

15 [00108] Несмотря на отсутствие корреляции между уровнями вируса и уровнями CD3, CD4 и CD9 у одиннадцати пациентов при лечении отмечено значительное улучшение.

[00109] У восьми пациентов исчезли симптомы, а у пяти из них наступила ремиссия длительностью от 6 до 12 месяцев. Еще у трех пациентов наступило ослабление
20 симптомов.

Пример IV

Второе клиническое исследование у ВИЧ-положительных пациентов, получавших ТРА

25 [00109] Девять пациентов из Примера III получили второй курс лечения ТРА. Из этих девяти семь в начале второго испытания не проявляли симптомов. В исследование был добавлен десятый пациент (пациент №2а), имевший симптомы и ранее не получавший ТРА. Каждому пациенту вводили ТРА i.v. в дозах,
30 скорректированных относительно массы тела (75 мкг/м^2) в 200 мл стерильного физиологического раствора в течение одного часа. Эту дозу вводили ежедневно в течение десяти суток с последующим периодом отдыха в течение десяти суток, всего три цикла лечения, в итоге - 30 доз ТРА. Пациенты 5а, 6а и 8а переставали получать лекарственные средства против СПИД за месяц до начала лечения ТРА и начинали
35 получать вновь через один месяц после третьего цикла. Пациенты 1-4а, 7а и 9а-10а продолжали получать лекарственные средства против СПИД в течение всего курса лечения.

[00110] Пробы крови отбирали за три дня до начала лечения, после завершения
40 первого десятидневного цикла инфузии ТРА и затем вновь после последней инфузии ТРА и измеряли уровни CD3, CD4, CD8, лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов.

[00111] Как показано в Таблице 3, у всех пациентов наблюдалось увеличение CD3 после первой и третьей инфузии ТРА, причем наивысший уровень за исключением
45 двух пациентов (5а и 10а) наблюдался после первого цикла. Имелась тенденция увеличения уровней CD8 и CD4. Данные результаты позволяют предполагать укрепление иммунной системы при лечении ТРА. Разные результаты были получены при подсчете единиц ВИЧ (Таблица 4). У некоторых пациентов измерение количества единиц ВИЧ показало их отсутствие в пределах нижнего предела определения
50 согласно используемому способу (менее 200), хотя у других оно немного увеличилось. При измерении лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов наблюдался нормальный разброс данных (Таблица 5).

ТАБЛИЦА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ CD4, CD8, CD3 У 10 ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ

	Пациент №	Время теста	CD4	CD8	CD3
5	01-1	До ТРА	5	576	1071
	01-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	7	907	1323
	01-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	19	1129	2037
10	02а-1	До ТРА	26	307	339
	02а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	76	335	476
	02а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	137	543	625
	03а-1	До ТРА	295	571	870
15	03а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	460	729	1200
	03а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	1002	980	2033
	04а-1	До ТРА	152	672	896
20	04а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	189	584	823
	04а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	205	916	1193
	05а-1	До ТРА	92	1097	1175
	05а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	91	1507	1598
25	05а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	94	1127	1257
	06а-1	До ТРА	230	378	669
	06а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	285	429	758
	06а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	176	466	938
30	07а-1	До ТРА	567	1736	2258
	07а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	729	Более 2000	3148
35	07а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	786	Более 2000	3347
	08а-1	До ТРА	361	569	1023
	08а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	519	547	1143
40	08а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	495	733	1295
	09а-1	До ТРА	101	533	672
	09а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	136	574	712
	09а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	100	1221	1317
45	10а-1	До ТРА	49	178	240
	10а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	74	261	333
	10а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	63	208	388

50

ТАБЛИЦА 4

ПОДСЧЁТ ЕДИНИЦ ВИЧ В КРОВИ У ДЕСЯТИ ПАЦИЕНТОВ ДО НАЧАЛА, ВО
ВРЕМЯ И ПО ЗАВЕРШЕНИИ ТРЁХ ДЕСЯТИДНЕВНЫХ ЦИКЛОВ ИНФУЗИИ

ТРА

Пациент №	Время теста	Результаты (копии/мл)	Значение логарифма
01-1	3 сут. до ТРА	$4,57 \times 10^6$	6,660
01-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	$2,99 \times 10^5$	5,475
01-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$9,41 \times 10^5$	5,973
02a-1	3 сут. до ТРА	$2,71 \times 10^5$	5,433
02a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	$3,09 \times 10^5$	5,490
02a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$9,24 \times 10^5$	5,966
03a-1	3 сут. до ТРА	неопределимо	-
03a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	Ниже 500	2,371
03a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$9,55 \times 10^3$	3,980
04a-1	3 сут. до ТРА	Ниже 500	2,312
04a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
04a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$2,38 \times 10^3$	3,376
05a-1	3 сут. до ТРА	неопределимо	-
05a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
05a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
06a-1	3 сут. до ТРА	неопределимо	-
06a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
06a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
07a-1	3 сут. до ТРА	неопределимо	-
07a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
07a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	неопределимо	-
08a-1	3 сут. до ТРА	$1,13 \times 10^4$	4,054
08a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	$6,68 \times 10^4$	4,825
08a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$6,20 \times 10^4$	4,792
09a-1	3 сут. до ТРА	$1,38 \times 10^5$	5,139
09a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	$1,65 \times 10^5$	5,217
09a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$2,35 \times 10^5$	5,371
10a-1	3 сут. до ТРА	$7,20 \times 10^5$	5,857
10a-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	$2,82 \times 10^5$	5,450
10a-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	$1,86 \times 10^5$	5,270

ТАБЛИЦА 5

**РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ДЕСЯТИ
ПАЦИЕНТОВ ДО И ПОСЛЕ ТРЁХ ДЕСЯТИДНЕВНЫХ ЦИКЛОВ ЛЕЧЕНИЯ ТРА**

5	Пациент	Время анализа	WBC	RBC	HGB	Тромбоциты
	№		($\times 10^9/\text{л}$)	($\times 10^{12}/\text{л}$)	(г/л)	($\times 10^9/\text{л}$)
	01-1	До ТРА	2,3	2,55	92	199
10	01-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	4,4	2,61	99	325
	01-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	6,1	2,91	102	182
	02а-1	До ТРА	5,7	2,44	114	226
	02а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	3,7	2,14	88	238
15	02а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	11,1	2,52	100	124
	03а-1	До ТРА	7,8	4,04	147	309
	03а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	9,8	3,83	1,38	338
20	03а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	13,6	4,54	140	549
	04а-1	До ТРА	3,9	3,34	127	232
	04а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	3,6	2,92	107	306
	04а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	9,2	2,85	105	105
25	05а-1	До ТРА	5,1	3,54	146	243
	05а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	5,7	3,46	1,35	315
	05а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	10,1	3,61	144	130
	06а-1	До ТРА	5,0	4,21	171	198
30	06а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	4,2	3,48	142	256
	06а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	6,5	3,66	154	169
	07а-1	До ТРА	6,6	3,62	102	306
35	07а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	6,0	3,76	143	258
	07а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	6,0	3,92	123	293
	08а-1	До ТРА	3,1	4,03	125	116
	08а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	4,3	3,86	128	221
40	08а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	6,8	4,19	128	138
	09а-1	До ТРА	3,5	1,43	41	114
	09а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	2,6	1,99	57	214
45	09а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	4,0	2,33	67	170
	10а-1	До ТРА	2,6	2,65	78	297
	10а-2	После 1-го цикла инфузии (10 сут)	2,9	2,58	92	187
	10а-3	После 3-го цикла инфузии (10 сут)	7,0	4,31	130	138

50 [00112] Из девяти пациентов, ранее получавших ТРА во время первого клинического исследования, только один (№9а) имел некоторые симптомы СПИД перед началом второго клинического исследования. Во время лечения тремя циклами ТРА во втором исследовании у этого пациента и еще одного (№2а), который

ранее никогда не получал ТРА, симптомы СПИД исчезли и оба стали чувствовать себя настолько хорошо, что смогли вернуться к своим нормальным занятиям. Остальные восемь пациентов начали участие в исследовании, не имея симптомов СПИД, и не имели их в конце исследования. Все пациенты остались под наблюдением. Лечение
 5 лекарственных средствами, направленными против СПИД, продолжается непрерывно.

