

BT



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



Organización CSA Ltda

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

00-286888

21. **EXPEDIENTE No.**

54. **TITULO** Terapia de combinación para
UHC

51. **CLASIFICACION INTERNACIONAL** AGIK 31/70 // 38/21 // 47/00

71. **SOLICITANTE** Schering Corporation

DOMICILIO Estado de New Jersey Kenilworth

74. **APODERADO** Carlos R. Orlate

22. **SANTAFE DE BOGOTA, D.C.** Abril 18 1900
202038



DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

SCHERING CORPORATION

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA.

Departamento o Estado

Estado de New Jersey

Dirección

Kenilworth

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

CARLOS R. OLARTE

Dirección

CALLE 35 No. 7-25 Piso 4

Ciudad

SANTAFE DE BOGOTÁ

Teléfono

285-14-00/570-0010

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

CLIFFORD A. BRASS, PAUL W. GLUE, EDWARD PIKEN.

Identificación

Dirección

Ciudad

Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(73) Título de la Invención TERAPIA DE COMBINACION PARA VHC.

PRIORIDAD REIVINDICADA

SI ☒

NO ☐

TIPO DE PRIORIDAD

ANDINA ☐

UNIONISTA ☒

(33) País

US

(32) Fecha

Abril 19, 1999

(31) No. Solicitud

09/294,687

Para Publicar a los

☒ 6 meses

☐ 12 meses

☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

CLASIFICACION INTERNACIONAL

TRADUCCION OFICIAL No. 754/99 de un documento escrito en inglés, el cual para su

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00028688 00000000

Folios: 92

Fecha (AMD): 2000-04-18 17:04:10

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 21,338
FECHA : MARZO 31 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
ALVARO CORREA ORDONEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00024-9	950432	18,995,000.00

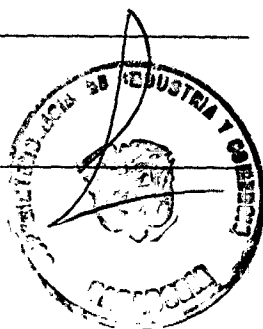
***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
	TOTAL :	\$ 608,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

Funcionario Debidamente Autorizado de la persona jurídica SCHERING CORPORATION.

4. Que la persona jurídica SCHERING CORPORATION, con sede en 2000 Galloping Hill Road, Kenilworth, Nueva Jersey 07033-0530, E.U.A., está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Certificado de Constitución, según ha sido modificado, fechado el 4 de abril de 1996

Certificado de Constitución Actualizado, registrado el 16 de junio de 1997

(Fdo.) Marguerite La Corte

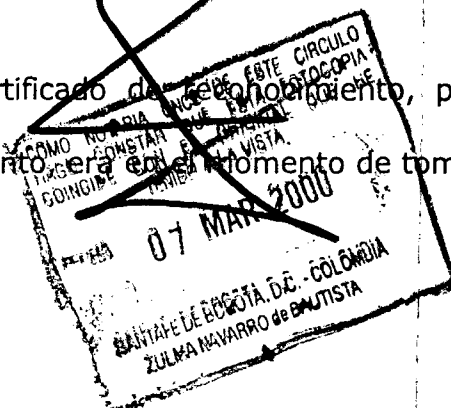
Marguerite La Corte
Notario Público de Nueva Jersey
Mi comisión expira el 7 de octubre del 2003

(Sello notarial
en relieve)

EL SUSCRITO, TESORERO DEL ESTADO DE NUEVA JERSEY, CERTIFICO POR EL PRESENTE QUE

MARGUERITE LA CORTE

la funcionaria cuyo nombre suscribe el certificado de poder, prueba o testimonio que acompaña el instrumento adjunto, en el momento de tomar dicho



reconocimiento, prueba o testimonio una NOTARIO PUBLICO, en y para el Estado de Nueva Jersey, debidamente comisionada y juramentada, y era, como tal, una funcionaria de dicho estado, debidamente autorizada por las leyes del mismo para tomar y certificarlo, así como para tomar y certificar la prueba y reconocimiento de escrituras y otros instrumentos escritos que deban registrarse en dicho estado, y que a sus actos oficiales se da y se debe dar plena fe y crédito.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he firmado el presente y estampado mi sello oficial en Trenton, a los 15 días del mes de octubre de 1999.

(Fdo.) Roland M. Machold

TESORERO

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION NO. 01016
DE MINJUSTICIA

No. 0021819-1

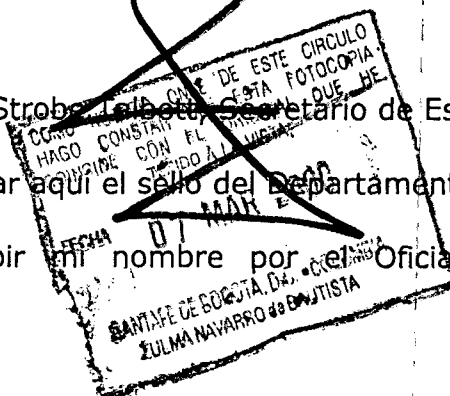
Estados Unidos de América

DEPARTAMENTO DE ESTADO

A todo aquel que viere el presente, un Saludo:

Certifico Que el documento adjunto lleva el Sello del Secretario de Estado del Estado de Nueva Jersey y que a dicho sello se debe dar plena fe y crédito.*

En testimonio de lo cual, yo, Strobe Talbot, Secretario de Estado Encargado, he hecho estampar aquí el sello del Departamento de Estado y he hecho suscribir mi nombre por el Oficial de



Autenticaciones Asistente del citado Departamento, en la ciudad de Washington, en el Distrito de Columbia, a los cuatro días del mes de noviembre de 1999.

(Firmado) Strobe Talbott
Secretario de Estado Encargado

(Firmado) Patrick O. Hatchett
Oficial de Autenticaciones Asistente,
Departamento de Estado

*** Por el contenido del documento adjunto, el departamento no asume responsabilidad**

Este Certificado carece de validez si aparece borrado o alterado en cualquier forma.


MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINJUSTICIA

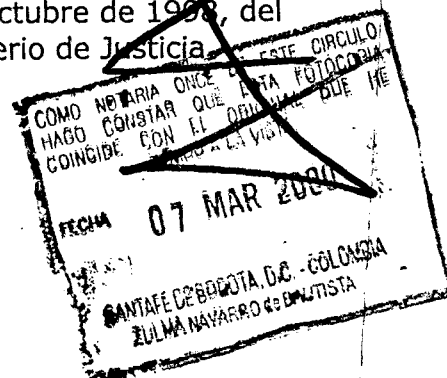
EN ESPAÑOL: Autenticación de la firma del Oficial de Autenticaciones del Departamento de Estado de los Estados Unidos por el Consulado de Colombia en Washington, D.C., bajo el No. 3365 de fecha 12 de noviembre de 1999 y legalización de la firma de la Cónsul por el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia, bajo el No. 426110 de fecha 10 de diciembre de 1999.

=====

La anterior es traducción fiel y completa del documento en referencia, de la cual se deja copia en este archivo para su confrontación.



María Teresa Lara R.
c.c. 41.568.055 de Bogotá
Traductora Oficial según
Resolución No. 01016 del
2 de octubre de 1998, del
Ministerio de Justicia.



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

341754

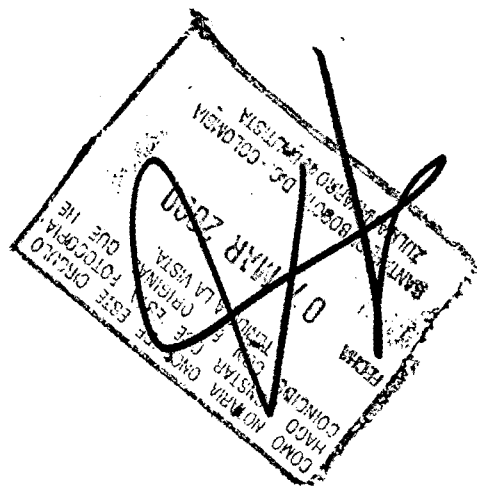
TERESA ALA

UNA FIRMA AGARDE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

1999 DIC 13 A 11:00

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C.



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3746

TELEFONO: 285-1400

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

SCHERING CORPORATION

located in

2000 Galloping Hill Road

Kenilworth, New Jersey 07033-0530, U.S.A.

declares that it hereby grants to

**ALVARO CORREA ORDOÑEZ and/or
LUZ HELENA VILLAMIL and/or
CARLOS REINALDO OLARTE**

a full and sufficient power of attorney to apply to the proper national officers and authorities for the issue of:

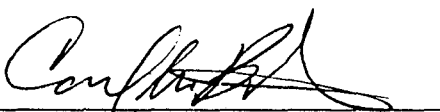
Letters Patent, mergers, changes of name, assignments, filing and prosecution of oppositions, changes of address

to which end it empowers them to take all steps necessary before said authorities for the objects stated, to file petitions, prepare descriptions, make protests, declarations, appeals and objections, pay imposts, apply for certifications, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. To the said mandatories sufficient power is granted hereby to receive notifications for and on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the patents, and to do everything that may be required, before administrative or judicial officers of any class giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions if necessary.

Done and subscribed in Kenilworth, New Jersey, USA

On the 29th day of September

19 99



Carl W. Battle
Duly Authorized Officer

PODER

La abajo firmada.

SCHERING CORPORATION

domiciliada en

2000 Galloping Hill Road

Kenilworth, New Jersey 07033-0530, U.S.A.

declara por el presente otorgar a

**ALVARO CORREA ORDOÑEZ y/o
LUZ HELENA VILLAMIL y/o
CARLOS REINALDO OLARTE**

poder especial amplio y bastante para recabar de las oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la obtención de:

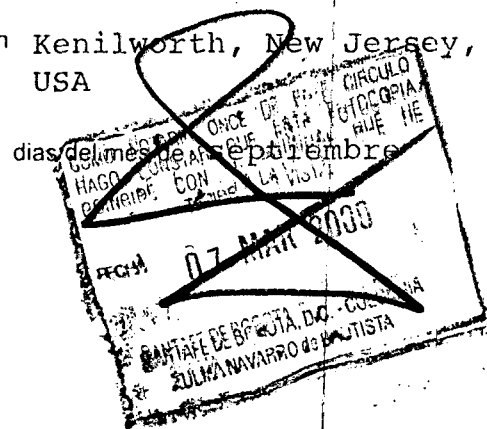
Solicitud de patente, fusiones, cambio de nombre, trasposos, solicitud y presentación de oposiciones, cambio de domicilio

a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas autoridades, todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede a los expresados mandatarios poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de las patentes se presentaren y hacer cuanto fuere necesario, ante las autoridades administrativas o judiciales de cualquier orden, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y en caso necesario revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado en Kenilworth, New Jersey, USA

A los 29

1999.



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA

Members of the Firm

BAKER & MCKENZIE

ATTORNEYS AT LAW

APARTADO AEREO 3746

TELEFONO: 285-1400

SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

COLOMBIA

NOTARIAL CERTIFICATION

CERTIFICACION NOTARIAL

On this 29th day of September

A los dias del mes de

1999, the undersigned Notary

de 19, el suscrito Notario

CERTIFIES

DA FE

That Carl W. Battle

1. Que

of legal age and domiciled in

mayor y domiciliado en

53 South Mountain Avenue

Maplewood, New Jersey 07040, U.S.A.

set his hand on the foregoing document.

suscribio de su puño y letra el documento que antecede.

That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.

2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.

That the grantor has executed the foregoing document as

3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

Duly Authorized Officer

of the juridical person

de la persona jurídica

SCHERING CORPORATION

That the juridical person

4. Que la persona jurídica

SCHERING CORPORATION

having its home office in

2000 Galloping Hill Road

Kenilworth, New Jersey 07033-0530, U.S.A.

con sede en

is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

That the grantor has in fact he referred to authority and that his/her representation is legal.

5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, y que esta es legítima.

That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source:

6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

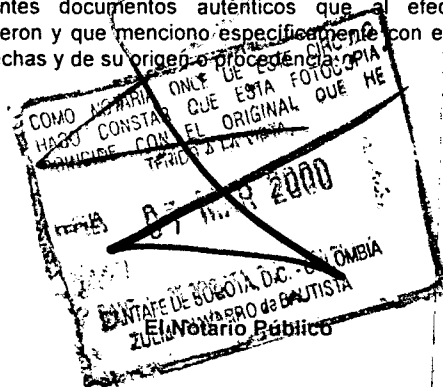
Certificate of Incorporation, as amended, dated April 4, 1996

Certificate of Restated Incorporation, filed June 16, 1997

Marguerite La Corte

Marguerite La Corte
Notary Public of New Jersey

My Commission Expires October 7, 2003



10



CONSULADO DE COLOMBIA
WASHINGTON, D.C.

No. 3365

EL CONSULADO DE COLOMBIA
CERTIFICA:

Que es auténtica la firma de Patrick O. Hathhet,
quien el día Noiembre 4 de 1999
desempeñaba las funciones de Of. de Asst. Depto. de Estado
la cual aparece al pie de los documentos anexos relacionados con Poder

Dado en Washington, D.C. a los doce (12) días del mes de Noiembre mil novecientos noventa y nueve (1999).

Pagado Impuesto de Timbre 7=
Pagado Derecho Consular 15=
Total 22=

(El Consulado no asume ninguna
responsabilidad por el contenido de los
documentos anexos)

[Handwritten signature]
CONSUELO SANCHEZ DURAN
Consul MAR 2000
BANTAF DE EROTA D.C. - COLOMBIA
ZULMA NAVARRO de GUTIERREZ

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

4 26110

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

1999 DEC 10 A 9:22

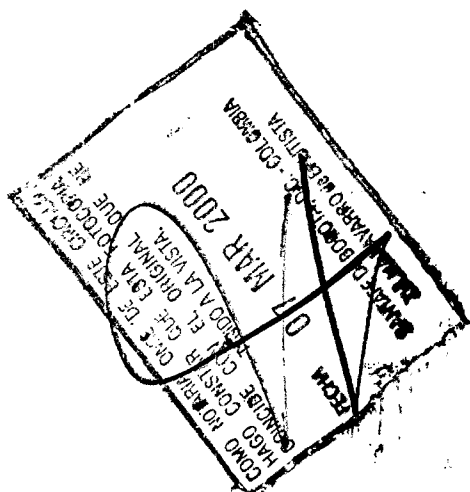
JEFE DE LEGALIZACIONES
CENTRO DE PROTECCION



Patresalana R.

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINJUSTICIA

154/95



United States of America



DEPARTMENT OF STATE

To all to whom these presents shall come, Greetings:

I Certify That the document hereunto annexed is under the Seal of the Secretary of State of the State(s) of New Jersey, and that such Seal(s) is/are entitled to full faith and credit.*

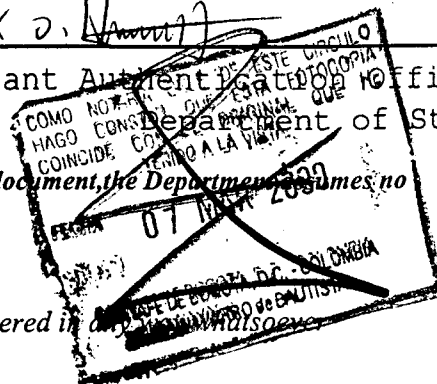
In testimony whereof, I, Strobe Talbott, Acting Secretary of State, have hereunto caused the seal of the Department of State to be affixed and my name subscribed by the Assistant Authentication Officer, of the said Department, at the city of Washington, in the District of Columbia, this fourth day of November, 1999.

Strobe Talbott
 Acting Secretary of State
 By *Rmk D. [Signature]*
 Assistant Authentication Officer,
 Department of State

Issued pursuant to CHXIV, State of
 Sept. 15, 1789, 1 Stat. 68-69; 22
 USC 2657; 22 USC 2651a; 5 USC
 301; 28 USE 1733 et. seq.; 8 USC
 1443(f); RULE 44 Federal Rules of
 Civil Procedure.

**For the contents of the annexed document, the Department assumes no responsibility*

This certificate is not valid if it is removed or altered in any way



I, THE TREASURER OF THE STATE OF NEW JERSEY, DO HEREBY
CERTIFY THAT

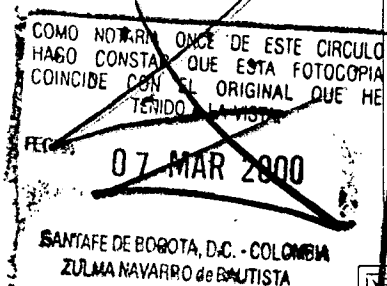
MARGUERITE LA CORTE

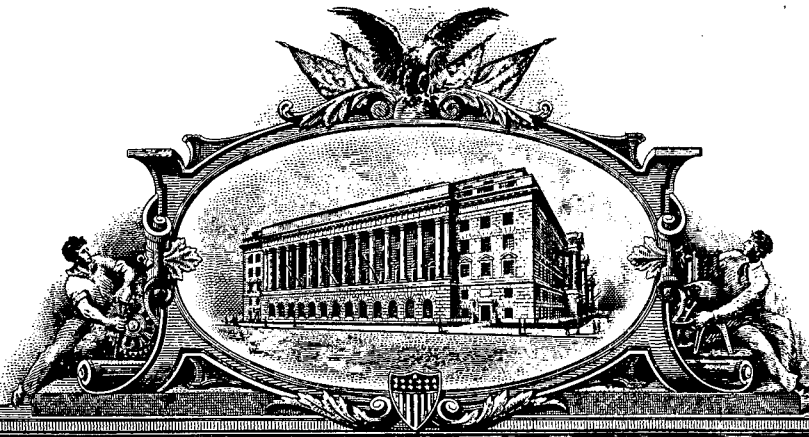
THE OFFICER WHOSE NAME IS SUBSCRIBED TO THE CERTIFICATE
OF ACKNOWLEDGEMENT, PROOF OR AFFIDAVIT ATTACHED TO THE
ANNEXED INSTRUMENT, WAS AT THE TIME OF TAKING SAID
ACKNOWLEDGEMENT, PROOF OR AFFIDAVIT A NOTARY PUBLIC,
IN AND FOR THE STATE OF NEW JERSEY, DULY COMMISSIONED
AND SWORN AND WAS, AS SUCH, AN OFFICER OF SAID STATE,
DULY AUTHORIZED BY THE LAWS THEREOF TO TAKE AND
CERTIFY THE SAME, AS WELL AS TO TAKE AND CERTIFY THE
PROOF AND ACKNOWLEDGEMENT OF DEEDS AND OTHER INSTRUMENTS
IN WRITING TO BE RECORDED IN SAID STATE, AND THAT FULL
FAITH AND CREDIT ARE AND OUGHT TO BE GIVEN TO HIS OFFICIAL
ACTS.

