

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 422 556**

51 Int. Cl.:

A61K 31/425 (2006.01)

A61K 39/42 (2006.01)

A61K 31/426 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.01.2007 E 07717773 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2013 EP 1976516**

54 Título: **Tratamiento de hepatitis vírica**

30 Prioridad:

09.01.2006 US 757036 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.09.2013

73 Titular/es:

**ROMARK LABORATORIES, L.C. (100.0%)
3000 BAYPORT DRIVE SUITE 200
TAMPA, FL 33607-8416, US**

72 Inventor/es:

ROSSIGNOL, JEAN-FRANCOIS

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 422 556 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de hepatitis vírica

Derechos gubernamentales

5 El Gobierno de EE.UU. tiene ciertos derechos sobre esta invención conforme al contrato nº NO1-AI-30046 concedido por el NIAID.

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad en virtud del título 35 de la U.S.C. apartado 119 sobre la solicitud de patente provisional de Estados Unidos nº de serie 60/757.036, presentada el 9 de enero de 2006, cuya divulgación se incorpora como referencia a la presente memoria.

10 Campo técnico

La presente divulgación se refiere a métodos para tratar hepatitis vírica, a compuestos útiles en el tratamiento de hepatitis vírica y a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos.

Antecedentes

15 Hepatitis hace referencia a una variedad de afecciones que implican la inflamación del hígado. La hepatitis vírica, de la que existen varios tipos (por ejemplo, hepatitis A, B, C, D y E), es una inflamación del hígado debido a una infección vírica. Cada tipo de hepatitis vírica puede exhibir diferentes síntomas y puede caracterizarse por diferentes enfoques de tratamiento y prevención. Por ejemplo, se han desarrollado vacunas para hepatitis A y B, pero no para hepatitis C o E.

20 El objetivo principal del tratamiento de hepatitis C crónica es eliminar el ARN vírico detectable de la sangre. Los pacientes que carecen de ARN del virus de la hepatitis C detectable en la sangre 24 semanas después de completar la terapia tienen típicamente un pronóstico favorable y pueden considerarse curados del virus. Dicha condición es conocida como respuesta virológica mantenida. Para pacientes que no consiguen una respuesta virológica mantenida, puede haber otros beneficios más sutiles del tratamiento, tales como retardar la progresión de la cicatrización hepática (fibrosis).

25 El tratamiento del virus de la hepatitis C (HCV) implica comúnmente la administración de interferón inyectable (o interferón pegilado inyectable), ribavirina o una combinación de los mismos. El interferón α es una glucoproteína de origen natural que se secreta por las células en respuesta a infecciones víricas. Ejerce sus efectos mediante la unión a un receptor de membrana. La unión a receptor inicia una serie de acontecimientos de señalización intracelulares que conducen por último a una expresión potenciada de ciertos genes. Esto conduce al potenciamiento e inducción de ciertas actividades celulares incluyendo el aumento de la destrucción de células diana por linfocitos y la inhibición de la replicación vírica en células infectadas. La ribavirina es un nucleósido sintético que tiene actividad contra un amplio espectro de virus.

35 El interferón α , con o sin ribavirina, está asociado a muchos efectos secundarios. Síntomas de tipo gripe, depresión, erupciones, otras reacciones inusuales y recuentos sanguíneos anormales son ejemplos comunes de dichos efectos secundarios. La ribavirina está asociada a un riesgo significativo de desarrollo fetal anormal. Por consiguiente, las mujeres que estén potencialmente embarazadas no deberían empezar la terapia hasta obtener un informe de una prueba de embarazo negativa. Se aconseja a las pacientes femeninas que eviten quedarse embarazadas durante el tratamiento. Se aconseja a los pacientes que usan interferón α y ribavirina que se hagan análisis de sangre aproximadamente una vez al mes, y algo más frecuentemente al inicio del tratamiento. Ciertos grupos de pacientes no pueden tomar ribavirina, por ejemplo aquellos con anemia, enfermedad cardíaca o enfermedad renal. En dichos casos, se prescribe típicamente el interferón α pegilado solo. Se aconseja a algunos pacientes con hepatitis C (por ejemplo, pacientes que tienen también enfermedad hepática avanzada) que no tomen interferón α o interferón α pegilado debido al riesgo de efectos secundarios graves. Para dichos pacientes, no se reconoce como eficaz y seguro para tratar la hepatitis C ningún método anteriormente disponible de tratamiento.

45 Existe por lo tanto la necesidad en la materia de desarrollar un tratamiento eficaz de la hepatitis C. Un tratamiento ideal conseguiría una respuesta virológica mantenida en un amplio intervalo de pacientes. Dicho tratamiento emplearía agentes activos fácilmente disponibles y tendría efectos secundarios mínimos. Cuando se emplea la administración conjunta de interferón α , un tratamiento ideal requeriría cantidades reducidas de interferón α (concretamente, frecuencia de administración reducida, cantidad de administración reducida, o ambas) en comparación con el tratamiento tradicional.

Sumario de la divulgación

La presente invención está dirigida a abordar una o más de los inconvenientes anteriormente mencionados de los tratamientos conocidos para hepatitis C vírica.

En una realización entonces, la divulgación describe una composición para uso en el tratamiento de un paciente que padece hepatitis C. La composición para uso en el tratamiento de hepatitis C comprende un compuesto seleccionado de nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas.

5 En aún otra realización, la divulgación describe una composición para uso en un método de tratamiento de un paciente que padece hepatitis C. El método comprende pretratar el paciente durante un periodo de tiempo predeterminado con una primera composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado de nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas. El método comprende además administrar al paciente, después del periodo de tiempo predeterminado, una cantidad terapéuticamente eficaz de una segunda composición que comprende un agente activo seleccionado del grupo consistente en un interferón, un agente antidiabético, ribavirina y 2-metilcitolidina.

10 En aún otra realización, la divulgación describe una composición que comprende: (a) uno o más compuestos seleccionados de nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas, (b) un interferón y/o (c) un agente antidiabético.

Breve descripción de los dibujos

15 Las Figuras 1a y 1b son gráficas que ilustran la actividad sinérgica de nitazoxanida con interferón α -2b o 2'-C-metilcitolidina frente a la replicación de HCV en una estirpe celular que contiene replicón de HCV.

Las Figuras 2a y 2b son gráficas que ilustran la actividad sinérgica cuando se trata una estirpe celular que contiene replicón de HCV en primer lugar con nitazoxanida y entonces con nitazoxanida más interferón α -2b.

20 La Figura 3 es un diagrama del destino de los pacientes que muestra la selección de los participantes para el experimento descrito en el ejemplo 5.

La Figura 4, descrita en el ejemplo 5, es una gráfica que muestra los niveles de ARN de HCV séricos cuantitativos medios con el tiempo para diferentes grupos de tratamiento.

La Figura 5, descrita en el ejemplo 5, es una gráfica que muestra los niveles de ARN de HCV séricos cuantitativos con el tiempo para diferentes pacientes.

25 La Figura 6 es un diagrama del destino de los pacientes que muestra la selección de los participantes para el experimento descrito en el ejemplo 6.

La Figura 7, descrita en el ejemplo 6, es una gráfica que muestra el recuento de plaquetas frente al tiempo para pacientes administrados con interferón α -2b pegilado más cualquiera de Alinia® o un placebo.

30 La Figura 8, descrita en el ejemplo 6, es una gráfica que muestra el recuento de neutrófilos frente al tiempo para pacientes administrados con interferón α -2b pegilado más cualquiera de Alinia® o un placebo.

Descripción detallada de la invención

Definiciones y nomenclatura:

35 Antes de describir la presente invención con detalle, ha de entenderse que, a menos que se indique otra cosa, esta invención no está limitada a dosificaciones, formulaciones o métodos de uso particulares, ya que estos pueden variar. Ha de entenderse también que la terminología usada en la presente memoria es con el fin de describir solo realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante.

40 Debe observarse que, como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen los referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Por tanto, por ejemplo, “una forma de dosificación” hace referencia no solo a una sola forma de dosificación sino también a una combinación de dos o más formas de dosificación diferentes, “un agente activo” hace referencia a una combinación de agentes activos así como a un solo agente activo, y similares.

45 Como se usan en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, los términos “por ejemplo”, “tal como”, “incluyendo” y similares se pretende que introduzcan ejemplos que clarifiquen adicionalmente el tema en cuestión más genérico. A menos que se especifique otra cosa, estos ejemplos se proporcionan solo como ayuda para la comprensión de la invención, y no se pretende que sean limitantes en modo alguno.

50 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el significado entendido comúnmente por un experto en la materia a la que pertenece la invención. Aunque puede ser útil cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente memoria en la práctica o ensayo de la presente invención, se describen a continuación los métodos y materiales preferidos. Se define a continuación la terminología específica de importancia particular para la descripción de la presente invención.

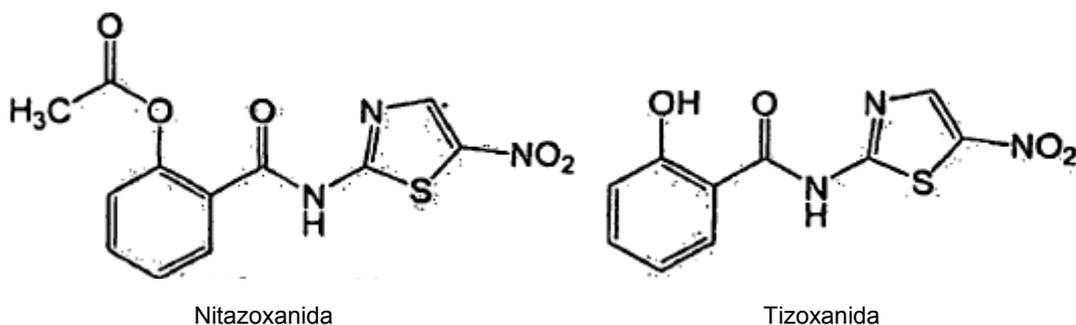
5 Cuando se hace referencia a un compuesto de la invención, y a menos que se especifique otra cosa, el término “compuesto” se pretende que abarque no solo la entidad molecular especificada, sino también sus análogos farmacéuticamente aceptables y farmacológicamente activos incluyendo, pero sin limitación, sales, polimorfos, ésteres, amidas, profármacos, aductos, conjugados, metabolitos activos y similares, cuando dichas modificaciones de la entidad molecular sean apropiadas.

Los términos “tratar” y “tratamiento” como se usan en la presente memoria hacen referencia a la reducción de la gravedad y/o frecuencia de los síntomas, a la eliminación de los síntomas y/o la causa subyacente, a la prevención de la aparición de los síntomas y/o su causa subyacente (por ejemplo, terapia profiláctica), a la mejora o remedio del daño o a la reducción de la intensidad de la infección.

10 Se entiende por los términos “cantidad eficaz” y “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto de la invención una cantidad no tóxica, pero suficiente, del fármaco o agente para proporcionar el efecto deseado.

15 Se entiende por “farmacéuticamente aceptable” un material que no sea biológicamente o de otro modo indeseable, concretamente, que el material pueda incorporarse a una composición farmacéutica administrada a un paciente sin causar efectos biológicos indeseables ni interactuar de manera perjudicial con ningún otro de los componentes de la composición en la que está contenido. Cuando se usa el término “farmacéuticamente aceptable” para hacer referencia a un portador o excipiente farmacéutico, esto implica que el portador o excipiente satisface los estándares requeridos de ensayo toxicológico y de fabricación o que está incluido en la “Inactive Ingredient Guide” preparada por la Food and Drug Administration de EE.UU.

20 Se entiende por “paciente” o “sujeto” cualquier animal cuyo tratamiento sea deseable. Los pacientes pueden ser mamíferos y, típicamente como se usa en la presente memoria, un paciente es un individuo humano.



25 Pueden incluirse uno o más agentes activos adicionales en las composiciones farmacéuticas y tratamientos descritos en la presente memoria. En una realización, el agente activo adicional es eficaz para tratar la hepatitis. Por ejemplo, las composiciones pueden incluir uno o más agentes terapéuticos adicionales útiles en el tratamiento de la hepatitis C tales como ribavirina y agentes inmunoestimulantes tales como interferones, incluyendo interferón α -2b, un derivado de interferón α -2b tal como una forma conjugada con polietilenglicol de interferón α -2b, interferón α -2a o interferón alfacon-1. Los ejemplos específicos incluyen también Omega IFN (BioMedicines Inc., Emeryville, CA); BILN-2061(Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania); Symmetrel (Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA); Roferon A, Pegasys, Pegasys y ribavirina y CellCept (F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza); Wellferon (GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, RU); Albuferon- α (Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD); levovirina (ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA); IDN-6556 (Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA); IP-501 (Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA); Actimmune (InterMune Inc., Brisbane, CA); Infergen A (InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA); ISIS 14803 (ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., Nueva York, NY); JTK-003 (Japan Tobacco Inc., Tokio, Japón); Ceplene, Pegasys y Ceplene (Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA); Civacir (Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL); Intron A y Zadaxin (RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA); levovirina, viraamidina (Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA); Heptazyme (Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO); Intron A, PEG-Intron, Rebetrón, ribavirina, PEG-Intron/ribavirina (Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ); Zadaxim (SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA); Rebif (Serono, Ginebra, Suiza); IFN- β y EMZ701 (Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá); T67 (Tularik Iric., South San Francisco, CA); VX-497 (Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA); VX-950/LY-570310 (Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/Eli-Lilly and Co. Inc., Indianápolis, IN); Omniferon (Viragen Inc., Plantation, FL) y XTL-002 (Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Isreal).

45 Además, o en lugar de, agentes antihepatíticos, las composiciones farmacéuticas y métodos descritos en la presente memoria pueden comprender uno o más agentes activos adicionales según sea apropiado. Los agentes activos adicionales incluyen aquellos eficaces para tratar trastornos del sistema endocrino tales como diabetes e hiperinsulinemia. Los ejemplos de agentes antidiabéticos incluyen insulina, pramlintida, exenatida, sulfonilureas (por ejemplo, clorpropamida, glipizida, gliburida, glimepirida), meglitinidas (por ejemplo, repaglinida, nateglinida), biguanidas (por ejemplo, metformina), tiazolidindionas (por ejemplo, rosiglitazona, troglitazona, pioglitazona) e inhibidores de α -glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, meglitol). Dichos agentes activos pueden administrarse antes de o simultáneamente a la administración de los compuestos dados a conocer en la presente memoria para regular

los niveles plasmáticos de insulina. Cuando se administran simultáneamente, dichos agentes activos adicionales pueden administrarse como parte de la misma formulación con los compuestos dados a conocer en la presente memoria o pueden administrarse en una formulación separada. De forma similar, pueden usarse también otros agentes activos, tales como aquellos eficaces para tratar enfermedades del hígado, con los compuestos dados a conocer en la presente memoria.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la divulgación que son adecuados para los usos descritos en la presente memoria pueden comprender también un portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden depender, por ejemplo, del método de administración de las composiciones, como se apreciará por un experto en la materia.

Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos o mezclas de los mismos. Los portadores farmacéuticamente aceptables son materiales tales como aglutinantes, lubricantes, disgregantes, cargas, tensioactivos, emulsionantes, agentes colorantes y similares. Los aglutinantes se usan para conferir cualidades cohesivas, y por tanto aseguran que la composición permanezca intacta (por ejemplo, como un implante o comprimido). Los materiales aglutinantes adecuados incluyen, pero sin limitación, matrices poliméricas, hidrogeles, almidón (incluyendo almidón de maíz y almidón pregelatinizado), gelatina, azúcares (incluyendo sacarosa, glucosa, dextrosa y lactosa), polietilenglicol, ceras y gomas naturales y sintéticas, por ejemplo goma arábiga, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, polímeros celulósicos (incluyendo hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, celulosa microcristalina, etilcelulosa, hidroxietilcelulosa y similares) y Veegum. Los lubricantes se usan para facilitar la fabricación, promover el flujo de polvo y evitar el decapado de partículas (concretamente, la rotura de partículas) cuando se alivia la presión. Son lubricantes útiles estearato de magnesio, estearato de calcio y ácido esteárico. Los disgregantes se usan para facilitar la disgregación de la composición, y son generalmente almidones, arcillas, celulosas, alginas, gomas o polímeros reticulados. Las cargas incluyen, por ejemplo, materiales tales como dióxido de silicio, dióxido de titanio, alúmina, talco, caolín, celulosa en polvo y celulosa microcristalina, así como materiales solubles tales como manitol, urea, sacarosa, lactosa, dextrosa, cloruro de sodio y sorbitol. Los tensioactivos son agentes humectantes y pueden incluir materiales iónicos tales como sales de ácidos grasos y materiales no iónicos tales como PLURONICS™ (tales como F-127, L-122, L-101, L-92, L-81 y L-61).

Por ejemplo, el portador farmacéuticamente aceptable para las composiciones dadas a conocer en la presente memoria puede comprender uno o más polímeros biocompatibles. Se entiende por "biocompatible" un material que no desencadena una respuesta adversa cuando se somete a un entorno biológico tal como la implantación o inyección *in vivo*. Además, en una realización, los materiales biocompatibles no desencadenan una respuesta inmunitaria cuando se administran *in vivo*. A menos que se afirme otra cosa, los materiales biocompatibles incluyen materiales que son bioerosionables, biodegradables y bioabsorbibles.

Los portadores poliméricos tales como polímeros biocompatibles pueden ser homopolímeros o copolímeros de cualquiera de las unidades monoméricas descritas en la presente memoria. Además, los copolímeros no están limitados a ninguna arquitectura específica, y pueden consistir en copolímeros aleatorios, alternados, de bloque (incluyendo multibloque), de estrella, de peine, de injerto y de tipo dendrímérico, así como combinaciones de los mismos. Las mezclas de más de un polímero bioerosionable están también dentro del alcance de esta divulgación. Se apreciará que los polímeros reticulados y reticulables pueden usarse a condición de que dicha reticulación no afecte adversamente a la capacidad del material de formar las composiciones descritas en la presente memoria (por ejemplo, la capacidad del material de bioerosionarse). Por ejemplo, pueden estar presentes reticulaciones reversibles (en las que las reticulaciones comprenden enlaces intermoleculares no covalentes y/o débilmente covalentes) antes de la administración de las composiciones, o dichos enlaces pueden formarse *in vivo*.