[00113] Как можно видеть из Таблицы 4, у всех пациентов наблюдалось увеличение уровня CD3, 4 и 8, причем наиболее сильно и последовательно увеличивались
 10 уровни CD3. Нагрузка ВИЧ варьировала. Она была ниже порога определения у трех пациентов (менее 200); незначительно повысилась у шести других и уменьшилась у одного пациента.

Пример V

Третье клиническое исследование у ВИЧ-положительных пациентов,
 15 получавших ТРА

[00114] Шесть пациентов, двое мужчин и четыре женщины возраста 37-52 лет (пациенты №13-18) получали ТРА. Четверо из этих пациентов ранее получали ТРА в комбинации с лекарственными средствами, направленными против ВИЧ, во время
 20 двух предыдущих клинических исследований. Два остальных пациента никогда не получали ТРА, но ранее проходили курсы лечения лекарственными средствами, направленными против ВИЧ. Все курсы лечения прекращали за трое суток до начала третьего клинического исследования и не возобновляли до истечения 60 суток после завершения лечения ТРА. Возобновления стандартной анти-ВИЧ-терапии
 25 потребовали местные органы здравоохранения.

[00115] В данном исследовании каждый пациент получал 150 мкг ТРА в 200 мл стерильного солевого раствора ежедневно путем инфузии в течение 1,5-2 часов в течение 60 суток, до достижения общей введенной дозы 9,0 мг. После завершения 60-
 30 суточной терапии ТРА эти пациенты оставались под наблюдением, хотя и не получали дополнительного лечения.

[00116] Уровни CD3, CD4 и CD8 в периферической крови измеряли до начала лечения и затем через 30 и 60 суток, применяя проточную цитометрию и соответствующие антитела, полученные из B.D. Bioscience, San Diego, CA. Вирусную нагрузку
 35 определяли с применением традиционных способов в клинике Kuang Ann men Hospital, Пекин, Китай. Также измеряли уровни RBC, WBC, тромбоцитов и гемоглобина.

[00117] Как можно видеть из Таблицы 6, вирусная нагрузка у шести пациентов была в начале испытаний или низкой, или неопределимой и оставалась низкой во время
 40 всего периода клинических испытаний несмотря на отмену традиционной антиретровирусной терапии. Также не было возвращения к исходным уровням содержания вирусов через 6-15 суток, что, как ранее сообщалось, наблюдается после отмены у пациентов с вирусной нагрузкой в плазме менее 50 копий ВИЧ на миллилитр (Harrigan et al., AIDS 13, F59-F62 (1999)). Уровни CD3, CD4 и CD8
 45 варьировали и не позволяли сделать какой-либо вывод.

Пример VI

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ CD4, CD8, CD3 И НАГРУЗКИ ВИЧ У 6 ПАЦИЕНТОВ

Пациент №	Время теста*	CD3	CD4	CD8	**ВИЧ(копии/мл)
5	13	1	3500	1135	>2000
		2	2771	735	1937
		3	2689	721	1897
10	14	1	1415	677	64
		2	1522	613	796
		3	902	369	485
15	15	1	759	9	542
		2	1865	8	1408
		3	2099	11	1507
20	16	1	1388	128	1166
		2	1477	105	1318
		3	1305	46	1220
25	17	1	428	95	297
		2	594	112	424
		3	317	31	246
30	18	1	1041	392	457
		2	703	229	343
		3	579	165	290

*Время теста: 1. до ТРА, 2. Тридцать дней после ТРА, 3. Шестьдесят дней после ТРА

**Все цифры даны в миллионных долях

[00118] Уровни лейкоцитов (WBC), эритроцитов (RBC), гемоглобина (Rb) и тромбоцитов (PLt) измеряли до начала лечения ТРА, спустя 15, 30, 45 и 60 суток после начала лечения ТРА и через 30 суток после завершения лечения ТРА. Как можно

видеть из Таблицы 7, большинство значений находятся в нормальном диапазоне. [00119] Пациенты, включенные в третье клиническое исследование, не показывали возвращения вирусной нагрузки к исходным уровням, характерного при отмене антиретровирусной терапии. У них также не было рецидива симптомов ВИЧ в течение 120 суток наблюдения и лечения, и они были способны осуществлять свою обычную жизненную активность.

ТАБЛИЦА 7

АНАЛИЗЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У 6 ПАЦИЕНТОВ. ИССЛЕДОВАНИЕ 3

Пациент №	Время теста*	WBC($\times 10^9$)/л	RBC($\times 10^{12}$)/л	Rb (г/л)	Тромбоциты ($\times 10^9$ /л)
5	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
10	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
20	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
25	1	5,5	3,06	124	242
	2	6,4	2,98	118	151
	3	4	3,2	121	177
	4	3,9	3,49	116	131
	5	7,7	3,34	99	121
	6	4,8	3,42	100	178
30	1	7,4	3,91	156	240
	2	8,1	3,69	141	208
35					
40					
45					
50					

18	3	4,5	4,32	154	228
	4	4,9	4,14	131	149
	5	3,5	4,56	136	222

5 6 неопределимо неопределимо неопределимо неопределимо

Время теста*: 1. До ТРА

2. Пятнадцать суток после начала ТРА

3. Тридцать суток после начала ТРА

10 4. Сорок пять суток после начала ТРА

5. Шестьдесят суток после начала ТРА

6. Тридцать дней после завершения ТРА

Пример VI

Исследование конкретных случаев

15 [00120] Результаты лечения пациентов с первоначальными симптомами ВИЧ, получавших ТРА по протоколам согласно Примерам III, IV и V. Пациенты, принимавшие участие во многих исследованиях, в некоторых случаях имеют более одного идентификационного номера. Все идентификационные номера пациентов
20 соответствуют номерам пациентов в Таблицах 1-7.

[00121] Пациент №1 и 15: H.L.Y., женщина, 35, принимала участие во всех трех клинических испытаниях, имела диагноз СПИД и имела явные симптомы этого заболевания в 2003 г. Ко времени начала первого исследования она имела частую лихорадку, диарею, повреждения ротовой полости, плохой аппетит, потерю массы
25 тела, потерю зрения в левом глазу (образование синцитиев) и кашель (туберкулез). В 2004 г. пациентка начала получать противовирусную терапию ставудин (D₄T), ламивудин (3TC), невирапин (NVP) и зидовудин (AZT). Несмотря на лекарственные средства, направленные против СПИД, она имела уровень CD4=3 и была не в
30 состоянии выполнять любую физическую работу.