IN TESTIMONY WHEREOF, I HAVE
HEREUNTO SET MY HAND AND AFFIXED
MY OFFICIAL SEAL AT TRENTON, THIS
15TH DAY OF OCTOBER
A.D. 1999.



Roland M Machold
Roland M Machold
TREASURER





THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

February 16, 2000

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

APPLICATION NUMBER: 09/294,687

FILING DATE: April 19, 1999



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

**P. SWAIN
Certifying Officer**

AT 14

04/19/99
JCS55 U.S. PTO

PATENT

Attorney Docket No.: IN01023

Box Patent Application
ASSISTANT COMMISSIONER FOR PATENTS
Washington, D.C. 20231

JCS30 U.S. PTO
09/29/98
04/19/99

Sir:

Transmitted herewith for filing is the patent application, including a specification and claim(s), of:

First Named Inventor: Clifford A. Brass

Title: HCV Combination Therapy

Also enclosed are items 1-6, as checked:

- 1. ☐ _____ sheets of drawing(s).
- 2. ☒ Declaration and Power of Attorney (3 pages, unsigned).
 - a. ☐ Newly executed.
 - b. ☐ Copy from a prior application (box no. 10 below also completed).
 - (i). ☐ A signed statement is enclosed deleting inventor(s) named in the prior application.
 - (ii). ☐ The entire disclosure of the prior application, from which a copy of the declaration is supplied, is considered as being part of the disclosure of the accompanying application and is hereby incorporated by reference therein.
- 3. ☐ A floppy disk, including the computer form of the Sequence Listing in the specification. The undersigned certifies that the computer form is equivalent in content to the Sequence Listing in the specification.
- 4. ☐ A preliminary amendment.
- 5. ☐ An information Disclosure Statement (PTO Form 1449) with copies of _____ cited documents.
- 6. ☐ _____
- 7. ☒ The filing fee is as follows, calculated after entry of any preliminary amendment:

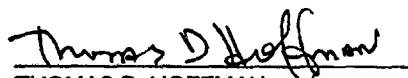
For	Number Filed (1)	Number Extra (2)	Rate	Fee
Basic Fee				\$760.00
Total Claims	40 - 20 =	(20)	x \$18.00	360.00
Independent Claims	4 - 3 =	(1)	x \$82.00	82.00
Multiple Dependent Claims				\$0.00-
			TOTAL FILING FEE	\$1,202.00

*If the difference in Col. 1 is less than zero, enter "0" in Col. 2.

097 4537 041999

16 15

8. ☒ The Commissioner is authorized to charge Deposit Account No. 19-0365 in the amount of the above Total Filing Fee. A duplicate of this form is enclosed for fee processing.
9. ☒ General Authorization. This paper constitutes a general authorization to the Commissioner, for any deficiency in the above Total Filing Fee and all fee requirements subsequent to the instant filing, to charge all fees for amendments, petitions, and any and all other papers to our Deposit Account 19-0365. This is not, however, an automatic authorization to charge our Deposit Account for the Issue Fee.
10. ☐ This application is a request for filing a ☐ Continuation ☐ Divisional ☐ Continuation -in-part of prior application Serial No.: _____ filed on _____


THOMAS D. HOFFMAN
Attorney/Agent for Applicant(s)
Reg. No.: 28221
SCHERING-PLOUGH CORPORATION
Patent Dept. K-6-1, 1990
2000 Galloping Hill Road
Kenilworth, New Jersey 07033-0530
Telephone: (908) 298-5037
Facsimile: (908) 298-5388

EXPRESS MAIL label no.: EL226882691US

Date of Deposit: April 19, 1999

Rev. 11/97JS

05 1687 041999

X

PATENT CASE
IN01023

HCV COMBINATION THERAPY

5

BACKGROUND OF THE INVENTION

10 The present invention relates to methods of treating patients having chronic hepatitis C infection by administering to said patient a therapeutically effective amount of a combination therapy of interferon-alfa and ribavirin for a time sufficient to lower HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a time sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis.

15 Chronic infection with hepatitis C virus is an insidious and slow-progressing disease having a significant impact on the quality of life. It can eventually result in cirrhosis of the liver, decompensated liver disease and/or hepatocellular carcinoma.

20 Combination treatment with interferon alfa-2b and ribavirin for chronic hepatitis C in patients. is disclosed by Reichard et al.(The Lancet 1998; 351;83-87. T. Poynard et al.(The Lancet ,1998, Vol. 352, Oct. 31, p 1426-1432) disclose that treating chronic hepatitis C patients who had not been treated with interferon or ribavirin with 3 MIU of interferon alfa-2b TIW plus 1000-1200 mg of ribavirin per day for 48 weeks resulted in a sustained virological response at 24
25 weeks after treatment in 43% of the patients. See also J. G. McHutchinson et al. (N. Engl. J. Med.,1998, 339:1485-1492), G. L. Davis et al. (N. Engl. J. Med., 1998, 339:1493-1499) disclose that treating chronic hepatitis C patients who relapsed after treatment with interferon with 3 MIU of interferon alfa-2b TIW plus 100-1200 mg of ribavirin per day for 48 weeks results in higher rates of
30 sustained virologic response than treatment with interferon alone.

However this combination therapy is not always effective due to side effects associated ribavirin such as ribavirin-related hemolysis.

052 1637 041999 5567140 250

18/17

There is a need to provide an improved combination therapy for treating chronic hepatitis C patients to ameliorate the ribavirin-related hemolysis so as to produce a sustained virological response in more patients than previously possible.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides a method of treating a patient having chronic HCV infection which comprises administering to said patient a therapeutically effective amount of a combination therapy of interferon-alfa and ribavirin for a time sufficient to lower HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a time sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis.

The present invention provides a method of treating a patient having a chronic HCV infection which comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of interferon alfa and ribavirin for a first time period of at least about 24 weeks sufficient to lower detectable HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a second time period sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis

The present invention also provides a method of treating a patient having a chronic HCV infection which comprises (a) administering to the patient a therapeutically effective amount of a combination therapy of interferon alfa and ribavirin for a first time period of at least about 24 weeks sufficient to lower detectable HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a second time period sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis and (b) thereafter administering about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin in association with the antioxidant for a third time period of at least about 24 weeks after the end of the first time period.

In a preferred embodiment, the present invention relates to a method of treating patients having chronic hepatitis C infection to eradicate detectable HCV-RNA comprising (a) administering a therapeutically effective amount of an antioxidant for a time period sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis in association with (b) administering a combination in a first treatment time period of twenty-four weeks of about 800 to 1200 mg per day of ribavirin for twenty-four weeks and about 10 MIU daily of interferon-alfa-2b for two weeks, followed by 5 MIU daily of interferon-alfa for six weeks, followed by 3 MIU daily of interferon-alfa for sixteen weeks, followed by (c) administering in a second treatment time period of twenty-four weeks about 800 to 1200 mg per day of ribavirin and 3 MIU TIW of interferon-alfa

The preferred interferon-alfa is interferon-alfa-2a or interferon-alfa-2b; use of interferon-alfa-2b is more preferred.

15

The preferred antioxidants are water soluble d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol esters such as the water dispersible Vitamin E d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate("Vitamin E-TPGS") as well as use of compositions of Vitamin E-TPGS and at least one fatty acid ester of glycerine having an overall melting point of 40°C (both of which are disclosed in U.S. Patent 5,234,695 and available from Eastman Kodak Co., Rochester, NY).

20

DETAILED DESCRIPTION

25

The present invention provides an improved method of treating patients having hepatitis C infection by allowing such patients to continue using the therapeutically effective amount of combination therapy of interferon alfa and ribavirin such as approved by the FDA as well as other interferon alfa and ribavirin therapies under clinical development or described hereinafter. In a pilot study, twelve treatment -naive patients having chronic hepatitis C who received over the counter preparations of the antioxidants vitamin C (1000 mg/day) and

30

vitamin E (800 IU/day) in combination with the FDA-approved combination therapy of 1200 mg of ribavirin in two divided doses daily (1000 mg if body weight <75kg) and interferon alfa-2b, 3MIU SC TIW were able to continue for four months of the study without having to reduce the ribavirin dose. A control group of fourteen matched relapse patients having chronic hepatitis C received 1200 mg of ribavirin in two divided doses daily (1000 mg if body weight <75kg) and interferon alfa-2b, 3MIU SC TIW. Hemoglobin levels ("Hgb") were measured before treatment and at the end of weeks 2, 4, 8 and 12. Baseline Hgb values of 14.5 ± 1.7 and 15.2 ± 1.2 were measured for the treatment-naïve and relapse patients, respectively. Hemoglobin drops (gm/dl) of 0.9, 1.7, 2.3 and 2.7 gm/dl were measured in the treatment-naïve patients at the end of weeks 2, 4, 8 and 12 respectively. Hemoglobin drops (gm/dl) of 2.0, 3.0, 3.0 and 3.1 gm/dl were measured in the relapse patients (control). The concomitant use of antioxidants with the combination therapy markedly delayed the severity of the ribavirin-related anemia in the first twelve weeks of combination therapy compared to historical controls and the relapse patients in the same pilot study. It was noteworthy that no patients receiving the antioxidants needed to reduce the ribavirin dose. However, three of the control patients required ribavirin dose reduction.

The patients treated in accordance with the preferred embodiments should have no detectable HCV-RNA at the end of said 48 week treatment period, also should have no detectable HCV-RNA for at least 24 weeks after the end of said 48 week period.

The present method of treating patients having chronic hepatitis C infections allows delivery of therapeutically effective amount of the combination of ribavirin and of interferon-alfa sufficient to substantially lower detectable HCV-RNA serum levels, preferably by at least two powers of ten, i.e., at least 10^2 lower than the initial HCV-RNA serum level, and more preferably eradicate detectable HCV-RNA serum levels, i.e., lower them to less than 100 copies/mL while simultaneously ameliorating the ribavirin-related hemolysis.

2x

The term "antioxidant" as used herein means a substance that delays or inhibits hemolysis related to or promoted by administration of ribavirin.

The term "a therapeutically effective amount of an antioxidant" as used herein means an amount of antioxidant in the range of about ten to about one hundred times the recommended daily amount ("RDA") of antioxidants useful in the methods of the present invention. The antioxidants useful in the methods of the present invention will normally be administered as long as the ribavirin is administered as part of the combination therapy, induction dosing and ribavirin monotherapy delivered to the patient having hepatitis C .

Typically, suitable antioxidants include Vitamin A, tocopherol, Vitamin C, silybum marianum, co-enzyme-Q10, BHA, BHT, N-acetylcysteine, selenium, panavir, lycopene, or mixtures thereof.

Vitamin A (is described in Merck Index 11th Edition #9918 (and 4919) at pages 1576-77. The RDA is in the range of about 2500 IU/day up to about 2500 IU/day; preferably about 2500 IU/day for newborns and infants.

Tocopherol includes all forms of tocopherol such as Vitamin E, preferably tocopherol or d-alpha-tocopherol (available from Roche, Nutley, N.J.)(RDA=10-30mg or 200 IU for adults), Vitamin E esters such as Vitamin E acetate and succinate (alpha-tocopheryl acetate and alpha-tocopheryl succinate) as well as water soluble Vitamin E derivatives. Use of water soluble Vitamin E derivatives is preferred. By weight, one International Unit(IU)= 1.00 mg of dl-alpha tocopheryl acetate=1.0 mg of dl-alpha tocopherol =0.73 mg of d-alpha tocopheryl acetate= 0.81 mg of dl-alpha tocopherol

Water soluble Vitamin E derivatives include pharmaceutically acceptable Vitamin E salts such as Vitamin E phosphate, as well as water soluble tocopheryl polyethylene glycol esters such as those disclosed in U.S Patent Nos. 2,680,749, 3,914,430 and 5,234,695; water soluble tocopheryl polyethylene glycol esters are preferred.

Use of d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol esters such as the water dispersible Vitamin E d-alpha-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate("Vitamin E-TPGS") as well as use of compositions of Vitamin E-TPGS and at least one fatty acid ester of glycerine having an overall melting point of 40°C (both of which are disclosed in U.S. Patent 5,234,695 and available from Eastman Kodak Co., Rochester, NY) are more preferred.

The effective amounts of Vitamin E derivatives, e.g., water soluble Vitamin E derivatives such as Vitamin E-TPGS is in the range of about 200 IU to 20000 IU of Vitamin E /day, preferably about 1000 IU to about 5000 IU of Vitamin E /day, more preferably about 1200 IU to about 2200 IU of Vitamin E /day, in single or divided doses. One IU of Vitamin E-TPGS is 807/1200 mg of Vitamin E-TPGS. See Dimitrov, NV, et al., Am J Clin Nutr(USA) Sept. 1996, Vol. 64, (3) pages 329-335 reports that administration of 400 IU (269 mg), 800 (537mg) and 1200 IU (807mg) of Vitamin E-TPGS to healthy volunteers as a single oral dose resulted slight elevation of plasma alpha tocopherol concentrations. Sokool, RJ, et al. Gastroenterology, (USA), June 1993, Vol. 104(6) pages 1727-1735 report that a dose of 20-25IU/kg/day of Vitamin E-TPGS appears to be safe and effective for treating chronic childhood cholestasis. The RDA of Vitamin E-TPGS for pediatrics is in the range of 15-25IU/kg/day.

Vitamin C (L-ascorbic acid and D-ascorbic acid) is readily available as an over the counter product. See also Merck Index, 11th Edition #855 pp. 130-131. The RDA for Vitamin C is 120 mg/day up to 25g/day or even 40 g/day.

Silybum marianum (silymarin), the active ingredient in milk thistle, is available from Magdaus AG, Germany under the LEGALON tradename. The RDA for silymarin is 140 mg/day, capsule, PO. .

27

Coenzyme -Q10 is a vitamin-like substance made by the human body and is also found in organ meats. The RDA for coenzyme -Q10 is about 300 to 400mg/day .

5 BHA (butylated hydroxyanisole) (Merck Index, 11th Edition, No. 1547) and BHT (butylated hydroxytoluene (Merck Index, 11th Edition, No. 1548 p. 238) are available from Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, WI 53233.

10 Acetyl cysteine (N-Acetyl-L-cysteine, "NAC") is found in the body. See also Merck Index, 11th Edition, No. 82 p. 14 . The RDA for NAC is in the range of about 300 mg/day to 600 mg/day.

15 Selenium is available from Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, WI 53233. The RDA for selenium is 200 to 600 micrograms/day.

20 Panavia (4,4'-isopropylidenedithiobis-2,6-di-t-butylphenol) is available from Vyrex Corporation, La Jolla, CA 92037 (USA). The RDA for Panavia 200mg to 800mg/day PO for HIV patients ; higher doses stabilized or slightly stabilized CD4 levels in Phase I/II clinical trials. See PharmaProjects, section J5A

25 Lycopene is found in tomatoes; see NYTIMES, April 13, 1999, Science Times Section page F 12 . The RDA for lycopene is in the range of 5 to 15mg/day.

30 Pharmaceutical compositions of the antioxidants useful in the present invention may contain the excipient, and other ingredient found in the over the counter preparations of the antioxidants. Compositions of Vitamin E-TPGS and at least one fatty acid ester of glycerine having an overall melting point of 40°C disclosed in U.S. Patent 5,234,695 may also be used. See also the compositions of Trolox and Trolox C disclosed in J Pharm Pharmacol(GB), Feb 1995, Vol 47(2), pages 138-142.

665F10" 289. 260

23
28

5 The term "patients having hepatitis C infections" as used herein means any patient-including a pediatric patient-having hepatitis C and includes treatment-naïve patients having hepatitis C infections and treatment-experienced patients having hepatitis C infections as well as those pediatric, treatment-naïve and treatment-experienced patients having chronic hepatitis C infections.

These patients having chronic hepatitis C include those who are infected with multiple HCV genotypes including type 1 as well as those infected with, *inter alia*, HCV genotype 2 and/or 3.

10 The term "pediatric patient" as used herein means a patient below the age of 17, and normally includes those from birth to 16 years of age.

The term "treatment-naïve patients having hepatitis C infections" as used herein means patients with hepatitis C who have never been treated with ribavirin or any interferon, including but not limited to interferon-alfa, or pegylated interferon alfa.

15 The term "treatment-experienced patients having hepatitis C infections" as used herein means patients with hepatitis C who have been treated with ribavirin or any interferon, including but not limited to interferon-alfa, or pegylated interferon alfa, including relapsers and non-responder.

20 The term "patients having chronic hepatitis C infections" as used herein means any patient having chronic hepatitis C and includes "treatment-naïve patients and treatment-experienced patients having chronic hepatitis C infections, including but not limited to relapsers and non-responders.

25 The term "relapsers" as used herein means treatment-experienced patients with hepatitis C who have relapsed after initial response to previous treatment with interferon alone, or in combination with ribavirin.

