



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETA' INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101993900294383
Data Deposito	05/04/1993
Data Pubblicazione	05/10/1994

Priorità	863890
Nazione Priorità	US
Data Deposito Priorità	
Priorità	952927
Nazione Priorità	US
Data Deposito Priorità	
Priorità	959004
Nazione Priorità	US
Data Deposito Priorità	

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

COMPOSIZIONE PER IL TRATTAMENTO DI INFEZIONI E MALATTIE CAUSATE DAL VIRUS DELL'EPATITE B (HPV)

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo

7573-010-005

"Composizioni per il trattamento di infezioni e malattie causate dal virus dell'epatite B (HPV)"

di: **OCLASSEN PHARMACEUTICALS, INC.**, nazionalità statunitense, 100 Pelican Way San Rafael, CA 94561 (Stati Uniti d'America)

Inventori designati: Dennis, W. Adair;

Kenneth, A. Smiles;

Dannie King.

TO 93A000226

Depositata il: **5 APR. 1993**

* * *

DESCRIZIONE

1. Campo dell'Invenzione

La presente invenzione si riferisce a composizioni farmaceutiche utili per il trattamento di soggetti umani che soffrono di infezioni o malattie causate dal virus dell'epatite B (HBV). In particolare, in un regime terapeutico che comprende la somministrazione delle composizioni della presente invenzione, possono beneficiare soggetti umani che soffrono di infezione cronica da HBV, compresi quelli che soffrono nello stesso tempo per altre condizioni mediche, come infezione, malattia o altra condizione patologica provocata dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV).

ADOBAGGI - CASALIA & PERAZZI
S.p.A.

2. Sfondo dell'Invenzione

Il composto nucleoside 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU) è stato descritto, per esempio, nel brevetto US N. 4.211.773, come agente antivirale ed antitumorale. La descrizione di questo brevetto comprende metodi per la preparazione del composto FIAU e rivendica pure composizioni farmaceutiche comprendenti una classe generale di analoghi della pirimidina, tra cui FIAU, 1-(2-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina (FIAC) o loro sali di addizione farmaceuticamente accettabili. Vengono presentati i dati in vitro che mostrano l'inibizione della replicazione del virus dell'Herpes Simplex (HSV) per una varietà di nucleosidi analoghi. Nel caso di FIAC, vengono pure presentati i dati in vivo su ratti inoculati con HSV-1, che mostrano un miglioramento nella percentuale di sopravvivenza per quegli animali che hanno ricevuto il trattamento con FIAC rispetto alla animali di controllo.

Sono stati effettuati altri studi relativi all'attività in vitro di FIAC e del suo metabolita uracilico deaminato primario, FIAU, contro numerosi virus del gruppo degli herpes, partico-

JACOBBACCI - CASETTA & PERAZZI
S.p.A.

larmente herpes simplex (HSV) tipo 1 e 2, varicella zoster (VSV), e citomegalovirus (CMV). Sebbene non sia stato chiarito nei suoi dettagli definitivi, i composti FIAC e FIAU (è evidente per il lettore che, alternativamente, FIAC può essere considerato come il profarmaco di FIAU) esercitano apparentemente il loro effetto servendo come substrati per la polimerasi del DNA virale.

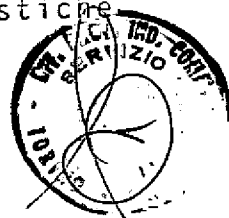
(Cheng, Y.-C. e altri Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1981, 20:420-423). Il valore ED_{90} in vitro per FIAC/FIAU contro questi virus varia approssimativamente tra 0,05 μM per HSV-1 a circa 0,5 μM per CMV. Le tipiche concentrazioni di tossicità cellulare (ID_{50}) sono approssimativamente dell'ordine di 10 μM . (Lopez, C. e al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1980, 17(5): 803-806; Schinazi, R.F. et al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1986, 29:77-84; Colacino, J.M. e al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1983, 24:505-508; Hantz, O. e al. Antiviral Research 1984, 4:187-189).

2.1. Studi Clinici precedenti

Nei precedenti studi per determinare l'efficacia di FIAC contro i virus del gruppo dell'herpes, condotti su più di 100 pazienti, compresi

pazienti immuno-compromessi, si è trovato che la Fiac è pressoché completamente assorbita dopo la somministrazione orale e viene molto rapidamente convertita in Fiau. La semi-vita del Fiau è sufficientemente lunga da permettere concentrazioni antivirali efficaci superiori a 0,2 μM nel plasma per un periodo da 9 a 12 ore dopo una dose orale di Fiac uguale o minore a 2,5 mg/kg che non presenta tossicità acuta. (Feinberg A., e al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1985, 27:733-738). Per la grave natura della malattia in questi pazienti molto debilitati, sono state usate dosi elevate (10-20/mg/kg/giorno) di Fiac, e si è dimostrato molto difficile e spesso impossibile distinguere la tossicità del farmaco dal corso naturale di questi paziente estremamente gravi.

Questi studi hanno dimostrato che il composto attivo anti-erpetico nel plasma è lo Fiau. Fiac è stato quasi mai rilevato due ore dopo la somministrazione, confermando la sua rapida deaminazione a Fiau. Picchi di Fiau dell'ordine di circa 0,5 $\mu\text{g/ml}$ sono frequenti tra i pazienti, e stabili dal giorno 3 del dosaggio in avanti. I valori ideali hanno le stesse caratteristiche



ad eccezione del fatto che si stabilizzano all'incirca su 0,05 ug/ml. I valori di FAU sono bassi, legati alla dose (0,05 ug/ml a 0,6 mg/kg-giorno contro 0,10 ug/ml a 1,0 mg/kg-giorno) e non aumentano con il dosaggio continuato. Questi risultati hanno confermato che l'FIAU è il composto antierpetico predominante presente nel plasma, e che né FIAC né FIAU o i loro metaboliti si accumulano nel plasma con somministrazione TID di mesi.

L'FIAU è il metabolita primario della FIAC, e la somministrazione del metabolita semplifica il metabolismo richiesto per l'eliminazione della conversione diretta di FIAC a FAC, un metabolita potenzialmente più tossico. (Philips F.S. e al. Cancer Research 1984, 43:3619-3627).

2.2. Studi in vitro e su animali dell'attività anti-HBV

Hantz e altri hanno dimostrato in due sistemi in vitro che l'FIAC inibisce l'attività dell'enzima polimerasi del DNA sia del virus dell'epatite B umana che del virus dell'epatite della marmotta al 50%, ad una concentrazione compresa tra 0,05 e 0,1 uM (Hantz, O. e al. Antiviral Research 1984, 4:187-189).

Fourel e al. hanno trattato marmotte infette

con il virus dell'epatite della marmotta, un virus molto vicino a quello dell'epatite B, per 7 giorni con FIAC alla dose di 20 mg/kg-giorno.

(Fourel, I. e al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1990; 34:473-475). E' stata osservata la soppressione rapida, completa e persistente sia della polimerasi virale che del DNA. Una dose simile di ara-AMP somministrata per 14 giorni ha pure soppresso il DNA virale, ma è stata seguita da un rapido ritorno a livelli al di sopra della linea di base, un andamento simile a quello osservato nei primi tentativi clinici con questo agente. (Hoofnagle, J. H. e Di Bisceglie, A.M. "Antiviral Therapy of Viral Hepatitis" in Antiviral Agents and Viral Disease of Man. Galasso, G.J. e al. (Eds.) Terza edizione, Raven Press, New York (1989) pp 415-460).

Nel brevetto US n. 4.666.892 (brevetto '892) è pure descritto l'impiego di pirimidine 1-(2'-deossi-2'-sostituite-b-D-arabinofuranosil)-5-sostituite in procedimenti per il trattamento delle infezioni da virus dell'epatite B e da virus dell'epatite della marmotta. Nella parte pertinente, il brevetto '892 descrive dosaggi di FIAC per il trattamento dell'uomo che arrivano fino a 400

mg/m² per giorno, preferibilmente 120 mg/m²/giorno. (I dosaggi consigliati sono espressi come mg di farmaco per m² di superficie corporea). Il brevetto '892 indica pure il dosaggio pratico minimo di FIAC in 60 mg/m² per giorno e precisa che al di sotto di questa quantità "gli effetti del farmaco sono troppo modesti". (Vedi volon-
na 5, linea 53 della descrizione del brevetto US N. 4.666.892). Le referenze del brevetto '892 indicano pure che il FIAU è un metabolita di FIAC, e che l'FIAU deve essere usato nello stesso campo di dosaggio della FIAC. Infine, nelle referenze di questo brevetto, è pure menzionata la possibilità di preparare il sale sodico di FIAU, in modo da aumentare la solubilità in acqua del nucleoside.

E' stato valutato che una donna del peso medio di 50 kg ha una superficie corporea compresa tra circa 1,2 e circa 1,6 m², con un valore medio di circa 1,45 m², e che un tipico maschio del peso di circa 70 kg ha una superficie corporea compresa tra 1,6 e circa 1,9 m², con un valore medio di circa 1,8 m². Assumendo questi valori medi per la superficie corporea, il brevetto '892 insegna che la dose antivirale efficace minima

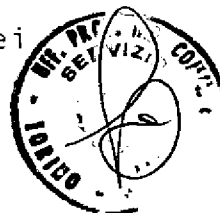
JACOBO - CAFFETA & PERINI
S.p.A.

di FIAC o FIAU non può scendere al di sotto di circa 1,7-1,8 mg/kg/giorno. In effetti, la dose giornaliera, secondo la referenza di questo brevetto è di circa 3,1-3,5 mg/kg. Quindi, basandosi sull'insegnamento generale della tecnica, non ci si aspetta di osservare attività antivirale contro HBV a dosaggi inferiori a quelli precedentemente indicati.

2.3. Interferone-Alfa contro l'infezione da HBV

Attualmente, soltanto l'interferone alfa si è dimostrato terapeuticamente utile nel trattamento dell'epatite B. Tuttavia, soltanto una minoranza di pazienti risponde all'interferone. Inoltre, il trattamento per iniezione sottocutanea deve continuare per mesi, e la tossicità, a dosi efficaci, è sostanziale. (Alexander, G.J. M. e al. Lancet 1987, 1:66-68; Hoofnagle J. H. e al. Gastroenterology 1988, 95:1318-1325; Perrillo, R. e al. N. Engl. J. Med. 1990, 323:295-301; Renault, P.F. and Hoofnagle, J.H. Seminars in Liver Disease 1989, 9:273-277; Sherlock, S. and Thomas, H.C. Lancet 1985, 2:1343-1346; Scullard, G. H. et al. Hepatology 1981, 1:228-232).

Per essere evidente, la soppressione dei



livelli di DNA dell'HBV o polimerasi del DNA virale può richiedere settimane di terapia con interferone alfa. E' stato riportato che i risultati della terapia antivirale negli infetti da HIV (Novick, D.M. e al. J. Hepatol. 1984, 1:29-35) e altri pazienti immunocompromessi sono peggiori. (Scullard, G.B. e al. J.Infect. Dis., 1981, 143: 772-783).

Permane quindi una forte necessità di una terapia efficace contro l'infezione o la malattia provocata dall'HBV, particolarmente in pazienti già immuno-compromessi, quali quelli contemporaneamente infetti da HIV. In effetti, sono necessarie composizioni farmaceutiche che non siano soltanto efficaci contro l'HBV, come evidenziato dalla drastica inibizione o riduzione dei livelli di marker in circolazione per l'HBV, ma che siano efficaci nel mantenere una proporzione sostanziale di tale inibizione o riduzione per un significativo periodo di tempo dopo che la terapia è stata interrotta.

Inoltre, le composizioni antivirali somministrabili oralmente, con un elevato livello di attività contro l'HBV, con una tossicità controllabile a dosi terapeuticamente efficaci, coprirebbero

be una esigenza critica nei regimi terapeutici correnti ma carenti per le infezioni o malattie provocate dal virus dell'epatite B.

3. Sommario dell'Invenzione

Con gran sorpresa dei Richiedenti, sono state scoperte composizioni farmaceutiche comprendenti 1-(2'-deossi-2'-fluoro- β -D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU, pure noto come fialuridina) ed un supporto farmaceuticamente accettabile, che sono efficaci in dosi molto basse per abbassare rapidamente e profondamente i livelli di markers nel siero di replicazione di HBV, come DNA di HBV e polimerasi di DNA di HBV, in pazienti umani, anche quelli contemporaneamente infetti da HIV. Inoltre, la riduzione del DNA di HBV o della polimerasi di DNA di HBV viene sostanzialmente mantenuta dopo la terapia, come ulteriormente descritto nel seguito, in pazienti trattati con le composizioni secondo la presente invenzione.

E' quindi uno scopo della presente invenzione il provvedere una composizione farmaceutica per il trattamento di infezioni o malattie provocate dal virus dell'epatite B che comprende un supporto farmaceuticamente accettabile ed una

quantità di FIAU sufficiente ad assicurare un dosaggio basso ma antiviralmente efficace di FIAU compreso tra circa 0,05 e circa 1 mg/kg/giorno. Di preferenza, la quantità di FIAU fornita rientra nei limiti compresi tra circa 0,1 e circa 0,5 mg/kg/giorno. La presente invenzione prevede pure una composizione farmaceutica comprendente un composto che è un profarmaco dell'FIAU, o un composto che un metabolita dell'FIAU. In particolare, si può usare FIAC come profarmaco, in sostituzione di FIAU. Analogamente, un metabolita dell'FIAU, 1-(2'-deossi-2'-fluoro- β -D-araboninofuranosil)uracile (FAU) può essere usato per formare almeno parte dell'ingrediente attivo della composizione farmaceutica antivirale della presente invenzione.

Ancora un altro scopo della presente invenzione consiste nel provvedere una composizione farmaceutica per il trattamento di infezioni o malattie provocate dal virus dell'epatite B, che comprende una quantità di FIAU, un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU sufficiente ad assicurare una condizione di picco stabile della concentrazione di FIAU nel plasma, del suo profarmaco o

re sono previste composizioni farmaceutiche sotto forma di soluzioni, sospensioni, sciroppi, compresse, o capsule.

Sono pure previsti metodi per il trattamento di pazienti umani infetti da HBV o sofferenti per malattie provocate dall'HBV, comprendenti la somministrazione delle composizioni della presente invenzione. I modi di somministrazione comprendono la via orale o parenterale. Inoltre, il periodo di trattamento è generalmente variabile tra circa 7 e circa 28 giorni, preferibilmente circa 14 giorni.

Quindi, dalla lettura della presente descrizione, questi ed altri scopi della presente invenzione appariranno evidenti a coloro che conoscono questa scienza.

4. Descrizione dettagliata dell'Invenzione

4.1. Formulazioni antivirali

Dal momento che FIAC e FIAU sono stabili in un ambiente acido, quale quello che si trova nello stomaco umano, essi possono essere formulati facilmente usando supporti farmaceuticamente accettabili ben noti nella tecnica, con o senza tamponi per il pH, in dosaggi opportuni per la somministrazione orale. Tali supporto permettono

AGGIACCI - CASSETTA & PERAZZI
S.p.A.

all'FIAU, il suo pro-farmaco o metabolita di essere formulato come compresse, pillole, capsule, liquidi, gel, sciroppi, sospensioni e simili, da ingerire oralmente dal un paziente che deve essere trattato per infezione o malattia provocata dall'epatite B. Con una scelta adeguata del supporto ed una opportuna pratica di preparazione, le composizioni secondo la presente invenzione, in particolare quelle formulate come soluzioni, possono anche essere somministrate parenteralmente, come iniezione per via intravenosa, sottocutanea o intramuscolare.

Le composizioni farmaceutiche che rientrano nello scopo della presente invenzione comprendono composizioni in cui l'ingrediente attivo è contenuto in una quantità efficace per raggiungere lo scopo prestabilito. La determinazione delle quantità efficaci rientra nella capacità di coloro che conoscono questa scienza, specialmente alla luce della dettagliata descrizione qui riportata.

Oltre ai nucleosidi pirimidinici secondo la presente invenzione, queste composizioni farmaceutiche possono contenere supporti farmaceuticamente accettabili e comprendono eccipienti e pro-

LABORATORI CAPELLA & PERLINO
S.p.A.

dotti ausiliari che facilitano l'elaborazione dei composti attivi in preparazioni che possono essere usate farmaceuticamente. Di preferenza, le preparazioni vengono formulate per somministrazione orale, e sono sotto forma di compresse, pillole e capsule. In alternativa, le preparazioni possono essere somministrate per via rettale, sotto forma di supposte. Alternativamente, si possono preparare soluzioni per uso orale o parenterale. Le composizioni della presente invenzione contengono da circa 0,1 a circa 5 mg di FIAU, il suo profarmaco o metabolita, con il resto costituito dai componenti del supporto farmaceutico.

Le composizioni farmaceutiche della presente invenzione possono essere prodotte in un modo che è di per sé noto, per esempio di miscelazione fatta in modo convenzionale, granulazione, formatura delle pastiglie, dissoluzione o procedimenti di liofilizzazione. Così, si possono ottenere preparazioni farmaceutiche per uso orale combinando i composti attivi con eccipienti solidi, eventualmente macinando una miscela risultante, e lavorando la miscela di granuli dopo l'aggiunta di prodotti ausiliari adatti, se desiderato, per ottenere compresse o nuclei di pastiglie.

LABORATORI CAFFETA & PEREGO
BOLOGNA

o pigmenti alle compresse o alle pastiglie, per identificarle o per caratterizzare diverse combinazioni di dosi di composto attivo.

Altre preparazioni farmaceutiche che possono essere usate oralmente comprendono capsule da inserimento fatte con gelatina, come pure capsule morbide chiuse fabbricate con gelatina e un plastificante, quale glicerolo o sorbitolo. Le capsule da inserimento possono contenere gli ingredienti attivi in miscela con riempitivi quali lattosio, leganti come amidi, e/oppure lubrificanti come talco o stearato di magnesio e, eventualmente, stabilizzanti. Nelle capsule morbide, i composti attivi possono essere disciolti o sospesi in liquidi adatti, come oli grassi, paraffina liquida, o glicoli polietilenici liquidi. Inoltre si possono aggiungere degli stabilizzanti.

Preparazione farmaceutiche di possibile impiego rettale comprendono, per esempio, supposte, che sono costituite da una combinazione dei composti attivi con una base della supposta. Basi di supposta adatte sono, per esempio, trigliceridi naturali o sintetici, idrocarburi paraffinici, glicoli polietilenici o alcanoli superiori. Inoltre è pure possibile impiegare capsule rettali

di gelatina che consistono in una combinazione dei composti attivi con una base. I materiali di base possibili comprendono per esempio trigliceridi liquidi, glicoli polietilenici o idrocarburi paraffinici.

Una delle formulazioni preferite delle composizioni della presente invenzione è costituita da sciroppi aromatizzati che contengono da circa 1 a circa 10 mg di sostanza attiva per ml di sciroppo. Così, in una particolare realizzazione della presente invenzione, uno sciroppo aromatizzato comprende fra circa 0,1 e circa 1% in peso di sciroppo (% in peso) FIAU o FIAC, tra circa il 5 ed il 50% in peso di acqua purificata USP, tra il 5 ed il 50% in peso di glicerina USP, tra circa il 5 ed il 50% in peso di alcole USP, tra circa il 5 ed il 50% in peso di glicole propilenico USP. Inoltre, lo sciroppo comprende pure tra circa 0,001 e 0,01% in peso di un colorante o una combinazione di coloranti, come il rosso # 40 FC&C, giallo # FD & C oppure blu # 1 FC&C, tra circa 0,01 e 0,1% in peso di agente aromatizzante, come aroma artificiale o naturale di Gran Marnier, arancio, ciliega, vaniglia, fragola, lampone, limone o cioccolato. Sono inoltre presenti additi-

vi per sciroppi disponibili in commercio, come sciroppo NF oppure sciroppo Maltitol, in quantità comprese tra circa 0,01 e circa 0,1% in peso.

Come si è detto in precedenza, si possono pure preparare composizioni farmaceutiche per somministrazione parenterale. Formulazioni adatte per somministrazione parenterale comprendono soluzioni acquose dei composti attivi in forma idrosolubile. Si possono inoltre preparare sospensioni dei composti attivi come sospensioni oleose da iniezione. Solventi lipofili o veicoli adatti comprendono gli oligrassi quale l'olio di sesamo, oppure esteri di grassi sintetici, come oleato di etile o trigliceridi. Le sospensioni acquose per iniezione possono contenere sostanze che aumentano la viscosità della sospensione, come sodio carbossimetilcellulosa, sorbitolo o destrano. Opzionalmente, la sospensione può pure contenere stabilizzanti adatti.

Esempi specifici di composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione sono presentate più dettagliatamente nella sezione degli esempi della presente descrizione.

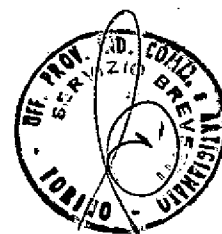
4.2. Regimi di dosaggio

I dosaggi precisi da somministrare verranno

determinati con sperimentazioni di routine. In generale, tuttavia, i dosaggi saranno comparabili o minori a quelli già indicati negli studi clinici precedentemente riportati. In particolare, sono preferiti i regimi a basso dosaggio, che vanno da circa 0,05 a circa 1 mg/kg/giorno. Più preferibilmente, a pazienti immuno-compromessi che soffrono contemporaneamente di epatite cronica B, dovranno essere somministrati dosaggi compresi tra circa 0,1 e circa 0,5 mg/kg/giorno in modo continuo per circa due settimane. Per pazienti immuno-competenti infetti da HBV (non HIV positivi) il regime di dosaggio preferito sono compresi tra circa 0,05 e circa 0,5 mg/kg/giorno per circa 2 settimane.

In alternativa, a pazienti affetti da HBV, vengono somministrati dosaggi di ingrediente attivo tali da ottenere una condizione stabile di picchi di concentrazione antiviralmente efficaci nel plasma di FIAU, il suo pro-farmaco o metabolita, nel campo che varia tra circa 0,1 circa 1 um/ml. In effetti, si è anticipato che la forma intracellulare attiva di FIAU (o, possibilmente, anche il suo metabolita, come FAU) è il trifosfato. Quindi, la presente invenzione prevede compo-

AGOS 1980
S. P. 1001/80



sizioni che, quando sono somministrate a certi livelli di dosaggio, assicurano o mantengono quantità intracellulari della forma trifosfato dell'ingrediente attivo che sono efficaci per inibire il virus dell'epatite B. Tale inibizione è dimostrata dalla riduzione o soppressione, preferibilmente continuata nel periodo post-terapia, dei livelli di base di entrata di DNA di HBV oppure di polimerasi di DNA di HBV.

4.3 Sommario dei risultati degli studi clinici con pazienti immuno-compromessi al dosaggio giornaliero di FIAU di 1 mg/kg

La tolleranza alla formulazione orale di FIAU è stata valutata in pazienti relativamente sani infetti da HIV con punteggi alla performance di Karnofsky maggiore o uguale 80 e maggiore o uguale 200 CD₄ cellule/mm³. Sono state studiate sequenze di dieci pazienti in un programma di studio aperto e incontrollato. Sequenze consecutive hanno ricevuto dosi crescenti di sciroppo di FIAU (10 mg/ml) TID per 14 giorni, iniziando da 1,0 mg/kg/giorno. La tolleranza è stata determinata con una terapia anti-emetica concorrente (proclorperazina o metoclopramide cloridrato) come necessario per ciascun paziente.

Sono studiate serie di cinque pazienti infetti da HIV con epatite cronica B, alle dosi tollerate. I livelli nel plasma di FIAU e del suo maggiore metabolita deiodurato FAU, sono stati determinati in 2 ore dopo la somministrazione (livelli di picco) e appena prima del dosaggio (livelli al punto basso) dopo la dose iniziale di FIAU e nuovamente ai giorni 3, 7 e 14, allo scopo di valutare i parametri farmacocinetici che comprendono l'accumulazione del farmaco o del metabolita principale.

L'FIAU orale è stato adeguatamente tollerato dai dieci pazienti iniziali senza epatite bicronica, alla dose di 1,0 mg/kg/giorno. I sintomi più comuni sono stati nausea e mal di capo. Otto pazienti hanno avuto nausea da modesta a moderata e quattro hanno richiesto una terapia antiemetica. Cinque pazienti hanno lamentato mal di capo da modesto a moderato. Otto dei pazienti hanno completato la terapia prevista mentre due pazienti si sono ritirati in anticipo. Un paziente si è ritirato dopo una settimana di terapia per una nausea moderata. Un secondo paziente si è ritirato il decimo giorno della terapia con notevole affaticamento, nausea moderata e mal di capo.

Nel corso della terapia è stata notata una leggera, ma non significativa ($p = 0,0746$) diminuzione nel conteggio WBC da una media di 5,480 e 4,920 cellule/mm³, insieme ad un incremento modesto, ma significativo ($p \leq 0,02$) di enzimi nel fegato. I valori medi di AST e ALT sono saliti rispettivamente da 23,4 a 29,6 e da 27,1 a 42,3 nel corso della terapia. I valori di picco ed i valori minimi di FIAU sono stati molto vicini tra i pazienti e sono rimasti stabili dopo il giorno 3. I valori di picco si sono aggirati mediamente attorno a 1 mg/ml allo stato stabile, mentre i valori minimi erano tipicamente al di sotto di 0,2 ug/ml. I valori di FAU hanno raramente superato 0,15 kg/ml ed hanno mostrato una variazione minore tra il picco ed il punto minimo. Nessuno dei composti tende ad accumularsi durante il periodo di trattamento.