[00122] Во время первого курса лечения по протоколу вышеприведенного Примера III в четырех разных случаях она испытывала увеличение температуры тела 38-39°C, которое длилось 2-4 часа. После лечения ТРА у нее произошло постепенное улучшение симптомов. Улучшился аппетит, исчезли: диарея, повреждения
35 полости рта и усталость, но ее зрение осталось поврежденным. У нее несколько увеличилась масса тела, и по ее сообщениям она смогла выполнять домашнюю работу. Она продолжает получать противовирусную терапию. По-видимому, улучшение симптомов не коррелирует с изменением у нее уровней CD3, 4, 8 и вирусной нагрузки.

40 [00123] H.L.Y. приняла участие во втором исследовании, описанном в вышеприведенном Примере IV. К началу второго исследования у нее отсутствовали симптомы СПИД. Во время последующего лечения ТРА она не испытывала отрицательных эффектов. После как первого, так и третьего цикла лечения ТРА уровни CD3, CD4 и CD8 у нее увеличились, так же как и концентрация лейкоцитов.
45 Уровень содержания ВИЧ у нее несколько повысился, но она в состоянии нормально выполнять свои обязанности и по-прежнему не имеет симптомов ВИЧ.

[00124] H.L.Y. приняла участие в третьем исследовании, описанном в вышеприведенном Примере V. В начале третьего исследования у нее еще оставались
50 проблемы со зрением. Во время третьего исследования она испытала лихорадку 38-38,5°C на третьи и четвертые сутки инфузии ТРА. Ни один из симптомов СПИД не проявился вновь ни во время исследования, ни в шестидесятидневный период наблюдения. Кроме нарушений зрения у нее по-прежнему отсутствуют симптомы, она

чувствует себя нормально и в состоянии вести свой нормальный образ жизни. После завершения шестидесятидневного периода наблюдения она вновь стала получать антивирусную терапию и остается под наблюдением врача.

5 [00125] Пациент №2: С.Х., женщина, 49 лет, приняла участие в первом клиническом исследовании, имела диагноз СПИД и в 2004 г. имела явные симптомы этого заболевания. Она имела повреждения ротовой полости в мягкой форме, утомление, кожный кандидозный стоматит, лихорадку и плохой аппетит. Некоторые ее симптомы были обусловлены вирусом герпеса. Она получала лечение AZT, DDI и NVP, но
10 лечение было прервано из-за побочных эффектов. До лечения ТРА в течение 3 месяцев она не получала лекарственных средств, ее часто госпитализировали, и она не могла работать. До начала лечения уровень CD4 у нее составил 26.

15 [00126] Во время лечения ТРА по протоколу согласно Примеру III в трех разных случаях она испытывала увеличение температуры тела до 37,5-38°C, что длилось 1-2 часа. После лечения ТРА у нее исчезли повреждения полости рта, кожный кандидозный стоматит и лихорадка. Аппетит улучшился настолько, что у нее несколько увеличилась масса тела, и она приобрела достаточно сил, чтобы выполнять домашнюю работу. В течение пяти месяцев у нее отсутствовали симптомы, и в этот
20 период она не получала никаких лекарственных средств, направленных против СПИД. По-видимому у нее не существует корреляции между улучшением симптомов и уровнями CD3, 4, 8 и вирусной нагрузкой.

25 [00127] Пациент №2а. М. S., мужчина, 48 лет, принимал участие только во втором клиническом исследовании, имел частую лихорадку, диарею, потерю массы тела, слабую иммунную систему, тяжелую депрессию и не мог работать.

[00128] Во время лечения ТРА по протоколам согласно Примеру IV в пяти случаях температура тела у него увеличилась на 2-4 часа до 38,5-39°C.

30 [00129] После третьего цикла лечения ТРА лихорадка и диарея больше не появлялись. Уровни CD3, CD4 и CD8 у него имели тенденцию к возрастанию, равно как концентрация лейкоцитов и нагрузка ВИЧ. Его физическое и умственное состояние вернулось к норме, и он стал работоспособным.

35 [00130] Пациент №3: Y.P., мужчина, 51, принимал участие только в первом клиническом исследовании, в 2004 г. имел диагноз СПИД и явные симптомы этого заболевания. Основными симптомами у него являлись диарея, усталость, потеря массы тела, анемия и пурпурные пятна на спине и обеих ногах; и он мог выполнять только легкую работу. Он получал AZT, DDI и NVP, но из-за серьезной анемии лекарственное лечение отменили за четыре месяца до начала лечения ТРА.

40 Первоначальный уровень CD4 у него был 32.

[00131] Во время лечения ТРА по протоколу, описанному в Примере III, в трех случаях он испытывал увеличение температуры тела до 38-39°C, что продолжались 1-2 часа. После лечения ТРА наблюдалось значительное улучшение симптомов, он стал работоспособным, смог выполнять тяжелую работу и вел нормальный образ жизни. В
45 течение пяти месяцев после окончания терапии ТРА у него отсутствовали симптомы, и он в течение этого периода времени не получал антивирусную терапию. Корреляция между уровнями CD3, 4 и 8, по-видимому, отсутствовала, но имелось некоторое увеличение вирусной нагрузки.

50 [00132] Пациент №4: L.W., мужчина, 34, принимал участие только в первом клиническом исследовании, был ВИЧ-положительным и в 2004 г. имел явные симптомы. Его основными симптомами были диарея, лихорадка, потеря массы тела, кашель (туберкулез), увеличение правого шейного лимфоузла, и он был

неработоспособен. Первоначальный ответ на лечение был плохим. Курс антивирусного лечения ЗТС, DDI и NVP был нерегулярным, и лечение прекратили во время терапии ТРА. Первоначальный уровень CD4 у него был 173.

[00133] При лечении ТРА по протоколу согласно Примеру III в пяти случаях у него повышалась температура тела до 38-39°C, что продолжалось 0,5-1 час. После лечения случайные приступы диареи успешно снимались противодиарейным лекарственным средством. Улучшение аппетита обусловило увеличение массы тела и энергии, что привело к возвращению к регулярному рабочему графику. Величина лимфатического узла стала нормальной. Он продолжал получать лечение антивирусными лекарственными средствами. Корреляция между улучшением симптомов и уровнями CD3, 4, 8 и вирусов, по-видимому, отсутствует.

[00134] Пациент №5 и 3а: Н.С., женщина, 37, принимала участие в первых двух клинических исследованиях, по тестам была ВИЧ-инфицированной и в 2004 г. имела явные симптомы заболевания. Ко времени начала первого исследования основными симптомами у нее были кожный кандидозный стоматит, облысение, инфекция в ротовой полости, потеря массы тела и утомление. Она получала D₄T, DDI и NVP, но лечение прекратили из-за нарушения функции почек. В начале она имела уровень CD4 106, но могла выполнять свой регулярный труд.

[00135] При лечении ТРА по протоколу согласно Примеру III в пяти случаях у нее повышалась температура тела до 37,5-38°C, что продолжалось 0,5-1 час. После лечения ТРА улучшений симптомов не произошло. Было возобновлено лечение антивирусными лекарственными средствами, но при этом прежние побочные эффекты не возобновились, и в течение месяца симптомы уменьшились. Лечение было продолжено, и она вернулась к своей работе. Корреляция между улучшением симптомов и изменениями уровней CD3, 4 и 8 или уровней ВИЧ, по-видимому, отсутствует.

[00136] Ко времени второго исследования у нее отсутствовали симптомы СПИД, и она не страдала от побочных эффектов курса лечения, описанных в Примере IV. После второго исследования уровни CD3, CD4 и CD8 имели тенденцию к увеличению, так же как и уровни лейкоцитов и тромбоцитов. Уровни ВИЧ у нее были первоначально неопределимыми, но увеличились после третьего цикла лечения. В настоящее время она работоспособна.