The term "non-responders" as used herein means treatment-experienced patients with hepatitis C who have not responded to prior treatment with any interferon alone, or in combination with ribavirin.

30 The term "interferon-alfa" as used herein means the family of highly homologous species-specific proteins that inhibit viral replication and cellular proliferation and modulate immune response. Typical suitable interferon-alfas

03 1687 04199

VP

SECRET

The term "pegylated interferon alfa" as used herein means polyethylene glycol modified conjugates of interferon alfa, preferably interferon alfa-2a and -2b. The preferred polyethylene-glycol-interferon alfa -2b conjugate is PEG₁₂₀₀₀-interferon alfa 2b. The phrases "12,000 molecular weight polyethylene glycol conjugated interferon alpha" and "PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa" as used herein mean conjugates such as are prepared according to the methods of International Application No. WO 95/13090 and containing urethane linkages between the interferon alfa-2a or -2b amino groups and polyethylene glycol having an average molecular weight of 12000.

30 The preferred PEG₁₂₀₀₀-interferon alfa-2b is prepared by attaching a PEG polymer to the epsilon amino group of a lysine residue in the IFN alfa-2b molecule. A single PEG₁₂₀₀₀ molecule is conjugated to free amino groups on an

26

10

IFN alfa-2b molecule via a urethane linkage. This conjugate is characterized by the molecular weight of PEG₁₂₀₀₀ attached. The PEG12000-IFN alfa-2b conjugate is formulated as a lyophilized powder for injection. The objective of conjugation of IFN alfa with PEG is to improve the delivery of the protein by significantly prolonging its plasma half-life, and thereby provide protracted activity of IFN alfa.

Other interferon alfa conjugates can be prepared by coupling an interferon alfa to a water-soluble polymer. A non-limiting list of such polymers include other polyalkylene oxide homopolymers such as polypropylene glycols, polyoxyethylenated polyols, copolymers thereof and block copolymers thereof. As an alternative to polyalkylene oxide-based polymers, effectively non-antigenic materials such as dextran, polyvinylpyrrolidones, polyacrylamides, polyvinyl alcohols, carbohydrate-based polymers and the like can be used. Such interferon alfa-polymer conjugates are described in U.S. Patent No. 4,766,106, U.S. Patent No. 4,917,888, European Patent Application No. 0 236 987, European Patent Application Nos. 0 510 356, 0 593 868 and 0 809 996 (pegylated interferon alfa-2a) and International Publication No. WO 95/13090.

Pharmaceutical compositions of pegylated interferon alfa-suitable for parenteral administration may be formulated with a suitable buffer, e.g., Tris-HCl, acetate or phosphate such as dibasic sodium phosphate/monobasic sodium phosphate buffer, and pharmaceutically acceptable excipients (e.g., sucrose), carriers (e.g. human plasma albumin), toxicity agents (e.g. NaCl), preservatives (e.g. thimerosal, cresol or benylalcohol), and surfactants(e.g. tween or polysorbates) in sterile water for injection. The pegylated interferon alfa may be stored as lyophilized powders under a refrigeration at 2°-8°C. The reconstituted aqueous solutions are stable when stored between 2° and 8°C and used within 24 hours of reconstitution. See for example U.S. Patent Nos, 4,492,537; 5,762,923 and 5,766,582. The reconstituted aqueous solutions may also be stored in prefilled, multi-dose syringes such as those useful for delivery of drugs such as insulin. Typical suitable syringes include systems comprising a prefilled vial attached to a pen-type syringe such as the NOVOLET Novo Pen

TX

available from Novo Nordisk, as well as prefilled, pen-type syringes which allow easy self-injection by the user. Other syringe systems include a pen-type syringe comprising a glass cartridge containing a diluent and lyophilized pegylated interferon alfa powder in a separate compartment.

5

The following preferred embodiments for administering therapeutically effective amounts of the combination therapy of interferon alfa and ribavirin are presented

10

The interferon-alpha administered as part of the combination therapy is preferably selected from interferon alpha-2a, interferon alpha-2b, a consensus interferon, a purified interferon alpha product or a pegylated interferon-alpha. More preferably, the interferon-alpha is selected from interferon alpha-2a, interferon alpha-2b, or a purified interferon alpha product and the amount of interferon-alpha administered is from 2 to 10 million IU per week on a weekly, TIW, QOD or daily basis. In a preferred embodiment, the interferon-alpha administered is interferon-alpha-2b and the amount of interferon-alpha is administered 3 million IU TIW.

15

20

Alternatively, the interferon-alpha administered as part of the combination therapy is consensus interferon and the amount of interferon-alpha administered is from 1 to 20 micrograms per week on a weekly, TIW, QOD or daily basis. In another embodiment, the interferon-alpha administered is a pegylated interferon alpha-2b and the amount of interferon-alpha administered is from 0.5 to 2.0 micrograms/kilogram per week on a weekly, TIW, QOD or daily basis. Alternatively, the interferon-alpha administered is a pegylated interferon alpha-2a and the amount of interferon-alpha administered is from 20 to 250 micrograms/kilogram per week on a weekly, TIW, QOD or daily basis.

25

30

35

When the pegylated interferon-alfa administered as part of the combination therapy is a pegylated interferon alfa-2b, the therapeutically effective amount of pegylated interferon alfa-2b administered during the treatment in accordance with the present invention, including in first and second

27
20

treatment time periods, is in the range of about 0.1 to 9.0 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered per week, in single or divided doses, preferably once a week (QW) or twice a week(BIW), preferably in the range of about 0.1 to about 9.0 micrograms per kilogram of pegylated
5 interferon alfa-2b administered once a week (QW) or in the range of about 0.05 to about 4.5 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered twice a week(BIW), or is in the range of about 0.5 to about 3.0 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered per week, preferably in the range of about 0.5 to about 3.0 micrograms per kilogram of
10 pegylated interferon alfa-2b administered once a week (QW) or in the range of about 0.25 to about 1.5 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered twice a week , or is in the range of about 0.75 to about 1.5 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered per week, most preferably is in the range of about 0.75 to about 1.5 micrograms per
15 kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered once a week or about 0.375 to about 0.75 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered twice a week.

20 When the pegylated interferon-alfa administered to pediatric patients as part of the combination therapy is a pegylated interferon alfa-2b, the therapeutically effective amount of pegylated interferon alfa-2b administered during the treatment in accordance with the present invention, including in first and second treatment time periods is in the range of about 0.1 to 9.0 micrograms
25 per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered per week, in single or divided doses, preferably once a week (QW) or twice a week(BIW), more preferably about 0.1 to about 9.0 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered once a week (QW), or about 0.05 to about 4.5 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered per week,
30 in single or divided doses, preferably once a week (QW) or twice a week(BIW), more preferably about 0.05 to about 4.5 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered once a week, or preferably about 0.75 to about

PA

3.0 micrograms per kilogram of pegylated¹³ interferon alfa-2b administered in single or divided doses, preferably once a week (QW) or twice a week (BIW), more preferably about 0.75 to about 3.0 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered once a week or about 0.375 to about 1.5

5 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered twice a week, and most preferably about 2.25 to about 2.6 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered once a week or about 1.1 to about 1.3 micrograms per kilogram of pegylated interferon alfa-2b administered twice a week (BIW).

10

When the pegylated interferon-alfa administered as part of the combination therapy is a pegylated interferon alfa-2a, the therapeutically effective amount of pegylated interferon alfa-2a administered during the treatment in accordance with the present invention, including in first and second

15 treatment time periods, is in the range of about 50 micrograms to about 500 micrograms once a week ("QW"), preferably about 200 micrograms to about 250 micrograms QW or the effective amount is in the range of about 50 micrograms to about 250 micrograms twice a week, preferably about 100 micrograms to about 125 micrograms twice a week.

20

When the pegylated interferon-alfa administered to a pediatric patient as part of the combination therapy is a pegylated interferon alfa-2a, the therapeutically effective amount of pegylated interferon alfa-2a administered during the treatment in accordance with the present invention, including in first

25 treatment time period is in the range of about 50 micrograms to about 500 micrograms once a week ("QW"), preferably about 300 micrograms to about 375 micrograms QW or the therapeutically effective amount of pegylated interferon alfa-2a administered to a pediatric patient is in the range of about 50 micrograms to about 250 micrograms twice a week, preferably about 150 micrograms to

30 about 190 micrograms once a week

28

14

Ribavirin is administered as part of the combination therapy to the patient in association with pegylated interferon-alfa, that is, before, after or concurrently with the administration of the pegylated interferon alfa. The pegylated interferon-alfa dose is preferably administered during the same period of time that the patient receives doses of ribavirin. The amount of ribavirin administered concurrently with the pegylated interferon-alfa is from about 400 to about 1600 mg per day, preferably about 600 to about 1200 mg/day or about 800 to about 1200 mg day and most preferably about 1000 to about 1200 mg/kg a day. The pegylated interferon-alfa dose is also preferably administered to the pediatric patient during the same period of time that such patient receives doses of ribavirin. The amount of ribavirin administered to the pediatric patient concurrently with the pegylated interferon-alfa is from about 8 to about 15 mg per kilogram per day, preferably about 8, 12 or 15 mg per kilogram per day, in divided doses.

15

The following preferred embodiments for administering induction dosing amounts of interferon alfa in association with ribavirin in the first and second treatment time periods are presented.

20

The amount of ribavirin administered in the first treatment time period is from 400 to 1600 mg per day, preferably 600 to 1200 mg/day or about 800 to 1200 mg day and most preferably about 1000 to 1200 mg/kg a day. The amount of ribavirin administered in the second treatment time period is in the range of from about 800 to 1200 mg per day, preferably from about 1000 to 1200 mg per day.

25

When the interferon-alfa administered is selected from interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, or a purified interferon alfa product, the therapeutically effective induction dosing amount of interferon-alfa administered in the first treatment time period is 10 MIU daily for 2 weeks, followed by 5 MIU daily for 6 weeks, followed by 3 MIU daily for 16 weeks, and the therapeutically effective

30

0921 1537 041999

28

15

amount of interferon-alfa administered in the second treatment time period is 3 MIU TIW for 24 weeks.

5 When the interferon-alfa administered is interferon-alfa-2b, the therapeutically effective induction dosing amount of interferon-alfa-2b administered in the first treatment time period is 10 MIU daily for 2 weeks, followed by 5 MIU daily for 6 weeks, followed by 3 MIU daily for 16 weeks, and the amount of interferon-alfa-2b administered in the second treatment time period is 3 MIU TIW for 24 weeks.

10 When the interferon-alfa administered is consensus interferon, the amount of consensus interferon administered in the first treatment period of twenty-four weeks is from 15 to 20 micrograms on a daily basis for two weeks, followed by 9 to 15 micrograms on a daily basis for twenty-two and the amount of consensus interferon administered in the second treatment period is from 9
15 micrograms TIW for twenty-four weeks.

In a preferred embodiment of the present invention, the interferon-alfa is interferon-alfa-2a or -2b; use of interferon-alfa-2b is more preferred.

20 The sum of the first and second treatment time periods is about 40-50 weeks, and preferably is 48 weeks.

A person suffering from chronic hepatitis C infection may exhibit one or more of the following signs or symptoms:

- 25 (a) elevated ALT,
(b) positive test for anti-HCV antibodies,
(c) presence of HCV as demonstrated by a positive test for HCV-RNA,
(d) clinical stigmata of chronic liver disease,
(e) hepatocellular damage.

31

To practice the invention, the combination therapy of interferon-alfa and ribavirin or inducing dosing amounts of interferon-alfa and ribavirin are administered to the patient exhibiting one of more of the above signs or symptoms in amounts sufficient to eliminate or at least alleviate one or more of the signs or symptoms. The therapeutically effective amount of the antioxidant is administered in association with the combination therapy or induction dosing amounts to ameliorate the ribavirin-related hemolysis.

Ribavirin is administered to the patient in association with the interferon-alfa, that is, the interferon-alfa dose is administered during the same period of time that the patient receives doses of the ribavirin derivative of the present invention. Most interferon-alfa formulations are not effective when administered orally, so the preferred method of administering the interferon-alfa is parenterally, preferably by subcutaneous, IV, or IM, injection. Ribavirin may be administered orally in capsule or tablet form in association with the parenteral administration of interferon-alfa. Of course, other types of administration of both medicaments, as they become available are contemplated, such as by nasal spray, transdermally, by suppository, by sustained release dosage form, etc. Any form of administration will work so long as the proper dosages are delivered without destroying the active ingredient.

Pharmaceutical composition of interferon- alfa, suitable for parenteral administration may be formulated with a suitable buffer, e.g., Tris-HCl, acetate or phosphate such as dibasic sodium phosphate/monobasic sodium phosphate buffer, and pharmaceutically acceptable excipients (e.g., sucrose), carriers (e.g. human serum albumin), toxicity agents (e.g. NaCl), preservatives (e.g. thimerosol, cresol or benylalcohol), and surfactants(e.g. tween or polysorbates) in sterile water for injection. The interferon alfa-may be stored as lyophilized powders under a refrigeration at 2°-8°C. The reconstituted aqueous solutions are stable when stored between 2° and 8°C and used within 24 hours of reconstitution. See for example U.S. Patent Nos, 4,492,537; 5,762,923 and 5,766,582.

32
2/5

The term "no detectable HCV-RNA" in the context of the present invention
5 means that there is less than 100 copies of HCV-RNA per ml of serum of the
patient as measured by quantitative, multi-cycle reverse transcriptase PCR
methodology. HCV-RNA is preferably measured in the present invention by the
methodology described below. This methodology is referred to herein as HCV-
RNA/qPCR.

10 The term "substantially lower detectable HCV-RNA serum levels" in the
context of the present invention means that the HCV-RNA serum level is lower by
at least a power of ten, preferably lower by two powers of ten and most
preferably lower by at least three powers of ten, compared to the initial HCV-RNA
serum level.

15 RNA is extracted from patient serum using a guanidinium thiocyanate-
phenol-chloroform mixer followed by ethanol-ammonium acetate precipitation.
The precipitated RNA is centrifuged and the resulting pellet is dried in a
Centrивap console (Labconco, Kansas City, Mo.). The dry pellet is then
resuspended in 30 microliters of an Rnasin (Promega Corp., Madison, WI),
20 dithiothritol, and diethylpyrocarbonate-treated water mixture. Samples are kept
at or below -20°C (preferably below -70°C) until RNA reverse transcription (RT)
and PCR.

In order to convert the entire RNA sequence into cDNA in the RT reaction,
random hexadeoxyribonucleotides (Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ) are
25 used as primers for the first strand cDNA synthesis. Two aliquots of 3 microliters
of resuspended sample is added to 3 microliters of 100ng/μl random primers and
denatured at 70°C, then reverse transcribed at 40°C for one hour using M-MLV
reverse transcriptase (USB, Cleveland, OH) in standard buffer containing 5 mM
MgCl₂. The final RT reaction volume is 26 μl. The PCR is started immediately
30 following the reverse transcription.

A modified version of the PCR method is performed using heat-stable Taq
polymerase to amplify the cDNA. Seventy-five microliters of PCR mix is added to

3A 33

the entire RT reaction volume (26 μ l) to a final $MgCl_2$ concentration of 1.5 mM in a total volume of 101 μ l. Each 101 μ l sample is then split into 50.5 μ l, and a layer of mineral oil is placed on top to prevent evaporation.

The PCR cycle consists of annealing for 90 sec., extension for 90 sec.,
5 and denaturation for 90 sec., at 55°C, 74°C and 94°C, respectively.
Thermocycling samples is submitted to a final 74°C extension for 10 minutes.
Four different cycle sets are used. By loading the sample in duplicate, and
splitting these samples evenly after RT, there are four tubes from one sample.
Each of the four tubes is given a different cycle number, enhancing sensitivity
10 and accuracy in the quantitation process. The thermocycling efficiency will be
assessed by satisfactory amplification of known copy number RNA standards
included in each set of 60 tubes. Two primer sets are used for the amplification,
both from the 5' untranslated region of the HCV genome. Both of these primer
sets are highly conserved and detect all known subtypes of HCV. Primer set 1:
15 upstream 5' -GTG GTC TGC GGA ACC GGT GAG T-3', downstream 5'-TGC ACG
GTC TAC GAG ACC TC-3' which produced a 190 bp product. Primer set 2:
upstream 5'-CTG TGA GGA ACT ACT GTC TTC-3', downstream 5'-CCC TAT
CAG GCA GTA CCA CAA-3' which produced a 256 bp product.

The amplified cDNA is then electrophorised in 3% agarose gel and
20 transferred to nylon membrane. The target DNA is detected by Southern blotting
and immunostaining using a nonradioactive digoxigenin-labeled DNA probe.
These procedures are performed using automated instruments for PCR
thermocycling, agarose gel electrophoresis, vacuum-transfer Southern blot,
hybridization, and immunostaining. Each membrane contains known copy
25 number serially diluted standards which are used to construct standard curves
for quantitative measurement of the specimen bands. Originally standard curves
are made from carefully diluted HCV-RNA from transcribed clones. Radioactive
incorporation studies, gel electrophoresis, and OD 260 are performed on the
transcripts to determine that they are of the expected length. After the production
30 of the RNA transcripts quantitated clone standards "pooled" standards are
generated which better represent the heterogeneous nature of HCV, one would
encounter in natural infection. These pools are made by combining large

0921 1537 1041999

26 34

amounts of serum or plasma from known infected individuals. The serum/plasma pools are calibrated with PCR, against the clone transcripts and then diluted in the known PCR-negative fluids. Finally, the higher copy number samples of the pools are checked against the cDNA Quantiplex nucleic acid detection system from Chiron Inc. (Emeryville, CA). These "double quantitated" pools are aliquoted and saved at -70°C. Dilutions of 5,000,000, 1,000,000, 500,000, 100,000, 10,000, and 1000 copies/ml are used in each experiment.