Los polímeros bioerosionables adecuados pueden comprender poliortoésteres, polilactonas tales como poli- ϵ -caprolactona y poli- γ -caprolactona, polilactidas, poli(ácido láctico), poliglicólidos, poli(ácido glicólico), poli(tereftalato de etileno), poli(ácido butírico), poli(ácido valérico), polímeros de anhídridos, poli(alcohol vinílico), poli(vinilacetato de etileno), polímeros de ácido α -hidroxicarboxílico y derivados de los mismos, albúmina, colágeno, gelatina, ácido hialurónico, almidón, celulosa y derivados de celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, celulosa acetato ftalato, celulosa acetato succinato, hidroxipropilmetilcelulosa ftalato), caseína, dextranos, polisacáridos, fibrinógeno, copolímeros multibloque de poliéster, poliésteres tales como polietilenglicol y poli(tereftalato de butileno), policarbonatos derivados de tirosina, polihidroxiácidos, polihidroxibutirato, polidioxanona, polialquilcarbonato, poli(ácido hidroxivalérico), polidioxanona, poliésteres degradables, poli(ácido málico), poli(ácido tartrónico), poli(acrilamidas, polifosfacenos, poliaminoácidos, copolímeros de bloque de poli(óxido de alquileo)-poliéster, poli(ácido hidroxibutírico), poli- β -butirolactona, poli- γ -butirolactona, poli- γ -valerolactona, poli-d-decanolactona, poli(carbonato de trimetileno), poli-1,4-dioxan-2-ona o poli-1,5-dioxepan-2-ona o combinaciones de los mismos (concretamente, copolímeros de las unidades monoméricas constituyentes, mezclas, etc.).

Los ejemplos de polímeros biodegradables incluyen polímeros sintéticos tales como polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poliortoésteres, poliuretanos, poli(ácido butírico), poli(ácido valérico) y poli(lactida-co-caprolactona) y polímeros naturales tales como alginato y otros polisacáridos, incluyendo dextrano y celulosa, colágeno, derivados químicos de los mismos (sustituciones o adiciones de grupos químicos, por ejemplo alquilo o alquileo, hidroxilaciones, oxidaciones y otras modificaciones realizadas rutinariamente por los expertos en la

materia), albúmina y otras proteínas hidrófilas, zeína y otras prolaminas y proteínas hidrófobas, copolímeros y mezclas de los mismos. En generales, estos materiales se degradan por hidrólisis enzimática o bien exposición a agua *in vivo*, mediante erosión en superficie o en volumen.

5 Los componentes de una composición pueden distribuirse homogéneamente por todo el portador farmacéuticamente aceptable o pueden existir regiones localizadas de gradientes de concentración. Se entienden incluidos en "distribución homogénea" los casos de homogeneidad molecular así como homogeneidad volumétrica o macroscópica. Por ejemplo, el agente activo puede distribuirse homogéneamente a nivel molecular (como para un soluto distribuido homogéneamente en un disolvente) o a nivel macroscópico (como para partículas discretas de agente activo distribuidas homogéneamente por todo el portador). Los componentes de una composición pueden estar unidos (covalentemente o de otro modo, incluyendo fisisorbidos, asociados iónicamente y similares) al portador farmacéuticamente aceptable.

15 Para composiciones administradas como formas de dosificación acuosas u otras basadas en disolvente (por ejemplo, para administración parenteral), puede usarse una variedad de portadores líquidos. Las disoluciones acuosas pueden incluir sales, tampones y similares. Los portadores líquidos no acuosos incluyen, por ejemplo, aceites grasos tales como aceite de oliva y aceite de maíz, ésteres de ácido graso sintéticos tales como oleato de etilo o triglicéridos, alcoholes de bajo peso molecular tales como propilenglicol, polímeros hidrófilos sintéticos tales como polietilenglicol, liposomas y similares.

20 Además de uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, las composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos dados a conocer en la presente memoria y son adecuados para los usos descritos en la presente memoria pueden comprender también uno o más componentes adicionales. Los componentes adicionales incluyen, por ejemplo, sales, tampones, potenciadores de la penetración, acelerantes de la absorción, materiales formadores de gel tales como polímeros, auxiliares de visualización, agentes dispersantes, estabilizantes, excipientes y plastificantes.

25 Los tampones son compuestos o disoluciones que se emplean para ayudar a mantener la concentración de un analito dentro de un intervalo deseado. Por ejemplo, los tampones de pH farmacéuticamente aceptable se usan para mantener la acidez o basicidad de una disolución dentro de un intervalo farmacéuticamente aceptable. Los tampones para uso en las composiciones dadas a conocer en la presente memoria pueden ser cualquier tampón conocido o descubierto más adelante.

30 Los potenciadores de la penetración incluyen compuestos que posibilitan o potencian la permeación de composiciones a través de límites tales como membranas. Pueden encontrarse ejemplos de potenciadores de la penetración en la bibliografía relevante (por ejemplo, "Percutaneous Penetration Enhancers", Smith and Maibach, eds., CRC Press, Nueva York NY, 2005) e incluyen derivados de ciclohexanona, monoterpenos cíclicos, pirrolidonas, dioxolanos, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona (Azone), dimetilsulfóxido (DMSO) y limoneno.

35 Los materiales formadores de gel pueden ser polímeros o no polímeros, y son generalmente capaces de formar una red gelatinosa. En una realización, los materiales formadores de gel son capaces de formar geles *in vivo*, mientras que en otras realizaciones, la formación de gel tiene lugar *ex vivo*. Los ejemplos de materiales formadores de gel incluyen colágeno, quitosano, pectinas, ácido hialurónico y similares.

Los agentes dispersantes son tensioactivos (por ejemplo, como se describen en la presente memoria) en combinación con un disolvente tal como agua.

40 Los plastificantes son compuestos usados para plastificar (concretamente reblandecer) plástico y otros materiales. Los ejemplos incluyen propilenglicol, citrato de acetiltributilo, citrato de acetiltrietilo, salicilato de *p-terc*-butilfenilo, estearato de butilo, glicolato de butilftalilbutilo, sebacato de dibutilo, ftalato de di-(2-etilhexilo), ftalato de dietilo, adipato de diisobutilo, ftalato de diisooctilo, fosfato de difenil-2-etilhexilo, aceite de soja epoxidado, glicolato de etilftaliletilo, monooleato de glicerol, citrato de monoisopropilo, citrato de mono-, di- y triestearilo, triacetina (triacetato de glicerol), citrato de trietilo y 3-(2-xenilil)-1,2-epoxipropano.

Los excipientes son ingredientes inactivos que pueden emplearse en las composiciones descritas en la presente memoria por una variedad de razones. Se describe un amplio intervalo de excipientes en la bibliografía (por ejemplo, Rowe *et al.*, "Handbook of Pharmaceutical Excipients", McGraw Hill, 2006).

50 Los auxiliares de visualización son compuestos que ayudan a la visualización de la composición de suministro de fármaco o de cualquiera de los componentes de la misma mediante un método de visualización tal como fluoroscopia, formación de imágenes por resonancia magnética (IRM), luz visible, ultrasonidos o radiografía. Puede usarse en las composiciones dadas a conocer en la presente memoria cualquier auxiliar de visualización conocido en la materia.

55 En un aspecto, las composiciones de la presente divulgación incluyen uno o más conservantes o agentes bacteriostáticos, presentes en una cantidad eficaz para conservar la composición y/o inhibir el crecimiento bacteriano en la composición. Los ejemplos incluyen tribromofenato de bismuto, hidroxibenzoato de metilo, bacitracina, hidroxibenzoato de etilo, hidroxibenzoato de propilo, eritromicina 5-fluorouracilo, metotrexato, doxorubicina,

mitoxantrona, rifamicina, clorocresol, cloruros de benzalconio, ésteres de ácido paraoxibenzoico, clorobutanol, alcohol bencílico, alcohol fenetílico, ácido deshidroacético, ácido sórbico y similares.

5 Los estabilizantes incluyen compuestos tales como antioxidantes, y se usan para inhibir o retardar las reacciones de descomposición que incluyen, a modo de ejemplo, reacciones oxidativas. Los ejemplos de estabilizante incluyen hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), ácido ascórbico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), compuestos derivados de tocofenol tales como α -tocoferol, sulfitos, *terc*-butilhidroquinona, ácido cítrico, ácido acético y pectina.

10 Las composiciones dadas a conocer en la presente memoria o los precursores de las mismas pueden contener además agentes porosígenos que consiguen un mayor área superficial de, por ejemplo, un implante o comprimido. Los ejemplos de agentes porosígenos incluyen sales inorgánicas, sacarosa, tensioactivos, polímeros de bajo peso molecular, polímeros de degradación rápida, precipitados poliméricos termorreversibles, burbujas de gas y burbujas de cavitación.

15 La cantidad de agente activo (así como otros ingredientes activos, cuando estén presentes) en las composiciones dadas a conocer en la presente memoria dependerá de una serie de factores y variará de sujeto a sujeto. Dichos factores resultarán evidentes para un experto en la materia y pueden incluir el trastorno o afección particular que se esté tratando, el modo de administración, la gravedad de los síntomas, la edad del paciente, el peso y estado general y el criterio del facultativo a cargo.

20 En una realización, los compuestos descritos en la presente memoria son útiles en un método mejorado de tratamiento de hepatitis C con un interferón, en los que la mejora comprende administrar una cantidad eficaz de nitazoxanida, tizoxanida o mezclas de las mismas a un sujeto necesitado de ello. Mediante esta mejora, aumenta el porcentaje de sujetos que exhiben ARN de HCV sérico reducido en comparación con el uso en un método de tratamiento de hepatitis C con interferón o una combinación de ribavirina e interferón. Además, la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta virológica mantenida en el paciente puede reducirse en comparación con la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta virológica mantenida en el paciente sin la administración de nitazoxanida, tizoxanida o mezclas de las mismas. Además, la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta virológica mantenida en el paciente puede reducirse en comparación con la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta virológica mantenida en el paciente cuando se trata con una combinación de ribavirina e interferón. En una realización, se proporciona una composición para uso en un método de tratamiento de un paciente que padece hepatitis C que comprende pretratar el paciente usando nitazoxanida y/o tizoxanida antes de tratar con un interferón (tal como cualquier de los inteferones descritos en la presente memoria). Se describen con más detalle a continuación ejemplos específicos de esta y otras realizaciones.

35 La nitazoxanida, tizoxanida y mezclas de las mismas son particularmente eficaces en el tratamiento de hepatitis C. Al tratar la hepatitis C con nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas, puede ser posible reducir la cantidad de interferón necesaria para un tratamiento eficaz, aunque dicha reducción no es necesaria. Puede ser también posible evitar el uso de ribavirina completamente, aunque esto tampoco es necesario. Pueden obtenerse estos beneficios aumentando simultáneamente el porcentaje de sujetos que responden favorablemente en términos de reducción del ARN de HCV sérico. Por tanto, la presente divulgación describe el uso en un método de tratamiento de hepatitis C de nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas.

40 La administración de las composiciones descritas en la presente memoria puede llevarse a cabo usando cualquier modo de administración y forma de dosificación apropiados. Por tanto, la administración puede ser, por ejemplo, oral, ocular, bucal, rectal, tópica, parenteral, transdérmica, transmucosa, sublingual, por inhalación (usando composiciones sólidas o líquidas) o mediante un depósito implantado en una forma de dosificación. Se apreciará que la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y gravedad de la afección que se esté tratando y de la naturaleza de la forma particular de compuesto de fórmula I que se esté usando. El término "parenteral" como se usa en la presente memoria se pretende que incluya, por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intradérmica e intramuscular. El término "transmucosa" como se usa en la presente memoria se pretende que incluya, por ejemplo, administración rectal, vaginal, bucal, sublingual y peniana. El término "inhalación" como se usa en la presente memoria se pretende que incluya inhalación por la nariz o la boca, e incluye casos en los que la absorción de la composición ocurre en los pulmones así como, por ejemplo, las membranas mucosas de boca, nariz y garganta. La administración por implantes se pretende que incluya implantes fijados en cualquier lugar o colocados en cualquier lugar dentro del cuerpo, incluyendo en cavidades corporales (por ejemplo, implantes intraperitoneales, implantes intraoculares, implantes en articulaciones, etc.), en órganos y subcutáneos.

55 Dependiendo del modo de administración pretendido, la composición farmacéutica puede ser un sólido, semisólido o líquido tal como, por ejemplo, un comprimido, una cápsula, un comprimido oblongo, un aerosol, un líquido, una suspensión, una emulsión, una crema, un gel, un supositorio, gránulos, aglomerados, perlas, una película, un polvo, una esponja o similares.

En una realización, la composición comprende una forma de dosificación unitaria adecuada para la administración única de una dosificación precisa. En otra realización, la composición comprende un depósito tal como en un implante capaz de un suministro controlado de la composición con el tiempo.

5 Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación adecuadas pueden prepararse usando métodos convencionales conocidos por los expertos en el campo de la formulación farmacéutica y descritos en los textos y bibliografía pertinentes, por ejemplo, en "Remington: The Science and Practice of Pharmacy" (Easton, PA: Mack Publishing Co., 1995). Se proporciona a continuación una descripción de algunas, pero no todas, las formas de dosificación adecuadas.

10 Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, sellos, trociscos o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula I; como polvo o gránulos; como disolución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como emulsión de aceite en agua o agua en aceite. Dichas formulaciones pueden prepararse mediante cualquier método adecuado de farmacia que incluya la etapa de poner en asociación el compuesto activo y un portador adecuado (que puede contener uno o más ingredientes accesorios).

15 Los comprimidos pueden fabricarse usando procedimientos y equipos de procesamiento de comprimidos estándares. Además de reversina, los comprimidos contendrán generalmente materiales portadores inactivos farmacéuticamente aceptables como se describe en la presente memoria. Las cápsulas adecuadas pueden ser duras o blandas y están generalmente hechas de gelatina, almidón o un material celulósico, prefiriéndose las cápsulas de gelatina. Las cápsulas de gelatina duras de dos piezas están preferiblemente selladas, tal como con
20 bandas de gelatina o similares. Véase, por ejemplo: "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", citado anteriormente, que describe materiales y métodos para preparar productos farmacéuticos encapsulados. Las formas de dosificación oral, tanto comprimidos, cápsulas, comprimidos oblongos como partículas, pueden formularse, si se desea, para proporcionar una liberación mantenida gradual del agente activo durante un periodo extenso de tiempo. Por ejemplo, como se apreciará por los expertos en la materia, pueden formularse formas de dosificación
25 dispersando el agente activo en una matriz de un material gradualmente hidrolizable tal como un polímero hidrófilo, o recubriendo una forma de dosificación sólida que contiene fármaco con dicho material. Es un ejemplo de una forma de dosificación preferida Alinia® (véanse el inserto del envase de Alinia® y/o las patentes de EE.UU. n° 5.387.598, 5.578.621, 5.968.961, 5.856.348, 5.859.138, 5.886.013, 5.965.590, 6.020.353 y 6.117.894). Ha de entenderse que, a menos que se especifique otra cosa, en la presente divulgación (incluyendo los ejemplos y reivindicaciones) cualquier referencia realizada a Alinia® se proporciona solo como ejemplo, y no se pretende que sea limitante. Por tanto, dichas referencias se pretende que se apliquen igualmente a otras formulaciones que comprenden nitazoxanida, tizoxanida y/o compuestos que tienen la estructura de fórmula I.

30 Las formulaciones adecuadas para administración bucal (por ejemplo, sublingual) incluyen trociscos que comprenden un compuesto de fórmula I en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; y pastillas que comprenden el compuesto en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica.

Las preparaciones según esta divulgación adecuadas para administración parenteral incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones acuosas y no acuosas estériles. Dichas preparaciones son preferiblemente isotónicas con la sangre del receptor pretendido. Las disoluciones acuosas inyectables pueden contener el agente activo en forma hidrosoluble o pueden contener una suspensión o emulsión del agente activo. Se describen ejemplos de disolventes o vehículos no acuosos en la presente memoria. Las formulaciones parenterales pueden contener también coadyuvantes tales como solubilizantes, conservantes, agentes humectantes, emulsionantes, dispersantes y estabilizantes, y las suspensiones acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol y dextrano. Las composiciones inyectables pueden
45 volverse estériles, por ejemplo, mediante la incorporación de un agente esterilizante, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, irradiación o calor. Pueden fabricarse también usando un medio inyectable estéril. Cualquier agente activo presente en las composiciones puede estar también en forma secada, por ejemplo liofilizada, que puede rehidratarse con un vehículo adecuado inmediatamente antes de la administración por inyección. Las preparaciones parenterales se administran preferiblemente por vía intravenosa, aunque la administración puede efectuarse también mediante inyección subcutánea, intramuscular o intradérmica. En una realización, dichas preparaciones se preparan mezclando el compuesto con agua o un tampón de glicina y volviendo la disolución resultante estéril e isotónica con la sangre.