[00137] Пациент №6, №4а и №17: Н.С.С., мужчина, 36, принимал участие во всех трех клинических исследованиях, по тестам был ВИЧ-положительным и в 2004 г. имел незначительные симптомы заболевания. Ко времени начала первого исследования он страдал от головокружения, головной боли, плохого аппетита и повышенной восприимчивости к заболеваниям верхних дыхательных путей, но мог регулярно работать разнорабочим. Его лечили антивирусными агентами AZT, DDI и NVP, но затем прекратили их применение из-за побочных реакций. Первоначальный уровень CD4 был 232.

[00138] Во время лечения ТРА по протоколу согласно Примеру III он не испытывал повышения температуры или каких-либо иных побочных эффектов. После лечения его симптомы не изменились, а уменьшение уровня тромбоцитов, по-видимому, не было связано с лечением ТРА. Он продолжал лечение антивирусными лекарственными средствами и был работоспособен, как прежде. Не было обнаружено корреляции между улучшением симптомов и уровнями CD3, 4 и 8 и уровнем вирусной нагрузки.

[00139] Ко времени второго исследования он не имел симптомов, и его иммунная система, по-видимому, функционировала нормально. Во время второго исследования

согласно Примеру IV у него снова отсутствовали побочные эффекты лечения ТРА. Уровни CD3, CD4 и CD8 у него несколько увеличились, так же как и уровень лейкоцитов. Первоначально вирусная нагрузка была неопределимой, но увеличилась после третьего цикла лечения. Однако у него отсутствуют какие-либо симптомы СПИД, и он вернулся к своей работе.

[00140] В начале третьего клинического исследования симптомы у него отсутствовали. Во время лечения ТРА по протоколу согласно Примеру V на 32 сутки он испытал местное раздражение из-за протекающей иглы, но затем лечение успешно продолжалось в течение 3 суток. По-прежнему симптомы у него отсутствуют, и он способен выполнять тяжелую работу. Он начал получать антивирусную терапию после завершения шестидесятидневного периода наблюдения и остается под наблюдением врача.

[00141] Пациент №7, №5а и №16: Н.С.Л., мужчина, 49, принимал участие в трех клинических исследованиях, по тестам является ВИЧ-положительным и в 2004 г. имел явные симптомы заболевания. Основными симптомами ко времени первого исследования были потеря массы тела, кожный кандидозный стоматит, усталость, плохой аппетит и кашель (туберкулез), но он был в состоянии выполнять легкую работу. Его лечили одновременно D4T, DDI, NVP и противотуберкулезной терапией. Первоначальный уровень CD4 был 10.

[00142] Во время лечения ТРА по протоколу Примера III в двух случаях у него поднималась температура до 38°C, что сопровождалось легким головокружением и головной болью. После лечения симптомы у него не изменились, и противовирусную терапию возобновили через один месяц. Со временем кашель ослаб, аппетит и уровень энергии улучшился, и он стал работоспособным. Он продолжал получать и антивирусную, и противотуберкулезную терапию. Корреляция между улучшением симптомов и уровнями CD3, 4, и 8 или вирусной нагрузкой, по-видимому, отсутствует.

[00143] Ко времени второго клинического исследования у него отсутствовали симптомы СПИД, и иммунная система, по-видимому, функционировала нормально. Во время второго клинического исследования он не имел каких-либо неблагоприятных последствий от лечения ТРА. После лечения уровни CD4 у него не изменились, но уровни CD3 и CD8 имели тенденцию к увеличению, так же как и уровень лейкоцитов. Вирусная нагрузка у него была неопределимой. У него не было каких-либо симптомов СПИД, и он вернулся к работе.

[00144] К началу третьего клинического исследования у него отсутствовали симптомы СПИД. Во время лечения по протоколу согласно Примеру V в одном случае он испытал лихорадку. По-прежнему у него отсутствуют симптомы, он чувствует себя нормально и в состоянии выполнять тяжелую работу. После завершения шестидесятидневного периода наблюдения он вновь начал получать антивирусные лекарственные средства и остается под наблюдением врача.

[00145] Пациент №8, №6а и 18: Y.X.O., женщина, 36, принимала участие во всех трех клинических исследованиях, по тестам в 2004 г. была ВИЧ-положительной. Во время первого исследования основным симптомом была восприимчивость к инфекциям верхних дыхательных путей. Она получала AZT, DDI и NVP. В начале исследования уровень CD4 у нее был 524, и она могла выполнять регулярную интенсивную работу.

[00146] Во время лечения по протоколу согласно Примеру III в одном случае у нее поднялась температура до 38,5°C, что продолжалось в течение 4 часов. После лечения у нее снизилась частота простуд и не проявлялись другие симптомы. Она продолжала получать антивирусные лекарственные средства и была работоспособна. Корреляция

между улучшением симптомов и уровнями CD3, 4 или 8 или вирусной нагрузкой, по-видимому, отсутствовала.

[00147] Во время второго клинического исследования у нее отсутствовали симптомы СПИД, и ее иммунная система, по-видимому, функционировала нормально.

Во время второго исследования согласно протоколам из Примера IV температура тела у нее в одном случае вновь возрастала до 38,5°C в течение двух часов. После лечения уровни CD3 и CD8 немного возросли, хотя уровень CD4 и концентрация лейкоцитов оставались неизменными. Вирусная нагрузка у нее была неопределимой.

По-видимому, она чувствовала себя нормально и была способна выполнять тяжелые физические работы.

[00148] Ко времени третьего исследования симптомы у нее отсутствовали.

Единственными побочными эффектами от лечения по протоколу Примера V была лихорадка 38-39°C на второй день лечения, продолжавшаяся 2 часа, и на 36-е сутки раздражение кожи из-за протекшего шприца, прекратившееся через 2 суток.

Симптомы у нее по-прежнему отсутствуют, и она способна выполнять тяжелую работу. После окончания шестидесятидневного периода наблюдения она вновь стала получать антивирусную терапию и остается под врачебным наблюдением.

[00149] Пациент №9 и №7а: С.Т.Ф., мужчина, 44, принимал участие в первых двух клинических исследованиях, по тестам является ВИЧ-положительным и в 2004 г. имел явные симптомы заболевания. В начале первого исследования симптомы заболевания включали постоянную диарею, головокружение, головные боли, плохой аппетит, потерю массы тела и усталость. У него был положительный ответ на лечение AZT, DDI и NVP, и уровень ВИЧ в крови был около предела определения. Несмотря на положительный ответ симптомы продолжали проявляться и его госпитализировали из-за диареи в течение 20 суток. У него была тяжелая депрессия, и он был неработоспособен.

[00150] Во время лечения ТРА по протоколу Примера III в шести случаях у него поднималась температура до 37,5-38°C, что продолжалось 2-4 часа. Во время введения ТРА протекшая игла вызвала серьезное раздражение кожи, которое было успешно вылечено. После восьми приемов ТРА сохранялось легкое головокружение и головная боль, но количество эпизодов диареи начало сокращаться, и аппетит улучшился.

Неделю спустя диарея полностью прекратилась и аппетит нормализовался. Он был в состоянии вернуться к работе и в настоящее время получает противовирусную терапию. Имелась тенденция к возрастанию уровней CD3, 4, 8, а уровень ВИЧ был неопределим.

