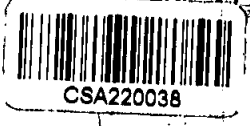




OF

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

08-82042

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

TRATAMIENTO PARA LA HEPATITIS VIRAL

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

ROMARK LABORATORIES, L.C.

DOMICILIO

TAMPA, FLORIDA, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-082042- -00000-0000

Fecha: 2008-08-06 16:30:50 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 162**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL****SOLICITUD DE:**

- 1 ☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.

2 SOLICITANTE (71)	Nombre: ROMARK LABORATORIES, L.C. sociedad constituida y existente bajo las leyes del Estado de la Florida, Estados Unidos de América. Dirección: 3000 Bayport Drive, Suite 200, Tampa, Florida 33607, Estados Unidos de América Domicilio: Tampa Florida, Estados Unidos de América	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
---------------------------------	---	--

3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: EMILIO FERRERO Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 211 86 50 E-mail: clientes@cavelier.com Domicilio: Bogotá, Colombia.	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número 438.019 T.P 31.929
---	--	--

4 INVENTOR (ES) (72)	1. Jean- Francois ROSSIGNOL 510 Park Street North, Saint Petersburg, Florida 33710, Estados Unidos de América
-----------------------------------	---

5	PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/US2007/000574</u> Fecha: <u>9 de enero de 2007</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2007/081974 A3</u> Fecha: <u>19 de julio de 2007</u>
---	--

6	Título (54) <u>TRATAMIENTO PARA LA HEPATITIS VIRAL</u>
---	---

7	Clasificación Internacional (51) <u>A61K 031/425</u>
---	---

8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>US</u>	(32) Fecha <u>9 de enero de 2006</u>	(31) Número de Solicitud <u>60/757,036</u>
---	--	----------------------------------	---	---

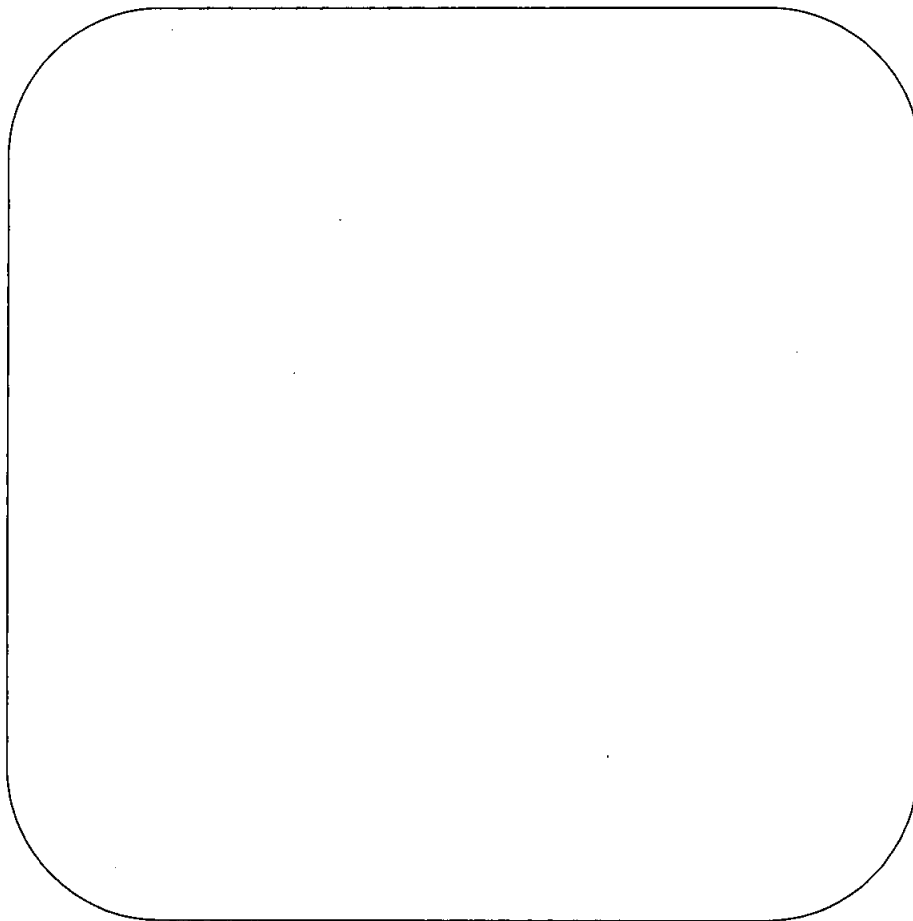
9	Comprobante de pago No.: <u>8-60,425</u> Fecha: <u>28 de julio de 2008</u>
---	---

10

Anexos:

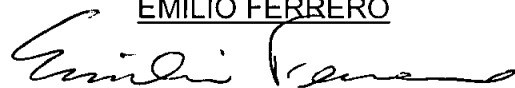
- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 501.000.oo.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERREROFIRMA: 

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2007/081974 A3

Descripción:

Páginas 49 en el idioma original

Páginas 72 en español

Reivindicaciones: Número (s) 45

Figuras: Número (s) 8

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
19 July 2007 (19.07.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/081974 A3

(51) International Patent Classification:
A61K 31/425 (2006.01) A61K 39/42 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2007/000574

(22) International Filing Date: 9 January 2007 (09.01.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/757,036 9 January 2006 (09.01.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): RO-MARK LABORATORIES, L.C. [US/US]; 3000 Bayport Drive, Suite 200, Tampa, FL 33607 (US).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): ROSSIGNOL, Jean-Francois [US/US]; 510 Park Street North, Saint Petersburg, FL 33710 (US).

(74) Agents: ELRIFI, Ivor, R. et al.; Mintz, Levin, Cohn, Ferris, Glovsky And Popeo, P.C., 1400 Page Mill Road, Palo Alto, CA 94304 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

(88) Date of publication of the international search report:
17 January 2008

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 2007/081974 A3

(54) Title: VIRAL HEPATITIS TREATMENT

(57) Abstract: The present disclosure relates to methods of treating viral hepatitis, compounds useful in the treatment of viral hepatitis, and pharmaceutical compositions comprising such compounds. In one embodiment, pharmaceutical compositions comprising nitazoxanide, tizoxanide, or derivatives and/or mixtures thereof are provided, as well as methods of treating hepatitis C using such compositions.

- 1 -

VIRAL HEPATITIS TREATMENT

GOVERNMENT RIGHTS

[0001] The U.S. Government has certain rights in this invention pursuant to Contract No. NO1-AI-30046 awarded by the NIAID.

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

[0002] This application claims priority under 35 U.S.C. §119 to Provisional United States Patent Application Serial No. 60/757,036, filed January 9, 2006, the disclosure of which is incorporated by reference herein.

TECHNICAL FIELD

[0003] The present disclosure relates to methods for treating viral hepatitis, compounds useful in the treatment of viral hepatitis, and pharmaceutical compositions comprising such compounds.

BACKGROUND

[0004] Hepatitis refers to a variety of conditions that involve inflammation of the liver. Viral hepatitis, of which there are several types (e.g., hepatitis A, B, C, D, and E), is an inflammation of the liver due to a viral infection. Each type of viral hepatitis may exhibit different symptoms and may be characterized by different approaches to treatment and prevention. For example, vaccines have been developed for hepatitis A and B, but not for hepatitis C or E.

[0005] The main goal of treatment of chronic hepatitis C is to eliminate detectable viral RNA from the blood. Patients lacking detectable hepatitis C virus RNA in the blood 24 weeks after completing therapy typically have a favorable prognosis and may be considered to be cured of the virus. Such a condition is known as a sustained virologic response. For patients not achieving a sustained virologic response, there may be other more subtle benefits of treatment, such as slowing the progression of liver scarring (fibrosis).

[0006] Treatment of hepatitis C virus (HCV) commonly involves administration of injectable interferon (or injectable pegylated interferon), ribavirin, or a combination thereof. Interferon alpha is a naturally occurring glycoprotein that is secreted by cells in response to

- 2 -

viral infections. It exerts its effects by binding to a membrane receptor. Receptor binding initiates a series of intracellular signaling events that ultimately leads to enhanced expression of certain genes. This leads to the enhancement and induction of certain cellular activities including augmentation of target cell killing by lymphocytes and inhibition of virus replication in infected cells. Ribavirin is a synthetic nucleoside that has activity against a broad spectrum of viruses.

[0007] Interferon alpha, with or without ribavirin, is associated with many side effects. Flu-like symptoms, depression, rashes, other unusual reactions and abnormal blood counts are common examples of such side effects. Ribavirin is associated with a significant risk of abnormal fetal development. Accordingly, women who are potentially pregnant should not begin therapy until a report of a negative pregnancy test has been obtained. Female patients are advised to avoid becoming pregnant during treatment. Patients using interferon alpha and ribavirin are advised to have blood tests approximately once a month, and somewhat more frequently at the beginning of treatment. Certain groups of patients cannot take ribavirin, for example those with anemia, heart disease or kidney disease. In such cases, pegylated interferon alpha is typically prescribed alone. Some patients with hepatitis C (e.g., patients also having advanced liver disease) are advised not to take interferon alpha or pegylated interferon alpha because of the risk of serious side effects. For such patients, no previously available method of treatment is recognized as being effective and safe for treating hepatitis C.

[0008] There is therefore a need in the art to develop an effective method of treatment of hepatitis C. An ideal method of treatment would achieve a sustained virologic response in a wide range of patients. Such a treatment would employ readily available active agents and would have minimal side effects. When co-administration of interferon alpha is employed, an ideal method of treatment would require reduced amounts of interferon alpha (i.e., reduced frequency of administration, reduced amount per administration, or both) as compared with traditional methods of treatment.

SUMMARY OF THE DISCLOSURE

[0009] The present invention is directed at addressing one or more of the abovementioned drawbacks of known methods for treating viral hepatitis C.

- 3 -

[00010] In one embodiment, then, the disclosure describes a method of treating a patient suffering from hepatitis C. The method comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of a compound selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide.

[00011] In another embodiment, the disclosure describes a method for treating a patient suffering from viral hepatitis. The method comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of a first compound having the structure of formula I: $R_1-NHCO-R_2$. In formula I, R_1 and R_2 are independently selected from moieties that provide improved stability of the NHCO group in biological fluid and tissue. In one aspect of the embodiment, the first compound is neither nitazoxanide nor tizoxanide.

[00012] In yet another embodiment, the disclosure describes an improvement in a method for treating a patient suffering from hepatitis C comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of nitazoxanide, tizoxanide, or mixtures thereof.

[00013] In yet another embodiment, the disclosure describes a method of treating a patient suffering from hepatitis C. The method comprises pretreating the patient by administering to the patient for a predetermined period of time a first composition comprising a therapeutically effective amount of a compound selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide, or mixtures thereof. The method further comprises administering to the patient, after the predetermined period of time, a therapeutically effective amount of a second composition comprising an active agent.

[00014] In yet another embodiment, the disclosure describes a composition comprising: (a) one or more compounds selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide; (b) an interferon; and (c) an anti-diabetes agent.

[00015] In yet another embodiment, the disclosure describes compositions effective in the methods of treatment disclosed herein.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[00016] Figures 1a and 1b are graphs illustrating the synergistic activity of nitazoxanide with interferon alpha-2b, or 2'-C-methyl cytidine against HCV replication in an HCV replicon containing cell line.

- 4 -

[00017] Figures 2a and 2b are graphs illustrating synergistic activity when an HCV replicon-containing cell line is treated first with nitazoxanide and then with nitazoxanide plus interferon alpha-2b.

[00018] Figure 3 is a patient disposition chart showing the selection of participants for the experiment described in Example 5.

[00019] Figure 4, described in Example 5, is a graph showing mean quantitative serum HCV RNA levels over time for different treatment groups.

[00020] Figure 5, described in Example 5, is a graph showing quantitative serum HCV RNA levels over time for different patients.

[00021] Figure 6 is a patient disposition chart showing the selection of participants for the experiment described in Example 6.

[00022] Figure 7, described in Example 6, is a graph showing platelet count versus time for patients administered pegylated interferon alpha-2b plus either Alinia® or a placebo.

[00023] Figure 8, described in Example 6, is a graph showing neutrophil count versus time for patients administered pegylated interferon alpha-2b plus either Alinia® or a placebo.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

DEFINITIONS AND NOMENCLATURE:

[00024] Before describing the present invention in detail, it is to be understood that unless otherwise indicated, this invention is not limited to particular dosages, formulations or methods of use, as such may vary. It is also to be understood that the terminology used herein is for the purpose of describing particular embodiments only, and is not intended to be limiting.

[00025] It must be noted that, as used in this specification and the appended claims, the singular forms "a," "an" and "the" include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. Thus, for example, "a dosage form" refers not only to a single dosage form but also to a combination of two or more different dosage forms, "an active agent" refers to a combination of active agents as well as to a single active agent, and the like.

[00026] As used in the specification and the appended claims, the terms "for example," "for instance," "such as," "including" and the like are meant to introduce examples that further clarify more general subject matter. Unless otherwise specified, these examples are

- 5 -

provided only as an aid for understanding the invention, and are not meant to be limiting in any fashion.

[00027] Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the meaning commonly understood by one of ordinary skill in the art to which the invention pertains. Although any methods and materials similar or equivalent to those described herein may be useful in the practice or testing of the present invention, preferred methods and materials are described below. Specific terminology of particular importance to the description of the present invention is defined below.

[00028] When referring to a compound of the invention, and unless otherwise specified, the term "compound" is intended to encompass not only the specified molecular entity but also its pharmaceutically acceptable, pharmacologically active analogs, including, but not limited to, salts, polymorphs, esters, amides, prodrugs, adducts, conjugates, active metabolites, and the like, where such modifications to the molecular entity are appropriate.

[00029] The terms "treating" and "treatment" as used herein refer to reduction in severity and/or frequency of symptoms, elimination of symptoms and/or underlying cause, prevention of the occurrence of symptoms and/or their underlying cause (e.g., prophylactic therapy), improvement or remediation of damage, or reduction in intensity of infection.

[00030] By the terms "effective amount" and "therapeutically effective amount" of a compound of the invention is meant a nontoxic but sufficient amount of the drug or agent to provide the desired effect.

[00031] By "pharmaceutically acceptable" is meant a material that is not biologically or otherwise undesirable, i.e., the material may be incorporated into a pharmaceutical composition administered to a patient without causing any undesirable biological effects or interacting in a deleterious manner with any of the other components of the composition in which it is contained. When the term "pharmaceutically acceptable" is used to refer to a pharmaceutical carrier or excipient, it is implied that the carrier or excipient has met the required standards of toxicological and manufacturing testing or that it is included on the Inactive Ingredient Guide prepared by the U.S. Food and Drug administration.

[00032] By "patient," or "subject" is meant any animal for which treatment is desirable. Patients may be mammals, and typically, as used herein, a patient is a human individual.

- 6 -

[00033] The present disclosure includes compounds of formula I: R1-NHCO-R2, as well as their use in the treatment of hepatitis, particularly hepatitis C, and pharmaceutical compositions comprising them.

[00034] In one embodiment of formula I, R1 and R2 are independently selected from moieties that stabilize (i.e., provide improved stability of) the NHCO group. By "stabilize" is meant that the NHCO group is less prone to reaction in biological fluid and tissue as compared with an unsubstituted NHCO group (e.g., NH_2COH , R1-NHCOH , $\text{NH}_2\text{CO-R2}$, and the like), that is, as compared with the analogous compound having hydrogen as either R1 or R2. Such reactions include cleavage of the NHCO group (e.g., breakage of the nitrogen-carbon bond), addition to the NHCO group, substitution reactions, hydrogenation reactions, hydration reactions, oxidation reactions, reduction reactions, and the like.

[00035] In one embodiment, the compounds of formula I exclude nitazoxanide and tizoxanide. In another embodiment, the compounds of formula I include nitazoxanide and tizaxanide.

[00036] In another embodiment, R1 and R2 are each a substituted or unsubstituted cyclic group. Such groups may be heterocyclic groups or a carbocyclic group such as an aryl or cycloalkyl group. In one example, R1 is a heterocyclic ring and R2 is an aryl, optionally substituted by one to three substituents. Another example group of compounds of formula I includes compounds wherein R1 and R2 are both benzene, each optionally substituted by one to three substituents.

[00037] In yet another embodiment, R1 is selected from thiazole and thiadiazole substituted by one to three substituents, and R2 is benzene substituted by one to three substituents.

[00038] Examples of substituents for R1 and R2 include OH, alkoxy, halo, alkyl, fluoroalkyl, ester, thioalkyl, and functional groups. Specific examples include fluoro, bromo, OAc, CH_3 , CF_3 , NO_2 , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, SCH_3 , OCH_3 and the like.

[00039] Examples of the heterocyclic groups for R1 and R2 include aromatic heterocyclic groups or saturated or unsaturated non-aromatic heterocyclic groups (alicyclic heterocyclic group). Such groups contain, besides carbon atoms, at least one heteroatom (preferably 1 to 4 heteroatom(s), more preferably, 1 to 2 heteroatom(s)), and may contain from 1 to 3 different kind of heteroatoms, (preferably 1 to 2 kinds of heteroatom(s)). As used

herein, the term "heteroatom" is meant to include oxygen atoms, sulfur atoms, and nitrogen atoms.

[00040] Examples of the "aromatic heterocyclic group" include an aromatic monocyclic heterocyclic group such as a 5 or 6-membered aromatic monocyclic heterocyclic group (e.g., furyl, thienyl, pyrrolyl, oxazolyl, isooxazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, isothiazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, 1,2,3-oxadiazolyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,3,4-oxadiazolyl, furazanyl, 1,2,3-thiadiazolyl, 1,2,4-thiadiazolyl, 1,3,4-thiadiazolyl, 1,2,3-triazolyl, 1,2,4-triazolyl, tetrazolyl, pyridyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, triazinyl, etc.); an aromatic fused heterocyclic group such as a 8 to 12-membered aromatic fused heterocyclic group (e.g., benzofuranyl, isobenzofuranyl, benzothienyl, indolyl, isoindolyl, 1H-indazolyl, benzindazolyl, benzoxazolyl, 1,2-benzisooxazolyl, benzothiazolyl, benzopyranyl, 1,2-benzisothiazolyl, 1H-benzotriazolyl, quinolyl, isoquinolyl, cinnolyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, phthalazinyl, naphthylidynyl, purinyl, pteridinyl, carbazolyl, alpha-carbolinyl, beta-carbolinyl, gamma-carbolinyl, acridinyl, phenoxazinyl, phenothiazinyl, phenazinyl, phenoxathinyl, thianthrenyl, phenanthridinyl, phenanthrolinyl, indoliziny, pyrrolo[1,2-b]pyridazinyl, pyrazolo[1,5-a]pyridyl, imidazo[1,2-a]pyridyl, imidazo[1,5-a]pyridyl, imidazo[1,2-b]pyridazinyl, imidazo[1,2-a]pyrimidinyl, 1,2,4-triazolo[4,3-a]pyridyl, 1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazinyl); preferably, a heterocyclic group consisting of the above-mentioned 5- or 6-membered aromatic monocyclic heterocyclic group fused with a benzene ring or heterocyclic group consisting of the above-mentioned 5- or 6-membered aromatic monocyclic heterocyclic group fused with the same or different above-mentioned 5- or 6-membered aromatic monocyclic heterocyclic group.

[00041] Examples of the "non-aromatic heterocyclic group" include a 3 to 8-membered (preferably 5 or 6-membered) saturated or unsaturated (preferably saturated) non-aromatic heterocyclic group (aliphatic heterocyclic group) such as oxiranyl, azetidiny, oxetanyl, thiethanyl, pyrrolidinyl, tetrahydrofuryl, thiolanyl, piperidinyl, tetrahydropyranyl, morpholinyl, thiomorpholinyl, piperazinyl.

[00042] In one embodiment of compounds having the structure of formula I, R1 is heterocyclic. In another embodiment, R1 is heterocyclic comprising 2 or 3 heteroatoms. In yet another embodiment, R1 is substituted heterocyclic and comprises 2 or 3 heteroatoms. In yet another embodiment, R1 is heterocyclic, substituted with 1, 2, or 3 groups selected from hydroxide, halogen (i.e., iodo, chloro, bromo, or fluoro), alkoxy (e.g., OCH₃), fluoroalkyl

- 8 -

(e.g., CF_3), ester (e.g., $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), thioalkyl (e.g., SCH_3), OAc, and alkyl (e.g., CH_3). For example, R1 is thiazole or substituted thiazole.

[00043] In one embodiment of compounds having the structure of formula I, R2 is aryl. In another embodiment, R2 is substituted aryl. In yet another embodiment, R2 is aryl that comprises 2, 3, or 4 substituents. In another embodiment, R2 is aryl and comprises substituents in the ortho and meta positions (relative to the point of attachment of the aryl group to the carbonyl group of formula I). In still another embodiment, R2 is aryl comprising 2 or more substituents selected from hydroxide, halogen (i.e., iodo, chloro, bromo, or fluoro), alkoxy (e.g., OCH_3), fluoroalkyl (e.g., CF_3), ester (e.g., $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), thioalkyl (e.g., SCH_3), OAc, and alkyl (e.g., CH_3).

[00044] In one embodiment of the compounds having the structure of formula I, the reactivity of the NHCO group in the compound is reduced toward cleavage reactions compared with the reactivity of the analogous compound having hydrogen as either R1 or R2.

[00045] In another embodiment, R1 and R2 are independently selected from substituted cyclic groups, unsubstituted cyclic groups, substituted heterocyclic groups, and unsubstituted heterocyclic groups, wherein either R1, R2, or both R1 and R2 are optionally aromatic. In yet another embodiment, R1 and R2 are selected from aryl, substituted aryl, heteroaryl, substituted heteroaryl, alicyclic, substituted alicyclic, heterocyclic, and substituted heterocyclic. In yet another embodiment, R1 and R2 are each substituted with from one to three substituents independently selected from OH, NO_2 , alkoxy (such as methoxy), halo (such as F and Br), alkyl (such as methyl), fluoroalkyl (such as fluoromethyl), ester (such as OAc, and $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$), and thioalkyl (such as thiomethyl). In a still further embodiment, at least one of R1 and R2 is heterocyclic. In a still further embodiment, at least one of R1 and R2 comprises between 1 and 3 heteroatoms. In yet another embodiment, at least one of R1 and R2 comprises a heterocyclic group selected from aromatic monocyclic heterocycles, aromatic fused heterocycles, and non-aromatic heterocycles. In a still further embodiment, at least one of R1 and R2 comprises a heterocyclic group selected from furyl, thienyl, pyrrolyl, oxazolyl, isooxazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, isothiazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, 1,2,3-oxadiazolyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,3,4-oxadiazolyl, furazanyl, 1,2,3-thiadiazolyl, 1,2,4-thiadiazolyl, 1,3,4-thiadiazolyl, 1,2,3-triazolyl, 1,2,4-triazolyl, tetrazolyl, pyridyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, triazinyl, benzofuranyl, isobenzofuranyl, benzothienyl, indolyl, isoindolyl, 1H-indazolyl, benzindazolyl, benzoxazolyl, 1,2-benzooxazolyl, benzothiazolyl,

- 9 -

benzopyranyl, 1,2-benzisothiazolyl, 1H-benzotriazolyl, quinolyl, isoquinolyl, cinnolynyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, phthalazinyl, naphthylidynyl, purinyl, pteridinyl, carbazolyl, alpha-carbolynyl, beta-carbolynyl, gamma-carbolynyl, acridinyl, phenoxazinyl, phenothiazinyl, phenazinyl, phenoxathinyl, thianthrenyl, phenanthridinyl, phenanthrolinyl, indolizinyl, pyrrolo[1,2-b]pyridazinyl, pyrazolo[1,5-a]pyridyl, imidazo[1,2-a]pyridyl, imidazo[1,5-a]pyridyl, imidazo[1,2-b]pyridazinyl, imidazo[1,2-a]pyrimidinyl, 1,2,4-triazolo[4,3-a]pyridyl, 1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazinyl), oxiranyl, azetidynyl, oxetanyl, thiethanyl, pyrrolidinyl, tetrahydrofuryl, thiolanyl, piperidinyl, tetrahydropyranyl, morpholynyl, thiomorpholynyl, and piperazinyl, any of which may be optionally substituted with 1 to 3 substituents. In another embodiment, R1 is a heterocyclic group optionally substituted with 1 to 3 substituents and R2 is aryl optionally substituted with 1 to 3 substituents. In yet another embodiment, R1 is thiazole or thiadiazole optionally substituted with 1 to 3 substituents. In a still further embodiment, R2 is phenyl optionally substituted with 1 to 3 substituents. In a still further embodiment, R1 and R2 are both aryl, each optionally substituted with 1 to 3 substituents.

[00046] Examples of compounds that have the structure of formula I include nitazoxanide, tizoxanide, RM-4803, RM-4819, RM-4832, and RM-4850, wherein nitazoxanide, tizoxanide, RM-4819, RM-4832, and RM-4850 are particularly preferred. The structures of these compounds are shown in the following list:

- 11 -

U.S. Pat. No. 3,950,351, and WO 95/28393, respectively. Synthetic methods for the preparation of analogues and derivatives of 1a and 1b, as well as other compounds having structures that fall within the scope of formula I, employ known procedures that will be apparent to the skilled artisan.

[00049] Pharmaceutical compositions according to this disclosure comprise a compound having the structure of formula I, as described herein. Such pharmaceutical compositions may also comprise: (1) one or more additional compounds having the structure of formula (I); (2) one or more pharmaceutically acceptable carriers as disclosed herein; and (3) one or more additional components as described herein. The compositions may contain from 0.05% to 95% by weight of the active agent(s), with the pharmaceutically acceptable carrier(s) and any additional components forming the 5% to 99.95% by weight that remains.

[00050] One or more additional active agents may be included in the pharmaceutical compositions and methods of treatment described herein. In one embodiment, the additional active agent is effective in treating hepatitis. For example, the compositions may include one or more additional therapeutic agents useful in treating hepatitis C such as ribavirin and immune-stimulating agents such as interferons, including interferon α -2b, a derivative of interferon α -2b such as a polyethylene glycol-conjugated form of interferon α -2b, interferon α -2a, or interferon alfacon-1. Specific examples also include Omega IFN (BioMedicines Inc., Emeryville, CA); BILN-2061 (Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Germany); Summetrel (Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA); Roferon A, Pegasys, Pegasys and Ribavirin, and CellCept (F. Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Switzerland); Wellferon (GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, UK) Albuferon- α (Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD); Levovirin (ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA); IDN-6556 (Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA); IP-501 (Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA); Actimmune (InterMune Inc., Brisbane, CA); Infergen A (InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA); ISIS 14803 (ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., New York, NY); JTK-003 (Japan Tobacco Inc., Tokyo, Japan); Ceplene, Pegasys and Ceplene (Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA); Civacir (Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL); Intron A and Zadaxin (RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/ SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA); Levovirin, Viramidine (Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA); Heptazyme (Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO); Intron A, PEG-Intron, Rebetrone, Ribavirin, PEG-

- 12 -

Intron/Ribavirin (Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ); Zadazim (SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA); Rebif (Serono, Geneva, Switzerland); IFN- β and EMZ701 (Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canada); T67 (Tularik Inc., South San Francisco, CA); VX-497 (Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA); VX-950/LY-570310 (Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly and Co. Inc., Indianapolis, IN); Omniferon (Viragen Inc., Plantation, FL); and XTL-002 (Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Israel).

[00051] In addition to or instead of anti-hepatitis agents, pharmaceutical compositions and methods described herein may comprise one or more additional active agent as appropriate. Additional active agents include those effective in treating disorders of the endocrine system such as diabetes and hyperinsulinemia. Examples of anti-diabetes agents include insulin, pramlintide, exenatide, sulfonylureas (e.g., chlorpropamide, glipizide, glyburide, glimepiride), meglitinides (e.g., repaglinide, nateglinide), biguanides (e.g., metformin), thiazolidinediones (e.g., rosiglitazone, troglitazone, pioglitazone), and α -glucosidase inhibitors (e.g., acarbose, meglitol). Such active agents may be administered either prior to or concurrently with administration of the compounds disclosed herein in order to regulate plasma levels of insulin. When administered concurrently, such additional active agents may be administered as part of the same formulation with the compounds disclosed herein, or they may be administered in a separate formulation. Similarly, other active agents such as those effective in treating diseases of the liver may also be used with the compounds disclosed herein.

[00052] Pharmaceutical compositions comprising the compounds of the disclosure that are suitable for the uses described herein may also comprise a pharmaceutically acceptable carrier. Appropriate pharmaceutical carriers may depend, for example, on the method of administration of the compositions, as will be appreciated by one of skill in the art.

[00053] Pharmaceutically acceptable carriers may be solid or liquid, or mixtures thereof. Pharmaceutically acceptable carriers are materials such as binders, lubricants, disintegrants, fillers, surfactants, emulsifiers, coloring agents, and the like. Binders are used to impart cohesive qualities, and thus ensure that the composition remains intact (e.g., as an implant or tablet). Suitable binder materials include, but are not limited to, polymer matrices, hydrogels, starch (including corn starch and pregelatinized starch), gelatin, sugars (including sucrose, glucose, dextrose, and lactose), polyethylene glycol, waxes, and natural and synthetic gums,

- 13 -

e.g., acacia sodium alginate, polyvinylpyrrolidone, cellulosic polymers (including hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, methyl cellulose, microcrystalline cellulose, ethyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, and the like), and Veegum. Lubricants are used to facilitate manufacture, promoting powder flow and preventing particle capping (i.e., particle breakage) when pressure is relieved. Useful lubricants are magnesium stearate, calcium stearate, and stearic acid. Disintegrants are used to facilitate disintegration of the composition, and are generally starches, clays, celluloses, algin, gums, or crosslinked polymers. Fillers include, for example, materials such as silicon dioxide, titanium dioxide, alumina, talc, kaolin, powdered cellulose, and microcrystalline cellulose, as well as soluble materials such as mannitol, urea, sucrose, lactose, dextrose, sodium chloride, and sorbitol. Surfactants are wetting agents, and may include ionic materials such as fatty acid salts and non-ionic materials such as PLURONICS™ (such as F-127, L-122, L-101, L-92, L-81, and L-61).

[00054] For example, the pharmaceutically acceptable carrier for the compositions disclosed herein may comprise one or more biocompatible polymer. By "biocompatible" is meant a material that does not illicit an adverse response when subjected to a biological environment such as by implantation or injection *in vivo*. Furthermore, in one embodiment, biocompatible materials do not illicit an immune response when administered *in vivo*. Unless otherwise stated, biocompatible materials include materials that are bioerodible, biodegradable and bioresorbable.

[00055] Polymer carriers such as biocompatible polymers may be homopolymers or copolymers of any of the monomer units described herein. Furthermore, copolymers are not limited to any specific architecture, and may consist of random, alternating, block (including multiblock), star, comb, graft, and dendrimer-type copolymers, as well as combinations thereof. Blends of more than one bioerodible polymer are also within the scope of this disclosure. It will be appreciated that crosslinked and crosslinkable polymers may be used as long as such crosslinking does not adversely affect the material's ability to form the compositions described herein (e.g., the material's ability to bioerode). For example, reversible crosslinks (wherein the crosslinks comprise non-covalent and/or weakly covalent intermolecular bonds) may be present prior to administration of the compositions, or such bonds may form *in vivo*.

- 14 -

[00056] Suitable bioerodible polymers may comprise poly(orthoester)s, poly(lactone)s such as poly(ϵ -caprolactone) and poly(γ -caprolactone), poly(lactide)s, poly(lactic acid), poly(glycolide)s, poly(glycolic acid), poly(ethylene terephthalate), poly(butyric acid), poly(valeric acid), polymers of anhydrides, poly(vinyl alcohol), poly(ethylene vinyl acetate), polymers of α -hydroxycarboxylic acid and derivatives thereof, albumin, collagen, gelatin, hyaluronic acid, starch, cellulose and cellulose derivatives (e.g., methylcellulose, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose, carboxymethylcellulose, cellulose acetate phthalate, cellulose acetate succinate, hydroxypropylmethylcellulose phthalate), casein, dextrans, polysaccharides, fibrinogen, poly(ether ester) multiblock copolymers, poly(ether)s such as poly(ethylene glycol), and poly(butylene terephthalate), tyrosine-derived polycarbonates, poly(hydroxyl acids), poly(hydroxybutyrate), polydioxanone, poly(alkylcarbonate), poly(hydroxyvaleric acid), polydioxanone, degradable polyesters, poly(malic acid), poly(tartronic acid), poly(acrylamides), polyphosphazenes, poly(amino acids), poly(alkylene oxide)-poly(ester) block copolymers, poly(hydroxybutyric acid), poly(beta-butyrolactone), poly(gamma-butyrolactone), poly(gamma-valerolactone), poly(d-decanolactone), poly(trimethylene carbonate), poly(1,4-dioxane-2-one) or poly(1,5-dioxepan-2-one), or combinations thereof (i.e., copolymers of the constituent monomer units, blends, etc.).

[00057] Examples of biodegradable polymers include synthetic polymers such as polymers of lactic acid and glycolic acid, polyanhydrides, poly(ortho)esters, polyurethanes, poly(butyric acid), poly(valeric acid), and poly(lactide-co-caprolactone), and natural polymers such as alginate and other polysaccharides including dextran and cellulose, collagen, chemical derivatives thereof (substitutions, additions of chemical groups, for example, alkyl, alkylene, hydroxylations, oxidations, and other modifications routinely made by those skilled in the art), albumin and other hydrophilic proteins, zein and other prolamines and hydrophobic proteins, copolymers and mixtures thereof. In general, these materials degrade either by enzymatic hydrolysis or exposure to water in vivo, by surface or bulk erosion

[00058] The components of a composition may be distributed homogeneously throughout the pharmaceutically acceptable carrier, or localized regions of concentration gradients may exist. By "homogeneous distribution" is meant to included instances of molecular homogeneity as well as bulk or macroscopic homogeneity. For example, the active

- 15 -

agent may be homogeneously distributed on a molecular level (as for a solute homogeneously distributed within a solvent) or on a macroscopic level (as for discrete particles of active agent homogeneously distributed throughout the carrier). Components of a composition may be attached (covalently or otherwise, including physisorbed, ionically associated, and the like) to the pharmaceutically acceptable carrier.

[00059] For compositions administered as aqueous or other solvent-based dosage forms (e.g., for parenteral administration), a variety of liquid carriers may be used. Aqueous solutions may include salts, buffers, and the like. Non aqueous liquid carriers include, for example, fatty oils, such as olive oil and corn oil, synthetic fatty acid esters, such as ethyl oleate or triglycerides, low molecular weight alcohols such as propylene glycol, synthetic hydrophilic polymers such as polyethylene glycol, liposomes, and the like

[00060] In addition to one or more pharmaceutically acceptable carrier, pharmaceutical compositions comprising one or more of the compounds disclosed herein and suitable for the uses described herein may also comprise one or more additional components. Additional components include, for example, salts, buffers, penetration enhancers, absorption accelerants, gel forming materials such as polymers, visualization aids, dispersing agents, stabilizers, excipients, and plasticizers.

[00061] Buffers are compounds or solutions that are employed to aid in maintaining the concentration of an analyte within a desired range. For example, pharmaceutically acceptable pH buffers are used to maintain the acidity or basicity of a solution within a pharmaceutically acceptable range. Buffers for use in the compositions disclosed herein may be any known or hereafter discovered buffer.

[00062] Penetration enhancers include compounds that enable or enhance permeation of compositions across boundaries such as membranes. Examples of penetration enhancers may be found in the relevant literature (e.g., *Percutaneous Penetration Enhancers*, Smith and Maibach, eds., CRC Press, New York NY, 2005) and include cyclohexanone derivatives, cyclic monoterpenes, pyrrolidones, dioxolanes, 1-dodecylazacycloheptan-2-one (Azone), dimethylsulfoxide (DMSO), and limonene.

[00063] Gel forming materials may be polymers or non-polymers, and are generally able to form a gelatinous network. In one embodiment, gel forming materials are able to form gels *in vivo*, whereas in other embodiments, gel formation takes place *ex vivo*. Examples of gel forming materials include collagen, chitosan, pectins, hyaluronic acid, and the like.

- 16 -

[00064] Dispersing agents are surfactants (for example, as described herein) in combination with a solvent such as water.

[00065] Plasticizers are compounds used to plasticize (i.e., soften) plastic and other materials. Examples include propylene glycol, acetyl tributyl citrate, acetyl triethyl citrate, *p*-*tert*-butylphenyl salicylate, butyl stearate, butylphthalyl butyl glycolate, dibutyl sebacate, di-(2-ethylhexyl) phthalate, diethyl phthalate, diisobutyl adipate, diisooctyl phthalate, diphenyl-2-ethylhexyl phosphate, epoxidized soybean oil, ethylphthalyl ethyl glycolate, glycerol monooleate, monoisopropyl citrate, mono, di-, and tristearyl citrate, triacetin (glycerol triacetate), triethyl citrate, and 3-(2-Xenolyl)-1,2-epoxypropane.

[00066] Excipients are inactive ingredients that may be employed in the compositions described herein for a variety of reasons. A wide range of excipients are described in the literature (e.g., Rowe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, McGraw Hill, 2006).

[00067] Visualization aids are compounds that aid visualization of the drug delivery composition or any of the components thereof via a visualization method such as fluoroscopy, magnetic resonance imaging (MRI), visible light, ultrasound, or radiography. Any visualization aids known in the art may be used in the compositions disclosed herein.

[00068] In one aspect, the compositions of the present disclosure include one or more preservatives or bacteriostatic agents, present in an effective amount to preserve the composition and/or inhibit bacterial growth in the composition. Examples include bismuth tribromophenate, methyl hydroxybenzoate, bacitracin, ethyl hydroxybenzoate, propyl hydroxybenzoate, erythromycin, 5-fluorouracil, methotrexate, doxorubicin, mitoxantrone, rifamycin, chlorocresol, benzalkonium chlorides, paraoxybenzoic acid esters, chlorobutanol, benzylalcohol, phenethyl alcohol, dehydroacetic acid, sorbic acid, and the like.

[00069] Stabilizers include compounds such as antioxidants, and are used to inhibit or retard decomposition reactions that include, by way of example, oxidative reactions. Examples of stabilizer include butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), ascorbic acid, ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA), tocopherol-derived compounds such as alpha-tocopherol, sulfites, *tert*-butylhydroquinone, citric acid, acetic acid, and pectin.

[00070] The compositions disclosed herein or the precursors thereof may further contain porosifying agents that achieve greater surface area of, for example, an implant or tablet. Examples of porosifying agents include inorganic salts, sucrose, surfactants, small

- 17 -

molecular weight polymers, fast degrading polymers, thermoreversible polymer precipitates, gas bubbles, and cavitation bubbles.

[00071] The amount of active agent (as well as other active ingredients, when present) in the compositions disclosed herein will depend on a number of factors and will vary from subject to subject. Such factors will be apparent to one of ordinary skill in the art, and may include the particular disorder or condition being treated, the mode of administration, the severity of the symptoms, the patient's age, weight and general condition, and the judgment of the prescribing physician.

[00072] In one embodiment, a composition comprises a compound of formula I as an active agent and a pharmaceutically acceptable carrier. The carrier may be used in any convenient amount relative to the active agent, and the weight ratio of the carrier to active agent can vary from about 0.1 to 1 to about 100,000 to 1 depending upon the application. In one example of this embodiment, the composition consists only of the active agent and a pharmaceutically acceptable carrier. In another example, the composition comprises the active agent, a carrier, and one or more additional components such as those described herein. In a still further example, the composition comprises the active agent, a second active agent, one or more carriers, and one or more additional components.

[00073] Compounds having the structure of formula I as disclosed herein are useful as medicaments and as active agents in pharmaceutical compositions. In one embodiment, such compounds and compositions are useful in the treatment of viral hepatitis. In particular, the compounds and compositions are useful in the treatment of patients suffering from hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV).

[00074] In another embodiment, the compounds described herein are useful in an improved method of treating hepatitis C with an interferon, wherein the improvement comprises administering an effective amount of nitazoxanide, tizoxanide, or mixtures thereof to a subject in need thereof. By way of this improvement, the percentage of subjects exhibiting reduced serum HCV RNA is increased in comparison to a method of treating hepatitis C with the interferon or with a combination of ribavirin and the interferon. In addition, the amount of interferon required to achieve a sustained virologic response in the patient may be reduced compared to the amount of interferon required to achieve a sustained virologic response in the patient without administration of nitazoxanide, tizoxanide, or mixtures thereof. Furthermore, the amount of interferon required to achieve a sustained

- 18 -

virologic response in the patient may be reduced compared to the amount of interferon required to achieve a sustained virologic response in the patient when treated with a combination of ribavirin and the interferon. In one embodiment, a method of treatment is provided wherein a patient suffering from hepatitis C is pretreated using nitazoxanide and/or tizoxanide prior to being treated with an interferon (such as any of the interferons described herein). Specific examples of this and other embodiments are described in more detail hereinbelow.

[00075] Nitazoxanide, tizoxanide, and mixtures thereof are particularly effective in the treatment of hepatitis C. By treating hepatitis C patients with nitazoxanide, tizoxanide, or a mixture thereof, it may be possible to reduce the amount of interferon needed for effective treatment, although such reduction is not necessary. It may also be possible to avoid the use of ribavirin completely, although this too is not necessary. These benefits may be obtained while simultaneously increasing the percentage of subjects who respond favorably in terms of a reduction of serum HCV RNA. Thus, the present disclosure describes a method of treating hepatitis C comprising administering to a subject in need thereof an effective amount of nitazoxanide, tizoxanide, or a mixture thereof. Similarly, the present invention includes any of the foregoing embodiments in which any compound of formula I or combination of such compounds is used in place of nitazoxanide and tizoxanide.

[00076] Administration of the compositions described herein may be carried out using any appropriate mode of administration and dosage form. Thus, administration can be, for example, oral, ocular, buccal, rectal, topical, parenteral, transdermal, transmucosal, sublingual, by inhalation (using either solid or liquid compositions), or via an implanted reservoir in a dosage form. It will be appreciated that the most suitable route in any given case will depend on the nature and severity of the condition being treated and on the nature of the particular form of compound of formula I which is being used. The term "parenteral" as used herein is intended to include, for example, subcutaneous, intravenous, intradermal, and intramuscular injection. The term "transmucosal" as used herein is intended to include, for example, rectal, vaginal, buccal, sublingual, and penile administration. The term "inhalation" as used herein is intended to include inhalation via the nose or the mouth, and includes instances wherein absorption of the composition occurs in the lungs as well as, for example, the mucosal membranes of the mouth, nose, and throat. Administration via implants is meant to include implants affixed anywhere on or positioned anywhere inside the body, including

- 19 -

within body cavities (e.g., intraperitoneal implants, intraocular implants, implants in joints, etc.), within organs, and subcutaneously.

[00077] Depending on the intended mode of administration, the pharmaceutical composition may be a solid, semi-solid, or liquid such as, for example, a tablet, a capsule, a caplet, an aerosol, a liquid, a suspension, an emulsion, a cream, a gel, a suppository, granules, pellets, beads, a film, a powder, a sponge, or the like.

[00078] In one embodiment, the composition comprises a unit dosage form suitable for single administration of a precise dosage. In another embodiment, the composition comprises a reservoir such as in an implant capable of controlled delivery of the composition over time.

[00079] Suitable pharmaceutical compositions and dosage forms may be prepared using conventional methods known to those in the field of pharmaceutical formulation and described in the pertinent texts and literature, e.g., in *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (Easton, PA: Mack Publishing Co., 1995). A description of some, but not all, of the suitable dosage forms is provided *infra*.

[00080] Formulations suitable for oral administration may be presented as discrete units, such as capsules, cachets, lozenges, or tablets, each containing a predetermined amount of a compound of formula I; as a powder or granules; as a solution or a suspension in an aqueous or non-aqueous liquid; or as an oil-in-water or water-in-oil emulsion. Such formulations may be prepared by any suitable method of pharmacy which includes the step of bringing into association the active compound and a suitable carrier (which may contain one or more accessory ingredients).

[00081] Tablets may be manufactured using standard tablet processing procedures and equipment. In addition to reversine, tablets will generally contain inactive, pharmaceutically acceptable carrier materials as described herein. Suitable capsules may be either hard or soft, and are generally made of gelatin, starch, or a cellulosic material, with gelatin capsules preferred. Two-piece hard gelatin capsules are preferably sealed, such as with gelatin bands or the like. See, for example, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, cited *supra*, which describes materials and methods for preparing encapsulated pharmaceuticals. Oral dosage forms, whether tablets, capsules, caplets, or particulates, may, if desired, be formulated so as to provide for gradual, sustained release of the active agent over an extended time period. For example, as will be appreciated by those of ordinary skill in the art, dosage forms may be formulated by dispersing the active agent within a matrix of a

- 20 -

gradually hydrolyzable material such as a hydrophilic polymer, or by coating a solid, drug-containing dosage form with such a material. One example of a preferred dosage form is Alinia[®] (see Alinia[®] package insert and/or US Patent Nos. 5,387,598, 5,578,621, 5,968,961, 5,856,348, 5,859,138, 5,886,013, 5,965,590, 6,020,353, and 6,117,894). It is to be understood that, unless otherwise specified, in the present disclosure (including the examples and claims) any references made to Alinia[®] are providing only as examples, and are not meant to be limiting. Thus, such references are intended to apply equally to other formulations comprising nitazoxanide, tizoxanide, and/or compounds having the structure of formula I.

[00082] Formulations suitable for buccal (e.g., sub-lingual) administration include lozenges comprising a compound of formula I, in a flavored base, usually sucrose and acacia or tragacanth; and pastilles comprising the compound in an inert base such as gelatin and glycerin or sucrose and acacia.

[00083] Preparations according to this disclosure suitable for parenteral administration include sterile aqueous and nonaqueous solutions, suspensions, and emulsions. Such preparations are preferably isotonic with the blood of the intended recipient. Injectable aqueous solutions may contain the active agent in water-soluble form, or may contain a suspension or emulsion of the active agent. Examples of nonaqueous solvents or vehicles are described herein. Parenteral formulations may also contain adjuvants such as solubilizers, preservatives, wetting agents, emulsifiers, dispersants, and stabilizers, and aqueous suspensions may contain substances that increase the viscosity of the suspension, such as sodium carboxymethyl cellulose, sorbitol, and dextran. Injectable compositions may be rendered sterile via, for example, incorporation of a sterilizing agent, filtration through a bacteria-retaining filter, irradiation, or heat. They can also be manufactured using a sterile injectable medium. Any active agents present in the compositions may also be in dried, e.g., lyophilized, form that may be rehydrated with a suitable vehicle immediately prior to administration via injection. Parenteral preparations are preferably administered intravenously, although administration may also be effected by means of subcutaneous, intramuscular, or intradermal injection. In one embodiment, such preparations are prepared by admixing the compound with water or a glycine buffer and rendering the resulting solution sterile and isotonic with the blood.

[00084] The compositions disclosed herein may also be administered through the skin using conventional transdermal drug delivery systems, wherein the active agent is contained

- 21 -

within a laminated structure that serves as a drug delivery device to be affixed to the skin. In such a structure, the active agent composition is contained in a layer, or "reservoir," underlying an upper backing layer. The laminated structure may contain a single reservoir, or it may contain multiple reservoirs. In one embodiment, the reservoir comprises a polymeric matrix of a pharmaceutically acceptable contact adhesive material that serves to affix the system to the skin during drug delivery. Alternatively, the active agent-containing reservoir and skin contact adhesive are present as separate and distinct layers, with the adhesive underlying the reservoir which, in this case, may be either a polymeric matrix as described above, or it may be a liquid or hydrogel reservoir, or may take some other form. Transdermal drug delivery systems may in addition contain a skin permeation enhancer. Formulations for transdermal administration may also be delivered by iontophoresis (see, for example, Pharmaceutical Research 3(6), 318, (1986)) and suitable formulations typically take the form of an optionally buffered aqueous solution of a Compound of formula I. Suitable formulations comprise, for example, citrate or bis/tris buffer (pH 6) or ethanol/water and contain from 0.1 to 0.2M active ingredient.

[00085] The compositions disclosed herein may also be administered topically using conventional topical dosage forms, wherein the active agent is contained within a carrier. Dosage forms suitable for topical application include, by way of example, creams, pastes, jellies, gels, ointments, liquids, aerosols, oils, lotions, foams, suspensions, and emulsions. Carriers which may be used include vaseline, lanoline, polyethylene glycols, alcohols, and combinations of two or more thereof.

[00086] In addition to the formulations described previously, the compounds may also be formulated as a depot preparation for controlled release of the active agent, preferably sustained release over an extended time period. These sustained release dosage forms may be administered by implantation (e.g., subcutaneously, intraperitoneal, intramuscularly or by intramuscular injection).

[00087] Formulations suitable for rectal administration are preferably presented as unit dose suppositories. These may be prepared by admixing a Compound of formula I with one or more conventional solid carriers, for example, cocoa butter, and then shaping the resulting mixture.

[00088] Although the compositions disclosed herein will generally be administered orally, parenterally, transdermally, or via an implanted depot, other modes of administration

- 22 -

are suitable as well. For example, administration may be rectal or vaginal, preferably using a suppository that contains, in addition to an active agent, excipients such as a suppository wax. Formulations for nasal or sublingual administration are also prepared with standard excipients well known in the art. The pharmaceutical compositions of the invention may also be formulated for inhalation, e.g., as a solution in saline, as a dry powder, or as an aerosol.

[00089] It will be appreciated that the compositions disclosed herein may be prepared and packaged as single dosage units, such as for oral administration (e.g., tablets). The formulations may also be prepared and packaged as multiple dose formulations, or as dosages suitable for long-term administration, such as for topical administration (e.g., creams), transmembrane administration (e.g., patches), or implantation.

[00090] The compounds disclosed herein may be administered for any length of time suitable for the intended use. Administration of the compounds disclosed herein will typically be carried out over a period of about 3 days to about 104 weeks, but may be carried out over a period longer than 104 weeks and may even be carried out indefinitely. For example, treatment of hepatitis C using the compounds disclosed herein will typically involve administration of the compounds over a period of 12, 24, or 48 weeks.

[00091] Any appropriate dosage and regimen may be used for the compounds disclosed herein and the pharmaceutical compositions comprising such compounds. In one embodiment, a compound having the structure of formula I is administered in conjunction with an additional active agent such as, for example, an interferon such as any of the interferons described herein. The compound having the structure of formula I and the additional active agent (e.g., an interferon) may be administered as part of the same composition, or they may be administered in separate compositions (including in separate compositions that vary in dosage form, release profiles, and the like).

[00092] In one embodiment, a patient suffering from hepatitis C is first pretreated with nitazoxanide, tizoxanide, or any of the compounds disclosed herein having the structure of formula I. The duration of the pretreatment period may be between about 3 days and about 6 months, for example between about 1 week and about 12 weeks, and as a further example between about 1 week and about 4 weeks. The pretreatment period is followed subsequently by a treatment period wherein the pretreated patient is treated with either an interferon alone or an interferon plus nitazoxanide, tizoxanide, or any of the compounds having the structure of formula I. Any of the interferons described herein may be used during the treatment

- 23 -

period. The duration of the treatment period will be any duration that is required to obtain the desired response, and will typically be between about 1 day and about 12 months or longer. For example, the treatment period may comprise weekly injections of an interferon, and may involve a single week of treatment, 2-4 weeks of treatment, 4-12 weeks of treatment, or more (such as 6 months, 1 year, 2 years, or indefinitely).

[00093] Examples of regimens that are suitable for administration of the compounds disclosed herein include the following: 24 weeks of administration of nitazoxanide followed by 12 weeks of administration of a composition comprising nitazoxanide and interferon α -2b or pegylated interferon α -2b; 2-4 weeks of administration of nitazoxanide followed by 12 weeks of administration of a composition comprising nitazoxanide and pegylated interferon α -2b; administration of a composition comprising nitazoxanide + pegylated interferon α -2b for 12, 24, or 48 weeks; and 12, 24, or 48 weeks of administration of nitazoxanide, nitazoxanide, or combinations thereof. It will be appreciated that such regimens are provided only as examples, as suitable durations, dosages, and orders of administration will vary. Appropriate regimens will typically be determined by a physician.

[00094] It will be appreciated that dosages may vary, and will typically be selected to provide a therapeutically effective amount of the active agent to the patient. In one example, a dosage may be in the range of about 100 mg to about 2000 mg, or in the range of about 250 mg to about 1000 mg, or preferably about 500 mg. In another specific example, an appropriate dosage is chosen to achieve and maintain a blood level of active agent (e.g., nitazoxanide) in the patient that is between about 0.1 μ g/ml and about 10 μ g/ml, preferably about 1 μ g/ml.

[00095] Methods of preparation for the compositions disclosed herein will be apparent to one of ordinary skill. In one embodiment, the formulations of the disclosure may be prepared by uniformly and intimately admixing the active compound with a liquid or finely divided solid carrier, or both, and then, if necessary, shaping the resulting mixture. For example, a tablet may be prepared by compressing or molding a coated or uncoated powder or coated or uncoated granules containing the active compound, optionally with one or more accessory ingredients. Compressed tablets may be prepared by compressing, in a suitable machine, the compound in a free-flowing form, such as a powder or granules optionally mixed with a binder, lubricant, inert diluent, and/or surface active/dispersing agent(s). Molded tablets may be made by molding, in a suitable machine, the powdered compound moistened with an inert liquid binder.

- 24 -

[00096] The present disclosure also provides kits for accomplishing such treatment as described herein. The kits comprise: (i) an effective amount of a compound of formula I; (ii) one or more pharmaceutically acceptable carriers and/or additives; and (iii) instructions for use (e.g., in treating hepatitis).

[00097] As used herein, the phrase "instructions for use" shall mean any FDA-mandated labelling, instructions, or package inserts that relate to the administration of a compound of Formula I for the purpose of treating viral hepatitis. For example, instructions for use may include, but are not limited to, indications for the particular disease, identification of specific symptoms of the specific disease that can be ameliorated by the claimed compounds, and recommended dosage amounts for subjects suffering from the disease. The kit of the present invention further comprises a unit dosage amount of the compound effective for treating viral hepatitis.

[00098] It is to be understood that while the invention has been described in conjunction with the preferred specific embodiments thereof, the description above as well as the examples that follow are intended to illustrate and not limit the scope of the invention. Other aspects, advantages and modifications within the scope of the invention will be apparent to those skilled in the art to which the invention pertains.

[00099] All patents, patent applications, and publications mentioned herein are hereby incorporated by reference in their entireties. However, where a patent, patent application, or publication containing express definitions is incorporated by reference, those express definitions should be understood to apply to the incorporated patent, patent application, or publication in which they are found, and not to the remainder of the text of this application, in particular the claims of this application.

EXAMPLES

EXAMPLE 1

ACTIVITY AGAINST HCV REPLICATION

[000100] Antiviral activity of nitazoxanide, tizoxanide, interferon α , ribavirin and 2'-C-methyl cytidine was assessed in five different HCV replicon cell lines: (1) AVA5, a subgenomic construct of genotype 1b (Blight et al., 2000, *Science* 290:1972-1974); (2) H/FL-

- 25 -

Neo, a genotype 1a full length construct (Blight et al., 2003, *Journal of Virology* 77:3181-3190); (3) JWT, a subgenomic construct of genotype 1b (Pfeiffer and Kirkegaard, 2005, *Journal of Virology*, 79:2346-2355); (4) 4-3-10, a subgenomic construct of genotype 1b, developed by a protocol that involved serial passage of JWT cells in 100 μ M for one month followed by 400 μ M ribavirin for two weeks (Pfeiffer and Kirkegaard, 2005, *Journal of Virology*, 79:2346-2355); and (5) RP7, a subgenomic construct of genotype 1b (Elazar et al., 2003, *Journal of Virology* 77:6055-6061).

[000101] Antiviral activity for each test compound was determined as previously described (Okuse et al., 2005, *Antiviral Research* 65:23-34). Briefly, replicon cell lines were maintained as sub-confluent cultures on 96-well plates. Compounds were added daily for three days in fresh medium. Twenty-four hours after the last dose of compound, antiviral activity was determined by blot hybridization analysis of intracellular HCV RNA, and cytotoxicity was assessed by neutral red dye uptake. EC_{50} , EC_{90} , CC_{50} and selectivity index were calculated for each compound tested in a replicon cell line. EC_{50} = drug concentration producing a 50% reduction of intracellular HCV RNA relative to the average levels in untreated cultures. EC_{90} = drug concentration producing a 90% reduction of intracellular HCV RNA relative to the average levels in untreated cultures. CC_{50} = drug concentration producing a 50% reduction of neutral red dye uptake relative to the average levels in untreated cultures. Selectivity index = CC_{50} divided by EC_{50} . EC_{50} , EC_{90} and CC_{50} values ($\pm$ standard deviations [S.D.]) were calculated by linear regression analysis using data combined from all treated cultures. Median EC_{50} and EC_{90} values were calculated for each compound based on the results for determined for the five different replicon cell lines.

[000102] Nitazoxanide and tizoxanide were provided by Romark Laboratories, L.C. (Tampa, FL USA). Recombinant interferon α -2b was purchased from PBL Biomedical Laboratories (Piscataway, NJ USA). Ribavirin was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO USA). 2'-C-methyl cytidine (Pierra, et al. 2005, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 24:767-770) was purchased from Moraveck Biochemicals, Inc. (La Brea, CA USA). Interferon α -2b was solubilized and/or diluted in sterile phosphate-buffered saline (PBS)/1% BSA as instructed by the manufacturer. Ribavirin, nitazoxanide, tizoxanide and 2'-C-methyl cytidine were solubilized in 100% tissue culture grade DMSO (Sigma). Stock solutions were stored (-70 $^{\circ}$ C for interferon α -2b, -20 $^{\circ}$ C for nitazoxanide, tizoxanide, ribavirin and 2'-C-methyl cytidine) in quantities sufficient for a single experiment and used only once. Daily

- 26 -

aliquots of test compounds were made from the stock solutions in individual tubes and stored at the appropriate temperatures. On each day of treatment, daily aliquots of the test compounds were suspended into culture medium at room temperature, and immediately added to the cell cultures, thereby subjecting each aliquot of test compound to the same, limited, number of freeze-thaw cycles.

[000103] Nitazoxanide and tizoxanide selectively reduced intracellular HCV replication in each of the five HCV genotype 1-derived replicon cell lines (Table 1). Median EC_{50} s were 0.13 μ M and 0.15 μ M for nitazoxanide and tizoxanide, respectively, compared to 0.86 IU/mL for interferon α -2b, 69 μ M for ribavirin and 2.1 μ M for 2'-C-methyl cytidine.

- 27 -

Table 1. Relative potency of test compounds against HCV replication.

Drug Cell line	EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	S.I. ¹
Nitazoxanide				
AVA5	0.13 ± 0.02	1.0 ± 0.2	39 ± 3.9	300
H/FL-Neo	0.33 ± 0.05	1.1 ± 0.1	49 ± 1.5	149
JWT	0.11 ± 0.01	1.0 ± 0.2	39 ± 1.0	354
4-3-10	0.10 ± 0.03	0.87 ± 0.16	34 ± 0.4	340
RP7	0.16 ± 0.01	1.2 ± 0.1	38 ± 0.8	238
Median	0.13	1.0		
Tizoxanide				
AVA5	0.12 ± 0.01	0.77 ± 0.10	25 ± 2.8	208
H/FL-Neo	0.25 ± 0.03	1.0 ± 0.1	4.2 ± 0.2	17
JWT	0.16 ± 0.02	0.76 ± 0.03	24 ± 2.9	150
4-3-10	0.11 ± 0.05	0.55 ± 0.08	21 ± 1.1	191
RP7	0.15 ± 0.01	0.94 ± 0.10	25 ± 1.0	167
Median	0.15	0.77		
Interferon α-2b (IU/ml)				
AVA5	1.5 ± 0.2	8.2 ± 0.8	>10000	>6667
H/FL-Neo	2.1 ± 0.2	9.4 ± 0.9	>10000	>4762
JWT	0.77 ± 0.03	2.6 ± 0.2	>10000	>12987
4-3-10	0.86 ± 0.06	5.7 ± 0.4	>10000	>11627
RP7	0.41 ± 0.01	3.6 ± 0.2	>10000	>24390
Median	0.86	5.7		
Ribavirin				
AVA5	70 ± 0.5	220 ± 34	84 ± 4.7	1.2
H/FL-Neo				
JWT	23 ± 2.2	62 ± 1.7	89 ± 7.5	3.9
4-3-10				
RP7	69 ± 4.4	122 ± 13	77 ± 4.9	1.2
Median	69	122		
2'-C-methyl cytidine				
AVA5	2.1 ± 0.2	8.1 ± 0.7	>300	>143
H/FL-Neo	1.8 ± 0.2	8.1 ± 0.8	>1000	>556
JWT	2.2 ± 0.1	8.2 ± 0.7	>300	>136
4-3-10	2.1 ± 0.1	8.0 ± 0.9	>300	>143
RP7	2.0 ± 0.1	9.0 ± 0.6	>300	>150
Median	2.1	8.1		

¹ S.I. (Selectivity Index) = CC₅₀/EC₅₀

EXAMPLE 2SYNERGISTIC ACTIVITY OF NITAZOXANIDE AND TIZOXANIDE WITH OTHER ANTI-HCV DRUGS

[000104] Activity of combination treatments with nitazoxanide plus interferon α -2b, tizoxanide plus interferon α -2b, nitazoxanide plus 2'-C-methyl cytidine and tizoxanide plus 2'-C-methyl cytidine against HCV replication were evaluated in the AVA5 replicon cell line using the methods previously described (Okuse et al., 2005, *Antiviral Research* 65:23-34). Analyses of interactions between compounds used in combination treatments were performed using CalcuSyn™ software (Biosoft, Cambridge, UK).

[000105] Combinations of nitazoxanide with either interferon α -2b or 2'-C-methyl cytidine and tizoxanide with either interferon α -2b or 2'-C-methyl cytidine exhibited synergistic interactions against HCV replication (Table 2, Figures 1a and 1b). In Figures 1a and 1b analyses of interactions between compounds in combination treatments are shown.

Table 2. Relative potency of combination treatments against HCV replication in AVA5 cell cultures.

Treatment	EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)	S.I. ¹
Nitazoxanide (NTZ)	0.21 $\pm$ 0.03	0.93 $\pm$ 0.11	38 $\pm$ 1.8	181
Tizoxanide (TIZ)	0.15 $\pm$ 0.02	0.81 $\pm$ 0.92	15 $\pm$ 1.2	100
IFN α -2b	1.9 $\pm$ 0.2 ²	8.9 $\pm$ 0.9 ²	>10000 ²	>5263
2'-C-methyl cytidine (2'CMcC)	1.6 $\pm$ 0.2	8.3 $\pm$ 0.7	>300	>188
2'CMcC + IFN α -2b, 1:1	0.67 $\pm$ 0.007	2.3 $\pm$ 0.3	>300	>448
NTZ + IFN α -2b, 1:10	0.06 $\pm$ 0.008	0.25 $\pm$ 0.03	33 $\pm$ 1.3	550
NTZ + 2'CMcC, 1:10	0.07 $\pm$ 0.005	0.28 $\pm$ 0.02	35 $\pm$ 1.5	500
TIZ + IFN α -2b, 1:10	0.07 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.03	17 $\pm$ 1.3	245
TIZ + 2'CMcC, 1:10	0.06 $\pm$ 0.004	0.19 $\pm$ 0.02	18 $\pm$ 1.1	300

¹ SI = CC₅₀/EC₅₀. ² Values for IFN α -2b expressed in IU/mL

[000106] Figure 1a presents CI-Fa (Combination Index-Fraction (of virus) affected) plots (Belen'kii and Schinazi, 1994, *Antiviral Research* 25:11-18). For these plots, a combination index [CI] greater than 1.0 indicates antagonism and a CI less than 1.0 indicates synergism. Evaluations of synergy, additivity (summation), or antagonism at different levels of virus inhibition (e.g. 5%, or Fa=0.05 to 99%, or Fa=0.99) are provided by the plotted lines and points. Figure 1b shows conservative isobolograms. For these plots, EC₅₀, EC₇₅, and EC₉₀ (50%, 75%, and 90% effective antiviral concentrations) values for the combination

- 29 -

treatments are displayed as single points. Three lines radiating out from the axes denote the expected (e.g. additive) EC_{50} , EC_{75} , and EC_{90} values for drug combinations as calculated from the monotherapies. EC_{50} , EC_{75} , and EC_{90} values for the combinations that plot to the left (e.g. less than) of the corresponding lines indicate synergy, and values plotting to the right (e.g. greater than) of the corresponding lines indicate antagonism.

EXAMPLE 3

ENHANCED ACTIVITY OF INTERFERON ALPHA + NITAZOXANIDE AFTER PRE-TREATMENT WITH NITAZOXANIDE

[000107] To evaluate the effect of pre-treating with nitazoxanide prior to treatment with combination treatments, cultures were treated for either 3 or 6 days with nitazoxanide, interferon α -2b, or 2'-C-methyl cytidine or combinations of nitazoxanide and either interferon α -2b or 2'-C-methyl cytidine. Alternatively, cultures were treated with nitazoxanide for 3 days, followed by an additional 3 days of treatment with a combination of nitazoxanide and either interferon α -2b or 2'-C-methyl cytidine. Antiviral activity and cytotoxicity was determined 24 hours after the end of each respective treatment as described previously.

[000108] Pre-treatment with nitazoxanide improved the potency of combination treatment with nitazoxanide plus interferon α -2b by approximately 3-fold (Table 3 and Figures 2a and 2b). Pre-treatment did not, however, affect the potency of combination treatment with 2'-C-methyl cytidine (Table 4). Figures 2a and 2b show analyses of the effect in cultures pre-treated with nitazoxanide before treatment with nitazoxanide plus interferon α -2b. Analyses were performed using CalcuSynTM software (Biosoft, Cambridge, UK). Two types of evaluations are presented. Figure 2a presents CI-Fa (Combination Index-Fraction (of virus) affected) plots (Belen'kii and Schinazi, 1994). For these plots, a combination index [CI] greater than 1.0 indicates antagonism and a CI less than 1.0 indicates synergism. Evaluations of synergy, additivity (summation), or antagonism at different levels of virus inhibition (e.g. 5%, or $Fa=0.05$ to 99%, or $Fa=0.99$) are provided by the plotted lines and points. Dotted lines indicate 1.96 standard deviations (not shown in Figure 1a for clarity). Figure 2b presents conservative isobolograms. For these plots, EC_{50} , EC_{75} , and EC_{90} (50%, 75%, and 90% effective antiviral concentrations) values for the combination treatments are

displayed as single points. Three lines radiating out from the axes denote the expected (e.g. additive) EC₅₀, EC₇₅, and EC₉₀ values for drug combinations as calculated from the monotherapies. EC₅₀, EC₇₅, and EC₉₀ values for the combinations that plot to the left (e.g. less than) of the corresponding lines indicate synergy, and values plotting to the right (e.g. greater than) of the corresponding lines indicate antagonism.

Table 3. Effect of NTZ Pretreatment on Activity of NTZ+IFN α Combination Treatment

Treatment	Duration (days)	NTZ (μ M)		IFN α -2b (IU/mL)	
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)
IFN α	3			1.9 $\pm$ 0.3	8.3 $\pm$ 0.9
IFN α	6			1.7 $\pm$ 0.2	7.8 $\pm$ 0.8
NTZ	3	0.22 $\pm$ 0.03	1.0 $\pm$ 0.1		
NTZ	6	0.20 $\pm$ 0.02	0.92 $\pm$ 0.10		
NTZ + IFN α , 1:10	3	0.08 $\pm$ 0.010	0.27 $\pm$ 0.03	0.82 $\pm$ 0.07	2.7 $\pm$ 0.3
NTZ + IFN α , 1:10	6	0.09 $\pm$ 0.010	0.24 $\pm$ 0.04	0.75 $\pm$ 0.09	2.4 $\pm$ 0.2
NTZ, then NTZ+IFN α	6	0.03 $\pm$ 0.004	0.09 $\pm$ 0.011	0.31 $\pm$ 0.04	0.96 $\pm$ 0.12

Table 4. Effect of NTZ Pretreatment on Activity of NTZ+2'CMcC Combination Treatment

Treatment	Duration (days)	NTZ (μ M)		2'CMcC (μ M)	
		EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)
2'CMcC	3			1.7 $\pm$ 0.2	6.2 $\pm$ 0.5
2'CMcC	6			1.3 $\pm$ 0.2	5.8 $\pm$ 0.9
NTZ	3	0.22 $\pm$ 0.03	1.0 $\pm$ 0.1		
NTZ	6	0.20 $\pm$ 0.02	0.92 $\pm$ 0.10		
NTZ + 2'CMcC, 1:10	3	0.05 $\pm$ 0.006	0.16 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.07	1.8 $\pm$ 0.2
NTZ + 2'CMcC, 1:10	6	0.05 $\pm$ 0.007	0.17 $\pm$ 0.03	0.54 $\pm$ 0.06	1.9 $\pm$ 0.2
NTZ, then NTZ+2'CMcC	6	0.06 $\pm$ 0.005	0.15 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.08	1.7 $\pm$ 0.3

EXAMPLE 4

ENHANCED ACTIVITY OF INTERFERON ALPHA AFTER PRE-TREATMENT WITH NITAZOXANIDE OR TIZOXANIDE

[000109] To evaluate the effect of interferon alpha following pre-treatment with nitazoxanide or tizoxanide, a parental replicon-containing cell line (RP-7) was serially passaged in increasing concentrations of nitazoxanide or tizoxanide. Anti-HCV activity of interferon alpha-2b was determined using the parental cell line and using the cell lines

- 31 -

obtained after passage in nitazoxanide or tizoxanide. Anti-HCV activity was determined by the methods described above.

[000110] The parental replicon-containing cell line was established by electroporation of RNA transcribed in vitro off of the Sca-I-linearized Bart 79I plasmid into Huh-7 cells (Elazar et al., 2003). Bart79I encodes for a second-generation high-efficiency bi-cistronic sub-genomic replicon of genotype 1b containing a single adaptive mutation (S1179I) in the NS5A gene, and the neomycinphosphotransferase gene in the first cistron. The electroporated cells were plated along with naïve Huh-7 feeder cells and grown in medium--DMEM (4.5 g/l glucose, L-glutamine and sodium pyruvate—Mediatech 10-013-CV), 10% fetal bovine serum, 1% Penicillin-streptomycin, 1% L-glutamine (final concentration 2mM), 1x MEM Non-Essential Amino Acids (100x) (Invitrogen)--and 1 mg/ml G418. After 3 weeks, G418-resistant colonies appeared. One of the resulting colonies was isolated, expanded, passaged in 700µg/ml G418, and termed RP-7.

[000111] RP-7 cells were subjected to a resistance-promoting regimen as follows. The cells were grown in the medium described above containing 700µg/ml G418 (Invitrogen), 1% tissue culture grade DMSO (Sigma), and an initial low concentration of nitazoxanide or tizoxanide which was then steadily increased every week, with an intervening 2-day drug holiday in between each dose increase. On days 1 through 5 of each dose of drug, the media was changed daily to provide a source of fresh drug. No media changes were performed on days 6 and 7 (the drug holiday). The initial concentration of nitazoxanide or tizoxanide was 0.02 µM, followed by 0.05 µM, 0.1 µM, 0.5 µM, 1 µM, and subsequent weekly increases of 1 µM. A final concentration of 11 µM was used for the cells passaged in nitazoxanide while a final concentration of 8 µM was used for cells passaged in tizoxanide. The resulting cells were subsequently passaged at this final concentration for at least 2 months prior to being used to test the anti-HCV activity of interferon alpha-2b.

[000112] Results are presented in Table 5. Serial passage of the parental cell line in increasing concentrations of nitazoxanide or tizoxanide did not induce resistance to interferon alpha-2b. The cell lines passaged in nitazoxanide or tizoxanide were actually 2.5 to 7.6-fold more susceptible to interferon alpha-2b than the parental replicon-containing cell line, which was not passaged in nitazoxanide or tizoxanide.

- 32 -

Table 5. Potency of Interferon α -2b Against HCV Replication in RP7 Cells Before and After Serial Passage in Increasing Concentrations of Nitazoxanide and Tizoxanide

Cell line	EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)	SI
Parental cell line (RP-7)	0.41 $\pm$ 0.01	3.6 $\pm$ 0.2	>10000	>24390
RP7 cells passaged in nitazoxanide	0.11 $\pm$ 0.02	0.47 $\pm$ 0.04	>10000	>90909
RP7 cells passaged in tizoxanide	0.16 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.04	>10000	>62500

EXAMPLE 5TREATMENT OF CHRONIC HEPATITIS C WITH A COMBINATION OF NITAZOXANIDE AND TIZOXANIDE

[000113] Fifty (50) patients were enrolled in a double-blind study of Alinia[®] (pharmaceutical composition comprising 99% nitazoxanide and 1% tizoxanide as active agents) administered orally as a 500 mg tablet twice daily for 24 weeks compared to a placebo in treating patients with chronic hepatitis C genotype 4. The 50 patients were enrolled at three study sites in Egypt: 32 at Cairo, 12 at Alexandria and 6 at Tanta. Three patients dropped out of the study immediately after enrollment and did not return for any post-treatment follow-up. One patient did not return for follow-up after week 12. Each of the remaining 46 patients completed the study. See FIG. 3 for a Patient Disposition Flowchart. One patient was co-infected with hepatitis B virus. The patient was HBeAg-negative, and an exception was made to allow enrollment of this patient. The protocol called for use of an intent-to-treat population (all patients randomized) for the primary efficacy analysis. The three patients that dropped out before receiving any medication were excluded from the efficacy analysis. The patient who dropped out after week 12 was included in the efficacy analysis and analyzed on the basis of last observation carried forward. Demographic and disease-related characteristics for the 47 patients included in the efficacy analysis is summarized by treatment group in Table 6.

[000114] At each study visit, the patients were questioned regarding treatment compliance. With one exception, each of the patients completing the study reported that they had been compliant with taking the medication. One patient completed the study but reported sporadic noncompliance with taking medication due to abdominal pain.

- 33 -

Table 6. Demographic and Disease-Related Characteristics

	All Subjects	Active	Placebo	P ¹
Race:				
Caucasian	47	23	24	1.0
Gender:				
Male/Female	39/8	19/4	20/4	1.0
Age (years):				
Mean $\pm$ SD	47.3 $\pm$ 9.3	49.7 $\pm$ 8.4	45.0 $\pm$ 9.6	.08
Median (Range)	48 (27-67)	51 (35-67)	46 (27-64)	
Weight (kgs):				
Mean $\pm$ SD	86.2 $\pm$ 18.8	84.8 $\pm$ 16.7	87.5 $\pm$ 21.0	.62
Median (Range)	84 (64-143)	84 (64-130)	82 (65-143)	
Body Mass Index:				
Mean $\pm$ SD	29.4 $\pm$ 5.5	29.0 $\pm$ 5.1	29.8 $\pm$ 6.0	.62
Median (Range)	28.2 (21-47)	27.3 (22-47)	28.3 (21-46)	
Viral load (log ₁₀ IU/mL):				
Mean $\pm$ SD	5.2 $\pm$ 0.7	5.3 $\pm$ 0.7	5.2 $\pm$ 0.8	.43
Median (Range)	5.3 (3.5-6.5)	5.4 (4.0-6.3)	5.3 (3.5-6.5)	
Viral load >800,000 IU/mL	10	6	4	.49
Elevated ALT	31	13	18	.23
Necroinflammatory score:				
Mean $\pm$ SD	6.0 $\pm$ 3.2	6.3 $\pm$ 3.3	5.7 $\pm$ 2.7	.51
Median (Range)	5 (2-17)	5 (3-17)	5.5 (2-11)	
Liver disease:				
No fibrosis	8	4	4	.95
Fibrous portal expansion	18	8	10	
Bridging fibrosis	14	7	7	
Cirrhosis (compensated)	3	1	2	
Cirrhosis (decompensated)	4	3	1	
Previously treated with peginterferon/ribavirin	5	3	2	.67
Diabetes mellitus				
Controlled	7	4	3	.70
Uncontrolled	3	1	2	1.0

¹ Fisher's exact test or chi-square test used for comparing proportions, t-test for means.