50 Las composiciones dadas a conocer en la presente memoria pueden administrarse también a través de la piel usando sistemas de suministro de fármaco transdérmicos convencionales, en los que el agente activo está contenido en una estructura laminada que sirve como dispositivo de suministro de fármaco para fijar a la piel. En dicha estructura, la composición de agente activo está contenida en una capa, o "depósito", por debajo de una capa de soporte superior. La estructura laminada puede contener un solo depósito o puede contener múltiples depósitos. En una realización, el depósito comprende una matriz polimérica de un material adhesivo de contacto farmacéuticamente aceptable que sirve para fijar el sistema a la piel durante el suministro de fármaco. Como
60 alternativa, el depósito que contiene agente activo y adhesivo de contacto dérmico están presentes como capas separadas y distintas, encontrándose el adhesivo por debajo del depósito que, en este caso, puede ser una matriz

polimérica como se describe anteriormente o puede ser un depósito de líquido o hidrogel, o puede tomar alguna otra forma. Los sistemas de suministro de fármaco transdérmicos pueden contener además un potenciador de la permeación cutánea. Las formulaciones para administración transdérmica pueden suministrarse también por iontoforesis (véase, por ejemplo, Pharmaceutical Research 3(6), 318, (1986) y las formulaciones adecuadas toman típicamente la forma de una disolución acuosa opcionalmente tamponada de un compuesto de fórmula I. Las formulaciones adecuadas comprenden, por ejemplo, tampón citrato o bis/tris (pH 6) o etanol/agua y contienen de 0,1 a 0,2 M de ingrediente activo.

Las composiciones dadas a conocer en la presente memoria pueden administrarse también por vía tópica usando formas de dosificación tópica convencionales, en las que el agente activo está contenido en un portador. Las formas de dosificación adecuadas para aplicación tópica incluyen, a modo de ejemplo, cremas, pastas, gelatinas, geles, pomadas, líquidos, aerosoles, aceites, lociones, espumas, suspensiones y emulsiones. Los portadores que pueden usarse incluyen vaselina, lanolina, polietilenglicoles, alcoholes y combinaciones de dos o más de los mismos.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos pueden formularse también como preparación de efecto prolongado para la liberación controlada del agente activo, preferiblemente liberación mantenida durante un extenso periodo de tiempo. Estas formas de dosificación de liberación mantenida pueden administrarse por implante (por ejemplo, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular o por inyección intramuscular).

Las formulaciones adecuadas para administración rectal se presentan preferiblemente como supositorios de dosis unitaria. Estos pueden prepararse mezclando con uno o más portadores sólidos convencionales, por ejemplo manteca de cacao, y conformando entonces la mezcla resultante.

Aunque las composiciones dadas a conocer en la presente memoria se administrarán generalmente por vía oral, parenteral, transdérmica o por implante de efecto prolongado, son también adecuados otros modos de administración. Por ejemplo, la administración puede ser rectal o vaginal, preferiblemente usando un supositorio que contiene, además del agente activo, excipientes tales como una cera de supositorio. Las formulaciones para administración nasal o sublingual se preparan también con excipientes estándares bien conocidos en la materia. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse también para inhalación, por ejemplo, como disolución en solución salina, como polvo seco o como aerosol.

Se apreciará que las composiciones dadas a conocer en la presente memoria pueden prepararse y envasarse como unidades de dosificación única, tales como para administración oral (por ejemplo, comprimidos). Las formulaciones pueden prepararse y envasarse también como formulaciones de dosis múltiple, o como dosificaciones adecuadas para administración a largo plazo, tal como para administración tópica (por ejemplo, cremas), administración transmembrana (por ejemplo, parches) o implantes.

Los compuestos dados a conocer en la presente memoria pueden administrarse durante cualquier periodo de tiempo adecuado para el uso pretendido. La administración de los compuestos dados a conocer en la presente memoria se llevará a cabo típicamente durante un periodo de aproximadamente 3 días a aproximadamente 104 semanas, pero puede llevarse a cabo durante un periodo de más de 104 semanas y puede llevarse a cabo incluso indefinidamente. Por ejemplo, el tratamiento de la hepatitis C usando los compuestos dados a conocer en la presente memoria implicará típicamente la administración de los compuestos durante un periodo de 12, 24 o 48 semanas.

Puede usarse cualquier dosificación y régimen apropiados para los compuestos dados a conocer en la presente memoria y las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos. En una realización, se administra un compuesto de la invención junto con un agente activo adicional tal como, por ejemplo, un interferón tal como cualquiera de los interferones descritos en la presente memoria. El compuesto y el agente activo adicional (por ejemplo, un interferón) pueden administrarse como parte de la misma composición, o pueden administrarse en composiciones separadas (incluyendo en composiciones separadas que varían en forma de dosificación, perfil de liberación y similares).

En una realización, se pretrata en primer lugar un paciente que padece hepatitis C con nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas. La duración del periodo de pretratamiento puede ser de entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 6 meses, por ejemplo de entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 12 semanas, y como ejemplo adicional de entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 4 semanas. El periodo de pretratamiento es seguido posteriormente por un periodo de tratamiento en el que el paciente pretratado se trata con cualquiera de un interferón solo o un interferón más nitazoxanida, tizoxanida o cualquiera de los compuestos que tienen la fórmula estructural I. Puede usarse cualquiera de los interferones descritos en la presente memoria durante el periodo de tratamiento. La duración del periodo de tratamiento será de cualquier duración que sea necesaria para obtener la respuesta deseada, y estará típicamente entre aproximadamente 1 día y aproximadamente 12 meses o más. Por ejemplo, el periodo de tratamiento puede comprender inyecciones semanales de un interferón, y puede implicar una sola semana de tratamiento, 2-4 semanas de tratamiento, 4-12 semanas de tratamiento o más (tal como 6 meses, 1 año, 2 años o indefinidamente).

Los ejemplos de regímenes que son adecuados para la administración de los compuestos dados a conocer en la presente memoria incluyen los siguientes: 24 semanas de administración de nitazoxanida seguido de 12 semanas

de administración de una composición que comprende nitazoxanida e interferón α -2b o interferón α -2b pegilado; 2-4 semanas de administración de nitazoxanida seguido de 12 semanas de administración de una composición que comprende nitazoxanida e interferón α -2b pegilado; la administración de una composición que comprende nitazoxanida + interferón α -2b pegilado durante 12, 24 o 48 semanas y 12, 24 o 48 semanas de administración de nitazoxanida, tizoxanida o combinaciones de las mismas. Se apreciará que dichos regímenes se proporcionan solo como ejemplos, ya que variarán las duraciones, dosificaciones y órdenes de administración adecuadas. Los regímenes apropiados se determinarán típicamente por un médico.

Se apreciará que las dosificaciones pueden variar, y se seleccionarán típicamente para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz del agente activo al paciente. En un ejemplo, una dosificación puede estar en el intervalo de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 2000 mg, o en el intervalo de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 1000 mg, o preferiblemente de aproximadamente 500 mg. En otro ejemplo específico, se elige una dosificación apropiada para conseguir y mantener un nivel sanguíneo de agente activo (por ejemplo, nitazoxanida) en el paciente que sea de entre aproximadamente 0,1 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 10 $\mu\text{g/ml}$, preferiblemente de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$.

Los métodos de preparación de las composiciones dadas a conocer en la presente memoria resultarán evidentes para un experto en la materia. En una realización, las formulaciones de la divulgación pueden prepararse mezclando uniforme e íntimamente el compuesto activo con un portador líquido o sólido finamente dividido, o ambos y entonces, si es necesario, conformando la mezcla resultante. Por ejemplo, puede prepararse un comprimido comprimiendo o moldeando un polvo recubierto o no recubierto o gránulos recubiertos o no recubiertos que contienen el compuesto activo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos por compresión pueden prepararse comprimiendo, en una máquina adecuada, el compuesto en una forma fluida, tal como un polvo o gránulos opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte y/o agente o agentes tensioactivos/dispersantes. Los comprimidos moldeables pueden prepararse moldeando, en una máquina adecuada, el compuesto en polvo humedecido con un aglutinante líquido inerte.

La presente divulgación proporciona también kits para lograr dicho tratamiento como se describe en la presente memoria. Los kits comprenden: (i) una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula; (ii) uno o más portadores y/o aditivos farmacéuticamente aceptables y (iii) instrucciones de uso (por ejemplo, en el tratamiento de la hepatitis).

Como se usa en la presente memoria, la frase "instrucciones de uso" significará cualquier instrucción en el etiquetado obligada por la FDA, o insertos de envase, que se refieran a la administración de un compuesto de la invención con el fin de tratar la hepatitis C. Por ejemplo, las instrucciones de uso pueden incluir, pero sin limitación, indicaciones para la enfermedad particular, identificación de síntomas específicos de la enfermedad específica que pueden mejorarse por los compuestos reivindicados y las cantidades de dosificación recomendadas para los sujetos que padecen la enfermedad. El kit de la presente invención comprende además una cantidad de dosificación unitaria del compuesto eficaz para tratar la hepatitis.

Ejemplos

Ejemplo 1

Actividad frente a la replicación de hcv

Se valoró la actividad antivírica de nitazoxanida, tizoxanida, interferón α , ribavirina y 2'-C-metilcitidina en cinco estirpes celulares de replicación de HCV diferentes: (1) AVA5, un constructo subgenómico de genotipo 1b (Blight *et al.*, 2000, Science 290: 1972-1974); (2) H/FL-Neo, un constructo completo de genotipo 1a (Blight *et al.*, 2003, Journal of Virology 77: 3181-3190); (3) JWT, un constructo subgenómico de genotipo 1b (Pfeiffer y Kirkegaard, 2005, Journal of Virology, 79: 2346-2355); (4) 4-3-10, un constructo subgenómico de genotipo 1b, desarrollado por un protocolo que implicaba pases sucesivos de células JWT por 100 μM durante un mes seguido de ribavirina 400 μM durante dos semanas (Pfeiffer y Kirkegaard, 2005, Journal of Virology, 79: 2346-2355); y (5) RP7, un constructo subgenómico de genotipo 1b (Elazar *et al.*, 2003, Journal of Virology 77: 6055-6061).

Se determinó la actividad antivírica para cada compuesto de ensayo como se describe anteriormente (Okuse *et al.*, 2005, Antiviral Research 65: 23-34). Brevemente, se mantuvieron estirpes celulares de replicación como cultivos subconfluentes en placas de 96 pocillos. Se añadieron compuestos diariamente durante 3 días en medio reciente. 24 horas después de la última dosis de compuesto, se determinó la actividad antivírica mediante análisis de hibridación de transferencia de ARN de HCV intracelular, y se valoró la citotoxicidad mediante la captación del tinte rojo neutro. Se calcularon CE_{50} , CE_{90} , CC_{50} y el índice de selectividad para cada compuesto ensayado en una estirpe celular de replicación. CE_{50} = concentración de fármaco que produce un 50% de reducción del ARN de HCV intracelular respecto a los niveles medios en cultivos no tratados. CE_{90} = concentración de fármaco que produce un 90% de reducción del ARN de HCV intracelular respecto a los niveles medios en cultivos no tratados. CC_{50} = concentración de fármaco que produce un 50% de reducción de la captación de tinte rojo neutro respecto a los niveles medios en cultivos no tratados. Índice de selectividad= CC_{50} dividido entre CE_{50} . Se calcularon los valores de CE_{50} , CE_{90} y CC_{50} (\pm desviación estándar [DE]) mediante análisis de regresión lineal usando datos combinados de todos los cultivos

tratados. Se calcularon los valores medianos de CE_{50} y CE_{90} para cada compuesto basándose en los resultados determinados para las cinco estirpes celulares de replicón diferentes.

Se proporcionaron nitazoxanida y tizoxanida por Romark Laboratories, L.C. (Tampa, FL, EE.UU.). Se adquirió interferón α -2b recombinante en PBL Biomedical Laboratories (Piscataway, NJ, EE.UU.). Se adquirió la ribavirina en Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE.UU.). Se adquirió la 2'-C-metilcitidina (Pierra, *et al.* 2005, Nucleosides Nucleotides, Nucleic Acids, 24: 767-770) en Moraveck Biochemicals, Inc. (La Brea, CA, EE.UU.). Se solubilizó y/o diluyó el interferón α -2b en solución salina tamponada con fosfato estéril (PBS)/1% de BSA como instruye el fabricante. Se disolvieron ribavirina, nitazoxanida, tizoxanida y 2'-C-metilcitidina en DMSO de pureza de cultivo de tejido al 100% (Sigma). Se almacenaron disoluciones madre (-70°C para interferón α -2b, -20°C para nitazoxanida, tizoxanida, ribavirina y 2'-C-metilcitidina) en cantidades suficientes para un solo experimento y se usaron solo una vez. Se prepararon alícuotas diarias de los compuestos de ensayo a partir de las disoluciones madre en tubos individuales y se almacenaron a las temperaturas apropiadas. Cada día de tratamiento, se suspendieron alícuotas diarias de los compuestos de ensayo en medio de cultivo a temperatura ambiente y se añadieron inmediatamente a los cultivos celulares, sometiendo así a cada alícuota de compuesto de ensayo al mismo número limitado de ciclos de congelación-descongelación.

La nitazoxanida y tizoxanida reducían selectivamente la replicación de HCV intracelular en cada una de las cinco estirpes celulares de replicón de HCV derivado de genotipo I (Tabla 1). Las CE_{50} medianas eran de 0,13 μ M y 0,15 μ M para nitazoxanida y tizoxanida, respectivamente, en comparación con 0,86 UI/ml para interferón α -2b, 69 μ M para ribavirina y 2,1 μ M para 2'-C-metilcitidina.

Tabla 1. Potencia relativa de los compuestos de ensayo frente a la replicación de HCV

Fármaco Estirpe celular	CE_{50} (μ M)	CE_{90} (μ M)	CC_{50} (μ M)	I.S. ¹
Nitazoxanida				
AVA5	0,13 \pm 0,02	1,0 \pm 0,2	39 \pm 3,9	300
H/FL-neo	0,33 \pm 0,05	1,1 \pm 0,1	49 \pm 1,5	149
JWT	0,11 \pm 0,01	1,0 \pm 0,2	39 \pm 1,0	354
4-3-10	0,10 \pm 0,03	0,87 \pm 0,16	34 \pm 0,4	340
RP7	0,16 \pm 0,01	1,2 \pm 0,1	38 \pm 0,8	238
Mediana	0,13	1,0		
Tizoxanida				
AVA5	0,12 \pm 0,01	0,77 \pm 0,10	25 \pm 2,8	208
H/FL-neo	0,25 \pm 0,03	1,0 \pm 0,1	4,2 \pm 0,2	17
JWT	0,16 \pm 0,02	0,76 \pm 0,03	24 \pm 2,9	150
4-3-10	0,11 \pm 0,05	0,55 \pm 0,08	21 \pm 1,1	191
RP7	0,15 \pm 0,01	0,94 \pm 0,10	25 \pm 1,0	167
Mediana	0,15	0,77		
Interferón α-2b (UI/ml)				
AVA5	1,5 \pm 0,2	8,2 \pm 0,8	>10000	>6667
H/FL-neo	2,1 \pm 0,2	9,4 \pm 0,9	>10000	>4762
JWT	0,77 \pm 0,03	2,6 \pm 0,2	>10000	>12987
4-3-10	0,86 \pm 0,06	5,7 \pm 0,4	>10000	>11627
RP7	0,41 \pm 0,01	3,6 \pm 0,2	>10000	>24390
Mediana	0,86	5,7		
Ribavirina				
AVA5	70 \pm 0,5	220 \pm 34	84 \pm 4,7	1,2
H/FL-neo				
JWT	23 \pm 2,2	62 \pm 1,7	89 \pm 7,5	3,9
4-3-10				
RP7	69 \pm 4,4	122 \pm 13	77 \pm 4,9	1,2
Mediana	69	122		

Fármaco	CE ₅₀ (μM)	CE ₉₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	I.S. ¹
Estirpe celular				
2'-C-metilcitidina				
AVA5	2,1 ± 0,2	8,1 ± 0,7	>300	>143
H/FL-neo	1,8 ± 0,2	8,1 ± 0,8	>1000	>556
JWT	2,2 ± 0,1	8,2 ± 0,7	>300	>136
4-3-10	2,1 ± 0,1	8,0 ± 0,9	>300	>143
RP7	2,0 ± 0,1	9,0 ± 0,6	>300	>150
Mediana	2,1	8,1		

¹I.S. (índice de selectividad)= CC₅₀/CE₅₀

Ejemplo 2

Actividad sinérgica de nitazoxanida y tizoxanida con otros fármacos anti-hcv

5 Se evaluó la actividad de tratamientos de combinación con nitazoxanida más interferón α-2b, tizoxanida más interferón α-2b, nitazoxanida más 2'-C-metilcitidina y tizoxanida más 2'-C-metilcitidina frente a la replicación de HCV en la estirpe celular de replicación AVA5 usando los métodos descritos anteriormente (Okuse *et al.*, 2005, Antiviral Research 65: 23-34). Los análisis de las interacciones entre los compuestos usados en los tratamientos de combinación se efectuaron usando el software Calcsyn™ (Biosoft, Cambridge, RU).

10 Las combinaciones de nitazoxanida con cualquiera de interferón α-2b o 2'-C-metilcitidina y de tizoxanida con cualquiera de interferón α-2b o 2'-C-metilcitidina exhibían interacciones sinérgicas frente a la replicación de HCV (Tabla 2, Figuras 1a y 1b). En las Figuras 1a y 1b, se muestran análisis de las interacciones entre los compuestos en los tratamientos de combinación.