[00151] Ко времени второго клинического исследования у него отсутствовали симптомы ВИЧ, и его иммунная система, по-видимому, функционировала нормально. Во время лечения ТРА по протоколу Примера IV он не испытал неблагоприятных эффектов. После лечения уровни CD3, CD4 и CD8 незначительно увеличивались, хотя уровни лейкоцитов не изменились. Нагрузка ВИЧ продолжает оставаться неопределимой. Он в состоянии выполнять напряженную работу.

[00152] Пациент №10 и №8а: W.F.W., женщина, 47, принимала участие в первых двух исследованиях, по тестам является ВИЧ-положительной и в 2003 г. имела явные симптомы заболевания. В начале первого исследования ее симптомы включали низкую температуру тела, диарею, низкий уровень тромбоцитов, кашель с кровью, кровянистый кал, головокружение, головную боль, плохой аппетит, потерю массы тела, усталость с умеренным кожным кандидозным стоматитом и глубокую депрессию. По одному эпизоду кровянистого кала ее госпитализировали на два

месяца. У нее была глубокая депрессия, и она была неспособна. У нее отсутствовал положительный ответ на лечение AZT, DDI и NVP, и симптомы были неконтролируемыми.

[00153] Во время первого лечения ТРА по протоколу согласно Примеру II в одном случае она испытала повышение температуры тела до 38,5°C, продолжавшееся 4 часа. После лечения ТРА головокружение, головная боль и диарея постепенно уменьшились. В конце концов, аппетит у нее улучшился, что привело к увеличению массы тела и увеличению энергичности. Уровень тромбоцитов возрос от 30000 до 110000 на микролитр, кожный кандидозный стоматит и диарея исчезли. Она вновь стала работоспособной и получала противовирусную терапию. Иногда у нее случались эпизоды лихорадки и диареи, но она могла их контролировать лекарственными средствами.

[00154] Шесть месяцев спустя у нее были слабые головные боли и головокружение, и она получила второй курс лечения ТРА. Во время второго курса в пяти случаях у нее поднималась температура тела до 37,5-38°C, что продолжалось 2-4 часа. Через 20 часов после тринадцатого введения ТРА температура у нее достигала 40,5°C, что продолжалось несколько часов. Заключение, что подъем температуры не был связан с терапией с помощью ТРА.

[00155] После второго курса лечения ТРА симптомы у нее прекратились, аппетит улучшился, и она набрала массу тела, что позволило ей набрать силы, возвратиться к работе и вести нормальный образ жизни. В течение одного года симптомы у нее отсутствовали, в первые шесть месяцев после курса лечения ТРА она несколько раз простужалась. Уровни CD 3, 4 и 8, а также ВИЧ имели видимую тенденцию к повышению.

[00156] Ко времени второго клинического испытания по протоколу согласно Примеру IV у этого пациента не обнаруживались симптомы СПИД, и ее иммунная система, по-видимому, функционировала нормально. Во время лечения у нее не было побочных эффектов. После лечения уровни CD3, CD4 и CD8 у нее несколько возросли, так же как и концентрация WBC. Уровень ВИЧ у нее незначительно возрос. После исследований она была здорова и занималась напряженной работой.

[00157] Пациент №11 и 9а: С.Т.Л., женщина, 40, участвовала в двух первых испытаниях, имела диагноз СПИД и в 2003 г. имела явные симптомы этого заболевания. К началу первого исследования у нее была продолжительная диарея, низкая температура тела, повреждения полости рта, тяжелый кожный кандидозный стоматит, зуд, пурпурные пятна на лице и губах, головокружение, головная боль, плохой аппетит, усталость и депрессия. Она плохо отвечала на лечение AZT, 3ТС и NVP. Ее симптомы были неконтролируемыми, и она была неспособна. Первоначальный уровень CD4 составлял 40.

[00158] Во время первого курса лечения ТРА в четырех случаях температура тела у нее поднималась до 38-39°C, что продолжалось 2-4 часа. В двух случаях у нее была одышка, в каждом случае она продолжалась 20-30 минут.

[00159] После шестой дозы ТРА у нее стал исчезать кандидозный стоматит, а после завершения курса лечения ТРА головокружение, головная боль, лихорадка и кожный кандидозный стоматит ослабли и постепенно исчезли. Ее аппетит и физическое состояние заметно улучшились, депрессия ослабла, что позволило ей вернуться к работе.

[00160] 18 месяцев спустя она получила второй курс лечения ТРА ввиду возвращения симптомов, включая умеренный кожный кандидозный стоматит, диарею

и головокружение. Во время второго курса лечения в трех случаях у нее поднималась температура тела до 37,5-38°C, что продолжалось 2-4 часа. Другие неблагоприятные реакции отсутствовали. После лечения ТРА симптомы у нее полностью исчезли, и ее физическое состояние улучшилось настолько, что она смогла вернуться к работе.

Симптомы отсутствовали в течение одного года, простуды случались редко. Имелась тенденция к повышению уровней CD3, 4 и 8, но уровни ВИЧ не изменились.

[00161] Ко времени второго клинического исследования по протоколу согласно Примеру IV данный пациент проявлял симптомы СПИД, включая головную боль, головокружение, плохой аппетит и слабую иммунную функцию. Во время лечения у нее не было побочных эффектов. После лечения уровни CD3 и CD8 поднялись, а уровень CD4 не изменился. Уровень ВИЧ незначительно увеличился, но других изменений не наблюдалось. Ее умственное и физическое состояние значительно улучшилось, и она выполняет напряженную физическую работу.

[00162] Пациент №12 и №10а: С.С.L., женщина, 39, участвовала в первых двух исследованиях, имела диагноз СПИД и в 2003 г. имела явные симптомы данного заболевания. К началу первого исследования у нее постоянно была пониженная температура тела, кожный кандидозный стоматит, головокружение, головная боль, плохой аппетит, повреждения ротовой полости, усталость и глубокая депрессия. Она получала AZT, 3TC и NVP, но безрезультатно, и она была неработоспособна. Начальный уровень CD4 был 84.

[00163] Данный пациент за период с марта 2005 г. до марта 2006 г. дважды получал курсы ТРА. Во время первого курса лечения ТРА в восьми случаях у нее повышалась температура до 38-38,5°C, что длилось от 2 до 4 часов. В одном случае в течение 15 минут она испытала одышку и из-за протечки иглы - раздражение кожи.

[00164] После седьмого введения у нее исчезли повреждения полости рта. После завершения курса все симптомы исчезли, и ее физическое состояние улучшилось настолько, что она смогла вернуться к работе.

[00165] Шесть месяцев спустя она снова получила ТРА из-за рецидива диареи в легкой форме и головокружения. В шести случаях у нее наблюдалось связанное с введением ТРА увеличение температуры тела до 37,5-38°C, которое продолжалось 2-6 часов. Начиная с восьмого введения, дозу увеличили от приблизительно 150 мкг до 250 мкг ТРА. Не наблюдалось неблагоприятных эффектов. После завершения терапии ТРА все симптомы у нее исчезли. Физическое состояние у нее восстановилось до нормального, она вернулась к работе и вела нормальный образ жизни. В течение одного года у нее отсутствовали симптомы, и эпизоды простуды случались редко. Уровни CD3, 4 или 8 не изменились, но уровень ВИЧ возрос.

[00166] Ко времени второго клинического исследования у нее отсутствовали симптомы СПИД, хотя иммунная система у нее была ослаблена. Ее лечили по протоколу согласно Примеру IV, она не испытала неблагоприятных эффектов. После лечения имелось незначительное возрастание уровней CD3, CD4 и CD8, а также незначительное увеличение уровней WBC, RBC и HGB, хотя уровень тромбоцитов понизился. Уровень ВИЧ незначительно понизился. Она была практически здорова и ее наняли на напряженную работу.