Tre pazienti simili sono stati trattati con dosi di 1,7 mg/kg/giorno come parte del successivo gruppo sequenziale di dosi. Tutte e tre hanno interrotto lo studio dopo da 2 a 8 giorni, per un notevole affaticamento accompagnato da nausea moderata in tutti e vomito da leggero a moderato in due.

I sintomi non sono stati accompagnati da alcun cambiamento sostanziale nell'ematologia o nei valori chimici del sangue.

Sei pazienti affetti da infezione da virus di epatite bionica (HBV) oltre alla loro infezione da HIV, sono stati trattati a dosi di 1,0 mg/kg/giorno per 14 giorni. Il sintomo più comunemente riportato è stata la nausea. Quattro pazienti hanno riportato nausea da leggera a moderata e tutti hanno richiesto una terapia antiemetica. Tutti e sei i pazienti hanno completato l'intero ciclo terapeutico.

I percorsi della tossicità ematologica sono stati simili a quelli evidenziati nei pazienti non infetti da HBV, sebbene in questo caso la diminuzione nel WBC da una media di 4,690 a 3,430 fosse significativa ($p = 0,0085$), mentre non lo è l'incremento degli enzimi del fegato ($p > 0,1$).

I valori di base di AST e ALT sono approssimativamente il doppio di quelli del gruppo non-infetto da HBV. Un paziente ha avuto un caso di miosite che si è presentato appena dopo la fine del trattamento. I valori di picco ed i valori minimi di FIAU e FAU non sono diversi da quelli



riscontrati nei pazienti infetti da HIV senza epatite B cronica.

Il trattamento con FIAU ha prodotto un rapido e profondo decremento nei livelli di DNA polimerasi di HBV e di DNA di HBV nel plasma. Dopo 2 giorni di terapia è stata riscontrata una riduzione del 70% di DNA di HBV nel plasma. Alla fine della terapia, si è riscontrata una riduzione superiore al 90% in cinque dei sei pazienti. Quattro settimane dopo la fine della terapia, tre dei pazienti hanno avuto un parziale ritorno nei livelli di DNA di HBV nel plasma, senza superare il 50% dei livelli di base. Due hanno presentato una completa scomparsa del DNA di HBV dal plasma ed il terzo ha avuto una diminuzione superiore al 90%.

In un importante progetto per la diminuzione progressiva delle dosi, alla ricerca della dose attiva minima per la soppressione del DNA virale, i pazienti cronicamente infetti da HBV sono stati sottoposti ad un regime trattamento in cui venivano somministrate dosi giornaliere di FIAU pari a 0,05, 0,1 e 0,5 mg/kg fino a circa 28 giorni consecutivi, preferibilmente circa due settimane. I risultati preliminare indicano che

gli effetti secondari indesiderati vengono minimizzati, se non eliminati a tali dosaggi bassi ma ancora antiviralmente efficaci.

Nella sezione 6 della presente descrizione, è presentato un sommario dei risultati di studi clinici con pazienti immuno-compromessi a dosi per kg giornaliero inferiori al mg di FIAU.

5. Esempio: Studi clinici con pazienti immuno-compromessi

E' stato dimostrato mediante studi clinici che le composizioni della presente invenzione sono efficaci a dosi giornaliere comprese tra circa 0,05 e circa 1,0 mg/kg, preferibilmente tra circa 0,1 e circa 0,5 mg/kg, per ridurre drasticamente i livelli di DNA di HBV di DNA polimerasi di HBV nel siero. In un caso, l'uso della composizione della presente invenzione ha anche prodotto la scomparsa dell'antigene in circolazione. Si è trovato che le composizioni della presente invenzione sono efficaci nei pazienti infetti da HBV che sono pure infetti da HIV e quindi più difficili da trattare.

Tuttavia, con i bassi dosaggi antivirali scoperti con la presente invenzione, praticamente tutti gli effetti secondari osservati con dosaggi

elevati, come nausea, affaticamento muscolare e irritazione gastrointestinale, vengono eliminati.

5.1. Risultati di studi iniziali

Questo studio ha mostrato che la massima dose tollerata oralmente di FIAU è di almeno 1,0 ma meno di 1,7 mg/kg/giorno nella popolazione infetta da HIV che è stata sottoposta a test, e che una dose di 1,0 mg/kg/giorno ha un effetto rapido, consistente, profondo e prolungato sui livelli di DNA di HBV e di DNA polimerasi virale nei pazienti che sono pure affetti da epatite biconica.

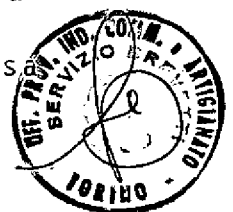
Basandosi su questi risultati, lo studio è stato modificato per incrementare ciascun gruppo di HBV a 10 pazienti, e per aggiungere due ulteriori gruppi di pazienti infetti da HIV con epatite biconica, uno a 0,5 mg/kg/giorno, un altro a 0,1 mg/kg/giorno, e un altro ancora a 0,05 mg/kg/giorno, nel tentativo di trovare la dose minima che produce un effetto affidabile e significativo sui livelli di DNA di HBV nel plasma. Le valutazioni farmacocinetiche dettagliate sono state fatte su due pazienti di ciascun gruppo dose in questo tentativo di abbassare il

livello della dose.

L'effetto soppressivo dell'FIAU sul DNA di HBV è più rapido e consistente di quello registrato per qualsiasi composto precedentemente provato, nell'infezione positiva cronica da HBV dell'antigene dell'involucro dell'epatite B (HBeAg). Come si è detto in precedenza, meno della metà dei pazienti trattati con interferone alfa hanno mostrato una consistente diminuzione di questo marker. Per ottenere questi risultati anche in una minoranza di pazienti, la terapia con interferone alfa deve essere proseguita per mesi, e la tossicità che richiede la riduzione del dosaggio e la fine della terapia sono comuni.

Un effetto più consistente di quello dell'interferone è presentato da Ara-AMP. Tuttavia, un rapido ritorno del DNA ai livelli pretrattamento dopo 10-28 giorni di terapia è la norma, e la somministrazione continuata a dosi soppressive di DNA di HBV si è dimostrata intollerabilmente tossica. E' ragionevole attendersi, che analogamente ai pazienti trattati con successo con interferone alfa ed ai pazienti che presentano una remissione spontanea dell'infezione cronica da HBV, i pazienti che presentano una scomparsa

ACCIAIA S. L. TA & PERAL
S.p.A.



prolungata del DNA di HBV dal plasma dopo il trattamento con FIAU continueranno a migliorare. Questo periodo di scomparsa prolungata è seguito dalla normalizzazione degli enzimi del fegato, dalla scomparsa di HBeAg, dalla comparsa di anti-HBeAg, dalla migliorata istologia del fegato, cioè dalla remissione dell'epatite infiammatoria.

Due dei pazienti di questo studio hanno mostrato un incremento transitorio degli enzimi nel fegato alla fine o poco dopo la fine della terapia, simile a quello che si manifesta tipicamente nei pazienti che rispondono al trattamento con interferone alfa. Uno di questo due pazienti ha perso lo HBeAg in circolazione, e continua il controllo di altri due con un contenuto residuo minimo di DNA di HBV nel plasma.

E' significativo che questi risultati molto positivi siano stati ottenuti in soggetti immunologicamente compromessi ed infetti da HIV. Ci si aspetta che i risultati in pazienti immunocompetenti siano anche migliori, specialmente in termini di efficacia e tolleranza, poiché l'immuno competenza è importante per l'eventuale scomparsa virale e poiché la funzione immunologica diminuisce progressivamente nella popolazione

infetta da HIV che è stata finora studiata.

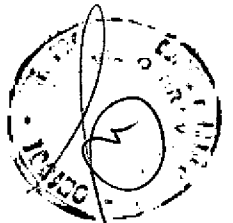
5.2. Metodi

5.2.1. Progetto di studio

Questo studio è una prova aperta e non controllata. Gruppi a dosi sequenziali di 10 pazienti sono stati studiati per la tolleranza a 14 giorni di dosaggio orale di TID con sciroppo FIAU (10 mg/ml). Le dosi tollerate sono state studiate in un altro gruppo di cinque pazienti affetti da epatite b cronica, che erano potenzialmente più a rischio per gli effetti laterali. E' stato effettuato un mese di controllo post-trattamento per il gruppo degli epatitici, per la nota propensione di questo disturbo a aumentare dopo la terapia.

Sebbene non formalmente randomizzati, i pazienti qualificati sono stati inseriti consecutivamente senza riguardo alla gravità della loro malattia, alla tolleranza che ci si poteva aspettare o al potenziale beneficio della dose da valutare. La tolleranza ad una dose è definita su sette o più dei dieci pazienti in un gruppo che soddisfano individualmente a criteri di tolleranza predefiniti, comprendenti il completamento della terapia ed i limiti di cambiamento dei dise-

L'Espresso 10/11/88



gni particolari, sintomi e test di laboratorio. La tolleranza è stata determinata con terapia antiemetica concorrente per quei pazienti che la richiedono. Il criterio ed i regimi per tale terapia sono stati predefiniti.

Quando diventa evidente che 1,7 mg/kg/giorno non sono tollerati e che 1,0 mg/kg/giorno hanno un effetto profondo sul DNA da epatite B in circolazione, al protocollo è stata aggiunta una serie di modifiche per rimettere a fuoco lo studio sull'esame degli effetti di FIAU sull'epatite B in più pazienti, determinando la dose minima efficace per la soppressione del DNA da epatite B ed esaminando alcune limitate opzioni di ritrattamento per pazienti i cui markers di epatite crescono durante il controllo.

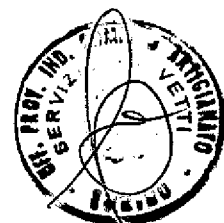
5.2.2. Pazienti

1 pazienti affetti da HIV tra 13 e 65 anni di età, con o senza un episodio corrente di infezione cronica da virus del gruppo herpes (HSV, VZV, o CMV) possono essere inseriti nel gruppo dei dieci pazienti di tolleranza se essi hanno un punteggio di performance Karnofsky maggiore o uguale a 80 e maggiore o uguale a 200 CD₄ cellule/mm³. Inoltre, i pazienti di ambedue i sessi

debbono aver accettato di adottare il controllo delle nascite durante lo studio e per tre altri mesi successivi.

I pazienti che assumono contemporaneamente zidovudina devono aver assunto il farmaco da più di sei settimane ad una dose minore o uguale a 600 mg/giorno, e debbono avere una diminuzione di almeno il 10% in ematocrito, neutrofili e piastrine negli ultimi 30 giorni. La perdita di peso è limitata a meno del 10% negli ultimi tre mesi ed è necessario che il CPK del siero rientri nei limiti normali.

Inoltre, tutti i pazienti devono aver completato i test di screening entro quattro settimane dall'inizio della terapia, ad eccezione delle culture diagnostiche di BSV, VZV o CMV. Quelli inseriti nel gruppo di cinque pazienti con epatite cronica B hanno le stesse esigenze per l'ammissione, ad eccezione del fatto che debbono avere una storia di epatite B cronica e debbono essere positivi all'antigene di superficie. I test di funzionamento del fegato (AST, ALT, GGT e bilirubina) devono essere di grado 2 o meno all'inizio dello studio per questi pazienti. I pazienti che ricevono bentamidina aerosol per la profilas-



si della polmonite ricorrente da Pneumocystis possono continuare questa terapia durante lo studio.

Ogni condizione medica grave o non stabile porterà automaticamente all'esclusione del paziente. I pazienti non debbono presentare una infezione primaria o iniziale con HSV, VZV o HBV, o evidenza di CMV da malattia organica, per esempio retinite,epatite, gastroenterite. I pazienti vengono esclusi se presentano evidenza di sindrome devastante da HIV (perdita di peso involontaria maggiore o uguale al 10% e/oppure diarrea cronica o debolezza e febbre documentata per almeno 30 giorni), porpora iodripatica trombocitopenica (conteggio di piastrine persistente minore di $100.000/\text{mm}^3$ per tre o più mesi), evidenza clinica o ai raggi X di bronchite, polmonite, edema polmonare, effusioni o sospetta tubercolosi attiva. L'impiego entro 4 settimane dall'inizio dello studio di ganciclovir, foscarnet, interferon o ogni altro farmaco con presunta attività antivirale (ad eccezione di zidovudina) o proprietà immunostimolanti comporta l'esclusione del paziente, come pure l'impiego di aciclovir entro una settimana dall'inizio dello studio.

JACOBACCI - CASETTA & PERAZZI
S.p.A.

I pazienti vengono esclusi per l'emoglobina inferiore a 9,5 g/dl, ematocrita minore di 34, neutrofili minori di 1500mm^3 , o piastrine minori di $100.000/\text{mm}^3$. La bilirubina totale maggiore di 1,5 volte al limite superiore del campo normale comporta l'esclusione del paziente, come pure BUN, AST o ALT maggiori di 2,5 volte, ad eccezione dei pazienti con HBV cronica ove i lipidi possono essere superiori a 2,5 per la bilirubina e superiori a 5 volte per AST, ALT e GGT.

I pazienti debbono evitare esercizi pesanti per 24 ore prima di ogni test di laboratorio.

5.3. Procedure investigative

5.3.1. Terapia anti-emetica concorrente

I pazienti che presentano nausea prolungata o due o più episodi di vomito possono essere sottoposti ad una terapia anti-emetica concorrente così definita:

Reglan® 10 mg, p.o., Q6H, prn o.

Compazine® 10 mg, p.o., Q6H, prn, o. 25 mg, p.r.
Q12H, prn o.

Trilafon® 4 mg, p.o., Q6H, prn.

5.3.2. Valutazioni dell'efficacia

Gli effetti sull'epatite vengono valutati principalmente dai cambiamenti nel DNA di HBV

MACCIBACCI - CASSETTA & PERANI
S.p.A.



e nella DNA polimerasi virale.

I marker secondari sono l'antigene superficiale e l'antigene e. I test dell'epatite vengono effettuati partendo da una linea di base e nei giorni 3, 7, 14, 21 (7 giorni post-trattamento) e 42 (28 giorni post-trattamento).

5.3.3. Valutazioni sulla sicurezza

I pazienti vengono valutati clinicamente in occasione della visita di screening, e nei giorni 1, 3, 7, 10 e 14. I pazienti affetti da epatite vengono inoltre controllati nei giorni 21 e 42. La chimica del sangue e i test di analisi dell'urina vengono inoltre ripetuti in giorni 2 e 5.

Le valutazioni cliniche consistono in un esame fisico, che comprende un test di resistenza muscolare delle estremità inferiori, storia medica, revisione dei sistemi, valutazione dei sintomi non da laboratorio e dei sintomi di tossicità ed elencazione delle cure concomitanti. Inoltre, alle visite con valutazioni cliniche dopo il giorno 1, viene registrata ogni esperienza negativa.

Alle visite di screening, oltre alla valutazione clinica si effettua una radiografia toracica, un elettrocardiogramma (ECG) un test HIV, un profilo cellulare T (conteggi CD₄ e CD₈), bio-

chimica del siero, ematologia, analisi delle urine e test del guaiacolo nelle feci. I test ematologici consistono nell'emoglobina, ematocrito, RBC, WBC e differenziale, piastrine, conteggio del reticolocito, MCV, MCHC e MCH. I test di analisi dell'urina consistono nell'esame del colore, aspetto, PH, peso specifico, bilirubina, proteina, glucosio, mioglobina, RBC, WBC, cristalli e batteri. I test di biochimica del siero consistono nella creatinina, acido urico, BUN, bilirubina totale, AST, ALT, fosfatasi alcalina, LDH, CPK, CPK-MB, glucosio, proteina totale, albumina, globulina, calcio, fosforo, potassio, sodio, cloruro, bicarbonato aldolasi.

La visita di base (giorno 1) consiste nel ripetere la valutazione clinica, ematologia, biochimica del siero, analisi delle urine e test di guaiacolo nelle feci, e nel profilo cellulare T. Oltre al controllo di base, si prelevano campioni di plasma da archiviare. I campioni di plasma vengono prelevati due ore dopo che a ciascun paziente è stata somministrata la prima dose di FIAU (picco) e appena prima della seconda dose (punto minimo). Successivamente, nei giorni 3, 7 e 14, sono stati ricavati altri campioni di

MACC... COFFETTA & PERCO
1974



picco e di punto minimo prelevando il campione di punto minimo appena prima dell'assunzione di una dose di FIAU ed il campione di picco 2 ore dopo. Questi campioni sono stati analizzati mediante HPLC per rilevare quantità di FIAU e di FAU fino a 0,05 µg/ml per ambedue i composti.

Il giorno 3 i controlli di sicurezza consistono nella valutazione clinica, ematologia, biochimica del siero, analisi dell'urina, determinazione del guaiacolo nelle feci e campioni di plasma per i valori di picco e di punto minimo di FIAU e del suo metabolita principale FAU. Il giorno 7 i pazienti sono stati sottoposti a controllo clinico mediante ECG, campioni di siero di picco e di punto minimo, profilo cellulare T, ed ematologia, biochimica del siero, analisi dell'urina e test del guaiacolo nelle feci. Al giorno 10 è stato fatto un controllo clinico con ematologia, biochimica del siero e analisi dell'urina. Questi controlli sono stati ripetuti il giorno 14 con l'aggiunta di ECG, profilo cellulare T, guaiacolo nelle feci e campioni di plasma di picco e di punto minimo. I controlli post-trattamento sui pazienti affetti da epatite nei giorni 21 e 42 consistono nella valutazione clinica

LABORATORIO
ANALISI E PESCI
SGLA

e nei test di biochimica del siero.

5.3.4. Dotazioni cliniche e dosaggio

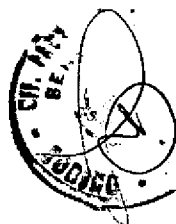
Per lo studio si impiegano bottiglie ambrate da 8 pollici contenenti 240 ml di sciroppo FIAU (10 mg/ml), come ulteriormente descritto nella sezione degli esempi della presente descrizione. Inoltre, i ricercatori sono dotati di siringhe per dosaggio orale da 10 ml, cappucci adattatori per le bottiglie di FIAU e nastri per ciascuna siringa per registrare la dose da somministrare. E' stata verificata una stabilit  di due settimane dello sciroppo nelle siringhe per dosaggio orale.

Ciascuna bottiglia di medicazione   identificata con le iniziali del paziente, il numero del paziente, il gruppo di dosaggio al quale il paziente appartiene, la data di somministrazione ed il volume di sciroppo da prelevare TID. I pazienti sono stati istruiti sull'uso adeguato delle siringhe di dosaggio orale ed   stato loro ordinato di assumere la medicazione ogni 8 ore almeno un'ora prima o tre ore dopo un pasto.

5.4. Metodi statistici

Per la natura non controllata e non randomizzata dello studio, riassunti statistici descrittivi sono il primo mezzo di analisi. La natura

LABORATORIO - CHIMICA E FARMACIA
1968



sequenziale del programma di studio e l'assegnazione non casuale dei pazienti ai gruppi di dosaggio precludono una autentica validità per analisi antecedenti e posteriori di variabili o confronto di test di gruppo tra le dosi. Nonostante ciò, tali test possono essere utili per determinare aree di potenziale efficacia o considerazioni relative alla sicurezza che sia necessario considerare in modo più rigoroso in uno studio successivo.

Tenendo presente questo fatto, le analisi precedenti e successive di dati parametrici vengono fatte usando t-test accoppiati. Per tutte le analisi inferenziali si fanno due test di coda, con alfa a 0,05. Per valutazioni arbitrarie e altre variabili ordinali non parametriche si impiegano i test allineati e segnati di coppie di Wolcoxon. Le proporzioni vengono valutate usando il test quadrato di Chi corretto per la continuità con il test esatto di Fisher.

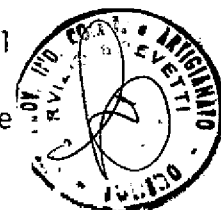
5.5. Risultati

5.5.1 Popolazione studiata

E' stato studiato un totale di 20 pazienti. Nessuno dei paziente non affetti da epatite presenta alla visita di partenza un episodio attivo

di infezione da virus del gruppo herpes. Perciò, tutti questi pazienti forniscono soltanto dati di tolleranza. Poiché tutti e tre i pazienti non affetti da epatite inseriti nel gruppo a 1,7 mg/kg/giorno si sono ritirati dallo studio per un forte affaticamento tra il primo ed il settimo giorno dall'inizio della terapia, questa dose è stata considerata non tollerata e nessun paziente affetto da epatite è stato inserito in questo gruppo a dose elevata.

I 13 pazienti di tolleranza, cioè i pazienti non affetti da epatite, hanno ricevuto tutti il farmaco allo studio e tutti sono compresi nelle analisi sulla sicurezza. Uno dei pazienti affetto da epatite (≠ 402) è risultato avere un elevato valore di CPK all'analisi di partenza. Egli ha ricevuto una singola dose di farmaco e, quindi, è stato incluso nell'analisi sulla sicurezza, ma escluso dall'analisi sull'efficacia. Tutti i rimanenti pazienti epatitici hanno livelli di base sufficienti di DNAS di HPV (maggiore di 20 pg/ml) e di DNA polimerasi virale (maggiore di 300 cpm) nel proprio siero da essere utili per la determinazione di cambiamenti associati con il dosaggio di FIAU ed hanno tutti completato le



due settimane di trattamento. Per questo, gli altri sei pazienti epatitici sono stati tutti inclusi sia nelle analisi sulla sicurezza che nelle analisi sull'efficacia.

Tre pazienti su un totale di 17 (HBV e non-HBV) non hanno potuto completare le due settimane al dosaggio di 1,0 mg/kg/giorno, due per esperienze negative probabilmente o possibilmente riferibili a trattamento con FIAU. Il terzo paziente è stato scartata dopo una singola dose di FIAU per un valore iniziale di CPK anormale. Le due esperienze negative che hanno limitato la terapia sono state nausea moderata (paziente 206) e pronunciato affaticamento accompagnato da nausea moderata e mal di capo (paziente 210).

I tre pazienti di tolleranza inseriti nel gruppo di dose da 1,7 mg/kg/giorno hanno interrotto la terapia fra il secondo e l'ottavo giorno, principalmente per un notevole affaticamento. Tutti erano caucasici e di età compresa tra 28 e 39 anni. Due erano maschi, uno femmina. I conteggi di CD₄ di partenza per i tre pazienti (numero 211, 212 e 214) erano rispettivamente di 442, 793 e 1119, e nessuno ha assunto farmaci anti-retrovirali. Un paziente (numero 212) pre-

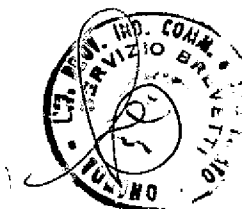
senta affaticamente di grado I siano allo screening che alle visite di partenza; gli altri non presentavano sintomi.

I parametri ematologici, della chimica clinica del sangue e dell'urina erano nei limiti normali sia alla scelta che al controllo di partenza per ciascun paziente, e non sono usciti dai limiti normali in nessun esame successivo.

5.5.2. Caratteristiche demografiche

Con una sola eccezione, i pazienti erano tutti maschi e di età compresa tra 25 e 27 anni. Due pazienti erano neri e gli altri bianchi. I pesi al controllo di partenza di maschi erano compresi tra 58,8 e 98,5 kg, mentre il paziente femmina aveva un peso di 56,5 kg. I conteggi di CD₄ alla partenza erano compresi tra 343 e 1190, con un valore medio di 681,5. I confronti tra i dati demografici di partenza, i dati di tossicità di laboratorio e non laboratorio dei pazienti tra i centri di studio ed i gruppi di dose non hanno rilevato significative differenze cliniche. Il gruppo affetto da epatite B differiva dal gruppo di tolleranza per avere più del doppio dei valori di partenza di enzimi nel fegato (AST: 54,7 contro 23,7; $p = 0,013$ e ALT: 69,8 contro

JACOBACCI - CASETTA & PERAZZI
S.p.A.



27,1; $p = 0,041$ attraverso test T di confronto di gruppo), sebbene fosse evidente la sovrapposizione dei valori tra i gruppi.

5.5.3. Risultati sull'efficacia

Come si è fatto notare prima, sei su sette pazienti affetti da epatite hanno fornito dati sull'efficacia, tutti alla dose di 1,0 mg/kg/giorno. FIAU ha un effetto immediato e profondo sulla quantità di DNA da HBV (figura 1) e sulla DNA polimerasi virale (figura 2) nel plasma dei pazienti.

La diminuzione maggiore, mediamente sul 70% per il DNA di HBV, si vede tra il punto di partenza (giorno 1) ed il punto 3, cioè dopo due giorni di dosaggio. Questo tipo di diminuzione si vede anche nel paziente 401, che ha ricevuto soltanto una singola forte dose di FIAU al primo giorno di trattamento. Alla fine della terapia, cinque pazienti su sei presentano una riduzione superiore al 90% nella quantità di DNA da HBV nel loro plasma, con una corrispondente riduzione dei valori di DNA polimerasi virale (figure 3 e 4).