Tabla 2. Potencia relativa de los tratamientos de combinación frente a la replicación de HCV en cultivos celulares de AVA5

Tratamiento	CE ₅₀ (μM)	CE ₉₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	I.S. ¹
Nitazoxanida (NTZ)	0,21 ± 0,03	0,93 ± 0,11	38 ± 1,8	181
Tizoxanida (TIZ)	0,15 ± 0,02	0,81 ± 0,92	15 ± 1,2	100
IFNα-2b	1,9 ± 0,2 ²	8,9 ± 0,9 ²	>10000 ²	>5263
2'-C-Metilcitidina (2'CMcC)	1,6 ± 0,2	8,3 ± 0,7	>300	>188
2'CMcC + IFNα-2b 1:1	0,67 ± 0,007	2,3 ± 0,3	>300	>448
NTZ + IFNα-2b 1:10	0,06 ± 0,008	0,25 ± 0,03	33 ± 1,3	550
NTZ + 2'CMcC, 1:10	0,07 ± 0,005	0,28 ± 0,02	35 ± 1,5	500
TIZ + IFNα-2b 1:10	0,07 ± 0,01	0,22 ± 0,03	17 ± 1,3	245
TIZ + 2'CMcC, 1:10	0,06 ± 0,004	0,19 ± 0,02	18 ± 1,1	300

¹IS = CC₅₀/EC₅₀, ²Valores de IFNα-2b expresados en UI/ml

15 La Figura 1 presenta representaciones de CI-Fa (índice de combinación-fracción afectada (de virus) (Belen'kii y Schinazi, 1994, Antiviral Research 25: 11-18). Para estas representaciones, un índice de combinación [IC] mayor de 1,0 indica antagonismo y un IC menor de 1,0 indica sinergia. Se proporcionan evaluaciones de sinergia, aditividad (suma) o antagonismo a diferentes niveles de inhibición vírica (por ejemplo, 5%, o Fa= 0,05 a 99%, o Fa= 0,99) por las líneas y puntos representados. La Figura 1b muestra los isobogramas conservadores. Para estas

20 representaciones, se exhiben los valores de CE₅₀, CE₇₅ y CE₉₀ (concentraciones antivíricas eficaces al 50%, 75% y 90%) para los tratamientos de combinación como puntos individuales. Tres líneas que radian desde los ejes designan los valores de CE₅₀, CE₇₅ y CE₉₀ esperados (por ejemplo, aditivos) para combinaciones de fármacos como se calcula a partir de las monoterapias. Los valores de CE₅₀, CE₇₅ y CE₉₀ para las combinaciones que se

25 representan a la izquierda (por ejemplo, menores) de las correspondientes líneas indican sinergia, y los valores que se representan a la derecha (por ejemplo, mayores) de las correspondientes líneas indican antagonismo.

Ejemplo 3

Actividad potenciada de interferón α + nitazoxanida después de pretratamiento con nitazoxanida

Para evaluar el efecto del pretratamiento con nitazoxanida antes del tratamiento con tratamientos de combinación, se trataron los cultivos durante 3 o bien 6 días con nitazoxanida, interferón α -2b o 2'-C-metilcitidina o combinaciones de nitazoxanida y cualquiera de interferón α -2b o bien 2'-C-metilcitidina. Como alternativa, se trataron los cultivos con nitazoxanida durante 3 días, seguido de 3 días adicionales de tratamiento con una combinación de nitazoxanida y cualquiera de interferón α -2b o 2'-C-metilcitidina. Se determinaron la actividad antivírica y citotoxicidad 24 horas después del final de cada tratamiento respectivo como se describe anteriormente.

El pretratamiento con nitazoxanida mejoraba la potencia del tratamiento de combinación con nitazoxanida más interferón α -2b en aproximadamente 3 veces (Tabla 3 y Figuras 2a y 2b). Sin embargo, el pretratamiento no afectaba a la potencia del tratamiento de combinación con 2'-C-metilcitidina (Tabla 4). Las Figuras 2a y 2b muestran los análisis del efecto en cultivos pretratados con nitazoxanida antes del tratamiento con nitazoxanida más interferón α -2b. Se efectuaron los análisis usando el software Calcsyn™ (Biosoft, Cambridge, RU). Se presentan dos tipos de evaluaciones. La Figura 2a presenta representaciones de CI-Fa (índice de combinación-fracción afectada (de virus) (Belen'kii y Schinazi, 1994). Para estas representaciones, un índice de combinación [IC] mayor de 1,0 indica antagonismo y un IC menor de 1,0 indica sinergia. Se proporcionan las evaluaciones de sinergia, aditividad (suma) o antagonismo a diferentes niveles de inhibición vírica (por ejemplo, 5%, o Fa= 0,05 a 99%, o Fa= 0,99) por las líneas y puntos representados. Las líneas de puntos indican 1,96 desviaciones estándar (no mostradas en la Figura 1a por claridad). La Figura 2b presenta los isobogramas conservadores. Para estas representaciones, se exhiben los valores de CE₅₀, CE₇₅ y CE₉₀ (concentraciones antivíricas eficaces al 50%, 75% y 90%) para los tratamientos de combinación como puntos individuales. Tres líneas que radian desde los ejes designan los valores de CE₅₀, CE₇₅ y CE₉₀ esperados (por ejemplo, aditivos) para combinaciones de fármacos como se calcula a partir de las monoterapias. Los valores de CE₅₀, CE₇₅ y CE₉₀ para las combinaciones que se representan a la izquierda (por ejemplo, menores) de las correspondientes líneas indican sinergia, y los valores que se representan a la derecha (por ejemplo, mayores) de las correspondientes líneas indican antagonismo.

Tabla 3. Efecto del pretratamiento con NTZ sobre la actividad del tratamiento de combinación de NTZ+IFN α

Tratamiento	Duración (días)	NTZ (μ M)		IFN α -2b (UI/ml)	
		CE ₅₀ (μ M)	CE ₉₀ (μ M)	CE ₅₀ (μ M)	CE ₉₀ (μ M)
IFN α	3			1,9 \pm 0,3	8,3 \pm 0,9
IFN α	6			1,7 \pm 0,2	7,8 \pm 0,8
NTZ	3	0,22 \pm 0,03	1,0 \pm 0,1		
NTZ	6	0,20 \pm 0,02	0,92 \pm 0,10		
NTZ + IFN α , 1:10	3	0,08 \pm 0,010	0,27 \pm 0,03	0,82 \pm 0,07	2,7 \pm 0,3
NTZ + IFN α , 1:10	6	0,09 \pm 0,010	0,24 \pm 0,04	0,75 \pm 0,09	2,4 \pm 0,02
NTZ y entonces NTZ + IFN α	6	0,03 \pm 0,004	0,09 \pm 0,011	0,31 \pm 0,04	0,96 \pm 0,12

Tabla 4. Efecto del pretratamiento con NTZ sobre la actividad del tratamiento de combinación de NTZ + 2'CMec

Tratamiento	Duración (días)	NTZ (μ M)		2'CMec (μ M)	
		CE ₅₀ (μ M)	CE ₉₀ (μ M)	CE ₅₀ (μ M)	CE ₉₀ (μ M)
2'CMec	3			1,7 \pm 0,2	6,2 \pm 0,5
2'CMec	6			1,3 \pm 0,2	5,8 \pm 0,9
NTZ	3	0,22 \pm 0,03	1,0 \pm 0,1		
NTZ	6	0,20 \pm 0,02	0,92 \pm 0,10		
NTZ + 2'CMec, 1:10	3	0,05 \pm 0,006	0,16 \pm 0,02	0,57 \pm 0,07	1,8 \pm 0,2
NTZ + 2'CMec, 1:10	6	0,05 \pm 0,007	0,17 \pm 0,03	0,54 \pm 0,06	1,9 \pm 0,2
NTZ, entonces NTZ + 2'CMec	6	0,06 \pm 0,005	0,15 \pm 0,02	0,58 \pm 0,08	1,7 \pm 0,3

Ejemplo 4

Actividad potenciada del interferón α después de pretratamiento con nitazoxanida o tizoxanida

Para evaluar el efecto del interferón α después del pretratamiento con nitazoxanida o tizoxanida, se sometió a pasajes sucesivos una estirpe celular que contenía replicón original (RP-7) por concentraciones crecientes de nitazoxanida o tizoxanida. Se determinó la actividad anti-HCV del interferón α -2b usando la estirpe celular original y usando las

estirpes celulares obtenidas después del pase por nitazoxanida o tizoxanida. Se determinó la actividad anti-HCV mediante los métodos descritos anteriormente.

Se estableció la estirpe celular que contiene replicón original mediante la electroporación de ARN transcrito *in vitro* del plásmido Bart79I linealizado con Sca I en células Huh-7 (Elazar *et al.*, 2003). Bart79I codifica un replicón subgenómico bicistrónico de segunda generación de alta eficacia de genotipo 1b que contiene una sola mutación adaptativa (S1179I) en el gen NS5A, y el gen de neomicina fosfotransferasa en el primer cistrón. Se sembraron las células electroporadas junto con células de alimentación Huh-7 no infectadas y se cultivaron en medio DMEM (glucosa, L-glutamina y piruvato de sodio 4,5 g/l- Mediatech 10-013-CV), 10% de suero fetal bovino, 1% de penicilina-estreptomina, 1% de L-glutamina (concentración final 2 mM), 1x aminoácidos no esenciales MEM (100x) (Invitrogen) y G418 1 mg/ml. Después de 3 semanas, aparecieron colonias resistentes a G418. Se aisló una de las colonias resultantes, se propagó, se pasó por G418 700 µg/ml y se denominó RP-7.

Se sometieron las células RP-7 a un régimen promotor de resistencia como sigue. Se cultivaron las células en el medio descrito anteriormente que contenía G418 700 µg/ml (Invitrogen), 1% de DMSO de pureza de cultivo de tejido (Sigma) y una concentración inicial baja de nitazoxanida o tizoxanida, que se aumentó constantemente entonces cada semana, con un descanso farmacológico intermedio de 2 días entre cada aumento de dosis. Los días 1 a 5 de cada dosis de fármaco, se cambiaron los medios diariamente para proporcionar una fuente de fármaco reciente. No se efectuaron cambios de medios los días 6 y 7 (de descanso farmacológico). La concentración inicial de nitazoxanida o tizoxanida era de 0,02 µM, seguida de 0,05 µM, 0,1 µM, 0,5 µM, 1 µM y aumentos semanales posteriores de 1 µM. Se usó una concentración final de 11 µM para las células pasadas por nitazoxanida, mientras que se usó una concentración final de 8 µM para las células pasadas por tizoxanida. Se pasaron posteriormente las células resultantes por esta concentración final durante al menos 2 meses antes de usarlas para ensayar la actividad anti-HCV del interferón α-2b.

Se presentan los resultados en la Tabla 5. El paso sucesivo de la estirpe celular original por concentraciones crecientes de nitazoxanida o tizoxanida no inducía resistencia al interferón α-2b. Las estirpes celulares pasadas por nitazoxanida o tizoxanida eran en realidad de 2,5 a 7,6 veces más sensibles al interferón α-2b que la estirpe celular que contiene replicón original, que no se había pasado por nitazoxanida ni tizoxanida.

Tabla 5. Potencia del interferón α-2b frente a la replicación de HCV en células RP-7 antes y después del paso sucesivo por concentraciones crecientes de nitazoxanida y tizoxanida

Estirpe celular	CE ₅₀ (µM)	CE ₉₀ (µM)	CC ₅₀ (µM)	IS
Estirpe celular original (RP-7)	0,41 ± 0,01	3,6 ± 0,2	>10000	>24390
Células RP-7 pasadas por nitazoxanida	0,11 ± 0,02	0,47 ± 0,04	>10000	>90909
Células RP-7 pasadas por tizoxanida	0,16 ± 0,01	0,42 ± 0,04	>10000	>62500

Ejemplo 5

Tratamiento de hepatitis c crónica con una combinación de nitazoxanida y tizoxanida

Se inscribieron cincuenta (50) pacientes en un estudio con doble anonimato de Alinia® (composición farmacéutica que comprende un 99% de nitazoxanida y un 1% de tizoxanida como agentes activos) administrada por vía oral en forma de un comprimido de 500 mg dos veces al día durante 24 semanas en comparación con un placebo en el tratamiento de pacientes con hepatitis C crónica de genotipo 4. Se inscribieron los 50 pacientes en tres sitios de estudio en Egipto: 32 en El Cairo, 12 en Alejandría y 6 en Tanta. Tres pacientes abandonaron el estudio inmediatamente después de la inscripción y no volvieron para ningún seguimiento después del tratamiento. Un paciente no volvió para el seguimiento después de la semana 12. Cada uno de los 46 pacientes restantes completó el estudio. Véase la FIG. 3 para un diagrama de flujo del destino de los pacientes. Un paciente estaba infectado conjuntamente con el virus de la hepatitis B. El paciente era negativo de HBeAg, y se hizo una excepción para permitir la inscripción de este paciente. El protocolo exige el uso de una población por intención de tratar (todos los pacientes asignados aleatoriamente) para el análisis de eficacia primaria. Los tres pacientes que abandonaron antes de recibir cualquier medicación se excluyeron del análisis de eficacia. El paciente que abandonó después de la semana 12 se incluyó en el análisis de eficacia y se analizó basándose en la última observación registrada. Las características demográficas y relacionadas con la enfermedad de los 47 pacientes incluidos en el análisis de eficacia se resumen por grupo de tratamiento en la Tabla 6.

En cada visita del estudio, se preguntó a los pacientes respecto al cumplimiento del tratamiento. Con una excepción, cada uno de los pacientes que completó el estudio reseñó que había cumplido con la toma de medicación. Un paciente completó el estudio pero reseñó un incumplimiento esporádico de la toma de medicación debido a dolor abdominal.

Tabla 6. Características demográficas y relacionadas con la enfermedad

	Todos los sujetos	Agente activo	Placebo	P ¹
Raza:				
Caucásica	47	23	24	1,0
Género				
Masculino/femenino	39/8	19/4	20/4	1,0
Edad (años):				
Media ± DE	47,3 ± 9,3	49,7 ± 8,4	45,0 ± 9,6	0,08
Mediana (intervalo)	48 (27-67)	51 (35-67)	46 (27-64)	
Peso (kg):				
Media ± DE	86,2 ± 18,8	84,8 ± 16,7	87,5 ± 21,0	0,62
Mediana (intervalo)	84 (64-143)	84 (64-130)	82 (65-143)	
Índice de masa corporal				
Media ± DE	29,4 ± 5,5	29,0 ± 5,1	29,8 ± 6,0	0,62
Mediana (intervalo)	28,2 (21-47)	27,3 (22-47)	28,3 (21-46)	
Carga vírica (log ₁₀ UI/ml):				
Media ± DE	5,2 ± 0,7	5,3 ± 0,7	5,2 ± 0,8	0,43
Mediana (intervalo)	5,3 (3,5-6,5)	5,4 (4,0-6,3)	5,3 (3,5-6,5)	
Carga vírica > 800.000 UI/ml	10	6	4	0,49
ALT elevada	31	13	18	0,23
Puntuación necroinflamatoria:				
Media ± DE	6,0 ± 3,2	6,3 ± 3,3	5,7 ± 2,7	0,51
Mediana (intervalo)	5 (2-17)	5 (3-17)	5,5 (2-11)	
Enfermedad hepática:				
Sin fibrosis	8	4	4	0,95
Expansión fibrosa portal	18	8	10	
Fibrosis en puente	14	7	7	
Cirrosis (compensada)	3	1	2	
Cirrosis (descompensada)	4	3	1	
Tratado previamente con interferón pegilado/ribavirina	5	3	2	0,67
Diabetes sacarina				
Controlada	7	4	3	0,70
Incontrolada	3	1	2	1,0

¹prueba exacta de Fisher o prueba de chi-cuadrado usadas para comparar proporciones, prueba de t para medias

Se resumen las respuestas virológicas por grupo de tratamiento en la Tabla 7. La proporción de pacientes con respuesta virológica en el grupo de tratamiento con agente activo era significativamente mayor que en el grupo de

tratamiento con placebo (P= 0,0039). Se observaron respuestas virológicas (ARN de HCV sérico indetectable) en la semana 4 (n=3), la semana 8 (n= 3) y la semana 20 (n= 1). Cada una de estas respuestas se mantuvo a lo largo del periodo de tratamiento.

Tabla 7. Respuestas virológicas por grupo de tratamiento

	Agente activo	Placebo	P¹
Pacientes con respuesta/total (%)	7/23 (30,4%)	0/24 (0%)	0,0039

5 Se evaluaron las características demográficas, datos de laboratorio de la situación basal, datos de biopsias hepáticas e historiales médicos para identificar los factores predisponentes independientes de respuesta virológica en el grupo de tratamiento con agente activo. Se enumeran los factores predisponentes de respuesta en la Tabla 8. El factor predisponente de respuesta más significativo era una carga vírica baja en la situación basal. Todos los
10 pacientes con respuesta tenían cargas víricas en la situación basal $\leq 384,615$ UI/ml. Los valores de laboratorio en la situación basal (recuentos de plaquetas, tiempo de protrombina y α -fetoproteína) sugerían también que los pacientes con respuesta tenían una enfermedad hepática menos grave.

Tabla 8. Factores predisponentes de respuesta independientes

Factores predisponentes de respuesta	P
Carga vírica menor en la situación basal	0,0086
Indicadores de enfermedad hepática menos grave	
- mayor recuento de plaquetas	0,0385
- menor tiempo de protrombina	0,0579
- menor α -fetoproteína	0,0696

15 El análisis adicional de pacientes con factores complicantes relacionados con la enfermedad tales como altas cargas víricas, cirrosis, diabetes sacarina incontrolada o infección conjunta con hepatitis B mostraron muy bajas tasas de respuesta en estos subconjuntos de pacientes (véase la Tabla 9). Quince (15) de los 16 fallos de tratamiento de Alinia® tenían alta carga vírica, enfermedad hepática avanzada, diabetes sacarina incontrolada o infección conjunta con virus de la hepatitis B. Los pacientes con respuesta a Alinia® pueden describirse, por lo tanto, como pacientes con bajas cargas víricas (<800.000 UI/ml) cuya enfermedad no ha progresado hasta cirrosis y que no tenían
20 diabetes sacarina incontrolada ni infección conjunta con virus de la hepatitis B. Dos (2) pacientes con respuesta virológica en el grupo de tratamiento con agente activo tenían un historial previo de tratamiento con interferón pegilado/ribavirina. Uno fue incapaz de tolerar el interferón pegilado/ribavirina y abandonó la terapia después de 5 semanas. El otro recayó después de la terminación de las 48 semanas de interferón pegilado/ribavirina.