[00167] Пациент №13: L.F.L., женщина, 53, в 2004 г. имела диагноз СПИД, участвовала только в третьем клиническом исследовании. У нее были симптомы в слабой степени: плохой аппетит и потеря массы тела. Долговременные курсы антивирусных лекарственных средств были эффективными и обусловили снижение вирусной нагрузки ниже определяемых уровней, уровни CD3, CD4 и CD8 возросли до

высокого уровня. До лечения ТРА у нее не было симптомов и не было побочных эффектов от его введения. Симптомы у нее отсутствуют, она чувствует себя нормально и в состоянии вести нормальный образ жизни. После завершения шестидесятидневного периода наблюдения она вновь стала получать антивирусную терапию.

[00168] Пациент №14: K.S.M., женщина, 45, в 2004 г. имела диагноз СПИД, участвовала только в третьем клиническом исследовании. Имела умеренные симптомы, состоявшие в плохом аппетите и частых простудах. Ее лечили антивирусными лекарственными средствами, но прекратили лечение ввиду тяжелой гепатотоксичности. До лечения ТРА у нее отсутствовали симптомы, и единственным побочным эффектом, связанным с ТРА, было раздражение из-за протекшей иглы на 43 сутки, которое легко вылечили. Во время всего курса лечения и периода наблюдения симптомы СПИД отсутствовали. Она чувствует себя нормально и в состоянии вести свой обычный образ жизни. После завершения шестидесятидневного периода наблюдения она выпала из исследований и не возобновила антивирусную терапию.

Пример VII

Лечение ТРА рецидивирующих/рефракторных новообразований

[00169] Пациенты с гистологически подтвержденными рецидивирующими/рефрактерными злокачественными заболеваниями крови/расстройствами костного мозга получали комбинацию ТРА (Xichuan Pharmaceuticals, Nan Yang, Henan, China), дексаметазона и холинтрисалицилата магния. Изложенные ниже сравнимые способы, иллюстрирующие терапевтическое применение ТРА в лечении острого миелогенного лейкоза (AML), будут применяться для того, чтобы продемонстрировать применение ТРА для лечения других неопластических состояний и злокачественных заболеваний. Другие неопластические состояния и злокачественные расстройства, восприимчивые к лечению с применением способов и композиций по изобретению, включают различные формы рака, включая злокачественные заболевания крови и костной ткани и солидные опухоли различных типов. В дополнение к описываемым здесь конкретным протоколам успешность лечения и/или ремиссии разнообразных заданных неопластических и злокачественных состояний будет определяться с применением любого из широкого многообразия хорошо известных способов детектирования и оценки рака - например по определению уменьшения размера солидных опухолей, с помощью гистопатологических исследований для оценки опухолевого роста, стадии, метастатического потенциала, наличия и уровней экспрессии гистологических маркеров рака и так далее.

[00170] AML представляет собой агрессивное заболевание, обычно требующее неотложной и интенсивной терапии. Средний возраст пациента с диагнозом AML составляет 64-68 лет, и в настоящее время менее 20% пациентов возраста старше 60 лет, получающих стандартную химиотерапию, излечиваются от этого заболевания. Пациенты, у которых AML развился после предшествующего гематологического расстройства или предшествующей лейкомогенной химиотерапии/радиационной терапии, также имеют плохие прогнозы, равно как и те пациенты, у которых заболевание ассоциируется со специфическими неблагоприятными цитогенетическими или клиническими факторами. Поэтому большинство пациентов, которым поставлен диагноз AML, имеют обусловленные особенностями пациента и/или заболеванием признаки, которые ассоциируются с очень плохим прогнозом. В случае пациентов с

рецидивами заболевания ни один из стандартных способов лечения, не связанных с трансплантацией, не оказался эффективным. Для таких пациентов AML часто является фатальным заболеванием. Для терапии AML требуются новые подходы.

[00171] Применяя способы и композиции по настоящему изобретению в качестве терапевтических агентов для лечения AML, авторы настоящего изобретения исследуют ТРА в качестве фармацевтического агента на основании его вновь обнаруженной роли в модулировании сигнальных каскадов внутриклеточного метаболизма, его способности вызывать дифференциацию и апоптоз линий клеток и клинических данных, указывающих на эффективность ТРА в лечении неопластических и злокачественных расстройств, включая миелоидные злокачественные расстройства.

[00172] К настоящему времени клиническое изучение ТРА показало, что согласно данным анализа выживаемости клеток и апоптоза ТРА оказывает прямые терапевтические цитотоксические эффекты по меньшей мере в части случаев AML. По данным анализа с помощью Вестерн-блоттинга во всех первичных культурах за один час инкубации в культуре ТРА сильно увеличивал фосфорилирование ERK. Цитотоксический эффект ТРА в отношении первичных клеток AML связан с последующей потерей сигнала о выживании ERK при экспозиции в течение 24 часов *ex vivo*. Это наблюдение находится в хорошем соответствии с исследованиями других авторов, которые сообщали о сокращении времени жизни первичных клеток AML после фармакологического прерывания ERK сигналинга ингибиторами MEK-киназы, такими как PD98059, U0126 и PD184352. В своих исследованиях авторы настоящей заявки связывают потерю сигнала ERK с индукцией фосфатаз ERK.

[00173] Помимо активации протеинкиназы C и ERK ТРА известен как индуктор NF-κB (ядерного фактора каппа В), транскрипционного фактора выживания, который часто конститутивно активен в клетках AML и лейкозных стволовых клетках. В недавней работе, проводившейся в лаборатории авторов настоящего изобретения, было продемонстрировано, что в клетке AML NF-κB может быть ингибирован после 48 ч обработки дексаметазоном+холинтрисалицилатом магния (СМТ). Помимо этого авторы настоящего изобретения показали, что дексаметазон может инициировать экспрессию MKP-1 ERK фосфатазы и увеличивать цитотоксичность ТРА в первичных образцах AML. В этом контексте в нижеприведенных примерах конкретных воплощений авторы выбрали дексаметазон и СМТ для применения в качестве дополнительных лекарственных средств, применяемых за 24 ч до и 24 ч после применения ТРА. Эти лекарственные средства легко переносятся и, как ожидается, будут уменьшать неблагоприятные воспалительные эффекты ТРА и увеличивать цитотоксичность ТРА путем увеличения экспрессии ERK фосфатазы и ингибирования NF-κB. Помимо этого в качестве дополнительных лекарственных средств следует применять дексаметазон и СМТ, потому что они являются противовоспалительными средствами и, возможно, смягчат побочные эффекты и увеличат противолейкозную активность, ингибируя антиапоптозные эффекты из-за нерегулируемой экспрессии NF-κB и индукции фосфатаз, уменьшающих активность каскада сигнального метаболизма.

[00174] В первоначальной фазе 1 испытаний ТРА зарегистрировано 35 пациентов [23 с рецидивирующим/рефрактерным AML, 2 с другими миелоидными злокачественными новообразованиями (СМЛ-бластный криз, миелодисплазия с избыточными бластами), 3 с лимфогранулематозом, 3 с не-Ходжкинской лимфомой и 4 с солидными опухолями]. Большинство пациентов страдало рецидивирующим/рефрактерным AML. Клинические результаты авторов включают

одного пациента с AML, получившего 8 инфузий ТРА, у которого заболевание стабилизировалось на срок более 5 месяцев. У второго пациента с AML после введения ТРА наблюдалось значительное (5-кратное) уменьшение количества циркулирующих бластов. Это уменьшение лейкозных бластов продолжалось в течение 4 недель, и пациент в конце концов умер от грибковой инфекции. Наконец, пациент, имеющий рецидивирующий и рефракторный лимфогранулематоз несмотря на химиотерапию с высокой дозировкой с аутогенным аварийным восстановлением стволовых клеток, после введения ТРА показал частичную ремиссию массы грудной стенки. Выполнили эскалацию доз ТРА, и в последней группе 2 из 3 пациентов, получивших дозу 0,188 мг/м² на 1-е-5-е и 8-е-12-е сутки, испытали негематологическую дозолимитирующую токсичность степени III, что устанавливает максимально переносимую дозу ТРА как единственного агента при 0,125 мг/м²/сутки на 1-е-5-е и 8-е-12-е сутки.

[00175] При AML и других злокачественных заболеваниях крови пациенты получают первоначальную дозу ТРА 1 мг/неделя×3 недели (дни 1, 8, 15), вводимую в течение 6 часов при постоянной/прерывающейся импульсной оксигемометрии. За 24 часа до начала терапии ТРА пациенты получали с интервалом 6 часов 10 мг дексаметазона и 1500 мг холинтрисалицилата магния (СМТ - choline magnesium trisalicylate) с интервалом восемь часов. После введения начальной дозы ТРА пациенты получали 2 недели отдыха, после чего могли проводить оценку их состояния. Те пациенты, у которых после первой дозы ТРА наблюдался положительный ответ на лечение или стабилизация, получали до шести курсов лечения по двадцать восемь суток по нижеприведенному протоколу.

[00176] После двух недель отдыха пациенты получали в качестве предварительной терапии тилебол 650 мг и бенадрил 25-50 мг (в зависимости от размеров и возраста пациента) за тридцать минут до введения ТРА. Они затем получали внутривенную инфузию ТРА через центральный венозный катетер ежедневно в течение 5 суток в неделю в течение двух последовательных недель. ТРА вводили в дозе 1 мг на 200 мл нормального физиологического раствора в течение 1 часа. За двадцать четыре часа до начала терапии ТРА пациенты получали по 10 мг дексаметазона каждые шесть часов и по 1500 мг холинтрисалицилата магния каждые восемь часов после введения до истечения 24 часов после введения.

[00177] Уровни ТРА в крови измеряли до и после инфузии, с использованием биологического анализа, определяющего экстрагируемую органическим растворителем активность при дифференциации. 1 мл крови дважды экстрагировали 5 мл этилацетата, остаток после экстракции вновь растворяли в 50 мкл этанола и добавляли аликвоту клеток HL60. Через 48 часов измеряли количество осевших клеток.

[00178] Также образцы крови, взятые до и после инфузии ТРА, анализировали, измеряя уровни лейкоцитов, тромбоцитов и нейтрофилов. Кроме того, определяли присутствие миелобластов и палочек Ауэра.

Эти и последующие эксперименты дополнительно освещают терапевтические, цитотоксические и другие эффекты ТРА, направленные против неопластических клеток AML и других неопластических и злокачественных состояний.

Пример VIII

Измерение модулирования активации ERK

[00179] У пациентов с лейкозом уровни фосфо-ERK измеряют в злокачественных клетках кровообращения, а у пациентов с лимфомой/солидными опухолями - в моноядерных клетках периферической крови. Пробу крови берут у пациентов,

получавших лечение по протоколу Примера VII, как до, так и после введения ТРА.

[00180] На пробах крови пациентов с лейкозом, имеющих концентрацию лейкоцитов, превышающую или равную 1000, проводят проточную цитометрию, применяя специфичные к антигенам поверхности клеток и специфичные к фосфо-ERK антитела, прямо конъюгированные с флуорофорами (BD Biosciences, San Jose, CA). Образцы берут до введения ТРА и спустя 1 час после инфузии ТРА в дни 1, 2 и 11 первого курса лечения по протоколу согласно Примеру VII и в дни 1 и 11 в последующих курсах. У пациентов с лейкозом с абсолютным количеством лейкозных клеток более 2500/мкл и у больных без лейкоза берут пробы периферической крови в дни 1, 8 и 15 первоначального курса по протоколу согласно Примеру VII до инфузии и спустя 1 и 4 часа после инфузии. Для контроля результатов, полученных проточной цитометрией, сопоставления их с клиническими результатами образцы также анализируют способом Вестерн-блоттинга на уровни содержания фосфор-ERK и общего ERK $1/2$.

[00181] Вышеизложенные аналитические способы дополнительно иллюстрируют роль ТРА в лечении неопластических и злокачественных состояний, включая цитотоксический эффект ТРА в отношении злокачественных клеток на примере первичных клеток AML и связанное с ним уменьшение сигнала выживания фосфо-ERK, обусловленное ТРА.

Пример IX

Измерение модулирования NF-κB

[00182] В предыдущих исследованиях авторы показали, что активность NF-κB может модулироваться у пациентов после введения ТРА с дексаметазоном. Дополнительно было показано, что дексаметазон вызывает экспрессию ERK фосфатазы MKP-1 и увеличивает цитотоксичность ТРА. Нижеследующие исследования были спланированы, чтобы дополнительно выяснить, как активность NF-κB терапевтически модулируется у пациентов, получавших ТРА плюс дексаметазон.

[00183] Связывание NF-κB измеряют в пробах периферической крови пациента на базальном уровне, а также до и после инфузии у пациентов, получавших ТРА по Примеру VI, применяя анализ на основе ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay - иммуноферментный твердофазный анализ) (BD Bioscience, San Jose, USA). Уровни NF-κB определяли количественно по хемилюминесцентной интенсивности для определения связывания в ограничивающих количествах клеточного экстракта с использованием 96-ячеечного формата. Дополнительно, у пациентов с лейкозом, имеющих абсолютное количество бластов, превосходящее или равное 2500/мкл, и параллельно у других нелейкозных пациентов с нормальным уровнем лейкоцитов для измерения связывания NF-κB в пробах периферической крови производят измерения сдвига электрофоретической подвижности.

[00184] Вышеизложенные исследования позволяют предполагать, что ТРА является индуктором NF-κB, однако эти эксперименты демонстрируют, что в AML клетках NF-κB может ингибироваться путем введения дексаметазона и холинтрисалицилата магния.

Пример X

Определение изменения экспрессии гена лейкоза

[00185] ТРА стимулирует уровни РНК нескольких фосфатаз двойной специфичности, способных оборвать сигнальный каскад выживания ERK. Для определения экспрессии РНК компонентов AML сигналинга, таких как MAPK-специфичные фосфатазы двойной специфичности, с помощью количественной

полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (RT-PCR - reverse transcriptase polymerase chain reaction) в реальном времени и олигонуклеотидного анализа с применением биочипов используют образцы крови, взятые у пациентов с AML до и после инфузии ТРА согласно Примеру VII.

5 [00186]

[00187] Хотя вышеизложенное изобретение в целях ясности понимания было детально проиллюстрировано примерами, специалисту в данной области техники будет очевидно, что в пределах объема прилагаемой Формулы изобретения возможны
10 некоторые изменения и модификации, являющиеся иллюстративными, а не ограничивающими. В этом контексте в целях экономии описания были процитированы различные публикации и другие ссылочные документы. Каждая из этих ссылок включена в настоящее описание полностью во всех ее аспектах. Следует,
15 однако, отметить, что обсуждаемые здесь различные публикации включаются только в объеме их раскрытия до даты подачи настоящей заявки, и авторы изобретения оставляют за собой право датировать такое описание задним числом на основании более раннего изобретения.