Each Southern blot membrane is scanned into a computer using an automated scanner/densitometer, at intervals during development to determine when the standard curve is most linear. The resultant electronic images are then measured for band area and mean band density. All of the reading are standardized to integrated band density and compared to the standard curve to obtain a numerical value of viral copy number for each band.

The term "sustained virologic response" as used in the context of the present invention means that there is no detectable HCV-RNA in the patients treated in accordance with the present invention for at least 24 weeks after the end of the combined therapy treatment. Preferably, the period of sustained virologic response will be at least one year - or longer - after the end of treatment.

During treatment and posttreatment follow-up, biochemical (ALT), virological (HCV-RNA), hematology, including at least the following hemoglobin(HgB), hematocrit(HCT). RBC, WBC with differential and platelet counts) levels and histological (liver biopsy) examinations would be used to assess the nature and duration of response to study treatment. The primary efficacy variable will be the overall response defined as loss of serum HCV-RNA/qPCR (<100 copies/mL) as measured at 24 weeks following the end of therapy. In addition, the drop in the hemoglobin levels compared to baeline values will also be measured . In addition, a decrease in hepatic inflammation, an improvement in posttreatment liver biopsy as measured by the Knodell Histology Activity index (HAI) and normalization of ALT will also be examined as a secondary efficacy endpoints. The safety of the study treatments will be

35

assessed by monitoring selected laboratory parameters and by also recording and evaluating the occurrence of any adverse events.

Efficacy

5 The primary efficacy objective will be the comparison of the treatment groups 1 and 2 with respect to the sustained virologic response rate defined as loss of (detectable) serum HCV-RNA/qPCR measured at 24 weeks following the end of therapy to an undetectable level or to a level <100 copies/mL. The following secondary efficacy Endpoints will also be examined using logistic regression:

The secondary efficacy Endpoints:

- proportions of patients with normalization of ALT at 24 weeks of follow-up;
- proportions of patients with improvement in biopsy (Categories I + II + III combined scores);
- changes from Baseline in the biopsy scores (Categories I + II + III combined scores);
- response rates at Endpoint of treatment based on HCV-RNA/qPCR;
- proportion of patients with normalization of ALT at Endpoint of treatment.
- response rates at 24 weeks of follow-up based on HCV-RNA/qPCR.

27

Virology: Entry Status and Change from Entry

5 Serum HCV-RNA/qPCR testing and HCV genotype testing will be performed by a central laboratory. A positive HCV-RNA assay result will be required at Baseline; only patients positive for HCV-RNA will be eligible to participate. Repeat assays should be scheduled at Weeks 4, 12, 24, and if the patient is in the 48 week treatment groups at weeks 36 and 48. All patients should have repeat assays scheduled for Follow-up Weeks 12 and 24.

10 Response will be assessed as defined below:

15 **Virologic Responder:** A patient will be classified as a responder at a given time point if HCV-RNA/qPCR is negative (<100 copies per mL) at that time point.

20 **Sustained Virologic Responder:** A patient will be classified as a sustained responder if the patient is a responder at 24 weeks of follow-up.

20 Note that patients who do not meet these criteria, including patients who discontinued before the required HCV-RNA/qPCR evaluations are obtained, will be classified as non-responders.

25 **Overall Responder:** Based on both serum HCV-RNA/qPCR and change in liver histology as evaluated by the Knodell HAI Inflammation Score. A patient will be classified as an overall responder to treatment if at 24 weeks of follow-up, he/she is a sustained virologic responder and has normal ALT.

30

30

5

Liver Histology

Liver biopsy will be taken within the six months preceding patient enrollment and at Follow-up Week 24 for all patients. Evaluation of the biopsies will be performed by a single pathologist using the Knodell Histology Activity Score. The central pathologist will be blinded with respect to patient identification, treatment group, and the time the biopsy will be obtained relative to treatment (Pre- or Posttreatment). Efficacy of study treatments will be assessed by comparing the degree of inflammatory activity observed at Baseline with that present at Follow-up Week 24.

The patient's weight and their baseline disease characteristics (HCV genotype, hemoglobin levels and initial viral load) for all patients will be measured before the start of the study. HCV genotypes should be done on the patient serum samples subjected to HCV-RNA/qPCR testing.

This enhancement of efficacy included all aspects of the disease will result in:

- Sustained eradication of detectable **HCV-RNA**;
- Improvement in hepatic inflammation;
- Lower Hemoglobin Drops ;
- Normalization of ALT;
- Improvement in HQL.

WHAT IS CLAIMED:

- 5 1. A method of treating a patient having chronic HCV infection which comprises administering to said patient a therapeutically effective amount of a combination therapy of interferon-alfa and ribavirin for a time sufficient to lower HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a time sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis.
- 10 2. The method of claim 1 wherein the interferon alfa is interferon alfa-2a, interferon-alfa-2b, pegylated interferon alfa-2a, pegylated interferon alfa-2b, or a consensus interferon or a purified interferon alfa product.
- 15 3. The method of claim 1 wherein the antioxidant is Vitamin A, tocopherol, Vitamin C, coenzyme-Q10, BHA, BHT, N-acetylcysteine, selenium, panavir, silybum marianum, lycopene, or mixtures thereof.
- 20 4. The method of claim 3 wherein the tocopherol is a water soluble Vitamin E derivative.
5. The method of claim 4 wherein the water soluble Vitamin E derivative is an alpha-tocopheryl polyethylene glycol ester.
- 25 6. The method of claim 5 wherein the water soluble Vitamin E derivative is an alpha-tocopheryl polyethylene glycol succinate ester
- 30 7. The method of claim 1 wherein the combination therapy comprising 3MIU TIW of interferon alfa-2b and about 600 mg to about 1600 mg/day PO of ribavirin is administered for a first time period of at least about 24 weeks.



8. The method of claim 7 wherein the combination therapy is administered for first time period at least about 48 weeks.
- 5 9. The method of claim 7 which further comprises administering about 600 to about 1600 mg per day of ribavirin in association with the antioxidant for a second time period of at least about 24 weeks after the end of the first time period.
- 10 10. The method of claim 8 which further comprises administering about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin in association with the antioxidant for a third time period of at least about 24 weeks after the end of the first time period.
11. The method of claim 1 wherein the combination therapy comprises about 0.5
15 to about 1.5 $\mu\text{g/kg/day}$ QW of pegylated interferon alfa-2b and about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin.
12. The method of claim 1 wherein the combination therapy comprises induction dosing amount of interferon alfa-2b and ribavirin.
- 20 13. The method of claim 1 wherein the combination therapy comprises induction therapy dosing of pegylated interferon alfa and ribavirin.
14. A method of treating a patient having a chronic HCV infection which
25 comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of interferon alfa and ribavirin for a first time period of at least about 24 weeks sufficient to lower detectable HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a second time period sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis.
- 30

40

25

15. The method of claim 14 wherein the interferon alfa is interferon alfa-2a, interferon-alfa-2b, pegylated interferon alfa-2a, pegylated interferon alfa-2b, or a consensus interferon or a purified interferon alfa product.

5

16. The method of claim 14 wherein the antioxidant is Vitamin A, tocopherol, Vitamin C, coenzyme-Q10, BHA, BHT, N-acetyl cysteine, selenium, panavir, silybum marianum, lycopene, or mixtures thereof.

10

17. The method of claim 16 wherein the tocopherol is a water soluble Vitamin E derivative.

15

18. The method of claim 17 wherein the water soluble Vitamin E derivative is an alpha-tocopheryl polyethylene glycol ester.

19. The method of claim 18 wherein the water soluble Vitamin E derivative is an alpha-tocopheryl polyethylene glycol succinate ester.

20

20. The method of claim 14 wherein the combination therapy comprising 3MIU TIW of interferon alfa-2b and about 600 mg to about 1600 mg/day PO of ribavirin is administered for a first time period of at least about 24 weeks.

25

21. The method of claim 20 wherein the combination therapy is administered for first time period at least about 48 weeks.

30

22. The method of claim 21 which further comprises administering about 600 to about 1600 mg per day of ribavirin in association with the antioxidant for a second time period of at least about 24 weeks after the end of the first time period.

23. The method of claim 21 which further comprises administering about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin in association with the antioxidant for a third time period of at least about 24 weeks after the end of the first time period.
- 5
24. The method of claim 14 wherein the combination therapy comprises about 0.5 to about 1.5 $\mu\text{g/kg/day}$ QW of pegylated interferon alfa-2b and about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin.
- 10
25. The method of claim 14 wherein the combination therapy comprises induction dosing amount of interferon alfa-2b and ribavirin. .
26. A method of treating a patient having a chronic HCV infection which comprises (a) administering to the patient a therapeutically effective amount of
- 15
- interferon alfa and ribavirin for a first time period of at least about 24 weeks sufficient to lower detectable HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a second time period sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis; and (b) thereafter administering about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin in association with the antioxidant for a
- 20
- third time period of at least about 24 weeks after the end of the first time period.
27. The method of claim 26 wherein the interferon alfa is interferon alfa-2a, interferon-alfa-2b, pegylated interferon alfa-2a, pegylated interferon alfa-2b, or a consensus interferon or a purified interferon alfa product.
- 25
28. The method of claim 26 wherein the combination therapy comprising 3MIU TIW of interferon alfa-2b and about 600 mg to about 1600 mg/day PO of ribavirin is administered for a first time period of at least about 24 weeks.
- 30
29. The method of claim 26 wherein the combination therapy is administered for first time period at least about 48 weeks.

- 42
43
30. The method of claim 26 wherein the combination therapy comprises about 0.5 to about 1.5 $\mu\text{g/kg/day}$ QW of pegylated interferon alfa-2b and about 600 to about 1600 mg/day of ribavirin.
- 5
31. The method of claim 26 wherein the combination therapy comprises induction dosing amounts of interferon alfa-2b and ribavirin.
32. The method of claim 26 wherein the antioxidant is Vitamin A, tocopherol, Vitamin C, coenzyme-Q10, BHA, BHT, N-acetyl cysteine, selenium, panavir, silybum marianum, lycopene, or mixtures thereof.
- 10
33. The method of claim 26 wherein the tocopherol is a water soluble Vitamin E derivative.
- 15
34. The method of claim 33 wherein the water soluble Vitamin E derivative is an alpha-tocopheryl polyethylene glycol ester.
35. The method of claim 33 wherein the water soluble Vitamin E derivative is an alpha-tocopheryl polyethylene glycol succinate ester.
- 20
36. A method of treating patients having chronic hepatitis C infection to eradicate detectable HCV-RNA comprising (a) administering a therapeutically effective amount of an antioxidant for a time period sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis in association with (b) administering a combination in a first treatment time period of twenty-four weeks of about 800 to 1200 mg per day of ribavirin for twenty-four weeks and about 10 MIU daily of interferon-alfa-2b for two weeks, followed by 5 MIU daily of interferon-alfa for six weeks, followed by 3 MIU daily of interferon-alfa for sixteen weeks, followed by (c) administering in a second treatment time period of twenty-four weeks about 800 to 1200 mg per day of ribavirin and 3 MIU TIW of interferon-alfa
- 25
- 30
- 555772 153 111533

- 5

- 10

- 15

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

44
43

ABSTRACT OF THE DISCLOSURE

Methods of treating patients having chronic hepatitis C infection by administering to said patient a therapeutically effective amount of a combination
5 therapy of interferon-alfa and ribavirin for a time sufficient to lower HCV-RNA in association with a therapeutically effective amount of an antioxidant for a time sufficient to ameliorate ribavirin-related hemolysis are disclosed.

10

093 1537 1043 250

45
46

DECLARATION AND POWER OF
ATTORNEY FOR PATENT APPLICATION

Attorney's Docket No. IN01023

As a below-named inventor, I hereby declare that:

My residence, post office address and citizenship are as stated below next to my name;

I believe I am the original, first sole inventor (if only one name is listed below) or an original, first and joint inventor (if plural names are listed below) of the subject matter which is claimed and for which a patent is sought on the invention entitled:

"HCV COMBINATION THERAPY"

the specification of which

☒ is attached hereto.

☐ was filed on _____ as Application Serial No. _____

and was amended on _____ (if applicable).

☐ was filed on _____ as PCT International Application No. _____

I hereby state that I have reviewed and understand the contents of the above-identified specification, including the claims, as amended by any amendment referred to above.

I acknowledge the duty to disclose information which is material to the patentability of this application in accordance with Title 37, Code of Federal Regulations, §1.56(a).

I hereby claim foreign priority benefits under Title 35, United States Code, §119(a)-(d) of any foreign application(s) for patent or inventor's certificate listed below and have also identified below any foreign application for patent or inventor's certificate having a filing date before that of the application on which priority is claimed:

Prior Foreign Application(s): Priority Claimed

_____ (Number)	_____ (Country)	_____ (Day/Month/Year Filed)	_____ Yes or No
-------------------	--------------------	---------------------------------	--------------------

I hereby claim the benefit under Title 35, United States Code, §119(e) of any United States provisional application(s) listed below:

_____ (Application Number)	_____ (Filing Date)
-------------------------------	------------------------

I hereby claim the benefit under Title 35, United States Code, §120 of any United States application(s) listed below and, insofar as the subject matter of each of the claims of this application is not disclosed in the prior United States application in the manner provided by the first paragraph of Title 35, United States Code, §112, I acknowledge the duty to disclose material information as defined in Title 37, Code of Federal Regulations, §1.56(a) which occurred between the filing date of the prior application and the national or PCT international filing date of this application:

_____ (Application Serial No.)	_____ (Filing Date)	_____ (Status - patented, pending, abandoned)
-----------------------------------	------------------------	--

DECLARATION AND POWER OF
ATTORNEY FOR PATENT APPLICATION

Power of Attorney: As a named inventor, I hereby appoint the following attorney(s) and/or agent(s) to prosecute this application and transact all business in Patent and Trademark Office connected therewith. (List name and registration number.)

Carl W. Battle	Reg. No. 30731	Palaiyur S. Kalyanaram	Reg. No. 34634
Edwin P. Ching	Reg. No. 34090	Anita W. Magatti	Reg. No. 29825
Eric S. Dicker	Reg. No. 31699	Joseph T. Majka	Reg. No. 30570
Cynthia L. Foulke	Reg. No. 32364	Arthur Mann	Reg. No. 35598
Robert A. Franks	Reg. No. 28605	Edward H. Mazer	Reg. No. 27573
James M. Gould	Reg. No. 33702	Jaye P. McLaughlin	Reg. No. 41211
Richard J. Grochala	Reg. No. 31518	Richard B. Murphy	Reg. No. 35296
Thomas D. Hoffman	Reg. No. 28221	James R. Nelson	Reg. No. 27929
Immac J. Thampoe	Reg. No. 36322	Donald W. Wyatt	Reg. No. 40876
Henry C. Jeanette	Reg. No. 30856		

Send Correspondence to: Thomas D. Hoffman Schering-Plough Corporation Patent Department, K-6-1, 1990 2000 Galloping Hill Road Kenilworth, New Jersey 07033-0530		Direct Telephone Calls to: Name: Thomas D. Hoffman Telephone No.: (908) 298-5037 Facsimile No.: (908) 298-5388	
FULL NAME OF 1ST OR SOLE INVENTOR	FAMILY NAME	FIRST GIVEN NAME	SECOND GIVEN NAME
	Brass	Clifford	A.
RESIDENCE & CITIZENSHIP	CITY	STATE OR FOREIGN COUNTRY	COUNTRY OF CITIZENSHIP
POST OFFICE ADDRESS	POST OFFICE ADDRESS	CITY	STATE & ZIP CODE/COUNTRY
FULL NAME OF 2ND JOINT INVENTOR	FAMILY NAME	FIRST GIVEN NAME	SECOND GIVEN NAME
	Glue	Paul	W.
RESIDENCE & CITIZENSHIP	CITY	STATE OR FOREIGN COUNTRY	COUNTRY OF CITIZENSHIP
	Flemington	New Jersey	USA
POST OFFICE ADDRESS	POST OFFICE ADDRESS	CITY	STATE & ZIP CODE/COUNTRY
	13 Allens Corner Road	Flemington	New Jersey 08822
FULL NAME OF 3RD JOINT INVENTOR	FAMILY NAME	FIRST GIVEN NAME	SECOND GIVEN NAME
	Piken	Edward	
RESIDENCE & CITIZENSHIP	CITY	STATE OR FOREIGN COUNTRY	COUNTRY OF CITIZENSHIP
POST OFFICE ADDRESS	POST OFFICE ADDRESS	CITY	STATE & ZIP CODE/COUNTRY

[Handwritten mark]

I further declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code, and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issuing thereon.

Signature of First Inventor	Signature of Second Inventor	Signature of Third Inventor
Clifford A. Brass	Paul W. Glue	Edward Piken
Date	Date	Date

Rev. 2/96 JHB

092 1627 0499

TERAPIA DE COMBINACIÓN PARA VHC

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a los métodos para tratar pacientes que tienen infecciones virales susceptibles, especialmente las infecciones por hepatitis C crónicas administrando a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia de combinación de Interferon-alfa y ribavirina, durante un tiempo suficiente como para bajar el HCR-ARN en asociación con una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante durante un tiempo suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina.

La infección viral por hepatitis C crónica es una enfermedad viral particularmente insidiosa progresiva lenta que tiene un impacto significativo sobre la calidad de vida. Puede eventualmente, provocar la cirrosis del hígado, enfermedad del hígado descompensada y/o carcinoma hepatocelular.