Tabla 9. Tasas de respuesta en pacientes con factores complicantes relacionados con la enfermedad

Factores complicantes relacionados con la enfermedad	Pacientes con respuesta/total
Alta carga vírica (>800.000 UI/ml)	0/3
Enfermedad hepática avanzada: cirrosis	0/3
Enfermedad hepática avanzada: fibrosis en puente	3/5
Diabetes sacarina incontrolada	0/3
Infección conjunta con virus de la hepatitis B	0/1
Alta carga vírica y cirrosis	0/1
Alta carga vírica y fibrosis en puente	0/1
Alta carga vírica, diabetes incontrolada y fibrosis en puente	0/1

25 Respuesta virológica mantenida: Se hizo seguimiento a los 7 pacientes con respuesta virológica al menos 24 semanas después del final del tratamiento, y 5 de estos pacientes tenían una respuesta virológica mantenida (ARN de HCV sérico indetectable) en el seguimiento. Las tasas de respuesta virológica mantenida se presentan por grupo de tratamiento en la Tabla 10. Dos pacientes no pudieron mantener sus respuestas virológicas sin tratamiento. Un paciente completó solo 8 semanas de tratamiento. Un paciente completó el estudio, pero reseñó un incumplimiento esporádico en la toma de medicación debido a dolor abdominal. Cada uno de estos dos pacientes tenía enfermedad
30 hepática avanzada (fibrosis en puente).

Tabla 10. Respuestas virológicas mantenidas por grupo de tratamiento

	Agente activo	Placebo	P*
Pacientes con respuesta/total (%)	5/23 (21,7%)	0/24 (0%)	0,0219

* prueba exacta de Fisher con dos colas

5 Cambios en el ARN de HCV sérico cuantitativo (carga vírica): Se presentan en la Tabla 11 y la FIG. 4 las cargas víricas cuantitativas medias para el grupo de tratamiento con agente activo, el grupo de tratamiento de placebo, los pacientes con respuesta virológica del grupo de tratamiento con agente activo y los fallos virológicos del grupo de tratamiento con agente activo. La reducción de la carga vírica cuantitativa media desde la situación basal al final del tratamiento era significativamente mayor para el grupo de tratamiento con agente activo (reducción de $1,55 \pm 2,34 \log_{10}$ UI/ml) que para el grupo de placebo (reducción de $0,21 \pm 0,98 \log_{10}$ UI/ml) observada para el grupo de tratamiento de placebo ($P= 0,0166$, prueba de t). La reducción de la carga vírica media observada para el grupo de tratamiento con agente activo se atribuyó enteramente a los pacientes con respuesta virológica. Los cambios en las cargas víricas de los pacientes sin respuesta virológica no eran significativamente diferentes de los cambios observados para el grupo de tratamiento de placebo. Se presentan en la Tabla 12 y la FIG. 5 las cargas víricas cuantitativas reales para los 7 pacientes con respuesta virológica con el tiempo.

Tabla 11. ARN de HCV sérico cuantitativo medio con el tiempo por grupo de tratamiento y respuesta virológica (\log_{10} UI/ml)

	Situación basal	Semana 4	Semana 8	Semana 12	Semana 16	Semana 20	Semana 24
Paciente sin respuesta a Alinia	5,5	5,21	5,21	5,23	5,54	5,61	5,42
Placebo	5,16	5,17	4,73	4,96	5,15	5,13	4,94
Alinia	5,33	4,53	3,87	3,9	4,02	3,9	3,77
Pacientes con respuesta a Alinia	4,92	2,98	0,80	0,85	0,53	*	*

*Todos los valores por debajo del límite inferior de detección (10 UI/ml)

Tabla 12. ARN de HCV sérico cuantitativo con el tiempo para pacientes con respuesta serológica (\log_{10} UI/ml)

Paciente	Situación basal	Semana 4	Semana 8	Semana 12	Semana 16	Semana 20	Semana 24
nº 1	4,37	*	*	*	*	*	*
nº 6	5,59	5,64	*	*	*	*	*
Nº 15	5,22	5,43	5,57	5,98	3,74	*	*
Nº 17	5,30	*	*	*	*	*	*
Nº 21	5,00	4,23	*	*	*	*	*
Nº 37	4,70	*	*	*	*	*	*
Nº 40	4,25	5,56	*	*	*	*	*

* por debajo del límite de detección (10 UI/ml)

20 Cambios en ALT: Los cambios medios en ALT desde la situación basal al final del tratamiento no fueron significativamente diferentes para los dos grupos de tratamiento ($-3,9 \pm 32$ para el grupo de tratamiento con agente activo y $-1,3 \pm 42$ para el grupo de placebo, $P= 0,82$, prueba de t). Se resumen los cambios de categoría en ALT desde la situación basal al final del tratamiento por grupo de tratamiento en la Tabla 13. Tres de los pacientes con respuesta virológica en el grupo de tratamiento con agente activo tenían valores de ALT normales en la situación basal, que permanecían normales al final del tratamiento. Uno de los cuatro pacientes con respuesta virológica con ALT elevada en la situación basal tenía ALT normal al final del tratamiento, mientras que la ALT para los otros 3 permanecía elevada. Cuatro de los cinco pacientes con respuestas virológicas mantenidas tenían también ALT normal después de 24 semanas sin tratamiento.

25

Tabla 13. Cambio en ALT desde la situación basal al final del tratamiento

	Agente activo	Placebo
Normalizada	3	2
Permanecía normal	7	4
Permanecía elevada	10	16
De normal de elevada	3	2

5 Faltaban los valores de ARN de HCV cuantitativos para un paciente en la semana 24 y para un paciente en las semanas 12, 16, 20 y 24. Los datos de final de tratamiento para estos pacientes se analizaron usando los últimos puntos de datos disponibles (última observación registrada). Se realizó un análisis provisional de la respuesta virológica al final del tratamiento para los primeros 21 pacientes inscritos en el estudio. Con los fines de este informe, no se han realizado ajustes para dar cuenta de análisis múltiples.

10 Se presentan las tasas de respuesta virológica por grupo de tratamiento por centro de estudio en la Tabla 14. La mayor tasa de respuesta observada en el grupo de tratamiento con agente activo para el centro de estudio en El Cairo es atribuido a las características relacionadas con la enfermedad de los pacientes inscritos en los diferentes sitios. Cada uno de los 9 pacientes inscritos en el grupo de tratamiento con agente activo en los centros de Alejandría y Tanta tenía altas cargas víricas (>800.000 UI/ml), enfermedad hepática avanzada, diabetes sacarina incontrolada o infección conjunta con virus de la hepatitis B.

Tabla 14. Respuesta virológica por grupo de tratamiento y centro de estudio

	El Cairo	Alejandría	Tanta
Agente activo	7/14 (50%)	0/6 (0%)	0/3 (0%)
Placebo	0/15 (0%)	0/6 (0%)	0/3 (0%)

P= 0,0453, prueba de Cochran-Mantel-Haenszel

15 Se presenta en la Tabla 15 un sumario de las tasas de respuesta para el grupo de tratamiento con agente activo por complicaciones relacionadas con la enfermedad y centro de estudio.

Tabla 15. Tasas de respuesta para el grupo de tratamiento con agente activo por factores complicantes relacionados con la enfermedad y centro de estudio

Factores complicantes	Centro de estudio		
	El Cairo	Alejandría	Tanta
Alta carga vírica	0/1	0/2	-
Cirrosis	0/2	-	0/1
Fibrosis en puente	3/4	-	0/1
Diabetes sacarina incontrolada	0/1	0/2	-
Infección conjunta con virus de la hepatitis B	-	0/1	-
Alta carga vírica y cirrosis	-	0/1	-
Alta carga vírica y fibrosis en puente	0/1	-	-
Alta carga vírica, diabetes y fibrosis en puente	-	-	0/1
Pacientes sin factores complicantes	4/5	-	-
Totales	7/14	0/6	0/3

20 No hubo desviaciones de protocolo significativas que justificarían un análisis de subconjunto de eficacia. Se presenta en la Tabla 16 un análisis del subconjunto de pacientes con bajas cargas víricas y sin cirrosis, diabetes incontrolada ni infección conjunta con virus de la hepatitis B.

Tabla 16. Respuestas virológicas por grupo de tratamiento, subconjunto de pacientes con bajas cargas víricas, sin cirrosis, diabetes incontrolada ni infección conjunta con virus de la hepatitis B

	Agente activo	Placebo	P*
Pacientes con respuesta/total (%)	7/10 (70%)	0/15 (0%)	0,0002

* prueba exacta de Fisher de dos colas

5 Los comprimidos de Alinia™ de 500 mg administrados dos veces al día con comida durante 24 semanas producían respuestas virológicas (ARN de HCV sérico indetectable) en 7 de 23 pacientes (30,4%) en comparación con 0 de 25 pacientes (0%) en el grupo de placebo (P= 0,0039).

Las respuestas virológicas aparecían a entre 4 y 20 semanas de tratamiento (3 en la semana 4, 3 en la semana 8, 1 en la semana 20) y se mantenían hasta el final del tratamiento sin brotes virológicos.

10 Se mantuvo la respuesta virológica en 5 de 23 pacientes en el grupo de tratamiento con Alinia™ al menos 24 semanas después del final del tratamiento (P= 0,0219). Cada uno de los dos pacientes que recayó después de la visita del final de tratamiento tenía enfermedad hepática avanzada (fibrosis en puente). Uno abandonó el estudio después de 8 semanas de tratamiento, y el otro reseñó un incumplimiento esporádico con la toma de la medicación de estudio.

15 La baja carga vírica era el factor predisponente independiente más significativo de respuesta virológica (P= 0,0086). Ninguno de los pacientes con cirrosis, diabetes sacarina incontrolada o infección conjunta con virus de la hepatitis B respondió al tratamiento.

20 Cuando se excluyeron los pacientes con altas cargas víricas, cirrosis, diabetes incontrolada o infección conjunta con hepatitis B del análisis de eficacia, las tasas de respuesta virológica fueron de 7/10 (70%) para el grupo de tratamiento con agente activo y de 0/15 para el grupo de placebo (P= 0,0002). Dos de los tres fallos de tratamiento con Alinia® incluidos en este análisis tenían enfermedad hepática avanzada con fibrosis en puente.

Estos resultados indican que la monoterapia con Alinia® de 24 semanas es eficaz para conseguir una respuesta virológica mantenida en pacientes con hepatitis C crónica de genotipo 4 cuando los pacientes tienen bajas cargas víricas y ningún otro factor complicante tal como cirrosis, diabetes incontrolada o infección conjunta con hepatitis B.

25 Se examinaron las medidas de seguridad en pacientes que reciben Alinia® en comparación con los pacientes que reciben comprimidos de placebo. Se resume la extensión de la exposición en la Tabla 17. Tres pacientes (dos asignados aleatoriamente al grupo de tratamiento con Alinia® y uno asignado aleatoriamente al grupo de placebo) abandonaron el estudio antes de volver para las visitas de seguimiento. Estos pacientes no reseñaron tomar medicación ni experimentar acontecimientos adversos, y se excluyeron de los análisis de seguridad.

Tabla 17. Extensión de la exposición

Tratamiento/exposición	Nº de pacientes
Alinia 500 mg dos veces al día x 24 semanas	22
Alinia 500 mg dos veces al día x 12 semanas	1
Placebo dos veces al día x 24 semanas	24

30 Dieciséis pacientes (11 del grupo de Alinia®, 5 del grupo de placebo) reseñaron un total de 33 acontecimientos adversos. Hubo dos acontecimientos adversos graves. Un paciente del grupo de placebo experimentó una grave hematemesis y un paciente del grupo de tratamiento con Alinia® experimentó melanemesis moderada. Ambos acontecimientos requirieron hospitalización pero se resolvieron sin suspender el tratamiento. Los acontecimientos adversos restantes fueron de leves a moderados y de naturaleza transitoria, no requiriendo ninguno la modificación ni suspensión del tratamiento. Los acontecimientos adversos se exhiben por sistema corporal, término estándar, gravedad y causa en la Tabla 18 para el grupo de tratamiento con agente activo y en la Tabla 19 para el grupo de tratamiento de placebo. Las proporciones de pacientes que reseñan cada acontecimiento adverso se compararon por grupo de tratamiento. No había diferencias significativas en la frecuencia o naturaleza de los acontecimientos adversos reseñados por los dos grupos de tratamiento.

Tabla 18. Acontecimientos adversos: pacientes expuestos a Alinia® (N= 23)

Acontecimiento (sistema afectado) ¹	adverso	Pacientes que reseñan los AA		Gravedad y relación con el uso del fármaco ²												
				Leve				Moderado				Grave				
		Nº	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR	
Ictericia (DIG)		2	8,7	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anorexia (DIG)		1	4,3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estreñimiento (DIG)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diarrea (DIG)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flatulencia (DIG)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trastorno GI (DIG)		1	4,3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Melanemesis (DIG)		1	4,3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Náuseas (DIG)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Astenia (CUERPO)		4	17,4	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dolor abd. (CUERPO)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Disuria (UG)		2	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epistaxis (RES)		1	4,3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Palpitaciones (CV)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mialgia (MS)		1	4,3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Somnolencia (NER)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decoloración cutánea (PIEL)		1	4,3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹DIG= digestivo, CUERPO= cuerpo en conjunto o sistema no específico, UG= urogenital, RES= respiratorio, CV= cardiovascular, MS= musculoesquelético, NER= nervioso, PIEL= piel

²Relación con el uso del fármaco: N= no relacionado, U= improbablemente relacionado, P= posiblemente relacionado, PR= probablemente relacionado

Tabla 19. Acontecimientos adversos: pacientes expuestos a placebo (N= 24)

Acontecimiento (sistema afectado) ¹	adverso	Pacientes que reseñan los AA		Gravedad y relación con el uso del fármaco ²												
				Leve				Moderado				Grave				
		Nº	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR	
Ictericia (DIG)		1	4,2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematemesis (DIG)		1	4,2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Vómito (DIG)		1	4,2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Astenia (CUERPO)		2	8,3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dolor abd. (CUERPO)		2	8,3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dolor de cabeza (CUERPO)		1	4,2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fiebre (CUERPO)		1	4,2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Orina anormal (UG)		1	4,2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoptisis (RES)		1	4,2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diabetes sac. (MAN)		1	4,2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹DIG= digestivo, CUERPO= cuerpo en conjunto o sistema no específico, UG= urogenital, RES= respiratorio, MAN= metabólico y nutricional

²Relación con el uso del fármaco: N= no relacionado, U= improbablemente relacionado, P= posiblemente relacionado, PR= probablemente relacionado

Se analizaron los cambios en los parámetros de seguridad de laboratorio con el tiempo por grupo de tratamiento usando análisis de varianza de medidas repetidas para los datos continuos y pruebas exactas de Fisher para los datos categóricos. No se observaron cambios significativos en los parámetros de seguridad de laboratorio.

5 No se identificaron problemas de seguridad durante el transcurso de este estudio. Los comprimidos de Alinia® de 500 mg administrados dos veces al día con comida a pacientes con hepatitis C crónica eran seguros y bien tolerados. Los acontecimientos adversos reseñados por pacientes tratados con comprimidos de Alinia® fueron similares a los reseñados por pacientes tratados con placebo.

10 En este estudio, los comprimidos de Alinia® de 500 mg administrados dos veces al día con comida durante 24 semanas produjeron respuestas virológicas (ARN de HCV sérico indetectable) en 7 de 23 pacientes (30,4%) en comparación con 0 de 25 pacientes (0%) del grupo de placebo ($p=0,0039$). Las respuestas virológicas aparecieron a entre 4 y 20 semanas de tratamiento (3 en la semana 4, 3 en la semana 8, 1 en la semana 20) y se mantuvieron hasta el final del tratamiento sin brotes virológicos. La respuesta virológica se mantuvo en 5 pacientes al menos 24 semanas después del final del tratamiento.

15 La baja carga vírica era el factor predisponente independiente más significativo de respuesta virológica ($P=0,0086$). Ninguno de los pacientes con cirrosis, diabetes sacarina incontrolada o infección conjunta con virus de la hepatitis B respondió al tratamiento.

20 Cuando se excluyeron los pacientes con altas cargas víricas, cirrosis, diabetes incontrolada o infección conjunta con hepatitis B del análisis de eficacia, las tasas de respuesta virológica fueron de 7/10 (70%) para el grupo de tratamiento con agente activo y de 0/15 para el grupo de placebo ($P=0,0002$). Dos de los tres fallos de tratamiento con Alinia® incluidos en este análisis tenían enfermedad hepática avanzada con fibrosis en puente.

Estos resultados indican que la monoterapia con Alinia® de 24 semanas es eficaz para conseguir una respuesta virológica mantenida en pacientes con hepatitis C crónica de genotipo 4 cuando los pacientes tienen bajas cargas víricas y ningún otro factor complicante tal como cirrosis, diabetes incontrolada o infección conjunta con hepatitis B.

25 No se identificaron problemas de seguridad durante el transcurso de este estudio. Los acontecimientos adversos reseñados por pacientes en el grupo de tratamiento con Alinia® fueron similares a los reseñados por el grupo de placebo. No hubo cambios significativos en los valores de laboratorio clínico durante el curso de tratamiento de 24 semanas para el grupo de tratamiento con Alinia® en comparación con el grupo de placebo.