La soppressione sia di DNA di HBV che di DNA polimerasi virale continua per tutte le quat-

tro settimane di controllo post-trattamento. Tre dei pazienti presentano una soppressione superiore al 90% di DNA di HBV per tutto il controllo, e due di questi diventano totalmente negativi per quanto si riferisce questo parametro. Tre pazienti su sei presentano un ritorno durante il periodo di controllo, ma soltanto fino a circa il 25-50% dei loro valori di partenza. L'antigene di superficie e l'antigene e sono rimasti positivi in tutti i pazienti fino ad oggi, con seroreversione dell'antigene e nel paziente 401 all'incirca 23 settimane dopo il trattamento. Le variazioni nei marker dell'epatite nel tempo per questo paziente sono riportate nella figura 5.

5.5.4. Risultati sulla sicurezza

Lo FIAU orale viene tollerato adeguatamente a 1,0 mg/kg/giorno. Dei dieci pazienti non epatitici otto hanno completato il dosaggio senza particolari effetti negativi, mentre sei dei sette paziente epatitici hanno completato il dosaggio: l'unica rinuncia in questo gruppo è dovuta ad un elevato valore di CPK di partenza. Un paziente epatitico (paziente 101) ha inoltre presentato una forte miosite dopo completamento del dosag-

LABORATORIO - L. ...



gio, ed i ricercatori hanno ritenuto che questo sia attribuibile probabilmente a FIAU.

Questo paziente è successivamente guarito dalla miosite. Le sue anormalità biochimiche si sono risolte in alcune settimane, mentre la sua mialgia ha richiesto alcuni mesi e si è risolta parallelamente ad una riduzione della dose giornaliera di AZT.

I pazienti con epatite B cronica hanno tollerato l'FIAU in modo simile a quelli non epatitici, salvo notare sostanziali picchi di enzimi nel fegato in due dei pazienti epatitici, uno presso la fine della terapia (paziente 401) e l'altro alla fine del mese di controllo post-trattamento (Paziente 406). Nausea, mal di capo, affaticamento, debolezza e vertigini sono relativamente comuni. I principali dati di laboratorio vanno da un moderato incremento negli enzimi del fegato nel corso del trattamento ad una modesta diminuzione dei leucociti.

Dei dieci pazienti non epatitici trattati a 1,0 mg/kg/giorno, otto hanno presentato nausea da leggera a moderata e quattro hanno richiesto terapia antiemetica. Cinque si sono lamentati di mal di capo da leggero a moderato. E'

re di CPK di partenza. Questo paziente non presenta una sintomatologia immediata associata con la singola dose di FIAU, e non è stato effettuato alcun controllo successivo. I rimanenti sei pazienti epatitici hanno completato tutti i 14 giorni di terapia senza effetti contrari. Il sintomo più comunemente registrato è stata la nausea. Quattro paziente hanno presentato nausea da leggera a moderata e tutti hanno avuto bisogno di terapia anti-emetica a base di Compazina.

L'andamento della tossicità ematologica è simile a quella vista nei paziente non affetti da HBV, sebbene in questo caso la diminuzione di WBC (figura 10) da una media di 4.690 a 3.430 sia significativa ($p = 0,0085$). I neutrofili presentano una caduta media di circa 300 cellule/ mm^3 , che non è significativa, e pressoché identica a quella dei pazienti non epatitici.

I linfociti sono tuttavia scesi di circa il doppio di questo valore (una media di 750 cellule/ mm^3) e questa diminuzione del 39% è molto significativa ($p = 0,00125$). Le cellule CD_4 (figura 11) sono cadute in modo parallelo ai linfociti totali. Il conteggio medio di CD_4 è di 691 al controllo di partenza, 415 al giorno 14, con una

diminuzione del 40%, che è pure significativa ($p = 0,03$).

Nelle figure 12 e 13 si confrontano i valori medi di WBC, neutrofili e linfociti tra i pazienti non epatitici ed i pazienti epatitici. L'incremento degli enzimi del fegato durante la terapia nei pazienti epatitici non è significativo ($p > 0,1$), sebbene due di questi pazienti presentino picchi notevoli nei loro enzimi del fegato. Il paziente 401 presenta, alla fine della terapia, il raddoppio dei suoi valori di AST e ALT, però questi ritornano ai valori di partenza dopo un mese dal controllo post-trattamento.

Il paziente 406 presenta un incremento di circa 5 volte nei suoi valori di AST e ALT 28 giorni dopo il completamento della terapia. Questi picchi negli enzimi del fegato non sono accompagnati da alcun sintomo, da incremento della tossicità fuori laboratorio o da importanza cambiamenti clinici in altri test di laboratorio, ad eccezione del raddoppio di LDH nel siero del paziente 406. I cambiamenti temporanei nei valori di AST e ALT sono riportati nelle figure 14 e 15.

Tre pazienti non affetti da epatite sono



stati trattati con dosi di 1,7 mg/kg/giorno. Due (Pazienti 211 e 212) sono stati scartati dopo 3 e 4 dosi di FIAU, rispettivamente, mentre il terzo (Paziente 214) ha interrotto la terapia dopo 7 giorni. Tutte le interruzioni sono dovute a notevole affaticamento accompagnato da nausea moderata in tutti i pazienti e da modesto a moderato vomito in due. Due dei pazienti sono stati contemporaneamente trattati con anti-emetici. Il paziente 211 ha assunto Reglan ed il paziente 214 Compazina. E' da notare il fatto che in questi pazienti non è stata notata alcuna anomalia biochimica o ematologica. Come risultato di queste tre rinunce consecutive, tutte dovute allo stesso sintomo, si è stabilito che questa dose di FIAU non era tollerata per cui nessun altro paziente è stato inserito in questo gruppo di dosaggio.

I valori di picco ed i valori minimi di FIAU e del suo metabolita deiodurato principale FAU sono stati determinati sia sul gruppo di pazienti epatitici che di pazienti non epatitici trattati a 1,0 mg/kg/giorno di FIAU. I valori di picco e di minimo sono molto consistenti sulla base del singolo paziente. I valori di picco e

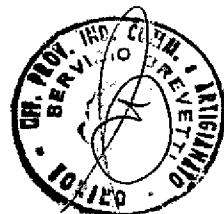
di minimo dopo la dose iniziale si aggiravano in media, rispettivamente, tra 0,58 e 0,05 $\mu\text{g/ml}$, ed hanno raggiunto la stabilità al giorno 3, quando questi valori si sono stabilizzati in media su 1,0 e 0,23 $\mu\text{g/ml}$. I valori al giorno 1 del Paziente 401 non sono stati usati in questi calcoli per la sua overdose iniziale di 10x.

I pazienti sottoposti a dosaggio di 1,0 mg/kg/giorno sono stati molto simili nei valori di picco e di minimo nel plasma. La Tabella I presenta le serie, i valori medi e le deviazioni standard riscontrate nei valori di picco e di minimo di FIAU, dopo la dose iniziale ed allo stato stabilizzato.

Tabella I

Serie rilevate, valori medi e deviazioni standard nei picchi e nei minimi di concentrazione di FIAU nel plasma

	FIAU ($\mu\text{g/ml}$)	Serie		Media	Dev. stand
		Min.	Max.		
Iniziale					
Dose	Picco	0.32	0.95	0.58	0.20
Giorno 1	Minimo	0.00	0.13	0.05	0.04
Condizione stabile	Picco	0.39	1.66	0.97	0.27
Giorni 3-14	Minimo	0.07	0.51	0.21	0.10



Non vi sono differenze apprezzabili nei valori di picco o di minimo sia di FIAU che di FAU tra i gruppi di tolleranza ed i gruppi epatitici. Le figure 16 e 17 mostrano i cambiamenti nel tempo dei valori di picco e di minimo di FIAU per queste due popolazioni. I valori medi sono riportati nella Figura 18. I livelli di FAU sono uniformemente bassi e raramente superano 0,15 g/ml. I valori di FAUR sono pressoché sempre non rilevabili dopo la dose iniziale ed aumentano a valori molto bassi (media di 0,061 e 0,037 g/ml per valori di picco e di minimo, rispettivamente) e costanti dal giorno in poi. Essi presentano variazioni minori tra i valori di picco e di minimo rispetto ai composti parenti e non differiscono in modo apprezzabile tra i gruppi di tolleranza e di epatitici. Il gruppo di tolleranza presenta una certa tendenza ad avere valori di FAU leggermente più alti. Né FIAU né FAU tendono ad accumularsi nel plasma con la somministrazione continuata.

5.6. Discussione

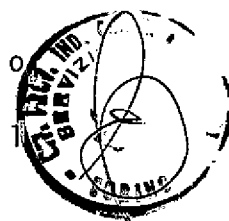
FIAU ha prodotto un effetto più profondo sui markers dell'epatite B di ogni altro farmaco precedentemente studiato, e lo ha fatto nella

popolazione affetta da HIV. Si è constatata una riduzione superiore al 70% del DNA di HBV in cinque dei sei pazienti dopo soltanto 2 giorni di trattamento. Alla fine delle due settimane, cinque su sei presentavano una soppressione superiore al 90% di questo marker. Durante un mese di controllo post-trattamento, metà dei pazienti sono arrivati ad avere una soppressione completa o pressoché completa.

In questi pazienti abbiamo riscontrato pure l'evidenza che uno dei pazienti i cui markers restavano soppressi presentava sero-reversione per l'antigene e. Due dei pazienti hanno presentato un incremento sostanziale di enzimi nel fegato. Uno di questi, alla fine del mese di controllo post-trattamento, presentava valori di enzimi nel fegato inferiori a quelli che aveva all'inizio dello studio. Il controllo sul secondo paziente è ancora in corso. Cinque pazienti su sei hanno mostrato una soppressione sostanziale continua (maggiore dell'80%) nella quantità di DNA polimerasi di HBV nel loro siero.

I tre pazienti i cui valori di DNA di HBV sono risaliti, hanno avuto un incremento solo parziale a valori compresi all'incirca tra i

LACCIACCHI - CASETTA & PERAZZI
S.p.A.



25 ed il 50% del punto di partenza. L'effetto a lungo termine di questo tipo di ritorno parziale è sconosciuto, ma contrasta nettamente con i precedenti lavori effettuati con ara-A e ara-AMP. Si è trovato che questi nucleosidi hanno un effetto rapido e consistente sulla DNA polimerasi di HBV e sul DNA di HBV analogo a quello di FIAU. Tuttavia, quando si interrompe il dosaggio, questi markers per lo più risalgono molto rapidamente ai valori di partenza ed oltre. Si è trovato che ambedue i composti sono troppo tossici (dolore neuromuscolare forte e persistente) per il tipo cronico di terapia necessario per mantenere la soppressione dei markers. (Hoofnagle J.H. e al. J. Hepatol. 1986, 3(Suppl. 2): S73-S80; Perrillo, R.ed al. Gastroenterology, 1985, 88: 780-786.

La somministrazione orale di FIAU è relativamente ben tollerata dai pazienti epatitici per 2 settimane, quando sono trattati TID a 1,0 mg/kg/giorno. Nessuno di questi pazienti ha interrotto la terapia. Tuttavia, in quattro pazienti, la nausea ha richiesto una terapia antiemetica. Non sono state notate serie anomalie biochimiche.

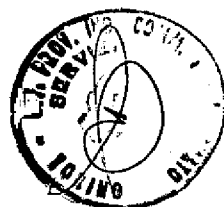
E' stata notata una significativa diminuzio-

ne in WBC con una predilezione apparente per i linfociti, specialmente nei pazienti affetti da epatite. Il significato di questa apparente differenza non è attualmente chiaro. L'incidente da miosite post-trattamento è tuttavia fastidioso, e deve essere tenuto in considerazione durante ulteriori valutazioni di questo farmaco. Due su dieci dei pazienti non epatitici non hanno tollerato la dose di 1,0 mg/kg/giorno e si sono ritirati per la nausea e l'affaticamento. Tutti e tre i pazienti non epatitici trattati a 1,7 mg/kg/giorno si sono ritirati subito per l'affaticamento. Quindi, la dose di 1,0 mg/kg/giorno è probabilmente vicina alla dose massima tollerabile con dosaggio TID per 2 settimane.

Si deve rammentare che tutti i pazienti di questo studio sono affetti da HIV e quindi immuno-compromessi. E' possibile che i pazienti con epatite B cronica senza infezione concorrente da HIV possano rispondere meglio, forse hanno bisogno di dosi efficaci minori e tollerano meglio lo FIAU.

6. Sommario dei risultati degli studi clinici con pazienti immuno-compromessi a dose giornaliera inferiore al mg di FIAU per

LABORATORIO - PARMA & PERUGIA



chilogrammo.

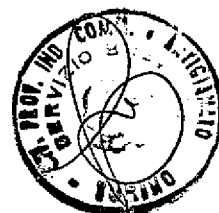
Si presentano ora i risultati di studi clinici effettuati con dosi giornaliere per kg inferiore al mg di FIAU. In questo studio, è stato valutato l'effetto di FIAU alla dose di 0,5 mg/kg/giorno sui livelli di partenza di DNA di HBV in 5 pazienti non affetti da HIV, quattro dei quali avevano livelli di entrata di DNA da HBV inferiori a 1000 pg/ml. Il quinto paziente ha un valore di entrata di DNA da HBV nel siero superiore a 1000 pg/ml.

Nei quattro pazienti con livelli di entrata di DNA da HBV inferiori a 1000 pg/ml, la concentrazione media nel siero di DNA da HBV scende del 61% dopo i primi due giorni di terapia. I livelli medi risultano inferiori del 20% ai valori di partenza alla fine della prima settimana di terapia, e meno del 10% alla fine delle due settimane di trattamento. Inoltre, i valori ad un mese dopo il trattamento sono ancora soppressi di oltre il 75%. Questa riduzione dei markers di HBV è vicina a quella osservata nei pazienti trattati con 1,0 mg/kg/giorno (vedi figura 19). Il solo paziente con un valore di partenza di DNA da HBV nel siero superiore a 1000 pg/ml presenta una

caduta dell'83% nella prima settimana di terapia; successivamente questo paziente è stato scartato dallo studio per una ematuria che, molto probabilmente, non era in relazione con lo studio.

Cinque altri pazienti che, all'inizio, non presentavano DNA da HBV, sono stati trattati a 0,5 mg/kg/giorno. Gli effetti laterali per i dieci pazienti trattati a 0,5 mg/kg/giorno sono simili a quelli notati nei pazienti trattati a 1,0 mg/kg/giorno. Sono state tuttavia osservate alcune vantaggiose differenze nel gruppo a dosaggio minore, per esempio una minore incidenza della nausea.

Quattro pazienti sono stati trattati con 0,1 mg/kg/giorno. Tutti presentavano, all'inizio dello studio, DNA da HBV nel siero. Due di questi pazienti hanno valori di DNA da HBV al di sotto di 1000 pg/ml all'inizio del dosaggio. Ambedue rispondono bene, ottenendo una riduzione media del 60% sia nel giorno 3 che dopo una settimana, ed una riduzione del 93% alla fine della terapia di due settimane. Un livello molto alto di soppressione (86%) è ancora evidente una settimana dopo il trattamento. E' in corso un controllo a termine più lungo. Questi risultati sono ancora



molto simili a quelli ottenuti per pazienti trattati con dosi più grandi farmaco.

I due pazienti con valori di partenza di DNA da HBV superiori a 1000 pg/ml hanno reagito meno bene, e nessuno dei due ha avuto una caduta superiore al 25% di questo marker alla fine della terapia. Si deve notare che nella grande maggioranza di individui affetti da HBV cronica, i valori di DNA da HBV di partenza superano raramente i 500-700 pg/ml. Tuttavia, questo valore di partenza di DNA da HBV può facilmente essere superiore a 1000 pg/ml in quei pazienti cronici affetti da HBV che sono contemporaneamente affetti da HIV.

Gli effetti gastrointestinali (G.I.) e neurologici nei quattro pazienti trattati con 0,1 mg/kg/giorno si presentano notevolmente ridotti rispetto a quelli degli altri due gruppi di dosi. Infatti non è stato riscontrato alcun effetto gastrointestinale negativo. Inoltre è stato rilevato un solo incidente da fatica rispetto ad una incidenza di circa il 40-50% negli altri gruppi. Nella Tabella II allegata è riportato un sommario degli effetti negativi sperimentati da parte dei pazienti interessati nei vari studi di dosaggio.

Quando non viene indicato alcun dato non è stata riscontrata alcuna osservazione negativa.

Soprattutto, per i pazienti affetti da HIV con concorrente epatite B cronica, le dosi da 0,1 a 1,0 mg/kg/giorno non hanno prodotto una tossicità inaccettabile. Inoltre, questo campo di dosaggio sembra essere egualmente efficace nel produrre una rapida, profonda e duratura soppressione dei livelli di DNA da HBV nel siero per pazienti con valori di partenza superiori a 1000 pg/ml. A livelli superiori di DNA da HBV nel siero, non è stata osservata uniformità nella efficacia di questo campo di dosaggio. Si deve tuttavia sottolineare che in un paziente con elevato valore di partenza è stata osservata una soppressione dell'83% dopo una settimana di terapia. Si deve anche evidenziare che l'interferone è indicato come efficace soltanto nei pazienti non affetti da HIV con livelli di entrata di DNA da HBV nel siero inferiori a 200 pg/ml.

Inoltre, dosi di 0,1 mg/kg/giorno risultano molto meglio tollerate di dosi di 1,0 o di 0,5 mg/kg/giorno. Un livello di dosaggio di circa 0,05 mg/kg/giorno permette una tolleranza anche migliore nei pazienti affetti da HBV e HIV, in



generale, e, in particolare, nei pazienti non affetti da HIV e HBV. Inoltre, in conseguenza dell'immuno soppressione riscontrata nella popolazione affetta da HIV, le dosi efficaci nei pazienti affetti da epatite cronica senza concorrente infezione da HIV sono comparabili, se non inferiori, a quelle riscontrate nel presente studio.

7. Studi clinici con pazienti immuno-competenti

L'adeguata tolleranza osservata con un dosaggio di 1,0 mg/kg/giorno, insieme agli effetti antivirali precedentemente illustrati, richiede ulteriori studi sull'infezione da HBV e malattie nei pazienti immunocompetenti.

Per valutare l'attività antivirale di FIAU contro il virus dell'epatite B, fino a 24 pazienti con epatite B cronica verranno trattati con dosi orali di FIAU di 0,05, 0,10, 0,25 o 0,50 mg/kg/giorno in tre dosi giornaliere per quattro settimane. Sei pazienti, dei quali soltanto tre provenienti da precedenti insuccessi con interferone, verranno inizialmente dosati a 0,10 mg/kg/giorno. A seconda della tolleranza e dell'efficacia, i successivi sei pazienti saranno trattati a 0,05 oppure 0,25 mg/kg/giorno. I gruppi di dosaggio

sequenziali, fino ai quattro pianificati (0,05, 0,10, 0,25 e 0,50) verranno studiati fino a dimostrare una efficacia consistente oppure una mancanza di tolleranza.

I pazienti verranno monitorati accuratamente prima, durante e dopo la terapia per valutare gli effetti di FIAU sui livelli di HBV nel siero, sulla siero ammino trasferasi e gli altri markers indicatori di malattie croniche del fegato, e per i potenziali effetti collaterali.

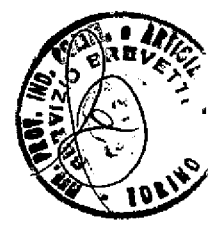
Questo è uno studio preliminare di ricerca del dosaggio che è progettato per raccogliere dati sulla sicurezza e sull'efficacia per una prova controllata causale in grande scala oppure un'altra serie di prove di ricerca del dosaggio di trattamento più lunga (da 2 a 4 mesi).

Lo scopo del presente studio è quindi quello di determinare la dose orale di FIAU potenzialmente efficace e tollerata per il trattamento di epatite B cronica tre volte al giorno per quattro settimane.

7.1. Progetto di studio

Questo studio è una valutazione aperta e non controllata di trattamento orale con FIAU per l'epatite B cronica. Saranno sequenzialmente

JACOBACCI - CASETTA & PERANI
S.p.A.



studiati fino a quattro gruppi di dose di sei pazienti ciascuno, iniziando da 0,10 mg/kg/giorno. I pazienti assumeranno il farmaco tre volte al giorno per quattro settimane. A seconda dell'efficacia e della tolleranza, il gruppo di dose successiva sarà di 0,05 oppure di 0,25 mg/kg/giorno. I gruppi di dose previsti (0,05, 0,10, 0,25 e 0,5 mg/kg/giorno) verranno continuamente studiati fino a dimostrare una efficacia consistente oppure una caduta della tolleranza.

I pazienti successivi verranno utilizzati per ciascun gruppo di dosaggio ed i pazienti non saranno assegnati al gruppo di dosaggio in funzione della gravità della loro malattia o della tolleranza che ci si può aspettare. La tolleranza verrà stabilita con terapia antiemetica fornita in concomitanza, se necessario, se un paziente presenta una nausea notevole o due o più episodi di vomito. Si impiegherà Compazina a 10 mg p.o. Q6H oppure 25 mg p.r. Q12H.

7.2. Pazienti

Verranno trattati fino a 24 pazienti affetti da epatite B cronica.

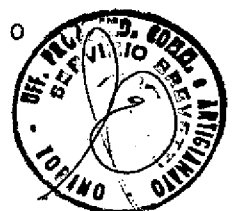
Criteri di inclusione

a. Età da 18 a 70 anni, maschio o femmina.

- b. Presenza di antigene di superficie di epatite B (HBsAg) nel siero per almeno sei mesi.
- c. Presenza di HBeAg e DNA da HBV nel siero, documentata in tre o più occasioni a distanza di almeno un mese l'una dall'altra, durante i sei mesi precedenti la prova (per esempio, a due mesi prima della prova, un mese prima della prova ed al momento della prova).
- d. Presenza di elevata attività di amminotransferasi di alanina da siero (ALT), tale che i livelli media siano maggiori di 50 U/L su tre o più determinazioni effettuate almeno un mese l'una dall'altra durante i sei mesi prima della prova.
- e. Disturbi di fegato compensati come dimostrato da un tempo di protrombina inferiore ai 3 secondi, albumina da siero superiore a 3,0 gm%, bilirubina da siero inferiore a 4,0 mg% e nessuna presenza di asciti, decadimento, encefelopatia epatica o varici sanguinanti dell'esofano.

Criteri di esclusione

- a. Positività sierologica per anti-HIV, anticorpi di virus dell'epatite C (anti-HCV) o al virus delta dell'epatite (anti-HDV).



- b. Gravidanza oppure, in pazienti in grado di generare figli, incapacità a praticare una adeguata contraccezione.
- c. Malattie sistemiche significative diverse dai disturbi di fegato, compresi disturbi congestivi del cuore, disturbi renali, diabete mellito non controllato tale che sia necessaria più di una medicazione principale su basi regolari per controllare i sintomi o le caratteristiche biochimiche della malattia.
- d. Alterazioni pre-esistenti del midollo osseo: ematocriti minori di 30%, conteggio delle cellule bianche del sangue minore di 2500 mm³, piastrine minori di 50.000 mm³.
- e. Terapia antivirale o immunologica negli ultimi sei mesi.
- f. Pazienti che non hanno mai ricevuto un trattamento di interferon e che presentano malattie serie come quella evidenziata dalla cirrosi su biopsia del fegato o un livello di asporato ammino-trasferasi superiore a 100 U/L (media di tre determinazioni prima della valutazione) verranno consigliati a fare un trattamento con alfa interferon.

LABBACCI - CASERTA & PERINI
S.p.A.



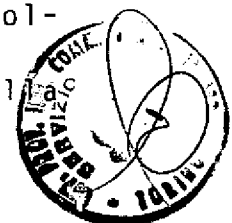
7.3. Trattamento

I pazienti che soddisfano i criteri di elibilità inizieranno la terapia, generalmente come pazienti esterni, una o due settimane dopo l'esame ospedaliero. Verranno valutati sequenzialmente fino a quattro dosaggi. I sei pazienti iniziali riceveranno 0,10 mg/kg/giorno per quattro settimane. Se si riscontra che questa dose inibisce in modo significativo il DNA da HBV (maggiore di 50% in quattro settimane), sei pazienti verranno trattati con dosi di 0,5 mg/kg/giorno.

Se la tolleranza a 0,10 mg/kg/giorno risulta adeguata, sei pazienti riceveranno 0,25 mg/kg/giorno per quattro settimane. I sei pazienti finali riceveranno 0,50 mg/kg/giorno per quattro settimane se è necessario per una migliore efficacia e se la tolleranza è stata adeguata alle dosi più basse.

L'FIAU verrà somministrato oralmente in tre dosi giornaliere uguali. La preparazione è costituita da sciroppo a 1 mg/ml. I pazienti verranno istruiti sul modo di misurare e auto-somministrarsi la soluzione di FIAU usando siringhe per dosaggio orale. La correttezza delle dosi sarà controllata misurando la soluzione residua di FIAU al

L. 02/02/00 - C. 01/01/00 & P. 01/01/00



visita di controllo settimanale.