El tratamiento por combinación con Interferon alfa-2b y ribavirina para la hepatitis C crónica en pacientes, lo describe Reichard et al. (The Lancet 1998; 351; 83-87. T. Poynard et al. (The Lancet, 1998, Vol 352, Oct 31, páginas 1426-1432) describe que el tratamiento para pacientes con hepatitis C crónica que no han sido tratados con Interferon o ribavirina con 3 MIU de Interferon alfa-2b TIW más 1.000-1.2000 mg de ribavirina por día durante 48 semanas, provocó una respuesta virológica sostenida a 24 semanas del tratamiento en el 43 % de los pacientes. Ver también J. G. McHutchinson et al (N. Engl. J. Med., 1998, 339: 1485-1492), G. L. Davis et al (N. Engl. J. Med., 1998, 339: 1493-1499) describe que el tratamiento de pacientes con hepatitis C crónica que recurría después del tratamiento con Interferon con 3 MIU de Interferon alfa-2b TIW más 100-1.200 mg de ribavirina por día durante 48 semanas provocó valores mayores de respuesta virológica sostenida que el tratamiento con Interferon solo.

of

Sin embargo, esta combinación no siempre es efectiva debido a los efectos colaterales asociados con ribavirina como por ejemplo, la hemólisis relacionada con ribavirina medidos por medio de las concentraciones reducidas de hemoglobina. Tanto McHutchinson et al como Poynard et al informan que la mayoría de los pacientes que completaron la terapia de combinación alcanzaron su concentración más baja de hemoglobina en la cuarta semana de la terapia de combinación, momento en el que las concentraciones de hemoglobina se estabilizaron o aumentaron. La reducción de la dosis de ribavirina a 600 mg/día fue informada por McHutchinson, et al., para los pacientes con concentraciones de hemoglobina por debajo de 10 g por decilitro y el tratamiento con ribavirina se discontinuó en los pacientes con una concentración de hemoglobina inferior a 8,5 g por decilitros.

Existe la necesidad de proveer una terapia de combinación mejorada para tratar las infecciones virales susceptibles, especialmente a pacientes con hepatitis C crónica, para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina durante la duración de la combinación, especialmente en las primeras cuatro a doce semanas de terapia, para producir una respuesta virológica sostenida en más pacientes de lo logrado previamente.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente invención provee métodos para tratar las infecciones virales susceptibles, especialmente las infecciones virales por hepatitis C, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de ribavirina durante un tiempo suficiente como para bajar el ARN-viral asociado con la cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante durante un tiempo suficiente para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina.

La presente invención provee un método para tratar a un paciente que tiene una infección VHC crónica que comprende administrar a dicho paciente una

cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia de combinación de Interferon-alfa y ribavirina durante un tiempo suficiente como para bajar ARN-VHC en asociación con una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante durante un tiempo suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina.

La presente invención provee un método para tratar a un paciente que tiene una infección VHC crónica que comprende administrar a dicho paciente durante un primero período de tiempo de al menos alrededor de 24 semanas, una cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia de combinación de Interferon alfa y ribavirina suficiente como para bajar el ARN-VHC detectable asociado con una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina. En una realización preferida, la cantidad terapéuticamente efectiva de la terapia de combinación de Interferon alfa y ribavirina se administra en un primer periodo de alrededor de 24 semanas para pacientes con el genotipo 2 o 3 de VHC, o en un primer período de alrededor de 48 semanas para pacientes con el genotipo 1 VHC.

La presente invención también provee un método para tratar a un paciente que tiene una infección VHC crónica que comprende (a) administrar a dicho paciente durante un primer período de tiempo, una cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia de combinación de interferón alfa y ribavirina suficiente como para bajar el ARN-VHC detectable asociado con una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante, suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina y, (b) luego administrar entre alrededor de 600 a alrededor de 1.600 mg/día de ribavirina asociada con el antioxidante durante un período de tiempo de al menos alrededor de 24 semanas después de terminar el primer período. En otra realización preferida, la cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia de combinación de Interferon alfa y ribavirina se administra durante un primer período de tiempo de al menos

alrededor de 24 semanas, más preferentemente de al menos alrededor de 48 semanas.

El Interferon-alfa preferido es el Interferon-alfa-2 a o el Interferon-alfa-2b; se prefiere el uso del Interferon-alfa-2b.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un método para tratar pacientes que tienen infección por hepatitis C crónica para erradicar ARN-VHC detectable que comprende (a) administrar a dicho paciente, en un primer período del tratamiento de veinticuatro semanas, una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante suficiente para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina asociada con una combinación de entre alrededor de 800 a 1.200 mg por día de ribavirina y una cantidad terapéuticamente efectiva de Interferon-alfa-2b de acuerdo con el siguiente régimen: alrededor de 10 MIU diarias de Interferon-alfa-2b durante 2 semanas, seguido por 5 MIU diarios de Interferon-alfa durante seis semanas, seguido por 3 MIU diarias de Interferon-alfa durante dieciséis semanas, seguido por (c) administrar en un segundo período del tratamiento de veinticuatro semanas entre alrededor de 800 y 1.200 mg por día de ribavirina y 3 MIU TIW de Interferon-alfa asociado con, una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina.

Los antioxidantes preferidos son los derivados de Vitamina E, incluyendo, pero no limitándose a, d-alfa-tocoferol y sus ésteres como por ejemplo, ésteres de d-alfa-tocoferil polietilén glicol solubles en agua como por ejemplo, Vitamina E d-alfa-tocoferil polietilén glicol 1000 succinato que se dispersa en agua ("Vitamina E-TPGS") así como también al uso de las composiciones de Vitamina E-TPGS y, al menos un éster de ácido graso de glicerina que tiene un punto de fusión total de 40°C (ambos se describen en la Patente estadounidense N° 5.234.695 y lo comercializa Eastman Kodak Co., Rochester, NY).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención provee métodos para tratar infecciones virales susceptibles, especialmente las infecciones virales por hepatitis C.

El término "infecciones virales susceptibles" como se usa aquí, se refiere a las infecciones virales provocadas por un amplio rango de virus de ARN y ADN, incluyendo, pero no limitándose, a las familias de virus como por ejemplo, los flavivirus- incluyendo al género flavivirus, pestivirus del cual, el virus Kunkin es un miembro, y el heparivirus del cual, el virus hepatitis C es un miembro, y arbovirus del cual, el virus West Nile es un miembro, ortomixovirus, paramixovirus, arenavirus, bunyavirus, virus herpes, adenovirus, poxvirus y retrovirus.

Las "infecciones virales susceptibles" adecuadas típicas incluyen a las infecciones virales de influenza A y B; infecciones virales de para influenza, virus sincitial respiratorio ("RSV"), infecciones como por ejemplo, bronquiolitis RSV y neumonía RSV especialmente las infecciones RSV en niños e infantes así como también la neumonía RSV en pacientes con una enfermedad cardiopulmonar pre-existente, infecciones virales por sarampión, infecciones virales por fiebre de Lassa, infecciones por fiebre Coreana hemorrágica, infecciones virales por hepatitis B (HBV), infecciones hemorrágicas de Crimea Congo e infecciones HBV y HIV-1, infecciones de encefalitis como por ejemplo, la provocada por el virus West Nile o el virus Kunkin o infecciones por encefalitis St. Louis así como también, las infecciones virales halladas en pacientes inmunocomprometidos. Otras infecciones virales susceptibles se describen en la USP 4.211.771 en la columna 2, línea 21 hasta la columna 3 línea 37; las dosis y regímenes de dosis y formulaciones se describen en la columna 3, línea 4 hasta la columna 9, línea 5; ver también la Patente Canadiense Nr. 1.261.265, Sidwell, R. W. et al., Pharmacol. Ther., 1979, volumen 6 páginas 123-146 que describe que los experimentos antivirales *in vivo* llevados a cabo con ribavirina generalmente

confirman una actividad antiviral de amplio espectro *in vitro* y determina que la eficacia de la ribavirina es bastante dependiente del sitio de la infección; la forma del tratamiento; la edad del animal y la dosis del virus utilizada. Las tablas 4 y 5 de la página 127 enumeran las infecciones por virus ARN y ADN que fueron inhibidas de manera significativa *in vivo* por la ribavirina.

En una realización preferida, la presente invención provee un método mejorado para tratar paciente que tienen una infección por hepatitis C permitiendo que estos pacientes continúen usando la cantidad terapéuticamente efectiva de la terapia de combinación de Interferon alfa-2b y ribavirina tal como fue aprobada por la FDA, así como también otras terapias con Interferon alfa y ribavirina bajo desarrollo clínico, por ejemplo, Interferon alfa 2 a o 2b modificado con PEG y ribavirina o las descritas aquí más adelante. En un estudio piloto, doce pacientes sin tratamiento previo que tienen hepatitis C crónica que recibieron preparaciones de venta libre de antioxidantes de vitamina C (1.000 mg/día) y vitamina E (800 IU/día) en combinación con la terapia de combinación aprobada por FDA de 1.000/1.200 mg de ribavirina en dos dosis diarias divididas (1.000 mg si el peso corporal es <75 kg) e Interferon alfa-2b, 3 MIU SC TIW fueron capaces de continuar durante cuatro meses del estudio sin tener que reducir la dosis de ribavirina. Un grupo de control de catorce pacientes reincidentes que tienen hepatitis C crónica recibieron 1.000 mg de ribavirina en dos dosis diarias divididas e Interferon alfa-2b, 3 MIU SC TIW. Los niveles de hemoglobina ("Hgb") se midieron antes del tratamiento y al final de las semanas 2, 4, 8 y 12. Los valores de Hgb de línea base de $14,5 \pm 1,7$ y $15,2 \pm 1,2$ en gramos por decilitro ("g/dl") se midieron para el tratamiento de pacientes sin tratamiento previo y reincidentes, respectivamente. Las caídas de hemoglobina de 0,9, 1,7, 2,3 y 2,7 g/dl se midieron en el tratamiento con paciente sin tratamiento previo al final de las semanas 2, 4, 8 y 12, respectivamente. Las caídas de hemoglobina de 2,0, 3,0,

3,0 y 3,1 g/dl se midieron en pacientes reincidentes (control). El uso de antioxidantes asociados con la terapia de combinación de acuerdo con la presente invención bajaron marcadamente la severidad de la anemia hemolítica relacionada con ribavirina en las primeras doce semanas de la terapia de combinación comparado con los controles históricos y los pacientes reincidieron en el mismo estudio piloto. Fue notorio que ningún paciente que recibió los antioxidantes necesitó reducir la dosis de ribavirina. Sin embargo, tres de los pacientes de control necesitaron una reducción en la dosis de ribavirina.

Los pacientes tratados de acuerdo con las realizaciones preferidas no deben tener VHC-ARN detectable al final de dicho período de tratamiento de 48 semanas, y tampoco deben tener VHC-ARN detectable durante al menos 24 semanas después del final de dicho período de 48 semanas.

El método presente para tratar pacientes que tienen infecciones por hepatitis C crónicas permite la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de la combinación de ribavirina e Interferon-alfa suficiente como para bajar sustancialmente los niveles en suero de VHC-ARN, preferentemente en al menos dos potencias de diez, es decir, al menos bajar 10^2 el nivel de suero VHC-ARN inicial, y más preferentemente erradicar los niveles en suero de VHC-ARN detectables, es decir, bajarlos a menos de 100 copias/ml mientras que, simultáneamente, mejoran la hemólisis relacionada con la ribavirina.

El término "antioxidante" como se usa aquí, se refiere a una sustancia que retarda o inhibe la hemólisis relacionada con o promovida por la administración de ribavirina.

El término "cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante" como se usa aquí, se refiere a una cantidad de antioxidante dentro de un rango entre alrededor de una y alrededor de doscientas cincuenta veces, preferentemente entre alrededor de una y alrededor de dos cientos de veces, más preferentemente

55
5

entre alrededor de diez y alrededor de cien veces, más preferentemente entre alrededor de diez y alrededor de cincuenta veces la dieta diaria recomendada ("RDA") de antioxidantes (o la cantidad diaria recomendada si no se informa el RDA para un antioxidante) útil en los métodos de la presente invención. Los antioxidantes útiles en los métodos de la presente invención, normalmente se administrarán en tanto se administre la ribavirina como parte de la terapia de combinación, la dosificación de inducción y la monoterapia con ribavirina administrada al paciente que tiene infecciones virales susceptibles, especialmente infecciones por hepatitis C.

El término "asociado con" como se usa aquí se refiere a la administración de la monoterapia con ribavirina o la terapia de combinación de Interferon-alfa y ribavirina con un medio antioxidante, se refiere a que el antioxidante se administra antes de, concurrente con, o después de la administración de la terapia de combinación. El antioxidante se puede administrar oralmente, parenteralmente (por ejemplo, IM, IP, SC o IV) o tópicamente, por ejemplo, por medio de un supositorio. Se prefiere la administración oral o parenteral (por ejemplo, subcutánea). Se prefiere más la administración oral. Típicamente, se administra el antioxidante en dosis simples o divididas concurrentemente con la ribavirina que se puede administrar en dosis simples o divididas BID.

Típicamente, los antioxidantes adecuados incluyen a la Vitamina A; Vitamina E, Vitamina C, *silybum marianum*, la co-enzima Q10, BHA, BHT, N-acetilcisteína, selenio, panavir, licopeno o sus mezclas.

La vitamina A se describe en el Índice Merck, Edición 11, #9918 (y 4919) en las páginas 1576-77. El RDA está dentro de un rango entre alrededor de 250 unidades internacionales ("IU")/día y alrededor de 2.500 IU/día; preferentemente es de alrededor de 2.500 IU/día para los recién nacidos e infantes.

A
50

El término "Vitamina E" como se usa aquí, incluye a todas las formas de tocoferol incluyendo, pero no limitándose a, los homólogos naturales y sintéticos de los cuatro tipos de tocoferoles (alfa-, beta-, gama- y delta-tocoferol) y a los cuatro tipos de tocotrienoles, incluyendo a sus ésteres, por ejemplo, alfa tocoferil acetato o alfa tocoferil succinato así como también los isómeros ópticos dextrorrotativos ("d"), levorotativos ("l") o las mezclas de los isómeros d y l. Los isómeros ópticos d son más activos que los isómeros l y se prefiere el uso de los isómeros ópticos de la vitamina E. La cantidad efectiva de Vitamina E útil en la presente invención está dentro de un rango entre una y doscientos cincuenta veces (250), preferentemente entre una y cien veces la dieta diaria recomendada ("RDA") de 3 a 10 equivalentes de tocoferol por día; es decir, 3-10 mg de d-alfa tocoferol por día. La actividad de 1 mg de d-alfa tocoferol es igual a 1 equivalente de alfa tocoferol. Como 1 mg de d-alfa tocoferol es equivalente a 1,49 Unidades Internacionales (IU) de Vitamina E, el RDDA es de entre alrededor de 4,5 y alrededor de 15 IU de Vitamina E. La actividad de los siguientes derivados de Vitamina E han sido medidos: un IU de Vitamina E es equivalente a 1 mg de dl-alfa tocoferil acetato, 1 mg de d-alfa tocoferil acetato tiene la potencia de 1,36 IU de Vitamina E, 1 mg de d-alfa tocoferol tiene la potencia de 1,49 IU de Vitamina E; y 1 mg de d-alfa tocoferil succinato tiene la potencia de 1,21 IU de Vitamina E; ver Goodman & Gilman, The Pharmacological Basis de Therapeutics, ("Bases farmacológicas de los terapéuticos"), Novena Edición, 1996, McGraw-Hill, páginas 1549 y 1585-1590.

Los derivados de Vitamina E adecuados incluyen a d-alfa-tocoferol (disponible por Roche, Nutley, N. J. Con una dosis diaria recomendada de 10-30 mg por día igual a 200 IU de Vitamina E por día para los adultos), ésteres de Vitamina E como por ejemplo, acetato y succinato de Vitamina E (alfa-tocoferil acetato y alfa-tocoferil succinato) así como también los derivados de Vitamina E

solubles en agua. Se prefiere el uso de los derivados de Vitamina E solubles en agua.

Los derivados de Vitamina E solubles en agua incluyen a las sales de Vitamina E farmacéuticamente aceptables como por ejemplo, el fosfato de Vitamina E, así como también los ésteres de tocoferil polietilén glicol solubles en agua como por ejemplo, aquellos descritos en la Patente estadounidense N° 2.680.749, la Patente estadounidense N° 3.914.430 y la Patente estadounidense N° 5.234.695; se prefiere los ésteres de tocoferil polietilén glicol solubles en agua.

El uso de ésteres de d-alfa-tocoferil polietilén glicol como por ejemplo, Vitamina E d-alfa-tocoferil polietilén glicol 1000 succinato dispersable en agua ("Vitamina E-TPGS") así como también el uso de composiciones de vitamina E-TPGS y al menos un éster de ácido graso de glicerina que tiene un punto de fusión total de 40 °C son los más preferidos (ambos se describen en la Patente estadounidense N° 5.234.695 y disponible por Eastman Kodak Co., Rochester, NY).

Las cantidades efectivas de derivados de Vitamina E, por ejemplo, derivados de Vitamina E solubles en agua como por ejemplo, Vitamina E-TPGS están dentro de un rango entre alrededor de 00 IU y 20.000 IU de Vitamina E/día, preferentemente entre alrededor de 1.000 IU y alrededor de 5.000 IU de Vitamina E/día, más preferentemente entre alrededor de 1.200 IU y alrededor de 2.200 IU de Vitamina E/día, en dosis simples o divididas. Dimitrov, NV, et al., Am J Clin Nutr (USA), septiembre de 1996, Vol 64, (3) páginas 329-335 informa sobre la administración de 400 IU (269 mg), 800 IU (537 mg) y 1.200 IU (807 mg) de Vitamina E-TPGS a voluntarios sanos en una dosis oral simple que resultó en una leve elevación de las concentraciones de alfa tocoferol en plasma. Sokool, RJ, et al., Gastroenterology (Gastroenterología), (USA), junio de 1993, Vol 104 (6) páginas 1727-1735 informa que una dosis de 20-25 IU/kg/día de Vitamina E-

TPGS parece ser segura y efectiva para tratar la colestasis crónica de la niñez. El RDA de la Vitamina E-TPGS para pediatría está dentro de un rango entre 15-25 IU/kg/día.