Ejemplo 6

Tratamiento de hepatitis vírica con alinia e interferón α -2b pegilado

30 Se inscribieron treinta y seis (36) pacientes en un estudio clínico para evaluar la eficacia y seguridad de una terapia de combinación con Alinia® más interferón α -2b pegilado (pegIFN α -2b) en comparación con placebo más PegIFN α -2b en el tratamiento de hepatitis C crónica. Se incorporaron los pacientes como sigue: tras completar la fase de tratamiento de 24 semanas del estudio RM01-3027 (véase el ejemplo 4), un estudio aleatorizado con doble anonimato controlado por placebo de Alinia®, se ofreció a dieciocho (18) pacientes sin respuesta la oportunidad de participar en este ensayo clínico. Dos pacientes rechazaron la incorporación debido a la etapa avanzada de su enfermedad y no desear ser tratados con interferón pegilado. Se incorporaron dieciséis (16) pacientes al estudio. Estos pacientes siguieron con su medicación de estudio oral con anonimato junto con 12 inyecciones semanales de PegIFN α -2b. Se incorporaron veinte (20) pacientes no tratados al estudio para iniciar la medicación de estudio con anonimato más PegIFN α -2b al mismo tiempo (primera inyección de PegIFN y primera dosis de medicación oral con anonimato el mismo día). Véase la FIG. 6 para el diagrama de flujo del destino de los pacientes. Se incorporó un paciente con el genotipo 2 de HCV (asignado aleatoriamente al grupo pretratado con agente activo). Un paciente abandonó el estudio inmediatamente después de recibir su primera dosis de PegIFN y no volvió para ningún seguimiento después del tratamiento. Un paciente no volvió para seguimiento después de la semana 8. Cada uno de los 34 pacientes restantes completó el estudio. Se usó la población por intención de tratar (todos los pacientes asignados aleatoriamente) para el análisis de eficacia primario, tratándose los abandonos como fallos. Se resumen los datos demográficos y características relacionadas con la enfermedad por grupo de tratamiento en la Tabla 20.

Tabla 20. Características demográficas y relacionadas con la enfermedad.

	Pretratados		No pretratados		P ¹
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo	
Raza:	8	8	10	10	1,0
Caucásica					
Género					
Masculino/femenino	8/0	7/1	8/2	10/0	0,20

	Pretratados		No pretratados		P ¹
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo	
Edad (años):					
Media ± DE	45,1 ± 5,5	41,3 ± 10,1	46,0 ± 9,1	39,1 ± 8,9	0,28
Mediana (intervalo)	46,5 (38-52)	42,5 (27-55)	48 (26-56)	40 (21-49)	
Peso (kg):					
Media ± DE	77,8 ± 6,6	84,0 ± 13,0	77,1 ± 11,8	77,7 ± 9,7	0,51
Mediana (intervalo)	79,5 (68-86)	86 (67-105)	79,5 (56-100)	75 (64-94)	
Índice de masa corporal					
Media ± DE	26,0 ± 2,3	28,3 ± 4,5	26,1 ± 3,4	26,8 ± 3,8	0,54
Mediana (intervalo)	26,3 (21-29)	29,0 (22-36)	27,0 (20-31)	25,7 (21-36)	
Carga vírica (log ₁₀ UI/ml):					
Media ± DE	5,5 ± 0,6	5,6 ± 0,5	5,9 ± 0,5	5,6 ± 0,4	0,34
Mediana (intervalo)	5,6 (4,3-6,1)	5,6 (4,9-6,5)	5,9 (4,9-6,6)	5,7 (4,5-6,1)	
Carga vírica > 800.000 UI/ml	3 (38%)	2 (25%)	4 (40%)	1 (10%)	0,39
ALT elevada	7 (88%)	7 (88%)	9 (90%)	8 (80%)	0,95
Enfermedad hepática avanzada:					
Cirrosis	1 (13%)	-	-	1 (10%)	0,34
Fibrosis en puente	2 (25%)	1 (13%)	-	-	
Diabetes sacarina	3 (38%)	1 (13%)	1 (10%)	1 (10%)	0,42

¹Prueba de chi cuadrado usada para comparar proporciones, análisis de varianza para medias.

²Para pacientes pretratados, las cargas víricas se presentan como determinadas antes del periodo de pretratamiento

5 Se administró cada una de las inyecciones de interferón pegilado semanales por los facultativos. En cada visita del estudio, se preguntó a los pacientes respecto al cumplimiento de la administración de la medicación de estudio oral (Alinia o placebo). Con la excepción de un paciente que abandonó el estudio durante la primera semana y otro paciente que no volvió para evaluación la semana 12 y se trató como paciente sin respuesta, cada uno de los pacientes reseñó que habían cumplido con la toma de medicación. Ninguno de los pacientes devolvió medicación no usada.

10 Se resumen en la Tabla 21 las respuestas virológicas por grupo de tratamiento. La tasa de respuesta para el grupo de agente activo pretratado (5/8, 63%) era mayor que la del grupo de placebo pretratado (P= 0,15734), el grupo de agente activo no pretratado (P= 0,08824), el grupo de placebo no pretratado (P= 0,31859), los dos grupos de placebo combinados (P= 0,16888) y los otros tres grupos combinados (P=0,09102).

Tabla 21. Respuestas virológicas por grupo de tratamiento

	Pretratado		No pretratado	
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo
Pacientes con respuesta/total (%)	5/8 (63%)	2/8 (25%)	2/10 (20%)	4/10 (40%)
P= 0,26, prueba de chi cuadrado				

15 Los análisis de regresión logística identificaron la glucosa sanguínea en ayunas baja como un factor predisponente independiente significativo de respuesta virológica (P= 0,0101) para toda la población de pacientes estudiados (n= 36). La relación entre glucosa sanguínea en ayunas y respuesta virológica era más significativa (P= 0,0011) en el grupo de agente activo pretratado en que había tres pacientes con diabetes sacarina incontrolada.

20 Dadas las relaciones observadas entre respuesta virológica y glucosa sanguínea en ayunas, se repitió el análisis de eficacia para un subconjunto de pacientes que excluía los pacientes con diabetes sacarina incontrolada. Se presentan en la Tabla 5 los resultados de este análisis. En este subconjunto de pacientes no diabéticos, la tasa de respuesta del grupo de agente activo pretratado (5/5, 100%) era mayor que la del grupo de placebo pretratado (P= 0,02652), el grupo de agente activo no pretratado (P= 0,01049), el grupo de placebo no pretratado (P= 0,06294), los dos grupos de placebo combinados (P= 0,02270) y los otros tres grupos combinados (P= 0,00903).

Se compararon las características demográficas y relacionadas con la enfermedad del subconjunto de pacientes no diabéticos analizados en la Tabla 22 por grupo de tratamiento, y no había diferencias significativas entre grupos.

Tabla 22. Respuestas virológicas por grupo de tratamiento, excluyendo pacientes con diabetes sacarina incontrolada

	Pretratado		No pretratado	
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo
Pacientes con repuesta/total (%)	5/5 (100%)	2/7 (29%)	2/9 (22%)	4/9 (44%)

P= 0,01, prueba de chi cuadrado.

- 5 Cada uno de los pacientes con respuesta virológica en el grupo de Alinia® + pegIFN tenía factores complicantes relacionados con la enfermedad que podrían reducir normalmente la probabilidad de éxito del tratamiento con pegIFN-ribavirina. Se presentan en la Tabla 23 las tasas de respuesta para los subconjuntos de pacientes con altas cargas víricas, enfermedad hepática avanzada y diabetes incontrolada por grupo de tratamiento.

Tabla 23. Tasas de respuesta en pacientes con factores complicantes relacionados con la enfermedad

	Pacientes sin respuesta/total			
	Pretratado		No pretratado	
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo
Carga vírica > 800.000 UI/ml	2/2	0/1	1/3	0/1
Enfermedad hepática avanzada:				
Cirrosis	1/1	-	-	-
Fibrosis en puente	1/1	1/1	-	-
Infección conjunta con HBV	1/1	-	-	-
Diabetes incontrolada				
- con alta carga vírica (HVL)	0/2	-	-	-
- con HVL y fibrosis en puente	-	0/1	0/1	-
- con cirrosis	0/1	-	-	-
Ninguno de los anteriores	-	1/5	1/6	4/ 8

- 10 Caída de dos órdenes de magnitud del ARN de HCV sérico. Todos los pacientes con una caída de 2 órdenes de magnitud del ARN de HCV sérico al final del tratamiento tenían también ARN de HCV indetectable. Por lo tanto, los resultados son los mismos que se presentan en las Tablas 21, 22 y 23.

Se resumen los cambios en la ALT desde la situación inicial a la semana 12 por grupo de tratamiento en la Tabla 24.

Tabla 24. Cambios en ALT por grupo de tratamiento

	Pretratado		Tratado	
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo
Normalizada	3	1	2	2
Permaneció elevada	4	6	6	4
Permaneció normal	1	1	1	1
De normal a elevada	-	-	-	1

Nota: 3 pacientes no fueron evaluables debido a la falta de datos de ALT en la situación basal o al final del tratamiento.

- 15 Se presentan las respuestas virológicas por grupo de tratamiento para cada uno de los dos centros de estudio en la Tabla 25. Se presentan los mismos datos para el subconjunto de pacientes sin diabetes incontrolada en la Tabla 26. En el análisis global, no había diferencias significativas entre las tasas de respuesta observadas para los dos centros de estudio. En el análisis de subconjuntos, las tasas de respuesta eran significativamente diferentes debido a que el segundo centro de estudio tenía dos pacientes que respondían a placebo + pegIFN. Estos dos pacientes eran hombres de 27 y 30 años con bajas cargas víricas y sin condiciones complicantes relacionadas con la enfermedad.
- 20

El paciente incorporado al grupo de agente activo no pretratado con genotipo 2 era un paciente sin respuesta. No hubo otras desviaciones de protocolo significativas.

Tabla 25. Respuestas virológicas por sitio de estudio y grupo de tratamiento

	Pacientes sin respuesta/total			
	Pretratado		No pretratado	
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo
Primer centro de estudio	3/5	0/5	2/10	4/10
Segundo centro de estudio	2/3	2/3	-	-

P= 0,35, prueba de Cochran-Mantel-Haenszel

Tabla 26. Respuestas virológicas por sitio de estudio y grupo de tratamiento

	Pacientes que no responden/total			
	Pretratado		No pretratado	
	Agente activo	Placebo	Agente activo	Placebo
Primer centro de estudio	3/3	0/4	2/9	4/9
Segundo centro de estudio	2/2	2/3	-	-

P= 0,0465, prueba de Cochran-Mantel-Haenszel

- 5 La administración de Alinia® de 24 semanas seguida de 12 semanas de Alinia más pegIFN α -2b produjo tasas de respuesta virológica mayores (5/8, 63%) que pegIFN α -2b más placebo durante 12 semanas (6/18, 33%) o Alinia® más pegIFN α -2b durante 12 semanas sin pretratamiento (2/10, 20%).

10 Cuando se excluyeron los pacientes con diabetes sacarina incontrolada, la tasa de respuesta para el grupo de agente activo pretratado (5/5, 100%) fue mayor que la del grupo de placebo pretratado (2/7, 29%, P= 0,02652), el grupo de agente activo no pretratado (2/9, 22%, P= 0,01049), el grupo de placebo no pretratado (4/9, 44%, P= 0,06294), los dos grupos de placebo combinados (6/16, 38%, P= 0,02270) y los otros tres grupos combinados (8/25, 32%, P= 0,00903).

15 Cada uno de los 5 pacientes con respuesta virológica en el grupo de tratamiento con agente activo pretratado tenía complicaciones relacionadas con la enfermedad que podrían reducir típicamente la probabilidad de éxito con la terapia de pegIFN-ribavirina: 2 con carga vírica >800.000 UI/ml, 2 con enfermedad hepática avanzada (1 cirrosis, 1 fibrosis en puente) y 1 con infección conjunta con virus de la hepatitis B.

Estos resultados indican que el pretratamiento de pacientes con Alinia® antes de añadir pegIFN potencia el efecto del pegIFN, produciendo tasas de respuesta que son significativamente mayores que las de pegIFN solo o Alinia más pegIFN sin un periodo de pretratamiento.

- 20 Se examinaron las medidas de seguridad de fármacos para pacientes tratados con Alinia más pegIFN y para aquellos que recibían placebo más pegIFN. Se resume en la Tabla 27 la extensión de la exposición.

Tabla 27. Extensión de la exposición

Tratamiento/exposición	Nº de pacientes
500 mg de Alinia dos veces al día x 12 semanas + inyecciones de pegIFN semanales	18
Placebo dos veces al día x 24 semanas + inyecciones de pegIFN semanales	17
Una inyección de interferón pegilado (abandono)	1

- 25 Se reseñaron cuatro acontecimientos adversos (AA) leves, tres para pacientes en el grupo de tratamiento de placebo y uno para un paciente del grupo de tratamiento de agente activo. No hubo acontecimientos adversos graves. Ninguno de los acontecimientos adversos requirió la modificación o suspensión del tratamiento. Se exhiben en la Tabla 28 los acontecimientos adversos por sistema corporal, término estándar, gravedad y causa para el grupo de tratamiento de agente activo y en la Tabla 29 para el grupo de tratamiento de placebo. Se compararon las proporciones de pacientes que reseñan cada acontecimiento adverso por grupo de tratamiento. No había diferencias significativas en la frecuencia ni naturaleza de los acontecimientos adversos reseñados por los dos grupos de

tratamiento. No se reseñaron muertes, AA graves ni otros AA significativos. No se reseñaron acontecimientos adversos de laboratorio durante el estudio.

Tabla 28. Acontecimientos adversos: pacientes expuestos a Alinia (N=18)

Acontecimiento adverso (sistema afectado) ¹	Pacientes que reseñan los AA		Gravedad y relación con el uso del fármaco ²											
			Leve				Moderado				Grave			
	Nº	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Depresión (NER)	1	5,6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹NER= sistema nervioso

²Relación con el uso del fármaco: N= no relacionado, U= improbablemente relacionado, P= posiblemente relacionado, PR= probablemente relacionado

Tabla 29. Acontecimientos adversos: pacientes expuestos a placebo (N=17)

Acontecimiento adverso (sistema afectado) ¹	Pacientes que reseñan los AA		Gravedad y relación con el uso del fármaco ²											
			Leve				Moderado				Grave			
	Nº	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Petequia (HAL)	1	5,8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Depresión (NER)	1	5,8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fotosensibilidad (CUERPO)	1	5,8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹HAL= sistema hemático y linfático, NER= sistema nervioso, CUERPO= cuerpo en conjunto o sistema no específico

²Relación con el uso del fármaco: N= no relacionado, U= improbablemente relacionado, P= posiblemente relacionado, PR= probablemente relacionado

5 Se analizaron los cambios en los parámetros de seguridad de laboratorio con el tiempo por grupo de tratamiento usando análisis de varianza de medidas repetidas para los datos continuos y pruebas exactas de Fisher para los datos categóricos. Se observaron diferencias significativas para dos parámetros: los recuentos de plaquetas con el tiempo fueron mayores para los pacientes tratados con Alinia + pegIFN que para los pacientes tratados con pegIFN + placebo (P= 0,0138), como se muestra en la FIG. 7; y los recuentos de neutrófilos absolutos con el tiempo fueron mayores para pacientes tratados con Alinia + pegIFN que para pacientes tratados con pegIFN + placebo (P= 0,0205), como se muestra en la FIG. 8.

10 Los valores registrados para recuentos de plaquetas y recuentos de neutrófilos aumentaron de la semana 8 a la semana 12. En una serie de pacientes, se recogió su muestra de suero de la semana 12 de 3 a 7 días más tarde (de 10 a 14 días después de la última inyección de pegIFN), y sus recuentos de plaquetas y recuentos de neutrófilos habían empezado a recuperarse. Para eliminar el efecto de los datos recogidos tarde en la semana 12, se analizaron separadamente los datos desde la situación basal hasta la semana 8. Cuando se eliminó el punto de datos de la semana 12, las diferencias en los recuentos de plaquetas y los recuentos de neutrófilos absolutos con el tiempo permanecieron significativas (P= 0,0044 para plaquetas, P =0,0101 para neutrófilos).

15 Se realizaron análisis para evaluar el efecto de la respuesta virológica o el pretratamiento con Alinia sobre el cambio en los recuentos de plaquetas o recuentos de neutrófilos con el tiempo. Las diferencias no estaban relacionadas con la respuesta virológica ni el pretratamiento con Alinia.

20 Las constantes vitales, datos de exploración física y otras observaciones relacionadas con la seguridad no proporcionaron hallazgos significativos.

25 La administración de comprimidos de 500 mg de Alinia administrados dos veces al día con comida junto con inyecciones semanales de interferón α -2b pegilado durante 12 semanas en pacientes con hepatitis C crónica era segura y bien tolerada.

Las reducciones de los recuentos de plaquetas y recuentos de neutrófilos asociadas típicamente a la administración de pegIFN eran significativamente menores en pacientes tratados con Alinia (P= 0,0044 y 0,0101, respectivamente).

30 La administración de 24 semanas de Alinia seguido de 12 semanas de Alinia más pegIFN- α 2b produjo tasas de respuesta virológica mayores (5/8, 63%) que pegIFN- α 2b más placebo durante 12 semanas (6/18, 33%) o Alinia más pegIFN- α 2b durante 12 semanas sin pretratamiento (2/10, 20%).

- 5 Cuando se excluyeron los pacientes con diabetes sacarina incontrolada, la tasa de respuesta para el grupo de agente activo pretratado (5/5, 100%) era mayor que la del grupo de placebo pretratado (2/7, 29%, $P= 0,02652$), el grupo de agente activo no pretratado (2/9, 22%, $P= 0,01049$), el grupo de placebo no pretratado (4/9, 44%, $P= 0,06294$), los dos grupos de placebo combinados (6/16, 38%, $P= 0,02270$) y los otros tres grupos combinados (8/25, 32%, $P= 0,00903$).
- Cada uno de los 5 pacientes con respuesta virológica en el grupo de tratamiento con agente activo pretratado tenía complicaciones relacionadas con la enfermedad que podrían reducir típicamente la probabilidad de éxito con terapia de pegIFN-ribavirina: 2 con carga vírica >800.000 UI/ml, 2 con enfermedad hepática avanzada (1 cirrosis, 1 fibrosis en puente) y 1 con infección conjunta con virus de la hepatitis B.
- 10 La administración de Alinia junto con pegIFN- $\alpha 2b$ a pacientes con hepatitis C crónica era segura y bien tolerada. No se identificaron problemas de seguridad.
- Las reducciones de recuentos de plaquetas y recuentos de neutrófilos asociadas típicamente a la administración de pegIFN eran significativamente menores en pacientes tratados con Alinia ($P= 0,0044$ y $0,0101$, respectivamente).
- 15 Estos resultados indican que el pretratamiento de pacientes con Alinia antes de añadir pegIFN potencia el efecto de pegIFN, produciendo tasas de respuesta significativamente mayores que aquellas para pegIFN sola o Alinia más pegIFN sin un periodo de pretratamiento. La administración concomitante de Alinia puede reducir además la toxicidad hematológica del pegIFN.

REIVINDICACIONES

1. Una composición para uso en el tratamiento de hepatitis C que comprende un compuesto seleccionado de nitazoxanida y tizoxanida o una mezcla de las mismas.
- 5 2. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 1, que comprende además un portador farmacéuticamente aceptable.
3. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 1, en la que la composición comprende una mezcla de nitazoxanida y tizoxanida.
- 10 4. La composición de la reivindicación 2 para el uso de la reivindicación 1, que comprende además uno o más agentes biológicamente activos adicionales seleccionados del grupo consistente en un interferón, un agente antidiabético y 2-metilcitolina.
- 5 6. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 1, que comprende administrar el compuesto al paciente durante un periodo de tiempo de entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 24 semanas, seguido de administración del compuesto y un interferón al paciente durante un periodo de entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 48 semanas.
- 15 6. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 1, que comprende administrar el compuesto al paciente durante un periodo de entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 2 años.
7. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 1, que comprende además el uso de uno o más agentes activos adicionales del grupo consistente en un interferón, un agente antidiabético, ribavirina y 2-metilcitolina.
- 20 8. La composición de la reivindicación 7 para el uso de la reivindicación 1, en la que el uno o más agentes activos adicionales comprenden un interferón.
9. La composición de la reivindicación 8 para el uso de la reivindicación 1, en la que el interferón se formula separadamente del compuesto.
- 25 10. La composición de la reivindicación 8 para el uso de la reivindicación 1, en la que el interferón es interferón α -2a interferón α -2b o un conjugado de polietilenglicol con interferón α -2a o interferón α -2b.
11. La composición de la reivindicación 8 para el uso de la reivindicación 1, en la que el interferón se administra al paciente durante un periodo de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 48 semanas.
12. La composición de la reivindicación 11 para el uso de la reivindicación 1, en la que el interferón se administra al paciente durante un periodo de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 4-12 semanas.
- 30 13. La composición de la reivindicación 8 para el uso de la reivindicación 1, en la que el interferón se administra al paciente entre 1 y 3 veces cada semana.
14. La composición de la reivindicación 8 para el uso de la reivindicación 1, en la que la administración del interferón se inicia después de tratar al paciente con el compuesto durante un periodo de tiempo predeterminado.
- 35 15. La composición de la reivindicación 14 para el uso de la reivindicación 1, en la que el periodo de tiempo predeterminado es de entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 6 meses.
16. La composición de la reivindicación 15 para el uso de la reivindicación 1, en la que el periodo de tiempo predeterminado es de entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 4 semanas.
17. La composición de la reivindicación 1 para el uso de la reivindicación 1, en la que el compuesto se administra al paciente de una a tres veces cada día durante un periodo de tiempo predeterminado.
- 40 18. La composición de la reivindicación 7 para el uso de la reivindicación 1, en la que el uno o más agentes activos adicionales comprenden un agente antidiabético.
19. La composición de la reivindicación 18 para el uso de la reivindicación 1, en la que el agente antidiabético se formula separadamente del compuesto.
- 45 20. La composición de la reivindicación 2 para el uso de la reivindicación 1, en la que la composición comprende el compuesto y uno o más agentes activos adicionales seleccionados del grupo consistente en un interferón, un agente antidiabético, ribavirina y 2-metilcitolina.
21. La composición de la reivindicación 20 para el uso de la reivindicación 1, que comprende además un agente antidiabético.

22. La composición de la reivindicación 20 para el uso de la reivindicación 1, que comprende además un interferón.
23. La composición de la reivindicación 20 para el uso de la reivindicación 1, que comprende además un interferón y un agente antidiabético.
- 5 24. Una composición para uso en un método de tratamiento de hepatitis C que comprende nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas, en la que el método comprende: (a) pretratar el paciente durante un periodo de tiempo predeterminado con la composición y (b) después del periodo de tiempo predeterminado, administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una segunda composición que comprende un agente activo seleccionado del grupo consistente en un interferón, un agente antidiabético, ribavirina y 2-metilcitolina.
- 10 25. La composición de la reivindicación 24 para el uso de la reivindicación 24, en la que el periodo de tiempo predeterminado es de entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 3 meses.
26. La composición de la reivindicación 25 para el uso de la reivindicación 24, en la que el periodo de tiempo predeterminado es de entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 4 semanas.
- 15 27. La composición de la reivindicación 24 para el uso de la reivindicación 24, en la que el agente activo es un interferón seleccionado de interferón α -2a, interferón α -2b y un conjugado de polietilenglicol con interferón α -2a o interferón α -2b.
28. La composición de la reivindicación 27 para el uso de la reivindicación 24, en la que la segunda composición comprende además un compuesto seleccionado de nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas.
- 20 29. Una combinación para uso en el tratamiento de hepatitis C que comprende un interferón y un compuesto seleccionado de nitazoxanida, tizoxanida o una mezcla de las mismas.
30. La combinación de la reivindicación 29 para el uso de la reivindicación 29, en la que se reduce la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta mantenida en el paciente en comparación con la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta mantenida en el paciente sin administración de nitazoxanida, tizoxanida o mezclas de las mismas.
- 25 31. La combinación de la reivindicación 29 para el uso de la reivindicación 29, en la que se reduce la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta mantenida en el paciente en comparación con la cantidad de interferón requerida para conseguir una respuesta mantenida en el paciente cuando se trata con una combinación de ribavirina e interferón.
- 30 32. La combinación de la reivindicación 29 para el uso de la reivindicación 29, en la que la composición proporciona al paciente una oportunidad aumentada de tener ARN de HCV sérico reducido después del tratamiento en comparación con una composición para tratar hepatitis C con una combinación de ribavirina e interferón.
33. La combinación de la reivindicación 29 para el uso de la reivindicación 29, en la que la composición proporciona al paciente una oportunidad similar de tener ARN de HCV sérico reducido después del tratamiento en comparación con una composición para tratar hepatitis C con una combinación de ribavirina e interferón.
- 35 34. La combinación de la reivindicación 29 para el uso de la reivindicación 29, en la que la composición produce menos efectos secundarios en comparación con una composición para tratar hepatitis C con una combinación de ribavirina e interferón.
- 40 35. Una composición para uso en un método de tratamiento de hepatitis C que comprende nitazoxanida, en la que el método comprende
- a) pretratar el paciente con una dosis diaria de 100 mg a 2000 mg de nitazoxanida durante un periodo de tiempo predeterminado de 3 días a 4 semanas; y
- b) después del periodo de tiempo predeterminado, tratar al paciente durante 1-48 semanas con un interferón, opcionalmente en combinación con nitazoxanida y/o ribavirina.
- 45 36. La composición de la reivindicación 35 para el uso de la reivindicación 35, en la que el interferón se selecciona de interferón α -2a, interferón α -2b y un conjugado de polietilenglicol con interferón α -2a o interferón α -2b.
37. La composición de la reivindicación 35 para el uso de la reivindicación 35, en la que se evita completamente el uso de ribavirina.
- 50 38. La composición de la reivindicación 35 para el uso de la reivindicación 35, en la que el periodo de tiempo predeterminado es de 1 semana a 4 semanas.