Questo studio non verrà fatto al buio o randomizzato. E' prudente partire con una dose bassa per la carenza di informazioni sulla sicurezza di FIAU quando viene somministrato per quattro settimane. Alcuni pazienti che si avviano al protocollo avranno ricevuto interferone nel passato senza una risposta duratura. Per questa ragione, non più di tre pazienti che sono stati precedentemente trattati senza successo con terapia da interferone saranno ammessi in ciascun livello di dosaggio di FIAU.

L'appoggio al gruppo di dose sequenziale, iniziando da una dose intermedia, eviterà il trattamento di troppi pazienti con una dose di FIAU che è chiaramente inefficace. La partenza con una dose intermedia permette pure di evitare una eccessiva tossicità. Questo approccio presume di tutti i pazienti immessi in un gruppo di dosaggio attendano i risultati preliminari sull'efficacia e sulla sicurezza prima di iniziare un secondo gruppo di dosaggio.

Gli effetti collaterali che verranno valutati comprendono irritazione gastrointestinale, soppressione del midollo osseo, tossicità neurolo-

sione di questo studio pilota non sia adeguata per controllare se lo FIAU aumenta le remissioni in questa malattia al di sopra di quanto ci si potrebbe aspettare per caso, questo studio permetterà di ottenere una stima delle percentuali di risposta all'FIAU (se ve ne sono) che sarà utile per progettare una prova controllata per stabilire l'efficacia a lungo termine del trattamento.

7.5 Risultati sull'efficacia

La somministrazione orale di AIAU ai pazienti normali, cioè quelli non immuno-compromessi, a vari bassi dosaggi, indica che lo FIAU è efficace per ridurre nettamente i livelli del siero dei marker di HBV, precisamente il DNA da HBV e la DNA polimerasi da HBV. Nelle Tabelle III e IV, è presentato rispettivamente un sommario dettagliato dei risultati di efficacia per la riduzione dei livelli di DNA polimerasi di HBV e di DNA da HBV. Da queste Tabelle si può vedere che si ottengono riduzioni sorprendenti con un trattamento di quattro settimane, e le riduzioni persistono a livelli sostanzialmente ridotti per il periodo post-trattamento esaminato per la maggioranza dei pazienti.

Tabella III

Sommario dell'effetto di somministrazione orale di FIAU sui livelli di DNA polimerasi di HBV nel plasma di pazienti immuno-competenti, con dosaggi di 0,1, 0,25 e 0,05 mpk HBV DNA polimerase (cpm)

Paziente	IFN precedente?	D1	D3	D8	W2	W3	W4	W5
1A ^a	sì	1208	348	119	90	144	93	84
2A ^b	no	3340	721	550	507	360	205	368
3A ^c	sì	3,000	1,550	843	977	303	310	657
4A	no	1,500	440	164	118	69	74	169
5A	no	1,174	251	145	136	86	99	127
6A ^d	no	3,000	610	169	142	148	165	324
1B	no	43,752	7,841	5,129	3,395	2,012	834	
2B	sì	835	182	81	129	63	42	
3B	no	10,833	2,115	1,481	2,752	1,602	1,076	
4B ^e	sì	2,752	1,302	213	105			
5B ^f	no	2,454	506	131	45			
6B ^g	no	7,422	1,482	772	260			
1C ^h	no	1,318	748	348				
2C	sì	3,365	1,509	908				

A = Dose 0,1 mpk

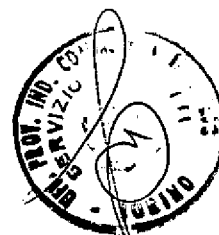
B = Dose 0,25 mpk

C = Dose 0,05 mpk

? = Il paziente ha ricevuto preventivamente senza successo un trattamento con interferone.

a = Riscontrato affaticamento modesto ai giorni 8 e 28.

JACOBACCI - CASSETTA & PERANI
S.p.A.



- b = Riscontrato affaticamente modesto ai giorni 3, 8, 14, 21, 28, e nella quinta settimana.
- c = Riscontrato affaticamente modesto nei giorni 14 e 21
- d = Riscontrata nausea modesta nei giorni 3, 7, 14 e 21 e affaticamente modesto nei giorni 7, 14 e 18
- e = Riscontrato affaticamento modesto nei giorni 14, 21, 28, nella quinta settimana e nel secondo mese.
- f = Riscontrata nausea modesta nel giorno 3
- g = Riscontrato affaticamente modesto nei giorni 14, 21, 28, nella quinta settimana e nel secondo mese.
- h = Riscontrato affaticamento modesto nel giorno 8.

TABELLA IV

**Sommario degli effetti della somministrazione
orale di FIAU su livelli di DNA da HBV nel plasma
in pazienti immuno-competenti a livelli di dosag-
gio mpk**

Paziente	IFN?	HBV DNA (pg/ml)								
		<u>D1</u>	<u>D3</u>	<u>D8</u>	<u>W2</u>	<u>W3</u>	<u>W4</u>	<u>W5</u>	<u>M1</u>	<u>M2</u>
1A	sì	68.1	23.2	16.8	9.3	6.4	0.0	4.1	4.3	13.8
2A	no	306.2	110.6	100.1	94.5	42.2	31.4	42.4	4.8	11.7
3A	sì	307.7	208.7	178.8	223.2	122.1	78.3	76.1	34.2	58.4
4A	no	18.1	12.3	8.8	7.3	3.2	2.5	8.7	4.4	5.9
5A	no	71.3	27.8	9.7	17.9	9.0	7.4	21.9	18.6	26.1
6A	no	172.6	75.6	27.6	25.2	22.8	21.8	67.9	138.5	172.9
1B	no	975.8	742.7	718.9	492.9	373.2	237.9	376.3	4.9	
2B	sì	63.9	23	17.5	8.0	10.6	7.2	24.1	23.4	
3B	no	799.1	472.3	204.2	182.6	68.3	69.6	6.4	100.6	
4B	sì	196.3	103.5	47.1	32.4	31.1	34.0	89.9	242.5	
5B	no	110.3	40.4	15.9	9.3	8.3	7.9	6.8	2.7	
6B	no	141.1	79.9	60.7	26.6	44.2	41.7	96.3	116.6	

A = Dose 0,1 mpk

B = Dose 0,25 mpk.

Nella figura 20, si vede che si ottiene una riduzione fino all'80-90% del livello di DNA polimerasi da HBV entro i primi pochi giorni. Questi bassi livelli persistono anche dopo la fine del trattamento.

La Tabella V presenta il cambiamento percentuale medio dei livelli di DNA da HBV nel siero alla settimana 4 di trattamento orale con FIAU. Nel gruppo di dosaggio da 0,05 mpk (mg/kg/giorno), si ottiene una riduzione del 30% dei livelli iniziali. Nei gruppi con dosaggio leggermente superiore, 0,1 e 0,25 mpk, la riduzione percentuale media è dell'88 e dell'84% rispettivamente. E' interessante notare che due pazienti su sei nel gruppo di dosaggio a 0,25 mg/kg/giorno sono "siero-convertiti", cioè non manifestano più la presenza di antigene di superficie dell'epatite B.

Tabella V

SOMMARIO DEL GRUPPO DI DOSAGGIO

Pazienti immuno-competenti

Dose (mpk)	0.05	0.1	0.25
Seguiti per 1 mese	6	6	6
%media di cambiamento nel DNA di HBV alla settimana 4 di FIAU			
HBsAg -negativi all'ultimo controllo	(n=4) -31%	(n=6) -88%	(n=6) -84%
	0	0	2

Il cambiamento percentuale medio di DNA da HBV in funzione della dose è presentato graficamente nella figura 21. Il cambiamento percentuale medio di ALT in funzione della dose è presentato graficamente nella figura 22. Analogamente, le presentazioni grafiche dei risultati a livelli di dose di 0,25 mpk si trova nella figura 23 (cambiamento percentuale di DNA di HBV), e nella figura 24 (cambiamento percentuale di ALT). La figura 25 presenta la risposta del paziente 5B alla somministrazione orale di 0,25 mpk di FIAU.

8. Esempi di composizioni antivirali

8.1. Sciroppo FIAU

In quanto segue è descritta una formulazione di sciroppo di FIAU adatto all'impiego come composizione farmaceutica antivirale. In particolare, lo sciroppo viene preparato combinando i componenti elencati, per i quali le quantità indicate rappresentano il contenuto in 1 ml di sciroppo.

FIAU	10 mg
Glicerina, USP	0,10 ml
Alcol, USP	0,10 ml
Glicole propilenico, USP	0,10 ml
Acqua purificata, USP	0,10 ml



FD&C Rosso #	0,025 mg
FC&C Giallo # 5	0,010 mg
FD&C Blu #	0,001 mg
Aromi artificiali	0,001 ml
Sciroppo di maltitolo qb. a	1,0 ml.

In un recipiente adatto dotato di agitazione e riscaldamento, si carica la glicerina, l'alcole ed il glicole propilenico. Si miscela per circa 5 minuti fino ad ottenere una soluzione limpida ed omogenea, riscaldando a circa 40°C. Si aggiunge poi FIAU (oppure, al caso, FIAC), mantenendo l'agitazione e risciacquando bene con l'acqua purificata. Si continua la miscelazione per almeno 20 minuti fino ad ottenere una soluzione completamente limpida. Si aggiungono quindi i coloranti e gli aromatizzanti mantenendo sotto agitazione per 5 minuti. Si lascia raffreddare a temperatura ambiente, se necessario, e si porta la miscela al volume finale con lo sciroppo di maltitolo. Si miscela delicatamente per evitare di incorporare bollicine di aria per altri 30 minuti. La preparazione deve essere tenuta chiusa per la filtrazione e l'imballo finale. Lo sciroppo viene filtrato in un filtro a membrana da 1,0 micron o equivalente e confezionato nei contenitori fina-

LAMPARINI - CASSETTA & PERSANI

li.

La quantità di ingrediente attivo può essere regolata in modo da poter somministrare quantità variabili di agente antivirale per ml di sciroppo (per esempio 0,25, 0,5, 1 oppure 5 mg di FIAU).

Altri esempi di sciroppi, particolarmente aromatizzati, sono presentati nel seguito.

FIAU 10 mg/ml - Sapore di arancio e cioccolata

FIAU	10 mg
Acqua purifica, USP	0,10 ml
Glicerina, USP	0,10 ml
Alcole, USP	0,10 ml
Glicole propilenico, USP	0,10 ml
FD&C rosso # 40	0,025 mg
FB&C giallo # 5	0,10 mg
FD&C Blu # 1	0,001 mg
Gran Marnier artificiale	0,0005 ml
Cioccolato artificiale	0,0005 ml
sciroppo NF q.b. a	1,0 ml.

Composizione dell'eccipiente:

Veicolo: sciroppo di maltitolo, acqua, glicerina, alcol e glicole propilenico: possibili sostituzioni comprendono glucosio, destrosio, mannitolo, saccarina, saccarosio, sorbitolo, miele, mucillag-

gine e altri sciroppi aromatizzati.

Aromi: Arancio/vaniglia, cioccolato/Gran Marnier, e cherry: possibili sostituzioni comprendono lampone, limone, menta verde o citrico. Questo prodotto può anche contenere nessun aroma.

Colori: FC & C Rosso ≠ 40, FD & C Blu ≠1 e FC & C Giallo ≠ 5. Si possono sostituire i colori con altri oppure il prodotto può essere colori.

Nota: Questo prodotto può contenere conservanti o sistemi tampone adatti.

FIAC 10 mg/ml - Sapore Ciliega/Arancio

FIAU	10 mg
Acqua purificata, USP	0,10 ml
Glicerina, USP	0,10 ml
Alcole, USP	0,10 ml
Glicole propilenico, USP	0,10 ml
FD&C Rosso ≠40	0,05 mg
FD&C Giallo ≠ 5	0,010 mg
Aroma di arancio naturale	0,0075 ml
Vaniglia artificiale	0,0035 ml
Sciroppo di maltitolo q.b. a	1,0 ml.

Composizione dell'eccipiente:

Veicolo: sciroppo di maltitolo, acqua, glicerina, alcole e glicole propilenico: possibili sostitu-

zioni comprendono glucosio, destrosio, mannitolo, saccarina, saccarosio, sorbitolo, miele, mucilagine e altri sciroppi aromatizzati.

Aromi: Arancio/vaniglia, cioccolato/Gran Marnier e Cherry: possibili sostituzioni comprendono lampone, limone, menta verde o citrico. Questo prodotto può anche non contenere aromi.

Colori: FD & C. Rosso #40, FD & C Giallo # 5. I colori possono essere sostituiti da altri oppure il prodotto può essere privo di colori.

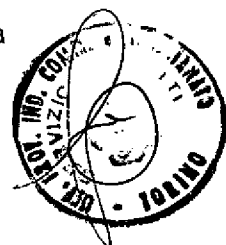
Nota: Questo prodotto può contenere conservanti o sistemi tampone adatti.

8.2. Soluzione orale

Per lo studio iniziale, l'FIAC verrà somministrato come soluzione orale, preparata prima dell'uso. Le soluzioni verranno preparate sciogliendo FIAC in polvere per soluzione orale (contenente FIAC puro come ingrediente attivo) con acqua purificata prima della somministrazione.

Componente: FIAC, 1-(2'-deossi-2'-fluoro-B-D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina (pura)

Composizione: l'FIAC verrà predisposto in specifiche quantità pre-pesate (per esempio, tra circa 0,05 a circa 500 mg).



Confezione: dosi individuali pesate di FIAC verranno confezionate in bottiglie ambrate da 5 onces (cioè Owens-Illinois P-804).

Chiusura: Owens-Illinois Clic Lock^(R).

8.2.1. Procedimento di preparazione

La soluzione orale di FIAC viene preparata con il procedimento seguente:

a ciascuna unità di dosaggio di FIAC in polvere per soluzione:

- a. aggiungere 100 ml di acqua purificata USP
- b. Disperdere mediante un bagno ultrasonico (10 minuti) o per sbattimento intermittente (circa 30 minuti).
- c. Osservare visivamente le singole bottiglie per garantirsi della completa dissoluzione prima dell'uso.
- d. Mantenere le porzioni non utilizzate di soluzione preparata in refrigerante.
- e. Nota: Se refrigerata, osservare accuratamente la dissoluzione completa e riscaldare delicatamente a temperatura ambiente sotto agitazione (se disponibile si può usare un bagno ultrasonico) per ridisciogliere il tutto se sono presenti dei cristalli.

APPROVATO - RICERCA & PIZZI

f. Gettare le soluzioni non utilizzate dopo una settimana dalla preparazione.

8.2.2. FIAC polvere per soluzione orale:

Metodi generali di produzione e distribuzione

Pulire la bottiglia soffiandovi aria filtrata compressa (filtro 0,45 um). Pesare singolarmente e registrare l'FIAC per ciascuna dose su una bilancia analitica (per esempio Sartorius o equivalente). Successivamente, trasferire la dose pesata di FIAC alla bottiglia pulita e verificare il peso per il trasferimento completo usando la tara di una singola bottiglia su una bilancia adatta (per esempio Mettler, modello per massima pesata) o equivalente. Dopo il controllo del peso chiudere le bottiglie e trattenere per la consegna e l'etichettatura.

Le specifiche per FIAC polvere per soluzione orale sono trattate come dose unitaria per la natura del prodotto. Si ammette che la soluzione risultante sia una dose multipla per dosaggio sperimentale.

I metodi di prova sono tratti direttamente dalla procedura di saggio per la sostanza attiva, poiché le unità sperimentali contengono soltanto

sostanza attiva pura.

<u>Descrizione</u>	<u>Limiti</u>
Aspetto	Polvere cristallina, bianco o quasi
Identificazione, HPLC	Conforme con gli standard
Descrizione della soluzione	Limpida, e incolore
Saggio per FIAC e sostanze relative	
FIAC	95,0-105,0% del valore di etichetta
FIAU	2,0% massimo
Altre sostanze relative	2,0% massimo.

8.3. Capsule da uno, cinque e dieci mg

Capsule per dosaggi minori vengono preparate nel modo seguente. Per considerazioni di uniformità del contenuto, si impiega una nuova tecnica indicata come granulazione secca attivata dall'umidità (MADG), per preparare la miscela della capsula. Questa tecnica è brevemente descritta nel seguito:

MADG combina la facilità di produzione di una formulazione di miscela diretta con i vantaggi della granulazione umida. Si utilizza una versione modificata della fase di agglomerazione della granulazione umida, tuttavia non sono necessarie fasi di essiccamento. In breve, questa tecnica

di granulazione comporta la miscelazione del farmaco con un eccipiente (supporto; per esempio lattosio) ed un legante secco (per esempio PVP). Questa miscela viene poi inumidita con una piccola quantità di acqua (1-3% del peso della formulazione). Questa umidità attiva il legante secco e fa aderire il farmaco alle particelle di supporto. Si aggiungono poi agenti di distribuzione dell'umidità (per esempio cellulosa microcristallina) e altri eccipienti e in tal modo il procedimento di granulazione è completo. Il granulato risultante ha una buona uniformità di contenuto ed è inoltre una miscela che scorre facilmente per l'incapsulazione o la formazione di compresse.

La scelta e la quantità degli eccipienti per le capsule a basso dosaggio può essere determinata in funzione delle necessità da chi conosce queste tecniche. E' anche opportuno setacciare la massa di FIAU con un vaglio a 200 mesh anziché a 100 mesh, per considerazioni di uniformità del contenuto.

8.4. Sale sodico di FIAU

Il sale sodico di FIAU per iniezione è un sale sodico liofilizzato. Il sale sodico viene preparato facendo reagire FIAU con idrossido di

ARMANDO TESTA & PERAZZINI
S.p.A.



sodio sul posto durante la preparazione della soluzione per la liofilizzazione. La massa liofilizzata è di colore bianco.

Un lotto clinico di sale sodico di FIAU per iniezione viene ricostituito per studi di stabilità con acqua sterile per iniezione, USP, 0,9% di cloruro di sodio iniettabile USP e 5% di destrosio iniettabile USP. Le soluzioni vengono conservate a temperatura ambiente (25°C).

Il contenuto chimico, le impurezze ed i prodotti di degradazione vengono misurati mediante HPLC. Vengono pure controllati il pH e l'aspetto fisico della soluzione. I dati relativi al contenuto chimico vengono analizzati statisticamente.

Questi studi confermano un tempo di utilizzazione di 48 ore di conservazione a temperatura ambiente (25°C) per i diluenti e le concentrazioni seguenti, purché le fiale preformate siano state conservate a temperatura ambiente (25°C) e non siano state invecchiate oltre la loro data di scadenza.

Ciascuna fiale ricostituita con 2,2 ml di acqua sterile per iniezione USP, dà una soluzione con concentrazione di 50 mg/ml. Si possono prepa-

rare concentrazioni più basse con l'adeguata regolazione dei rispettivi componenti.

In alternativa, la soluzione suddetta, quando viene ulteriormente diluita con acqua sterile per iniezioni USP, con lo 0,9% di cloruro di sodio iniettabile USP o il 5% di destrosio iniettabile USP, permette di ottenere una soluzione con concentrazione di 0,2-5 mg/ml.

8.5. FIAU Capsule (1-10 mg)

Componenti tipici

FIAU

Cellulosa microcristallina (Avicel)	3.03%	10.00	1-10
Stearato di magnesio, USP	20.0%	66.00	59-73
Explotab	0.5%	1.65	1.5-1.8
	2.0%	6.60	5.9-7.3
Lattosio idrato USP qb fino al peso di	-76.0%	250.80	225-275
		330 mg	
		#1	

Dimensione della capsula

Composizione dell'Eccipiente

- a. Diluente: cellulosa microcristallina (Avicel), lattosio idrato. Possibili sostituzioni: lattosio anidro.
- b. Lubrificante: stearato di magnesio; possibili sostituzioni: talco, stearato di calcio, acido stearico, sali di magnesio.

- c. Disintegrante: Explotab; possibili sostituzioni: amido, povidone XL, sodio amido glicolato, croscarmellosio, metilcellulosa, carbossimetil cellulosa.

Procedimento di fabbricazione

- a. Miscelare FIAU con una parte uguale di lattosio.
- b. Aggiungere gradualmente il resto del lattosio e miscelare bene.
- c. Miscelare Avicel, Explotab e stearato di magnesio e miscelare bene.
- d. Miscelare la miscela di FIAU e lattosio (Fase 2) con la miscela di Avicel (Fase 3) e miscelare fino a ottenere una miscela omogenea (circa 10 min al minimo).

8.6. FIAU compresse (1-10 mg): Granulazione ad umido/ Metodo di compressione diretta

Componenti	%	Campo percet. %	FIAU compressa 5 mg. mg/cap	FIAU compressa 10 mg. mg/cap
FIAU (5%)	a	0.25-5	5	10
Lattosio (55%)	a	40-70	-	-
PVP (15% in acqua)	a	10-20	60.5	60.5
Avicel PH101	56.5%	40-75	565	565
Lattosio	31.0%	20-50	310	310
Explotab®	5.0%	2-10	50	50
Sterotex K	1.0%	0.5-5	10	10
Stearato di magnesio USP	0.5%	0.2-2	5	5
Peso netto			200 mg	400 mg

L. 10/10/1990 - 10/10/1990

a = la percentuale combinata dei primi tre componenti è del 6%.

Composizione dell'eccipiente

- a. Diluyente: lattosio idrato. Possibili sostituzioni: lattosio anidro, cellulosa microcristallina (Avicel).
- b. Lubrificante: stearato di magnesio; possibili sostituzioni; talco, stearato di calcio, acido stearico, sali di magnesio.
- c. Disintegrante: possibili sostituzioni: amido, povidone XL, sodio amido glicolato, metilcel-



lulosa, carbossimetil cellulosa.

- d. Legante: Sterotex K, possibili sostituzioni: amido, gelatina, zuccheri (saccarosio, glucosio, ecc.), carbossimetil cellulosa, metilcellulosa, polivinil pirrolidone.

Procedimento di fabbricazione

- a. Miscelare l'FIAU ed il lattosio, inumidire la miscela con la soluzione al 15% di polivinilpirrolidone in acqua.
- b. Essiccare il granulato per una notte a 40°C.
- c. Passare il granulato secco attraverso un vaglio a 10 mesh e quindi attraverso un vaglio a 20 mesh.
- d. Miscelare lo stearato di magnesio e lo Sterotex K e quindi aggiungere Explotab.
- e. Combinare le due miscele preparate nella fase c e nella fase d.
- f. Aggiungere Avicel, lattosio e la miscela ottenuta nella fase e al legante secco.
- g. Lasciar miscelare per 15 minuti.
- h. Comprimere le compresse al peso specificato.

<u>Descrizione</u>	<u>Compressa da 1 mg</u>	<u>Compressa da 2 mg</u>
Diametro	9 mm	9 mm
Spessore	4.0 ± 0.5 mm	6.0 ± 0.5 mm
Durezza	3-10 kg	3-10 kg

JACOBBACCI - CASETTA & PERANI

8.7. FIAU Compresso (1-10 mg). Metodo di compressione diretta

Componenti	%	Campo percent. %	FIAU compressa 5 mg. mg/cap	FIAU compressa 10 mg. mg/cap
FIAU (100 mesh)	2.5%	0.2-2.5	5	10
Avicel PH101	55.0%	40-75	110	220
Lattosio idrato USP	36.0%	25-55	72	144
Explotab®	5.0%	2-10	10	20
Sterotex K	1.0%	0.5-5	2	4
Stearato di magnesio USP	0.5%	0.2-2	1	2
Peso netto			200 mg	400 mg

Composizione dell'eccipiente

- a. Diluyente: cellulosa microcristallina (Avicel) lattosio idrato. Possibili sostituzioni: lattosio anidro.
- b. Lubrificante: stearato di magnesio; possibili sostituzioni: talco, stearato di calcio, acido stearico, sali di magnesio.
- c. Disintegrante: Explotab; possibili sostituzioni: amido, povidone XL, sodio amido glicolato, croscarmeloso, metilcellulosa, carboximetil cellulosa.
- d. Legante: Sterotex K, possibili sostituzioni: amido, gelatina, zuccheri (saccarosio, gluco-

sio, ecc.), carbossimetil cellulosa, metilcellulosa, polivinil pirrolidone.

Procedimento di fabbricazione

- a. Miscelare lo stearato di magnesio e lo Sterotex K in un contenitore di plastica.
- b. Aggiungere Explotab alla miscela ottenuta nella fase a.
- c. Aggiungere FIAU alla miscela ottenuta nella fase b.
- d. Aggiungere Avicel PH101, lattosio e la miscela ottenuta nella fase c in strati al legante secco.
- e. Miscelare per 15 minuti.
- f. Comprimere le compresse con il carico specificato.