La vitamina C (ácido L-ascórbico y ácido D-ascórbico) está disponible como un producto de venta libre. Ver también el índice Merck, Edición 11 #855 páginas 130-131. El RDA para la Vitamina C está dentro de un rango entre alrededor de 100 y alrededor de 200 mg/día, pero se ha informado el uso de las dosis de hasta los 25 g/día o incluso 40 g/día.

Silybum marianum (silymarin), el ingrediente activo en la leche de cardo, es comercializado por Magdaus AG, Alemania con el nombre comercial de LEGALON. El RDA para silymarin es de 140 mg/día, cápsula, PO.

La coenzima -Q10 es una sustancia tipo vitamina preparada por el cuerpo humano y también se encuentra en el cuerpo del órgano. El RDA para la coenzima -Q10 es entre alrededor de 300 y 400 mg/día.

BHA (hidroxianisol butilado) (Índice Merck, Edición 11, Nr. 1547) y BHT (hidroxitolueno butilado) (Índice Merck, Edición 11, Nr. 1548 página 238) es comercializado por Aldrich Chemical Company, Inc., Milwaukee, WI 53233.

La acetil cisteína (N-Acetil-L-cisteína, "NAC") se encuentra en el cuerpo. Ver también el Índice Merck, Edición 11, Nr. 82 página 14. El RDA para NAC está dentro de un rango entre 300 mg/día y 600 mg/día.

El selenio es comercializado por Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, WI 53233. El RDA para el selenio es entre 200 y 600 microgramos / día.

Panavia (4,4'-isopropilidenditiobis-2,6-di-t-butilfenol) está disponible por Vires Corporation, LaJolla, CA 92037 (USA). El RDA para Panavia 200 mg a 800 mg/día PO para los pacientes con HIV; las dosis mayores se estabilizaron o estabilizaron levemente el nivel CD4 en las pruebas clínicas de Fase I/II. Ver Pharmaprojects, sección J5A.

59
6

El licopeno se encuentra en los tomates; ver NY TIMES, 13 de abril de 1999. Sección Science Times (Tiempo de la ciencia), página F12. El RDA para el licopeno está dentro de un rango entre 5 y 15 mg/día.

Los antioxidantes preferidos son los ésteres d-alfa-tocoferil polietilén glicol como por ejemplo, Vitamina E d-alfa-tocoferil polietilén glicol 1000 succinato que se dispersa en agua ("Vitamina E-TPGS") así como también el uso de las composiciones de Vitamina E-TPGS y, al menos, un éster de ácido graso de glicerina que tiene un punto de fusión total de 40°C (ambos se describen en la Patente estadounidense N° 5.234.695 y comercializado por Eastman Kodak Co., Rochester, NY).

Las composiciones farmacéuticas de los antioxidantes adecuados para la administración oral, parenteral y tópica y útiles en la presente invención, pueden contener el excipiente, y otro ingrediente hallado en las preparaciones para venta libre de los antioxidantes. Las composiciones de Vitamina E-TPGS y al menos un éster de ácido graso de glicerina que tiene un punto de ebullición total de 40 °C descrito en la Patente estadounidense N° 5.234.695, también se puede utilizar. Ver también las composiciones de Trolox y Trolox C descritas en J Pharm Pharmacol (BG), febrero de 1995, Vol 47(2), páginas 138-142.

Las concentraciones inhibitorias in vitro de ribavirina se describen en Goodman & Gilman "The Pharmacological Basis of Therapeutics" (La Base Farmacológica de los terapéuticos), Novena Edición (1996) McGraw Hill, NY, en las páginas 1214-1215. La información sobre el producto Virazole describe una dosis de 20 mg/ml de Virazole en aerosol para 18 horas de exposición en Physicians Desk Reference de 1999, en las páginas 1382 – 1384.

La dosis de ribavirina y los regímenes de dosificación también son descritos por Sidwell, R. W., et al. Pharmacol. Ther 1979, Volumen 6, páginas 123-146, en la sección 2,2 páginas 126-130. Fernández H., et al., Eur. J. Epidemiol., 1986,

Vol 2 (1) páginas 1-14, en las páginas 4-9 describe la dosis y regímenes de dosificación para la administración oral, parenteral y en aerosol de ribavirina en varios estudios pre-clínicos y clínicos.

El término "pacientes que tienen infecciones por hepatitis C" como se usa aquí se refiere a cualquier paciente incluyendo un paciente pediátrico que tiene hepatitis C e incluye a los pacientes que tienen hepatitis C y no han recibido tratamiento, a los pacientes con hepatitis C que han recibido tratamiento así como también a los pacientes pediátricos sin tratamiento y con tratamiento previo que tienen una infección por hepatitis C crónica.

Estos pacientes que tienen hepatitis C crónica incluyen a aquellos que están infectados con los genotipos VHC múltiples incluyendo al tipo 1, así como también a aquellos infectados con , *inter alia*, el genotipo 2 y/o 3.

El término "paciente pediátrico" como se usa aquí se refiere a un paciente de menos que 17 años, y normalmente incluye a los recién nacidos hasta 16 años de edad.

El término "pacientes con hepatitis C que no han recibido tratamiento" como se usa aquí se refiere a los pacientes con hepatitis C que nunca han sido tratados con ribavirina o cualquier Interferon, incluyendo pero no limitándose al Interferon-alfa, o Interferon alfa tratado con PEG.

El término "pacientes que tienen infecciones por hepatitis C que recibieron tratamiento" como se usa aquí se refiere a los pacientes con hepatitis C que han sido tratados con ribavirina y cualquier interferón, incluyendo, pero no limitándose a Interferon-alfa, o Interferon alfa tratado con PEG, incluyendo a recurrentes y a los que no responden al tratamiento.

El término "pacientes que tienen infecciones por hepatitis C crónicas" como se usa aquí, se refiere a cualquier paciente con hepatitis C crónico e incluye a los pacientes con infecciones por hepatitis C crónica que no han sido tratados y a los

que recibieron tratamiento, incluyendo pero no limitándose a los recurrentes y los que no responden al tratamiento.

El término "recurrentes" como se usa aquí se refiere a los pacientes con hepatitis C que experimentaron tratamiento previo y que han recaído después de la respuesta inicial al tratamiento previo con Interferon solo, o combinado con ribavirina.

El término "los que no responden al tratamiento" como se usa aquí se refiere a los pacientes con hepatitis C que experimentaron tratamiento que no han respondido al tratamiento anterior con cualquier Interferon solo, o combinado con ribavirina.

El término "interferón-alfa" como se usa aquí se refiere a la familia de proteínas específicas de especie altamente homólogas que inhiben la replicación viral y la proliferación celular y modulan la respuesta inmune. Los Interferon-alfas típicos adecuados incluyen, pero no están limitados a, Interferon alfa-2b recombinante como por ejemplo, Intron-A Interferon disponible por Schering Corporation, Kenilworth, N.J., Interferon alfa-2 a recombinante como por ejemplo, Roferon Interferon disponible por Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J., Interferon alfa-2c recombinante como por ejemplo, Berofor alfa 2 interferón disponible por Boehringer Ingelheim Pharmaceutical, Inc., Ridgefield, CT., Interferon alfa-n1, una mezcla purificada de interferones alfa naturales como por ejemplo, Sumiferon disponible por Sumitomo, Japón, o Wellferon Interferon alfa-n1 (INS) disponible por Glaxo-Wellcome Ltd, Londres, Gran Bretaña, o un Interferon alfa consensual como por ejemplo, el descrito en la Patente estadounidense N° 4.897.471 y la Patente estadounidense N° 4.695.623 (especialmente los Ejemplos 7, 8 o 9), y el producto específico disponible por Amgen, Inc, Newbury Park, CA, o Interferon alfa-n3, una mezcla de interferones alfa naturales preparados por Interferon Sciences y disponible por Purdue Frederick Co., Norwalk, Ct., con el nombre

comercial Alferon o el Interferon alfa recombinante disponible por Frauerhoffer Institute, Alemania o que está disponible por Green Cross, Corea del Sur. Se prefiere el uso de Interferon alfa-2 a o alfa 2b. Como el Interferon alfa 2b, entre los interferones, tiene la mayor aprobación en el mundo para el tratamiento de la infección por hepatitis C crónica, es la más preferida. La fabricación de Interferon alfa 2b se describe en la Patente estadounidense N° 4.530.901.

El término "Interferon alfa tratado con PEG" como se usa aquí se refiere a los conjugados de Interferon alfa modificados con polietilén glicol, preferentemente Interferon alfa-2 a y -2b. El conjugado de polietilén-glicol-interferón alfa 2b preferido es PEG₁₂₀₀₀-interferón alfa 2b. Las frases "Interferon alfa conjugado con polietilén glicol de peso molecular 12.000" y PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa" como se usa aquí se refiere a los conjugados como por ejemplo, los preparados de acuerdo con los métodos de la Solicitud Internacional Nr. WO 95/13090 y que contienen enlace de uretano entre los grupos amino alfa-2 a o -2b y polietilén glicol con un peso molecular promedio de 12.000.

El PEG₁₂₀₀₀-interferón alfa-2b se prepara uniendo un polímero PEG al grupo amino épsilon de un residuo de lisina en la molécula IFN alfa-2b. Una molécula PEG₁₂₀₀₀ simple se conjuga a los grupos amino libres en una molécula IFN alfa-2b por medio de un enlace de uretano. Este conjugado está caracterizado por el peso molecular del PEG₁₂₀₀₀ anexado. El conjugado PEG₁₂₀₀₀-IFN alfa-2b está formulado como un polvo liofilizado para inyección. El objetivo de la conjugación de IFN alfa con PEG es mejorar la distribución de la proteína prolongando significativamente la vida media de su plasma, y proporcionando así la actividad prolongada de IFN alfa.

Otros conjugados de Interferon alfa se pueden preparar enlazando un Interferon alfa a un polímero soluble en agua. Una lista no limitante de estos polímeros inciuye a otros homopolímeros de óxido polialquileno como por

ejemplo, polipropilén glicoles, polioles polioxietilenados, sus copolímeros y sus copolímeros de bloque. Como alternativa, se pueden utilizar los polímeros basados en polialquilén óxido, los materiales efectivamente no antigénicos como por ejemplo, dextrano, polivinilpirrolidonas, poliacrilamidas, alcoholes de polivinilo, polímeros basados en carbohidrato y similares. Estos conjugados de polímero Interferon alfa se describen en la Patente estadounidense N° 4.766.106, Patente estadounidense N° 4.917.888, la Solicitud de Patente Europea Nr 0.236.987, la Solicitud de patente europea Nr. 0510 356 y 0 593 868 y 0 809 996 (Interferon alfa-2 a tratado con PEG) y la Publicación Internacional WO 95/13090.

Las composiciones farmacéuticas de Interferon alfa tratado con PEG adecuadas para la administración parenteral se pueden formular con un regulador adecuado, por ejemplo, Tris-HCl, acetato o fosfato como por ejemplo, un regulador de fosfato de sodio di-básico / fosfato de sodio monobásico, y excipientes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, sacarosa), portadores (por ejemplo, albúmina de plasma humano), agentes para la toxicidad (por ejemplo, NaCl), conservantes (por ejemplo, timerosol, cresol o benilalcohol), y surfactantes (por ejemplo, Tween o polisorbatos) en agua estéril para inyección. El Interferon alfa tratado con PEG se puede almacenar como polvos liofilizados bajo una refrigeración a 2°-8°C. Las soluciones acuosas reconstituidas son estables cuando se almacenan a entre 2° y 8 °C y se utilizan dentro de las 24 horas de reconstitución. Ver por ejemplo, la Patente estadounidense N° 4.492.537; la Patente estadounidense N° 5.762.923 y la Patente estadounidense N° 5.766.582. Las soluciones acuosas reconstituidas también se pueden almacenar en jeringas rellenas, jeringas multi-dosis como por ejemplo, las útiles para la administración de drogas como por ejemplo, insulina. Las jeringas típicas adecuadas incluyen a los sistemas que comprenden viales rellenos anexados a un jeringa tipo lapicera, como por ejemplo, NOVOLET Novo Pen disponible por

Novo Nordisk, así como también las jeringas tipo lapicera rellena que permite la auto-inyección fácil por parte del usuario. Otros sistemas de jeringa incluyen a la jeringa tipo lapicera que comprende un cartucho de vidrio que contiene un diluyente y polvo de Interferon alfa tratado con PEG liofilizado en un compartimiento separado.

Se presentan las siguientes realizaciones preferidas para administrar cantidades terapéuticamente efectivas de la terapia de combinación de Interferon alfa y ribavirina.

El Interferon alfa administrado como parte de la terapia de combinación preferentemente se selecciona de Interferon alfa-2 a, Interferon alfa-2b, un Interferon consensual, un producto de Interferon alfa purificado o un Interferon alfa tratado con PEG. Más preferentemente, se selecciona de Interferon-alfa-2 a, Interferon alfa-2b, un Interferon consensual, un producto Interferon alfa purificado o Interferon-alfa tratado con PEG. Más preferentemente, el Interferon-alfa se selecciona de Interferon alfa-2 a, Interferon alfa-2b, o un producto Interferon alfa purificado y la cantidad de Interferon alfa administrada es entre 2 y 10 millones de IU por semana sobre la base semanal, TIW, QOD o diaria. En una realización preferida, el Interferon alfa administrado es Interferon alfa-2b y la cantidad del Interferon alfa se administra en 3 millones de IU TIW.

Alternativamente, el Interferon alfa administrado como parte de la terapia de combinación es interferón consensual y la cantidad de Interferon alfa administrada es entre 1 a 20 microgramos por semana o sobre la base semanal, BIW, TIW, QOD o diaria. En otra realización, el Interferon alfa administrado es el Interferon alfa-2b tratado con PEG y la cantidad de Interferon-alfa administrada es entre 0,5 y 2,0 microgramos por semana sobre una base semanal, BIW; TIW, QOD o diaria. Alternativamente, el Interferon-alfa administrado es Interferon alfa-2 a tratado con

PEG y la cantidad de Interferon-alfa administrada es entre 20 y 250 microgramos / kilogramos por semana sobre una base semanal, TIW, QOD o diaria.

Cuando el Interferon-alfa tratado con PEG se administra como parte de la terapia de combinación es Interferon alfa-2b tratado con PEG, la cantidad terapéuticamente efectiva de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrada durante el tratamiento de acuerdo con la presente invención, incluida en el primer y segundo período de tratamiento, está dentro de un rango entre alrededor de 0,1 y 9,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado por semana, en dosis simples o divididas, preferentemente una vez a la semana (QW), o dos veces a la semana (BIW), preferentemente dentro de un rango entre alrededor de 0,1 y alrededor de 9,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado una vez a la semana (QW) o dentro de un rango entre alrededor de 0,05 y alrededor de 4,5 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado dos veces a la semana (BIW), o está dentro de un rango de entre alrededor de 0,5 y alrededor de 3,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado por semana, preferentemente dentro de un rango entre alrededor de 0,5 y alrededor de 3,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado una vez a la semana (WQ), o dentro de un rango entre alrededor de 0,25 y alrededor de 1,5 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado dos veces a la semana, o dentro de un rango entre alrededor de 0,75 y alrededor de 1,5 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b administrado por semana, más preferentemente dentro de un rango entre alrededor de 0,75 a alrededor de 1,5 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado una vez a la semana o entre alrededor de 0,375 y alrededor de 0,75 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado dos veces por semana.

Cuando el Interferon-alfa tratado con PEG se administra a pacientes pediátricos como parte de la terapia de combinación, se administra el Interferon alfa-2b tratado con PEG, la cantidad terapéuticamente efectiva de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrada durante el tratamiento de acuerdo con la presente invención, incluida en el primer y segundo período de tratamiento está dentro de un rango entre alrededor de 0,1 y 9,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado por semana, en dosis simples o divididas, preferentemente una vez a la semana (QW) o dos veces a la semana (BIW), más preferentemente entre alrededor de 0,1 y alrededor de 9,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG una vez a la semana (QW), o entre alrededor de 0,05 y alrededor de 4,5 microgramos por kilogramo de interferón alfa-2b tratado con PEG administrado por semana, en dosis simples o divididas, preferentemente una vez a la semana (QW) o dos veces a la semana (BIW), más preferentemente entre alrededor de 0,05 y alrededor de 4,5 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado una vez a la semana, o preferentemente entre alrededor de 0,75 y alrededor de 3,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado en dosis simples o divididas, preferentemente una vez a la semana (QW) o dos veces a la semana (BIW), más preferentemente entre alrededor de 0,75 y alrededor de 3,0 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado una vez a la semana o entre alrededor de 0,375 y alrededor de 1,5 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrados dos veces a la semana, y más preferentemente entre alrededor de 2,25 y alrededor de 2,6 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrados una vez a la semana o entre alrededor de 1,1 y alrededor de 1,3 microgramos por kilogramo de Interferon alfa-2b tratado con PEG administrado dos veces a la semana (BIW).

Cuando el Interferon-alfa tratado con PEG se administra como parte de la terapia de combinación, se administra interferón alfa -2 a tratado con PEG, la cantidad terapéuticamente efectiva de Interferon alfa-2 a tratado con PEG administrada durante el tratamiento de acuerdo con la presente invención, incluida en el primer y segundo período de tratamiento, está dentro de un rango entre alrededor de 50 microgramos y alrededor de 500 microgramos una vez a la semana ("QW"), preferentemente entre alrededor de 1800 microgramos y alrededor de 250 microgramos QW o la cantidad efectiva está dentro de un rango entre alrededor de 50 microgramos y alrededor de 250 microgramos dos veces a la semana, preferentemente entre alrededor de 100 microgramos y alrededor de 125 microgramos dos veces a la semana.