- 34 -

[000115] Virologic responses are summarized by treatment group in Table 7. The proportion of virologic responders in the active treatment group was significantly higher than in the placebo treatment group ($P=.0039$). Virologic responses (undetectable serum HCV RNA) were observed at weeks 4 ($n=3$), week 8 ($n=3$) and week 20 ($n=1$). Each of these responses were maintained throughout the treatment period.

Table 7. Virologic Responses by Treatment Group

	Active	Placebo	P^1
Responders/Total (%)	7/23 (30.4%)	0/24 (0%)	0.0039

¹ two-sided Fisher's exact test

[000116] Demographic characteristics, baseline laboratory data, data from liver biopsies and medical histories were evaluated to identify independent predictors of virologic response within the active treatment group. Predictors of response are listed in Table 8. The most significant predictor of response was lower viral load at baseline. All responders had baseline viral loads $\leq 384,615$ IU/mL. Laboratory values at baseline (platelet counts, prothrombin time and alfa fetoprotein) also suggested that the responders had less severe liver disease.

Table 8. Independent Predictors of Response

Predictors of Response	P
Lower viral load at baseline	.0086
Indicators of less serious liver disease	
- Higher platelet counts	.0385
- Lower prothrombin time	.0579
- Lower alfa fetoprotein	.0696

[000117] Further analysis of patients with complicating disease-related factors such as high viral loads, cirrhosis, uncontrolled diabetes mellitus or hepatitis B co-infection showed very poor response rates in these subsets of patients (see Table 9). Fifteen (15) of the 16 Alinia[®] treatment failures had high viral load, advanced liver disease, uncontrolled diabetes mellitus or hepatitis B virus co-infection. The Alinia[®] responders can, therefore, be described as patients with low viral loads ($<800,000$ IU/mL) whose disease had not advanced to cirrhosis and who did not have uncontrolled diabetes mellitus or hepatitis B virus co-

- 35 -

infection. Two (2) virologic responders in the active treatment group had a prior history of treatment with peginterferon/ribavirin. One was unable to tolerate peginterferon/ ribavirin and discontinued therapy after 5 weeks. The other relapsed following completion of 48 weeks of peginterferon/ribavirin.

Table 9. Response Rates in Patients with Complicating Disease-Related Factors

Complicating disease-related factors	Responders/Total
High viral load (>800,000 IU/mL)	0/3
Advanced liver disease: cirrhosis	0/3
Advanced liver disease: bridging fibrosis	3/5
Uncontrolled diabetes mellitus	0/3
Hepatitis B virus co-infection	0/1
High viral load and cirrhosis	0/1
High viral load and bridging fibrosis	0/1
High viral load, uncontrolled diabetes and bridging fibrosis	0/1

[000118] Sustained Virologic Response: The 7 virologic responders were followed up at least 24 weeks after the end of treatment, and 5 of these patients had a sustained virologic response (undetectable serum HCV RNA) at follow-up. Sustained virologic response rates are presented by treatment group in Table 10. Two patients failed to maintain their virologic responses off-treatment. One patient only completed 8 weeks of treatment. One patient completed the study, but reported sporadic noncompliance with taking medication due to abdominal pain. Each of these two patients had advanced liver disease (bridging fibrosis).

Table 10. Sustained Virologic Responses by Treatment Group

	Active	Placebo	P*
Responders/Total (%)	5/23 (21.7%)	0/24 (0%)	0.0219

* two-sided Fisher's exact test

[000119] Changes in Quantitative Serum HCV RNA (Viral Load): Mean quantitative viral loads for the active treatment group, the placebo treatment group, active treatment group virologic responders, and active treatment group virologic failures are presented in Table 11 and FIG. 4. Reduction of the mean quantitative viral load from baseline to end of treatment was significantly greater for the active treatment group (reduction of $1.55 \pm 2.34 \log_{10}$ IU/mL) than for the placebo group (reduction of $0.21 \pm 0.98 \log_{10}$ IU/mL) observed for the placebo treatment group ($P=0.0166$, t-test). The reduction in mean viral load observed for the active

treatment group was entirely attributed to the virologic responders. Changes in viral loads of nonresponders were not significantly different than changes noted for the placebo treatment group. Actual quantitative viral loads for the 7 virologic responders over time are presented in Table 12 and FIG. 5.

Table 11. Mean Quantitative Serum HCV RNA over Time by Treatment Group and Virologic Response (Log₁₀ IU/mL)

	Baseline	Week 4	Week 8	Week 12	Week 16	Week 20	Week 24
Alinia Non-responders	5.5	5.21	5.21	5.23	5.54	5.61	5.42
Placebo	5.16	5.17	4.73	4.96	5.15	5.13	4.94
Alinia	5.33	4.53	3.87	3.9	4.02	3.9	3.77
Alinia Responders	4.92	2.98	0.80	0.85	0.53	*	*

* All values below lower limit of detection (10 IU/mL)

Table 12. Quantitative Serum HCV RNA over Time for Virologic Responders (Log₁₀ IU/mL)

Patient	Baseline	Week 4	Week 8	Week 12	Week 16	Week 20	Week 24
#1	4.37	*	*	*	*	*	*
#6	5.59	5.64	*	*	*	*	*
#15	5.22	5.43	5.57	5.98	3.74	*	*
#17	5.30	*	*	*	*	*	*
#21	5.00	4.23	*	*	*	*	*
#37	4.70	*	*	*	*	*	*
#40	4.25	5.56	*	*	*	*	*

* Below limit of detection (10 IU/mL)

[000120] Changes in ALT: Mean changes in ALT from baseline to end of treatment were not significantly different for the two treatment groups (-3.9 ± 32 for the active treatment group and -1.3 ± 42 for the placebo group, $P=0.82$, t test). Categorical changes in ALT from baseline to end of treatment are summarized by treatment group in Table 13. Three of the virologic responders in the active treatment group had normal ALT values at baseline, which remained normal at the end of treatment. One of the four virologic responders with elevated ALT at baseline had normal ALT at the end of treatment while the ALT for the other 3 remained elevated. Four of the five patients with sustained virologic responses also had normal ALT after 24 weeks off-treatment.

Table 13. Change in ALT from Baseline to End of Treatment

	Active	Placebo
Normalized	3	2
Remained Normal	7	4
Remained Elevated	10	16
Normal to Elevated	3	2

[000121] Quantitative HCV RNA values were missing for one patient at week 24 and for one patient at weeks 12, 16, 20 and 24. End of treatment data for these patients was analyzed using the last data point available (last observation carried forward). An interim analysis of end of treatment virologic response was conducted for the first 21 patients enrolled in the study. For purposes of this report, no adjustments have been made to account for multiple analyses.

[000122] Virologic response rates are presented by treatment group by study center in Table 14. The higher response rate observed in the active treatment group for the Cairo study center is attributed to disease-related characteristics of patients enrolled at the different sites. Each of the 9 patients enrolled in the active treatment group at the Alexandria and Tanta centers had high viral loads (>800,000 IU/mL), advanced liver disease, uncontrolled diabetes mellitus or hepatitis B virus co-infection.

Table 14. Virologic Response by Treatment Group and Study Center

	Cairo	Alexandria	Tanta
Active	7/14 (50%)	0/6 (0%)	0/3 (0%)
Placebo	0/15 (0%)	0/6 (0%)	0/3 (0%)

P=0.0453, Cochran-Mantel-Haenszel test

[000123] A summary of response rates for the active treatment group by disease-related complications and study center is presented in Table 15.

41

Table 15. Response Rates for the Active Treatment Group by Complicating Disease-Related Factors and Study Center

Complicating factors	Study Center		
	Cairo	Alexandria	Tanta
High viral load	0/1	0/2	-
Cirrhosis	0/2	-	0/1
Bridging fibrosis	3/4	-	0/1
Uncontrolled diabetes mellitus	0/1	0/2	-
Hepatitis B virus co-infection	-	0/1	-
High viral load and cirrhosis	-	0/1	-
High viral load + bridging fibrosis	0/1	-	-
High viral load, diabetes, bridging fibrosis	-	-	0/1
Patients without complicating factors	4/5	-	-
Totals	7/14	0/6	0/3

[000124] There were no significant protocol deviations that would warrant an efficacy subset analysis. An analysis of the subset of patients with low viral loads and no cirrhosis, uncontrolled diabetes or hepatitis B virus co-infection is presented in Table 16.

Table 16. Virologic Responses by Treatment Group, Subset of Patients with Low Viral Loads and No Cirrhosis, Uncontrolled Diabetes or Hepatitis B Co-infection

	Active	Placebo	P*
Responders/Total (%)	7/10 (70%)	0/15 (0%)	0.0002

* two-sided Fisher's exact test

[000125] The Alinia® tablets administered 500 mg twice daily with food for 24 weeks produced virologic responses (undetectable serum HCV RNA) in 7 of 23 patients (30.4%) compared to zero of 25 patients (0%) from the placebo group ($P=0.0039$).

[000126] The virologic responses occurred between 4 and 20 weeks of treatment (3 at week 4, 3 at week 8, 1 at week 20) and were maintained through the end of treatment with no virological breakthroughs.

[000127] Virologic response was sustained in 5 of 23 patients in the Alinia® treatment group at least 24 weeks after the end of treatment ($P=0.0219$). Each of the two patients that relapsed following the end of treatment visit had advanced liver disease (bridging fibrosis). One dropped out of the study after 8 weeks of treatment, and the other reported sporadic noncompliance with taking the study medication.

- 39 -

[000128] Low viral load was the most significant independent predictor of virologic response ($P=0.0086$). None of the patients with cirrhosis, uncontrolled diabetes mellitus or hepatitis B virus co-infection responded to treatment.

[000129] When patients with high viral loads, cirrhosis, uncontrolled diabetes or hepatitis B co-infection were excluded from the efficacy analysis, virologic response rates were 7/10 (70%) for the active treatment group and 0/15 for the placebo group ($P=0.0002$). Two of the three Alinia[®]-treated failures included in this analysis had advanced liver disease with bridging fibrosis.

[000130] These results indicate that 24 weeks of Alinia[®] monotherapy is effective in achieving a sustained virologic response in patients with chronic hepatitis C genotype 4 when the patients have low viral loads and no other complicating factors such as cirrhosis, uncontrolled diabetes or hepatitis B co-infection.

[000131] Safety measures were examined in patients receiving Alinia[®] compared to patients receiving placebo tablets. The extent of exposure is summarized in Table 17. Three patients (2 randomized to the Alinia[®] treatment group, 1 randomized to the placebo group) dropped out of the study before returning for any follow-up visits. These patients did not report taking any medication or experiencing any adverse events, and they were excluded from the safety analyses.

Table 17. Extent of Exposure

Treatment/Exposure	No. of Patients
Alinia 500 mg twice daily x 24 weeks	22
Alinia 500 mg twice daily x 12 weeks	1
Placebo twice daily x 24 weeks	24

[000132] Sixteen patients (11 from Alinia[®] group, 5 from placebo group) reported a total of 33 adverse events. There were two serious adverse events. One patient in the placebo group experienced severe hematemesis and a patient in the Alinia[®] treatment group experienced moderate melena. Both events required hospitalization but resolved without discontinuing treatment. The remaining adverse events were mild to moderate and transient in nature, none requiring modification or discontinuation of treatment. Adverse events are displayed by body system, standard term, severity and causality in Table 18 for the active treatment group and in Table 19 for the placebo treatment group. The proportions of patients

reporting each adverse event were compared by treatment group. There were no significant differences in the frequency or nature of adverse events reported by the two treatment groups.

Table 18. Adverse Events: Patients Exposed to Alinia® (N=23)

Adverse event (Affected system) ¹	Patients Reporting AEs		Severity and Relationship to Use of the Drug ²											
			Mild				Moderate				Severe			
	Number	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Jaundice (DIG)	2	8.7	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anorexia (DIG)	1	4.3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Constipation (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diarrhea (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flatulence (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GI Disorder (DIG)	1	4.3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Melena (DIG)	1	4.3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Nausea (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asthenia (BODY)	4	17.4	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pain Abdo (BODY)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dysuria (UG)	2	4.3	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Epistaxis (RES)	1	4.3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Palpitation (CV)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Myalgia (MS)	1	4.3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Somnolence (NER)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Skin Discolor (SKIN)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ DIG = Digestive; BODY = Body as a whole or Nonspecific system; UG = Urogenital; RES = respiratory; CV = Cardiovascular; MS = Musculoskeletal; NER = Nervous; SKIN = Skin.

² Relationship to use of the drug: N=not related, U=unlikely related, P= possibly related, PR= probably related

Table 19. Adverse Events: Patients Exposed to Placebo (N=24)

Adverse event (Affected system) ¹	Patients Reporting AEs		Severity and Relationship to Use of the Drug ²											
			Mild				Moderate				Severe			
	Number	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Jaundice (DIG)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematemesis (DIG)	1	4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Vomit (DIG)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asthenia (BODY)	2	8.3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pain Abdo (BODY)	2	8.3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Headache (BODY)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fever (BODY)	1	4.2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Urine Abnorm (UG)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoptysis (RES)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diabetes Mell (MAN)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ DIG = Digestive; BODY = Body as a whole or Nonspecific system; UG = Urogenital; RES = respiratory; MAN = Metabolic and Nutritional.

² Relationship to use of the drug: N=not related, U=unlikely related, P= possibly related, PR= probably related

- 41 -

[000133] Changes in laboratory safety parameters over time were analyzed by treatment group using repeated measures analysis of variance for continuous data and Fisher's Exact tests for categorical data. No significant changes in laboratory safety parameters were observed.

[000134] No safety concerns were identified during the course of this study. The Alinia® tablets administered 500 mg twice daily with food in patients with chronic hepatitis C were safe and well tolerated. Adverse events reported for patients treated with Alinia® tablets were similar to those reported by patients treated with placebo.

[000135] In this study, Alinia® tablets administered 500 mg twice daily with food for 24 weeks produced virologic responses (undetectable serum HCV RNA) in 7 of 23 patients (30.4%) compared to zero of 25 patients (0%) from the placebo group ($P=0.0039$). The virologic responses occurred between 4 and 20 weeks of treatment (3 at week 4, 3 at week 8, 1 at week 20) and were maintained through the end of treatment with no virological breakthroughs. Virologic response was sustained in 5 patients at least 24 weeks after the end of treatment.

[000136] Low viral load was the most significant independent predictor of virologic response ($P=0.0086$). None of the patients with cirrhosis, uncontrolled diabetes mellitus or hepatitis B virus co-infection responded to treatment.

[000137] When patients with high viral loads, cirrhosis, uncontrolled diabetes or hepatitis B co-infection were excluded from the efficacy analysis, virologic response rates were 7/10 (70%) for the active treatment group and 0/15 for the placebo group ($P=0.0002$). Two of the three Alinia®-treated failures included in this analysis had advanced liver disease with bridging fibrosis.

[000138] These results indicate that 24 weeks of Alinia monotherapy is effective in achieving a sustained virologic response in patients with chronic hepatitis C genotype 4 when the patients have low viral loads and no other complicating factors such as cirrhosis, uncontrolled diabetes or hepatitis B co-infection.

[000139] No safety concerns were identified during the course of the study. Adverse events reported for patients in the Alinia® treatment group were similar to those reported for the placebo group. There were no significant changes in clinical laboratory values over the 24-week course of treatment for the Alinia® treatment group compared to the placebo group.

- 42 -

EXAMPLE 6TREATMENT OF VIRAL HEPATITIS WITH ALINIA AND PEGYLATED INTERFERON ALPHA-2B

[000140] Thirty-six (36) patients were enrolled in a clinical study to evaluate the effectiveness and safety of combination therapy with Alinia® plus pegylated interferon alpha-2b (PegIFN α -2b) compared to a placebo plus PegIFN α -2b in treating chronic hepatitis C. The patients were recruited as follows: Upon completing the 24-week treatment phase of study RM01-3027 (see Example 4), a randomized double-blind placebo-controlled study of Alinia®, eighteen (18) non-responders were offered the opportunity to participate in this clinical trial. Two patients declined enrollment due to the advanced stage of their disease and unwillingness to be treated with pegylated interferon. Sixteen (16) patients were enrolled in the study. These patients continued their blinded oral study medication along with 12 weekly injections of PegIFN α -2b. Twenty (20) treatment-naïve patients were recruited for the study to initiate blinded study medication plus PegIFN α -2b at the same time (first PegIFN injection and first dose of oral blinded medication on the same day). See FIG. 6 for a Patient Disposition Flowchart. One patient was enrolled with HCV genotype 2 (randomized to the pre-treated active group). One patient dropped out of the study immediately after receiving his first dose of PegIFN and did not return for any post-treatment follow-up. One patient did not return for follow-up after week 8. Each of the remaining 34 patients completed the study. An intent-to-treat population (all patients randomized) was used for the primary efficacy analysis with drop-outs being treated as failures. Demographic data and disease-related characteristics are summarized by treatment group in Table 20.

Table 20. Demographic and Disease-Related Characteristics

	Pre-Treated		Not Pre-Treated		P¹
	Active	Placebo	Active	Placebo	
Race:					
Caucasian	8	8	10	10	1.0
Gender:					
Male/Female	8/0	7/1	8/2	10/0	.20
Age (years):					
Mean $\pm$ SD	45.1 $\pm$ 5.5	41.3 $\pm$ 10.1	46.0 $\pm$ 9.1	39.1 $\pm$ 8.9	.28
Median (Range)	46.5 (38-52)	42.5 (27-55)	48 (26-56)	40 (21-49)	
Weight (kgs):					
Mean $\pm$ SD	77.8 $\pm$ 6.6	84.0 $\pm$ 13.0	77.1 $\pm$ 11.8	77.7 $\pm$ 9.7	.51
Median (Range)	79.5 (68-86)	86 (67-105)	79.5 (56-100)	75 (64-94)	
Body Mass Index					
Mean $\pm$ SD	26.0 $\pm$ 2.3	28.3 $\pm$ 4.5	26.1 $\pm$ 3.4	26.8 $\pm$ 3.8	.54
Median (Range)	26.3 (21-29)	29.0 (22-36)	27.0 (20-31)	25.7 (21-36)	
Viral load (log ₁₀ IU/mL) ²					
Mean $\pm$ SD	5.5 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 0.5	5.9 $\pm$ 0.5	5.6 $\pm$ 0.4	.34
Median (Range)	5.6 (4.3-6.1)	5.6 (4.9-6.5)	5.9 (4.9-6.6)	5.7 (4.5-6.1)	
Viral load $\geq$ 800,000 IU/mL	3 (38%)	2 (25%)	4 (40%)	1 (10%)	.39
Elevated ALT	7 (88%)	7 (88%)	9 (90%)	8 (80%)	.95
Advanced liver disease					
Cirrhosis	1 (13%)	-	-	1 (10%)	.34
Bridging fibrosis	2 (25%)	1 (13%)	-	-	
Diabetes mellitus	3 (38%)	1 (13%)	1 (10%)	1 (10%)	.42

¹ Chi-square test used for comparing proportions, analysis of variance for means.² For pre-treated patients, viral loads are presented as determined before the pre-treatment period.

[000141] Each of the weekly peginterferon injections were administered by the physicians. At each study visit, patients were questioned regarding compliance with administration of the oral study medication (Alinia or placebo). With the exception of one patient who dropped out of the study during the first week and another patient who did not return for evaluation at week 12 and was treated as a nonresponder, each of the patients reported that they had been compliant with taking the medication. None of the patients returned unused medication.

[000142] Virologic responses are summarized by treatment group in Table 21. The response rate for the pre-treated active group (5/8, 63%) was higher than that of the pre-treated placebo group ($P=0.15734$), non-pretreated active group ($P=0.08824$), the non-pretreated placebo group ($P=0.31859$), the two placebo groups combined ($P=0.16888$) and the three other groups combined ($P=0.09102$).

Table 21. Virologic Responses by Treatment Group

	<u>Pre-treated</u>		<u>Not Pre-treated</u>	
	Active	Placebo	Active	Placebo
Responders/Total (%)	5/8 (63%)	2/8 (25%)	2/10 (20%)	4/10 (40%)

$P=0.26$, chi-square test

[000143] Logistic regression analyses identified lower fasted blood glucose as a significant independent predictor of virologic response ($P=0.0101$) for the entire population of patients studied ($n=36$). The relationship between fasted blood glucose and virologic response was most significant ($P=0.0011$) in the pre-treated active group where there were three patients with uncontrolled diabetes mellitus.

[000144] Given the relationships observed between virologic response and fasted blood glucose, the efficacy analysis was repeated for a subset of patients which excluded patients with uncontrolled diabetes mellitus. The results of this analysis are presented in Table 5. In this subset of non-diabetic patients, the response rate for the pre-treated active group (5/5, 100%) was higher than that of the pre-treated placebo group ($P=0.02652$), non-pretreated active group ($P=0.01049$), the non-pretreated placebo group ($P=0.06294$), the two placebo groups combined ($P=0.02270$) and the three other groups combined ($P=0.00903$). Demographic and disease-related characteristics of the subset of non-diabetic patients analyzed in Table 22 were compared by treatment group, and there were no significant differences between groups.

Table 22. Virologic Responses by Treatment Group, Excluding Patients with Uncontrolled Diabetes Mellitus

	<u>Pre-Treated</u>		<u>Not Pre-Treated</u>	
	Active	Placebo	Active	Placebo
Responders/Total (%)	5/5 (100%)	2/7 (29%)	2/9 (22%)	4/9 (44%)

$P=0.01$, chi-square test

[000145] Each of the virologic responders in the pre-treated Alinia® + pegIFN group had complicating disease-related factors that might ordinarily reduce the probability of treatment success with pegIFN-ribavirin. Response rates for subsets of patients with high viral loads, advanced liver disease, and uncontrolled diabetes are presented by treatment group in Table 23.

Table 23. Response Rates in Patients with Complicating Disease-Related Factors

	No. Responders/Total			
	<u>Pre-Treated</u>		<u>Not Pre-Treated</u>	
	Active	Placebo	Active	Placebo
Viral load >800,000 IU/mL	2/2	0/1	1/3	0/1
Advanced liver disease:				
Cirrhosis	1/1	-	-	-
Bridging fibrosis	1/1	1/1	-	-
HBV co-infection	1/1	-	-	-
Uncontrolled diabetes	0/2	-	-	-
- with high viral load (HVL)	-	0/1	0/1	-
- with HVL and bridging fibrosis	0/1	-	-	-
- with cirrhosis	-	-	-	0/1
None of the above	-	1/5	1/6	4/8

[000146] Two-log drop in serum HCV RNA. All patients with a 2-log drop in serum HCV RNA at the end of treatment also had undetectable serum HCV RNA. The results are, therefore, the same as presented in Tables 21, 22, and 23.

[000147] Changes in ALT from baseline to week 12 are summarized by treatment group in Table 24.

Table 24. Changes in ALT by Treatment Group

	<u>Pre-Treated</u>		<u>Not Pre-Treated</u>	
	Active	Placebo	Active	Placebo
Normalized	3	1	2	2
Remained Elevated	4	6	6	4
Remained Normal	1	1	1	1
Normal to Elevated	-	-	-	1

Note: 3 patients not evaluable due to missing ALT data at either baseline or end of treatment.

[000148] Virologic responses by treatment group are presented for each of two study centers in Table 25. The same data is presented for the subset of patients without uncontrolled diabetes in Table 26. In the overall analysis, there was no significant difference between the response rates observed for the two study centers. In the subset analysis, the response rates were significantly different because the second study center had two patients that responded on placebo + pegIFN. These two patients were 27 and 30 year-old males with low viral loads and no complicating disease-related conditions. The patient enrolled in the non-pretreated active group with genotype 2 was a nonresponder. There were no other significant protocol deviations.

- 46 -

Table 25. Virologic Responses by Study Site and Treatment Group

	No. Responders/Total			
	<u>Pre-treated</u>		<u>Not Pre-treated</u>	
	Active	Placebo	Active	Placebo
First study center	3/5	0/5	2/10	4/10
Second study center	2/3	2/3	-	-

 $P=0.35$, Cochran-Mantel-Haenszel test**Table 26. Virologic Responses by Study Site and Treatment Group, Patients without Uncontrolled Diabetes Mellitus**

	No. Responders/Total			
	<u>Pre-treated</u>		<u>Not Pre-treated</u>	
	Active	Placebo	Active	Placebo
First study center	3/3	0/4	2/9	4/9
Second study center	2/2	2/3	-	-

 $P=0.0465$, Cochran-Mantel-Haenszel test

[000149] Administration of 24 weeks of Alinia[®] followed by 12 weeks of Alinia plus pegIFN alfa-2b produced higher virologic response rates (5/8, 63%) than either pegIFN alfa-2b plus placebo for 12 weeks (6/18, 33%) or Alinia[®] plus pegIFN alfa-2b for 12 weeks without pre-treatment (2/10, 20%).

[000150] When patients with uncontrolled diabetes mellitus were excluded, the response rate for the pre-treated active group (5/5, 100%) was higher than that of the pre-treated placebo group (2/7, 29%, $P=0.02652$), non-pretreated active group (2/9, 22%, $P=0.01049$), the non-pretreated placebo group (4/9, 44%, $P=0.06294$), the two placebo groups combined (6/16, 38%, $P=0.02270$) and the three other groups combined (8/25, 32%, $P=0.00903$).

[000151] Each of the 5 virologic responders in the pre-treated active treatment group had disease-related complications that might typically reduce the probability of success with pegIFN-ribavirin therapy: 2 with viral load $>800,000$ IU/mL, 2 with advanced liver disease (1 cirrhosis, 1 bridging fibrosis) and 1 with hepatitis B virus co-infection.

[000152] These results indicate that pre-treatment of patients with Alinia[®] before adding pegIFN potentiates the effect of pegIFN, producing response rates that are significantly higher than those for pegIFN alone or Alinia plus pegIFN without a pre-treatment period.

[000153] Drug safety measures were examined for patients treated with Alinia[®] plus pegIFN and for those receiving placebo plus pegIFN. The extent of exposure is summarized in Table 27.

Table 27. Extent of Exposure

Treatment/Exposure	No. of Patients
Alinia 500 mg twice daily x 12 weeks + weekly pegIFN injections	18
Placebo twice daily x 24 weeks + weekly pegIFN injections	17
One peginterferon injection (dropped out)	1

[000154] Four mild adverse events (AEs) were reported, three for patients in the placebo treatment group and one for a patient in the active treatment group. There were no serious adverse events. None of the adverse events required modification or discontinuation of treatment. Adverse events are displayed by body system, standard term, severity and causality in Table 28 for the active treatment group and in Table 29 for the placebo treatment group. The proportions of patients reporting each adverse event were compared by treatment group. There were no significant differences in the frequency or nature of adverse events reported by the two treatment groups. No deaths, serious AEs, or other significant AEs were reported. No laboratory adverse events were reported during the study.

Table 28. Adverse Events: Patients Exposed to Alinia (N=18)

Adverse event (Affected system) ¹	Patients Reporting AEs		Severity and Relationship to Use of the Drug ²											
			Mild				Moderate				Severe			
	Number	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Depression (NER)	1	5.6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ NER = Nervous system

² Relationship to use of the drug: N= not related, U=unlikely related, P= possibly related, PR= probably related

Table 29. Adverse Events: Patients Exposed to Placebo (N=17)

Adverse event (Affected system) ¹	Patients Reporting AEs		Severity and Relationship to Use of the Drug ²											
			Mild				Moderate				Severe			
	Number	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Petechia (HAL)	1	5.8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Depression (NER)	1	5.8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Photosensitivity (BODY)	1	5.8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ HAL = Heme and Lymphatic System. NER = Nervous system. BODY = Body as a whole or Nonspecific system

² Relationship to use of the drug: N= not related, U=unlikely related, P= possibly related, PR= probably related

- 48 -

[000155] Changes in laboratory safety parameters over time were analyzed by treatment group using repeated measures analysis of variance for continuous data and Fisher's Exact tests for categorical data. Significant differences were observed for two parameters: platelet counts over time were higher for the patients treated with Alinia + pegIFN than for patients treated with pegIFN + placebo ($P=0.0138$), as shown in FIG. 7; and absolute neutrophil counts over time were higher for patients treated with Alinia + pegIFN than for patients treated with pegIFN + placebo ($P=0.0205$), as shown for FIG. 8.

[000156] Values recorded for platelet counts and neutrophil counts increased from week 8 to week 12. A number of patients had their week 12 serum sample collected 3 to 7 days late (10 to 14 days after the last injection of pegIFN), and their platelet and neutrophil counts had begun to recover. To eliminate the effect of data collected late at week 12, data from baseline to week 8 was analyzed separately. When the week 12 data point was eliminated the differences in platelet counts and absolute neutrophil counts over time remained significant ($P=0.0044$ for platelets, $P=0.0101$ for neutrophils).

[000157] Analyses were conducted to evaluate the effect of virologic response or pre-treatment with Alinia on the change in platelet counts or neutrophil counts over time. The differences were not related to virologic response or pre-treatment with Alinia.

[000158] Vital signs, physical findings, and other observations related to safety provided no significant findings.

[000159] The administration of Alinia tablets administered 500 mg twice daily with food along with weekly injections of pegylated interferon alfa-2b for 12 weeks in patients with chronic hepatitis C was safe and well tolerated.

[000160] Reductions of platelet counts and neutrophil counts typically associated with administration of pegIFN were significantly smaller in patients treated with Alinia ($P=0.0044$ and 0.0101 , respectively).

[000161] Administration of 24 weeks of Alinia followed by 12 weeks of Alinia plus pegIFN alfa-2b produced higher virologic response rates (5/8, 63%) than either pegIFN alfa-2b plus placebo for 12 weeks (6/18, 33%) or Alinia plus pegIFN alfa-2b for 12 weeks without pre-treatment (2/10, 20%).

[000162] When patients with uncontrolled diabetes mellitus were excluded, the response rate for the pre-treated active group (5/5, 100%) was higher than that of the pre-treated

- 49 -

placebo group (2/7, 29%, $P=0.02652$), non-pretreated active group (2/9, 22%, $P=0.01049$), the non-pretreated placebo group (4/9, 44%, $P=0.06294$), the two placebo groups combined (6/16, 38%, $P=0.02270$) and the three other groups combined (8/25, 32%, $P=0.00903$).

[000163] Each of the 5 virologic responders in the pre-treated active treatment group had disease-related complications that might typically reduce the probability of success with pegIFN-ribavirin therapy: 2 with viral load $>800,000$ IU/mL, 2 with advanced liver disease (1 cirrhosis, 1 bridging fibrosis) and 1 with hepatitis B virus co-infection.

[000164] The administration of Alinia along with pegIFN alfa-2b in patients with chronic hepatitis C was safe and well tolerated. No safety concerns were identified.

[000165] Reductions of platelet counts and neutrophil counts typically associated with administration of pegIFN were significantly smaller in patients treated with Alinia ($P=0.0044$ and 0.0101 , respectively).

[000166] These results indicate that pre-treatment of patients with Alinia before adding pegIFN potentiates the effect of pegIFN, producing response rates significantly higher than those for pegIFN alone or Alinia plus pegIFN without a pre-treatment period. Concomitant administration of Alinia may furthermore reduce the hematologic toxicity of pegIFN.

- 50 -

CLAIMS:

1. A method of treating a patient suffering from hepatitis C comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of a compound selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide, or mixtures thereof.
2. The method of claim 1, wherein the compound is administered in the form of a composition further comprising a pharmaceutically acceptable carrier.
3. The method of claim 2, wherein the composition comprises a mixture of compounds selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide.
4. The method of claim 2, wherein the composition further comprises one or more additional biologically active agents.
5. The method of claim 1, comprising administering the compound to the patient for a period of time between about 3 days and about 24 weeks, followed by administering the compound and an interferon to the patient for a period of between about 1 week and about 48 weeks.
6. The method of claim 1, comprising administering the compound to the patient for a period of between about 3 days and about 2 years.
7. The method of claim 1, further comprising administering one or more additional active agents to the patient.
8. The method of claim 7, wherein the one or more additional active agents comprises an interferon.
9. The method of claim 8, wherein the interferon is administered to the patient separately from the compound.

- 51 -

10. The method of claim 8, wherein the interferon is interferon α -2a, interferon α -2b, or a polyethylene glycol derivative of interferon α -2a or interferon α -2b.

11. The method of claim 8, wherein the interferon is administered to the patient for a period of about 1 week to about 48 weeks.

12. The method of claim 11, wherein the interferon is administered to the patient for a period of about 1 week to about 4-12 weeks.

13. The method of claim 8, wherein the interferon is administered to the patient between 1 and 3 times each week.

14. The method of claim 8, wherein administration of the interferon is initiated after treating the patient with the compound for a predetermined period of time.

15. The method of claim 14, wherein the predetermined period of time is between about 3 days and about 6 months.

16. The method of claim 15, wherein the predetermined period of time is between about 1 week and about 4 weeks.

17. The method of claim 1, wherein the compound is administered to the patient one to three times each day during a predetermined period of treatment.

18. The method of claim 7, wherein the one or more additional active agents comprises an anti-diabetes agent.

19. The method of claim 18, wherein the anti-diabetes agent is administered separately from the compound.

- 52 -

20. The method of claim 2, wherein the composition comprises the compound and one or more additional active agents.

21. The method of claim 20, wherein the composition further comprises an anti-diabetes agent.

22. The method of claim 20, wherein the composition further comprises an interferon.

23. The method of claim 20, wherein the composition further comprises an interferon and an anti-diabetes agent.

24. A method of treating a patient suffering from hepatitis C comprising: (a) pretreating the patient by administering to the patient for a predetermined period of time a first composition comprising a therapeutically effective amount of a compound selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide, or mixtures thereof; and (b) after the predetermined period of time, administering to the patient a therapeutically effective amount of a second composition comprising an active agent.

25. The method of claim 24, wherein the predetermined period of time is between about 3 days and about 3 months.

26. The method of claim 25, wherein the predetermined period of time is between about 1 week and about 4 weeks.

27. The method of claim 24, wherein the active agent is an interferon selected from interferon α -2a, interferon α -2b, and a polyethylene glycol derivative of interferon α -2a or interferon α -2b.

28. The method of claim 27, wherein the second composition further comprises a compound selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide, or mixtures thereof.

- 53 -

29. A method for treating a patient suffering from viral hepatitis comprising administering to the patient a therapeutically effective amount of a first compound having the formula R1-NHCO-R2, wherein R1 and R2 are independently selected from moieties that provide improved stability of the NHCO group in biological fluid and tissue, provided that the compound is neither nitazoxanide nor tizoxanide.

30. The method of claim 29, wherein the reactivity of the NHCO group in the compound is reduced toward cleavage reactions compared with the reactivity of the analogous compound having hydrogen as either R1 or R2.

31. The method of claim 29, wherein R1 and R2 are independently selected from substituted cyclic groups, unsubstituted cyclic groups, substituted heterocyclic groups, and unsubstituted heterocyclic groups, wherein either R1, R2, or both R1 and R2 are optionally aromatic.

32. The method of claim 29, wherein the first compound is in the form of a composition, and wherein the composition further comprises a pharmaceutically acceptable carrier.

33. The method of claim 32, wherein the composition further comprises an additional active agent selected from interferon α -2a, interferon α -2b, and a polyethylene glycol derivative of interferon α -2a or interferon α -2b.

34. The method of claim 29, wherein the first compound is administered to the patient for a period of between about one week and about two years.

35. The method of claim 29, further comprising administering an interferon to the patient for a period between about one week and about forty-eight weeks.

36. The method of claim 35, wherein the period of treatment with the interferon is initiated 12 weeks after treatment with the compound is initiated.

- 54 -

37. The method of claim 29, wherein the viral hepatitis being treated is hepatitis C.

38. In a method for treating a patient suffering from hepatitis C with a therapeutically effective amount of an interferon, the improvement comprises administering to the patient a therapeutically effective amount of nitazoxanide, tizoxanide, or mixtures thereof.

39. The method of claim 38, wherein the amount of interferon required to achieve a sustained response in the patient is reduced compared to the amount of interferon required to achieve a sustained response in the patient without administration of nitazoxanide, tizoxanide, or mixtures thereof.

40. The method of claim 38, wherein the amount of interferon required to achieve a sustained response in the patient is reduced compared to the amount of interferon required to achieve a sustained response in the patient when treated with a combination of ribavirin and the interferon.

41. The method of claim 38, wherein the method provides the patient with an increased chance of having reduced serum HCV RNA after treatment as compared with a method for treating hepatitis C with a combination of ribavirin and the interferon.

42. The method of claim 38, wherein the method provides the patient with a similar chance of having reduced serum HCV RNA after treatment as compared with a method for treating hepatitis C with a combination of ribavirin and the interferon.

43. The method of claim 38, wherein the method produces fewer side effects as compared with a method for treating hepatitis C with a combination of ribavirin and the interferon.

44. A composition comprising: (a) one or more compounds selected from nitazoxanide, tizoxanide, derivatives of nitazoxanide, and derivatives of tizoxanide; (b) an interferon; and (c) an anti-diabetes agent.

- 55 -

45. The composition of claim 44, wherein the interferon is selected from interferon α -2a, interferon α -2b, and a polyethylene glycol derivative of interferon α -2a or interferon α -2b.

1/10

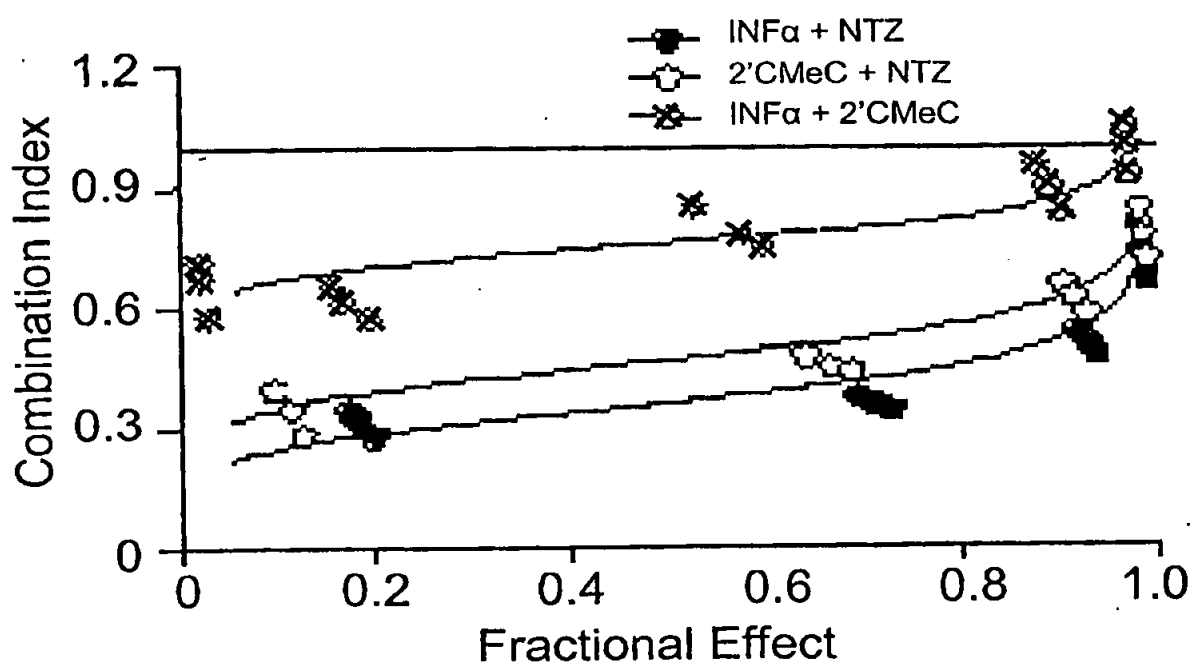


FIG. 1a

2/10

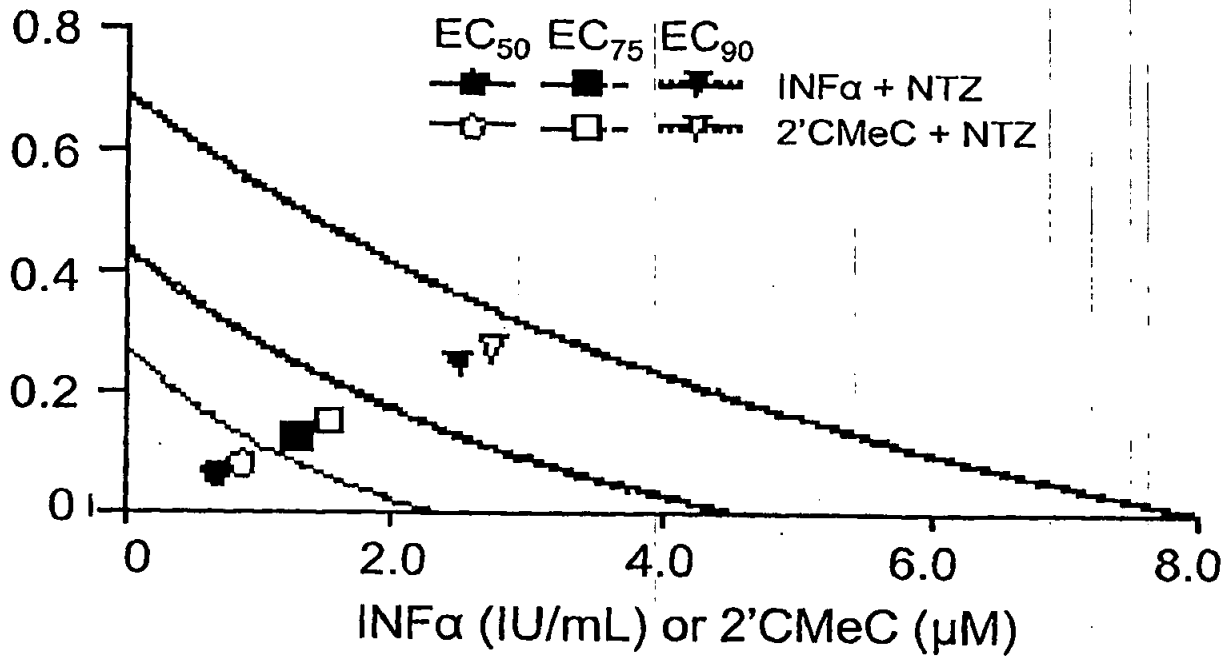


FIG. 1b

3/10

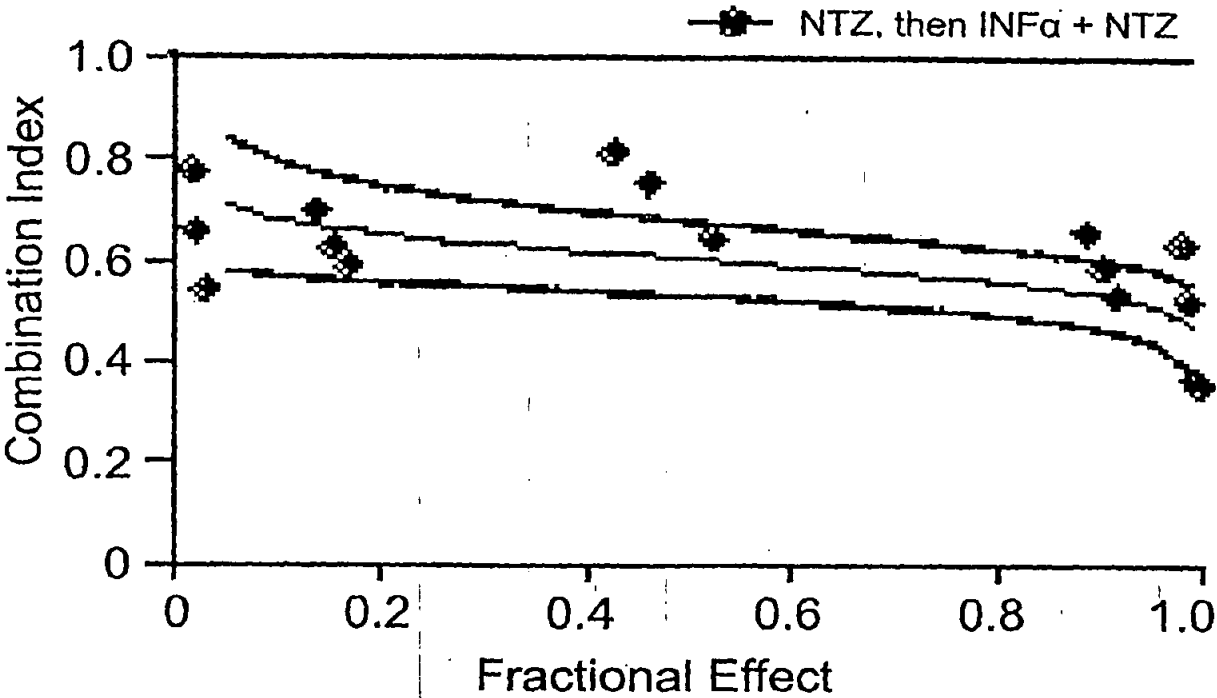


FIG. 2a

4/10

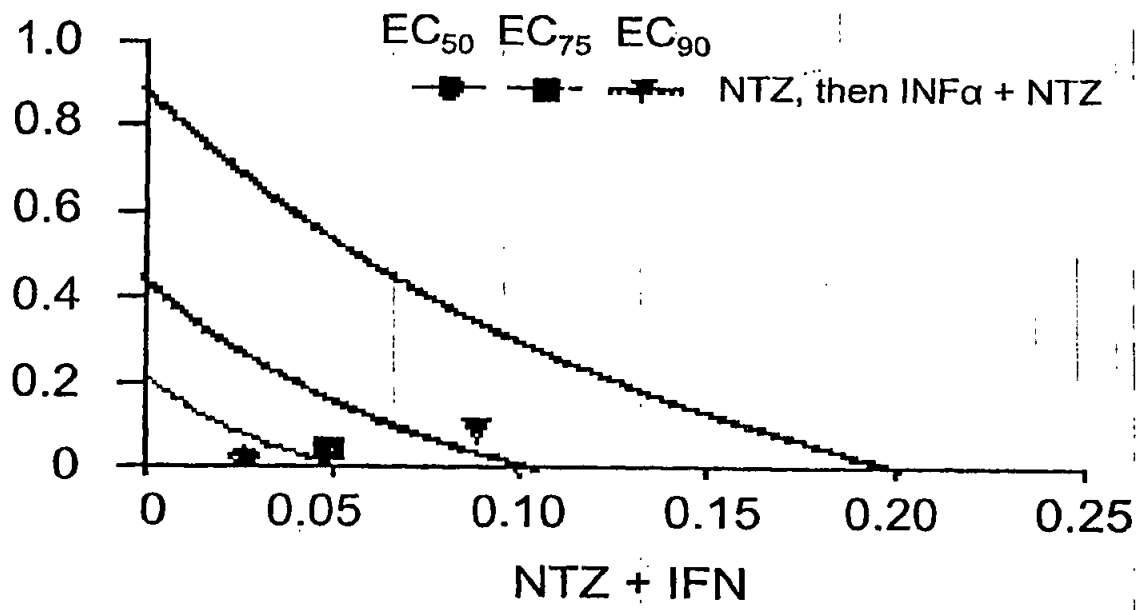


FIG. 2b

Patient Disposition Flowchart

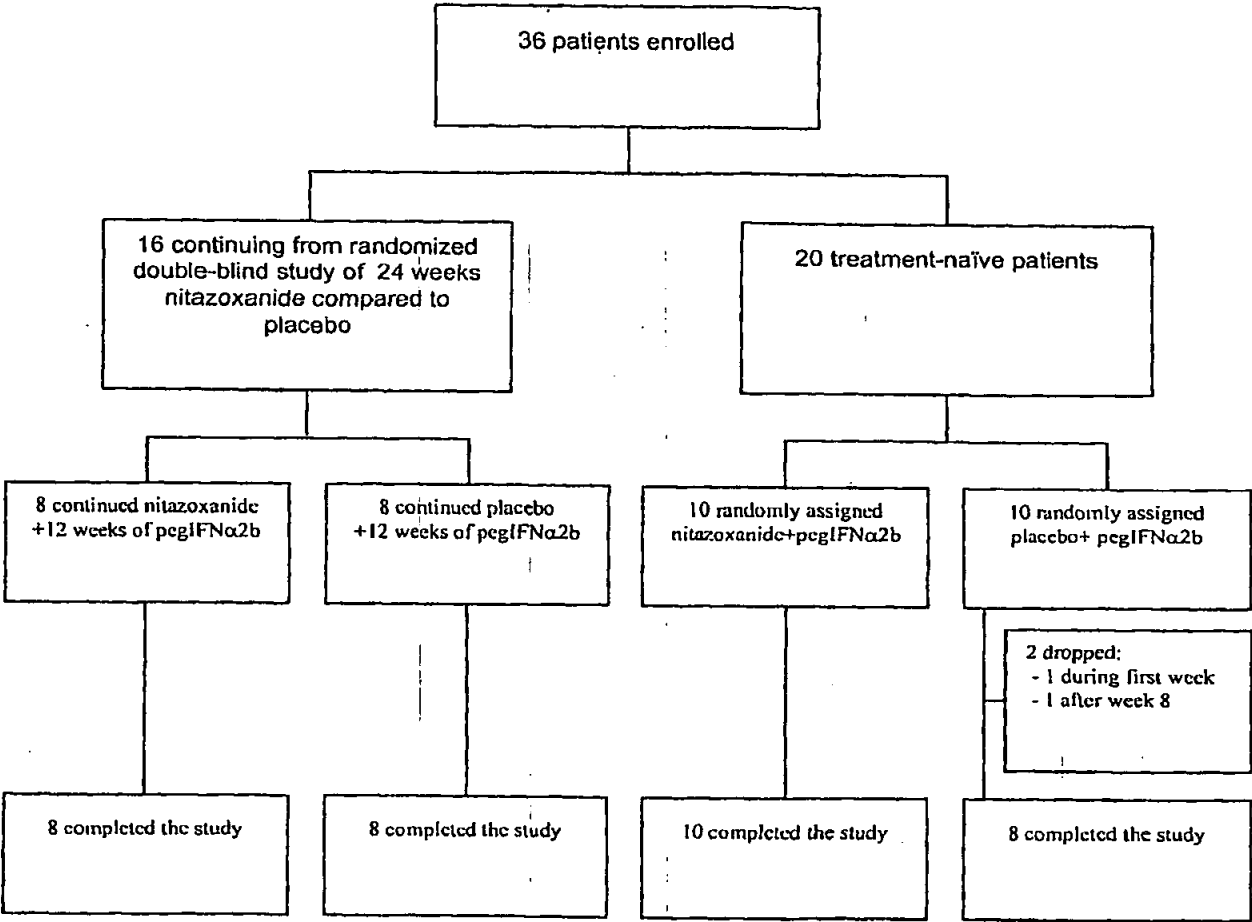


FIG. 3

6/10

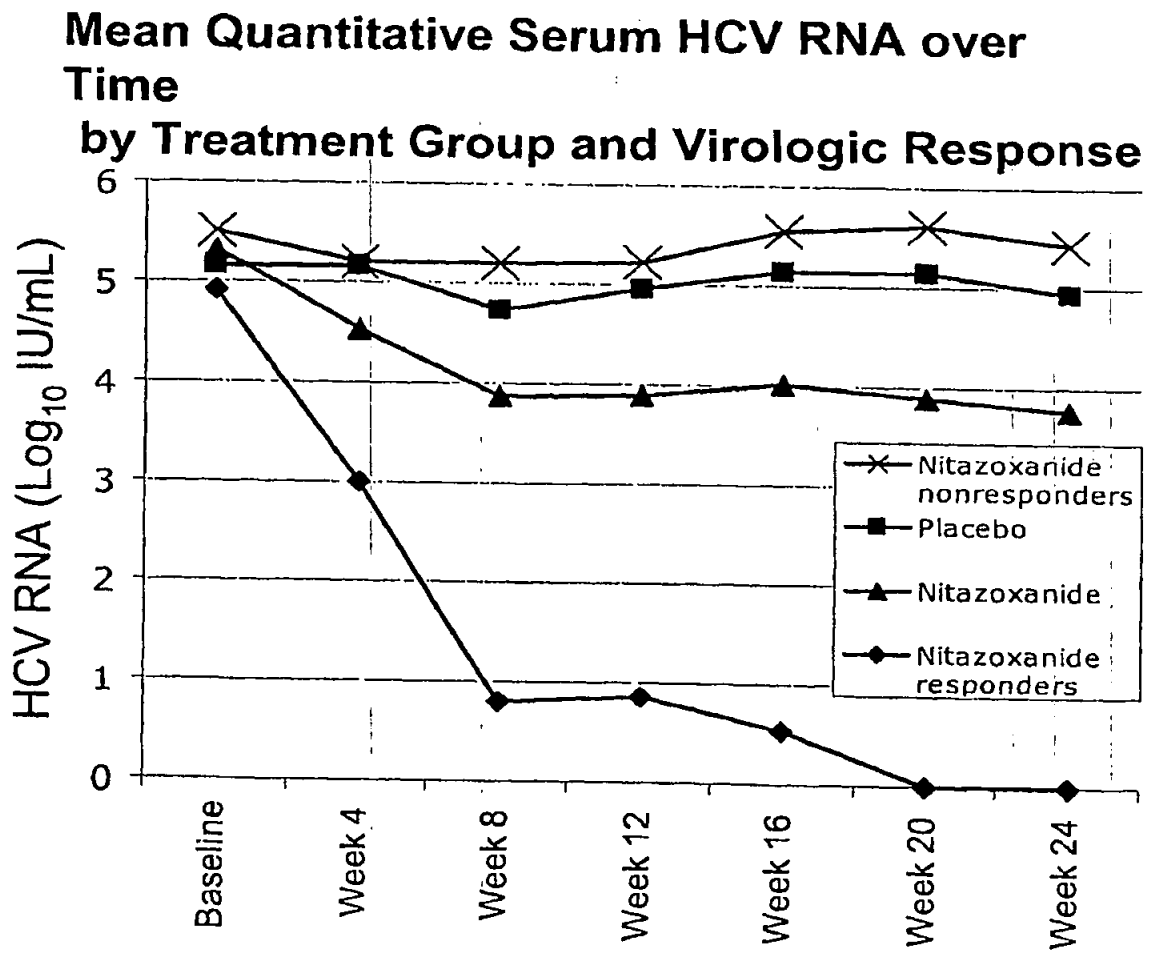


FIG. 4

7/10

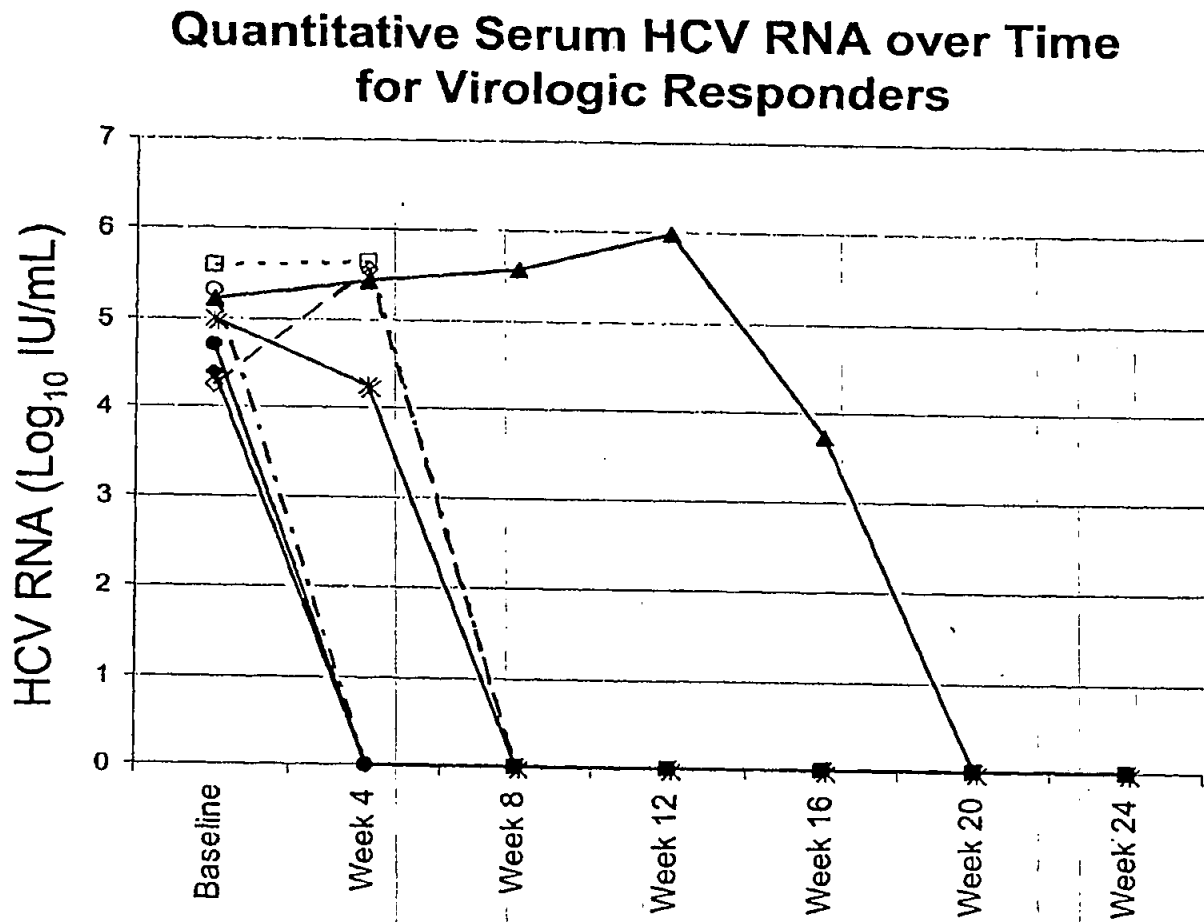


FIG. 5

8/10

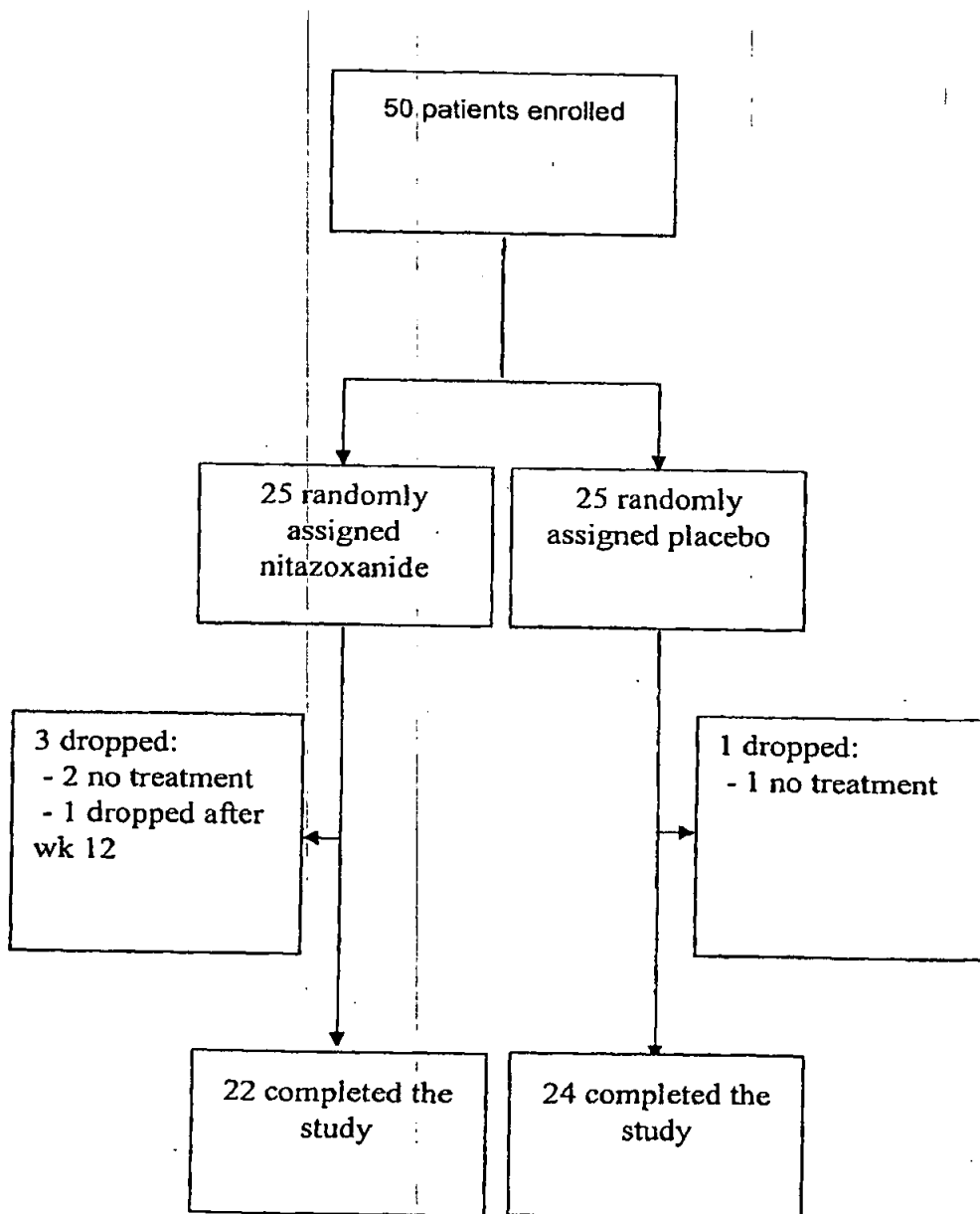
Patient Disposition Flowchart

FIG. 6

67

9/10

Platelet counts vs. Time

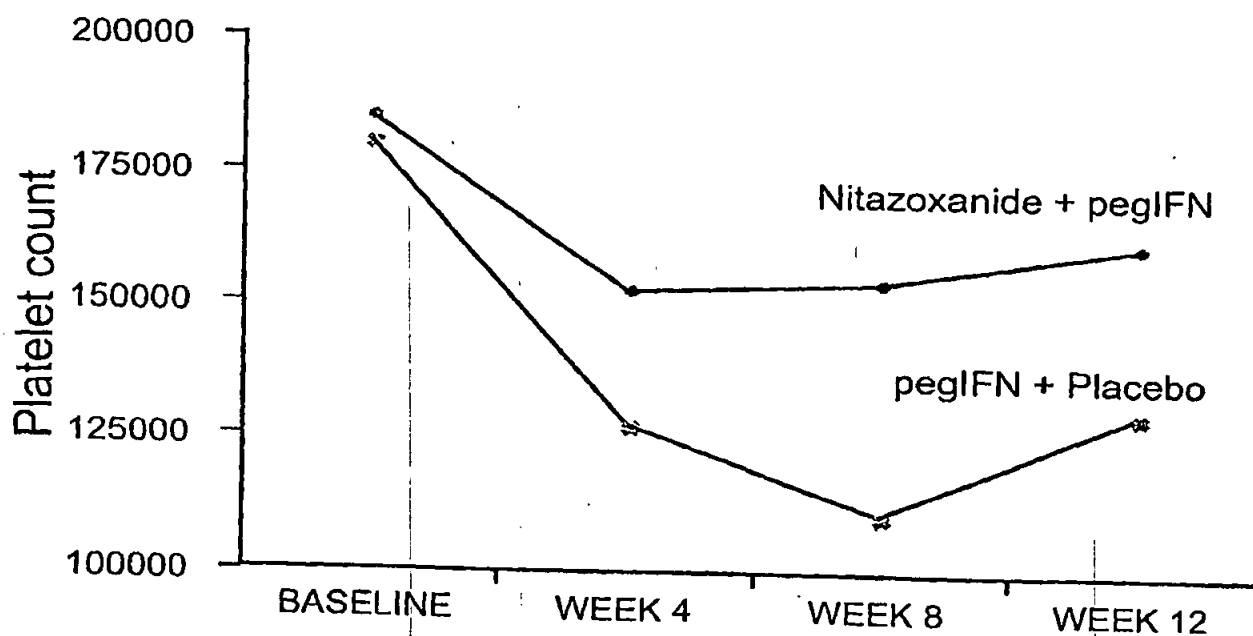


FIG. 7

10/10

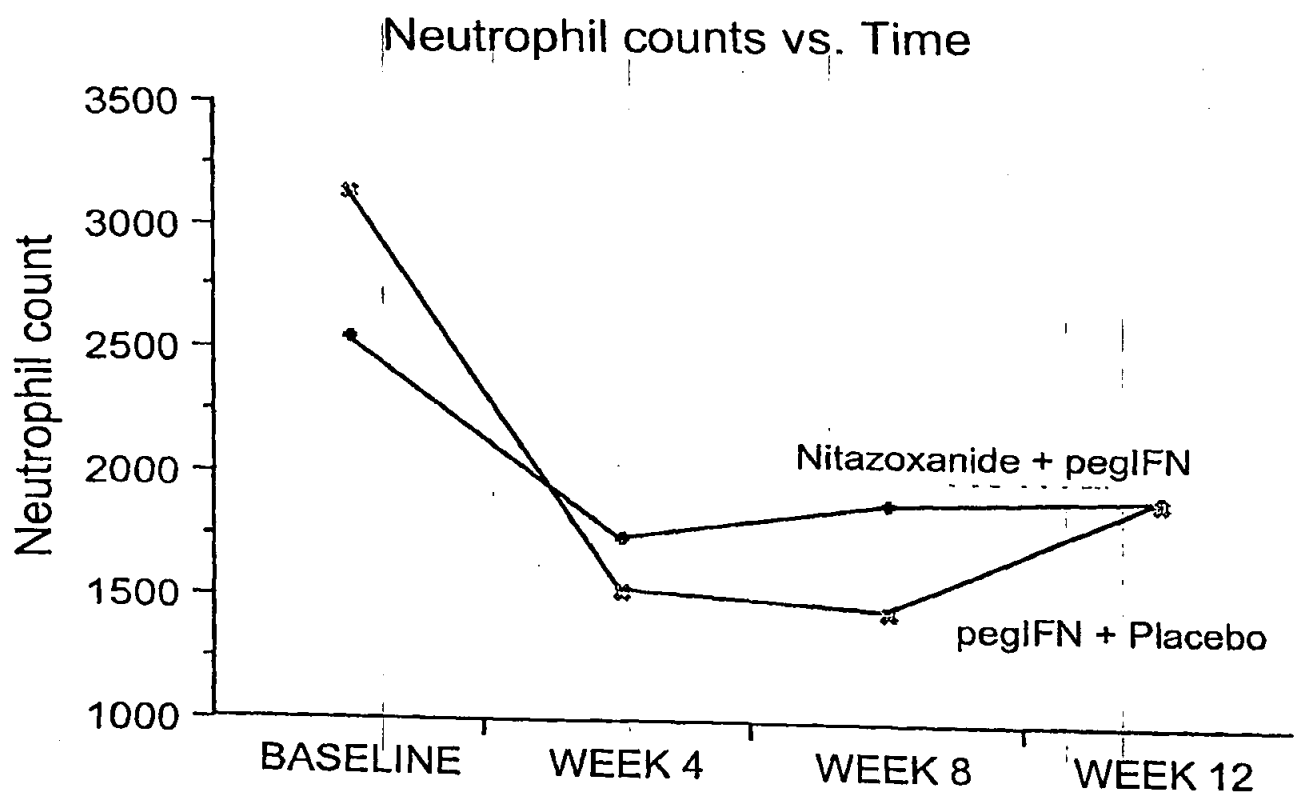


FIG. 8

TRATAMIENTO PARA LA HEPATITIS VIRAL

DERECHOS DEL GOBIERNO

- 5 **[0001]** El Gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos en esta invención de acuerdo con el Contrato No. NO1-AI-30046 dado por el NIAID.

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

- 10 **[0002]** Esta solicitud reivindica prioridad bajo el 35 U.S.C. § 119 de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Serie No. 60/757,036, presentado en enero 9, 2006, cuya descripción se incorpora aquí como referencia.

CAMPO TÉCNICO

15

- [0003]** La presente invención se relaciona con métodos para tratar hepatitis viral, compuestos útiles en el tratamiento de hepatitis viral, y composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos.

20

ANTECEDENTES

- [0004]** La hepatitis se refiere a una variedad de condiciones que involucran la inflamación del hígado. La hepatitis viral, de la cual hay varios tipos (por ejemplo, hepatitis A, B, C, D y E), es una inflamación del hígado debido a una infección viral. Cada tipo de hepatitis viral puede exhibir diferentes síntomas y se puede caracterizar por diferentes aproximaciones al tratamiento y prevención. Por
- 25

ejemplo, se han desarrollado vacunas para la hepatitis A y B, pero no para la hepatitis C o E.

[0005] La principal meta del tratamiento de la hepatitis C crónica es eliminar el
5 ARN viral detectable de la sangre. A los pacientes a los que les falta el ARN
detectable del virus de la hepatitis C en la sangre 24 semanas después de
completar la terapia tienen típicamente una prognosis favorable y se pueden
considerar curados del virus. Tal condición se conoce como respuesta virológica
sostenida. Para los pacientes que no logran una respuesta virológica sostenida,
10 puede haber otros beneficios más sutiles del tratamiento, tal como hacer más lenta
la progresión de cirrosis hepática (fibrosis).

[0006] El tratamiento del virus de la hepatitis C (HCV) comúnmente involucra la
administración de interferón inyectable (o interferón pegilado inyectable),
15 ribavirina, o una combinación de ésta. El interferón alfa es una glicoproteína de
ocurrencia natural que se secreta por las células en respuesta a infecciones
virales. Éste ejerce sus efectos al unirse a un receptor de membrana. La unión del
receptor inicia una serie de eventos de señalización intracelular que finalmente
conducen a la expresión mejorada de ciertos genes. Esto conduce al
20 mejoramiento e inducción de ciertas actividades celulares que incluyen el aumento
de la muerte de la célula objetivo por los linfocitos y la inhibición de la replicación
del virus en células infectadas. La ribavirina es un nucleósido sintético que tiene
actividad contra un amplio espectro de virus.

25 **[0007]** El interferón alfa, con o sin ribavirina, está asociado con muchos efectos
colaterales. Los síntomas similares al resfriado, depresión, enrojecimiento de la
cara, otras reacciones inusuales y conteos sanguíneos anormales son ejemplos

comunes de tales efectos colaterales. La ribavirina está asociada con un riesgo significativo de desarrollo fetal anormal. De acuerdo con esto, las mujeres que pueden estar potencialmente embarazadas no deben iniciar terapia hasta que se haya obtenido un reporte de prueba de embarazo negativo. A los pacientes

5 hembra se les aconseja evitar quedar embarazadas durante el tratamiento. A los pacientes que utilizan interferón alfa y ribavirina se les aconseja tener pruebas de sangre aproximadamente una vez al mes, y un poco más frecuentemente al inicio del tratamiento. Ciertos grupos de pacientes no pueden tomar ribavirina, por ejemplo, aquellos con anemia, enfermedad cardíaca o enfermedad renal. En tales

10 casos, se prescribe típicamente solo el interferón alfa pegilado. Algunos pacientes con hepatitis C (por ejemplo, pacientes que tienen también enfermedad hepática avanzada) se les aconseja no tomar interferón alfa o interferón alfa pegilado en razón al riesgo de serios efectos colaterales. Para tales pacientes, ningún método previamente disponible de tratamiento se reconoce por ser efectivo y seguro para

15 el tratamiento de la hepatitis C.

[0008] Existe por lo tanto una necesidad en la técnica de desarrollar un método efectivo de tratamiento de la hepatitis C. Un método ideal de tratamiento lograría una respuesta virológica sostenida en un amplio rango de pacientes. Tal

20 tratamiento emplearía agentes activos fácilmente disponibles y tendrían mínimos efectos colaterales. Cuando se emplea co-administración del interferón alfa, un método ideal de tratamiento requeriría reducir las cantidades de interferón alfa (es decir, frecuencia reducida de administración, cantidad reducida por administración, o ambos) comparado con los métodos tradicionales de tratamiento.

RESUMEN DE LA INVENCION

[0009] La presente invención está dirigida a manejar uno o más de los inconvenientes anteriormente mencionados de los métodos conocidos para tratar
5 la hepatitis C viral.

[00010] En una modalidad, entonces, la descripción describe un método para tratar una paciente que sufre de hepatitis C. El método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto seleccionado
10 de nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida, y derivados de tizoxanida.

[00011] En otra modalidad, la descripción describe un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis viral. El método comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer compuesto que tiene la
15 estructura de fórmula I: $R1-NHCO-R2$. En la fórmula I, R1 y R2 se seleccionan independientemente de grupos funcionales que suministran la estabilidad mejorada del grupo NHCO en fluido y tejido biológico. En un aspecto de la modalidad, el primer compuesto no es nitazoxanida ni tizoxanida.

20 [00012] En aún otra modalidad, la descripción describe una mejora en un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis C que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de nitazoxanida, tizoxanida, o mezclas de éstas.

25 [00013] En aún otra modalidad, la descripción describe un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis C. El método comprende pretratar el paciente al administrarle al paciente durante un período de tiempo predeterminado una

primera composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto seleccionado de nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida, y derivados de tizoxanida, o mezclas de éstas. El método además comprende administrar al paciente, después del período de tiempo predeterminado, una cantidad terapéuticamente efectiva de una segunda composición que comprende un agente activo.

[00014] En aún otra modalidad, la descripción describe una composición que comprende: (a) uno o más compuestos seleccionados de nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida, y derivados de tizoxanida; (b) un interferón; y (c) un agente anti-diabetes.

[00015] En aún otra modalidad, la descripción describe composiciones efectivas en los métodos de tratamiento descritos aquí.

15

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[00016] Las Figuras 1a y 1b son gráficas que ilustran la actividad sinérgica de la nitazoxanida con el interferón alfa 2b o 2'-C-metil citidina contra la replicación de HCV en un replicón de HCV que contiene la línea celular.

20

[00017] Las Figuras 2a y 2b son gráficas que ilustran la actividad sinérgica cuando la línea celular que contiene replicón de HCV se trata primero con nitazoxanida y luego con nitazoxanida más interferón alfa 2b.

25

[00018] La Figura 3 es una gráfica de disposición del paciente que muestra la selección de los participantes para el experimento descrito en el Ejemplo 5.

[00019] La Figura 4, descrita en el Ejemplo 5, es una gráfica que muestra los niveles cuantitativos medios en el suero de ARN del HCV durante un tiempo para diferentes grupos de tratamiento.

5

[00020] La Figura 5, descrita en el Ejemplo 5, es una gráfica que muestra los niveles cuantitativos en el suero del ARN del HCV durante un tiempo para diferentes pacientes.

10 [00021] La Figura 6 es una gráfica de disposición del paciente que muestra la selección de los participantes para el experimento descrito en el Ejemplo 6.

[00022] La Figura 7, descrita en el Ejemplo 6, es una gráfica que muestra el conteo de plaquetas versus el tiempo para pacientes a los que se les administró
15 interferón alfa-2b pegilado más Alinia[®] o un placebo.

[00023] La Figura 8, descrita en el Ejemplo 6, es una gráfica que muestra el conteo de neutrófilos versus el tiempo para pacientes a los que se les administró interferón alfa 2b pegilado más Alinia[®] o un placebo.

20

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

DEFINICIONES Y NOMENCLATURA:

25 [00024] Antes de describir la presente invención en detalle, se debe entender que a menos que se indique otra cosa, esta invención no se limita a dosis, formulaciones o métodos de uso particulares, en razón a que tales pueden variar.

También se debe entender que la terminología utilizada aquí es con el propósito de describir solamente modalidades particulares, y no pretende ser limitante.

[0025] Se debe notar que, como se utiliza en esta especificación y en las reivindicaciones finales, las formas singulares “un”, “una” y “el” incluyen las referentes plurales a menos que el contexto claramente dicte otra cosa. Así, por ejemplo, “una forma de dosis” se refiere no solamente a una forma de dosis única sino también a una combinación de dos o más diferentes formas de dosis, “un agente activo” se refiere a una combinación de agentes activos así como también un agente activo único, y similares.

[00026] Como se utiliza en la especificación y en las reivindicaciones finales, los términos “por ejemplo”, “como tal”, “que incluye” y similares pretenden introducir ejemplos que clarifiquen adicionalmente la materia objeto más general. A menos que se especifique otra cosa, estos ejemplos se suministran solamente como una ayuda para entender la invención, y no pretenden limitarla de ninguna forma.

[00027] A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados aquí tiene el significado comúnmente entendido por un experto en la técnica a la cual pertenece la invención. Aunque cualquier método y material similar o equivalente a aquellos descritos aquí puede ser útil en la práctica o prueba de la presente invención, los métodos y materiales preferidos se describen adelante. La terminología específica de particular importancia de la descripción de la presente invención se define adelante.

[00028] Cuando se refiere a un compuesto de la invención, y a menos que se especifique otra cosa, el término “compuesto” pretende comprender no solamente

la entidad molecular especificada sin también sus análogos farmacéuticamente aceptables, farmacológicamente activos, que incluyen, pero no se limitan a, sales, polimorfos, ésteres, amidas, pro-fármacos, aductos, conjugados, metabolitos activos, y similares, donde tales modificaciones a la entidad molecular son apropiadas.

[00029] Los términos “tratar” y “tratamiento” como se utiliza aquí se refieren a la reducción en la severidad y/o la frecuencia de los síntomas, eliminación de los síntomas y/o causa subyacente, prevención de la ocurrencia de los síntomas y/o su causa subyacente (por ejemplo, terapia profiláctica), mejora o remedio del daño, o reducción en la intensidad de la infección.

[00030] Por los términos “cantidad efectiva” y “cantidad terapéuticamente efectiva” de un compuesto de la invención se entiende una cantidad no tóxica pero suficiente del fármaco o agente para suministrar el efecto deseado.

[00031] Por “farmacéuticamente aceptable” se significa un material que no es biológicamente o de otra forma indeseable, es decir, el material se puede incorporar en la composición farmacéutica administrada al paciente sin originar ningún efecto biológico indeseable o que interactúe de manera deletérea con cualquiera de los otros componentes de la composición en la cual está contenida. Cuando el término “farmacéuticamente aceptable” se utiliza para referirse a un portador o excipiente farmacéutico, se implica que el portador o excipiente ha cumplido los estándares requeridos para la prueba toxicológica y de fabricación o que esté incluido en la Guía de Ingredientes Inactiva preparada por la administración para Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos.

[00032] Por "paciente", o "sujeto" se significa cualquier animal para el cual sea deseable el tratamiento. Los pacientes pueden ser mamíferos, y típicamente, como se utiliza aquí, un paciente es un individuo humano.

5 **[00033]** La presente descripción incluye compuestos de fórmula I: R1-NHCO-R2, así como también su uso en el tratamiento de hepatitis, particularmente la hepatitis C, y las composiciones farmacéuticas que las comprenden.

[00034] En una modalidad de la fórmula I, R1 y R2 se seleccionan
10 independientemente de los grupos funcionales que estabilizan (es decir, suministran estabilidad mejorada de) el grupo NHCO. Por "estabilizar" se significa que el grupo NHCO es menos propenso a la reacción en fluido y tejido biológico comparado con el grupo NHCO no sustituido (por ejemplo, NH₂COH, R1-NHCOH, NH₂CO-R2, y similares), esto es, comparado con el compuesto análogo que tiene
15 hidrógeno como cualquier R1 o R2. Tales reacciones incluyen el clivaje del grupo NHCO (por ejemplo, ruptura del enlace nitrógeno-carbono), adición al grupo NHCO, reacciones de sustitución, reacciones de hidrogenación, reacciones de hidratación, reacciones de oxidación, reacciones de reducción, y similares.

20 **[00035]** En una modalidad, los compuestos de fórmula I excluyen nitazoxanida y tizoxanida. En otra modalidad, los compuestos de fórmula I incluyen nitazoxanida y tizaxanida.

[00036] En otra modalidad, R1 y R2 son cada uno un grupo cíclico sustituido o
25 no sustituido. Tales grupos pueden ser grupos heterocíclicos o un grupo carbocíclico tal como un grupo arilo o cicloalquilo. En un ejemplo, R1 es un anillo heterocíclico y R2 es un arilo, opcionalmente sustituido por uno a tres

sustituyentes. Otro grupo de ejemplo de los compuestos de fórmula I incluye compuestos en donde R1 y R2 son ambos benceno, cada uno opcionalmente sustituido por uno a tres sustituyentes.

5 **[00037]** En aún otra modalidad, R1 se selecciona de tiazol y tiadiazol sustituido por uno a tres sustituyentes, y R2 es benceno sustituido por uno a tres sustituyentes.

[00038] Ejemplos de los sustituyentes para R1 y R2 incluyen OH, alcoxi, halo, alquilo, fluoroalquilo, éster, tioalquilo, y grupos funcionales. Ejemplos específicos incluyen flúor, bromo, OAc, CH₃, CF₃, NO₂, CH₂CO₂Et, SCH₃, OCH₃ y similares.

[00039] Ejemplos de grupos heterocíclicos para R1 y R2 incluyen grupos heterocíclicos aromáticos o grupos heterocíclicos saturados o insaturados no aromáticos (grupo heterocíclico alicíclico). Tales grupos contienen, además de los átomos de carbono, por lo menos un heteroátomo (preferiblemente 1 a 4 heteroátomo(s), más preferiblemente 1 a 2 heteroátomo(s), y pueden contener de 1 a 3 diferentes clases de heteroátomos, (preferiblemente 1 a 2 heteroátomo(s)). Como se utiliza aquí, el término "heteroátomo" pretende incluir átomos de oxígeno, átomos de azufre, y átomos de nitrógeno.

[00040] Ejemplos del "grupo heterocíclico aromático" incluye un grupo heterocíclico monocíclico aromático tal como un grupo heterocíclico monocíclico aromático de 5 o 6 miembros (por ejemplo, furilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, furazanilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, tetrazolilo,

piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, etc.); un grupo heterocíclico fusionado aromático tal como un grupo heterocíclico fusionado aromático de 8 a 12 miembros (por ejemplo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzotienilo, indolilo, isoindolilo, 1H-indazolilo, bencindazolilo, benzoxazolilo, 1,2-benzoisooxazolilo, 5 benzotiazolilo, benzopiranilo, 1,2-benzoisotiazolilo, 1H-benzotriazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, naftilidinilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, alfa-carbolinilo, beta-carbolinilo, gama-carbonilino, acridinilo, fenoxazinilo, fenotiazinilo, fenazinilo, fenoxatinilo, tiantrenilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, indolizinilo, pirrolo[1,2-b]piridazinilo, pirazolo[1,5-a]piridilo, imidazo[1,2-a]piridilo, imidazo[1,5-a]piridilo, imidazo[1,2-b]piridazinilo, 10 a]piridilo, imidazo[1,2-a]pirimidinilo, 1,2,4-triazolo[4,3-a]piridilo, 1,2,4-triazolo[4,3-b]piridaixzinilo); preferiblemente, un grupo heterocíclico que consiste del grupo heterocíclico monocíclico aromático de 5 o 6 miembros anteriormente mencionado fusionado con un grupo de anillo de benceno o heterocíclico que consiste del grupo heterocíclico monocíclico aromático de 5 o 6 miembros fusionado con el 15 mismo o diferente grupo heterocíclico monocíclico aromático de 5 o 6 miembros anteriormente mencionado.

[00041] Ejemplos del “grupo heterocíclico no aromático” incluye un grupo heterocíclico no aromático (grupo heterocíclico alifático) saturado o insaturado 20 (preferiblemente saturado) de 3 a 8 miembros (preferiblemente 5 o 6 miembros) tal como oxiranilo, azetidinilo, oxetanilo, tietanilo, pirrolidinilo, tetrahidrofurilo, tiolanilo, piperidinilo, tetrahidropiranilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperazinilo.

25 **[00042]** En una modalidad de los compuestos que tienen la estructura de fórmula I, R1 es heterocíclico. En otra modalidad, R1 es heterocíclico que comprende 2 o 3 heteroátomos. En aún otra modalidad, R1 es heterocíclico

sustituido y comprende 2 o 3 heteroátomos. En aún otra modalidad, R1 es heterocíclico, sustituido con 1, 2, o 3 grupos seleccionados de hidróxido, halógeno (es decir, yodo, cloro, bromo, o fluor), alcoxi (por ejemplo, OCH₃), fluoroalquilo (por ejemplo, CF₃), éster (por ejemplo, CH₂CO₂Et), tioalquilo (por ejemplo, SCH₃), OAc, y alquilo (por ejemplo, CH₃). Por ejemplo, R1 es tiazol o tiazol sustituido.

[00043] En una modalidad de los compuestos que tienen la estructura de fórmula I, R2 es arilo. En otra modalidad, R2 es arilo sustituido. En aún otra modalidad, R2 es arilo que comprende 2, 3, o 4 sustituyentes. En otra modalidad, R2 es arilo y comprende sustituyentes en las posiciones orto y meta (con relación al punto de unión del grupo arilo al grupo carbonilo de fórmula I). En aún otra modalidad, R2 es arilo que comprende 2 o más sustituyentes seleccionados de hidróxido, halógeno (es decir, yodo, cloro, bromo, o flúor), alcoxi (por ejemplo, OCH₃), fluoroalquilo (por ejemplo, CF₃), éster (por ejemplo, CH₂CO₂Et), tioalquilo (por ejemplo, SCH₃), OAc, y alquilo (por ejemplo, CH₃).

[00044] En una modalidad de los compuestos que tienen la estructura de fórmula I, la reactividad del grupo NHCO del compuesto se reduce hacia las reacciones de clivaje comparadas con la reactividad de los compuestos análogos que tienen hidrógeno como R1 o R2.

[00045] En otra modalidad, R1 y R2 se seleccionan independientemente de los grupos cíclicos sustituidos, grupos cíclicos no sustituidos, grupos heterocíclicos sustituidos, y grupos heterocíclicos no sustituidos, en donde R1, R2, o ambos R1 y R2 son opcionalmente aromáticos. En aún otra modalidad, R1 y R2 se seleccionan de arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, alicíclico, alicíclico sustituido, heterocíclico, y heterocíclico sustituido. En aún otra modalidad, R1 y R2

81

son cada uno sustituidos con de uno a tres sustituyentes independientemente seleccionados de OH, NO₂, alcoxi (tal como metoxi), halo (tal como F y Br), alquilo (tal como metilo), fluoroalquilo (tal como fluorometilo), éster (tal como OAc, y CH₂CO₂Et), y tioalquilo (tal como tiometilo). En una modalidad aún adicional, por lo

5 menos uno de R1 y R2 es heterocíclico. En una modalidad aún adicional, por lo menos uno de R1 y R2 comprende entre 1 y 3 heteroátomos. En aún otra modalidad, por lo menos uno de R1 y R2 comprende un grupo heterocíclico seleccionado de heterociclos monocíclicos aromáticos, heterociclos fusionados aromáticos, y heterociclos no aromáticos. En una modalidad aún adicional, por lo

10 menos uno de R1 y R2 comprende un grupo heterocíclico seleccionado de furilo, tienilo, pirrolilo, oxazolilo, isooxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, furazanilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,4-tiadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, tetrazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, triazinilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzotienilo, indolilo, isoindolilo, 1H-indazolilo, bencindazolilo,

15 benzoxazolilo, 1,2-benzoisooxazolilo, benzotiazolilo, benzopiranilo, 1,2-benzoisotiazolilo, 1H-benzotriazolilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, naftilidinilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, alfa-carbolinilo, beta-carbolinilo, gama-carbonilino, acridinilo, fenoxazinilo, fenotiazinilo, fenazinilo,

20 fenoxatinilo, tiantrenilo, fenantridinilo, fenantrolinilo, indolizinilo, pirrolo[1,2-b]piridazinilo, pirazolo[1,5-a]piridilo, imidazo[1,2-a]piridilo, imidazo[1,5-a]piridilo, imidazo[1,2-b]piridazinilo, imidazo[1,2-a]pirimidinilo, 1,2,4-triazolo[4,3-a]piridilo, 1,2,4-triazolo[4,3-b]piridaixzinilo, oxiranilo, asetidinilo, oxetanilo, tietanilo, pirrolidinilo, tetrahidrofurilo, tiolanilo, piperidinilo, tetrahidropiranilo, morfolinilo,

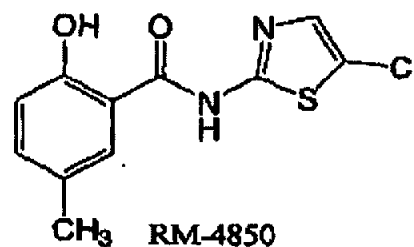
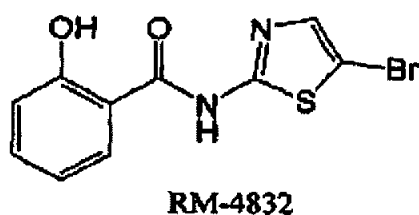
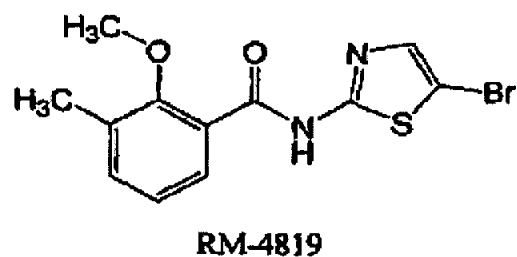
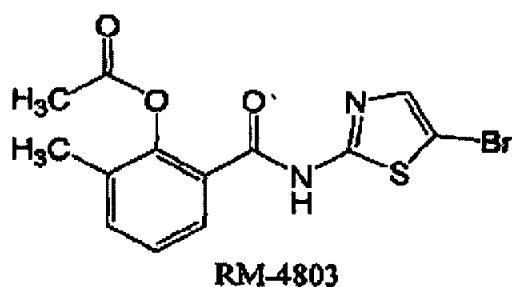
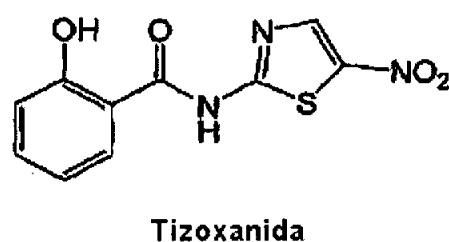
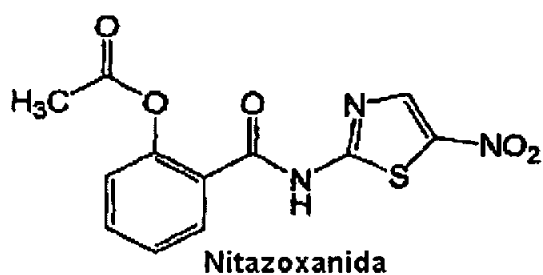
25 tiomorfolinilo, y piperazinilo, cualquiera de los cuales se puede sustituir opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes. En otra modalidad, R1 es un grupo heterocíclico sustituido opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes y R2 es arilo

sustituido opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes. En aún otra modalidad, R1 es tiazol o tiadiazolo sustituido opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes. En una modalidad aún adicional, R2 es fenilo sustituido opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes. En una modalidad aún adicional, R1 y R2 son ambos arilo, cada uno

5 sustituido opcionalmente con 1 a 3 sustituyentes.

[00046] Ejemplos de compuestos que tienen la estructura de la fórmula I incluyen nitazoxanida, tizoxanida, RM-4803, RM-4819, RM-4832, y RM-4850, en donde se prefieren particularmente la nitazoxanida, tizoxanida, RM-4819, RM-

10 4832, y RM-4850. Las estructuras de estos compuestos se muestran en la siguiente lista:



15 [00047] Como se describe adelante, las composiciones de la presente descripción comprenden, como un agente activo, compuestos que tienen la

estructura de fórmula I en una forma farmacéuticamente aceptable. Si se desea, las composiciones pueden comprender además uno o más agentes activos adicionales (también descritos en detalle adelante). Donde sea apropiado, cualquiera de los agentes activos se pueden administrar en la forma del compuesto *per se*, y/o en la forma de una sal, polimorfo, éster, amida, pro-
5 fármaco, derivado, o similar, siempre y cuando la sal, polimorfo, éster, amida, pro-fármaco o derivado sea farmacológicamente adecuado. Donde sea apropiado, las sales, ésteres, amidas, pro-fármacos y otros derivados de los agentes activos se pueden preparar utilizando procedimientos estándar conocidos por aquellos
10 expertos en la técnica de química orgánica sintética y se describen, por ejemplo, por J. March, Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms and Structure, 4th Ed. (New York: Wiley-Interscience, 1992). Para cualquiera de los agentes activos que puedan existir en formas enantioméricas, el agente activo se puede incorporar en las composiciones presentes como el racemato o en la forma
15 enantioméricamente enriquecida.

[00048] Los compuestos que tienen la estructura de fórmula I se pueden preparar de acuerdo con los métodos de la literatura. Por ejemplo, la preparación de los compuestos 1a y 1b se describe en la Patente U.S. No. 3,950,351, y WO
20 95/28393, respectivamente. Los métodos sintéticos para la preparación de análogos y derivados de la y 1b, así como también otros compuestos que tienen estructuras que caen dentro del alcance de la fórmula I, emplean procedimientos conocidos que serán evidentes para el experto en la técnica.

25 **[00049]** Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con esta descripción comprenden un compuesto que tiene la estructura de la fórmula I, como se describe aquí. Tales composiciones farmacéuticas también pueden comprender:

(1) uno o más compuestos adicionales que tienen la estructura de la fórmula (I);
(2) uno o más portadores farmacéuticamente aceptables descritos aquí; y (3) uno
o más componentes adicionales descritos como se describen aquí. Las
composiciones pueden contener de 0.05% a 95% en peso de el o los agentes
5 activos, con el o los portadores farmacéuticamente aceptables y cualquier
componente adicional que forma el 5% al 99.95% en peso del resto.

[00050] Uno o más agentes activos adicionales se pueden incluir en las
composiciones farmacéuticas y los métodos de tratamiento descritos aquí. En una
10 modalidad, el agente activo adicional es efectivo para tratar hepatitis. Por ejemplo,
las composiciones pueden incluir uno o más agentes terapéuticos adicionales
útiles para tratar la hepatitis C tal como ribavirina y agentes estimulantes inmunes
tales como interferones, que incluyen el interferón α -2b, un derivado de interferón
 α -2b tal como una forma conjugada de polietilenglicol de interferón α -2b, interferón
15 α -2a, o interferón alfacon-1. Ejemplos específicos también incluyen Omega IFN
(BioMedicines Inc., Emeryville, CA); BILN-2061 (Boehringer Ingelheim Pharma
KG, Ingelheim, Alemania); Summetrel (Endo Pharmaceuticals Holdings Inc.,
Chadds Ford, PA); Roferon A, Pegasys, Pegasys y Ribavirina, y CellCept (F.
Hoffmann-La Roche LTD, Basel, Suiza); Wellferon (GalxoSmithKline plc, Uxbridge,
20 UK) Albuferón- α (Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD); Leovirina (ICN
Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA); IDN-6556 (Idun Pharmaceuticals Inc., San
Diego, CA); IP-501 (Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA); Actinmune
(InterMune Inc., Brisbane, CA); Infergen A (InterMune Pharmaceuticals Inc.,
Brisbane, CA); ISIS 14803 (ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan
25 Pharmaceuticals Inc., New York, NY); JTK-003 (Japan Tobacco Inc., Tokio,
Japón); Ceplene, Pegasys y Ceplene (Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego
CA); Civacir (Biopharmaceuticals Inc., Boca Ratón, FL); Intrón A y Zadaxin

(RegeneRx Biopharmaceuticals Inc., Bethesda, MD/SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA); Leovirin, Viramidina (Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA); Heptazina (Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO); Intrón A, PEG-Intrón, Rebetron, Ribavirin, PEG-Intrón/Ribavirin (Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ); Zadazim (SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo CA); Rebif (Serono, Ginebra, Suiza); IFB- β y EMZ701 (Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá); T67 (Tularik Inc., South San Francisco, CA); VX-497 (Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA); VX-950/LY-570310 (Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly y Co. Inc., Indianápolis, IN); Ommiferon (Viragen Inc., Plantation, FL); y XTL-002 (Biopharmaceuticals Ltd., Rehovot, Israel).

[00051] Además o en lugar de los agentes anti-hepatitis, las composiciones farmacéuticas y los métodos descritos aquí pueden comprender uno o más agentes activos adicionales según sea apropiado. Los agentes activos adicionales incluyen aquellos efectivos para tratar trastornos del sistema endocrino tal como diabetes e hiperinsulinemia. Ejemplos de agentes anti-diabetes incluyen insulina, pramlintida, exenatida, sulfonilureas (por ejemplo, clorpropamida, glipizida, gliburida, glimepirida), meglitinidas (por ejemplo, repaglinida, nateglinida), biguanidas (por ejemplo, metformina), tiazolidinodionas (por ejemplo, rosiglitazona, troglitazona, pioglitazona), e inhibidores de α -glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, meglitol). Tales agentes activos se pueden administrar antes o concurrentemente con la administración de los compuestos descritos aquí con el fin de regular los niveles de insulina en el plasma. Cuando se administran concurrentemente, tales agentes activos adicionales se pueden administrar como parte de la misma formulación con los compuestos descritos aquí, o se pueden administrar en una formulación separada. De manera similar, otros agentes activos tales como

aquellos efectivos para tratar enfermedades del hígado también se pueden utilizar con los compuestos descritos aquí.

[00052] Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la descripción que son adecuados para los usos descritos aquí también pueden comprender un portador farmacéuticamente aceptable. Los portadores farmacéuticos apropiados pueden depender, por ejemplo, del método de administración de las composiciones, como se apreciará por un experto en la técnica.

10

[00053] Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos, o mezclas de éstos. Los portadores farmacéuticamente aceptables son materiales tales como ligadores, lubricantes, desintegrantes, rellenos, tensoactivos, emulsificantes, agentes colorantes, y similares. Los ligadores se utilizan para impartir cualidades cohesivas, y asegurar así que la composición permanece intacta (por ejemplo, como un implante o una tableta). Los materiales de unión adecuados incluyen, pero no se limitan a, matrices de polímero, hidrogeles, almidón (que incluye almidón de maíz y almidón pregelatinizado), gelatina, azúcares (que incluyen sacarosa, glucosa, dextrosa, y lactosa), polietilenglicol, ceras, y gomas naturales y sintéticas, por ejemplo, alginato de sodio de acacia, polivinilpirrolidona, polímeros celulósicos (que incluyen hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, metil celulosa, celulosa microcristalina, etil celulosa, hidroxietil celulosa, y similares), y Veegum. Los lubricantes se utilizan para facilitar la elaboración, promover el flujo de polvo y evitar el descabezado de partícula (es decir, la ruptura de la partícula) cuando se alivia la presión. Los lubricantes útiles son estearato de magnesio, estearato de calcio, y ácido esteárico. Los desintegrantes se utilizan para facilitar la

20

25

desintegración de la composición, y son generalmente almidones, arcillas, celulosas, alginas, gomas, o polímeros reticulados. Los rellenos incluyen, por ejemplo, materiales tales como dióxido de silicio, dióxido de titanio, alúmina, talco, caolín, celulosa en polvo, y celulosa microcristalina, así como también materiales
5 solubles tales como manitol, urea, sacarosa, lactosa, dextrosa, cloruro de sodio, y sorbitol. Los tensoactivos son agentes humectantes, y pueden incluir materiales iónicos tales como sales de ácido graso y materiales no iónicos tales como PLURONICS™ (tal como F-127, L-122, L-101, L-92, L-81, y L-61).

10 [00054] Por ejemplo, el portador farmacéuticamente aceptable para las composiciones descritas aquí puede comprender uno o más polímeros biocompatibles. Por "biocompatible" se significa un material que no elicitaba una respuesta adversa cuando se somete a un ambiente biológico tal como el implante o la inyección *in vivo*. Adicionalmente, en una modalidad, los materiales
15 biocompatibles no elicitaban una respuesta inmune cuando se administran *in vivo*. A menos que se establezca otra cosa, los materiales biocompatibles incluyen materiales que son bioerosionables, biodegradables y bioreabsorbibles.

[00055] Los portadores de polímero tales como los polímeros biocompatibles
20 pueden ser homopolímeros o copolímeros de cualquiera de las unidades de monómero descritas aquí. Adicionalmente, los copolímeros no están limitados a ninguna arquitectura específica, y pueden consistir de copolímeros aleatorios, alternantes, de bloque (incluyendo multibloque), de estrella, de peine, de injerto, y tipo dendrímico, así como también combinaciones de éstos. Las mezclas de más
25 de un polímero bioerosionable también están dentro del alcance de esta descripción. Se apreciará que los polímeros reticulados y reticulables se pueden utilizar en tanto tal reticulación no afecte adversamente la capacidad del material a

formar las composiciones descritas aquí (por ejemplo, la capacidad del material a bioerosionarse). Por ejemplo, reticulaciones reversibles (en donde las reticulaciones comprenden enlaces intermoleculares no covalentes y/o débilmente covalentes) pueden estar presentes antes de la administración de las composiciones, o tales enlaces se pueden formar *in vivo*.

[00056] Los polímeros bioerosionables adecuados pueden comprender poli(ortoéster)es, poli(lactona)s, tal como poli(ϵ -caprolactona) y poli(γ -caprolactona), poli(lacturo)s, poli(ácido láctico), poli(glicolido)s, poli(ácido glicólico), poli(etileno terftalato), poli(ácido butírico), poli(ácido valérico), polímeros de anhídridos, poli(vinil alcohol), poli(etileno vinil acetato), polímeros de ácido α -hidroxicarboxílico y derivados de éstos, albúmina, colágeno, gelatina, ácido hialurónico, almidón, celulosa y derivados de celulosa (por ejemplo, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxpropilmetilcelulosa), caseína, dextranos, polisacáridos, fibrinógeno, copolímeros multibloque de poli(éter éster), poli(éter)es tal como poli(etilenglicol), y poli(butileno tereftalato), policarbonatos derivados de tirosina, poli(ácidos hidroxilo), poli(hidroxibutirato), polidioxanona, poli(alquilcarbonato), poli(ácido hidroxivalérico), polidioxanona, poliésteres degradables, poli(ácido málico), poli(ácido tartrónico), poli(archilamidas), polifosfazenos, poli(amino ácidos), poli(óxido de alqueno)-copolímeros de bloque de poli(éster), poli(ácido hidroxibutírico), poli(beta-butirolactona), poli(gama-butirolactona), poli(gama-valerolactona), poli(d-decanolactona), poli(trimetileno carbonato), poli(1,4-dioxano-2-ona) o poli(1,5-dioxepan-2-ona), o combinaciones de éstos (es decir, copolímeros de las unidades de monómero constituyentes, mezclas, etc.).

[00057] Ejemplos de polímeros biodegradables incluyen polímeros sintéticos tales como polímeros de ácido láctico y ácido glicólico, polianhídridos, poli(orto)ésteres, poliuretanos, poli(ácido butírico), poli(ácido valérico), y poli(lacturo-co-caprolactona), y polímeros naturales tales como alginato y otros polisacáridos que incluyen dextrano y celulosa, colágeno, derivados químicos de éstos (sustituciones, adiciones de grupos químicos, por ejemplo, alquilo, alquileo, hidroxilaciones, oxidaciones, y otras modificaciones de rutina hechas por aquellos expertos en la técnica), albúmina y otras proteínas hidrófilas, zeína y otras prolaminas y proteínas hidrófobas, copolímeros y mezclas de éstos. En general, estos materiales se degradan mediante hidrólisis enzimática o la exposición al agua in vivo, mediante erosión superficial o de masa.

[00058] Los componentes de una composición se pueden distribuir homogéneamente a través de un portador farmacéuticamente aceptable o pueden existir regiones localizadas de gradientes de concentración. Por "distribución homogénea" se pretende incluir casos de homogeneidad molecular así como también homogeneidad de masa o macroscópica. Por ejemplo, el agente activo puede ser distribuido homogéneamente a nivel molecular (como para un soluto distribuido homogéneamente dentro de un disolvente) o un nivel macroscópico (como para partículas discretas del agente activo distribuido homogéneamente a través del portador). Los componentes de una composición se pueden unir (covalentemente o de otra manera, incluyendo fisiabsorbidos, iónicamente asociados, y similar) al portador farmacéuticamente aceptable.

[00059] Para las composiciones administradas como formas de dosis basadas en acuosos u otro disolvente (por ejemplo, para la administración parenteral), se puede utilizar una variedad de portadores líquidos. Las soluciones acuosas

pueden incluir sales, amortiguadores, y similares. Los portadores líquidos no acuosos, incluyen, por ejemplo, aceites grasos, tales como aceite de oliva y aceite de maíz, ésteres de ácido graso sintético, tales como etil oleato o triglicéridos, alcoholes de bajo peso molecular tal como propilenglicol, polímeros hidrófilos
5 sintéticos tales como polietilenglicol, liposomas, y similares.

[00060] Además de uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, las composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de los compuestos descritas aquí y adecuadas para los usos descritos aquí también pueden
10 comprender uno o más componentes adicionales. Los componentes adicionales incluyen, por ejemplo, sales, amortiguadores, mejoradores de penetración, acelerantes de absorción, materiales formadores de gel tales como polímeros, ayudas de visualización, agentes de dispersión, estabilizadores, excipientes, y plastificadores.

15

[00061] Los amortiguadores son compuestos o soluciones que se emplean para ayudar a mantener la concentración de un analito dentro del rango deseado. Por ejemplo, los amortiguadores de pH farmacéuticamente aceptables se utilizan para mantener la acidez o basicidad de una solución dentro de un rango
20 farmacéuticamente aceptable. Los amortiguadores para uso en las composiciones descritas aquí pueden ser cualquier amortiguador conocido o descubierto posteriormente.

[00062] Los mejoradores de penetración incluyen compuestos que posibilitan o
25 mejoran la permeación de las composiciones a través de límites tales como membranas. Ejemplos de mejoradores de penetración se pueden encontrar en la literatura relevante (por ejemplo, Mejoradores de Penetración Percutánea, Smith y

Maibach, eds., CRC Press, New York NY, 2005) e incluyen derivados de ciclohexanona, monoterpenos cíclicos, pirrolidonas, dioxolanos, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona (Azone), dimetilsulfóxido (DMSO), y limoneno.

- 5 **[00063]** Los materiales formadores de gel pueden ser polímeros o no polímeros, y son generalmente capaces de formar una red gelatinosa. En una modalidad, los materiales formadores de gel son capaces de formar geles *in vivo*, mientras que en otras modalidades, la formación de gel tiene lugar *ex vivo*. Ejemplos de materiales formadores de gel incluyen colágeno, chitosan, pectinas, ácido
- 10 hialuronico, y similares.

[00064] Los agentes dispersantes son tensoactivos (por ejemplo, como se describen aquí) en combinación con un disolvente tal como agua.

- 15 **[00065]** Los plastificadores son compuestos utilizados para plastificar (es decir, suavizar) el plástico y otros materiales. Ejemplos incluyen propilenglicol, acetil tributil citrato, acetil trietil citrato, *p-terc*-butilfenil salicilato, butil estearato, butilftalil butil glicolato, dibutil sebacato, di(2-etilhexil) ftalato, dietil ftalato, diisobutil adipato, diisooctil ftalato, difenil-2-etilhexil fosfato, aceites de soya epoxidizados, etilftalil etil
- 20 glicolato, glicerol monooleato, monoisopropil citrato, mono, di y triestearil citrato, triacetin (glicerol triacetato), trietil citrato, y 3 (2-Xenolil)-1,2-epoxipropano.

- [00066]** Los excipientes son ingredientes inactivos que se pueden emplear en las composiciones descritas aquí por una variedad de razones. Un amplio rango
- 25 de excipientes se describe en la literatura (por ejemplo, Rowe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, McGraw Hill, 2006).

[00067] Las ayudas de visualización son compuestos que ayudan a la visualización de la composición de suministro de fármaco de cualquiera de los componentes de éste por vía de un método de visualización tal como fluoroscopia, imágenes de resonancia magnética (MRI), luz visible, ultrasonido, o radiografía.

5 Cualquier ayuda de visualización conocida en la técnica se puede utilizar en las composiciones descritas aquí.

[00068] En un aspecto, las composiciones de la presente invención incluyen uno o más agentes preservantes o bacterioestáticos, presentes en una cantidad efectiva para preservar la composición y/o inhibir el crecimiento bacteriano en la composición. Ejemplos incluyen tribomofenato de bismuto, metil hidroxibenzoato, bacitracin, etil hidroxibenzoato, propil hidroxibenzoato, eritromicina, 5-fluorouracilo, metotrexato, doxorubicina, mitoxantrona, rifamicina, clorocresol, cloruros de benzalconio, ésteres de ácido paraoxibenzóico, clorobutanol, bencilalcohol, fenetil alcohol, ácido deshidroacético, ácido sórbico, y similares.

[00069] Los estabilizadores incluyen compuestos tales como antioxidantes, y se utilizan para inhibir o retardar las reacciones de descomposición que incluyen, por vía de ejemplo, reacciones oxidativas. Ejemplos del estabilizador incluyen hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), ácido ascórbico, ácido etileno diamina tetracético (EDTA), compuestos derivados de tocoferol tales como alfa-tocoferol, sulfitos, terc-butilhidroquinona, ácido cítrico, ácido acético y pectina.

[00070] Las composiciones descritas aquí o los precursores de éstos pueden además contener agentes porosificantes que logran mayor área de superficie de, por ejemplo, un implante o tableta. Ejemplos de agentes porosificantes incluyen sales inorgánicas, sacarosa, tensoactivos, polímeros de peso molecular bajo,

polímeros de rápida degradación, precipitantes de polímero termoreversible, burbujas de gas, y burbujas de cavitación.

[00071] La cantidad de agente activo (así como también otros ingredientes
5 activos, cuando están presentes) en las composiciones descritas aquí dependerán de un número de factores y variarán de sujeto a sujeto. Tales factores serán evidentes para un experto en la técnica, y pueden incluir el trastorno o condición particular que se va a tratar, el modo de administración, la severidad de los síntomas, la edad del paciente, el peso y la condición general, y el juicio del
10 médico que prescribe.

[00072] En una modalidad, una composición comprende un compuesto de fórmula I como un agente activo y un portador farmacéuticamente aceptable. El portador se puede utilizar en cualquier cantidad conveniente con relación al agente
15 activo, y la proporción en peso del portador al agente activo puede variar desde aproximadamente 0.1 a 1 a aproximadamente 100,000 a 1 dependiendo de la aplicación. En un ejemplo de esta modalidad, la composición consiste solamente del agente activo y un portador farmacéuticamente aceptable. En otro ejemplo, la composición comprende el agente activo, un portador, y uno o más componentes
20 adicionales tales como aquellos descritos aquí. En un ejemplo aún adicional, la composición comprende el agente activo, un segundo agente activo, uno o más portadores, y uno o más componentes adicionales.

[00073] Los compuestos que tienen la estructura de la fórmula I como se
25 describen aquí son útiles como medicamentos y como agentes activos en composiciones farmacéuticas. En una modalidad, tales compuestos y composiciones son útiles en el tratamiento de hepatitis viral. En particular, los

compuestos y composiciones son útiles en el tratamiento de pacientes que sufren del virus de la hepatitis B (HBV) y el virus de la hepatitis C (HCV).

[00074] En otra modalidad, los compuestos descritos aquí son útiles en un método mejorado de tratar la hepatitis C con un interferón, en donde la mejora comprende administrar una cantidad efectiva de nitazoxanida, tizoxanida, o mezclas de éstos a un sujeto necesitado de éstas. Por vía de esta mejora, el porcentaje de sujetos que exhiben ARN del HCV reducido en el suero se incrementan en comparación con un método de tratar la hepatitis C con el interferón o con una combinación de ribavirina y el interferón. Además, la cantidad de interferón requerido para lograr una respuesta virológica sostenida en el paciente se puede reducir comparada con la cantidad de interferón requerida para lograr una respuesta virológica sostenida en el paciente sin administración de nitazoxanida, tizoxanida, o mezclas de éstas. Adicionalmente, la cantidad de interferón requerido para lograr una respuesta virológica sostenida en el paciente se puede reducir comparada con la cantidad de interferón requerido para lograr una respuesta virológica sostenida en el paciente cuando se trata con una combinación de ribavirina y el interferón. En una modalidad, un método de tratamiento se suministra en donde un paciente que sufre de hepatitis C se pretrata utilizando nitazoxanida y/o tizoxanida antes de que sea tratado con un interferón (tal como cualquiera de los interferones descritos aquí). Ejemplos específicos de esto y otras modalidades se describen con más detalle adelante.

[00075] La nitazoxanida, tizoxanida, y mezclas de éstas son particularmente efectivas en el tratamiento de la hepatitis C. Al tratar pacientes con hepatitis C con nitazoxanida, tizoxanida, o una mezcla de éstas, puede ser posible reducir la cantidad de interferón necesaria para el tratamiento efectivo, aunque tal reducción

no es necesaria. También puede ser posible evitar el uso de ribavirina completamente, aunque esto tampoco es necesario. Estos beneficios se pueden obtener aunque se incremente simultáneamente el porcentaje de sujetos que responden favorablemente en términos de una reducción del ARN de HCV en el suero. Así, la presente descripción describe un método para tratar la hepatitis C que comprende administrar a un sujeto necesitado de ello una cantidad efectiva de nitazoxanida, tizoxanida, o una mezcla de éstas. De manera similar, la presente invención incluye cualquiera de las modalidades anteriores en las cuales cualquier compuesto de fórmula I o combinación de tales compuestos se utilizan en lugar de nitazoxanida y tizoxanida.

[00076] La administración de las composiciones descritas aquí se puede llevar a cabo utilizando cualquier modo de administración y forma de dosis apropiado. Así, la administración puede ser, por ejemplo, oral, ocular, bucal, rectal, tópica, parenteral, transdérmica, transmucósica, sublingual, mediante inhalación (utilizando composiciones sólidas o líquidas), o por vía de un reservorio implantado en una forma de dosis. Se apreciará que la ruta más adecuada en cualquiera de los casos dados dependerá de la naturaleza y la severidad de la condición que se trata y de la naturaleza de la forma particular del compuesto de fórmula I que se está utilizando. El término "parenteral" como se utiliza aquí pretende incluir, por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intradérmica, e intramuscular. El término "transmucósica" como se utiliza aquí pretende incluir, por ejemplo, administración rectal, vaginal, bucal, sublingual, y perianal. El término "inhalación" como se utiliza aquí pretende incluir inhalación por vía de la nariz o de la boca, e incluye casos en donde la absorción de la composición ocurre en los pulmones así como también, por ejemplo, las membranas de mucosa de la boca, nariz, y garganta. La administración por vía de los implantes pretende incluir

implantes fijos en cualquier parte o ubicados en cualquier parte dentro del cuerpo, que incluyen dentro de las cavidades del cuerpo (por ejemplo, implantes intraperitoneales, implantes intraoculares, implantes en articulaciones, etc.), dentro de órganos, y subcutáneamente.

5

[00077] Dependiendo del modo pretendido de administración, la composición farmacéutica puede ser un sólido, semi-sólido, o líquido tal como, por ejemplo, una tableta, una cápsula, una capsuleta, un aerosol, un líquido, una suspensión, una emulsión, una crema, un gel, un supositorio, gránulos, microesferas, glóbulos, una

10

[00078] En una modalidad, la composición comprende una forma de dosis unitaria adecuada para la administración única de una dosis precisa. En otra modalidad, la composición comprende un reservorio tal como un implante capaz

15

[00079] Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosis adecuadas se pueden preparar utilizando métodos convencionales conocidos por aquellos en el campo de la formulación farmacéutica y descrita en los textos pertinentes y la

20

[00080] Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden estar

25

presentes en unidades discretas, tales como cápsulas, obleas, pastillas o tabletas, que contienen cada una, una cantidad predeterminada del compuesto de fórmula I; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido

acuoso o no acuoso; o como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite. Tales formulaciones se pueden preparar mediante cualquier método adecuado de farmacia que incluye la etapa de llevar en asocio el compuesto activo y un portador adecuado (que puede contener uno o más ingredientes accesorios).

5

[00081] Las tabletas se pueden elaborar utilizando procedimientos y equipo de procesamiento de tableta estándar. Además de reversita, las tabletas generalmente contendrán materiales de portador farmacéuticamente aceptables inactivos como se describen aquí. Las cápsulas adecuadas pueden ser duras o
10 suaves, y en general están hechas de gelatina, almidón, o material celulósico, con cápsulas de gelatina preferidas. Cápsulas de gelatina dura de dos piezas se sellan preferiblemente, tal como bandas de gelatina o similar. Ver, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, citada *supra*, que describe materiales y métodos para preparar farmacéuticos encapsulados. Las formas de
15 dosis oral, sean de tabletas, cápsulas, capsuletas, o particulados, pueden si se desea, ser formuladas con el fin de suministrar una liberación gradual, sostenida del agente activo durante un período de tiempo extendido. Por ejemplo, como se apreciará por aquellos expertos en la técnica, las formas de dosis se pueden formular al dispersar el agente activo dentro de una matriz de un material
20 gradualmente hidrolizable tal como un polímero hidrófilo, o al recubrir una forma de dosis que contiene un fármaco sólida con tal material. Un ejemplo de una forma de dosis preferida es Alinia[®] (ver el inserto de paquete Alinia[®] y/o las Patentes US Nos. 5,387,598, 5,578,621, 5,968,961, 5,856,348, 5,859,138, 5,886,013, 5,965,590, 6,020,353, y 6,117,894). Se debe entender que, a menos que se
25 especifique otra cosa, en la presente descripción (incluyendo los ejemplos y las reivindicaciones) cualquier referencia hecha a Alinia[®] se suministra solamente como ejemplos, y no pretende ser limitante. Así, tales referencias se pretenden

aplicar igualmente a otras formulaciones que comprenden nitazoxanida, tizoxanida, y/o compuestos que tienen la estructura de la fórmula I.

[00082] Las formulaciones adecuadas para la administración bucal (por ejemplo, sublingual) incluyen pastillas que comprenden un compuesto de fórmula I, en una base saborizada, usualmente de sacarosa y acacia o tragacanto; y pastillas que comprenden el compuesto en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

[00083] Las preparaciones de acuerdo con la descripción adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones acuosas y no acuosas estériles, suspensiones, y emulsiones. Tales preparaciones son preferiblemente isotónicas con la sangre del recipiente pretendida. Las soluciones acuosas inyectables pueden contener el agente activo en forma soluble en agua, o pueden contener una suspensión o emulsión del agente activo. Ejemplos de disolventes no acuosos o portadores se describen aquí. Las formulaciones parenterales también pueden contener adyuvantes tales como solubilizadores, preservantes, agentes humectantes, emulsificadores, dispersantes, y estabilizadores, y las suspensiones acuosas pueden contener sustancias que incrementan la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol, y dextrano. Las composiciones inyectables pueden ser por vía estéril, por ejemplo, incorporación de un agente esterilizante, filtración a través de un filtro retenedor de bacterias, irradiación, o calor. Ellas también se pueden elaborar utilizando un medio inyectable estéril. Cualquier agente activo presente en las composiciones también puede estar en forma seca, por ejemplo, liofilizada, que se pueda rehidratar con un portador adecuado inmediatamente antes de la administración por vía de inyección. Las preparaciones parenterales se administran preferiblemente

intravenosamente, aunque la administración se puede efectuar por medio de inyección subcutánea, intramuscular, o intradérmica. En una modalidad, tales preparaciones se preparan al mezclar el compuesto con agua o un amortiguador de glicerina y hacer la solución resultante estéril e isotónica con la sangre.

5

[00084] Las composiciones descritas aquí también se pueden administrar a través de la piel utilizando sistemas de suministro de fármaco transdérmico convencional, en donde el agente activo está contenido dentro de una estructura laminada que sirve como un dispositivo de suministro de droga para ser fijado a la

10 piel. En tal una estructura, la composición del agente activo está contenido en una capa, o "reservorio", que subyace en una capa de respaldo superior. La estructura laminada puede un único reservorio, o esta puede contener múltiples reservorios. En una modalidad, el reservorio comprende una matriz polimérica de un material de contacto adhesivo farmacéuticamente aceptable que sirve para fijar el sistema

15 a la piel durante el suministro de droga. Alternativamente, el reservorio que contiene el agente activo y el adhesivo de contacto a la piel están presentes como capas distintas y separadas, con el adhesivo que subyace al reservorio, que, en es caso, puede ser una matriz polimérica como se describió anteriormente, o puede ser un reservorio de hidrogel o líquido, o puede tomar alguna otra forma. Los

20 sistemas de suministro de droga transdérmicos pueden en adición contener un mejorador de permeación de la piel. Las formulaciones para administración transdérmica también se pueden suministrar por iontoforesis (ver, por ejemplo, Pharmaceutical Research 3(6), 318, (1986)) y formulaciones adecuadas toman típicamente la forma de una solución acuosa opcionalmente amortiguada de un

25 compuesto de la fórmula I. Las formulaciones adecuadas comprenden, por ejemplo, citrato o amortiguador bis/tris (pH 6) o etanol/agua y contiene de 0.1 a 0.2 m de ingrediente activo.

[00085] Las composiciones descritas aquí también se pueden administrar tópicamente utilizando formas de dosificación tópica convencionales, en donde el agente activo está contenido dentro de un portador. Las formas de dosificación
5 adecuadas para aplicación tópica incluyen, por vía de ejemplo, cremas, pastas, gelatinas, geles, ungüentos, líquidos, aerosoles, aceites, lociones, espumas, suspensiones, y emulsiones. Los portadores que se pueden utilizar incluyen vaselina, lanolina, polietilenglicoles, alcoholes, y combinaciones de dos o más de estos.

10

[00086] En adición a las formulaciones descritas previamente, los compuestos se pueden formular como una preparación de depósito para liberación controlado del agente activo, preferiblemente liberación sostenida durante un periodo de tiempo extendido. Estas formas de dosificación de liberación sostenida se pueden
15 administrar por implantación (por ejemplo, subcutáneamente, intraperitonealmente, intramuscular o por inyección intramuscular).

20

[00087] Las formulaciones adecuadas para administración rectal se presentan preferiblemente como supositorios de dosis unitaria. Estos se pueden preparar al
mezclar un compuesto de la fórmula I con uno o más portadores sólidos convencionales, por ejemplo, manteca de cacao, y luego dar forma a la mezcla resultante.

25

[00088] Aunque las composiciones descritas aquí se administrarán generalmente de forma oral, parenteralmente, transdérmicamente o por vía de depósitos implantados, también son adecuadas otras formas de administración. Por ejemplo, la administración puede ser rectal o vaginal, preferiblemente utilizando un

supositorio que contiene, en adición a un agente activo, excipientes tales como cera para supositorio. Las formulaciones para administración nasal o sublingual también se preparan con excipientes estándar bien conocidos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas de la invención también se pueden formular para inhalación, por ejemplo, como una solución en salina, como un polvo seco, o como un aerosol.

[00089] Se apreciará que las composiciones descritas aquí se pueden preparar y empacar como unidades de dosificación unitaria, tal como para administración oral (por ejemplo, comprimidos). Las formulaciones también se pueden preparar y empacar como formulaciones de dosis múltiple, o como dosificaciones adecuadas para administración a largo plazo, tal como para administración tópica (por ejemplo, cremas), administración de transmembrana (por ejemplo, parches) o implantación.

15

[00090] Los compuestos descritos aquí se pueden administrar durante un tiempo adecuado para el uso propuesto. La administración de los compuestos descritos aquí se llevará a cabo típicamente durante un periodo de aproximadamente tres días a aproximadamente 104 semanas, pero se puede llevar a cabo durante un periodo mayor de 104 semanas y aún se puede llevar a cabo indefinidamente. Por ejemplo, el tratamiento de la hepatitis C utilizando los compuestos descritos aquí involucrará típicamente la administración de los compuestos durante un periodo de 12, 24 o 48 semanas.

[00091] Cualquier régimen y dosificación apropiados se pueden utilizar para los compuestos descritos aquí y las composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos. En una modalidad, un compuesto que tiene la estructura de la

25

fórmula I se administra en conjunto con un agente activo adicional tal como, por ejemplo, un interferón tal como cualquiera de los interferones descritos aquí. El compuesto que tiene la estructura de la fórmula I y el agente activo adicional (por ejemplo un interferón) se pueden administrar como parte de la misma
5 composición, o ellos se pueden administrar en composiciones separadas (que incluyen composiciones separadas que varían en forma de dosificación, perfiles de liberación, y similares).

[00092] En una modalidad, el paciente que sufre de hepatitis C se pre-trata
10 primero con nitazoxanida, tizoxanida, o cualquiera de los compuestos descritos aquí que tienen la estructura de la Fórmula I. La duración del periodo de pre-tratamiento puede estar entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 6 meses, por ejemplo entre aproximadamente una semana y aproximadamente 12
15 semanas, y como un ejemplo adicional entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 4 semanas. El periodo de pretratamiento es seguido posteriormente por un periodo de tratamiento en donde el paciente pretratado con un interferón solo o un interferón más nitazoxanida, tizoxanida, o cualquiera de los
● compuestos que tienen la estructura de la fórmula I. Cualquiera de los interferones descritos aquí se pueden utilizar durante el periodo de tratamiento. La duración del
20 periodo de tratamiento será cualquier duración que se requiera para obtener la respuesta deseada, y estará típicamente entre aproximadamente un día y aproximadamente doce meses o más. Por ejemplo, el periodo de tratamiento puede comprender inyecciones semanales de un interferón, y puede involucrar una única semana de tratamiento, 2-4 semanas de tratamiento, 4-12 semanas de
25 tratamiento, o más (tal como seis meses, un año, dos años, o indefinidamente).

[00093] Ejemplos de regímenes que son adecuados para administración de los compuestos descritos aquí incluyen lo siguiente: 24 semanas de administración de nitazoxanida seguido por doce semanas de administración de una composición que comprende nitazoxanida de interferón α -2b o interferón pegilado α -2b; 2-4
5 semanas de administración de nitazoxanida seguido por doce semanas de administración de una composición que comprende nitazoxanida e interferón α -2b pegilado; administración de una composición que comprende nitazoxanida más interferón α -2b pegilado para 12, 24, o 48 semanas; y 12, 24, o 48 semanas de administración de nitazoxanida, tizoxanida y combinaciones de estos. Se apreciará
10 que tales regímenes se proporcionan solo como ejemplos, tal como duraciones adecuadas, dosificaciones, y las órdenes de administración variarán. Los regímenes apropiados se determinarán típicamente por un médico.

[00094] Se apreciará que las dosificaciones pueden variar, y se seleccionarán
15 típicamente para proporcionar una cantidad terapéuticamente efectiva del agente activo al paciente. En una modalidad, una dosificación puede estar en el rango de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 2000 mg, o en el rango de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 1000 mg, o preferiblemente
aproximadamente 500 mg. En otro ejemplo específico, una dosificación apropiada
20 se selecciona para lograr y mantener un nivel de sangre del agente activo (por ejemplo nitazoxanida) en un paciente que está entre aproximadamente 0.1 μ g/ml y aproximadamente 10 μ g/ml, preferiblemente aproximadamente 1 μ g/ml.

[00095] Los métodos de preparación para las composiciones descritas aquí
25 serán evidentes para el experto en la técnica. En una modalidad, las formulaciones de la descripción se pueden preparar la mezclar uniformemente e íntimamente el compuesto activo con un líquido o portador sólido finamente

dividido, o ambos, y luego, si es necesario, dar forma a la mezcla resultante. Por ejemplo, un comprimido se puede preparar al comprimir o moldear un polvo cubierto o no recubierto o gránulos cubiertos o no recubiertos que contienen el compuesto activo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las

5 tabletas comprimidas se pueden preparar al comprimir, en una máquina adecuada, el compuesto en una forma que fluye libre, tal como un polvo o gránulos mezclados opcionalmente con un ligador, lubricante, diluyente inerte, y/o agente de superficie activa/dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden

10 hacer al moldear, en una máquina adecuada, el compuesto en polvo humedecido con un ligador inerte líquido.

[00096] La presente descripción también proporciona kits para lograr tal tratamiento como se describe aquí. Los kits comprenden: (i) una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula I; (ii) uno o más portadores farmacéuticamente

15 aceptables y/o aditivos; y (iii) instrucciones de uso (por ejemplo, en el tratamiento de la hepatitis).

[00097] Como se utiliza aquí, la frase "instrucciones para uso" debe significar cualquier etiqueta ordenada por la FDA, instrucciones o insertos de empaque que

20 relacionan la administración de un compuesto de la fórmula I para el propósito de tratar la hepatitis viral. Por ejemplo, las instrucciones para uso pueden incluir, pero no limitarse a, indicaciones para la enfermedad particular, identificación de síntomas específicos de la enfermedad específica que se puede aliviar mediante los compuestos reivindicados, y cantidades de dosificación recomendadas para

25 sujetos que sufren de la enfermedad. El kit de la presente invención comprenden adicionalmente una cantidad de dosificación unitaria del compuesto efectivo para tratar hepatitis viral.

[00098] Se entiende que mientras la invención se ha descrito en conjunto con modalidades específicas preferidas de esta, la descripción anterior así como también los ejemplos que siguen están destinados a ilustrar y no limitar el alcance de la invención. Otros aspectos, ventajas y modificaciones dentro del alcance de la invención serán evidentes para aquellos expertos en la técnica a la que pertenece la invención.

[00099] Todas las patentes, solicitudes de patente, y publicaciones mencionadas aquí se incorporan como referencia en su totalidad. Sin embargo, como una patente, solicitud de patente, o publicación contiene definiciones expresas se incorporan como referencia, aquellas definiciones expresas se deben entender que aplican a la patente incorporada, solicitud de patente, o publicación en la que ellas se encuentran, y no al restante del texto de esta solicitud, en particular las reivindicaciones de esta solicitud.

EJEMPLOS

EJEMPLO

ACTIVIDAD CONTRA REPLICACIÓN DE HCV

[000100] La actividad antiviral de la nitrazoxanida, tizoxanida, interferón α , ribavirina y citidina 2'-C-metilo se evalúa en 5 líneas celulares de réplicas diferentes de HCV: (1) AVA5, una construcción subgenómica del genotipo 1b (Blight et al., 2000, Science 290:1972-1974); (2) H/FL-Neo, una construcción de longitud completa de genotipo (Blight et al., 2003, Journal of Virology 77:3181-

3190); (3) JWT, una construcción subgenómica de genotipo 1b (Pfeiffer and Kirkegaard, 2005, Journal of Virology, 79:2346-2355); (4) 4-3-10, una construcción subgenómico del genotipo 1b, desarrollada mediante un protocolo que involucra pasaje en serie de células de JWT en 100 μ M de un mes seguido por 400 μ M de ribavirina durante dos semanas (Pfeiffer and Kirkegaard, 2005, Journal of Virology, 79:2346-2355); (5) RP7, una construcción subgenómica del fenotipo 1b (Elazar et al., 2003, Journal of Virology 77:6055-6061).

[000101] La actividad antiviral para cada compuesto de prueba se determina como se describió previamente (Opuse et al., 2005 Antiviral Research 65:23-34). En resumen, las líneas celulares replicadas se mantienen como cultivos subconfluentes en placas de 96 pozos. Los compuestos se agregan diariamente durante tres días en medio fresco. 24 horas después de la última dosis de compuesto, se determina la actividad antiviral mediante análisis de hibridación blot de ARN HCV intracelular, y se evalúa la citotoxicidad mediante la toma de tinte rojo neutro. Se calcula el índice de selectividad y el EC₅₀, EC₉₀, CC₅₀ para cada compuesto probado en una línea celular replicada. El EC₅₀ igual a concentración de droga que produce un 50% de reducción de ARN HCV intracelular con relación a los niveles promedio en cultivos no tratados. EC₉₀ = concentración de droga que produce un 90% de reducción de ARN HCV intracelular con relación a los niveles promedio de cultivos no tratados. CC₅₀ = concentración de droga que produce un 50% de reducción de toma de tinte rojo neutro con relación a los niveles promedio en cultivos no tratados. Índice de selectividad= CC₅₀ dividido por EC₅₀. Los valores EC₅₀, EC₉₀ y CC₅₀ ($\pm$ desviaciones estándar [D.E.]) se calculan mediante análisis de regresión lineal utilizando datos combinados de todos los cultivos tratados. Los valores EC₅₀ y EC₉₀ medios se calculan para cada compuesto basado en los resultados determinados para cinco líneas celulares de réplicas diferentes.

[000102] Nitazoxanida y Tizoxanida se proporcionan por Romark Laboratorios, L.C. (Tampa, FL USA). El interferón α -2b recombinante se compra de PBL Biomedical Laboratories (Piscataway, NJ USA). La ribavirina se compra de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO USA). Citidina 2'-C-metilo (Pierra, et al. 2005. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 24:767-770) se compra de Moraveek Biochemicals, Inc (La Brea, CA USA). El interferón α -2b se solubiliza y/o diluye en salina amortiguada con fosfato estéril (PBS)/1% BSA como se instruye por el fabricante. La rivabirina, nitazoxanida, trizoxanida y citidina 2'-C-metilo se solubilizan en 100% de cultivo de tejido grado DMSO (Sigma). Las soluciones madre se almacenan (-70°C para interferón α -2b, -20° C, para nitazoxanida, tizoxanida, ribavirina y citidina 2'-C-metilo) en cantidades suficientes durante un único experimento y se utilizan solo una vez. Las alícuotas diarias de los compuestos de prueba se hacen de las soluciones madre en tubos individuales y se almacenan a las temperaturas apropiadas. En cada día de tratamiento, las alícuotas diarias de los compuestos de prueba se suspenden en el medio de cultivo a temperatura ambiente, y se agregan inmediatamente a los cultivos celulares, sometiendo por lo tanto cada alícuota y compuesto de prueba al mismo número limitado de ciclos de congelamiento-descongelamiento.

[000103] La nitazoxanida y tizoxanida reducen selectivamente la replicación HCV intracelular en cada una de las cinco líneas celulares de réplicas derivadas del genotipo 1 HCV (tabla 1). El EC₅₀ medio es 0.13 μ m y 0.15 μ m para nitazoxanida y tizoxanida, respectivamente, comparado con 0.86 IU/mL para interferón α -2b, 69 μ m para ribavirina y 2.1 μ m para citidina 2'-C-metilo.

Tabla 1. Potencia relativa de los compuestos de prueba contra réplica HCV

Droga Línea celular	EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	S.I. ¹
Nitazoxanida				
AVA5	0.13 ± 0.02	1.0 ± 0.2	39 ± 3.9	300
H/FL-Neo	0.33 ± 0.05	1.1 ± 0.1	49 ± 1.5	149
JWT	0.11 ± 0.01	1.0 ± 0.2	39 ± 1.0	354
4-3-10	0.10 ± 0.03	0.87 ± 0.16	34 ± 0.4	340
RP7	0.16 ± 0.01	1.2 ± 0.1	38 ± 0.8	238
Media				
Tizoxanida				
AVA5	0.12 ± 0.01	0.77 ± 0.10	25 ± 2.8	208
H/FL-Neo	0.25 ± 0.03	1.0 ± 0.1	4.2 ± 0.2	17
JWT	0.16 ± 0.02	0.76 ± 0.03	24 ± 2.9	150
4-3-10	0.11 ± 0.05	0.55 ± 0.08	21 ± 1.1	191
RP7	0.15 ± 0.01	0.94 ± 0.10	25 ± 1.0	167
Media				
Interferon α-2b (IU/ml)				
AVA5	1.5 ± 0.2	8.2 ± 0.8	>10000	>6667
H/FL-Neo	2.1 ± 0.2	9.4 ± 0.9	>10000	>4762
JWT	0.77 ± 0.03	2.6 ± 0.2	>10000	>12987
4-3-10	0.86 ± 0.06	5.7 ± 0.4	>10000	>11627
RP7	0.41 ± 0.01	3.6 ± 0.2	>10000	>24390
Media				
Ribavirina				
AVA5	70 ± 0.5	220 ± 34	84 ± 4.7	1.2
H/FL-Neo				
JWT	23 ± 2.2	62 ± 1.7	89 ± 7.5	3.9
4-3-10				
RP7	69 ± 4.4	122 ± 13	77 ± 4.9	1.2
Media				
Citidina 2'-C-metilo				
AVA5	2.1 ± 0.2	8.1 ± 0.7	>300	>143
H/FL-Neo	1.8 ± 0.2	8.1 ± 0.8	>1000	>556
JWT	2.2 ± 0.1	8.2 ± 0.7	>300	>136
4-3-10	2.1 ± 0.1	8.0 ± 0.9	>300	>143
RP7	2.0 ± 0.1	9.0 ± 0.6	>300	>150
Media				

S.I. (índice de selectividad)= CC₅₀/EC₅₀

5

EJEMPLO 2

ACTIVIDAD SINERGÍSTICA DE NITAZOXANIDA Y TIZOXANIDA CON OTRAS
DROGAS ANTI-HCV

10 [000104] La actividad de los tratamientos de combinación con nitazoxanida más interferón α-2b, tizoxanida más interferón α-2b, nitazoxanida más citidina 2'-C-metilo y tizoxanida más citidina 2'-C-metilo contra réplicas HCV se evalúa en la línea celular de réplica AVA5 utilizando los métodos descritos previamente (Opuse

et al., 2005, Antiviral Research 65:23-34). Los análisis de interacciones entre los compuestos utilizados en tratamientos de combinación se desarrollan utilizando software Calculusyn™ (Biosoft, Cambridge, UK).

5 **[000105]** Las combinaciones de nitazoxanida con interferón α-2b o citidina 2'-C-metilo y tizoxanida con interferón α-2b o citidina 2'-C-metilo exhiben interacciones sinérgicas contra réplicas HCV (tabla 2, figuras 1a y 1b). En las figuras 1a y 1b se muestran los análisis de las interacciones entre los compuestos en tratamientos de combinación.

10

Tabla 2. Potencia relativa de tratamientos de combinación contra réplicas HCV en cultivos de células AVA5.

Tratamiento	EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)	CC ₅₀ (μM)	S.I. ¹
Nitoxanida (NTZ)	0.21 ± 0.03	0.93 ± 0.11	38 ± 1.8	181
Tizoxanida (TIZ)	0.15 ± 0.02	0.81 ± 0.92	15 ± 1.2	100
IFNα-2b	1.9 ± 0.2 ²	8.9 ± 0.9 ²	>10000 ²	>5263
Citidina 2'-C-metilo (2'CMcC)	1.6 ± 0.2	8.3 ± 0.7	>300	>188
2'CMcC + IFNα-2b, 1:1	0.67 ± 0.007	2.3 ± 0.3	>300	>448
NTZ + IFNα-2b, 1:10	0.06 ± 0.008	0.25 ± 0.03	33 ± 1.3	550
NTZ + 2'CMcC, 1:10	0.07 ± 0.005	0.28 ± 0.02	35 ± 1.5	500
TIZ + IFNα-2b, 1:10	0.07 ± 0.01	0.22 ± 0.03	17 ± 1.3	245
TIZ + 2'CMcC, 1:10	0.06 ± 0.004	0.19 ± 0.02	18 ± 1.1	300

15 ¹SI= CC₅₀/EC₅₀. ²Valores para IFN α-2b expresados en IU/mL

[000106] La figura 1a presenta gráficas CI-Fa (combinación índice-fracción (de virus) afectados) (Belen'Kii and Schinazi, 1994, Antiviral Research 25:11-18). Para estas gráficas, un índice de combinación [CI] mayor de 1.0 indica antagonismo y un CI menor de 1.0 indica sinergismo. Las evaluaciones de sinergia, aditividad (suma), o antagonismo en niveles diferentes de inhibición de virus (por ejemplo 5%, o Fa=0.05 a 99%, o Fa=0.99) se suministran por los puntos y líneas graficados. La figura 1b muestra isoblogramas conservadores. Para estas

20

gráficas los valores EC_{50} , EC_{75} y EC_{90} , (50%, 75% y 90% de concentración antiviral efectiva) para los tratamientos de combinación se exhiben como puntos sencillos. Las tres líneas que radian de los ejes denotan los valores EC_{50} , EC_{75} y EC_{90} esperados (por ejemplo aditivos) para las combinaciones de droga según se calcula de las monoterapias. Los valores EC_{50} , EC_{75} y EC_{90} para las combinaciones que se grafican a la izquierda (por ejemplo menos que) de las líneas correspondientes indican sinergia, y los valores graficados a la derecha (por ejemplo mayor que) de las líneas correspondientes indican antagonismo

EJEMPLO 3

ACTIVIDAD MEJORADA DE INTERFERÓN ALFA MÁS NITAZOXANIDA DESPUÉS DE PRETRATAMIENTO CON NITAZOXANIDA

[000107] Para evaluar el efecto del pretratamiento con nitazoxanida antes de tratamiento con tratamientos de combinación, se tratan los cultivos durante 3 o 6 días con nitazoxanida, interferón α -2b, o citidina 2'-C-metilo o combinaciones de nitazoxanida e interferón α -2b o citidina 2'-C-metilo. Alternativamente, los cultivos se tratan con nitazoxanida durante tres días, seguido por tres días adicionales de tratamiento con una combinación de nitazoxanida e interferón α -2b o citidina 2'-C-metilo. La actividad antiviral y la citotoxicidad se determinan 24 horas después del final de cada tratamiento respectivo como se describió previamente.

[000108] El pretratamiento con nitazoxanida mejora la potencia del tratamiento de combinación con nitazoxanida más interferón α -2b aproximadamente tres veces (tabla 3 y figuras 2a y 2b). El pretratamiento, sin embargo, no afecta la potencia del tratamiento de combinación con citidina 2'-C-metilo (tabla 4). Las figuras 2a y 2

b muestran análisis del efecto en cultivos pretratados con nitazoxanida antes de tratamiento con nitazoxanida más interferón α -2b. Se desarrollan análisis utilizando software CalcuSynTM (Biosoft, Cambridge, UK). Se presentan dos tipos de evaluaciones. La figura 2a presenta gráficas CI-Fa (índice de combinación - 0fracción (de virus) afectado) (Belen'Kii and Schinazi, 1994). Para estas gráficas, un índice de combinación [CI] mayor de 1.0 indica antagonismo y un CI menor de 1.0 indica sinergismo. Las evaluaciones de sinergia, aditividad (suma), o antagonismo en niveles diferentes de inhibición de virus (por ejemplo 5%, o Fa=0.05 a 99%, o Fa=0.99) se suministran por los puntos y líneas graficados. Las líneas punteadas indican 1.96 desviaciones estándar (no mostrado en la figura 1a para claridad). La figura 2b muestra isobologramas conservadores. Para estas gráficas los valores EC₅₀, EC₇₅ y EC₉₀, (50%, 75% y 90% de concentración antiviral efectiva) para los tratamientos de combinación se exhiben como puntos sencillos. Las tres líneas que radian de los ejes denotan los valores EC₅₀, EC₇₅ y EC₉₀ esperados (por ejemplo aditivos) para las combinaciones de droga según se calcula de las monoterapias. Los valores EC₅₀, EC₇₅ y EC₉₀ para las combinaciones que se grafican a la izquierda (por ejemplo menos que) de las líneas correspondientes indican sinergia, y los valores graficados a la derecha (por ejemplo mayor que) de las líneas correspondientes indican antagonismo

20

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

Tratamiento	Duración (días)	NTZ (μM)		IFNα-2b (IU/mL)	
		EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)
IFNα	3			1.9 ± 0.3	8.3 ± 0.9
IFNα	6			1.7 ± 0.2	7.8 ± 0.8
NTZ	3	0.22 ± 0.03	1.0 ± 0.1		
NTZ	6	0.20 ± 0.02	0.92 ± 0.10		
NTZ + IFNα, 1:10	3	0.08 ± 0.010	0.27 ± 0.03	0.82 ± 0.07	2.7 ± 0.3
NTZ + IFNα, 1:10	6	0.09 ± 0.010	0.24 ± 0.04	0.75 ± 0.09	2.4 ± 0.2
NTZ, luego NTZ+IFNα	6	0.03 ± 0.004	0.09 ± 0.011	0.31 ± 0.04	0.96 ± 0.12

Tabla 4. Efecto de pretratamiento NTZ sobre la actividad del pretratamiento de combinación NTZ+2'CmeC

5

Tratamiento	Duración (días)	NTZ (μM)		2'CMeC (μM)	
		EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)	EC ₅₀ (μM)	EC ₉₀ (μM)
2'CMeC	3			1.7 ± 0.2	6.2 ± 0.5
2'CMeC luego	6			1.3 ± 0.2	5.8 ± 0.9
NTZ	3	0.22 ± 0.03	1.0 ± 0.1		
NTZ	6	0.20 ± 0.02	0.92 ± 0.10		
NTZ + 2'CMeC, 1:10	3	0.05 ± 0.006	0.16 ± 0.02	0.57 ± 0.07	1.8 ± 0.2
NTZ + 2'CMeC, 1:10	6	0.05 ± 0.007	0.17 ± 0.03	0.54 ± 0.06	1.9 ± 0.2
NTZ, luego	6	0.06 ± 0.005	0.15 ± 0.02	0.58 ± 0.08	1.7 ± 0.3
NTZ+2'CMeC					

EJEMPLO 4

10

ACTIVIDAD MEJORADA DEL INTERFERÓN ALFA DESPUÉS DE
PRETRATAMIENTO CON NITAZOXANIDA O TIZOXANIDA

[000109] Para evaluar el efecto del interferón alfa luego de pretratamiento con nitazoxanida o tizoxanida, se pasa en serie una línea celular que contiene una
15 réplica parental (RP-7) en concentraciones incrementadas de nitazoxanida o tizoxanida. La actividad anti-HCV del interferón α-2b se determina utilizando la línea celular parental y utilizando las líneas celulares obtenidas después del paso de nitazoxanida o tizoxanida. La actividad anti- HCV se determina mediante los métodos descritos anteriormente.

[000110] La línea celular que contiene la replica parental se establece por electroporación de ARN transcrito in vitro del plásmido Sca-I-linearizado Bart 79I en células Huh-7 (Elazar et al., 2003). El Bart 79I codifica para una segunda
5 generación de réplicas subgenómica bi-cistrónica de alta eficiencia del genotipo 1b que contiene una única mutación adaptada (S1179I) en el gen NS5A, y el gen de neomicinfosfotransferasa en el primer cistron. Las células electroporadas se grafican junto con las células alimentadores Huh-7 nativas y crecen en medio DMEM (4.5 g/l gluoca, L-glutamina y piruvato de sodio-Mediatech 10-013-CV),
10 10% de suero bovino fetal, 1% de penicilina-estreptomina, 1% de L-glutamina (concentración final 2 mM), 1x MEM aminoácidos no esenciales (100x) (invitrogen)-- y 1 mg/mL G418. Después de tres semanas, aparecen las colonias resistentes al G418. Una de las colonias resultantes se aísla, se expande, y se hace pasar a 700 μ /mL de G418, y se demoniza RP-7.

15

[000111] Las células RP-7 se someten a un régimen que promociona resistencia como sigue. Se hacen crecer las células en el medio descrito anteriormente que contiene 700 μ /mL de G418 (Invitrogen), 1% de cultivo de tejido grado DSMO (Sigma), y una concentración baja inicial de nitazoxanida o tizoxanida que se
20 incrementa constantemente luego cada semana, con una intervención de un día festivo para droga de 2 días entre cada incremento de dosis. En los días 1 a 5 de cada dosis de droga, se cambia el medio diariamente para proporcionar una fuente de droga fresca. No se desarrollan cambios de medio en los días 6 y 7 (el festivo para la droga). La concentración inicial de nitazoxanida y tizoxanida es 0.02
25 μ m, seguido por 0.05 μ m, 0.1 μ m, 0.5 μ m, 1 μ m e incrementos semanales posteriores de 1 μ m. Una concentración final de 11 μ m se utiliza para que las células pasen en nitazoxanida mientras que una concentración final de 8 μ m se

utilizan para que las células pasen en tizoxanida. Las células resultantes se pasan posteriormente a esa concentración final durante por lo menos dos meses antes de ser utilizadas para probar la actividad anti-HCV del interferón α -2b.

5 [000112] Los resultados se presentan en la tabla 5. El pasaje en serie de la línea celular pariente en concentraciones incrementadas de nitazoxanida o tizoxanida no inducen resistencia al interferón α -2b. Las líneas celulares que pasan en nitazoxanida o tizoxanida son actualmente 2.5 a 7.6 veces más susceptibles al interferón α -2b que la línea celular que contiene réplica pariente, que no se pasa
10 en nitazoxanida o tizoxanida.

Tabla 5. Potencia de interferón α -2b contra réplica HCV en células RP7 antes y después de pasaje en serie en concentraciones incrementadas de nitazoxanida y tizoxanida

Línea celular	EC ₅₀ (μ M)	EC ₉₀ (μ M)	CC ₅₀ (μ M)	SI
Línea celular pariente (RP-7)	0.41 $\pm$ 0.01	3.6 $\pm$ 0.2	>10000	>24390
Células RP7 pasadas en Nitazoxanida	0.11 $\pm$ 0.02	0.47 $\pm$ 0.04	>10000	>90909
Células RP7 pasadas en Tizoxanida	0.16 $\pm$ 0.01	0.42 $\pm$ 0.04	>10000	>62500

EJEMPLO 5

TRATAMIENTO DE HEPATITIS C CRÓNICA CON UNA COMBINACIÓN DE
NITAZOXANIDA Y TIZOXANIDA

[000113] Se ingresan 50 pacientes en un estudio de doble ciego de Alinia® (composición farmacéutica que comprende 99% nitazoxanida y 1% de tizoxanida como agentes activos) administrado oralmente como un comprimido de 500 mg
25 dos veces al día durante 24 semanas comparado con un placebo de pacientes en

tratamiento con genotipo 4 de hepatitis C crónico. Los 50 pacientes se ingresan al estudio en tres sitios de estudio en Egipto: 35 en Cairo, 12 en Alejandría y 6 en Tanta. Tres pacientes salen del estudio inmediatamente después del ingreso y no regresan para seguir ningún post-tratamiento. Un paciente no regresa después de 5 12 semanas. Cada uno de los 46 pacientes restantes completa el estudio. Ver figura 3 para un diagrama de flujo de disposición de paciente. Un paciente se co-infecta con el virus de la hepatitis B. El paciente es HBeag-negativo y se hace una excepción para permitir el ingreso de este paciente. el protocolo llamado para uso de una población de intento para tratar (todos los pacientes aleatorizados) el 10 análisis de eficacia primario. Los tres pacientes que se retiran que reciben antes alguna medicación se excluyen del análisis de eficacia. Los pacientes que salen después de 12 semanas se incluyen en el análisis de eficacia y se analizan sobre la base de la última observación llevada a cabo. Las características demográficas y relacionadas con la enfermedad para los 47 pacientes incluidos en el análisis de 15 eficacia se resumen en el grupo de tratamiento en la tabla 6.

[000114] En cada visita de estudio, los pacientes se interrogan con respecto al cumplimiento del tratamiento. Con una excepción, cada uno de los pacientes que completan el estudio reportan que ellos han cumplido con la toma de la 20 medicación. Un paciente completa el estudio pero reporta incumplimiento esporádico con la toma de la medicación debido a dolor abdominal.

Tabla 6. Características demográficas y relacionadas con la enfermedad

	Todos los sujetos	Activo	Placebo	P ¹
Raza:				
Caucásico	47	23	24	1.0
Género:				
Masculino/Femenino	39/8	19/4	20/4	1.0
Edad (años):				
Media ±DE	47.3 ±9.3	49.7 ±8.4	45.0 ±9.6	.08
Mediana (Rango)	48 (27-67)	51 (35-67)	46 (27-64)	
Peso (kgs):				
Media ±DE	86.2 ±18.8	84.8 ±16.7	87.5 ±21.0	.62
Mediana (Rango)	84 (64-143)	84 (64-130)	82 (65-143)	
Índice de masa corporal:				
Media ±DE	29.4 ±5.5	29.0 ±5.1	29.8 ±6.0	.62
Mediana (Rango)	28.2 (21-47)	27.3 (22-47)	28.3 (21-46)	
Carga viral (log ₁₀ IU/mL):				
Media ±DE	5.2±0.7	5.3 ±0.7	5.2 ±0.8	.43
Mediana (Rango)	5.3 (3.5-6.5)	5.4 (4.0-6.3)	5.3 (3.5-6.5)	
Carga viral >800,000 IU/mL	10	6	4	.49
ALT elevado	31	13	18	.23
Clasificación Necroinflamatoria:				
Media ±DE	6.0 ±3.2	6.3 ±3.3	5.7 ±2.7	.51
Mediana (Rango)	5 (2-17)	5 (3-17)	5.5 (2-11)	
Enfermedad del hígado:				
Sin fibrosis	8	4	4	.95
Expansión de portal fibroso	18	8	10	
Fibrosis en puente	14	7	7	
Cirrosis (compensada)	3	1	2	
Cirrosis (descompensada)	4	3	1	
tratada previamente con peginterferón/ribavirina	5	3	2	.67
Diabetes mellitus				
Controlada	7	4	3	.70
No controlada	3	1	2	1.0

¹Prueba exacta de Fisher o prueba chi cuadrado para comparar proporciones, prueba T para medias

5 [000115] Se resumen las respuestas virológicas por grupo de tratamiento en la
tabla 7. la proporción de respondedores virológicos en el grupo de tratamiento
activo es significativamente mayor que el grupo de tratamiento de placebo
(P=.0039). Las respuestas virológicas (ARN HCV de suero no detectable) se
observan en las semanas 4 (n=3), semana 8 (n= 3) y semana 20 (n=1). Cada una
10 de estas respuestas se mantiene a lo largo del periodo de tratamiento.

Tabla 7. Respuesta virológica por grupo de tratamiento

	Activo	Placebo	P ¹
Respondedor/Total (%)	7/23 (30.4%)	0/24 (0%)	0.0039

¹Dos pruebas exactas de Fischer de dos lados

[000116] Las características demográficas, los datos de laboratorio de línea base, los datos de las biopsias de hígado y las historias médicas se evalúan para identificar predotores independientes de respuesta virológica dentro del grupo de tratamiento activo. Los predictores de respuesta se listan en la tabla 8. El predictor más significativo de respuesta es la menor carga viral en la línea base. Todos los respondedores tienen cargas virales de línea base $\leq 384,615$ IU/mL. Los valores de laboratorio en línea base (conteos de plaquetas, tiempo de protrombina y feto proteína alfa) también sugieren que los respondedores tienen menos severa la enfermedad del hígado.

Tabla 8. Predictores de respuesta independientes

Predictores de respuesta	P
Carga viral menor en línea base	.0086
Indicadores de enfermedad de hígado menos serias	
- Mayores conteos de plaqueta	.0385
- Menor tiempo protrombina	.0579
- Menor fetoproteína alfa	.0696

[000117] Análisis de pacientes adicionales con factores de complicación relacionados con la enfermedad tal como altas cargas virales, cirrosis, diabetes mellitus no controlada, o coinfección con hepatitis B mostraron tasas de respuestas muy pobres en estos subconjuntos de pacientes (ver tabla 9). Quince (15) de los 16 tratamientos Alinia® fallan en tener alta carga viral, enfermedad del

hígado avanzada, diabetes mellitus no controlada o coinfección del virus de la hepatitis B. Los respondedores Alinia® pueden, por lo tanto, ser descritos como pacientes con cargas virales bajas (<800,000 IU/mL) cuya enfermedad no ha avanzado a cirrosis y que no han tenido diabetes mellitus no controlada o coinfección de virus de las hepatitis B. Dos respondedores virológicos (2) en el grupo de tratamiento activo tienen una historia anterior de tratamiento con peginterferón/ribavirina. Uno es incapaz de tolerar el peginterferón/ribavirina y se discontinúa la terapia después de 5 semanas. El otro recae luego de la terminación de 48 semanas de peginterferón/ribavirina.

10

Tabla 9. Índices de respuesta en pacientes con complicación de factores relacionados con la enfermedad

Factores de complicación relacionados con la enfermedad	Respondedores/Total
Alta carga viral (<800,000 IU/mL)	0/3
Enfermedad avanzada del hígado:corrosis	0/3
Enfermedad avanzada del hígado: fibrosis en puente	3/5
Diabetes mellitus no controlada	0/3
Coinfección por virus de la hepatitis B	0/1
Alta carga viral y cirrosis	0/1
Alta carga viral y fibrosis en puente	0/1
Alta carga viral, diabetes no controlada y fibrosis en puente	0/1

15 [000118] Respuesta virológica sostenida: los siete respondedores virológicos es seguido por lo menos 24 semanas después del final del tratamiento, y 5 de estos pacientes tienen una respuesta virológica sostenida (ARN HCV en suero no detectable). Los índices de respuesta virológica sostenida se presentan por grupo de tratamiento en la tabla 10. Los pacientes fallan en mantener su respuesta

virológica sin tratamiento. Un paciente solo completa ocho semanas de tratamiento. Un paciente completa el estudio, pero reporta incumplimiento esporádico con la toma de la medicación debido a dolor abdominal. Cada uno de estos pacientes tiene una enfermedad avanzada del hígado (fibrosis en puente).

5

Tabla 10. Respuesta virológica sostenida por grupo de tratamiento

	Activo	Placebo	P*
Respondedores/Total (%)	5/23 (21.7%)	0/24 (0%)	0.0219

*Prueba exacta de fischer de dos lados

10 **[000119]** Cambios en ARN HCV de suero cuantitativo (carga viral): cargas virales medias cuantitativas para el grupo de tratamiento activo, el grupo de tratamiento de placebo, los respondedores virológicos del grupo de tratamiento activo, y las fallas virológicas del grupo de tratamiento activo se presentan en la tabla 11 y figura 4. Reducción de la carga viral media cuantitativa de la línea base al final del

15 tratamiento es significativamente mayor para el grupo de tratamiento activo (reducción de $1.55 \pm 2.34 \log_{10}$ IU/mL) que para el grupo de placebo (reducción de $0.21 \pm 0.98 \log_{10}$ IU/mL) observado para el grupo de tratamiento de placebo ($p=0.0166$, prueba T). La reducción en la carga viral media observada para el grupo de tratamiento activo se atribuye completamente a los respondedores

20 virológicos. Los cambios en las cargas virales de los no respondedores no son significativamente diferentes que los cambios notados para el grupo de tratamiento de placebo. Las cargas virales cuantitativas actuales para los siete respondedores virológicos durante el tiempo se presentan en la tabla 12 y figura 5.

Tabla 11. ARN HCV de suero cuantitativo medio durante el tiempo por grupo de tratamiento y respuesta virológico (Log₁₀ IU/mL)

	Línea base	Semana4	Semana8	Semana12	Semana16	Semana20	Semana24
Alinia Sin Respondedores	5.5	5.21	5.21	5.23	5.54	5.61	5.42
Placebo	5.16	5.17	4.73	4.96	5.15	5.13	4.94
Alinia	5.33	4.53	3.87	3.9	4.02	3.9	3.77
Alinia Respondedores	4.92	2.98	0.80	0.85	0.53	*	*

5 *Todos los valores están por debajo del límite inferior de detección (10 IU/mL)

Tabla 12. ARN HCV en suero cuantitativo durante el tiempo para respondedores virológicos (Log₁₀ IU/mL)

Paciente	Línea base	Semana4	Semana8	Semana12	Semana16	Semana20	Semana24
#1	4.37	*	*	*	*	*	*
#6	5.59	5.64	*	*	*	*	*
#15	5.22	5.43	5.57	5.98	3.74	*	*
#17	5.30	*	*	*	*	*	*
#21	5.00	4.23	*	*	*	*	*
#37	4.70	*	*	*	*	*	*
#40	4.25	5.56	*	*	*	*	*

* Por debajo del límite de detección (10 IU/mL)

10

15

20

[000120] Cambios en ALT: cambios medios en ALT de la línea base al final del tratamiento no son significativamente diferentes para los dos grupos de tratamiento (-3.9 ± 32 para el grupo de tratamiento activo y -1.3 ± 42 para el grupo placebo, P=0.82, prueba T). Cambios categóricos en ALT de la línea base al final del tratamiento se resumen mediante el grupo de tratamiento de la tabla 13. Tres de los respondedores virológicos en el grupo de tratamiento activo tienen valores ALT normales en línea base, que permanecen normales al final del tratamiento. Uno de los 4 respondedores virológicos con ALT elevado en línea base tienen ALT normal al final del tratamiento mientras que el ALT para los otros tres permanecen

elevados. Cuatro de los cinco pacientes con respuestas virológicas sostenidas tiene también ALT normal después de 24 semanas sin tratamiento.

Tabla 13. Cambio en ALT de línea base al final de tratamiento

5

	Activo	Placebo
Normalizado	3	2
Permanece normal	7	4
Permanece elevado	10	16
Normal a elevado	3	2

[000121] Los valores ARN HCV cuantitativos se pierden para un paciente en la semana 24 y para un paciente en la semana 12, 16, 20 y 24. Al final del tratamiento los datos para estos pacientes se analizan utilizando los últimos puntos de datos disponibles (última observación llevada a cabo). Un análisis interino para el final de la respuesta virológica del tratamiento se conduce para los primeros 21 pacientes ingresados en el estudio. Para propósitos en este informe, no se han hecho ajustes para contar múltiples análisis.

15 [000122] El índice de respuesta virológica se presenta por grupo de tratamiento mediante el centro de estudio en la tabla 14. El mayor índice de respuesta observado en el grupo de tratamiento activo para el centro de estudio Cairo se atribuye a características relacionadas con la enfermedad de pacientes ingresados en diferentes sitios. Cada uno de los 9 pacientes ingresados en el grupo de
20 tratamiento activo en los centros de Alejandría y Tanta tienen altas cargas virales (>800,000 IU/mL), avanzada enfermedad del hígado, diabetes mellitus no controlada o coinfección del virus de la hepatitis B.

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

	Cairo	Alexandria	Tanta
Activo	7/14 (50%)	0/6 (0%)	0/3 (0%)
Placebo	0/15 (0%)	0/6 (0%)	0/3 (0%)

P= 0.0453, Prueba Cochran Mantel- Haenszel

5

[000123] Un resumen de índices de respuesta para grupo de tratamiento activo por complicaciones relacionadas con la enfermedad y centro de estudio se presenta en la tabla 15.

10 Tabla 15. Índice de respuesta para el grupo de tratamiento activo por factores relacionados con complicación de la enfermedad y centro de estudio.

Factores de complicación	Centro de estudio		
	Cairo	Alejandro	Tanta
Alta carga viral	0/1	0/2	-
Cirrosis	0/2	-	0/1
fibrosis en puente	3/4	-	0/1
Diabetes mellitus no controlada	0/1	0/2	-
Coinfección por virus de la hepatitis B	-	0/1	-
Alta carga viral y cirrosis	-	0/1	-
Alta carga viral y fibrosis en puente	0/1	-	-
Alta carga viral, diabetes, fibrosis en puente	-	-	0/1
Pacientes sin factores de complicación	4/5	-	-
Totales	7/14	0/6	0/3

[000124] No hubo desviaciones de protocolo significativas que pudieran garantizar un análisis de subconjunto eficaz. Un análisis del subconjunto de pacientes con bajas cargas virales y sin cirrosis, diabetes no controlada o con infección del virus de la hepatitis B se presenta en la tabla 16.

5

Tabla 16. Respuesta virológica por grupo de tratamiento, subconjunto de pacientes con baja carga viral y sin cirrosis, diabetes no controlada o con infección por hepatitis B

	Activo	Placebo	P*
Respondedores/Total (%)	7/10 (70%)	0/15 (0%)	0.0002

10

*Prueba exacta de Fisher de dos lados

[000125] Los comprimidos Alinia ® administrados 500 mg dos veces al día con alimento durante 24 semanas produce respuestas virológicas (ARN HCV en suero no detectable) en 7 de 23 pacientes (30.4%) comparado con 0 de 25 pacientes (0%) del grupo placebo (P=0.0039).

15

[000126] Las respuestas virológicas ocurren entre 4 y 20 semanas de tratamiento (3 en semana 4, 3 en la semana 8, 1 en la semana 20) y se mantienen a través del final de tratamiento sin ruptura virológica.

20

[000127] La respuesta virológica se sostiene en 5 de 23 pacientes en el grupo de tratamiento Alinio® durante 24 semanas después del final del tratamiento (P=0.0219). Cada uno de los dos pacientes que recae luego del final de la visita de tratamiento tiene avanzada enfermedad de hígado (fibrosis en puente). Uno se

retira del estudio después de 8 semanas de tratamiento, y el otro reporta incumplimiento esporádico con la toma de la medicación de estudio.

5 **[000128]** La baja carga viral es el predictor independiente más significativo de respuesta virológica ($P=0.0086$). Ninguno de los pacientes con cirrosis, diabetes mellitus no controlada o coinfección con el virus de la hepatitis B responde al tratamiento.

10 **[000129]** Cuando los pacientes con altas cargas virales, cirrosis, diabetes no controlada o coinfección por hepatitis B se excluye del análisis de eficacia, los índices de respuesta virológico son 7/10 (70%) para el grupo de tratamiento activo y 0/15 para el grupo de placebo ($P=0.0002$). Dos de las tres fallas tratadas con Alinia® incluidas en este análisis tienen avanzada enfermedad del hígado con fibrosis en puente.

15

[000130] Estos resultados indican que 24 semanas de monoterapia de Alinia® es efectiva en alcanzar una respuesta virológica sostenida en pacientes con genotipo 4 de hepatitis C crónica cuando los pacientes tienen bajas cargas virales y no tienen otros factores de complicación tal como cirrosis, diabetes no controlada o
20 coinfección por hepatitis B:

[000131] Se examinan las medidas de seguridad en pacientes que reciben Alinia® comparado con pacientes que reciben comprimidos del placebo. El alcance de la exposición se resume en la tabla 17. Tres pacientes (dos aleatorizados para el
25 grupo de tratamiento Alinia®, uno aleatorizado para el grupo placebo) se retiran del estudio antes de regresar para cualquier visita. Estos pacientes no reportan

tomar alguna medicación o experimentar algún evento adverso, y ellos se excluyen de los análisis de seguridad.

Tabla 17. Alcance de la exposición

5

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

[000132] 16 pacientes (11 del grupo Alinia®, 5 del grupo placebo) reportan un total de 33 eventos adversos. Hubo dos eventos serios adversos. Un paciente en el grupo de placebo experimento hematemesis severa y un paciente en el grupo de tratamiento Alinia® experimenta melena moderada. Ambos eventos requieren hospitalización pero se resuelven sin interrupción del tratamiento. Los eventos adversos restantes fueron suaves a moderados y de naturaleza transitoria, ninguno requiere modificación o interrupción del tratamiento. Los eventos adversos se exhiben por el sistema corporal, término estándar, severidad y causalidad en la tabla 18 para grupo de tratamiento activo y en la tabla 19 para el grupo de tratamiento placebo. Las proporciones de pacientes que reportan cada evento adverso se comparan por grupo de tratamiento. No hay diferencias significativas en la frecuencia o naturaleza de los eventos adversos reportados por los dos grupos de tratamiento.

20

Tabla 18. Eventos adversos: pacientes expuestos a Alinia® (n=23)

Evento adverso (sistema afectado) ¹	Pacientes que reportan AEs		Severidad y relación para uso de la droga ²											
			Suave				Moderado				Severo			
	Número	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Ictericia (DIG)	2	8.7	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anorexia (DIG)	1	4.3	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Constipación (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diarrea (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flatulencia (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trastorno GI (DIG)	1	4.3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Melena (DIG)	1	4.3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Náusea (DIG)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Astenia (CUERPO)	4	17.4	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dolor Abdo (CUERPO)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Disuria (UG)	2	4.3	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Epistaxis (RES)	1	4.3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Palpitación (CV)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mialgia (MS)	1	4.3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Somnolencia (NER)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decolor piel (PIEL)	1	4.3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹DIG= digestivo; CUERPO= como todo o sistema no específico; UG=Urogenital; RES= respiratorio; CV=cardiovascular; MS=músculo esquelético; NER= nervioso, PIEL=piel.

²Relación para uso de la droga: N= no relacionado, U= relacionado poco probable, P= posiblemente relacionado, PR= probablemente relacionado

Tabla 19. Eventos adversos: Paciente expuesto a placebo (N=24)

Evento adverso (sistema afectado) ¹	Pacientes que reportan AEs		Severidad y relación para uso de la droga ²											
			Suave				Moderado				Severo			
	Número	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Ictericia (DIG)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematemesis (DIG)	1	4.2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Vómito (DIG)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Astenia (CUERPO)	2	8.3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dolor abdo. (CUERPO)	2	8.3	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jaqueca (CUERPO)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fiebre (CUERPO)	1	4.2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Orina anormal (UG)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hemoptisis (RES)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diabetes Mell (MAN)	1	4.2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹DIG= digestivo; CUERPO= como todo o sistema no específico; UG=Urogenital; RES= respiratorio; MAN=metabólico y nutricional+

²Relación para uso de la droga: N= no relacionado, U= relacionado poco probable, P= posiblemente relacionado, PR= probablemente relacionado

[000133] Los cambios en los parámetros de seguridad de laboratorio durante el tiempo se analizan por grupo de tratamiento utilizando análisis de medición repetida de varianza para datos continuos y prueba exacta de fisher para datos

categoricos. No se observaron cambios significativos en los parámetros de seguridad de laboratorio.

5 **[000134]** No se identificó ninguna preocupación relacionad con la seguridad durante el curso de este estudio. Los comprimidos Alinia® administrados 500 mg dos veces al día con alimento en pacientes con hepatitis C crónica fue seguro y bien tolerado. Eventos adversos reportados para pacientes tratados con comprimidos Alinia® fue similar a aquellos reportados por pacientes tratados con placebo.

10

[000135] En este estudio, los comprimidos Alinia® administrados 500 mg dos veces al día con alimento durante 24 semanas produce respuestas virológicas (ARN HCV en suero no detectable) en 7 a 23 pacientes (30.4%) comparado con 0 de 25 pacientes (0%) del grupo placebo ($P=0.0039$). Las respuestas virológicas
15 ocurren entre 4 y 20 semanas de tratamiento (3 en la semana 4, 3 en la semana 8, 1 en la semana 20) y se mantienen a través del final de tratamiento sin ruptura virológica. La respuesta virológica se sostiene en 5 pacientes por lo menos 24
semanas después del final del tratamiento.

20 **[000136]** La baja carga viral es el predictor independiente más significativo de respuesta virológica ($P=0.0086$). Ninguno de los pacientes con cirrosis, diabetes mellitus no controlada o coinfección con el virus de la hepatitis B responde al tratamiento.

25 **[000137]** Cuando los pacientes con altas cargas virales, cirrosis, diabetes no controlada o coinfección por hepatitis B se excluye del análisis de eficacia, los índices de respuesta virológica son 7/10 (70%) para el grupo de tratamiento activo

y 0/15 para el grupo de placebo ($P=0.0002$). Dos de las tres fallas tratadas con Alinia® incluidas en este análisis tienen avanzada enfermedad del hígado con fibrosis en puente.

- 5 **[000138]** Estos resultados indican que 24 semanas de monoterapia de Alinia® es efectiva en alcanzar una respuesta virológica sostenida en pacientes con genotipo 4 de hepatitis C crónica cuando los pacientes tienen bajas cargas virales y no tienen otros factores de complicación tal como cirrosis, diabetes no controlada o coinfección por hepatitis B:

10

[000139] No se identificó ninguna preocupación relacionada con la seguridad durante el curso del estudio. Los eventos adversos reportados para pacientes en el grupo de tratamiento Alinia® es similar a aquellos reportados para el grupo de placebo. No hubo cambios significativos en los valores clínicos de laboratorio

15 durante el curso de 24 semanas de tratamiento para el grupo de tratamiento Alinia® comparado con el grupo de placebo.

EJEMPLO 6

20 TRATAMIENTO DE HEPATITIS VIRAL CON ALINIA Y INTERFERÓN ALFA-2B

PEGILADO

- [000140]** 36 pacientes (36) ingresados en el estudio clínico para evaluar la efectividad y la seguridad de la terapia de combinación con Alinia® más interferón
- 25 α -2b pegilado (PegIFN α -2b) comparado con un placebo más PegIFN α -2b en el tratamiento de la hepatitis C crónica. Los pacientes se reclutaron como sigue: luego de terminar la fase de tratamiento de 24 semanas del estudio RM01-3027

(ver ejemplo 4), un estudio controlado de placebo doble ciego aleatorizado de Alineia®, diez y ocho (18) no respondedores ofrecen la oportunidad de participar en este ensayo crítico. Dos pacientes reclutados declinan debido a la etapa avanzada de su enfermedad y la falta de voluntad para ser tratados con interferón pegilado. Diez y seis pacientes (16) se ingresan en el estudio. Estos pacientes continúan su medicación oral en estudio cegado junto con dos inyecciones semanales de PegIFN α -2b. Veinte pacientes (20) de tratamiento nativo se reclutan para el estudio para iniciar la medicación del estudio cegado más PegIFN α -2b al mismo tiempo (primera inyección PegIFN y primera dosis de una medicación cegada oral el mismo día. (Ver figura 6 para un diagrama de flujo de disposición del paciente). se ingresa un paciente con genotipo 2 HCV (aleatorizado para el grupo activo pretratado). Un paciente se retira del estudio inmediatamente después de recibir su primera dosis de PegIFN y no regresa para ningún post-tratamiento. Un paciente no regresa después de la semana 8. Cada uno de los 34 pacientes restantes completa el estudio. Una población de intento para tratamiento (todos los pacientes aleatorizados) se utiliza para el análisis de eficacia principal con las salidas que se tratan como fallas. Los datos demográficos y las características relacionadas con la enfermedad se resumen por grupo de tratamiento en la tabla 20.

20

Tabla 20. Características demográficas y relacionadas con la enfermedad

	Pre-tratado		No pre-tratado		P ¹
	Activo	Placebo	Activo	Placebo	
Raza:					
Caucásico	8	8	10	10	1.0
Género:					
Masculino/Femenino	8/0	7/1	8/2	10/0	.20
Edad (años):					
Media±DE	45.1 ±5.5	41.3 ±10.1	46.0 ±9.1	39.1 ±8.9	.28
Mediana (Rango)	46.5 (38-52)	42.5 (27-55)	48 (26-56)	40 (21-49)	
Peso (kgs):					
Media±DE	77.8 ±6.6	84.0 ±13.0	77.1 ±11.8	77.7 ±9.7	.51
Mediana (Rango)	79.5 (68-86)	86 (67-105)	79.5 (56-100)	75 (64-94)	
Índice de masa corporal:					
Media±DE	26.0 ±2.3	28.3 ±4.5	26.1 ±3.4	26.8 ±3.8	.54
Mediana (Rango)	26.3 (21-29)	29.0 (22-36)	27.0 (20-31)	25.7 (21-36)	
Carga viral (log ₁₀ IU/mL) ²					
Media±DE	5.5 ±0.6	5.6 ±0.5	5.9 ±0.5	5.6 ±0.4	.34
Mediana (Rango)	5.6 (4.3-6.1)	5.6 (4.9-6.5)	5.9 (4.9-6.6)	5.7 (4.5-6.1)	
Carga viral ≥800,000 IU/mL	3 (38%)	2 (25%)	4 (40%)	1 (10%)	.39
ALT elevado	7 (88%)	7 (88%)	9 (90%)	8 (80%)	.95
Enfermedad del hígado avanzada					
Cirrosis	1 (13%)	-	-	1 (10%)	.34
Fibrosis en puente	2 (25%)	1 (13%)	-	-	
Diabetes mellitus	3 (38%)	1 (13%)	1 (10%)	1 (10%)	.42

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

²para pacientes pretratados, se presentan las cargas virales como se determinan antes del periodo de tratamiento.

[000141] Cada una de las inyecciones peg interferón semanales se administran por los médicos. En cada visita de estudio, se pregunta a los pacientes con respecto al cumplimiento con la administración de la medicación oral en estudio (Alinia o placebo). Con excepción de un paciente que se retira del estudio durante la primera semana y otro paciente que no regresa para la evaluación en la semana 12 y se trata como un no respondedor, cada uno de los pacientes reporta que ellos han cumplido con la toma de la medicación. Ninguno de los pacientes regresa la medicación sin utilizar.

[000142] Se resumen las respuestas virológicas por grupo de tratamiento de la tabla 21. El índice de respuesta para el grupo activo pretratado (5/8, 63%) es mayor que aquel del grupo placebo pretratado (P=0.15734), grupo activo no pretratado (P=0.08824), grupo placebo no pretratado (P=0.31859), los dos grupos

placebo combinados (P=0.16888) y los otros tres grupos combinados (P=0.09102).

Tabla 21. Respuestas virológicas por grupo de tratamiento.

5

	<u>Pre-tratado</u>		<u>No pre-tratado</u>	
	Activo	Placebo	Activo	Placebo
Respondedores/Total (%)	5/8 (63%)	2/8 (25%)	2/10 (20%)	4/10 (40%)

P=0.26, prueba chi cuadrado

[000143] Análisis de regresión logística identifican menor glucosa sanguínea en ayunas como un predictor independiente significativo de respuesta virológica (P=0.00101) para la población completa de pacientes estudiados (n=36). La relación entre la glucosa sanguínea en ayunas y la respuesta virológica es más significativa (P=0.0011) en el grupo activo pretratado cuando hubo tres pacientes con diabetes mellitus sin control.

15 [000144] Dada la relación observada entre la respuesta virológica y la glucosa sanguínea en ayunas, el análisis de la eficacia se repite para un subconjunto de pacientes que excluyen pacientes con diabetes mellitus no controlada. Los resultados de este análisis se presentan en la tabla 5. En este subconjunto de pacientes no diabéticos, el índice de respuesta para el grupo activo pretratado (5/5, 100%) es mayor que aquel del grupo placebo pretratado (P=0.02652), grupo activo no pretratado (P=0.01049), el grupo de placebo no pretratado (P=0.06294), los dos grupos de placebo combinados (P=0.02270) y los otros tres grupos combinados (P=0.00903). Las características demográficas y relacionadas con la enfermedad del subconjunto de pacientes no diabéticos analizados en la tabla 22

se comparan por el grupo de tratamiento, y no hay diferencias significativas entre grupos.

Tabla 22. Respuesta virológica por grupo de tratamiento, que excluye pacientes con diabetes mellitus no controlada

	<u>Pre-tratado</u>		<u>No pre-tratado</u>	
	Activo	Placebo	Activo	Placebo
Respondedores/Total (%)	5/5 (100%)	2/7 (100%)	2/9 (22%)	4/9 (44%)

P=0.26, prueba chi cuadrado

[000145] Cada uno de los respondedores virológicos en el grupo Alinia®+pegIFN pretratados tiene factores de complicación relacionados con la enfermedad que pueden reducir ordinariamente la probabilidad de éxito del tratamiento con pegIFN-ribavirina. Los índices de respuesta para los subconjuntos de pacientes con altas cargas virales, avanzada enfermedad del hígado, y diabetes no controlada se presentan por grupo de tratamiento en la tabla 23.

Tabla 23. Índice de respuesta en pacientes con factores de complicación relacionados con la enfermedad.

	<u>No. de respondedores/Total</u>			
	<u>Pre-tratado</u>		<u>No pre-tratado</u>	
	Activo	Placebo	Activo	Placebo
Alta carga viral (<800,000 IU/mL)	2/2	0/1	1/3	0/1
Enfermedad avanzada del hígado:				
cirrosis	1/1	-	-	-
fibrosis en puente	1/1	1/1	-	-

Coinfección por HVB	1/1	-	-	-
Diabetes no controlada	0/2	-	-	-
- con alta carga viral (HVL)	-	0/1	0/1	-
- Con HVL y fibrosis en puente	0/1	-	-	-
- Con cirrosis	-	-	-	0/1
Ninguno de los anteriores	-	1/5	1/6	4/8

[000146] Caída de 2-log en ARN HCV de suero. Todos los pacientes con una caída de 2-log en ARN HCV de suero en el final del tratamiento también tienen ARN HCV de suero no detectable. Los resultados son, por lo tanto, los mismos como se presentan en las tablas 21, 22, 23.

[000147] Los cambios en ALT de la línea base de la semana 12 se resumen por grupo de tratamiento en la tabla 24.

10 Tabla 24. Cambios en ALT por grupo de tratamiento

	<u>Pre-tratado</u>		<u>No pre-tratado</u>	
	Activo	Placebo	Activo	Placebo
Normalizado	3	1	2	2
Restante elevado	4	6	6	4
Restante normal	1	1	1	1
Normal a elevado	-	-	-	1

Nota: tres pacientes no evaluables debido a la pérdida de datos ALT en su línea base o al final del tratamiento

15 [000148] Respuestas virológicas por grupo de tratamiento se presentan para cada uno de los dos centros de estudio en la tabla 25. Los mismos datos se presentan para el subconjunto de pacientes sin diabetes no controlada en la tabla 26. En el análisis general, no hubo diferencia significativa entre los índices de respuesta

observados para los dos centros de estudio. En el análisis de subconjunto, los índices de respuesta son significativamente diferentes debido que el segundo centro de estudio tiene dos pacientes que responden al placebo + pegIFN. Estos dos pacientes son machos de 27 y 30 años de edad con bajas cargas virales y sin condiciones de complicación relacionadas con la enfermedad. Los pacientes enrolados en el grupo activo no pretratado con el genotipo 2 es un no respondedor. No hubo otras desviaciones de protocolo significativas.

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

	No. de respondedores/total			
	<u>Pre-tratado</u>		<u>No pre-tratado</u>	
	Activo	Placebo	Activo	Placebo
Primer centro de estudio	3/5	0/5	2/10	4/10
Segundo centro de estudio	2/3	2/3	-	-
P= 0.35, prueba Cochran-mantel-Haenszel				

Tabla 26. Respuestas virológicas por sitio de estudio y grupo de tratamiento, pacientes sin diabetes mellitus no controlada

	No. de respondedores/total			
	<u>Pre-tratado</u>		<u>No pre-tratado</u>	
	Activo	Placebo	Activo	Placebo
Primer centro de estudio	3/3	0/4	2/9	4/9
Segundo centro de estudio	2/2	2/3	-	-
P= 0.0465, prueba Cochran-mantel-Haenszel				

[000149] Administración de 24 semanas de Alinia® seguido por 12 semanas de Alinia +pegIFN α-2b produce mayores índices de respuesta virológica (5/8, 63%)

que el pegIFN α -2b más placebo durante doce semanas (6/8, 33%) o Alinia® + pegIFN α -2b durante 12 semanas sin pretratamiento (2/10, 20%).

5 [000150] Cuando los pacientes con diabetes mellitus no controlada se excluyen, el índice de respuesta para el grupo activo pretratado (5/5, 100%) es mayor que aquel del grupo de placebo pretratado (2/7, 29%, $P=0.02652$), grupo activo no pretratado (2/9, 22%, $P=0.01049$), el grupo de placebo no pretratado (4/9, 44%, $P=0.06294$), los dos grupos de placebo combinados (6/16, 38%, $P=0.02270$) y los otros tres grupos combinados (8/25, 32%, $P=0.00903$).

10

[000151] Cada uno de los cinco respondedores virológicos en el grupo de tratamiento activo tiene complicaciones relacionadas con la enfermedad que pueden reducir típicamente la probabilidad de éxito con la terapia de pegIFN-ribavirina: dos con carga viral $> 800,000$ IU/mL, dos con enfermedad avanzada del hígado (1 cirrosis, 1 fibrosis de puente) y uno con coinfección por virus de la hepatitis B.

15

[000152] Estos resultados indican que el pretratamiento de pacientes con Alinia® antes de agregar pegIFN potencia el efecto de pegIFN, que produce índices de respuesta que son significativamente mayores que aquellos del pegIFN solo o Alinia solo + pegIFN sin un periodo de pretratamiento.

20

[000153] Se examinan las medidas de seguridad de la droga para pacientes tratados con Alinia® + pegIFN para aquellos que reciben placebo + pegIFN. El alcance de la exposición se resume en la tabla 27.

25

Tabla 27. Alcance de la exposición

Tratamiento/Exposición	No. de pacientes
Alinia 500 mg dos veces al día por 12 semanas + inyecciones pegIFN semanales	18
Placebo dos veces al día por 24 semanas + inyecciones pegIFN semanales	17
Una inyección peginterferón (retiro)	1

[000154] Se reportan cuatro eventos adversos suaves (AEs), tres para pacientes en el grupo de tratamiento de placebo y uno para un paciente en el grupo de tratamiento activo. No hubo eventos adversos serios. Ninguno de los eventos adversos requiere modificación o interrupción del tratamiento. Los eventos adversos se exhiben por el sistema corporal, término estándar, severidad y causalidad en la tabla 28 para el grupo de tratamiento activo y en la tabla 29 para el grupo de tratamiento de placebo. Las proporciones de pacientes que reportan cada evento adverso se comparan por el grupo de tratamiento. No hubo diferencias significativas en la frecuencia o naturaleza de los eventos adversos reportados por los dos grupos de tratamiento. No se reportan muertes, AEs serios, u otros AEs significativos. No se reportan eventos adversos de laboratorio durante el estudio.

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

[illegible]

¹NER= sistema nervioso

2 relación para uso de la droga: N= no relacionado, U= probablemente relacionado, P= posiblemente relacionado, PR=probablemente relacionado

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

Evento adverso (sistema afectado) ¹	Pacientes que reportan AEs		Severidad y relación con el uso de la droga ²											
			Suave				moderado				Severo			
	Número	%	N	U	P	PR	N	U	P	PR	N	U	P	PR
Petechia (HAL)	1	5.8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Depresión (NER)	1	5.8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fotosensibil idad (CUERPO)	1	5.8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹HAL= sistema linfático y circulatorio. NER= sistema nervioso. CUERPO= cuerpo como un todo o sistema no específico

2 relación para uso de la droga: N= no relacionado, U= probablemente relacionado, P= posiblemente relacionado, PR=probablemente relacionado

10 **[000155]** Los cambios en los parámetros de seguridad de laboratorio durante el tiempo se analizan por grupo de tratamiento utilizando análisis de mediciones repetidas de varianza para datos continuos y prueba exacta de fisher para datos

15 categóricos. Se observan diferencias significativas para dos parámetros: los conteos de plaquetas durante el tiempo fue mayor para los pacientes tratados con Alinia más pegIFN que para pacientes tratados con pegIFN + placebo (P=0.0138), como se muestra en la figura 7; y los conteos de neutrófilos durante el tiempo

fueron mayores para pacientes tratados con Alinia + pegIFN que para pacientes tratados con pegIFN + placebo ($P=0.0205$), como se muestra para la figura 8.

5 [000156] Los valores registrados para los conteos de plaquetas y conteos de neutrófilos se incrementa de la semana 8 a la semana 12. Un número de pacientes tienen su muestra de suero de la semana 12 recolectada 3 a 7 días después (10 a 14 días después de la última inyección de pegIFN), y sus conteos de neutrófilos y plaquetas se ha comenzado a recuperar. Para eliminar el efecto de los datos recolectados posteriormente en la semana 12, los datos de línea base para la semana 8 se analizan separadamente. Cuando se elimina el punto de datos de la semana 12 las diferencias en los conteos de plaquetas y los conteos de neutrófilos absolutos durante el tiempo permaneces significativo ($P=0.044$ para plaquetas, $P=0.0101$ para neutrófilos).

15 [000157] Se conducen análisis para evaluar el efecto de la respuesta virológica o pretratamiento con Alinia en el cambio en conteos de plaquetas o conteos de neutrófilos durante el tiempo. Las diferencias no se relacionan con respuesta virológica o pretratamiento con Alinia.

20 [000158] Los signos vitales, hallazgos físicos, y otras observaciones relacionadas con la seguridad no suministran hallazgos significativos.

[000159] La administración de compuestos de Alinia administrados 500 mg dos veces al día con alimento junto con inyecciones semanales de interferón α -2b pegilado durante 12 semanas en pacientes con hepatitis C crónica fue segura y bien tolerada.

[000160] Las reducciones de conteos de plaquetas y conteos de neutrófilos asociados típicamente con la administración de pegIFN fue significativamente más pequeños en pacientes tratados con Alinia ($P=0.0044$ y 0.0101 , respectivamente).

5 **[000161]** La administración de 24 semanas de Alinia seguido por 12 semanas de Alinia+pegIFN α -2b produce mayores índices de respuesta virológica (5/8, 63%) que el pegIFN α -2b +placebo durante 12 semanas (6/18, 33%) o Alinia + pegIFN α -2b durante 12 semanas sin pretratamiento (2/10, 20%).

10 **[000162]** Cuando se excluyen pacientes con diabetes mellitus no controlada, el índice de respuesta para el grupo activo pretratado (5/5, 100%) es mayor que aquel del grupo placebo pretratado (2/7, 29%, $P=0.02652$), grupo activo no pretratado (2/9, 22%, $P=0.01049$), el grupo placebo no pretratado (4/9, 44%, $P=0.06294$), los dos grupos de placebo combinados (6/16, 38%, $P=0.02270$) y los
15 otros tres grupos combinados (8/25, 32%, $P=0.00903$).

[000163] Cada uno de los 5 respondedores virológicos en el grupo de tratamiento activo pretratado tiene complicaciones relacionadas con la enfermedad que pueden reducir típicamente la probabilidad de éxito con la terapia de pegIFN –
20 ribavirina: dos con carga viral $> 800,000$ IU/mL, dos con enfermedad avanzada del hígado (uno cirrosis, uno fibrosis de puente) y uno con coinfección por virus de la hepatitis B.

[000164] La administración de Alinia junto con pegIFN α -2b en pacientes con
25 hepatitis C crónica es seguro y bien tolerado. No se identifican preocupaciones relacionadas con la seguridad.

[000165] La reducción de los conteos de plaqueta y los conteos de neutrófilos asociados típicamente con la administración de pegIFN fue significativamente más pequeño en pacientes tratados Alinia ($P=0.0044$ y 0.0101 , respectivamente).

- 5 **[000166]** Estos resultados indican que el pretratamiento de pacientes con Alinia antes de agregar pegIFN potencia el efecto del pegIFN, que produce índices de respuesta significativamente mayores que aquellos para el pegIFN solo Alinia + pegIFN sin un periodo de pretratamiento. La administración concomitante de Alinia puede reducir adicionalmente la toxicidad hematológica del pegIFN.

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis C que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto seleccionado de Nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida, y derivados de tizoxanida, o mezclas de estos.
5
2. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra en la forma de una composición que comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.
10
3. El método de la reivindicación 2, en donde la composición comprende una mezcla de compuestos seleccionados de Nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida y derivados de tizoxanida.
15
4. El método de la reivindicación 2, en donde la composición comprende adicionalmente uno o más agentes adicionales biológicamente activos.
5. El método de la reivindicación 1, que comprende administrar el compuesto al paciente durante un periodo de tiempo entre aproximadamente tres días y aproximadamente 24 semanas, seguido por la administración del compuesto y un interferón al paciente durante un periodo entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 48 semanas.
20
6. El método de la reivindicación 1, que comprende administrar el compuesto al paciente durante un periodo entre aproximadamente tres días y aproximadamente dos años.
25

7. El método de la reivindicación 1, que comprende adicionalmente administrar uno o más agentes activos adicionales al paciente.

5 8. El método de la reivindicación 7, en donde uno o más agentes activos adicionales comprende un interferón.

9. El método de la reivindicación 8, en donde el interferón se administra al paciente separado del compuesto.

10

10. El método de la reivindicación 8, en donde el interferón es interferón α -2a, interferón α -2b, o un derivado de polietilenglicol de interferón α -2a o interferón α -2b.

15 11. El método de la reivindicación 8, en donde el interferón se administra al paciente durante un periodo de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 48 semanas.

20 12. El método de la reivindicación 11, en donde el interferón se administra al paciente durante un periodo de aproximadamente 1 semana a aproximadamente 4-12 semanas.

13. El método de la reivindicación 8, en donde el interferón se administra al paciente entre 1 y 3 veces cada semana.

25

14. El método de la reivindicación 8, en donde la administración del interferón se inicia después de tratar el paciente con el compuesto durante un periodo de tiempo predeterminado.
- 5 15. El método de la reivindicación 14, en donde el periodo predeterminado de tiempo es entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 6 meses.
16. El método de la reivindicación 15, en donde el periodo de tiempo predeterminado está aproximadamente 1 semana y aproximadamente 4
10 semanas.
17. El método de la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra al paciente 1 a 3 veces cada día durante un periodo predeterminado de
tratamiento.
15
18. El método de la reivindicación 7, en donde uno o más agentes activos adicionales comprende un agente anti diabetes.
19. El método de la reivindicación 18, en donde el agente anti diabetes se
20 administra separadamente del compuesto.
20. El método de la reivindicación 2, en donde la composición comprende el compuesto y uno o más agentes activos adicionales.
- 25 21. El método de la reivindicación 20, en donde la composición comprende adicionalmente un agente anti diabetes.

22. El método de la reivindicación 20, en donde la composición comprende adicionalmente un interferón.

5 23. El método de la reivindicación 20, en donde la composición comprende adicionalmente un interferón y un agente anti diabetes.

10 24. Un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis C que comprende:
(a) pretratar el paciente al administrar al paciente durante un periodo de tiempo predeterminado una primera composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto seleccionado de Nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida y derivados de tizoxanida o mezclas de estos; y (b) después del periodo de tiempo predeterminado, administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una segunda composición que comprende un agente activo.

15

25. El método de la reivindicación 24, en donde el periodo de tiempo predeterminado está entre aproximadamente 3 días y aproximadamente 3 meses.

20 26. El método de la reivindicación 25, en donde el periodo de tiempo predeterminado está entre aproximadamente 1 semana y aproximadamente 4 semanas.

25 27. El método de la reivindicación 24, en donde el agente activo es un interferón seleccionado de interferón α -2a, interferón α -2b, o un derivado de polietilenglicol de interferón α -2a o interferón α -2b.

28. El método de la reivindicación 27, en donde la segunda composición comprende adicionalmente un compuesto seleccionado de Nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida y derivados de tizoxanida o mezclas de estos.

5

29. un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis viral que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer compuesto que tiene la fórmula $R1-NHCO-R2$, en donde $R1$ y $R2$ se seleccionan independientemente de las porciones que proporcionan estabilidad mejorada del grupo $NHCO$ en tejido y fluido biológico, dado que el compuesto no es Nitazoxanida ni tizoxanida.

10

30. El método de la reivindicación 29, en donde la reactividad del grupo $NHCO$ en el compuesto se reduce hacia reacciones de clivaje comparadas con la reactividad del compuesto análogo que tiene hidrógeno como $R1$ o $R2$.

15

31. El método de la reivindicación 29, en donde $R1$ y $R2$ se seleccionan independientemente de grupos cíclicos sustituidos, grupos cíclicos no sustituidos, grupos heterocíclicos sustituidos, y grupos heterocíclicos no sustituidos, en donde $R1$, $R2$, o $R1$ y $R2$ son opcionalmente aromáticos.

20

32. El método de la reivindicación 29, en donde el primer compuesto está en la forma de una composición, y en donde la composición comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable.

25

33. El método de la reivindicación 332, en donde la composición comprende adicionalmente un agente activo seleccionado de interferón α -2a, interferón α -2b, o un derivado de polietilenglicol de interferón α -2a o interferón α -2b.

5 34. El método de la reivindicación 29, en donde el primer compuesto se administra al paciente durante un periodo entre aproximadamente una semana y aproximadamente 2 años.

10 35. El método de la reivindicación 29, que comprende adicionalmente administrar un interferón al paciente durante un periodo entre aproximadamente una semana y aproximadamente 48 semanas.

15 36. El método de la reivindicación 35, en donde el periodo de tratamiento con el interferón se inicia doce semanas después que se inicia el tratamiento con el compuesto.

37. El método de la reivindicación 29, en donde la hepatitis viral que se trata es hepatitis C.

20 38. En un método para tratar un paciente que sufre de hepatitis C con una cantidad terapéuticamente efectiva de un interferón, la mejora comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de Nitazoxanida, tizoxanida, o mezclas de estos.

25 39. El método de la reivindicación 38, en donde la cantidad de interferón requerida para alcanzar una respuesta sostenida en el paciente se reduce comparado con la cantidad de interferón requerida para alcanzar una

respuesta sostenida en el paciente sin la administración de Nitazoxanida, tizoxanida o mezclas de estos.

40. El método de la reivindicación 38, en donde la cantidad de interferón
5 requerida para alcanzar una respuesta sostenida en el paciente se reduce comparado con la cantidad de interferón requerida para alcanzar una respuesta sostenida en el paciente cuando se trata con una combinación de ribavirina y el interferón.
- 10 41. El método de la reivindicación 38, en donde el método proporciona al paciente una oportunidad incrementada de tener ARN HCV de suero reducido después de tratamiento según se compara con un método para tratar la hepatitis C con una combinación de ribavirina y el interferón.
- 15 42. El método de la reivindicación 38, en donde el método proporciona al paciente una oportunidad similar de tener ARN HCV de suero reducido después de tratamiento según se compara con un método para tratar la hepatitis C con una combinación de ribavirina y el interferón.
- 20 43. El método de la reivindicación 38, en donde el método produce menos efectos colaterales según se compara con un método para tratar la hepatitis C con una combinación de ribavirina y el interferón.
44. Una composición que comprende: (a) uno o más compuestos seleccionados
25 Nitazoxanida, tizoxanida, derivados de nitazoxanida y derivados de tizoxanida; (b) un interferón; y (c) un agente antidiabetes.

45. La composición de la reivindicación 44, en donde el interferón se selecciona de interferón α -2a, interferón α -2b, y un derivado de polietilenglicol de interferón α -2a o interferón α -2b.

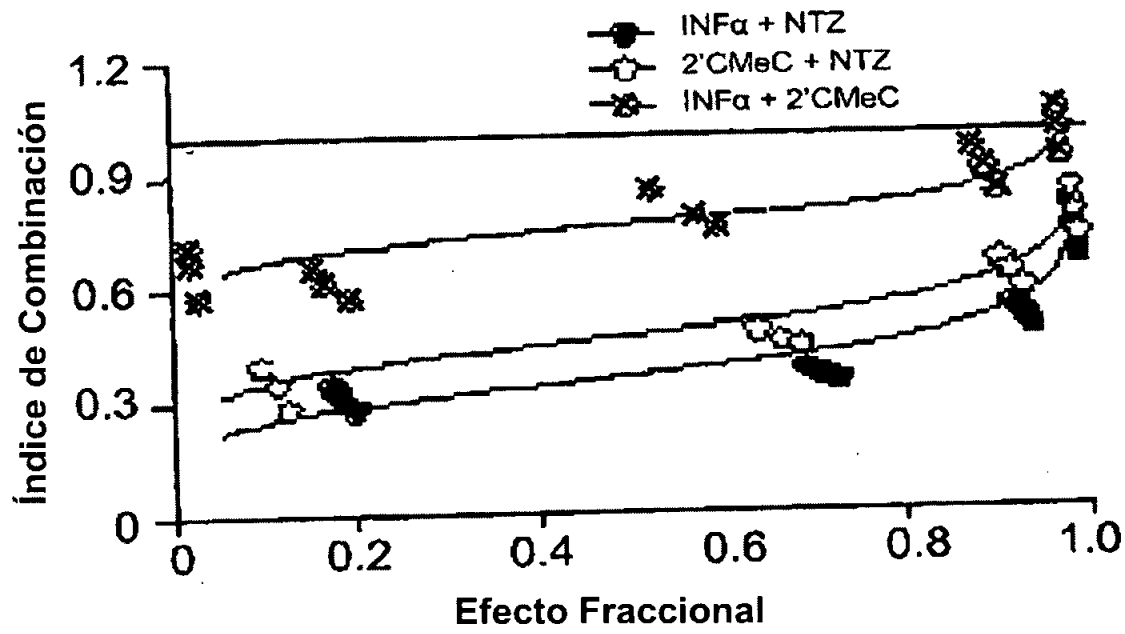


FIG. 1a

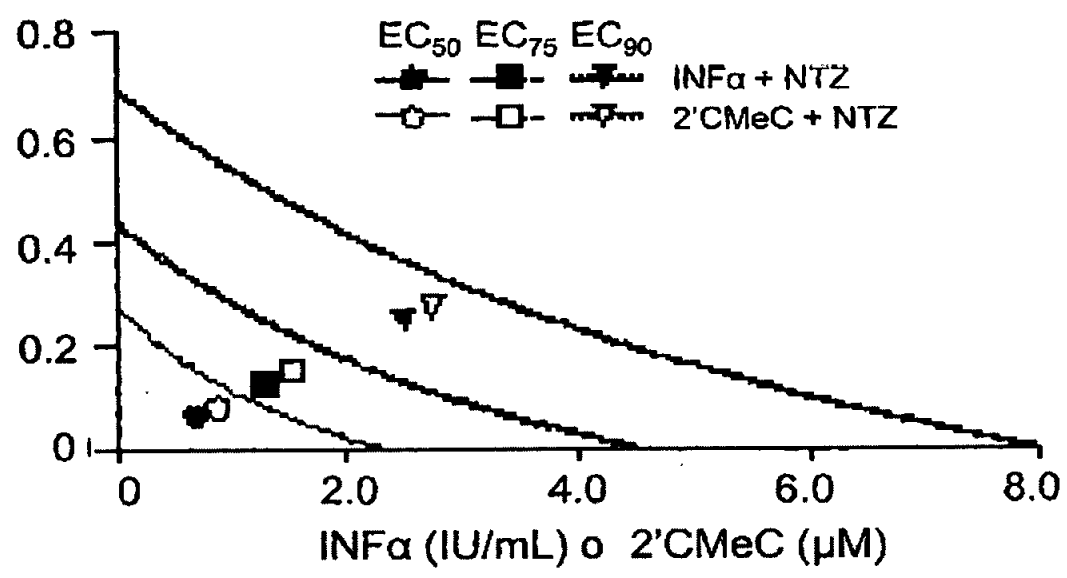


FIG. 1b

3/10

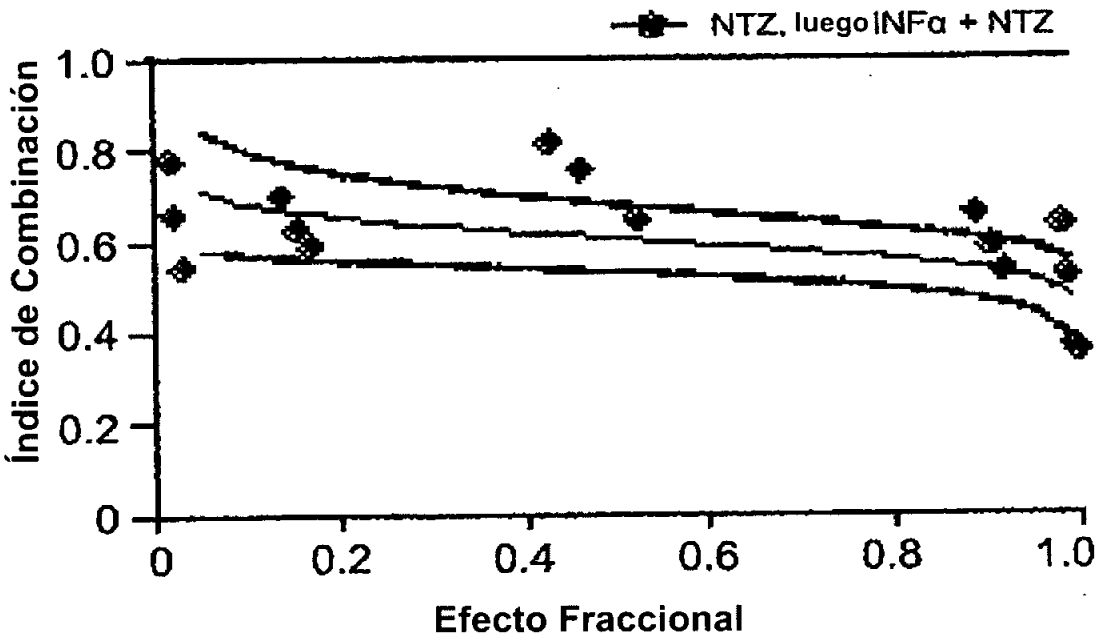


FIG. 2a

4/10

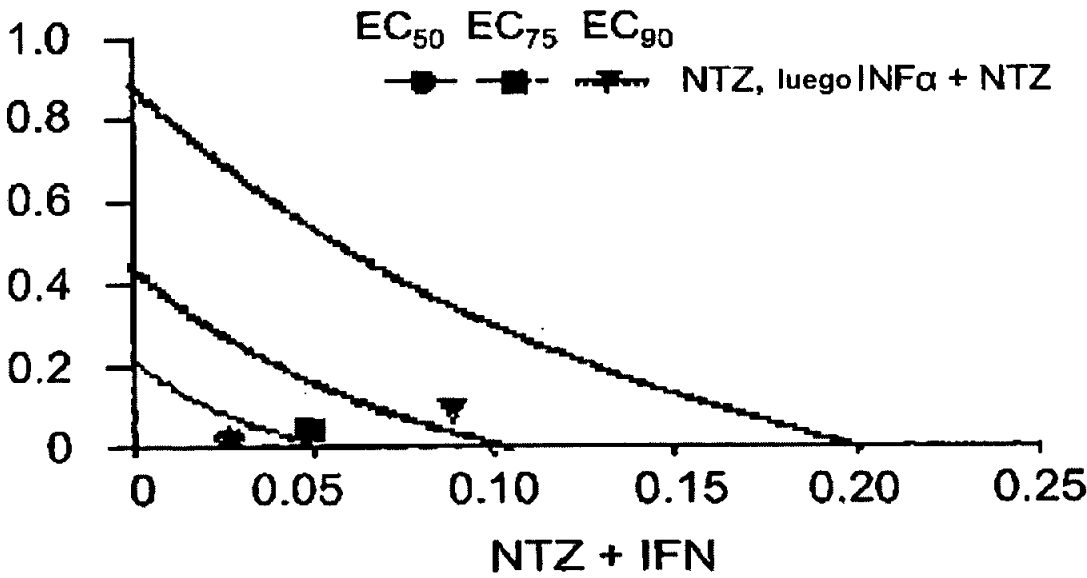


FIG. 2b

Diagrama de Disposición de Paciente

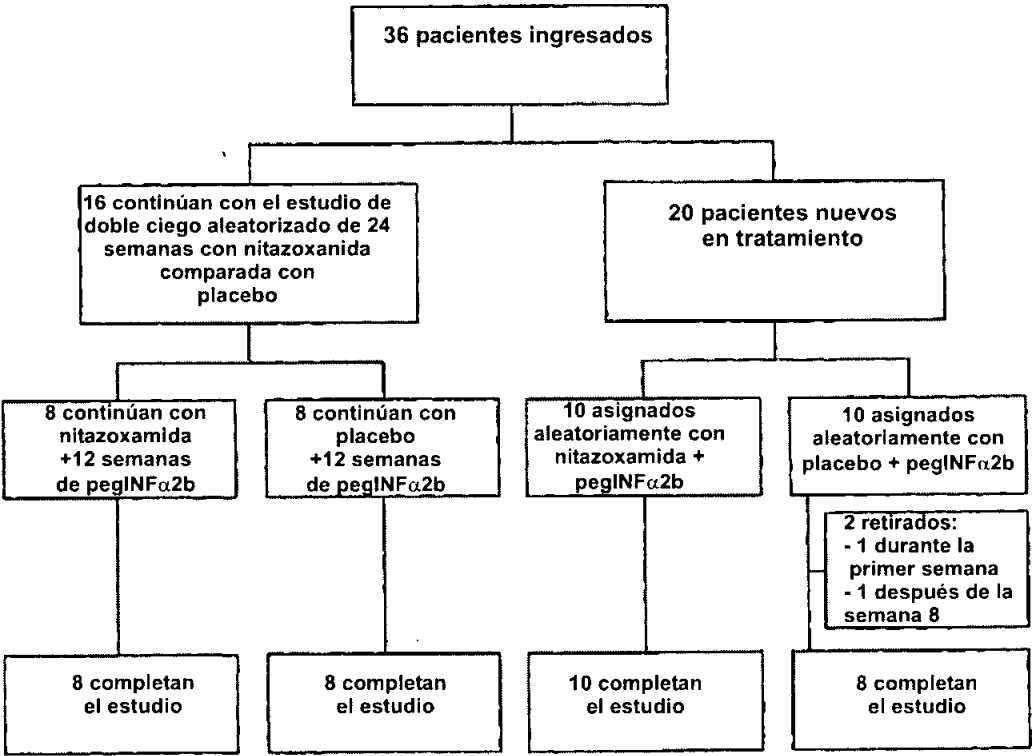


FIG. 3

6/10

Media de ARN HCV se Suero Cuantitativo durante Un Tiempo por Grupo de Tratamiento y Respuesta Viroológica

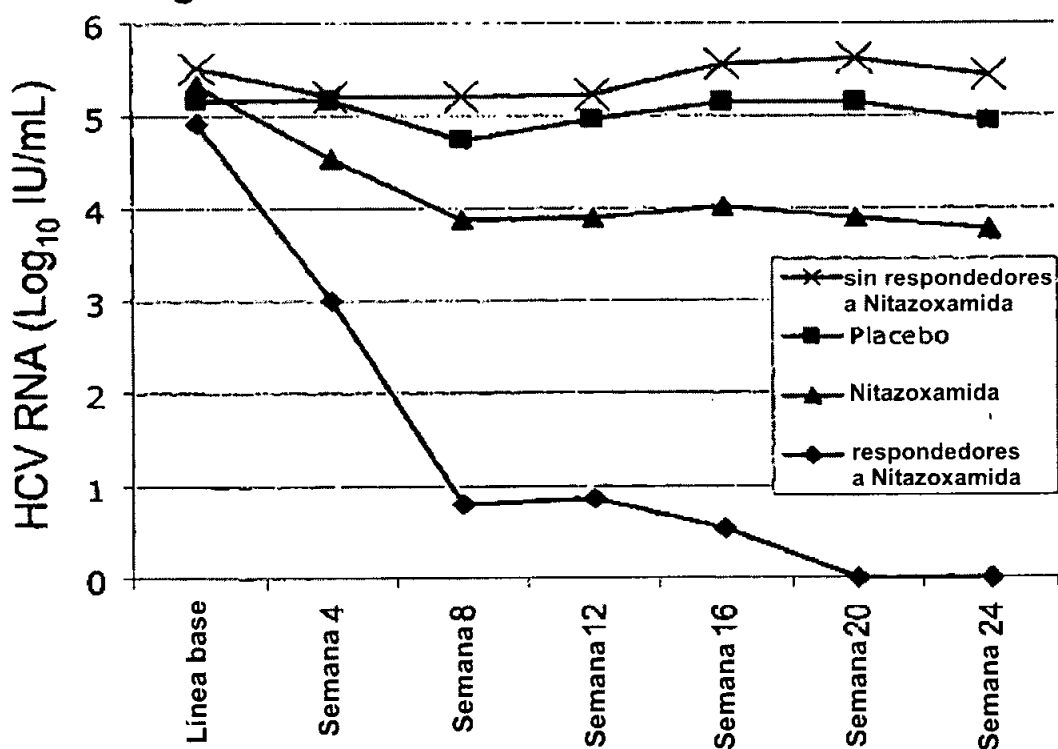


FIG. 4

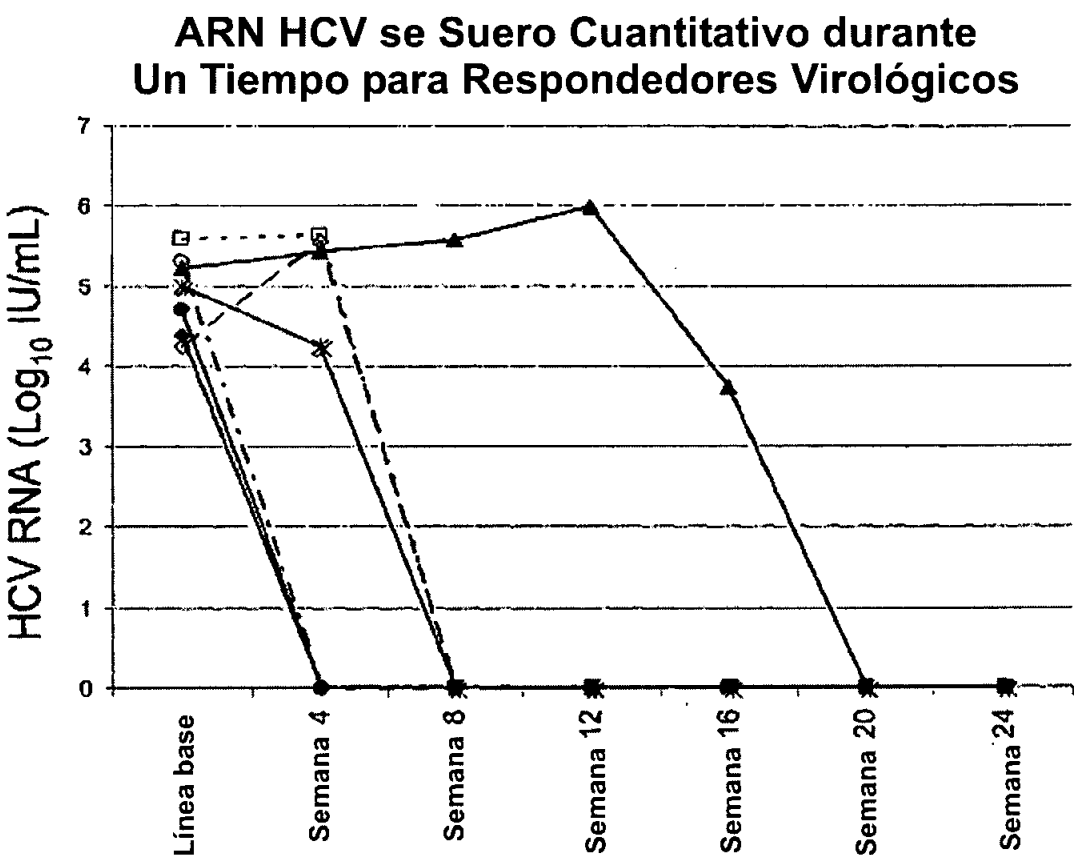


FIG. 5

Diagrama de Disposición de Paciente

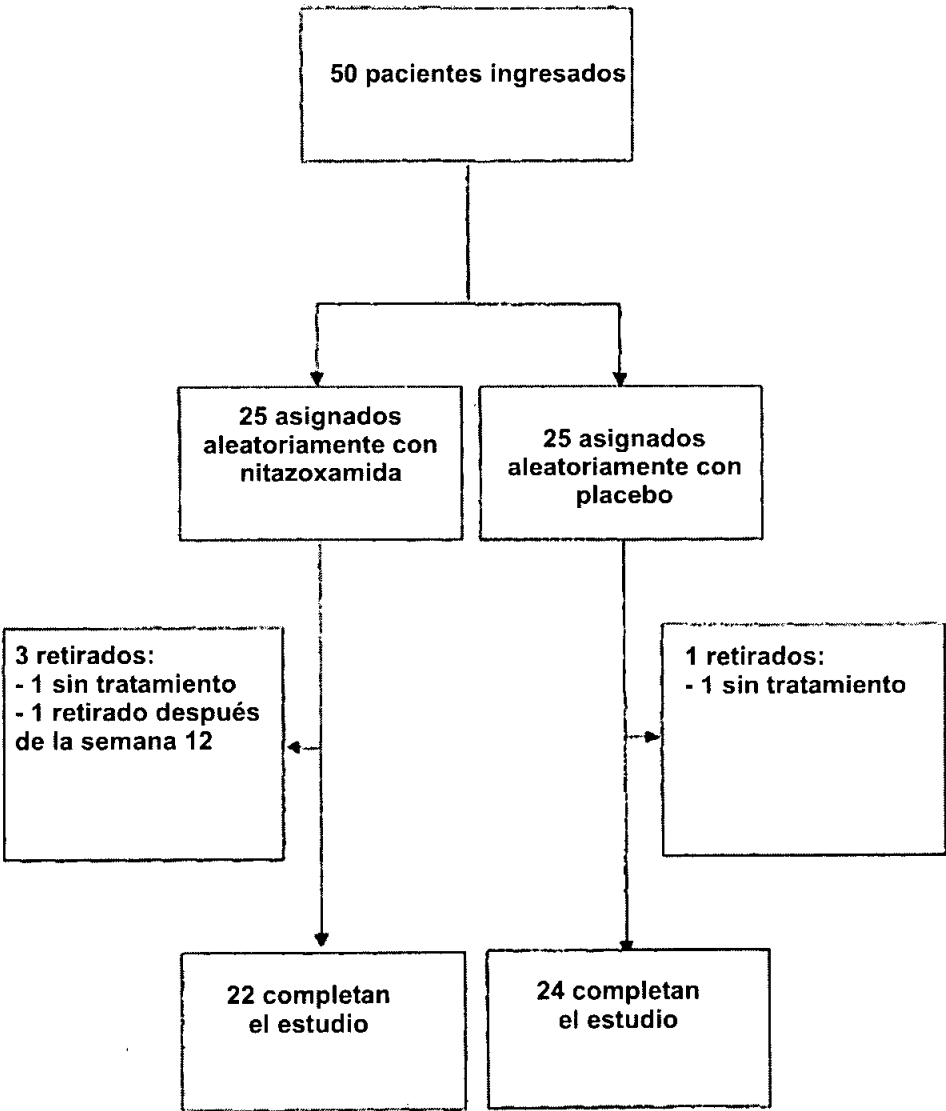


FIG. 6

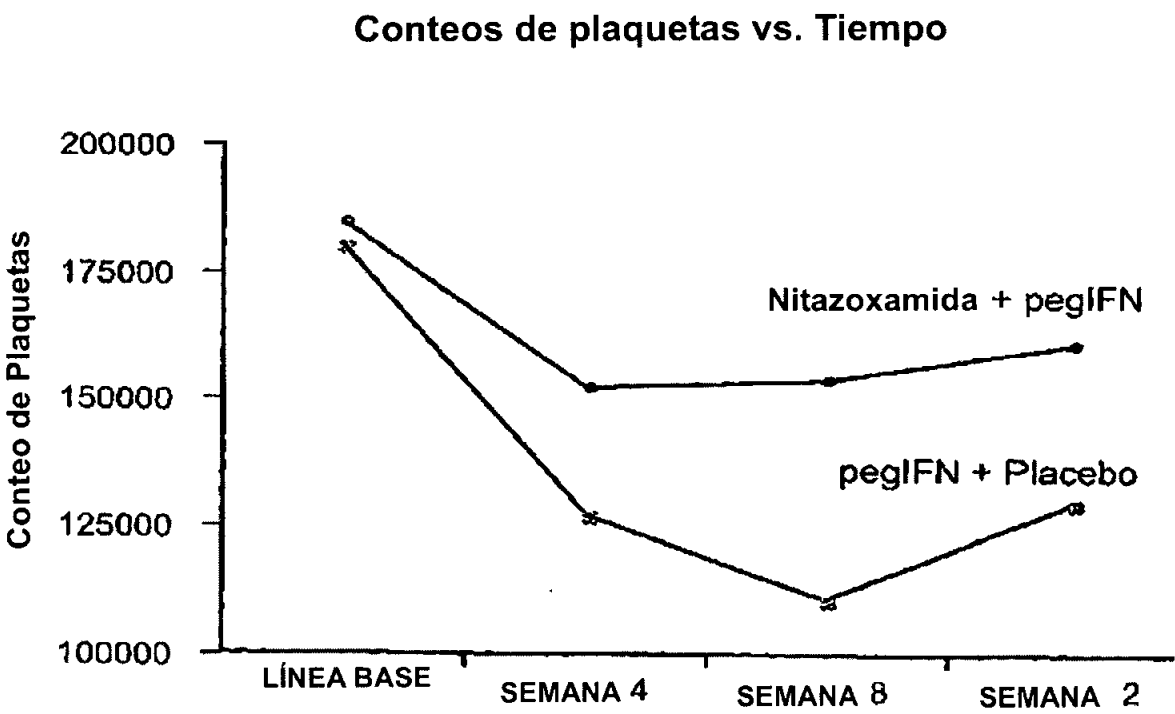


FIG. 7

10/10

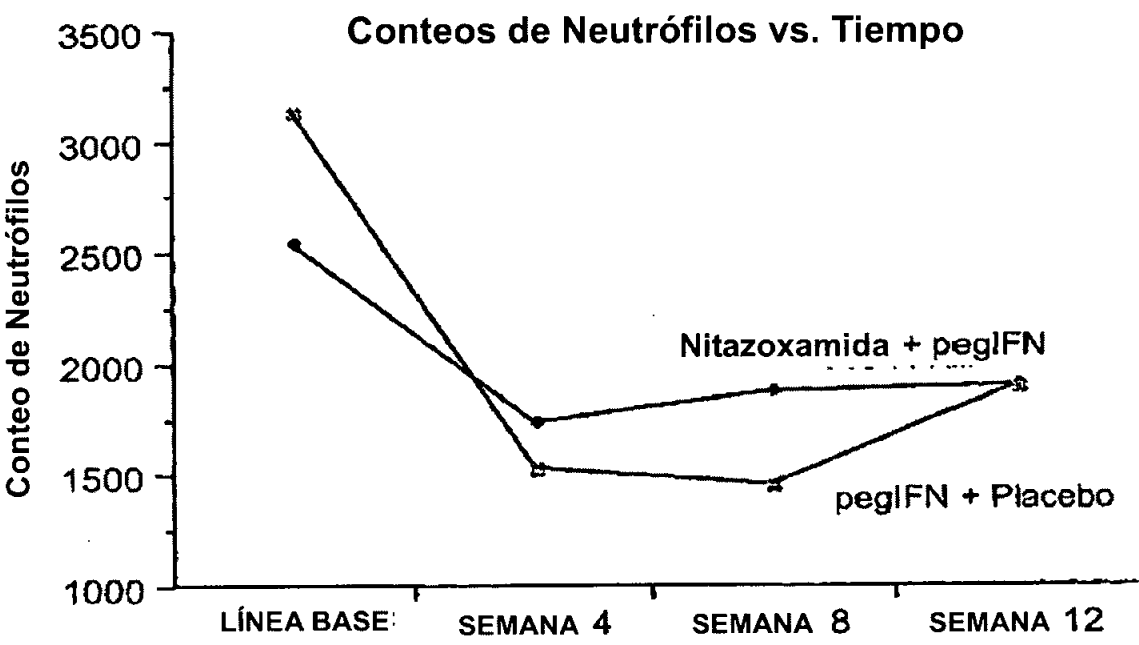


FIG. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US07/00574

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC: A61K 31/425(2006.01);A61K 39/42(2006.01)		
USPC: 514/367;514/370;424/161.1		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/367;514/370;424/161.1		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5,886,013 (ROSSIGNOL) 23 March 1999 (23.03.1999);claims2,6.	1-29,33-45
Y	WO2005/049065 (LU) 06 February 2005 (06.02..2005);page 2, lines 18-19,24-25.	1-29,33-45
X	US 6,340,696 (CAMDEN) 22 January 2002 (22.01.2002); col. 1, lines 58-67 ,col.2 , lines 1-	29-32,37
---	7;claims 1,2 and 3.	-----
Y		1-29,33-45
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 14 September 2007 (14.09.2007)		Date of mailing of the international search report 14 NOV 2007
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer MAURY AUDET Telephone No. 571-272-1600

Extracto Folio 161

162

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 8 - 60,425
FECHA : JULIO 28 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	2678332	28/07/2008	43,095,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-082042- -00000-0000

Fecha: 2008-08-06 16:30:50
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACION
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 162

Cdo 16619-841-001-0

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-082042- -00000-0000

Fecha: 2008-08-06 16:30:50 Dep. 2020 NUECREACIONE
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 162



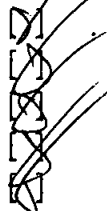
Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ◆ Descripción de la invención
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas



COMPLETA ☒

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Diago
Firma Responsable

Fecha

06-08-08

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

164

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO

REFERENCIA	Radicación No.	08 82042
	Solicitud internacional	PCT/US2007/000574
	Fecha inicio fase nacional	09/08/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	10888

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular Única 5.2.9)

3. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal

Continúa en la página siguiente...

769

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación No.: 8 82042

e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 29. AGO. 2008
adpall