<u>Descrizione</u>	<u>Compressa da 1 mg</u>	<u>Compressa da 2 mg</u>
Diametro	9 mm	9 mm
Spessore	3.5 ± 0.5 mm	7.0 ± 0.5 mm
Durezza	3-10 kg	3-10 kg

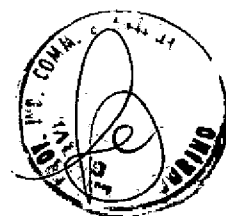
8.8. Unguento idrosolubile di FIAC

(1-100,0 mg/g)

Componenti	mg/g	FIAC	
		Unguento 5%	% campo per
FIAC	50.0	5.0	0.1-10.0
Glicole propilenico	50.0	5.0	1.0-10.0
Glicole polietilenico 3350 USP	240.0	24.0	10.0-40.0
Glicole polietilenico 400 USP q.b. a.	660.0	66.0	40.0-80.0

Composizione dell'eccipiente

- a. Glicole propilenico USP: co-solvente/conser-vante; possibili sostituzioni: glicerina, etanolo, alcole isopropilico o altri alcoli, polisorbati.
- b. Glicole polietilenico - 3350 USP: Agente di incremento della viscosità; possibili sostituenti: glicole polietilenico 900, 1000, 1450, 4500, 8000 o altri glicoli ad alto peso molecolare, alcole stearilico, poliossil 40 stearato.
- c. Glicole polietilenico - 400 USP: solvente; possibili sostituzioni: glicole polietilenico 200, 300, 600 o altri glicoli a basso peso



molecolare.

Procedimento di fabbricazione

1. Aggiungere una parte (circa 50%) del glicole polietilenico 400 ad un recipiente di miscelazione in acciaio inossidabile tarato dotato di un agitatore a velocità variabile e fonte di riscaldamento.
2. Aggiungere nel recipiente il glicole polietilenico 3350 e riscaldare gentilmente a circa 50°C con leggera agitazione. Proseguire l'agitazione fino a quando la miscela è fusa e si è ottenuta una soluzione completa.
3. Aggiungere il glicole propilenico, USP e FIAC alla soluzione ottenuta nella Fase 2 ed agitare per miscelare bene.
4. Aggiungere quanto basta al peso finale di glicole polietilenico 400 e miscelare per ottenere una soluzione limpida e uniforme.
5. Sospendere il riscaldamento e lasciar raffreddare la soluzione lentamente, continuando la leggera agitazione fino a quando la soluzione tende ad indurirsi con formazione di un unguento omogeneo uniforme e la temperatura è scesa sotto il 35°C.

8.9. Soluzione di FIAC

(1,0-50,0 mg/ml)

Componenti	mg/ml	FIAC	% Campo perc.
		Soluzione 5%	
		%	
FIAC	50.0	5.0	0.1-5.0
Glicole propilenico USP	50.0	5.0	1.0-10.0
Glicole polietilenico 400, USP	440.0	44.0	10.0-80.0
Alcole USP q.d. a	460.0	46.0	10.0-80.0

Composizione dell'eccipiente

- a. Glicole propilenico USP: co-solvente/conservante; possibili sostituzioni: glicerina, alcole isopropilico, metanolo o altro alcole, polisorbatf.
- b. Glicole polietilenico 400 USP: co-solvente; possibili sostituzioni; glicole polietilenico 200, 300, 600 o altri glicoli a basso peso molecolare.
- c. Alcole USP: solvente; possibili sostituzioni: alcole S40-2, alcole isopropilico o altri alcoli.

Procedimento di fabbricazione

1. Miscelare il glicole propilenico con il glicole polietilenico in un contenitore

adatto ed agitare fino a ottenere una soluzione uniforme.

2. Aggiungere una parte (circa 2/3) dell'alcol al prodotto della fase 1 e miscelare bene.
3. Aggiungere FIAC alla Fase 2, risciacquando bene il contenitore con la parte rimanente di alcole.
4. Aggiungere quanto basta al volume finale di alcole e miscelare bene per ottenere una soluzione liquida.

8.10. Unguento petrolato di FIAC

(1-50,0 mg/g)

Componenti	FIAC Petrolato Unguento 1.0%		Campo % perc.
	mg/g	%	
FIAC	10.0	1.0	0.1-5.0
Cera bianca	50.0	5.0	1.0-10.0
Petrolato bianco	940.0	94.0	85.0-98.9

Composizione dell'eccipiente

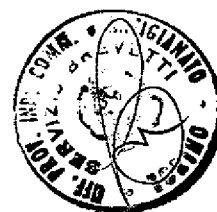
- a. Cera bianca: agente di indurimento; possibili sostituzioni: cera gialla o cera d'api, cera paraffinica o altri prodotti sostituenti commerciali.

- b. Petrolato bianco: base dell'unguento; possibili sostituzioni: petrolato giallo o altri sostituenti commerciali.

Procedimento di fabbricazione

1. Miscelare la cera bianca ed il petrolato bianco in un contenitore adatto e riscaldare delicatamente per ottenere una miscela uniforme liquida.
2. Aggiungere FIAC alla miscela ottenuta nella fase 1 e miscelare fino ad avere una dispersione uniforme (circa 15 minuti a 80°C).
3. Sospendere il riscaldamento e lasciar raffreddare lentamente la soluzione continuando a miscelare fino a quando la soluzione si è indurata formando un unguento omogeneo uniforme e la temperatura è scesa al di sotto dei 35°C.

8.11. FIAC Crema (1,0-50,9 mg/g)



Componenti	mg/g	FIAC	campo percentuale
		crema 1.0%	
		%	
FIAC	10.0	1.0	0.1 - 5.0
Acqua purificata USP	500.0	50.0	20.0 - 80.0
Alcole cetilico USP	80.0	8.0	2.0 - 16.0
Cera microcristallina USP	80.0	8.0	2.0 - 16.0
Pulisorbato 80	50.0	5.0	1.0 - 10.0
Glicole polietilenico 300 USP	50.0	5.0	1.0 - 10.0
Glicole propilenico USP	50.0	5.0	1.0 - 10.0
Softisan-601*	60.0	6.0	1.0 - 12.0
Acido stearico USP	40.0	4.0	1.0 - 10.0
Paraffina-USP	30.0	3.0	1.0 - 6.0
Glicerolo monostearato USP	30.0	3.0	1.0 - 6.0
Octoxinolo	20.0	2.0	0.5 - 5.0

Composizione dell'eccipiente

- a. Acqua purificata: per migliorare la solubilità dell'ingrediente attivo e nella formazione della crema di olio in acqua.
- b. Alcole cetilico: Agente tensioattivo impiegato per stabilizzare le emulsioni e impartire un aspetto morbido alla pelle. Possibili sostituzioni: alcole stearilico, octadeconolo.
- c. Cera microcristallina, Softisan 601, paraffina e acido stearico: agenti di indurimento. Possibili sostituzioni: cera gialla, cera

d'api o altri prodotti sostitutivi del commercio.

- d. Polisorbato 80: per le sue caratteristiche idrofile e liofile contribuisce come agente emulsionante. Possibili sostituzioni: esteri di acidi grassi di sorbitolo e relative anidridi copolimerizzate con varie moli di ossido di etilene.
- e. Glicole polietilenico 300: contribuisce alla solubilità dell'ingrediente attivo. Possibili sostituzioni: altri glicoli a basso peso molecolare.
- f. Glicole propilenico: solvente/conservante. Possibili sostituzioni: glicerina, altri alcoli.
- g. Gliceril monostearato: agente emulsionante; possibili sostituzioni: esteri di acidi grassi polioli.
- h. Octoxinolo: agente tensioattivo ed emulsionante; possibili sostituzioni: tensioattivi non ionici.

Procedimento di fabbricazione

- a. Pulire la zona e pesare ciascun componente.
- b. Aggiungere il polisorbato 80, octoxinolo, glicole polietilenico 300 e glicole poli-

LABBAGGI - CASSETTA & PERANI
S.p.A.

propilenico. Aggiungere circa il 70% del FIAC e miscelare.

- c. Fondere il monostearato di glicerile, la paraffina, l'alcole cetilico, l'acido stearico, la cera e il Softisan 601.
- d. Riscaldare l'acqua (50°C) e aggiungere il resto dell'FIAC, quindi agitare fino a dissoluzione.
- e. Riscaldare la fase oleosa (3) fino a circa 80°C.
- f. Riscaldare l'acqua a 70°C.
- g. Porre l'acqua sotto un miscelatore Ross, aggiungere la fase oleosa e miscelare. Lasciare raffreddare la crema fino a temperatura ambiente sotto debole agitazione.

8.12. FIAC Gel (1,0-50,0 mg/g)

Componenti	FIAC GEL, 1,0%		Campo	
	mg/g	%	% percentuale	
FIAC	10.0	1.0	0.1 - 5.0	
glicerina USP	100.00	10.0	1.0 - 25.0	
Idrossipropil cellulosa NF	40.0	4.0	0.5 - 8.0	
Acqua purificata USP	350.0	35.0	10.0 - 70.0	
Alcole SD40-2 qb a	500.0	50.0	20.0 - 75.0	

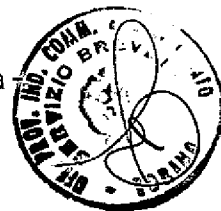
GIACOBACCI - CASETTA & PERANI
 S.p.A.

Composizione dell'eccipiente

- a. Glicerina: co-solvente/conservante; possibili sostituzioni: glicole propilenico, alcole isopropilico, etanolo, metanolo o altri alcoli.
- b. Idrossipropil cellulosa: agente gelificante; possibili sostituzioni: idrossietil cellulosa, idrossipropil metil cellulosa, metil cellulosa o altre cellulose, carbomer, alcole polivinilico, povidone, gelatina o altri prodotti sostituenti del commercio.
- c. Acqua purificata: co-solvente.
- d. Alcole SD40-2: co-solvente; possibili sostituzioni: alcole USP, alcole isopropilico, metanolo o altri alcoli.

Procedimenti di fabbricazione

- a. Combinare una parte dell'acqua e dell'alcole (circa 75% di ciascuno) in un contenitore adatto e miscelare.
- b. Aggiungere FIAC alla miscela della fase 1 e miscelare fino a dissoluzione.
- c. Combinare il resto dell'acqua e glicerina in un contenitore adatto e riscaldare fino a circa 50°C.
- d. Aggiungere l'idrossi propil cellulosa lenta-



- mente alla miscela di acqua e glicerina (fase 3) per ottenere una poltiglia uniforme.
- e. Aggiungere la poltiglia di idrossipropilcellulosa alla soluzione di FIAC proveniente dalla Fase 2.
- f. Portare al peso finale voluto con alcole e continuare la miscelazione per circa 30 minuti, mantenendo il contenitore coperto per evitare l'evaporazione.

Le composizioni dell'invenzione sono destinate all'uso umano, ed è implicita in questo impiego l'esigenza che la sostanza farmaceuticamente attiva ed i vari eccipienti si trovino in una condizione di purezza farmaceuticamente accettabile. I prodotti debbono quindi essere esenti da contaminanti o impurezza che possono provocare tossicità o altri problemi negativi per l'uomo. Le composizioni secondo l'invenzione, particolarmente le composizioni previste per somministrazione parenterale, sono preferibilmente sterili.

Normalmente le formulazione debbono essere consumate dal paziente in forma di dosaggio singolo o unità di dosaggio, come per esempio in compresse, capsule, pastiglie, dosi misurate

(ottenute per esempio usando una siringa dosatrice) di sciroppi, sospensioni o soluzioni, ecc. Tali unità di dosaggio possono essere previste per rilasciare il farmaco o per assorbimento immediato o in modo controllato, per permettere alla dose di essere resa disponibile nel corpo per un certo periodo di tempo. Nel caso del rilascio controllato, il mezzo contenente l'ingrediente attivo deve essere manipolato in modo da provvedere un rilascio in chiave rapido di sostanza attiva seguito da un rilascio costante lento oppure, alternativamente, una dose costante più o meno prolungata di sostanza attiva nel tempo. Tali forme di dosaggio singolo o unità di dosaggio possono contenere, per esempio, da 0,05 a 100, preferibilmente tra 0,05 e 15 o più preferibilmente tra 0,05 e 5 mg di ingrediente attivo. Le forme di dosaggio singolo o unità di dosaggio accettabili oralmente sono preferite. Per esempio una di queste forme sarà costituita da compresse contenenti 3 o 5 mg di FIAU. La forma di dosaggio singola o unità di dosaggio può contenere più di 1 mg di ingrediente attivo. Di preferenza, il massimo dosaggio giornaliero accettabile non deve superare circa 25 mg.

Per coloro che conoscono questa tecnica apparirà evidente che sono possibili altre composizioni non specificamente descritte in questa sede ma, tuttavia, previste. Tali altre composizioni rientrano nello spirito e nello scopo della presente invenzione. L'invenzione non intende quindi essere limitata alle specifiche realizzazioni descritte, ma soltanto dalle rivendicazioni allegate.

11/11/11

			Dosaggio (mg/kg/giorno)		
			1.0	0.5	0.1
			Incidenza	Incidenza	Incidenza
Sistema di trasporto	manifest. negativa	Gravità			
Visiva	Diff. ui focalizz.	leggera	1/9		
Neurologico	Fatica	leggero	2/9	3/10	1/4
	Fatica	moderata	1/9	1/10	
	Fatica	forte	1/9		
	Debolezza	leggera	2/9	2/10	
	Debolezza	moderata	1/9		
	Mal di capo	leggero	1/9	2/10	
	Mal di capo	moderato		1/10	
	Mal di capo	forte	1/9		
	Vertigini	leggera	1/9		
	Disorientamento	leggero		1/10	
	Diminuz. sensibilita	leggera	1/9		
	Paresibesia (esuremia)	leggera	1/9		
	Ematologico	Ipofosfatenia	moderata		1/10
Iponatremia		leggera			1/4
Ipocalcemia		leggera			1/4
Ipocalcemia		leggera			1/4
Iperbilirubinemia		leggera			2/4
Ipoglicemia		leggera			1/4

RIVENDICAZIONI

1. - Composizione farmaceutica per il trattamento di infezione o di malattia provocata dal virus dell'epatite B, che comprende una quantità di 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU), un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU sufficiente ad assicurare un dosaggio basso ma antiviralmente efficace di FIAU, del suo profarmaco o metabolita, compreso tra circa 0,05 e circa 1 mg/kg/giorno, ed un supporto farmaceuticamente accettabile.

2. - Composizione farmaceutica per il trattamento di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B, che comprende una certa quantità di 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-3-iodouracile (FIAU), un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU, sufficiente ad assicurare una condizione stabile di concentrazione di picco di FIAU nel plasma, del suo profarmaco o metabolita, nel campo compreso tra circa 0,1 e circa 1 ug/ml, ed un supporto farmaceuticamente accettabile.

3. - Composizione farmaceutica per il trattamento di infezione o malattia provocata dal

virus dell'epatite B, che comprende 1-(2'-deossi-2'-fluoro- β -D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU), un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU, ed un supporto farmaceuticamente accettabile, detta composizione contenente circa 0,25, 0,5, 1, 2, 5 oppure 10 mg di FIAU, del suo profarmaco o metabolita.

4. - Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, 2 o 3, in cui detto profarmaco è il composto 1-(2'-deossi-2'-fluoro- β -D-arabinofuranosil)-5-iodocitosina (FIAC).

5. - Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, 2 o 3, in cui detto metabolita è il composto 1-(2'-deossi-2'-fluoro- β -D-arabinofuranosil)uracile (FAU).

6. - Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, 2 o 3, che è in forma di soluzione, sospensione, sciroppo, compresse, pastiglie o capsule.

7. - Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, in cui detto dosaggio è compreso tra circa 0,1 e circa 0,5 mg/kg/giorno.

8. - Procedimento per la preparazione di una composizione farmaceutica per il trattamento

di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B, che comprende il miscelare un supporto farmaceuticamente accettabile con una certa quantità di 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabino-furanosil)-5-iodouracile (FIAU), un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU, in quantità sufficiente a provvedere un dosaggio basso ma antiviralmente efficace di FIAU, del suo profarmaco o metabolita, nel campo compreso tra circa 0,05 e circa 1 mg/kg/giorno, una concentrazione di picco nel plasma allo stato stabile di FIAU, il suo profarmaco o metabolita compresa tra circa 0,1 e circa 1 ul/ml, oppure circa 0,25, 0,5, 1, 5 oppure 10 mg di FIAU, il suo profarmaco o metabolita.

9. - Procedimento secondo la rivendicazione 8, in cui detto supporto è un liquido farmaceuticamente accettabile.

10. - Procedimento secondo la rivendicazione 8, in cui detto supporto è un solido farmaceuticamente accettabile.

14. - Composizione farmaceutica per il trattamento di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B, che comprende 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU), un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU ed un supporto farmaceuticamente accettabile, detta composizione contenente circa 0,05-10 mg di FIAU, il suo profarmaco o metabolita.

15. - Composizione farmaceutica per il trattamento di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B che comprende una certa quantità di 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU), un composto che è un profarmaco di FIAU oppure un composto che è un metabolita di FIAU, sufficiente ad assicurare, in condizioni stabili, una concentrazione di picco nel plasma di FIAU, il suo profarmaco o il metabolita anche solo di circa 0,05 ug/ml ed un supporto farmaceuticamente accettabile.

16. - Composizione farmaceutica per il trattamento di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B, che comprende una certa quantità di 1-(2'-deossi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-iodouracile (FIAU), un composto che

è un profarmaco di FIAU o un composto che è un metabolita di FIAU, sufficiente ad assicurare, in condizioni stabili, concentrazioni di picco nel plasma di FIAU, il suo profarmaco o metabolita di circa 1 o più ug/ml, ed un supporto farmaceuticamente accettabile.

17. - Procedimento per preparazione una composizione farmaceutica secondo ognuna delle rivendicazioni da 1 a 7, oppure da 11 a 16, che comprende il miscelare FIAU, oppure un suo profarmaco o metabolita, con un supporto farmaceuticamente accettabile.

18. - Uso di FIAU, oppure un suo profarmaco o metabolita, per il trattamento di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B, caratterizzato dal fatto che l'FIAU, oppure il suo profarmaco o metabolita, è somministrato in quantità compresa tra circa 0,05 e circa 1 mg/kg/giorno.

19. - Uso di FIAU, oppure un suo profarmaco o metabolita, per il trattamento di infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B, caratterizzato dal fatto che l'FIAU, oppure il suo profarmaco o metabolita, è somministrato in una quantità sufficiente ad assicurare una condi-

zione stabile di concentrazione di picco nel plasma compresa tra circa 0,1 e circa 1 ug/ml.

20. - Uso di FIAU, o un suo metabolita o profarmaco, nella preparazione di un medicinale utile per assicurare una quantità compresa tra 0,05 e 1 mg/kg di ingrediente attivo per giorno ad un paziente affetto da infezione o malattia provocata dal virus dell'epatite B.

21. - Uso di FIAU, oppure un suo metabolita o profarmaco, nella preparazione di un medicinale utile per assicurare una condizione stabile di concentrazione di picco nel plasma di ingrediente attivo compresa tra circa 0,1 e 1 ug/ml in un paziente affetto da infezione o malattia causata dal virus dell'epatite B.

22. - Uso di FIAU, o un suo profarmaco o metabolita, come ingrediente attivo in un procedimento per la preparazione di una composizione farmaceutica comprendente il miscelare FIAU, o un suo profarmaco o metabolita, con un supporto farmaceuticamente accettabile, detta composizione farmaceutica essendo efficace per provvedere una quantità compresa tra circa 0,05 e circa 1 mg/kg di ingrediente attivo per giorno ad un paziente affetto da infezione o malattia causata dal virus

dell'epatite B.

23. - Uso di FIAU, o un suo profarmaco o metabolita, come ingrediente attivo in un procedimento per la preparazione di una composizione farmaceutica comprendente il riscelare FIAU, o un suo profarmaco o metabolita, con un supporto farmaceuticamente accettabile, detta composizione farmaceutica essendo utile a provvedere una condizione stabile di concentrazione di picco nel plasma di ingrediente attivo compresa tra circa 0,1 e circa 1 ug/ml in un paziente affetto da infezione o malattia causata dal virus dell'epatite B.

PER INCARICO



Ing. Paolo RAMBELLI
N. Iscriz. ALBO 435
Proprío e per gli altri

MACBAC S.P.A.

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) sui livelli
DNA da HBV nel plasma.

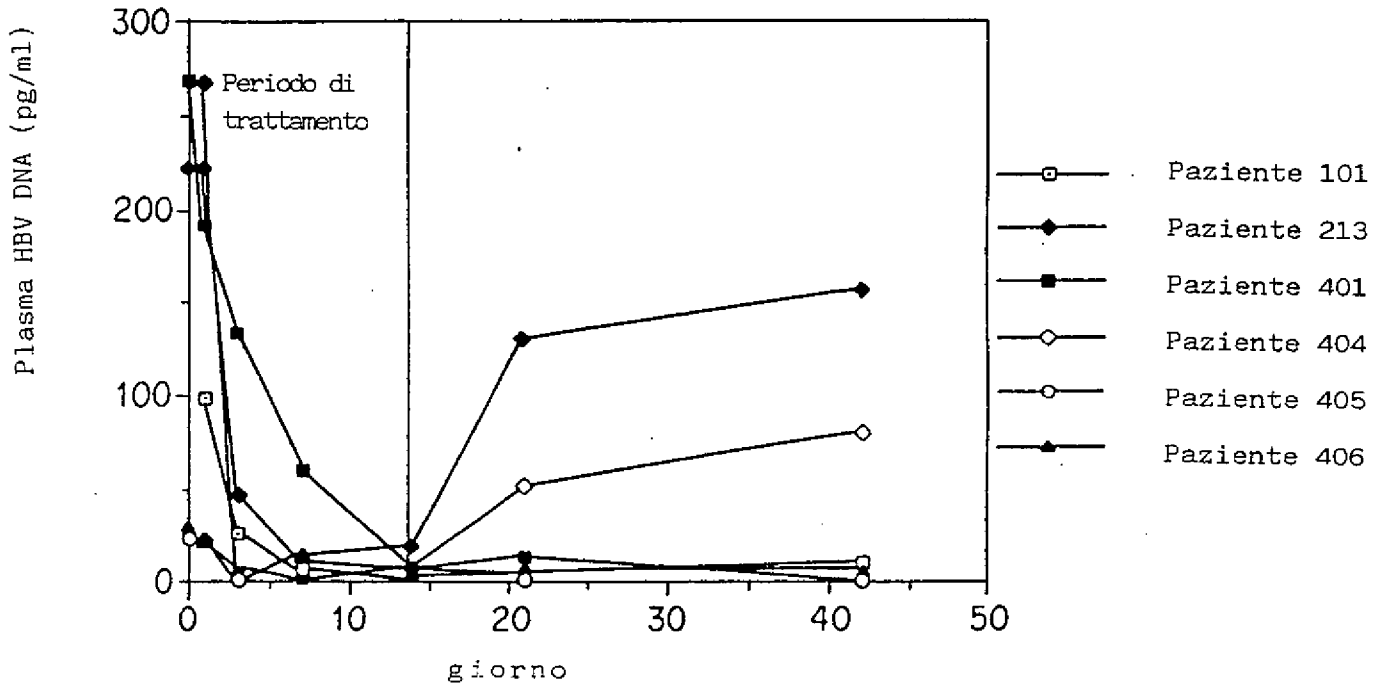


FIG. 1

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) sui livelli di
DNA polimerasi da HBV nel plasma

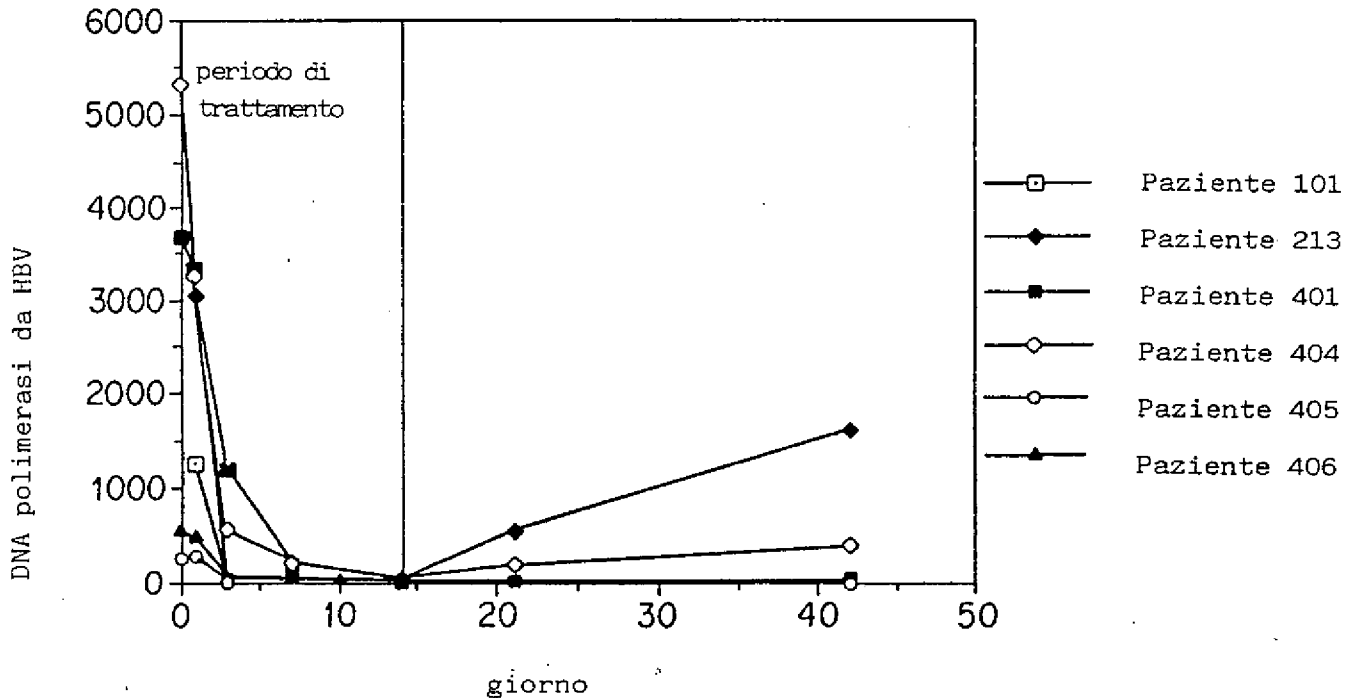


FIG. 2

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) sul DNA da HBV nel plasman

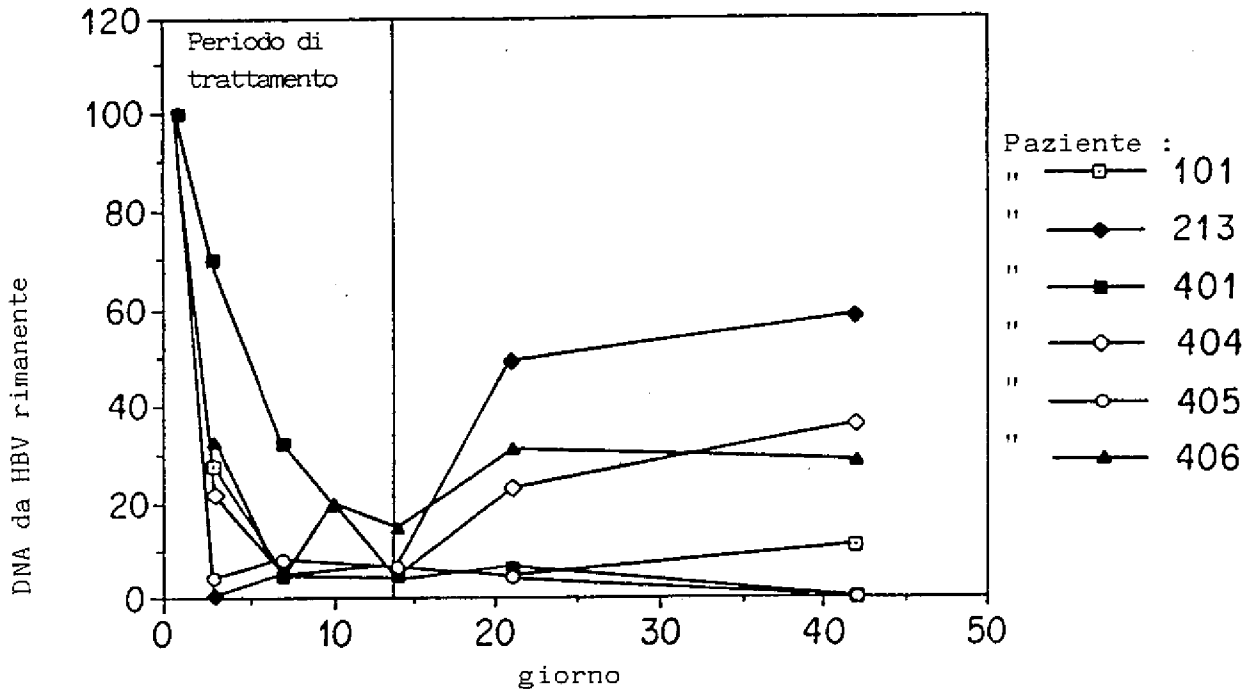


FIG. 3

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) sul DNA polimerasi da HBV nel plasma

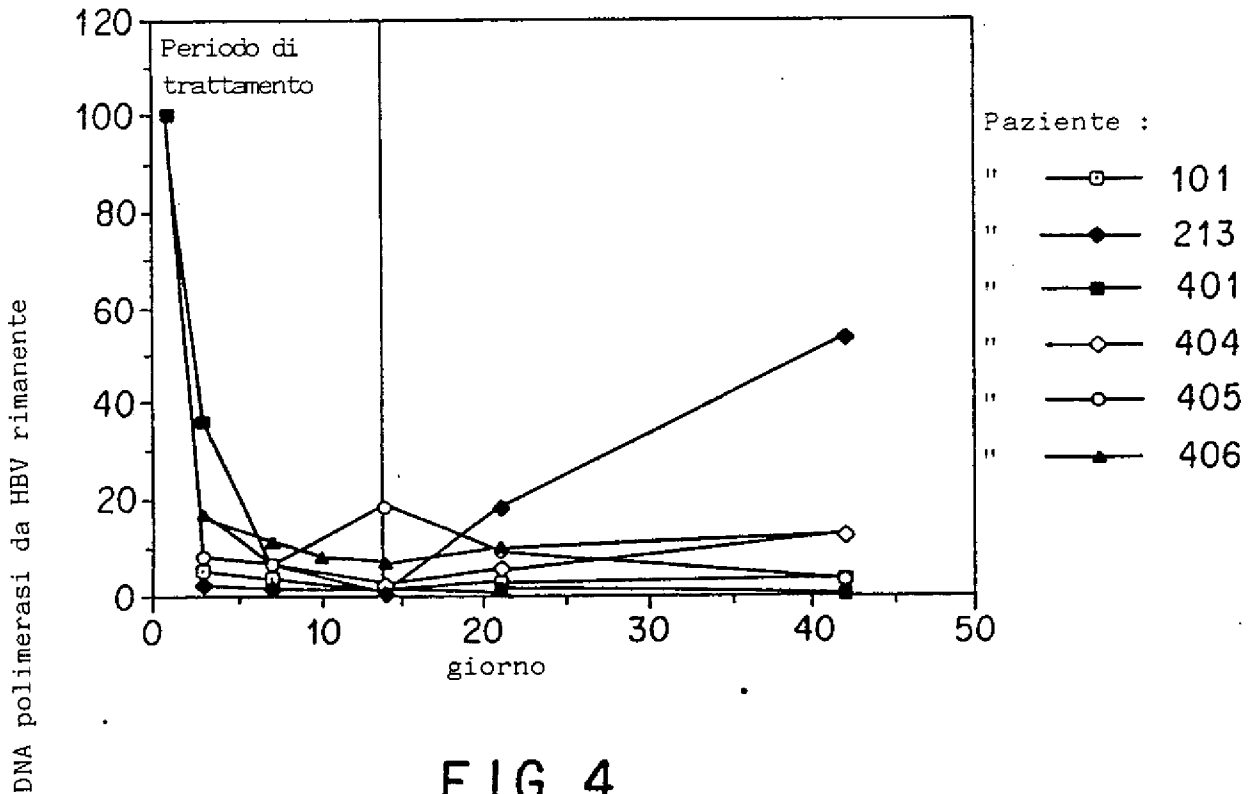


FIG. 4

Cambiamenti nei markers di HBV per il paziente 401

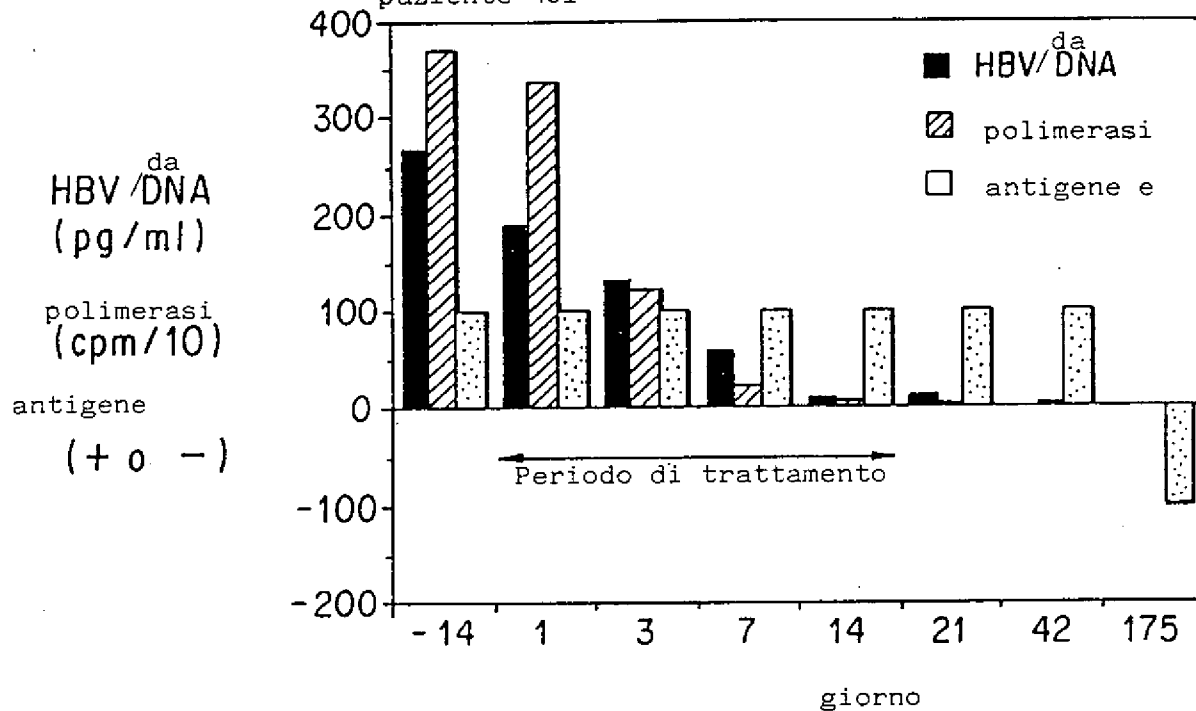


FIG. 5

Cambiamenti nei conteggi di WBC di pazienti non epatici dosati a 1 mg/kg/giorno

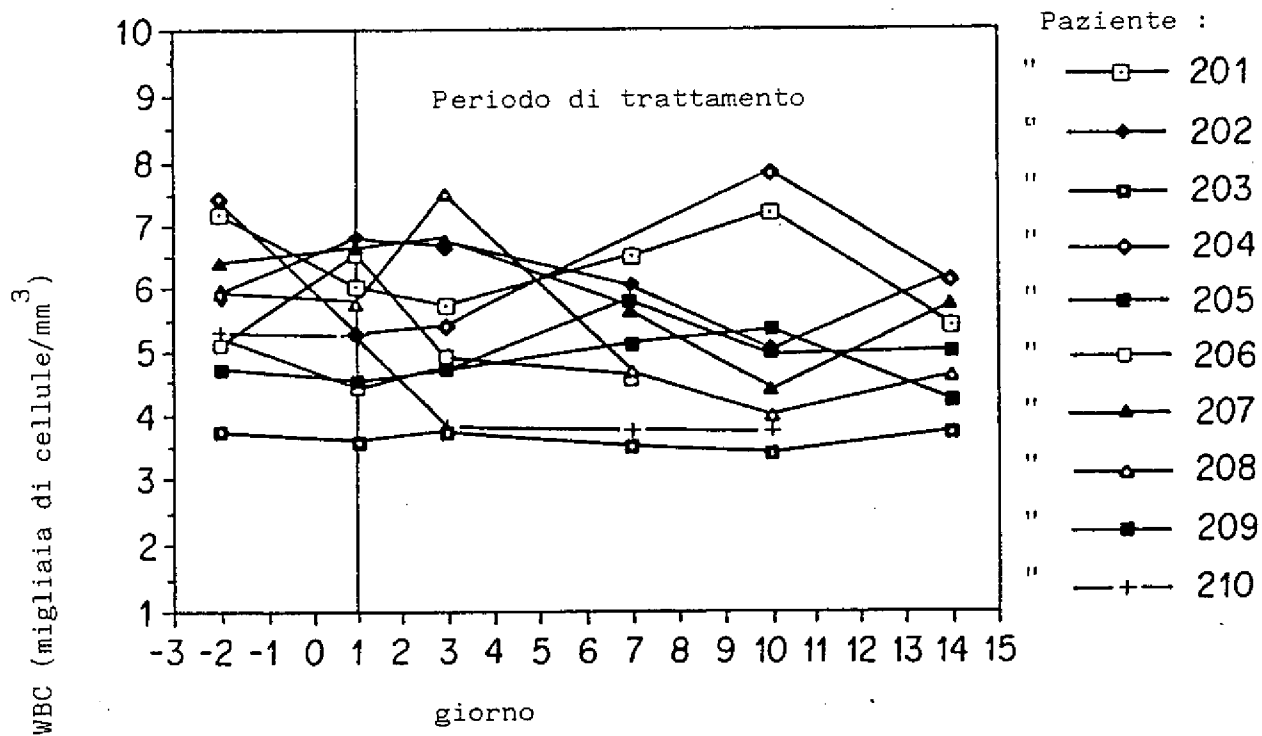


FIG. 6

Cambiamenti nel conteggio di CD₄ di pazienti non epatitici, usati a 1 mg/kg/giorno

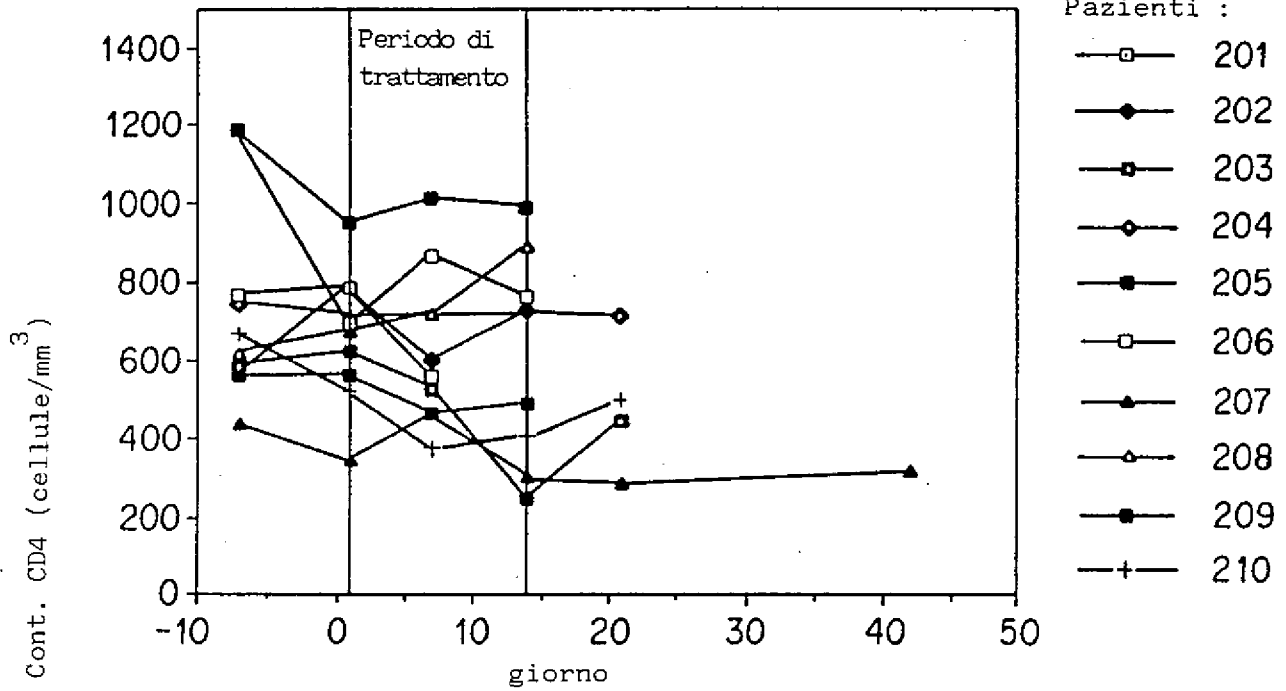


FIG. 7

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) su AST di pazienti non epatitici

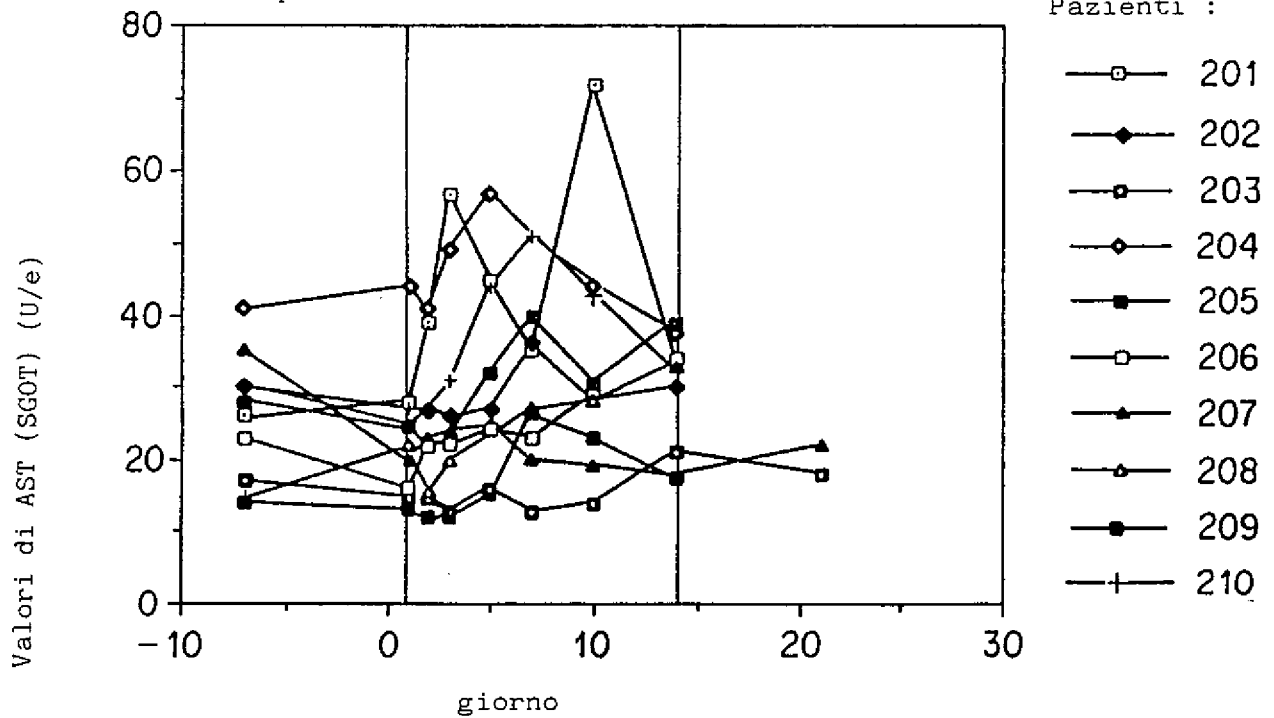


FIG. 8

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) su ALT di
pazienti non epatitici

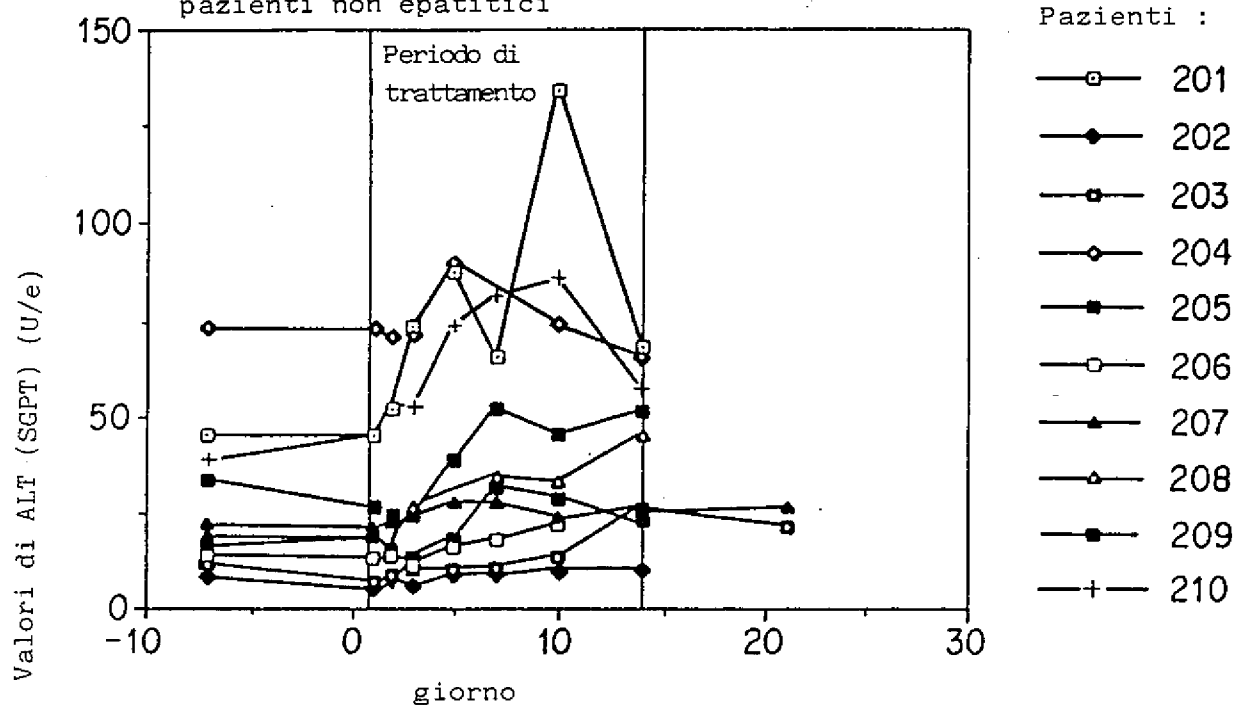


FIG. 9

Cambiamenti nei conteggi di WBC di pazienti
epatitici dosati a 1,0 mg/kg/giorno)

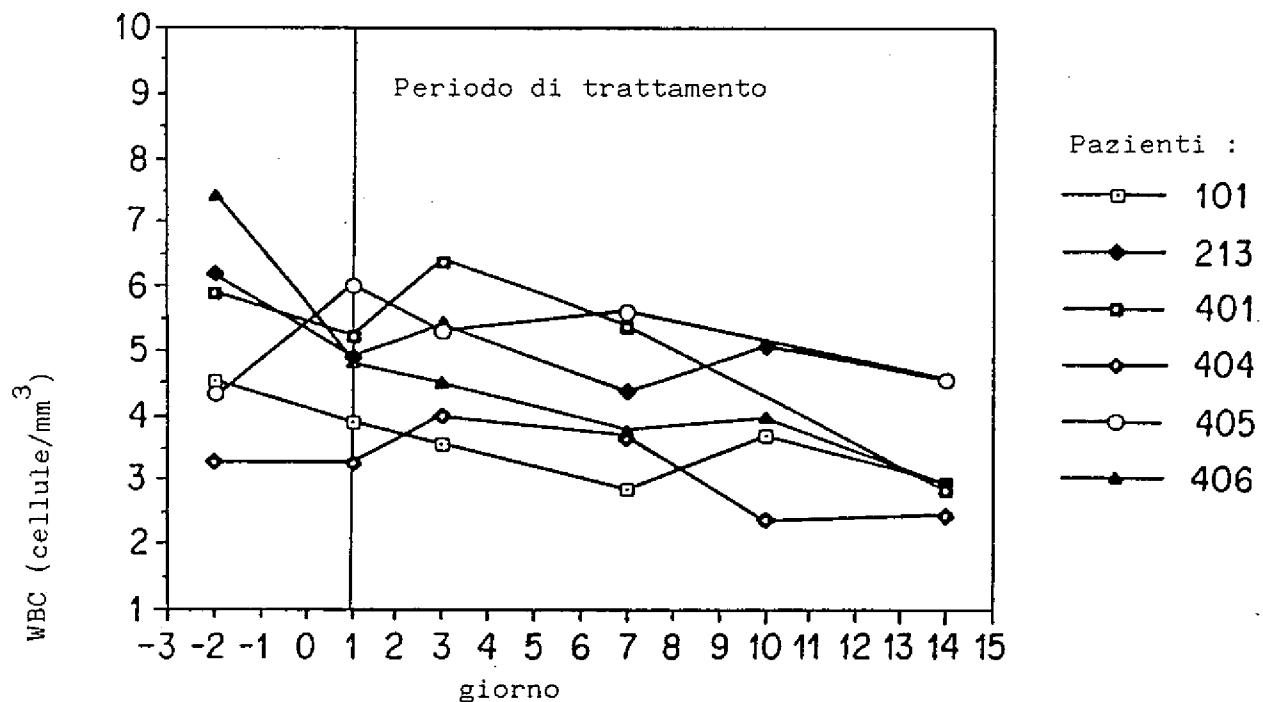


FIG. 10

Cambiamenti nei conteggi di CD₄ di pazienti epatitici
dosati a 1,0 mg/kg/giorno

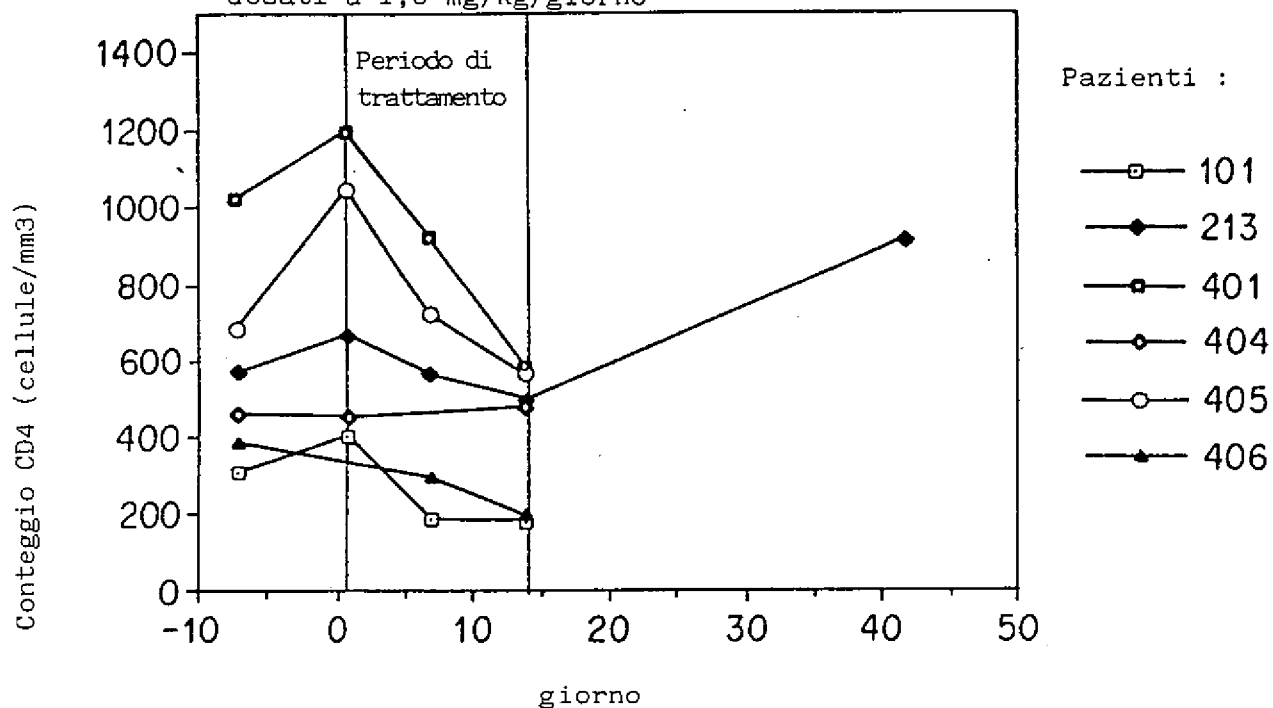


FIG. 11

Media conteggi di WBC per pazienti epatitici e non epatitici

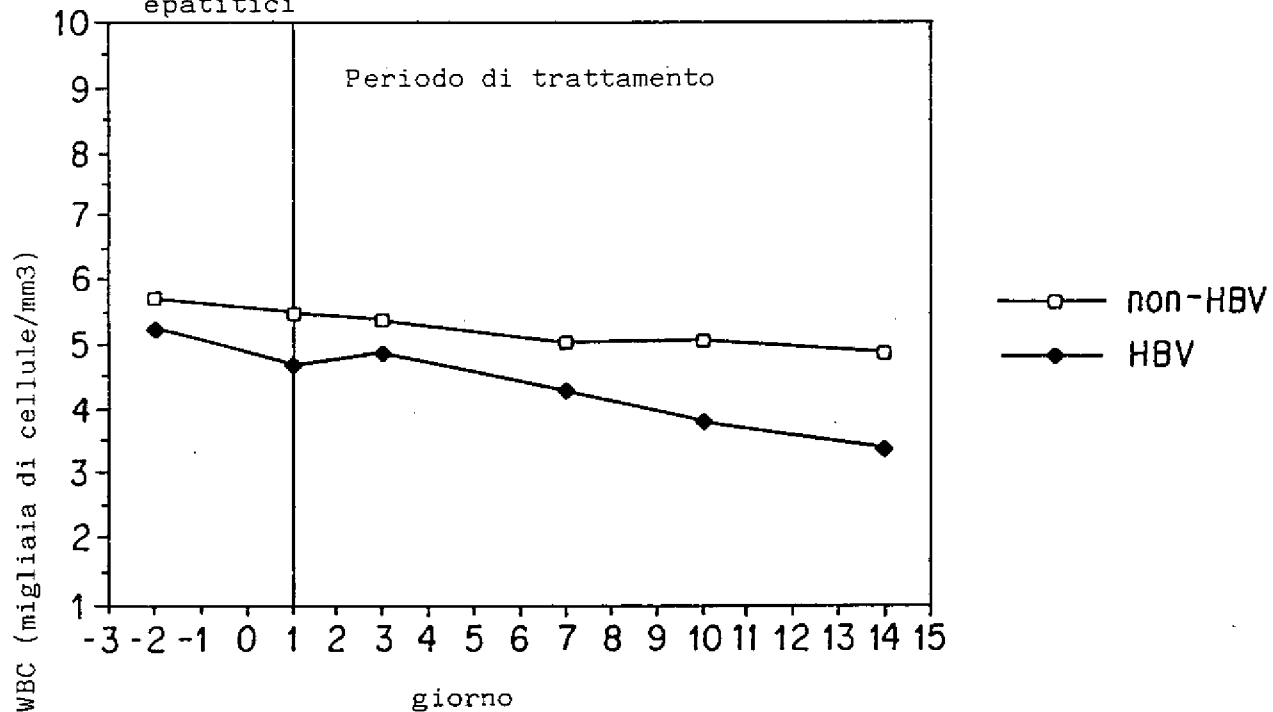


FIG. 12

7/16

Conteggi di neutrofili e linfociti in pazienti epatitici e non epatitici

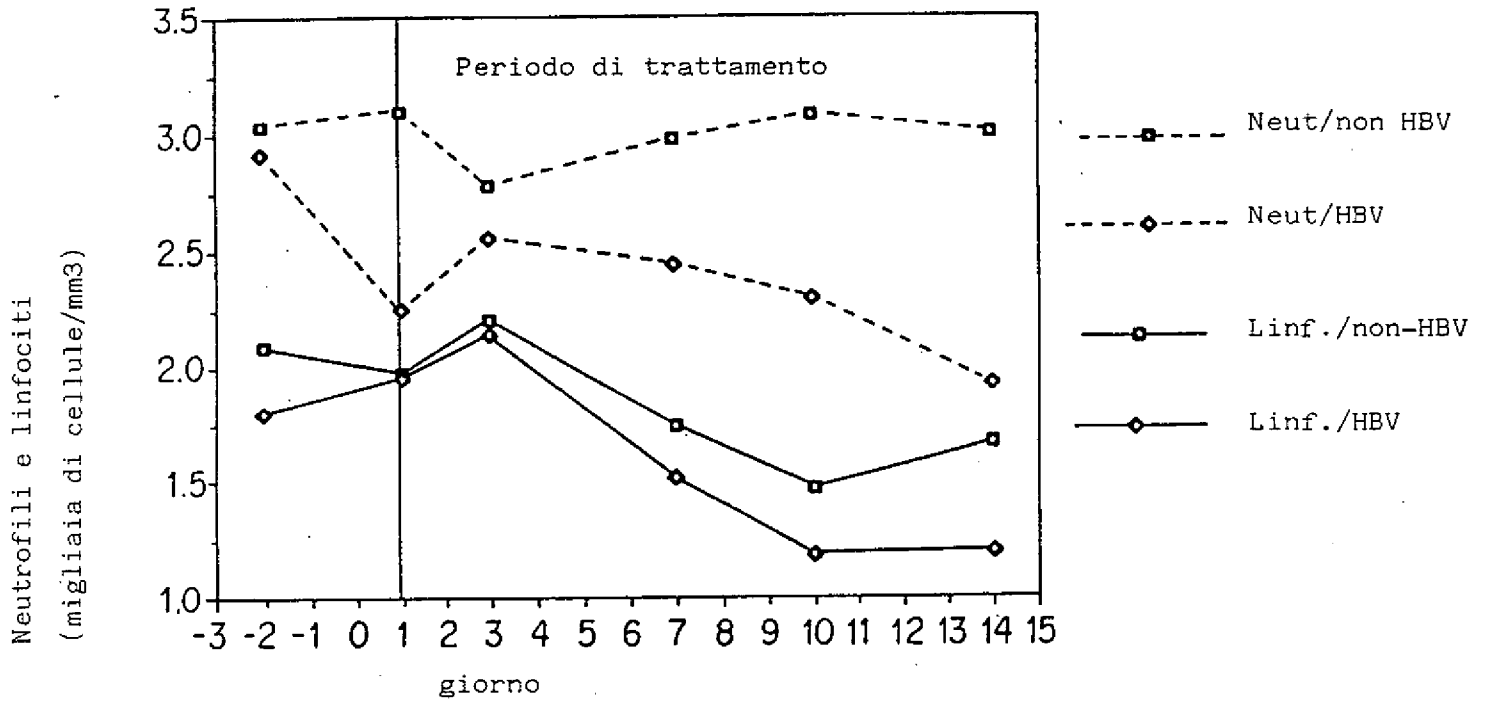


FIG. 13

Effetto di FIAU (1 mg/kg/giorno) su AST di pazienti epatitici

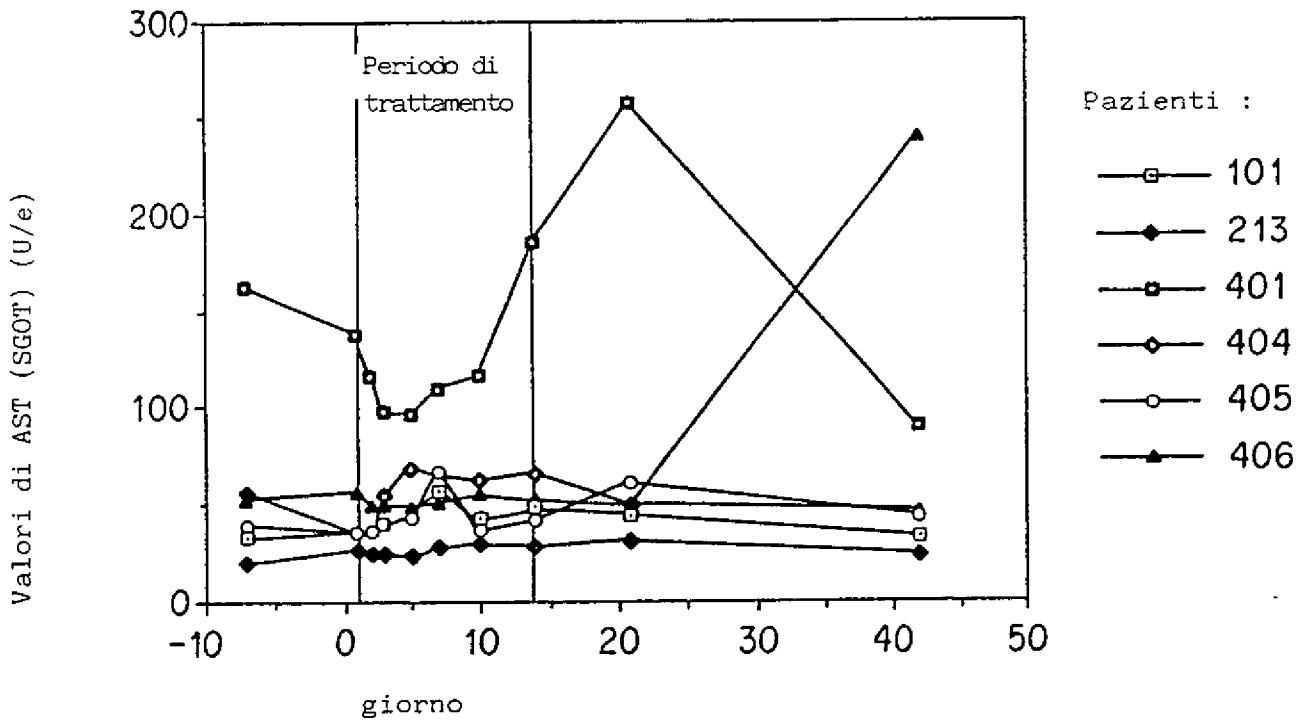


FIG. 14

8/16

Effetto di FIAU (1mg/kg/giorno) su ALT di
pazienti epatitici

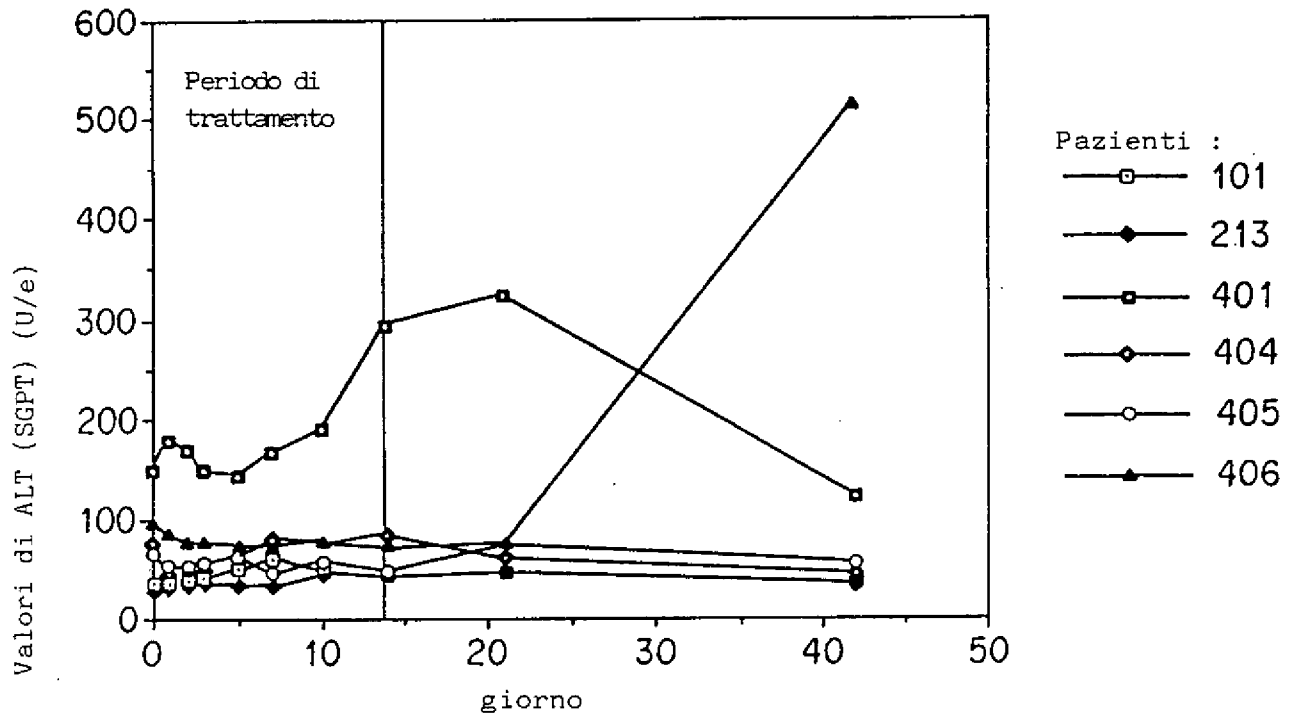


FIG. 15

Livelli dei FIAU nel plasma in pazienti non epatitici
dosati a 1,0 mg/kg/giorno

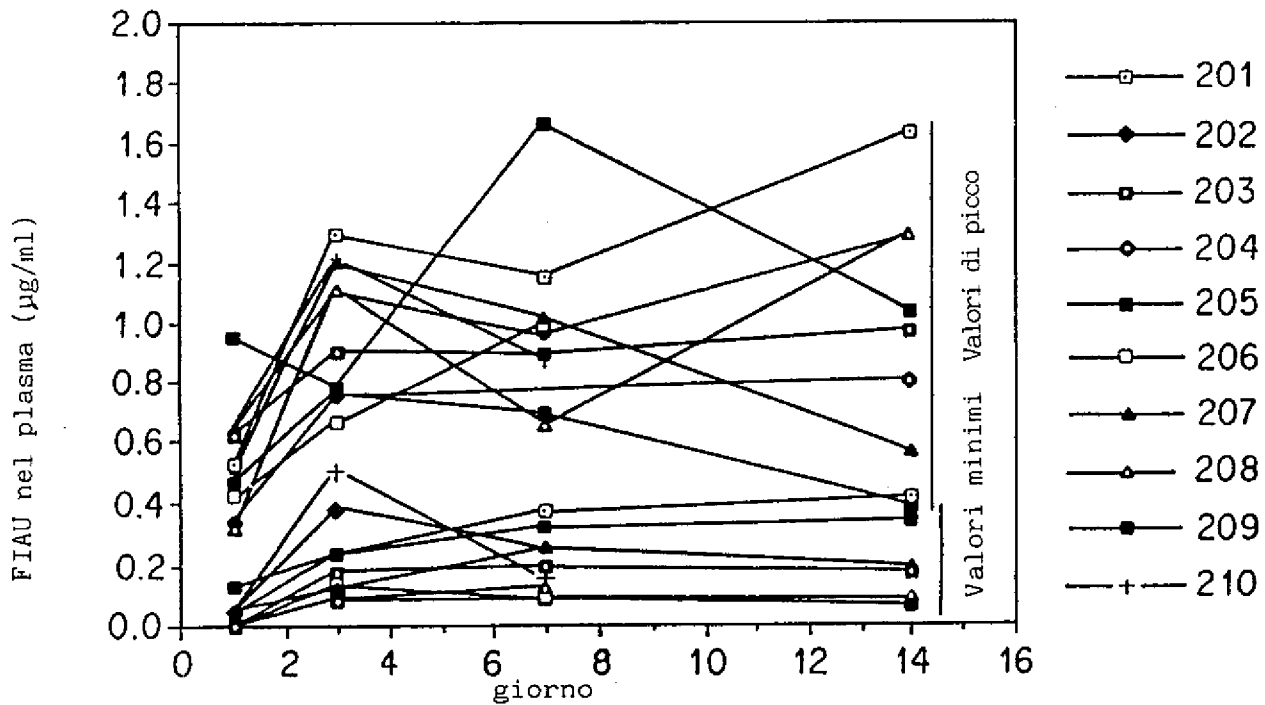


FIG. 16

9/16

Livelli di FIAU nel plasma in pazienti epatitici
dosati a 1,0 mg/kg/giorno

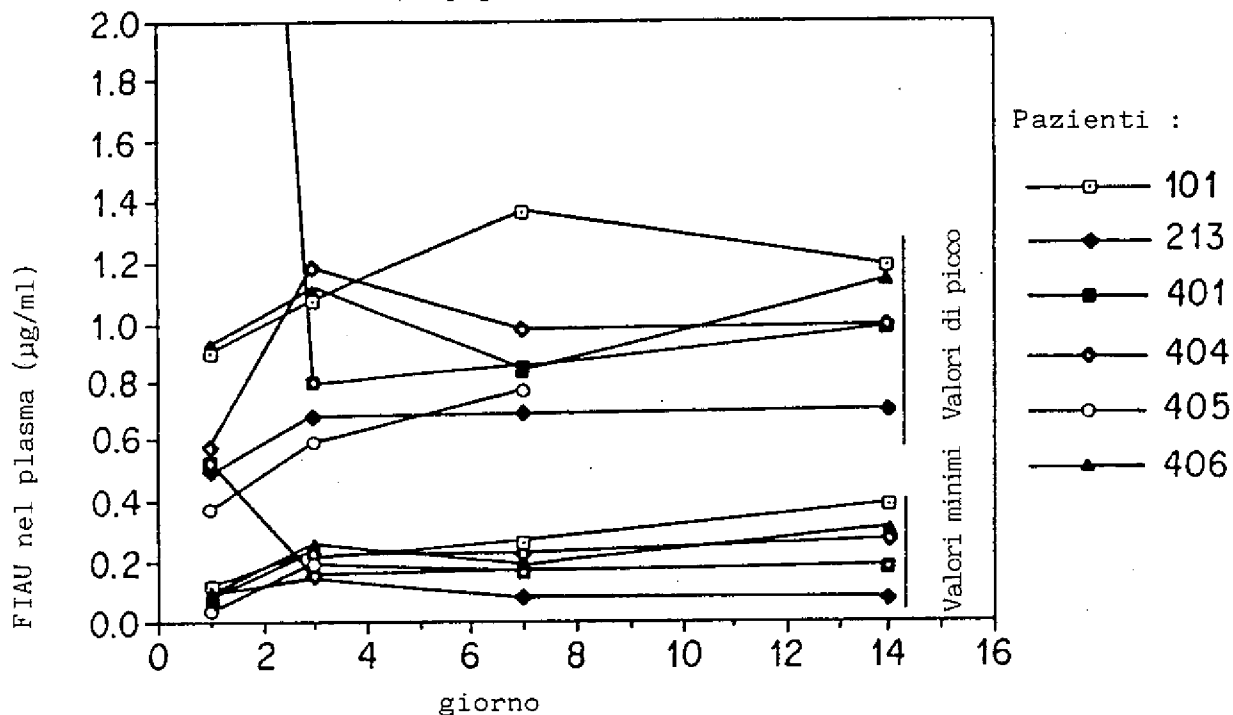


FIG. 17

Concentrazioni medie di FIAU nel plasma in
pazienti epatitici e non epatitici

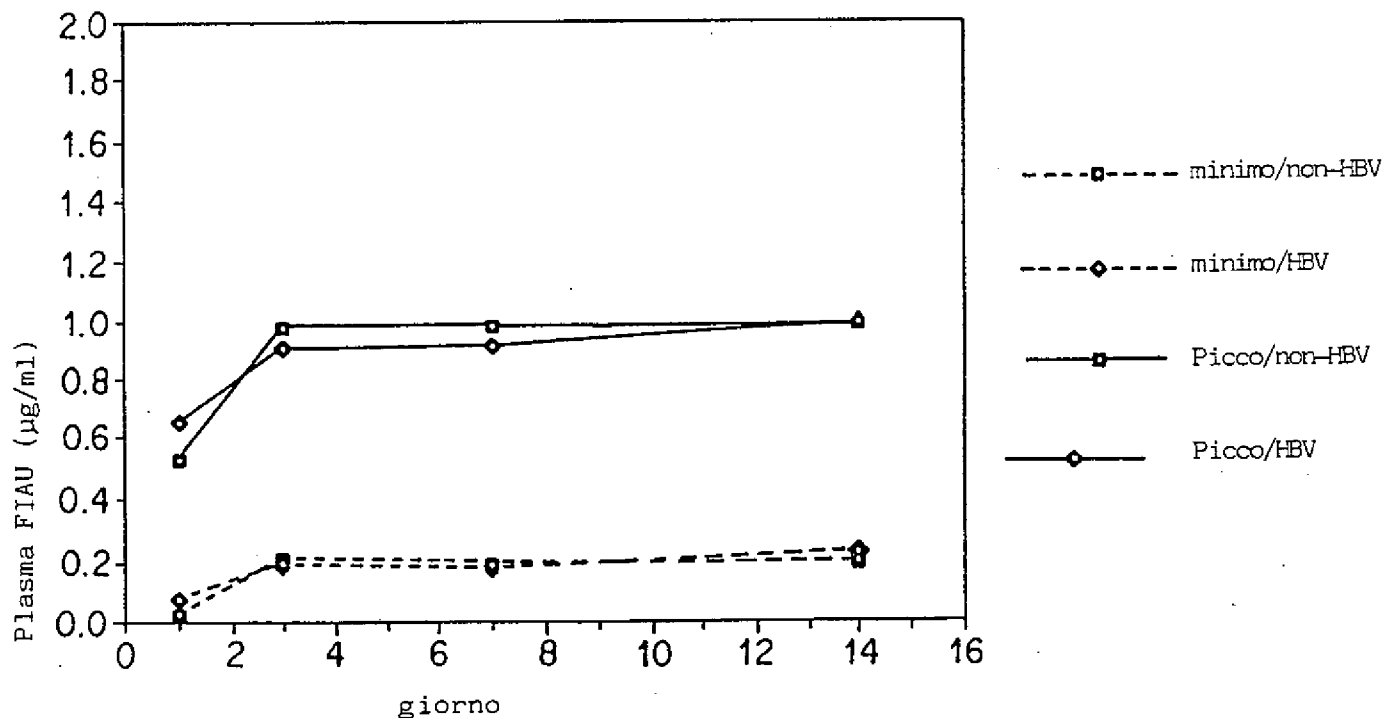


FIG. 18

10/16

Differenza nella risposta del DNA da HBV nel plasma con trattamento orale a seconda del livello di DNA da HBV di partenza

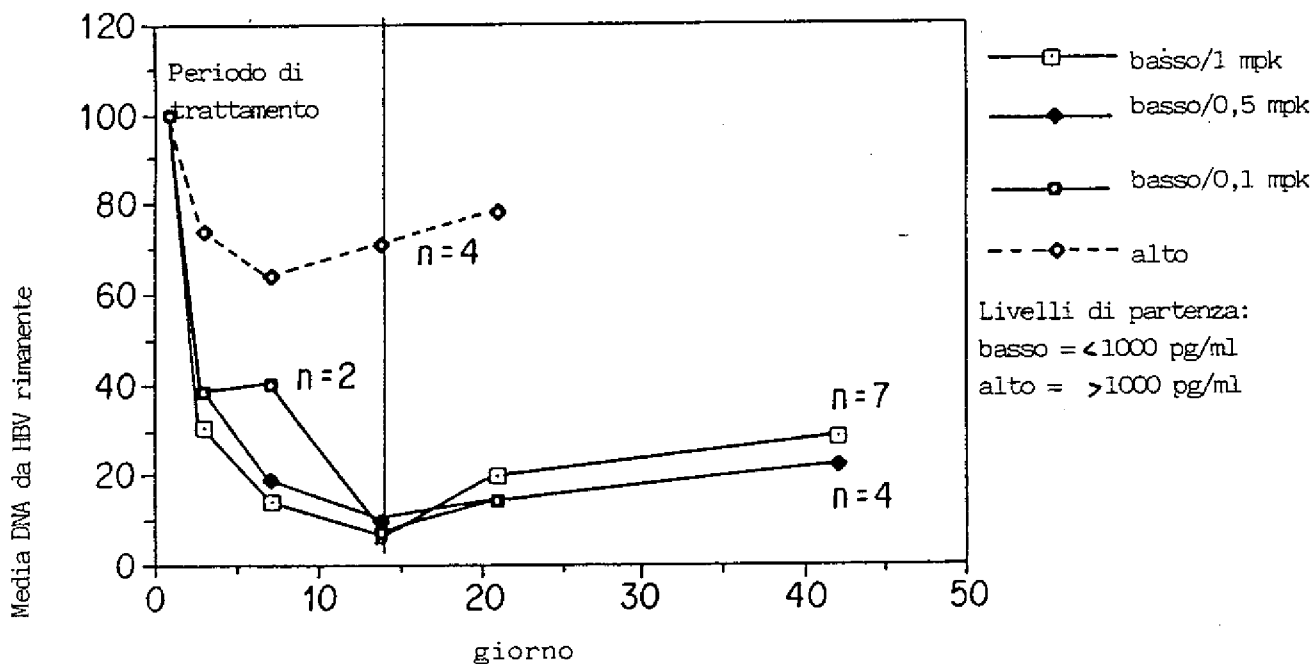


FIG. 19

Per incarico di : OCLASSEN PHARMACEUTICALS, INC.

Effetto di FIAU orale (0,1 e 0,25 mpk) sui livelli di DNA polimerasi da HBV nel plasma

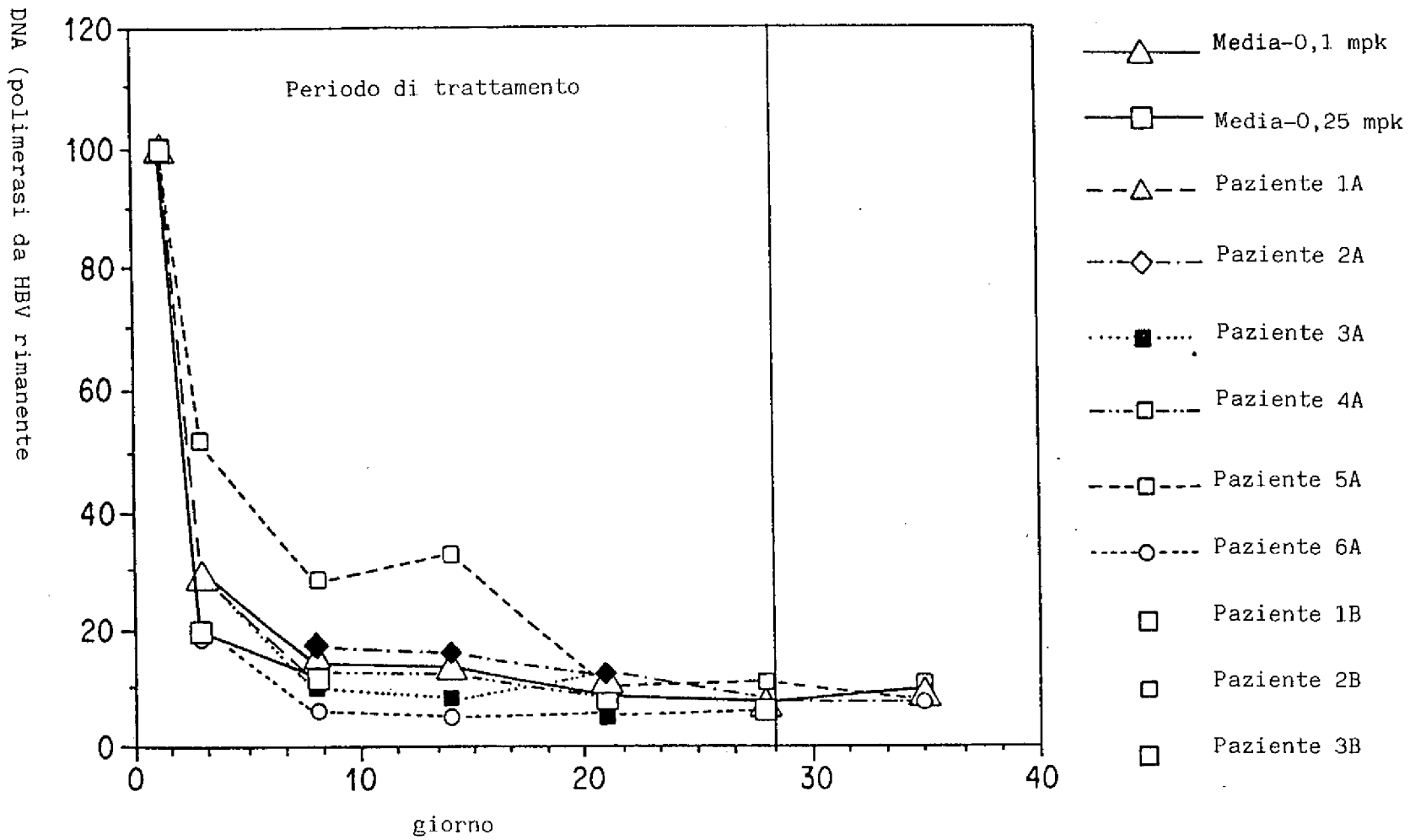
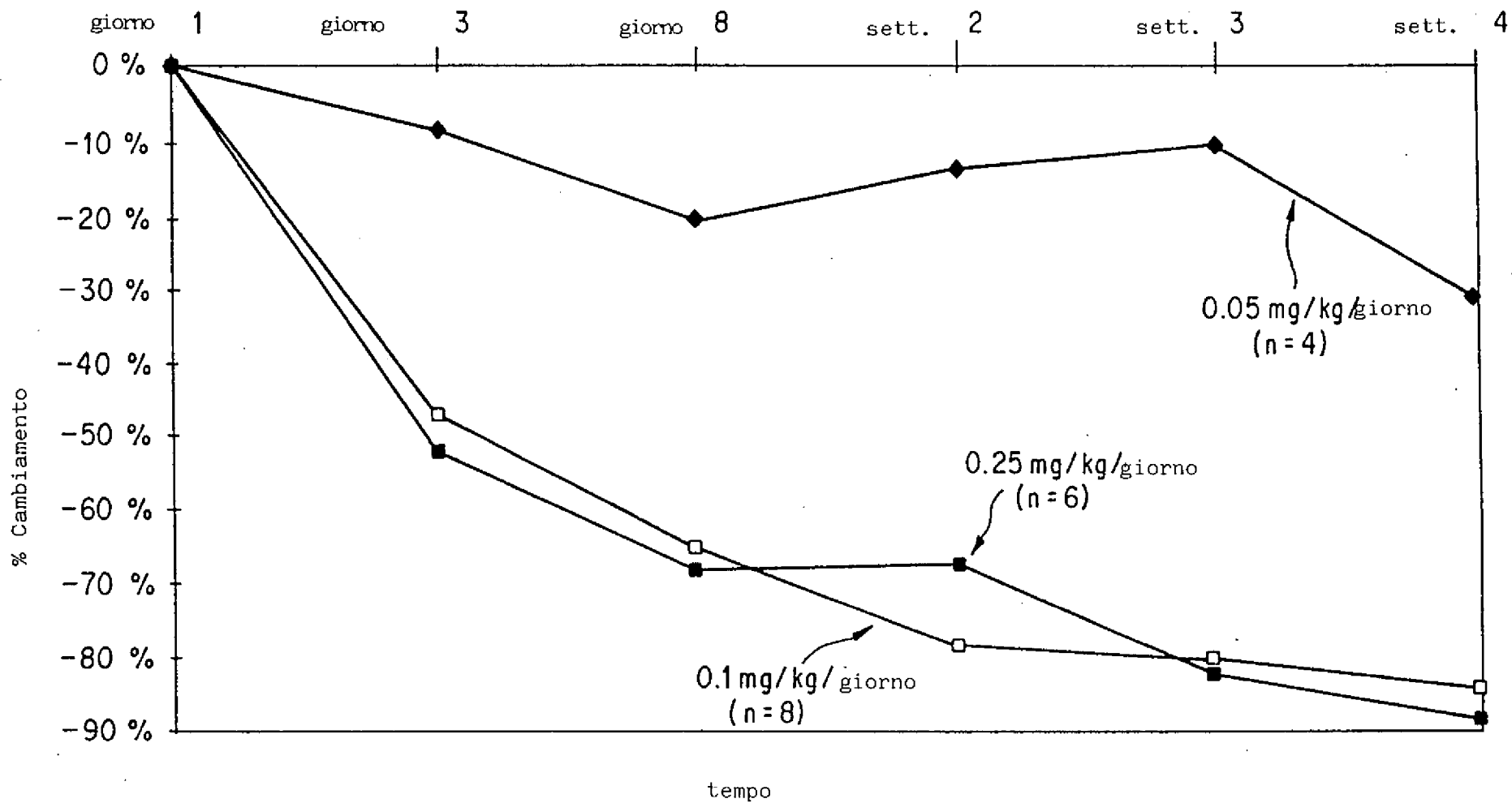


FIG. 20

Cambiamento percentuale medio di DNA da HBV per dose



12/16

FIG. 21

Cambiamento perentuale medio di ALT per dose

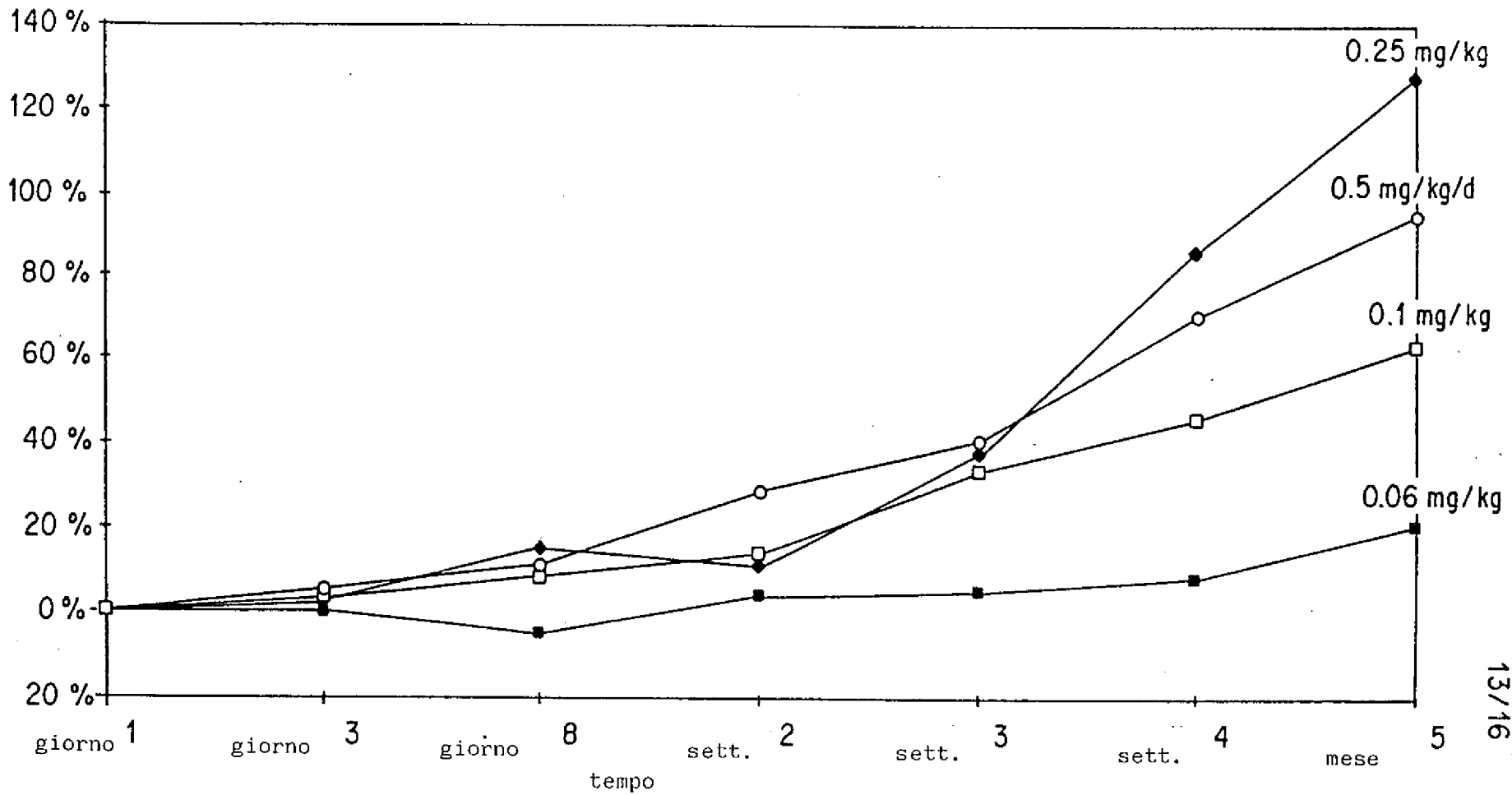
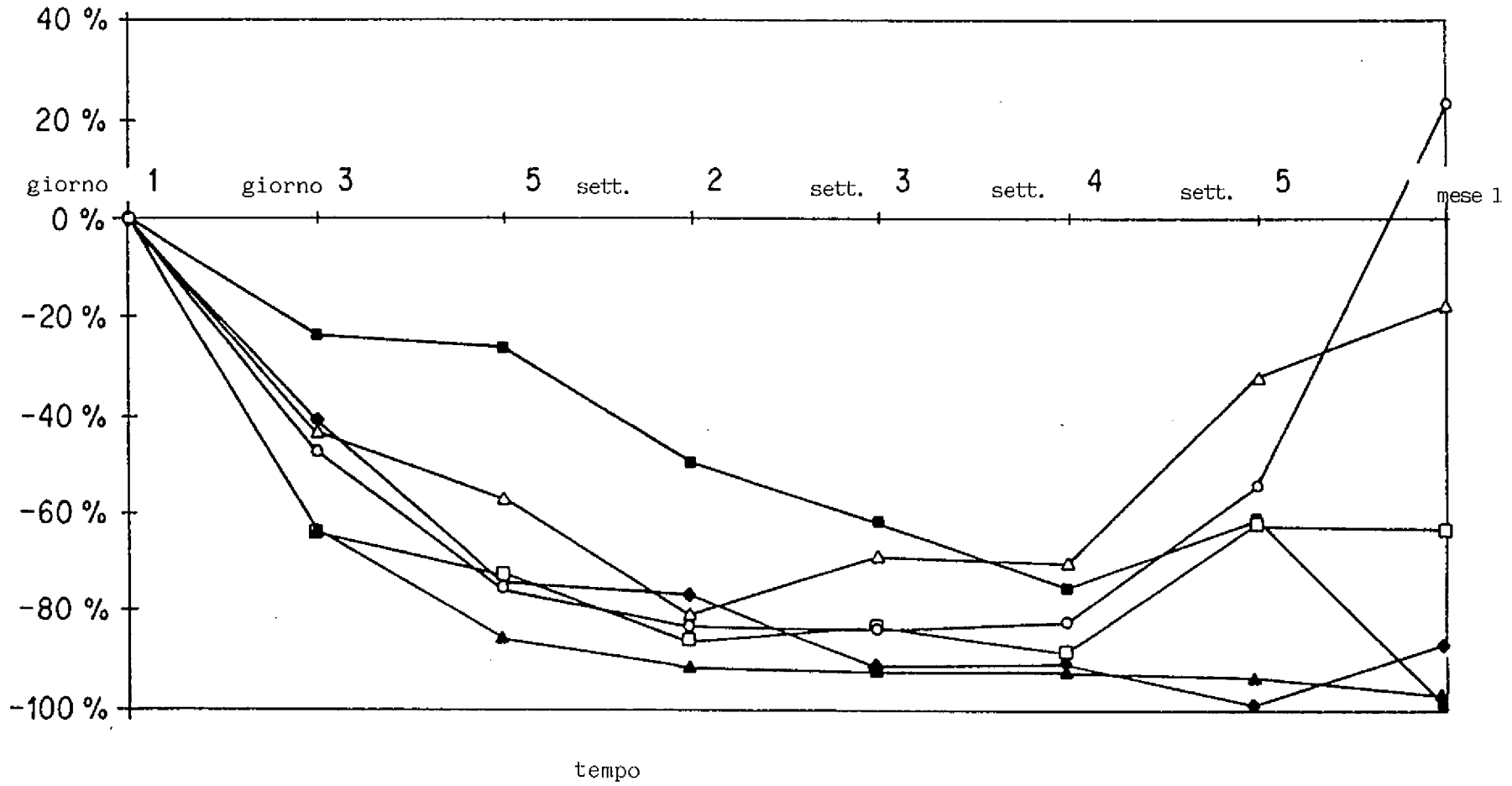


FIG. 22

Cambiamento percentuale di DNA da HBV 0,25 mg/kg/giorno



14/16

FIG. 23

Per incarico di : OCLASSEN PHARMACEUTICALS, INC. % cambiamento

Cambiamento percentuale di ALT 0,25 mg/kg/giorno

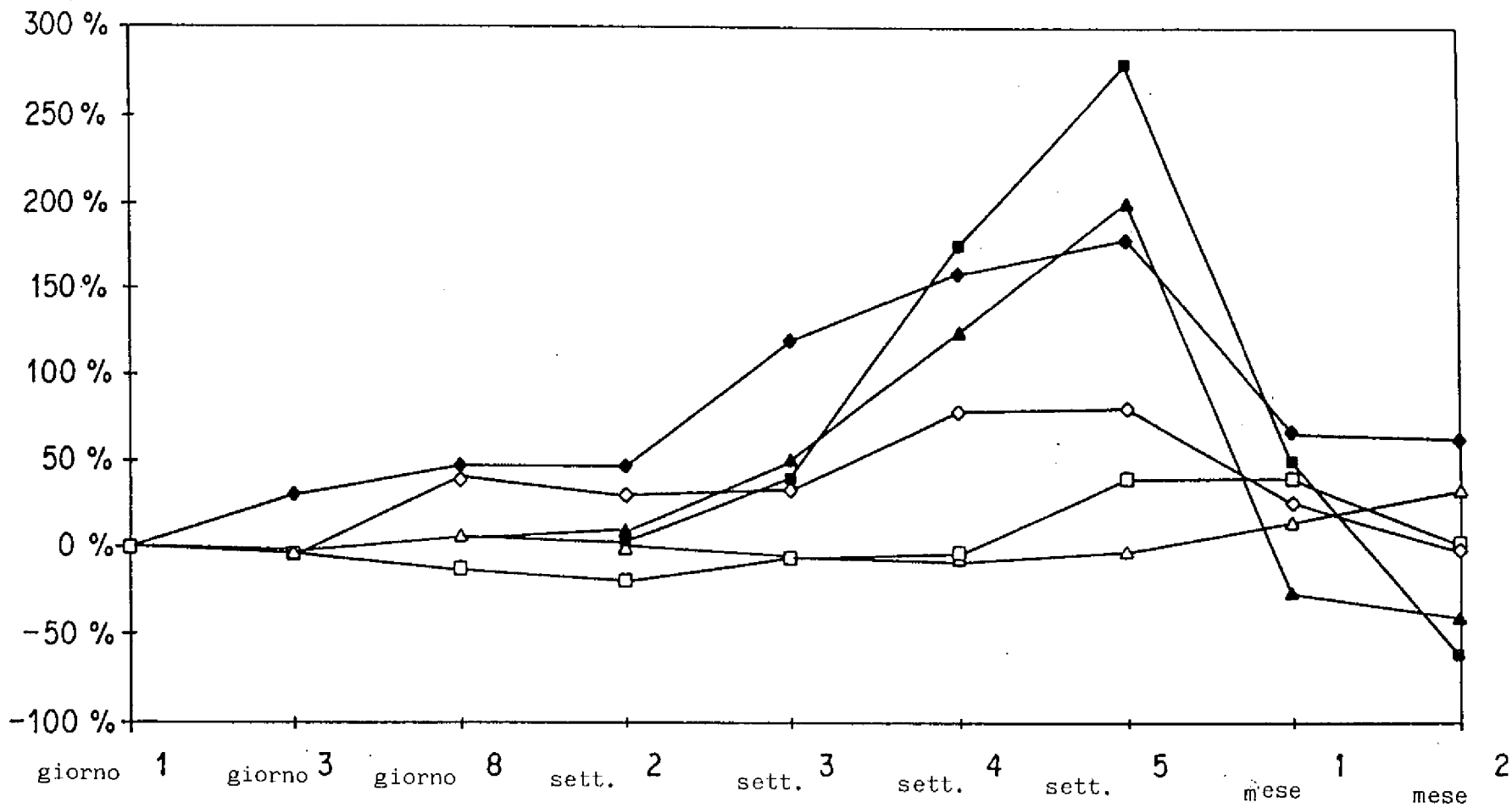


FIG. 24

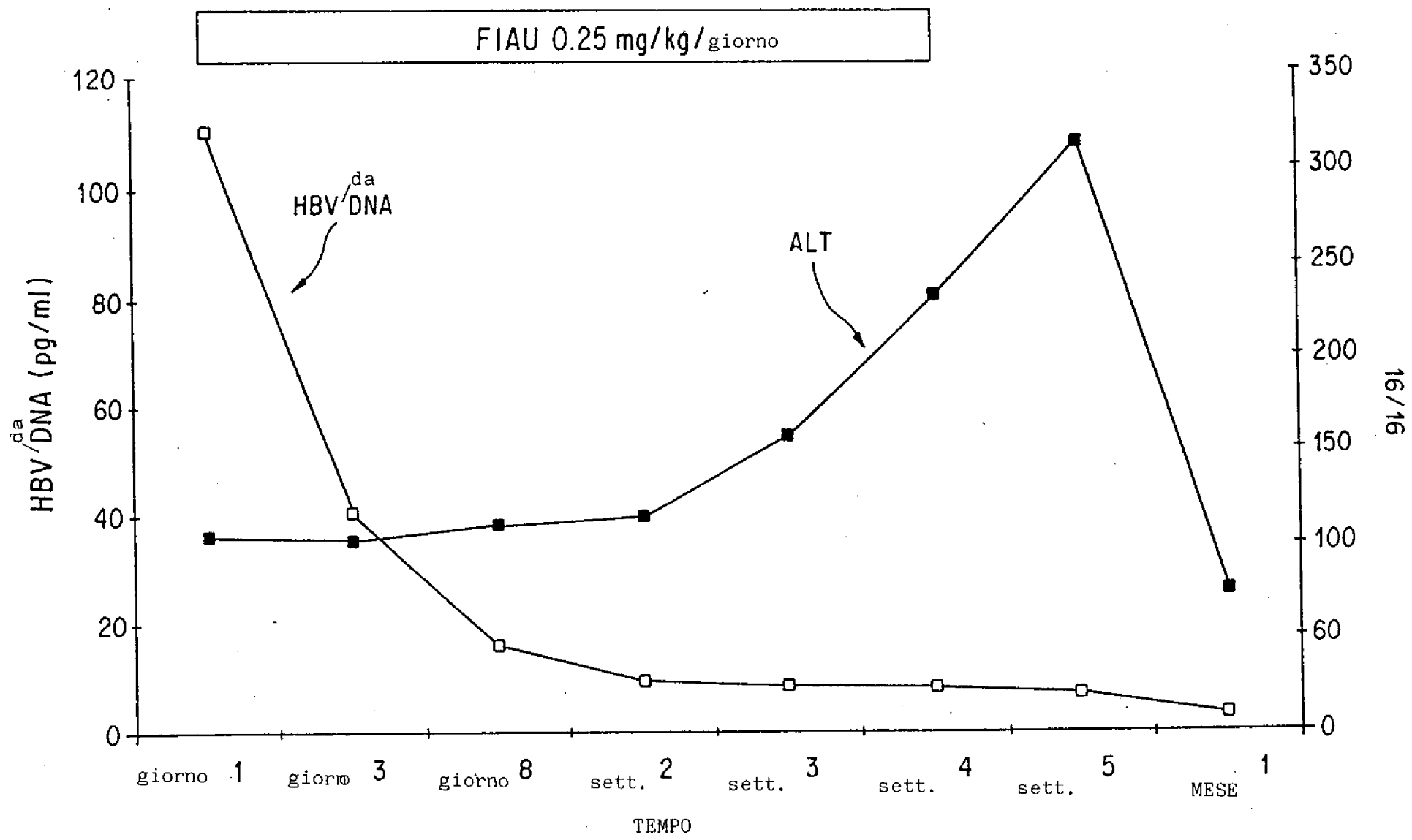


FIG. 25