Cuando el Interferon-alfa tratado con PEG administrado a un paciente pediátrico como parte de la terapia de combinación es Interferon alfa-2 a tratado con PEG, la cantidad terapéuticamente efectiva de Interferon alfa-2 a tratado con PEG administrada durante el tratamiento de acuerdo con la presente invención, incluida en el primer período de tratamiento está dentro de un rango entre alrededor de 50 microgramos y alrededor de 500 microgramos QW o la cantidad terapéuticamente efectiva de Interferon alfa-2 a tratado con PEG administrada a un paciente pediátrico está dentro de un rango entre alrededor de 50 microgramos y alrededor de 250 microgramos dos veces a la semana, preferentemente entre alrededor de 150 microgramos y alrededor de 190 microgramos una vez a la semana.

La ribavirina se administra al paciente como parte de la terapia de combinación asociada con Interferon-alfa tratado con PEG; esto es, antes, después o junto con la administración del Interferon alfa tratado con PEG. La dosis de Interferon -alfa tratado con PEG preferentemente se administra durante el mismo período en que el paciente recibe la dosis de ribavirina. La cantidad de

ribavirina administrada junto con el Interferon-alfa tratado con PEG es entre alrededor de 400 y alrededor de 1.600 mg por día, preferentemente entre alrededor de 600 y alrededor de 1.200 mg/día o entre alrededor de 800 y alrededor de 1.200 mg por día y más preferentemente, entre alrededor de 1.000 y alrededor de 1.200 mg/kg por día. La dosis de Interferon-alfa tratado con PEG también se administra preferentemente al paciente pediátrico durante el período en el que el paciente recibe la dosis de ribavirina. La cantidad de ribavirina administrada al paciente pediátrico junto con el Interferon-alfa tratado con PEG es entre alrededor de 8 y alrededor de 15 mg por kilogramo por día, preferentemente de 8, 12 o 15 mg por kilogramo por día, preferentemente alrededor de 8, 12 o 15 mg por kilogramo por día, en dosis divididas.

Se presentan las siguientes realizaciones preferidas para administrar las cantidades de dosis de inducción de Interferon alfa asociado con ribavirina en el primer y segundo período del tratamiento.

La cantidad de ribavirina administrada en el primer período de tratamiento es entre 400 y 1.600 mg por día, preferentemente entre 600 y 1.200 mg/día o de entre alrededor de 800 y 1.200 mg por día, y más preferentemente entre alrededor de 1.000 y 1.200 mg/kg por día. La cantidad de ribavirina administrada en el segundo período de tratamiento está dentro de un rango entre alrededor de 800 a 1.200 mg por día, preferentemente entre alrededor de 1.000 y 1.200 mg por día.

Cuando el Interferon-alfa administrado se selecciona de Interferon alfa-2 a, Interferon alfa-2b, o un producto de Interferon alfa purificado, la cantidad de dosis de inducción terapéuticamente efectiva administrada en el primer período del tratamiento es de 10 MIU diarias durante 2 semanas, seguido por 5 MIU diarias durante 6 semanas, seguido por 3 MIU diarias durante 16 semanas, y la cantidad

terapéuticamente efectiva de Interferon-alfa administrada en el segundo período del tratamiento es de 3 MIU TIW durante 24 semanas.

Cuando el Interferon alfa administrado es Interferon alfa -2b, la cantidad de dosificación de inducción terapéuticamente efectiva de Interferon-alfa-2b administrada en el primer período del tratamiento es de 10 MIU diarios durante 2 semanas, seguido por 5 MIU diarios durante 6 semanas, seguido por 3 MIU diarios durante 16 semanas, y la cantidad de Interferon-alfa-2b administrada en el segundo período del tratamiento es de 3 MIU TIW durante 24 semanas.

Cuando el Interferon alfa administrado es interferón consensual, la cantidad de interferón consensual administrada en el primer período de tratamiento de 24 semanas es entre 15 y 20 microgramos sobre una base diaria durante 2 semanas, seguido por entre 9 y 15 microgramos sobre una base diaria durante veintidós semanas, y la cantidad de Interferon consensual administrada en el segundo período de tratamiento es de 9 microgramos TIW durante veinticuatro semanas.

En una realización preferida de la presente invención, el Interferon alfa es Interferon alfa 2a o 2b; se prefiere el uso de Interferon alfa 2b.

La suma del primer y segundo período de tratamiento es de alrededor de 40-50 semanas, preferentemente es de 48 semanas.

Una persona que padece infección por hepatitis C crónica puede exhibir uno o más de los siguientes signos o síntomas:

- (a) ALT elevado,
- (b) prueba positiva para los anticuerpos anti-VHC
- (c) presencia de VHC como se demuestra por una prueba positiva para VHC-ARN,
- (d) estigmas clínicos de enfermedad crónica del hígado
- (e) daño hepatocelular.

Para poner en práctica a la invención, se administra la terapia de combinación de Interferon-alfa y ribavirina o cantidades de inducción de Interferon alfa y ribavirina al paciente que exhibe uno o más de los signos o síntomas anteriores en cantidades suficientes como para eliminar o al menos aliviar uno o más de los signos o síntomas. La cantidad terapéuticamente efectiva del antioxidante se administra asociado con la terapia de combinación o las cantidades de dosificación de inducción para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina.

La ribavirina se administra al paciente asociada con el Interferon alfa, esto es, la dosis de interferón alfa se administra durante el mismo período de tiempo en que el paciente recibe las dosis del derivado de ribavirina de la presente invención. La mayoría de las formulaciones de interferón alfa no son efectivas cuando se administran oralmente, de manera tal que, el método preferido de administración del interferón alfa se administra parenteralmente, preferentemente por la vía subcutánea, IV, o IM. La ribavirina se puede administrar oralmente en cápsulas o tabletas asociadas con la administración parenteral del interferón alfa. Por supuesto, se consideran otros tipos de administración de ambos medicamentos, tal como se comercializan, por ejemplo, en la forma de pulverización nasal, transdérmica, por medio de supositorio, por medio de la dosificación de liberación sostenida, etc. Cualquier forma de administración trabajará en tanto distribuya las dosis adecuadas sin destruir al ingrediente activo.

La composición farmacéutica de interferón alfa, adecuada para la administración parenteral se puede formular con un regulador adecuado, por ejemplo, Tris-HCl, acetato o fosfato como por ejemplo, el regulador de fosfato de sodio bibásico / fosfato de sodio monobásico, y excipientes farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, sacarosa), portadores (por ejemplo, albúmina de suero humano), agentes para la toxicidad (por ejemplo, NaCl), conservantes (por

ejemplo, timerosol, cresol o benilalcohol), y surfactantes (por ejemplo, Tween o polisorbatos) en agua estéril para inyección. El interferón alfa se puede almacenar como polvos liofilizados bajo una refrigeración de 2°-8°C. Las soluciones acuosas reconstituidas son estables cuando se almacenan a 2° y 8°C y se usan dentro de las 24 horas de reconstitución. Ver por ejemplo, la Patente estadounidense N° 4.492.537; la Patente estadounidense N° 4.492.537; y la Patente estadounidense N° 5.766.582.

El término "VHC-ARN no detectable" en el contexto de la presente invención se refiere a que existen menos de 100 copias de VHC-ARN por ml de suero del paciente medido por medio de la metodología PCR de transcriptasa inversa multiciclo. Preferentemente, el VHC-ARN se mide en la presente invención por medio de la metodología descrita más abajo. Esta metodología se refiere aquí como CV-ARN/qPCR.

El término "niveles en suero de VHC-ARN detectables sustancialmente menores" en el contexto de la presente invención significa que el nivel en suero de VHC-ARN es menor que al menos una potencia de diez, preferentemente menor que dos potencias de diez y más preferentemente menor que al menos tres potencias de diez, comparado con el nivel inicial en suero de VHC-ARN.

El ARN se extrae del suero del paciente usando tiocianato de guanidio-fenol-cloroformo seguido por la precipitación por etanol – acetato de amonio. El ARN precipitado se centrifuga y el pellet resultante se seca en una consola Centrivap (Labconco, Kansas City, Mo.), Madison, WI), ditiotritol, y una mezcla de dietilpirocarbonato – agua tratada. Las muestras se mantuvieron a o por debajo de -20 °C (preferentemente, por debajo de -70°C), hasta la transcripción de ARN inversa (RT) y PCR.

Para convertir la secuencia de ARN completa en cADN en la reacción RT, se usan hexadoxiribonucleótidos aleatorios (Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)

como cebadores para la síntesis del primer filamento de cADN. Se agregaron dos alícuotas de 3 microlitos de la muestra resuspendida a 3 microlitos de 100 ng/ μ l de cebadores aleatorios y se desnaturalizó a 70 °C, luego se realizó la transcripción inversa a 40 °C durante una hora usando la transcriptasa inversa M-MLV (USB, Cleveland, OH) en un regulador estándar que contiene 5 mM $MgCl_2$. El volumen de reacción RT final es de 26 μ l. El PCR se inició inmediatamente luego de la transcripción inversa.

Se realizó una versión modificada del método PCR usando polimerasa Taq estable al calor para amplificar el cADN. Se agregaron setenta y cinco microlitros de pCR al volumen de reacción RT completo (26 μ l) hasta una concentración final de $MgCl_2$ de 1,5 mM en un volumen total de 101 μ l. Cada muestra de 101 μ l luego se dividió en 50,5 μ l, y se colocó una capa de aceite mineral en la parte superior para impedir la evaporación.

El ciclo PCR consiste en la recocción durante 90 segundos, una extensión de 90 segundos, y una desnaturalización de 90 segundos, a 55 °C, 74 °C y 94 °C, respectivamente. Las muestras del termociclado se someten a una extensión final de 74 °C durante 10 minutos. Se usaron cuatro ciclos diferentes. Cargando la muestra en duplicado, y dividiendo estas muestras en forma pareja después de RT, quedan cuatro tubos de una muestra. A cada uno de los cuatro tubos se les da un número de ciclo diferente, aumentado la sensibilidad y precisión en el proceso de cuantificación. La eficiencia del termociclado se logrará por medio de la amplificación satisfactoria de los estándar de ARN de número de copia conocido incluidos en cada grupo de 60 tubos. Los dos grupos de cebadores se usan para la amplificación, ambos de la región 5' no traducida del genoma VHC. Los dos grupos de cebadores se conservan y se detectan todos los subtipos conocidos de VHC. Grupo cebador 1: corriente arriba 5' – GTG GTC TGC GGA ACC GGT GAG T-3', corriente abajo 5'- TGC ACG GTC TAC GAG ACC TC-3'

que produjo un producto de 190 bp. Grupo cebador 2: corriente arriba 5'- CTG TGA GGA ACT ACT GTC TTC-3', corriente abajo 5'-CCC TAT CAG GCA GTA CCA CAA-3' que produjo un producto de 256 bp.

El cADN amplificado luego se somete a la electroforesis en 3 % gel de agarosa y se transfiere a una membrana de nylon. El ADN objetivo se detecta por medio del Southern Blot y el inmunomanchado usando una sonda ADN rotulada con digoxigenina no radioactiva. Estos procedimientos se realizan usando los instrumentos automatizados para el termociclado PCR, electroforesis con gel de agarosa, Southern Blot por transferencia de vacío, hibridación, e inmunomanchado. Cada membrana contiene estándares diluidos serialmente con un número de copia conocido que se utilizan para construir las curvas estándar para la medición cuantitativa de las bandas del espécimen. Originalmente, las curvas estándar se prepararon con VHC-ARN cuidadosamente diluido de clones transcriptos. Se realizaron los estudios de incorporación radioactiva, electroforesis de gel, y OD 260 sobre los transcriptos para determinar si son de la longitud esperada. Después de la producción de los estándares de clon cuantificados transcriptos ARN, se generaron estándares "agrupados" que representan mejor la naturaleza heterogénea de VHC, que se podría encontrar en la infección natural. Estos grupos se preparan combinando grandes cantidades de suero o plasma de individuos infectados conocidos. Los grupos suero / plasma se calibran con PCR, contra los transcriptos del clon y luego se diluyen en los fluidos PCR-negativos conocidos. Finalmente, se controlan las muestras de número de copia mayor de los grupos contra el sistema de detección de ácido nucleico cADN Quantiplex de Chiron Inc. (Emeryville, CA). Estos grupos "doblemente cuantificados" se agrupan en alícuotas y se guarda a -70°C . Se utilizan en cada experimento las diluciones de 5.000.000, 1.000.000, 500.000, 100.000, 10.000 y 1.000 copias/ml.

Se escanea cada membrana Southern Blot en una computadora usando un escáner / densitómetro automatizado, a intervalos durante el desarrollo, para determinar cuando la curva estándar es más lineal. Las imágenes electrónicas resultantes luego se miden en el área de banda y la densidad de banda media. Todas las lecturas se estandarizan en una densidad de banda integrada y se comparan con la curva estándar para obtener un valor numérico de número de copia viral para cada banda.

El término "respuesta virológica sostenida" como se usa aquí en el contexto de la presente invención se refiere a que no existe VHC-ARN detectable en los pacientes tratados de acuerdo con la presente invención durante al menos 24 semanas después del final del tratamiento de terapia combinada. Preferentemente, el período de respuesta virológica sostenida será de al menos un año o más, después del final de tratamiento.

Durante el tratamiento y el seguimiento del post-tratamiento, se utilizarán los exámenes virológicos (VHC-ARN), hematológicos, incluyendo al menos los siguientes: hemoglobina (Hgb), hematocrito (HCT), RBC, WBC con niveles de conteos diferencial y de plaquetas y exámenes histológicos (biopsia de hígado) para clasificar la naturaleza y duración de la respuesta del tratamiento en estudio. La variable de eficacia primaria será la respuesta total definida como la pérdida de VHC-ARN/qPCR en suero (<100 copias/ml) medidas a 24 semanas luego del final de la terapia. Además, también se medirá la caída en los niveles de hemoglobina comparada con los valores de línea base. Además, también se examinará como puntos de eficacia secundarias a la disminución en la inflamación hepática, una mejora en la biopsia de hígado post-tratamiento medida por medio de un índice de Actividad Histológica de Knodell (HAI) y la normalización de ALT. La seguridad de los tratamientos del estudio se logrará monitoreando los parámetros de laboratorio

seleccionados y registrando y evaluando la ocurrencia de cualquier evento adverso.

Eficacia

El objetivo primario de eficacia será la comparación de los grupos de tratamiento 1 y 2 con respecto a la velocidad de respuesta virológica sostenida definida como una pérdida de VHC-ARN/qPCR en suero (detectable), medido a 24 semanas después del final de la terapia de un nivel no detectable o un nivel de <100 copias/ml. Los siguientes puntos finales de eficacia secundaria también se examinaron usando la regresión logística:

Los puntos finales de eficacia secundaria:

- proporciones de pacientes con normalización de ALT a 24 semanas del seguimiento;
- las proporciones de pacientes con mejoras en la biopsia (clasificación combinada de las Categorías I + II + III);
- cambios de línea base en las clasificaciones de biopsia (clasificaciones combinadas de las Categorías I + II + II);
- las velocidades de respuesta en el punto final del tratamiento basado en VHC-ARN/qPCR;
- la proporción de pacientes con normalización de ALT en el punto final del tratamiento.
- las velocidades de respuesta a 24 semanas de seguimiento basado en VHC-ARN/qPCR.

Virología: Estado de ingreso y cambio de ingreso

La prueba de VHC-ARN/qPCR en suero y la prueba de genotipo VHC se realizará en un laboratorio central. Se requerirá en la línea base un ensayo VHC-ARN de resultado positivo; sólo participarán los pacientes positivos para VHC-ARN. Los ensayos de repetición se deben realizar en las semanas 4, 12, 24 y si el

paciente estaba en los grupos de tratamiento de 48 semanas en las semanas 36 y 48. Todos los pacientes deben realizar los ensayos de repetición programados para los seguimientos de las semanas 12 y 24.

Se clasificará la respuesta de la siguiente manera:

Paciente que responde al tratamiento virológico: Se clasificará un paciente como que responde al tratamiento en el momento dado si VHC-ARN/qPCR es negativo (<100 copias por ml) en ese momento.

Paciente que responde al tratamiento virológico sostenido: Se clasificará un paciente como uno que responde al tratamiento sostenido si el paciente la respuesta se obtiene a 24 semanas del seguimiento. Nótese que los pacientes que no alcanzan este criterio, incluyendo a los pacientes que discontinuaron la medicación antes de obtener las evaluaciones de VHC-ARN/qPCR requeridas, se clasificarán como los que no responden al tratamiento.

Paciente con una respuesta total: Basado tanto en el VHC-ARN/qPCR en suero y el cambio en la histología del hígado evaluado por la Clasificación de Inflamación Knodell HAI. Un paciente se clasificará como paciente con una respuesta total al tratamiento si a las 24 semanas de seguimiento, él/ella es un paciente que responde al tratamiento virológico sostenido y tiene ALT normal.

Histología del hígado

La biopsia de hígado se hará dentro de los seis meses que preceden a la inscripción del paciente y en la semana 24 del seguimiento para todos los pacientes. La evaluación de las biopsias se realizará por parte de un solo patólogo usando la Clasificación de actividad histológica Knodell. El patólogo principal no conocerá la identificación del paciente, el grupo de tratamiento, y el momento en que se realiza la biopsia con respecto al tratamiento (Pre- o Post-tratamiento). La eficacia de los tratamientos del estudio se clasificará comparando

74 77

el grado de actividad inflamatoria observada en la línea base con el seguimiento en la semana 24.

Se medirá el peso del paciente y sus características de enfermedad básicas (genotipo VHC, niveles de hemoglobina y carga viral inicial) para todos los pacientes en el inicio del estudio. Los genotipos VHC se realizarán en las muestras de suero del paciente sometidos a la prueba VHC-ARN/qPCR.