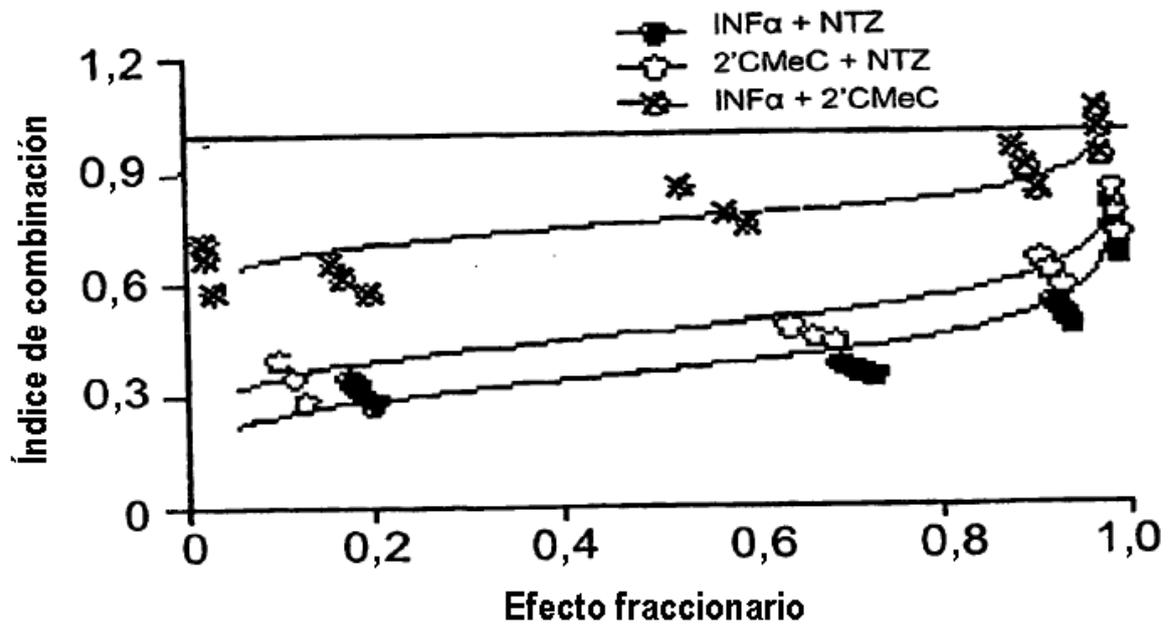


Fig. 1a

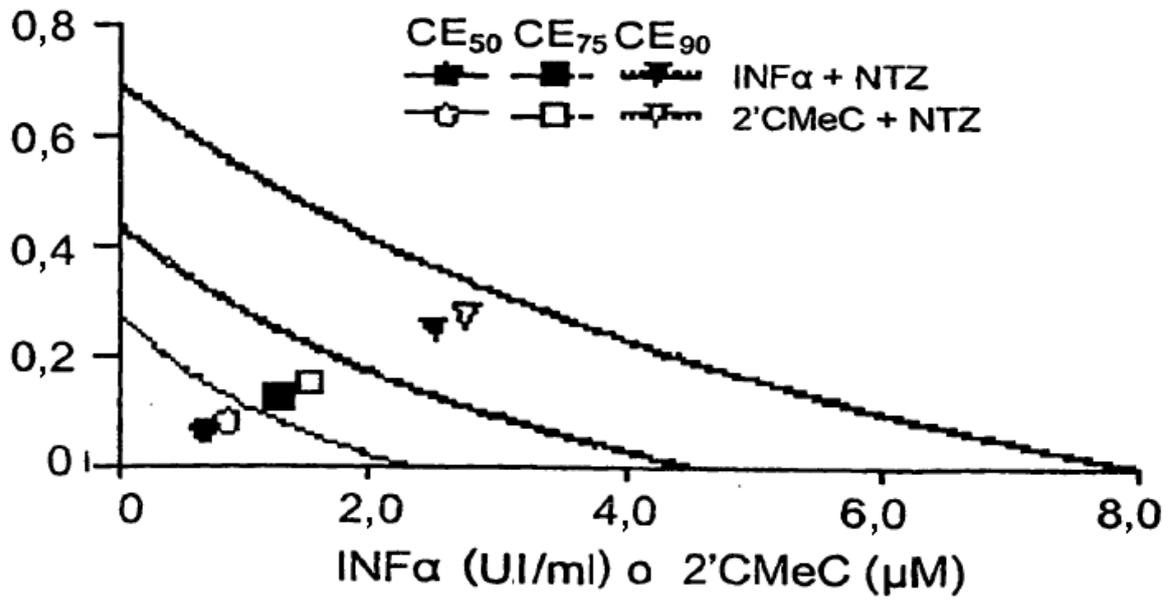


Fig. 1b

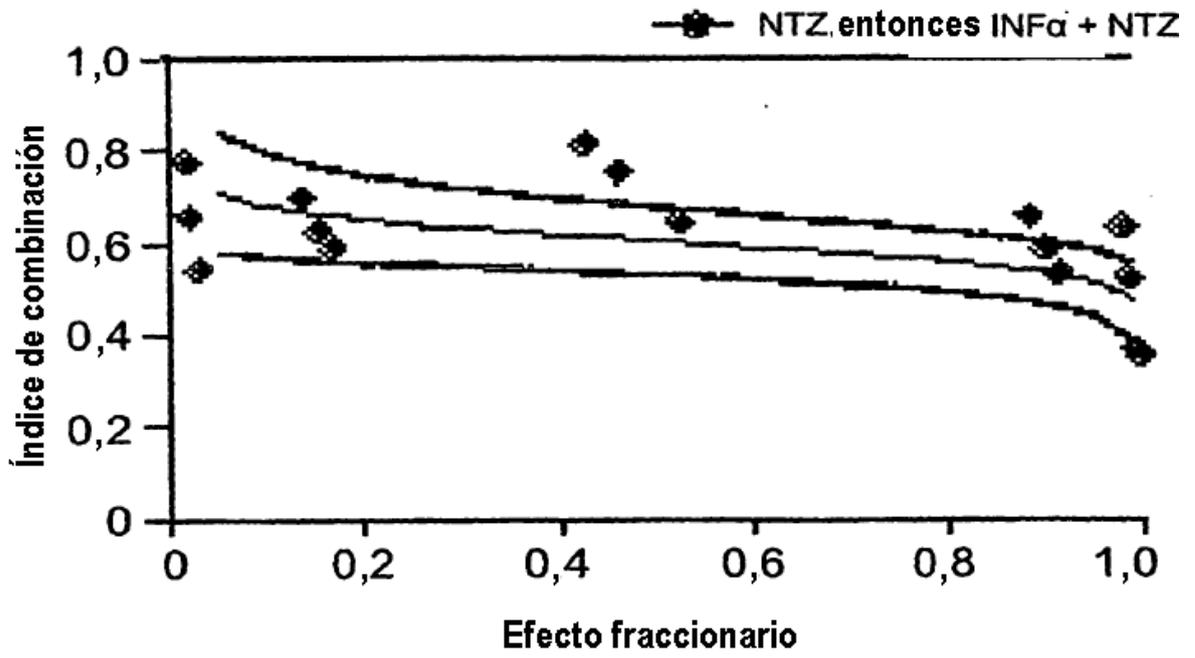


Fig. 2a

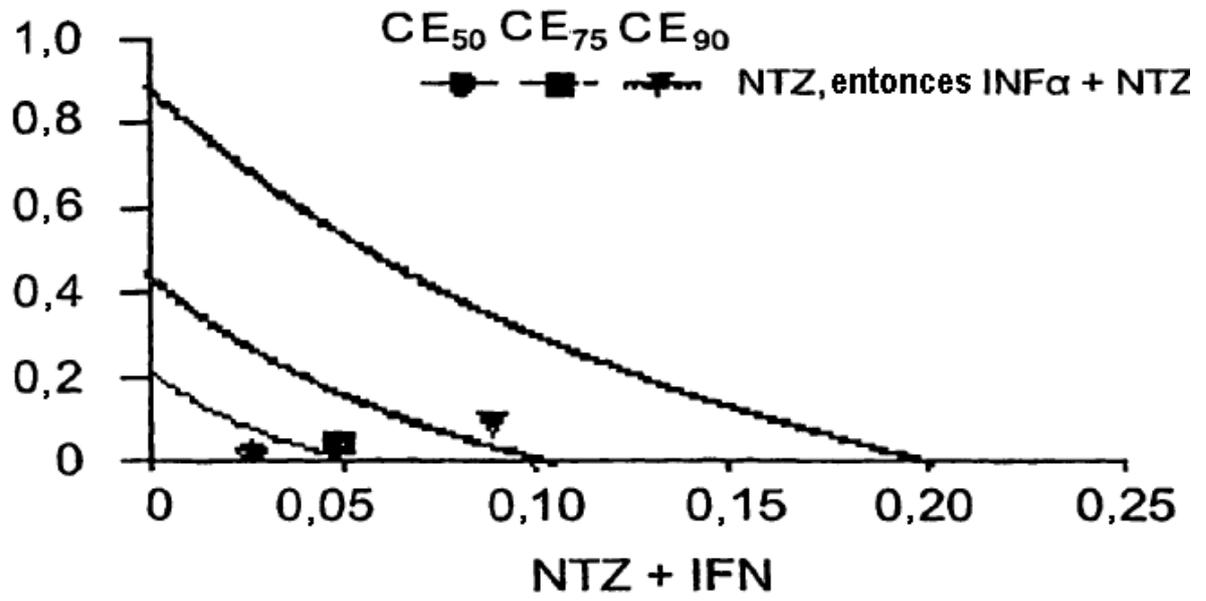


Fig. 2b

Diagrama de flujo del destino de los pacientes

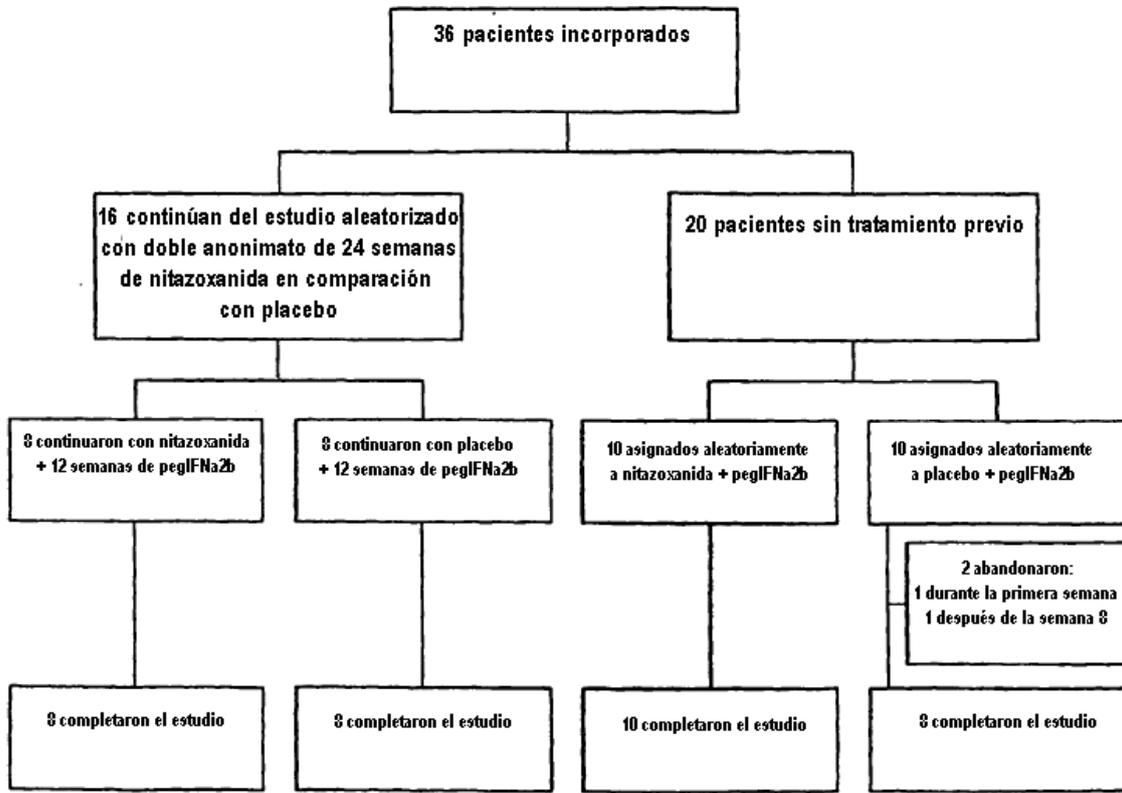


FIG. 3

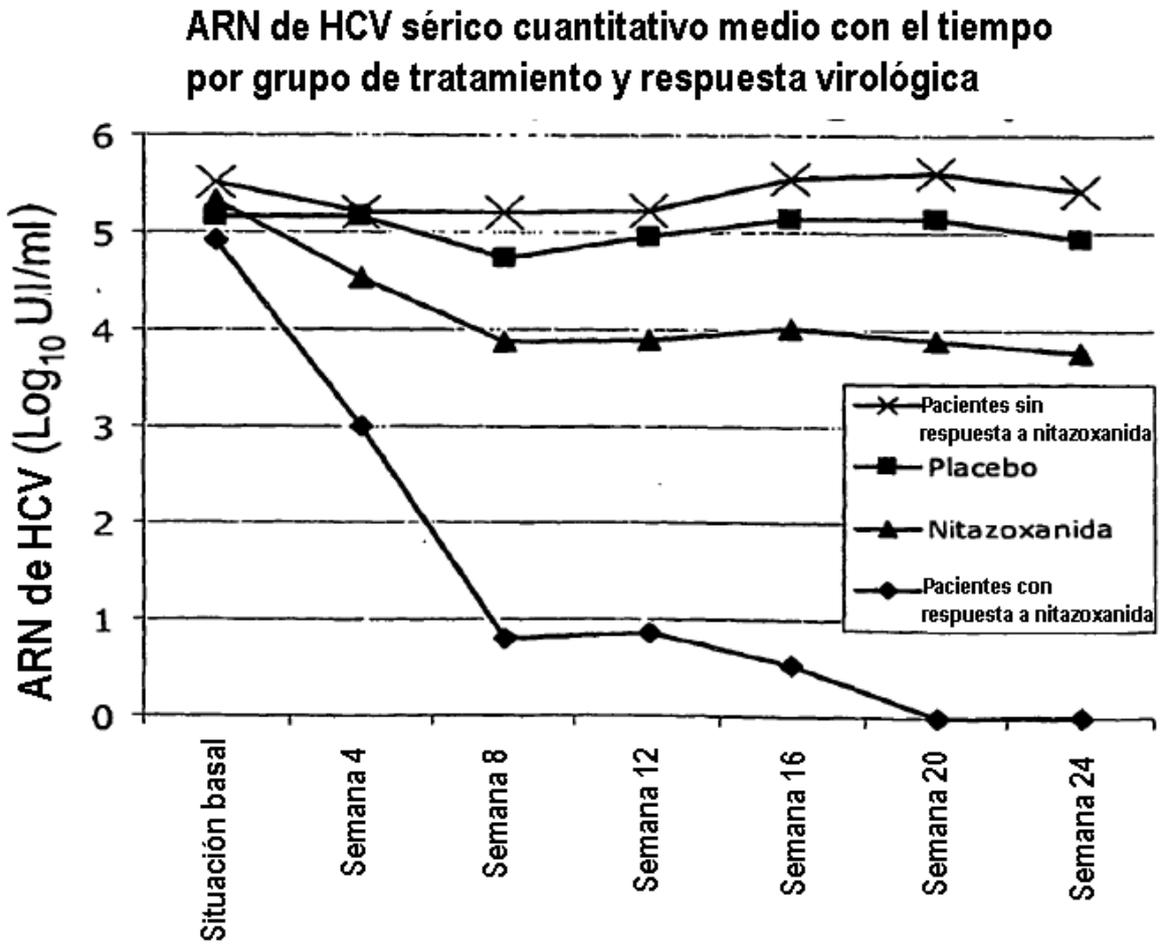


FIG. 4

ARN de HCV sérico cuantitativo con el tiempo para pacientes con respuesta virológica

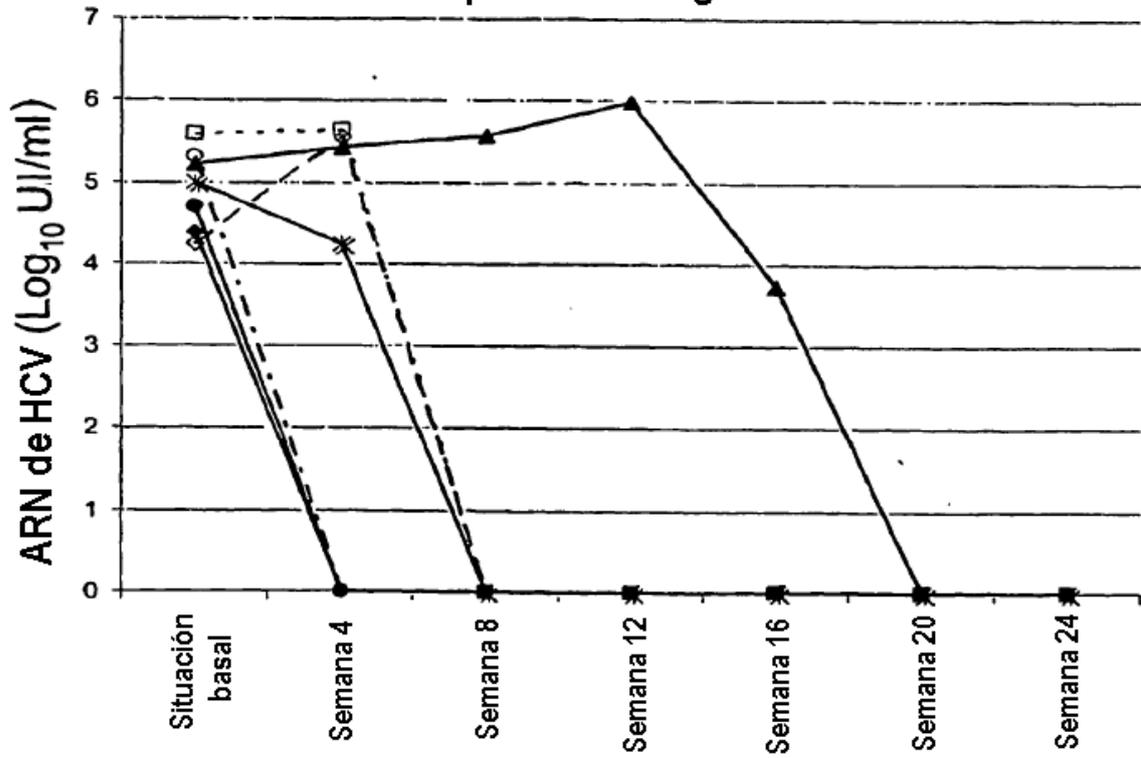


FIG. 5

Diagrama de flujo del destino de los pacientes

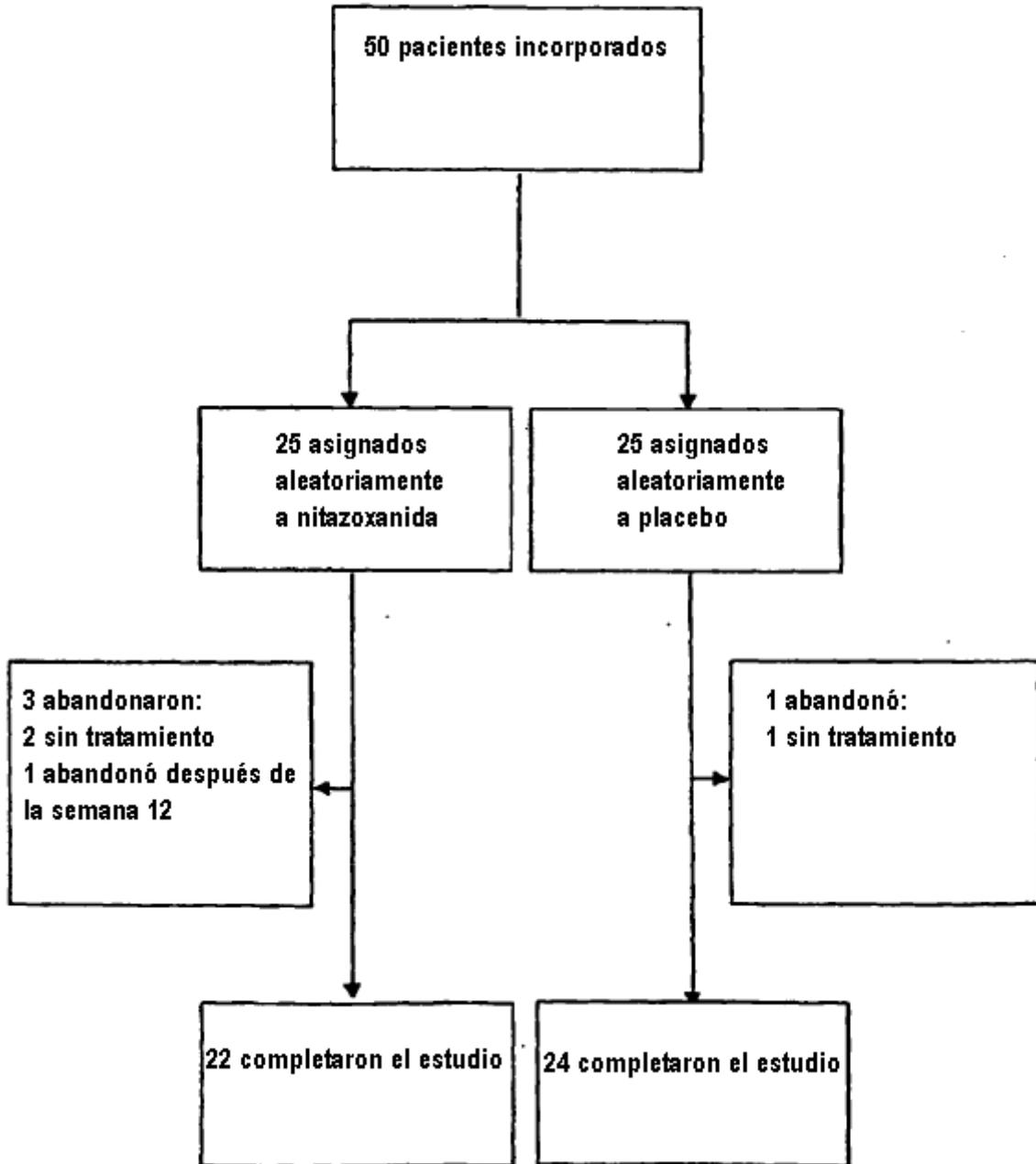


FIG. 6

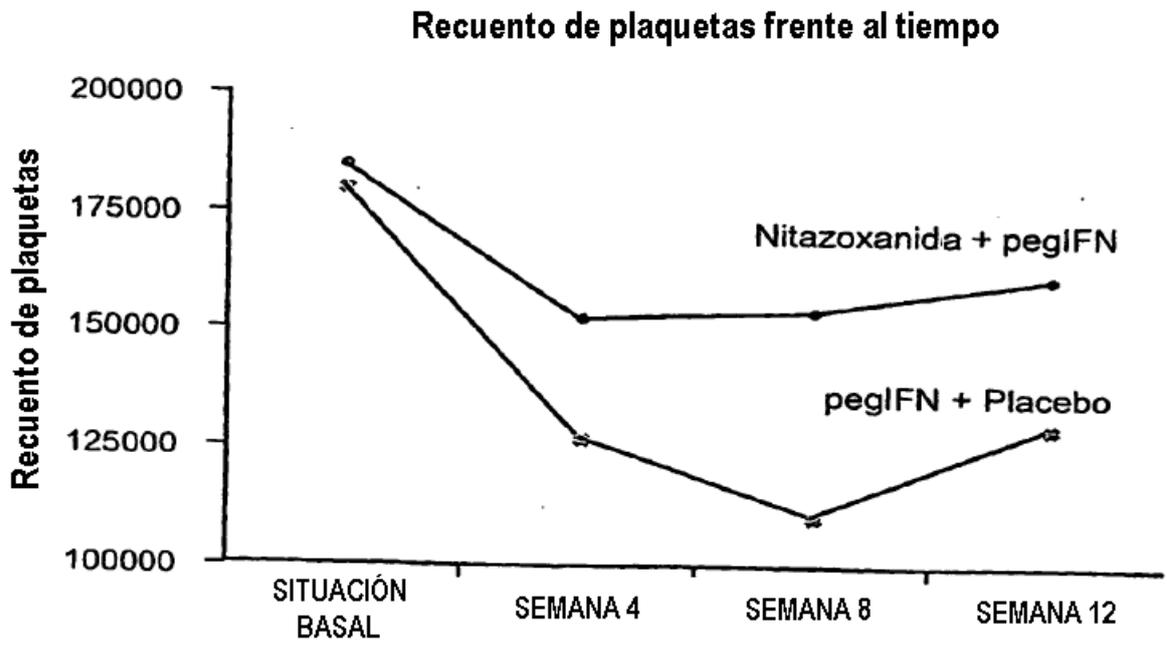


FIG. 7

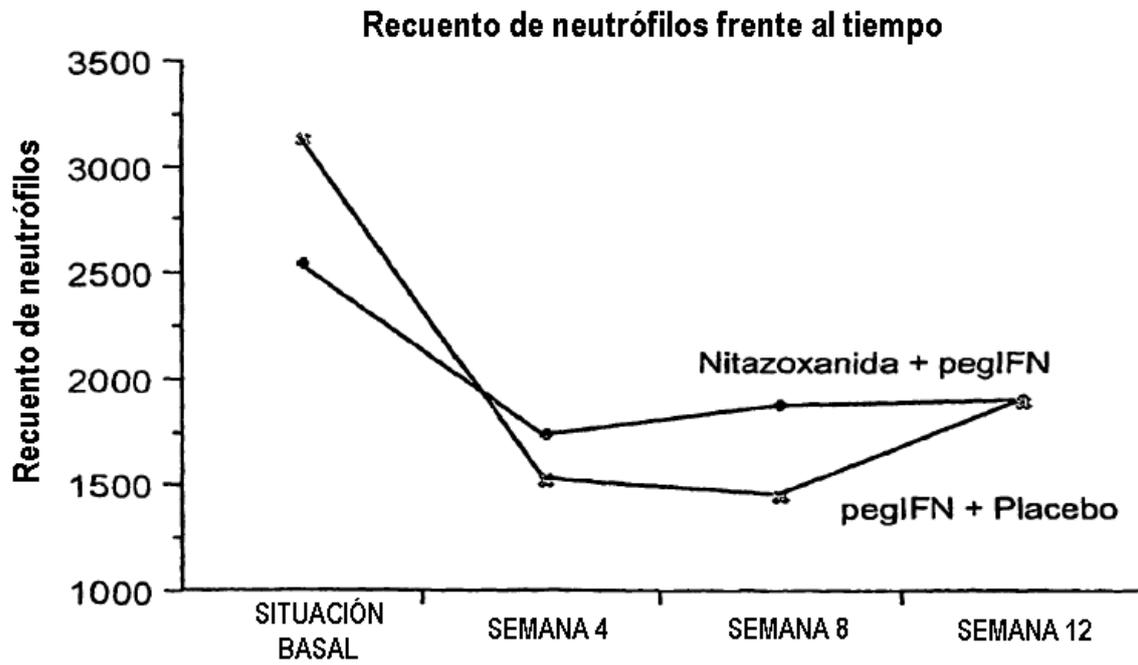


FIG. 8