Литература

20 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, TJn W J, Yeh S, Hanchett L A, Rahman M M,

5 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 L, Crawford D. H. et al.
10 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.* 114(2), 209-14 (1983).
15

Bauer I., Al Sarraj J. et al Interleukin-1 beta and tetradecanoylphorbol acetate-induced biosynthesis of tumor necrosis factor alpha in human hepatoma cells involved the transcription factors ATF2 and c-Jun and stress-activated protein kinases. *J Cell Biochem.* 100(1), 242-255 (Epub ahead of print), (2006).
20

Beaupre D M and Kurzrock R. RAS and leukemia: from basic mechanisms to gene-directed therapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1071-9.
25

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).
30

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).
35

Berenblum I. A re-evaluation of the concept of co-carcinogenesis. *Prog. Exp. Tumor Res.* 11, 21-30 (1969).
40

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).

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).
45

Boutwell R.K. The function and mechanism of promoters of carcinogenesis. *CRC Crit. Rev. Toxicol* 2, 419-443 (1974).
50

Brose N, Rosenmund C. Move over protein kinase C, you've got company: alternative effectors of diacyl glycerol and phorbol esters. *JCell Sci*; 15:4399; 11 (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).

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).

Forbes I. J., Zalewski P. D., Letarte M. Human B-lymphocyte maturation sequence revealed by TP A-induced differentiation of leukaemia 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).

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)

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).

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 off intravenous infusion of 12-0-tetradecanoyl-phorbol- 13 -acetate (TPA) in patients with myelocytic leukemia: preliminary studies on therapeutic efficacy and toxicity. Pro. 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-I RNA rebound upon stopping antiretroviral therapy. AIDS 13, F59-F62 (1999). Hecker E. In handbuch der allgemeinen pathologie, ed. Grundmann, E. (Springer- Verlag, Berlin-Heideiberg, Vol. IV 16, 651-676 (1975).

Hecker E. Structure -activity relationships in deterpene esters irritant and co-carcinogenic to mouse skin, in mechanisms of tumor promotion and co-carcinogenesis. Eds. Slaga, T. J., Sevak, A. j. and Boutwell, R.K. Raven, New York, 11-49 (1978).

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

Huberman E., Callaham 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, 1 13-117 (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-I . *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, Jirmai I, Shiniyazaki C, Akiyama H, Saito K, Oh II, Motoji T, Ornoto 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, 1101-1108 (1980).

Kulkosky J., Merantz R. J. et al. Prostratin: activation of latent HIV-I expression suggested a potential inductive adjuvant therapy for HAART. *Blood* 98 (10), 3006- 3015 (2001).

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 TPA Strongly Inhibits HIV-I Induced Syncytia Formation but Enhances Virus Production: possible involvement of protein kinase C pathway. Virology 176, 126-132, (1990).

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 (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 K., Chechgik B. E. et al. Modulation of human T-cell differentiation markers by 12-O-tetradecanoylphorbol- 13 -acetate. Thymus. 3(4-5), 307-18, (1981). 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. 115 (7), 995-1003

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 buffomedil chlorhydrate and pentoxifylline. Exp. Dermatol. 6(4), 186-94 (1997).

Rovera G., Santoli D., Damsky C. Human promyelocyte 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).

Sahar 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- 13 -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, 11-17 (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).

Формула изобретения

1. Способ профилактики или лечения ВИЧ-инфекции или ВИЧ-заболевания у субъекта млекопитающего, включающий введение указанному субъекту эффективного количества 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата для поднятия уровней CD3, CD4 или CD8.

2. Способ по п.1, дополнительно включающий введение по меньшей мере одного дополнительного антиретровирусного или другого вспомогательного терапевтического агента, который является эффективным в комбинированном составе или в режиме координированного лечения с 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетатом при лечении или профилактике ВИЧ-инфекции у указанного субъекта.

3. Способ по п.2, где по меньшей мере один дополнительный антиретровирусный или другой вспомогательный терапевтический агент выбирают из группы, состоящей из: ингибиторов протеаз, нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, комбинированных лекарственных средств, ингибиторов входа и слияния, ацикловира, адефовира, дидовоксила, альдеслейкина, амфотерицина b, азитромицина, гидроксилатапата кальция, кларитромицина, доксорубина, дронабинола, энтекавира, эпоетина альфа, этопозида, флуконазола, ганцикловира, иммуноглобулинов, интерферона альфа-2, изониазида, итраконазола, мегестрола, паклитакселя, пегинтерферона альфа-2, пентамидина, поли-1-молочной кислоты, рибавирина, рифабутина, рифампина,

соматропина, тестостерона, триметрексата и валганцикловира; ингибиторов интегразы, микробицидов и IL-2 (интерлейкин-2).

4. Способ по п.1, где указанное эффективное количество включает от приблизительно 10 до приблизительно 1500 мкг 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата на каждый второй день.

5. Способ по п.1, где ВИЧ-заболевание включает один или более из симптомов и состояний, включающих повреждения полости рта, утомление, кандидозный кожный стоматит, лихорадку, потерю аппетита, диарею, негнойные язвы, синдром пониженного всасывания, тромбоцитопению, потерю массы тела, анемию и увеличение лимфатических узлов, комплексную инфекцию *Mycobacterium avium*, сальмонеллез, сифилис, нейросифилис, туберкулез, бацилярный ангиоматоз, аспергиллез, кандидоз, кокцидиомикоз, листереллез, воспалительную болезнь таза, лимфому Беркитта, криптококковый менингит, гистоплазмоз, саркому Капоши, лимфому, системную не-Ходжкинскую лимфому, первичную лимфому центральной нервной системы (ЦНС), криптоспоририоз, изоспороз, микроспоририоз, пневмонию *Pneumocystis carinii*, токсоплазмоз, цитомегаловирус, гепатит, герпес симплекс, герпес зостер, вирус папилломы человека, контагиозный моллюск, волосатую лейкоплакию полости рта и прогрессирующую многоочаговую лейкоэнцефалопатию.

6. Композиция для предотвращения или облегчения симптомов ВИЧ-инфекции и для поднятия уровней CD3, CD4 или CD8 у субъекта млекопитающего, содержащая эффективное количество 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата.

7. Способ активации резервуаров латентных ВИЧ у субъекта млекопитающего, включающий введение эффективного количества 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата указанному субъекту.

8. Способ увеличения экспрессии цитокинов Th1, включающий введение эффективного количества 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата указанному субъекту.

9. Способ индукции апоптоза в неоплазмах у субъекта млекопитающего, включающий введение указанному субъекту эффективного количества 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата, и по меньшей мере одного из дексаметазона и холинтрисалицилата магния.

10. Способ по п.9, где указанное эффективное количество включает от приблизительно 10 до приблизительно 1500 мкг 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата каждый день.

11. Способ индукции апоптоза в неоплазме у субъекта млекопитающего, страдающего от неопластического заболевания, включающий введение указанному субъекту эффективного количества 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата, и по меньшей мере одного из дексаметазона и холинтрисалицилата магния.

12. Композиция для профилактики или лечения неопластического заболевания у субъекта млекопитающего, содержащая эффективное количество 12-О-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или гидрата, и по меньшей мере одного из дексаметазона и холинтрисалицилата магния.