Este aumento en la eficacia incluido en todos los aspectos de la enfermedad resultarán en:

- erradicación sostenida de VHC-ARN detectable;
- mejora en la inflamación hepática;
- caída de la hemoglobina
- Mejoras en HQL

DISEÑO DEL ESTUDIO CLÍNICO

Este es un protocolo para tratamiento diseñado para confirmar la eficacia de la Vitamina E en un estudio piloto explicado aquí anteriormente sobre la mejora de la hemólisis asociada con Rebetrón (Intron A + Ribavirina) para el tratamiento de pacientes con hepatitis C crónica.

Se asignarán los siguientes tratamientos a ciegas a los pacientes en los centros seleccionados bajo este protocolo:

A. Rebetrón (Intron A 3 MU TIW – Ribavirina 1000-12000 mg po por día en dosis divididas) más 1000 IU de Vitamina E, BID.

B. Rebetrón (Intron A 3MU TIW + Ribavirina 1000 – 12.000 mg po por día en dosis divididas) más 1.000 IU de Vitamina E más placebo..

C. Rebetrón (Intron A 3 MU TIW + Ribavirina 1.000 – 12.000 mg po por día en dosis divididas) más placebo de aspecto coincidente solamente.

Los pacientes deben pesar ≥ 75 kg, recibirán 1.200 mg/día de ribavirina.

El tratamiento se discontinuará en los pacientes que no eliminaron el virus en 6 meses.

Se enlistará un total de 90 pacientes (30 pacientes por grupo).

OBJETIVOS

El objetivo primario de este protocolo de tratamiento es confirmar que la Vitamina E puede reducir la hemólisis que ocurre con el uso de ribavirina, (una reducción en la caída de hemoglobina con respecto a la línea base comparada con el control).

Los objetivos secundarios son determinar si existe una necesidad menor de ribavirina, una disminución en las interrupciones de la terapia y una calidad de vida mejorada.

SINOPSIS DEL ESTUDIO

El protocolo es un estudio aleatorio a ciegas de una dosis estándar de Rebetron (Intron A 3 MU TIW + Ribavirina 1.000-12.000 mg/d) más 1.000 IU de Vitamina E o 2.000 IU de Vitamina E o Placebo. Se tomarán los niveles de hemoglobina seriales, los niveles de VHC ARN y los niveles de ribavirina. Se utilizarán otros marcadores de hemólisis y una herramienta de calidad de vida (escalas de vitalidad y depresión) también para medir los resultados. El análisis Interim se realizará en otro lugar, en las semanas 12 y 24 mientras que se mantiene en secreto la localización del investigador.

POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Se utilizan pacientes adultos de sexo masculino y femenino con hepatitis C crónica compensada que no recibieron un tratamiento previo con Interferon. Podrán participar los pacientes que cumplan el siguiente criterio.

Criterio de inclusión:

El paciente debe cumplir con el siguiente criterio para entrar:

Ser adulto sexo femenino o masculino, edad entre 18 y 70.

Virus de hepatitis C positivo en suero por PCR.

La biopsia de hígado antes de entrar a este protocolo con un informe patológico que confirme que el diagnóstico histórico es coherente con la hepatitis crónica.

Enfermedad de hígado compensada con los siguientes parámetros de laboratorio en la visita de Ingreso:

Valores de hemoglobina de >11 g/dl para mujeres o >12 g/dl para hombres.

WBC $> 3.000/\text{mm}^3$

Conteo de neutrófilos $1.500/\text{mm}^3$

Plaquetas $> 70.000/\text{mm}^3$

Tiempo de protrombina prolongados < 2 segundos comparados con el control, o relación INR equivalente.

Bilirrubina dentro del 20 % de límite superior al normal.

Albúmina $>3,5$ d/dl.

Creatinina en suero $< 1,4$ mg/dl

Azúcar en sangre <115 mg/dl para pacientes no diabéticos.

Hemoglobina A $< 8,5$ % para pacientes diabéticos (tanto medicados y/o controlados con dieta).

Hormona estimulante de tiroides (TSH) con límites normales.

Anticuerpos antinucleares (ANA) <1.160 .

El valor de fetoproteína alfa (AFP) dentro de los límites normales obtenidos dentro del año anterior. Para pacientes con los resultados sobre el límite superior al normal pero < 50 ng/ml, se requiere estas dos condiciones:

Valor de fetoproteína alfa $< \text{ng/ml}$ obtenida dentro de los 3 meses antes del ingreso y Ultrasonido obtenido dentro de los 3 meses antes de del ingreso que es negativo para la evidencia de carcinoma hepatocelular.

Criterio de exclusión

El paciente se excluirá del estudio si se aplican cualquiera de los siguientes criterios:

Hipersensibilidad al interferón alfa o ribavirina.

Cualquier otra causa de enfermedad crónica en el hígado diferente de la hepatitis C crónica.

Hemoglobinopatías (por ejemplo, Talasemia) o cualquier otra causa de anemia hemolítica.

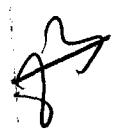
Evidencia de enfermedad avanzada del hígado como por ejemplo, una historia de o presencia de ascitis, várices sangrantes, o encefalopatía espontánea.

Cualquier condición pre-existente conocida que pudiera interferir con la participación de los pacientes en el protocolo incluyendo: trauma del CNS o trastornos de apoplejía activa que requieren medicación; diabetes mellitus pobremente controlada; enfermedad pulmonar seria; enfermedades medicadas inmunológicamente; gota; o cualquier otra condición médica que requiere, o probablemente requiera, durante el transcurso del estudio, la administración sistémica crónica de esteroides.

Los pacientes con evidencia de isquemia en la prueba de estrés (requerida para pacientes en riesgo de o con una historia de enfermedad arterial coronaria; evidencia ECG de isquemia, una arritmia, falla cardiaca, cirugía coronaria, hipertensión no controlada, angina o infarto del miocardio dentro de los 12 meses.

Los pacientes con anormalidades de retina clínicamente significativas.

Los abusos de sustancias, como por ejemplo, alcohol (80g/día), drogas I.V. y drogas inhaladas. Si el paciente tiene una historia de abuso de sustancias, a ser considerada para incluir en el protocolo, el paciente debe haberse abstenido de



usar sustancias al menos durante un año. Los pacientes que reciben una metadona dentro del año anterior también están excluidos.

Se les debe aconsejar a los pacientes con respecto a la necesidad de abstenerse del consumo de alcohol. Los pacientes con un consumo de alcohol de >20 g/día no son aptos para el protocolo.

Quedará excluido el uso concurrente de análogos de nucleósido, amantadina / rimantadina e inhibidores de proteasa.

Los pacientes con una historia de trasplante de órganos quedarán excluidos.

Las condiciones psiquiátricas pre-existentes, especialmente la depresión severa, o historia de trastorno psiquiátrico severo, como por ejemplo, psicosis, idea de suicidio y/o intento de suicidio están excluidas.

MEDICACIÓN DEL ESTUDIO

Provisión de ribavirina

La medicación del estudio será provista en el envase estándar de Rebetron. La ribavirina se proveerá por medio de la farmacia del paciente, directamente en la oficina de distribución o a través del programa de Commitment to Care de Schering. Las cápsulas de ribavirina se almacenarán a temperatura ambiente 15-25 °C (59-77 °F).

Administración de ribavirina

Se administrará ribavirina por vía oral dos veces al día (BID) en dosis dentro de un rango entre 600 y 1.200 mg por día. Las dosis de ribavirina superiores a los 800 mg estarán basadas en el peso del paciente en el momento de ingresar como se indica en la siguiente tabla:

82

Tabla

Dosis de ribavirina Cápsulas / dosis	Peso del paciente	Dosis diaria total	Régimen (200 mg cada uno)	Cantidad total
	<75 kg	1.000 mg	400 mg/600 mg dosis dividida, BID	2 cápsulas a.m. 3 cápsulas p.m.
	≥ 75 kg	1.200 mg	600 mg/600 mg dosis divididas, BID	3 cápsulas a.m. 3 cápsulas p.m.

Todas las dosis de ribavirina se administrarán sobre un esquema BID. Si ocurriera algún evento adverso por el cual, se requiere la reducción de la dosis, se debe ajustar la dosis diaria total.

Provisión de Intrón A

El paciente obtendrá Intrón A en la potencia adecuada como para proveer una dosis de 3 MU TIW. El paciente lo obtendrá de su farmacia, directamente de la oficina de distribución o a través del programa Commitment to Care de Schering.

Administración de Intrón A

Se administrará Intrón A por la vía subcutánea. Por favor, remitirse al prospecto del envase de Intron A para obtener información adicional.

Provisión y administración de Vitamina E / placebo

La Vitamina E (comercializada por R. P. Scherer Corp, St. Petesburg, FLA) se proveerá en forma de cápsula de 500 IU de vitamina E. Las cápsulas estarán envasadas en una botella genérica. Las cápsulas de placebo adecuadamente coincidentes también se proporcionarán en botellas genéricas. Éstas se proveerán directamente de Schering-Plough Corporation. Las cápsulas se envasarán en provisiones de 1 mes de acuerdo con el grupo de estudio (vitamina

E / vitamina E), vitamina E / placebo, o placebo / placebo). Cada paciente tomará dos cápsulas A.M (por la mañana). y dos cápsulas P.M. (por la tarde) por día de la siguiente manera: para el grupo de estudio (vitamina E / vitamina E), dos cápsulas de 500 IU de vitamina E AM y dos cápsulas de vitamina E PM; para el grupo de estudio (vitamina E / placebo), dos cápsulas de 500 IU de vitamina E AM y dos cápsulas de placebo PM; y para el grupo de estudio (placebo / placebo), dos cápsulas de placebo AM y dos cápsulas de placebo PM.

Duración del tratamiento

La duración del tratamiento tanto con Intron A como ribavirina será de hasta 48 semanas.

Esperamos que el uso de antioxidantes asociados con la terapia de combinación de acuerdo con el diseño del estudio clínico de la presente invención baje considerablemente la severidad de la anemia hemolítica relacionada con la ribavirina en las primeras doce semanas de la terapia de combinación, y continúe manteniendo bajo al nivel de anemia hemolítica relacionada con la ribavirina durante el transcurso de la terapia de combinación comparada con los controles históricos.

REIVINDICACIONES

1. El uso de un antioxidante para la preparación de un medicamento para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina asociada con el tratamiento de una infección viral susceptible con ribavirina.
2. El uso de un antioxidante para la preparación de un medicamento para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina asociada con el tratamiento de una infección VHC crónica con una terapia de combinación de interferón-alfa y ribavirina.
3. El uso de la Reivindicación 2 donde el interferón alfa es interferón alfa-2 a, interferón-alfa-2b, interferón alfa-2 a tratado con PEG, interferón alfa-2b tratado con PEG, o un interferón consensual o un producto interferón alfa purificado.
4. El uso de cualquier reivindicación precedente donde el antioxidante es Vitamina A, vitamina E, Vitamina C, coenzima-Q10, BHA, BHT, N-acetilcisteína, selenio, panavir, silybum marianum, licopeno, o sus mezclas.
5. El uso de cualquiera de las Reivindicaciones precedentes donde el antioxidante es un derivado de Vitamina E soluble en agua.
6. El uso de cualquiera de las Reivindicaciones precedentes donde el antioxidante es alfa-tocoferil éster, preferentemente α ,d-alfa-tocoferil éster.
7. El uso de cualquiera de las Reivindicaciones precedentes donde el antioxidante es un éster de alfa-tocoferil polietilén glicol, preferentemente éster de alfa-tocoferil polietilén glicol succinato.
8. El uso de cualquiera de las Reivindicaciones precedentes donde el tratamiento comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de ribavirina suficiente como para bajar el ARN viral detectable.

9. El uso de cualquiera de las Reivindicaciones precedentes donde el tratamiento comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la terapia de combinación que comprende interferón alfa, ribavirina para bajar el VHC-ARN.

10. El uso de cualquier Reivindicación precedente donde el tratamiento comprende una terapia de combinación que comprende 3 MIU TIW de interferón alfa-2b y entre alrededor de 600 mg y alrededor de 1.600 mg/día PO de ribavirina que se administra durante un primer período de al menos alrededor de 24 semanas, preferentemente al menos alrededor de 48 semanas.

11. El uso de cualquier Reivindicación precedente donde el tratamiento comprende una terapia de combinación que comprende entre alrededor de 0,5 y alrededor de 1,5 $\mu\text{g/kg/día}$ QW de interferón alfa-2b tratado con PEG y entre alrededor de 600 y alrededor de 1.600 mg/día de ribavirina que se administra durante un primer período de al menos 24 semanas, preferentemente al menos alrededor de 48 semanas.

12. El uso de la Reivindicación 9, 10 u 11 donde el tratamiento además comprende administrar entre alrededor de 600 y alrededor de 1.600 mg por día de ribavirina asociada con el antioxidante durante un segundo período de tiempo de al menos alrededor de 24 semanas después del final del primer período de tiempo.

13. El uso de cualquier Reivindicación precedente donde el tratamiento además comprende una cantidad de dosificación de inducción de interferón alfa-2b y ribavirina o una dosis de terapia de inducción de interferón alfa-2 a o 2b tratado con PEG y ribavirina, cualquiera de ellas se administra antes del primer período.

14. El uso de cualquier Reivindicación precedente donde el tratamiento comprende a) administrar a dicho paciente, en un primer período de tratamiento de veinticuatro semanas, una cantidad terapéuticamente efectiva de un

antioxidante suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina asociada con una terapia de combinación de entre alrededor de 800 y 1.200 mg por día de ribavirina y una cantidad terapéuticamente efectiva de interferón-alfa 2b de acuerdo con el siguiente régimen: alrededor de 10 MIU diarios de interferón-alfa-2b durante dos semanas, seguido por 5 MIU diarios de interferón alfa durante seis semanas, seguido por 3 MIU diarios de interferón alfa durante dieciséis semanas, seguido por (c) la administración en un segundo período de tratamiento de veinticuatro semanas de entre alrededor de 800 y 1.200 mg por día de ribavirina y 3 MIU TIW de interferón alfa asociados con una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con ribavirina.

RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

Se describen los métodos para tratar pacientes que tienen infecciones virales susceptibles, especialmente la infección por hepatitis C crónica administrando a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia de combinación de interferón-alfa y ribavirina durante un período suficiente como para bajar el VHC-ARN asociado con una cantidad terapéuticamente efectiva de un antioxidante durante un período suficiente como para mejorar la hemólisis relacionada con la ribavirina.

88 88

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMI

Radicacion : 00028688 00000000

Folios: 92

Fecha (AMD): 2000-04-18 17:04:10

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCIÓN [✓]

MODELO DE UTILIDAD []

- Nombre e identificación del Solicitante /
- Nombre e identificación del Inventor /
- Título o nombre de la Invención /
- Descripción 54
- Reivindicaciones 86
- Resumen 89
- Comprobante de Pago 3

- []
- []
- []
- []
- []
- []
- []

COMPLETA [✓]

INCOMPLETA []

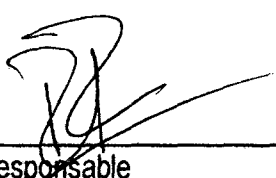
DISEÑO INDUSTRIAL []

- Nombre e identificación del peticionario
- Nombre e identificación del inventor o diseñador
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse
- Representación gráfica
- Comprobante de pago

- []
- []
- []
- []
- []

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

Fecha: _____

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
PRIMER EXAMEN DE FORMA

89 89
2000-09-25
430

EXPEDIENTE 00-028688

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI** [x] **NO** [] **NO APLICABLE** [] Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a).
- SI** [x] **NO** [] **NO APLICABLE** [] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).
- SI** [x] **NO** [] **NO APLICABLE** [] Presentó, en forma correcta el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 02 del 4 de enero del 2000).
- SI** [x] **NO** [] **EXTEMPORANEAMENTE** [] Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de Paris.
- SI** [x] **NO** [] **NO APLICABLE** [] Presentó copia, certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional.
- SI** [] **NO** [x] **NO APLICABLE** [] Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de Paris; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.).
- SI** [] **NO** [x] **CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS**

OBSERVACIONES JURIDICAS CONVENIO DE PARIS: En todo caso, deberá presentar traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad, **en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses**, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud posterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

- SI** [] **NO** [x] Se ajusta a los aspectos **FORMALES** indicados en la Decisión 344 y por tanto,
- SI** [] **NO** [x] Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Santafé de Bogotá, D.C., 25 de abril del 2000.


EXAMINADOR JURIDICO

90

Folio 85
2000-86-27
430

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
1er EXAMEN DE FORMA

Radicación no 00-28688

Concepto Técnico no 962. Clasificación Internacional de Patentes AGIK³¹/90, AGIK³⁸/21
AGIK⁴⁷/00

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
- SI ☒ NO ☐ Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
- SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94.
- SI ☐ NO ☐ Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94.
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☐ NO ☒ ver hoja(s) anexa(s)

Santa Fe de Bogotá, D.C., 27 de junio/00

202016
EXAMINADOR TÉCNICO

EXPEDIENTE 00-28688

AUTO 1172

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al doctor Carlos R. Olarte, como apoderado del solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

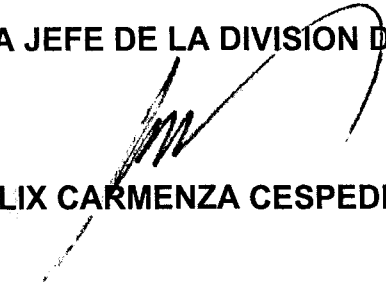
ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiendo que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a los

04 JUL 2000

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Santafé de Bogotá D.C., 06 JUL 2000 notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI ____ NO ____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA