

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 38/21

A61P 31/00

/(A61K38/21,31:
70,31: 355)

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00808831.4

[43]公开日 2002 年 6 月 26 日

[11]公开号 CN 1355708A

[22]申请日 2000.4.18 [21]申请号 00808831.4
[30]优先权
[32]1999.4.19 [33]US [31]09/294,687
[86]国际申请 PCT/US00/10240 2000.4.18
[87]国际公布 WO00/62799 英 2000.10.26
[85]进入国家阶段日期 2001.12.11
[71]申请人 先灵公司
地址 美国新泽西州
[72]发明人 C·A·布拉斯 P·W·格吕
E·皮肯

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 姜建成

权利要求书 2 页 说明书 26 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 包含利巴韦林与抗氧化剂的 HCV 联合治疗

[57]摘要

公开了通过给予所述患者治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林联合治疗,其治疗时间足以降低 HCV-RNA,同时联合给予治疗学上有效量的抗氧化剂,其治疗时间足以改善利巴韦林-相关的溶血,治疗易感病毒感染尤其是慢性丙型肝炎感染患者的方法。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 抗氧化剂对于制备用于改善利巴韦林治疗易感病毒性感染所伴随的利巴韦林-相关溶血的药物的用途。
- 5 2. 抗氧化剂对于制备用于改善 α -干扰素和利巴韦林联合治疗慢性 HCV 感染所伴随的利巴韦林-相关溶血的药物的用途。
 3. 权利要求 2 的用途, 其中所述 α -干扰素是 α -2a 干扰素、 α -2b 干扰素、聚乙二醇化 α -2a 干扰素、聚乙二醇化 α -2b 干扰素、共有序列干扰素或纯化的 α -干扰素产品。
- 10 4. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述抗氧化剂是维生素 A、维生素 E、维生素 C、辅酶-Q10、BHA、BHT、N-乙酰半胱氨酸、硒、panavir、水飞蓟、番茄红素或它们的混合物。
 5. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述抗氧化剂是水溶性维生素 E 衍生物。
- 15 6. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述抗氧化剂是 α -生育酚酯, 优选 a,d- α -生育酚酯。
 7. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述抗氧化剂是 α -生育酚聚乙二醇酯, 优选 α -生育酚聚乙二醇琥珀酸酯。
 8. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述治疗包含足以降低可
- 20 测得的病毒 RNA 的治疗学上有效量的利巴韦林。
 9. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述治疗包含足以降低可测得的 HCV-RNA 的包含 α -干扰素和利巴韦林的治疗有效量的联合治疗。
 10. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述治疗包括包含 3MIU
- 25 TIW 的 α -2b 干扰素和约 600 mg-约 1600 mg/日口服的利巴韦林的联合治疗, 所述联合治疗在第一个疗程至少给药约 24 周, 优选至少约 48 周。
 11. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述治疗包括包含约 0.5-

约 1.5 $\mu\text{g/kg/日}$ QW 的聚乙二醇化 α -2b 干扰素和大约 600 mg-约 1600 mg/日的利巴韦林的联合治疗, 所述联合治疗在第一个疗程至少给药约 24 周, 优选至少约 48 周。

12. 权利要求 9、10 或 11 的用途, 其中所述治疗还包含在第一疗程结束后的至少约 24 周的第二疗程中与所述抗氧化剂联合给予约 600 mg-约 1600 mg/日的利巴韦林。

13. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述治疗还包括诱导剂量的 α -2b 干扰素和利巴韦林或诱导治疗剂量的聚乙二醇化 α -2a 或 2b 干扰素和利巴韦林, 二者任选其一在所述第一疗程之前给予。

10 14. 前述权利要求任一项的用途, 其中所述治疗包括(a)在第一个 24 周的疗程中, 给予所述患者足以改善利巴韦林-相关溶血的治疗学上有效量的抗氧化剂, 同时按照以下方案给予约 800-1200 mg/日的利巴韦林和治疗学上有效量的 α -2b-干扰素联合治疗: 每日约 10 MIU 的 α -2b-干扰素持续 2 周, 然后每日 5 MIU 的 α -干扰素持续 6 周, 随后以每日 3 MIU 的 α -干扰素持续 16 周, 接着(c)在 24 周的第二疗程中, 每日给予约 800-约 1200 mg 的利巴韦林和 3 MIU TIW 的 α -干扰素, 并联合给予足以改善利巴韦林-相关溶血的治疗学上有效量的抗氧化剂。

说明书

包含利巴韦林与抗氧化剂的 HCV 联合治疗

5

发明背景

本发明涉及利用抗氧化剂制备改善利巴韦林-相关溶血的药剂，该溶血与用利巴韦林治疗易感病毒感染有关。

10

具有易感病毒感染特别是慢性丙型肝炎病毒感染的患者的治疗包括给予所述患者治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗，其疗程足以降低 HCV-RNA，同时给予治疗学上有效量的抗氧化剂，其疗程足以改善利巴韦林-相关溶血。

慢性丙型肝炎病毒感染是一种对生活质量有显著影响的特别隐蔽和缓慢进展的病毒性疾病。它最终能导致肝硬化、失代偿性肝病和/或肝细胞性肝癌。

15

20

25

Reichard 等(The Lancet 1998; 351; 83-87)公开了用 α -2b 干扰素和利巴韦林联合治疗慢性丙型肝炎患者。T. Poynard 等(The Lancet, 1998, 352 卷, 10 月 31, 第 1426-1432 页)公开了治疗慢性丙型肝炎患者(他们未用干扰素或利巴韦林治疗过)，每天用 3 MIU 的 α -2b 干扰素 TIW 加上 1000-1200 mg 的利巴韦林治疗 48 周，在治疗 24 周后有 43% 的患者产生了持久的病毒学反应。还参见 J. G. McHutchinson 等(N. Engl. J. Med., 1998, 339:1485-1492)、G. L. Davis 等(N. Engl. J. Med., 1998, 339:1493-1499) 公开了治疗慢性丙型肝炎患者(他们用干扰素治疗后复发)，每天用 3 MIU 的 α -2b 干扰素 TIW 加上 100-1200 mg 的利巴韦林治疗 48 周，产生了比单用干扰素治疗要高的持久的病毒学反应发生率。

然而，由于伴随的利巴韦林的副作用如利巴韦林-相关溶血(通过减低的血红蛋白浓度测得)，这一联合治疗法并不总是有效。McHutchinson 等和 Poynard 等均报导了大部分完成所述联合治疗的

患者在联合治疗的第 4 周达到他们的最低血红蛋白浓度, 在这一时间所述血红蛋白浓度或是稳定或是增加的。McHutchinson 等报导利巴韦林剂量减至 600 mg/日, 患者血红蛋白浓度在 10 g/dl 以下, 而患者血红蛋白浓度在 8.5 g/dl 以下时则停止用利巴韦林治疗。

- 5 必须提供一种改良的联合治疗法用于治疗易感病毒感染特别是慢性丙型肝炎患者, 以改善整个联合治疗期间尤其是首个 4 到 12 周内的利巴韦林-相关溶血, 从而在比以前可能的更多病人中产生持久的病毒学反应。

10

发明概述

本发明提供利用抗氧化剂制备改善利巴韦林-相关溶血的药物, 该溶血与用利巴韦林治疗易感病毒感染有关。

本发明提供利用抗氧化剂制备改善利巴韦林-相关溶血的药物, 该溶血与用 α -干扰素和利巴韦林的联合疗法治疗慢性 HCV 感染有关。

15

本发明提供治疗易感病毒感染, 特别是丙型肝炎病毒感染的方
法, 它包括给予所述患者治疗学上有效量的利巴韦林, 其疗程足以降低病毒-RNA, 同时联合给予治疗学上有效量的抗氧化剂, 其疗程足以改善利巴韦林-相关的溶血。

20

本发明提供治疗慢性 HCV 感染患者的方法, 它包括给予所述患者治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗, 其疗程足以降低 HCV-RNA, 同时联合给予治疗学上有效量的抗氧化剂, 其疗程足以改善利巴韦林-相关的溶血。

25

本发明提供治疗慢性 HCV 感染患者的方法, 它包括给予所述患者至少约 24 周的首个疗程的治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗, 其足以降低可测得的 HCV-RNA, 同时联合给予治疗学上有效量的抗氧化剂, 其足以改善利巴韦林-相关溶血。在优选的实施方案中, 将所述治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗

在约 24 周的首个疗程中给予 HCV 基因型 2 或 3 的患者, 或者在约 48 周的首个疗程中给予 HCV 基因型 1 的患者。

5 本发明还提供治疗慢性 HCV 感染患者的方法, 它包括(a)给予所述患者首个疗程的治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗, 其足以降低可测得的 HCV-RNA, 同时联合给予治疗学上有效量的抗氧化剂, 其足以改善利巴韦林-相关的溶血, 以及(b)在首个疗程结束后随之给予至少约 24 周的第二疗程的大约 600-1600 mg/日的利巴韦林和抗氧化剂。在另一优选的实施方案中, 在至少约 24 周(更优选至少约 48 周)的首个疗程中, 给予所述治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗。

10 优选的 α -干扰素是 α -2a-干扰素或 α -2b-干扰素; 更优选使用 α -2b-干扰素。

15 在优选的实施方案中, 本发明涉及治疗慢性丙型肝炎感染患者以消除可测得的 HCV-RNA 的方法, 该方法包括(a)在首个 24 周的疗程中, 给予所述患者治疗学上有效量抗氧化剂, 其足以改善利巴韦林-相关溶血, 同时按照以下方案联合给予约 800-1200 mg/日的利巴韦林和治疗学上有效量的 α -2b-干扰素: 每日约 10 MIU 的 α -2b-干扰素, 持续 2 周; 然后每日 5 MIU 的 α -干扰素, 持续 6 周; 随后以每日 3 MIU 的 α -干扰素, 持续 16 周; 然后(c)在 24 周的第二疗程中, 每日给予 800-1200 mg 的利巴韦林和 3 MIU TIW 的 α -干扰素, 并联合给予足以改善利巴韦林-相关溶血的治疗学上有效量的抗氧化剂。

20 优选的抗氧化剂是维生素 E 的衍生物, 包括但不限于 d- α -生育酚及其酯例如, 水溶性的 d- α -生育酚聚乙二醇酯如水可分散的维生素 E d- α -生育酚聚乙二醇 1000 琥珀酸酯(“维生素 E-TPGS”)以及维生素 E-TPGS 和至少一种具有在 40°C 时能完全熔化的熔点的甘油酯脂肪酸酯的组合物的应用(二者均公开于美国专利 5,234,695 并可自 Eastman Kodak Co., Rochester, NY 购买)。

发明详述

本发明提供治疗易感病毒感染特别是丙型肝炎病毒感染的方法和药用组合物。

本文使用的术语“易感病毒感染”意指由广范围的 RNA 和 DNA 病毒引起的病毒感染，包括但不限于病毒家族，如包括黄病毒 (flaviruses) 的黄病毒 (flavivirus) 属、库宁病毒是其成员的鼠疫病毒 (pestivirus)、和丙型肝炎病毒是其成员的肝炎病毒 (hepavirus)、以及西尼罗病毒 (West Nile virus) 是其成员的虫媒病毒、正粘病毒、副粘病毒、沙粒病毒、本扬病毒、疱疹病毒、腺病毒、痘病毒和逆转录病毒。

典型合适的“易感病毒感染”包括流感 A 和 B 病毒感染、副流感病毒感染、呼吸道合胞体病毒 (“RSV”) 感染如 RSV 细支气管炎和 RSV 肺炎，特别是婴幼儿的 RSV 感染以及先前存在心肺疾病的患者的 RSV 肺炎、麻疹病毒感染、拉沙热病毒感染、朝鲜出血热感染、乙型肝炎病毒 (HBV) 感染、克里米亚-刚果出血热和 HCV 感染以及 HIV-1 感染、脑炎感染如由西尼罗病毒或库宁病毒引起的感染或圣路易脑炎感染以及在免疫应答削弱的患者中发现的病毒感染。其它的易感病毒感染公开于 USP 4,211,771 第 2 栏第 21 行到第 3 栏第 37 行；剂量和给药方案以及制剂公开于第 3 栏第 4 行到第 9 栏第 5 行；也可参见加拿大专利第 1,261,265 号。Sidwell, R.W. 等公开了用利巴韦林进行的体内抗病毒实验 (Pharmacol. Ther., 1979, 第 6 卷第 123-146 页)，该实验总体上证实了在体外所见的利巴韦林的广谱抗病毒的活性以及其有效性完全依赖于感染的部位、治疗方式、动物的年龄和所用病毒的量。第 127 页的表 4 和表 5 列出了体内应用利巴韦林显著抑制了 RNA 和 DNA 病毒的感染。

在一优选的实施方案中，本发明提供了一种治疗丙型肝炎感染患者的改良方法，该方法使所述患者连续使用如由 FDA 批准的治疗学上有效量的 α -2b 干扰素和利巴韦林的联合治疗以及在临床进展下

的其它 α -干扰素和利巴韦林的治疗，如聚乙二醇化 α -2a 或 2b 干扰素和利巴韦林或如下文所述。在一试行研究中，12 例首次接受治疗的慢性丙型肝炎患者接受抗氧化剂维生素 C(1000 mg/日)和维生素 E(800 IU/日)的非处方药制剂并结合 FDA 批准的联合治疗(1000/1200 mg 的利巴韦林，每日以两个分开的剂量(如果体重 $<75\text{Kg}$ 则用 1000 mg)和 α -2b 干扰素、3MIU SC TIW)，能够连续进行 4 个月的研究而不减少所述利巴韦林的剂量。对一组 14 例的相匹配的慢性丙型肝炎复发患者的对照组，每日以两个分开的剂量接受 1000 mg 的利巴韦林和 α -2b 干扰素、3MIU SC TIW。在治疗前和在第 2、4、8 和 12 周末测定血红蛋白水平(“Hgb”)。首次治疗的和复发患者分别测得每分升 14.5 ± 1.7 和 15.2 ± 1.2 克(“g/dl”)的 Hgb 基线值。首次治疗的患者在第 2、4、8 和 12 周末分别测得 0.9、1.7、2.3 和 2.7 g/dl 的血红蛋白下降。在复发患者(对照)中测得 2.0、3.0、3.0 和 3.1 g/dl 的血红蛋白下降。在相同的试行研究中，与病史对照和所述复发患者相比，依照本发明抗氧化剂结合联合治疗的使用在所述联合治疗的首个 12 周内显著降低了利巴韦林有关的溶血性贫血的严重度。值得注意的是没有接受抗氧化剂的患者须要减少所述利巴韦林的剂量。而三例所述对照患者需要利巴韦林剂量的减少。

依照优选实施方案治疗的患者在所述 48 周治疗期结束时没有可测得的 HCV-RNA，而且在所述 48 周治疗期结束后至少 24 周没有可测得的 HCV-RNA。

治疗慢性丙型肝炎感染患者的本方法允许给予足以基本降低可测得的 HCV-RNA 血清水平的治疗学上有效量的利巴韦林和 α -干扰素的组合，优选比初始 HCV-RNA 血清水平至少降低 10 的 2 次方，即至少降低 10^2 ，并且更优选消除可测得的 HCV-RNA 血清水平，即将它们降低至少于 100 复制体/mL，而同时改善利巴韦林-相关溶血。

本文使用的术语“抗氧化剂”意指延迟或抑制由给予利巴韦林而促发的或与之有关的溶血的物质。

本文使用的术语“治疗学上有效量的抗氧化剂”意指抗氧化剂的量在大约 1 至大约 250 倍、优选大约 1 至大约 200 倍、更优选 10 至大约 100 倍、最优选 10 至大约 50 倍范围内的用于本发明方法中的抗氧化剂的推荐日膳食许可量(“RDA”)(即如果没有报告抗氧化剂的 RDA, 则是推荐的日用量)。用于本发明方法中的抗氧化剂将正常地给予, 只要所述利巴韦林作为联合治疗的部分给予, 诱导剂量和利巴韦林单一治疗给予患有易感病毒感染尤其是丙型肝炎感染的患者。

本文使用的术语“相关”与应用利巴韦林单一治疗或 α -干扰素和利巴韦林以及抗氧化剂的联合治疗有关, 意指所述抗氧化剂在所述联合治疗应用前、同时或应用后给予。所述抗氧化剂可以口服、胃肠外(如 IM、IP、SC 或 IV)或局部(如通过栓剂)给予。优选口服或胃肠外(如皮下)给予。更优选口服给予。通常, 所述抗氧化剂是以单个或分开的剂量与利巴韦林同时给予, 该利巴韦林可以单个剂量或分开的剂量每日二次给予。

通常, 合适的抗氧化剂包括维生素 A、维生素 E、维生素 C、

水非蓟素(silybum marianum)、辅酶 Q10、BHA、BHT、N-乙酰半胱氨酸、硒、panavir、番茄红素或它们的混合物。

维生素 A 描述于 Merck 索引第 11 版 # 9918(和 4919)第 1576-77 页。所述 RDA 是在大约 250 国际单位(“IU”)/日至大约 2500 IU/日的范围内; 对于新生儿和婴儿则优选大约 2500 IU/日。

本文使用的术语“维生素 E”包括所有形式的生育酚, 包括但不限于四种类型生育酚(α -、 β -、 γ -和 δ -生育酚)的天然存在的和合成的同系物以及四种类型的 tocotrienols, 包括它们的酯, 如 α -醋酸生育酚或 α -琥珀酸生育酚以及右旋(“d”)、左旋(“l”)光学异构体或 d 和 l 异构体的混合物。所述 d 光学异构体比 l 异构体活性大并优选应用维生素 E 的光学异构体。本发明中使用的维生素 E 有效量在 1 到 250 倍的范围内, 优选推荐每日饮食需要量(“RDDA”)的每天 3 到 10 个 α

生育酚相当量的 1 到 100 倍; 即每天 3-10 mg d- α 生育酚. 1 mg 的 d- α 生育酚的活性等于 1 个相当量的 α 生育酚. 由于 1 mg 的 d- α 生育酚相当于 1.49 个国际单位(IU)的维生素 E, 因此大约 4.5 到 15 个国际单位的维生素 E 即为所述 RDDA. 已测定了下述维生素 E 衍生物的活性: 1 个国际单位的维生素 E 相当于 1 mg 的 dl- α 醋酸生育酚, 1 mg 的 d- α 醋酸生育酚具有 1.36 个国际单位的维生素 E 的效能, 1 mg 的 d- α 生育酚具有 1.49 个国际单位的维生素 E 的效能, 而 1 mg 的 d- α 琥珀酸生育酚具有 1.21 个国际单位的维生素 E 的效能; 参见 Goodman 和 Gilman's 治疗学的药理学基础(The Pharmacological Basis of Therapeutics), 第九版, 1996 年, McGraw-Hill, 第 1549 和 1585-1590 页.

合适的维生素 E 衍生物包括 d- α 生育酚(按照推荐每日需要量可自 Roche, Nutley, N. J. 购得, 成人每天 10-30 mg, 等于每天 200 个国际单位的维生素 E)、维生素 E 的酯类如维生素 E 醋酸酯和维生素 E 琥珀酸酯(α -醋酸生育酚和 α -琥珀酸生育酚)以及水溶性维生素 E 的衍生物. 优选应用水溶性维生素 E 的衍生物.

水溶性维生素 E 的衍生物包括药学上可接受的维生素 E 的盐类如维生素 E 磷酸盐、以及水溶性生育酚聚乙二醇酯例如在美国专利 2,680,749 号、3,914,430 号和 5,234,695 号中公开的那些; 优选水溶性生育酚聚乙二醇酯.

更优选使用 d- α 生育酚聚乙二醇酯例如在水中可分散的维生素 E d- α 生育酚聚乙二醇酯 1000 琥珀酸酯(“维生素 E-TPGS”)以及使用维生素 E-TPGS 与至少一种具有 40 $^{\circ}$ C 的完全熔点的甘油的脂肪酸酯的组合物的应用(二者均公开于美国专利 5,234,695 中并可自 Eastman Kodak Co., Rochester, NY 购得).

维生素 E 衍生物, 例如水溶性维生素 E 衍生物如维生素 E-TPGS 的有效量是在大约 200 IU 至 20000 IU 维生素 E/日, 优选大约 1000 IU 至大约 5000 IU 维生素 E/日, 更优选大约 1200 IU 至大约 2200 IU 维

生素 E/日的范围内,以单个或分开的剂量给予。Dimitrov,NV,等在 Am J Clin Nutr(USA)1996 年 9 月第 64 卷 3 期 329-335 页中报导了将 400 IU(269 mg)、800 IU(537 mg)和 1200 IU(807 mg)的维生素 E-TPGS 以单个口服剂量给予健康志愿者导致血浆 α 生育酚浓度轻度升高。

- 5 Sokool,RJ,等在 Gastroenterology(USA)1993 年 6 月第 104 卷 6 期 1727-1735 页中报导了 20-25 IU/Kg/日剂量的维生素 E-TPGS 似乎是安全的并且对治疗慢性儿童胆汁郁积有效。儿科维生素 E-TPGS 的 RDA 是在 15-25 IU/Kg/日的范围内。

- 10 维生素 C(L-抗坏血酸和 D-抗坏血酸)作为非处方药物易于获得。还参见 Merck 索引第 11 版 # 855 第 130-131 页。维生素 C 的 RDA 是在大约 100 至大约 200 mg/日的范围内,但是已有报导使用高达 25 g/日或甚至 40 g/日的剂量。

- 15 水飞蓟素(silymarin),乳蓟中的活性成分,可从德国 Magdaus AG 以 LEGALON 商品名获得。水飞蓟的 RDA 是 140 mg/日,胶囊口服。辅酶-Q10 是由人体生产的一种维生素样物质,也在器官食物(organ meats)中发现。辅酶-Q10 的 RDA 是大约 300 至 400 mg/日。

- BHA(叔丁对甲氧酚)(Merck 索引第 11 版 1547 号)和 BHT(丁化羟基甲苯)(Merck 索引第 11 版 1548 号 238 页)可从 Milwaukee (WI 53233)的 Aldrich 化学有限公司获得。

- 20 乙酰半胱氨酸(N-乙酰基-L-半胱氨酸,“NAC”)在体内发现。也参见 Merck 索引第 11 版 82 号 14 页。NAC 的 RDA 是在大约 300 mg/日至 600 mg/日的范围内。

硒可从 Milwaukee (WI 53233)的 Aldrich 化学有限公司获得。硒的 RDA 是 200 至 600 微克/日。

- 25 Panavia (4,4'-亚异丙基二硫酚双-2,6-二-叔丁基酚)可自 VyrexCorporation, LaJolla, CA 92037 (USA)购得。对于 HIV 患者, Panavia 的 RDA 是 200 mg 到 800 mg/日,口服;在 I/II 期临床试验中较高剂量可稳定或轻微稳定 CD4 的水平。参见 PharmaProjects, J5A

部分。

番茄红素发现于番茄中；参见 NY TIMES, 1999 年 4 月 13 日，科学时代部分第 F12 页。番茄红素的 RDA 在 5 到 15 mg/日的范围内。

5 优选的抗氧化剂是水溶性 d- α 生育酚聚乙二醇酯，如在水中可分散的维生素 E d- α 生育酚聚乙二醇 1000 琥珀酸酯(“维生素 E-TPGS”)以及维生素 E-TPGS 与至少一种具有 40℃ 的完全熔点的甘油脂肪酸酯的组合物的应用(二者均公开于美国专利 5,234,695 中并可自 Eastman Kodak Co., Rochester, NY 购得)。

10 适合于口服、非胃肠道和局部给药并用于本发明中的抗氧化剂的药用组合物可包含赋形剂，以及在抗氧化剂的非处方药制剂中发现的其它成分。也可应用公开于美国专利 5,234,695 中的维生素 E-TPGS 与至少一种具有 40℃ 的完全熔点的甘油脂肪酸酯的组合物。也可参见公开于 J Pharm Pharmacol (GB) (1995 年 2 月，第 47 卷第 2 期，第 138-142 页)中的 Trolox 和 Trolox C 的组合物。

15 利巴韦林的体外抑制浓度公开于 Goodman 和 Gilman 的“治疗学的药理学基础”第 9 版(1996)，McGraw Hill, NY，第 1214-1215 页。所述利巴韦林产品信息公开了在 1999 年医师参考手册(Physicians Desk Reference) 1382-1384 页中给出的使用 18 小时的 20 mg/mL 剂量的利巴韦林气雾剂。

20 Sidwell, R.W. 等在 Pharmacol. Ther 1979 年第 6 卷 123-146 页的 2.2 节 126-130 页中还公开了利巴韦林剂量和剂量方案。Fernandes, H. 等在 Eur. J. Epidemiol. 1986 年第 2 卷 1 期 1-14 页的 4-9 页中公开了用于口服、胃肠外的剂量和剂量方案以及在各种临床前和临床研究中利巴韦林的气雾剂给药。

25 本文使用的“丙型肝炎感染患者”意指任何丙型肝炎患者(包括小儿患者)以及包括首次治疗的丙型肝炎感染患者和曾经治疗过的丙型肝炎感染患者以及这样的小儿患者、首次治疗的和曾经治疗过的慢性丙型肝炎感染患者。

这些慢性丙型肝炎患者包括包含 1 型的多个 HCV 基因型感染的患者以及特别是 HCV 基因型 2 和/或 3 感染的患者。

本文使用的术语“儿科患者”意指 17 岁以下的患者，并且通常包括从出生到 16 岁的那些患者。

5 本文使用的术语“首次治疗的丙型肝炎感染患者”意指从来没有用利巴韦林或任何干扰素(包括但不限于 α -干扰素)或聚乙二醇化 α -干扰素治疗过的丙型肝炎患者。

10 本文使用的术语“曾经治疗过的丙型肝炎感染患者”意指已经用利巴韦林或任何干扰素(包括但不限于 α -干扰素)或聚乙二醇化 α -干扰素治疗过的丙型肝炎患者，包括复发者和无应答者。

本文使用的术语“慢性丙型肝炎感染患者”意指任何慢性丙型肝炎患者，并且包括“首次治疗的和曾经治疗过的慢性丙型肝炎感染患者”，包括但不限于复发者和无应答者。

15 本文使用的术语“复发者”意指曾经治疗过的丙型肝炎患者，他们在以前单独用干扰素或与利巴韦林联合治疗的初期反应以后又复发。

本文使用的术语“无应答者”意指曾经治疗过的丙型肝炎患者，他们对以前任何单独用干扰素或与利巴韦林联合的治疗无应答。

20 本文使用的术语“ α -干扰素”意指抑制病毒复制和细胞增殖以及调控免疫反应的高度类似的种特异性蛋白质家族。典型合适的 α -干扰素包括但不限于重组 α -2b 干扰素(如可从 Schering 公司, Kenilworth, N.J. 获得的 Intron-A 干扰素)、重组 α -2a 干扰素(如可从 Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J. 获得的 Roferon 干扰素)、重组 α -2c 干扰素(如可从 Boehringer Ingelheim 制药有限公司, Ridgefield, CT. 获得的 Berofor
25 α 2 干扰素)、 α -n1 干扰素(一种纯化的天然 α -干扰素的混合物，如可从日本的 Sumitomo 获得的 Sumiferon 或是从英国伦敦的 Glaxo-Wellcome 公司获得的 Wellferon α -n1 干扰素(INS))、或共有序列 α -干扰素(如在美国专利号 4,897,471 和 4,695,623 (特别是其 7、8 或 9 实

施例)中描述的那些干扰素以及可从 Amgen 公司, Newbury Park, CA 获得的特定产品)、或 α -n3 干扰素(一种由 Interferon Sciences 制造的天然 α -干扰素的混合物, 并且可从 Purdue Frederick 公司, Norwalk, CT. 在 Alferon 商品名下获得)或者可从德国的 Fraunhofer 研究所或可从
5 南韩的 Green Cross 获得的重组 α -干扰素。优选使用 α -2a 或 α -2b 干扰素。由于在所有干扰素中 α -2b 干扰素是在全球最广泛批准的用于治疗慢性丙型肝炎感染, 所以它是最优选的。 α -2b 干扰素的生产描述于美国专利号 4,530,901。

本文使用的术语“聚乙二醇化 α -干扰素”意指聚乙二醇修饰的 α -
10 干扰素(优选 α -2a 和 α -2b 干扰素)的轭合物(conjugates)。优选的聚乙二醇- α -2b 干扰素轭合物是 PEG₁₂₀₀₀- α -2b 干扰素。本文使用的短语“12,000 分子量聚乙二醇轭合的 α -干扰素”和“PEG₁₂₀₀₀-IFN α ”意指如按照国际专利申请号 WO 95/13090 的方法制备并且在 α -2a 或 α -2b 干扰素氨基基团与具有 12000 平均分子量的聚乙二醇之间含有尿烷
15 键的轭合物。

优选的 PEG₁₂₀₀₀- α -2b 干扰素是通过将 PEG 聚合物与 IFN α -2b 分子中赖氨酸残基的 ϵ 氨基基团连接而制成的。通过尿烷键将单个 PEG₁₂₀₀₀ 分子轭合到 IFN α -2b 分子上的游离氨基基团上。该轭合物的特征在于连接的 PEG₁₂₀₀₀ 的分子量。将所述 PEG₁₂₀₀₀-IFN α -2b 轭合物
20 配制成注射用的冻干粉末。IFN α 与 PEG 轭合的目的是通过显著延长其血浆半衰期而改善所述蛋白质的给药, 并因此提供了延长的 IFN α 活性。

其它 α -干扰素轭合物能通过将 α -干扰素偶联到水溶性聚合物而制成。此类聚合物的非限制性目录包括其它聚亚烷基氧化物均聚物如
25 聚乙二醇、聚氧乙烯多元醇、它们的共聚物和它们的嵌段共聚物。作为可替代以聚亚烷基氧化物为基础的聚合物的选择, 可使用有效的非抗原性物质如右旋糖酐、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酰胺、聚乙烯醇、碳水化合物为基础的聚合物等等。这种 α -干扰素多聚体轭合物

描述于美国专利号 4,766,106、美国专利号 4,917,888、欧洲专利申请号 0 236 987、欧洲专利申请号 0510 356、0 593 868 和 0 809 996 (聚乙二醇化 α -2a 干扰素)以及国际专利公开号 WO 95/13090 中。

5 适合于胃肠外给药的聚乙二醇化 α -干扰素的药用组合物可用合适的缓冲液如 Tris-HCl、醋酸盐或磷酸盐(如磷酸氢二钠/磷酸二氢钠)缓冲液和药学上可接受的赋形剂(如蔗糖)、载体(如人血浆白蛋白)、毒性物质(如 NaCl)、防腐剂(如乙基汞硫代水杨酸钠、甲酚或苄醇(benylalcohol))和表面活性剂(如吐温或聚山梨醇酯)在无菌水中配制成注射剂。所述聚乙二醇化 α -干扰素可以冻干粉末在 2 $^{\circ}$ C-8 $^{\circ}$ C 冷藏下储
10 存。当在 2 $^{\circ}$ C-8 $^{\circ}$ C 储存并且在重新溶解的 24 小时内使用时,所述重新组成的水性溶液是稳定的。参见例如美国专利号 4,492,537、5,762,923 和 5,766,582。所述重新组成的水性溶液也可储存在预先充入的、多个剂量的注射器中,就象用于如胰岛素药物给药的注射器那样。典型合适的注射器包括由附于笔形注射器(如可从 Novo Nordisk
15 获得的 NOVOLET Novo Pen)的预先充入的小瓶,以及允许使用者方便地自我注射的预先充入的笔形注射器组成的系统。其它注射器系统包括由在分离的室间含有稀释剂和冻干聚乙二醇化 α -干扰素的玻璃药筒组成的笔形注射器。

20 以下给出了给予治疗学上有效量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗的优选实施方案。

作为联合治疗的一部分而给予的所述 α -干扰素优选选自 α -2a 干扰素、 α -2b 干扰素、共有序列干扰素、纯化的 α -干扰素产品或聚乙二醇化 α -干扰素。更优选,所述 α -干扰素选自 α -2a 干扰素、 α -2b 干扰素或纯化的 α -干扰素产品,并且给予 α -干扰素的量为每周 2 百万到
25 1 千万 IU,每周一次、每周三次(TIW)、隔日一次(QOD)或每日一次。在一优选实施方案中,给予的 α -干扰素是 α -2b 干扰素,并且给予 α -干扰素的量是 3 百万 IU TIW。

或者,作为联合治疗的一部分而给予的所述 α -干扰素是共有序列

干扰素，并且给予 α -干扰素的量是每周 1-20 微克，每周一次、每周二次(BIW)、TIW、QOD 或每日一次。在另一实施方案中，给予的所述 α -干扰素是聚乙二醇化 α -2b 干扰素，并且给予 α -干扰素的量是每周 0.5-2.0 微克，每周一次、BIW、TIW、QOD 或每日一次。或者，
5 给予的所述 α -干扰素是聚乙二醇化 α -2a 干扰素，并且给予 α -干扰素的量是每周 20-250 微克/公斤，每周一次、TIW、QOD 或每日一次。

当作为联合治疗的一部分而给予的所述聚乙二醇化 α -干扰素是聚乙二醇化 α -2b 干扰素时，按照本发明在治疗期间(包括在第一和第二疗程中)给予的聚乙二醇化 α -2b 干扰素的治疗学上有效量是每周给予
10 大约 0.1-9.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，以单个剂量或分开的剂量给予，优选每周一次(QW)或每周二次(BIW)，优选每周一次(QW)给予大约 0.1-9.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素或每周二次(BIW)给予大约 0.05-4.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，或者每周给予大约 0.5-3.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，优选每周一次(QW)
15 给予大约 0.5-3.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素或每周二次给予大约 0.25-1.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，或者每周给予大约 0.75-1.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，最优选每周一次给予大约 0.75-1.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素或每周二次给予大约 0.375-0.75 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素。

20 当作为联合治疗的一部分而给予儿科患者的聚乙二醇化 α -干扰素是聚乙二醇化 α -2b 干扰素时，按照本发明在治疗期间(包括在第一和第二疗程中)给予的聚乙二醇化 α -2b 干扰素的治疗学上有效量是每周给予大约 0.1-9.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，以单个剂量或分开的剂量给予，优选每周一次(QW)或每周二次(BIW)，更优选每周一次(QW)给予大约 0.1-9.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，或
25 每周给予大约 0.05-4.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，以单个剂量或分开的剂量给予，优选每周一次(QW)或每周二次(BIW)，更优选每周一次给予大约 0.05-4.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素，

或者优选以单个或分开的剂量给予大约 0.75-3.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素, 优选每周一次(QW)或每周二次(BIW), 更优选每周一次给予大约 0.75-3.0 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素或每周二次给予大约 0.375-1.5 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素, 最优选每周一次给予大约 2.25-2.6 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素或每周二次(BIW)给予大约 1.1-1.3 微克/公斤的聚乙二醇化 α -2b 干扰素。

当作为联合治疗的一部分而给予的聚乙二醇化 α -干扰素是聚乙二醇化 α -2a 干扰素时, 按照本发明在治疗期间(包括在第一和第二疗程中)给予的聚乙二醇化 α -2a 干扰素的治疗学上有效量是每周一次(“QW”)给予大约 50-500 微克, 优选大约 180-250 微克 QW, 或者所述有效量是每周二次给予大约 50-250 微克, 优选大约 90-125 微克, 每周二次。

当作为联合治疗的一部分而给予儿科患者的聚乙二醇化 α -干扰素是聚乙二醇化 α -2a 干扰素时, 按照本发明在治疗期间(包括在第一疗程中)给予的聚乙二醇化 α -2a 干扰素的治疗学上有效量是每周一次(“QW”)给予大约 50-500 微克, 优选大约 300-375 微克(QW), 或者给予儿科患者的聚乙二醇化 α -2a 干扰素的治疗学上有效量是每周二次给予大约 50-250 微克, 优选每周一次大约 150-190 微克。

利巴韦林作为联合治疗的一部分与聚乙二醇化 α -干扰素联合(即是, 在给予聚乙二醇化 α -干扰素之前、之后或同时)给予患者。在所述患者接受利巴韦林剂量的同一时期优选给予所述聚乙二醇化 α -干扰素剂量。与聚乙二醇化 α -干扰素同时给予的利巴韦林的量是每日大约 400-1600 mg, 优选大约 600-1200 mg/日或大约 800-1200 mg/日, 最优选大约 1000-1200 mg/Kg/日。在儿科患者接受利巴韦林剂量的同一时期也优选给予所述患者聚乙二醇化 α -干扰素剂量。与聚乙二醇化 α -干扰素同时给予儿科患者的利巴韦林的量是每日每公斤大约 8-15 mg, 优选每日每公斤大约 8、12 或 15 mg, 以分开的剂量给予。

以下给出了在第一和第二疗程中与利巴韦林一起联合给予诱导

剂量 α -干扰素的优选实施方案。

在第一疗程中给予利巴韦林的量是每日 400-1600 mg, 优选 600-1200 mg/日或大约 800-1200 mg/日, 最优选大约 1000-1200 mg/Kg/日。在第二疗程中给予利巴韦林的量是每日大约 800-1200 mg, 优选每日

5

当给予的 α -干扰素是选自 α -2a 干扰素、 α -2b 干扰素或纯化的 α -干扰素产品时, 在第一疗程中给予的 α -干扰素的治疗学上有效的诱导剂量是每日 10 MIU 持续 2 周, 随后每日 5 MIU 持续 6 周, 然后每日 3 MIU 持续 16 周, 并且在第二疗程中给予的 α -干扰素的治疗学上有

10

效果量是 3 MIU TIW 持续 24 周。

当给予的 α -干扰素是 α -2b 干扰素时, 在第一疗程中给予的 α -2b 干扰素的治疗学上有效的诱导剂量是每日 10 MIU 持续 2 周, 随后每日 5 MIU 持续 6 周, 然后每日 3 MIU 持续 16 周, 并且在第二疗程中给予的 α -2b 干扰素的量是 3 MIU TIW 持续 24 周。

15

当给予的 α -干扰素是共有序列干扰素时, 在 24 周的第一疗程中给予的共有序列干扰素的量是每日 15-20 微克持续 2 周, 随后每日 9-15 微克持续 22 周, 并且在第二疗程中给予的共有序列干扰素的量是 9 微克 TIW 持续 24 周。

在本发明的优选实施方案中, 所述 α -干扰素是 α -2a 或-2b 干扰素; 更优选使用 α -2b 干扰素。

20

第一和第二疗程总计约 40-50 周, 优选 48 周。

患有慢性丙型肝炎感染的人可以表现出下列一种或多种征象或症状:

- (a) 升高的 ALT,
- (b) 抗 HCV 抗体试验阳性,
- (c) 通过 HCV-RNA 试验阳性证明 HCV 的存在,
- (d) 慢性肝病的临床特征,
- (e) 肝细胞损害。

25

为了实施本发明，将 α -干扰素和利巴韦林或诱导剂量的 α -干扰素和利巴韦林的联合治疗给予表现有上述一种或多种征象或症状的患者，其剂量足以消除或至少减轻一种或多种征象或症状。将治疗学上有效量的抗氧化剂与联合治疗或诱导剂量结合给予以改善利巴韦林-相关溶血。

将利巴韦林与 α -干扰素联合给予患者，即，在患者接受本发明的利巴韦林衍生物剂量的同时给予 α -干扰素剂量。当口服给药时绝大部分 α -干扰素制剂均是无效的，所以优选给予 α -干扰素的方法是胃肠外给药，优选皮下、静脉或肌肉注射。利巴韦林可以胶囊或片剂形式与 α -干扰素胃肠外给药结合口服给药。当然，两种药物的其它给药形式，如果有效均可考虑，例如通过鼻喷雾剂、透皮、通过栓剂、通过持续释放剂型等。任何形式的给药均可采用，只要能给予合适的剂量而不破坏活性成分。

适用于胃肠外给药的 α -干扰素的药用组合物可用合适的缓冲液如 Tris-HCl、醋酸盐或磷酸盐(如磷酸氢二钠/磷酸二氢钠)缓冲液和药学上可接受的赋形剂(如蔗糖)、载体(如人血浆白蛋白)、毒性物质(如 NaCl)、防腐剂(如乙基汞硫代水杨酸钠、甲酚或 benylalcohol)和表面活性剂(如吐温或聚山梨醇酯)在无菌水中配制成注射剂。所述 α -干扰素可以作为冻干粉末在 2℃-8℃ 冷藏下储存。当在 2℃-8℃ 储存并且在重新溶解的 24 小时内使用时，所述重新组成的水性溶液是稳定的。参见例如美国专利号 4,492,537、5,762,923 和 5,766,582。

本发明上下文中的术语“不可测得的 HCV-RNA”意指通过定量的、多环逆转录酶 PCR 方法测定时，每毫升患者血清中有少于 100 个 HCV-RNA 的复制体。在本发明中优选通过以下描述的方法测定 HCV-RNA。本文优选该方法为 HCV-RNA/qPCR。

本发明上下文中的术语“基本上降低的可测得的 HCV-RNA 血清水平”意指与初始 HCV-RNA 血清水平相比，所述 HCV-RNA 血清水平降低至少 10 的一次方，优选降低 10 的二次方，最优选降低 10

的三次方。

采用 guaninidinium 硫氰酸盐-苯酚-氯仿 mixer, 随后通过乙醇-醋酸铵沉淀从患者血清中提取 RNA。离心沉淀的 RNA, 所获得的颗粒物质在 Centrivap 控制台(Labconco, Kansas City, Mo.)中干燥。然后将干燥的颗粒物质再悬浮于 30 微升的 Rnasin (Promega Corp., Madison, WI)、二硫苏糖醇(dithiothritol)和焦碳酸二乙酯处理的水混合物中。将样本保持在-20℃或-20℃以下(优选-70℃以下)直到 RNA 逆转录(RT)和 PCR。

为了在所述 RT 反应中将整个 RNA 序列转变化 cDNA 中, 使用随机的六脱氧核糖核苷酸(Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)作为第一链 cDNA 合成的引物。将两份等试样的 3 微升的再悬浮样品加入到 3 微升的 100 ng/μl 随机引物中并在 70℃变性, 然后使用 M-MLV 逆转录酶(USB, Cleveland, OH)在含有 5 mM MgCl₂ 的标准缓冲液中于 40℃逆转录一小时。最终 RT 反应容积是 26 μl。紧随所述逆转录之后立即开始 PCR。

应用热稳定的 Taq 多聚酶进行改良形式的 PCR 方法以扩增 cDNA。将 PCR 混合液 75 μl 加入到整个 RT 反应体积 (26 μl) 中, 使总体积为 101 μl, 氯化镁的终浓度为 1.5 mM。然后将每份 101 μl 的样品分成 50.5 μl, 并在上面放入矿物油层以防止蒸发。

所述 PCR 循环包括分别在 55℃退火 90 秒, 在 74℃延伸 90 秒以及在 94℃变性 90 秒。将热循环样品经受最终 74℃的延伸 10 分钟。应用了四个不同的循环组。按双份装填样品, 并在 RT 之后将这些样品分装, 一份样品可分装成四个管。四管中的每一管均给予一个不同的循环编号, 在定量的步骤中提高敏感性和准确性。通过已知 RNA 拷贝数标准(包括每组合的 60 管)的令人满意的扩增来评估所述热循环的效率。用于扩增的两个引物系列均来自 HCV 基因组的 5'未翻译区域。这些引物组均为高度保守的, 且经检测均为已知的 HCV 亚型。引物组 1: 上游 5'-GTG GTC TGC GGA ACC GGT GAG T-3', 下游

5'-TGC ACG GTC TAC GAG ACC TC-3', 该引物产生一个 190 碱基(bp) 的产物。引物组 2: 上游 5'-CTG TGA GGA ACT ACT GTC TTC-3', 下游 5'-CCC TAT CAG GCA GTA CCA CAA-3', 该引物产生一个 256 bp 的产物。

5 然后将扩增的 cDNA 在 3% 琼脂糖凝胶中电泳并转移到尼龙膜上。用非放射活性的地高辛-标记的 DNA 探针通过 DNA 印迹和免疫染色法测定靶 DNA。应用自动化仪器进行 PCR 热循环、琼脂糖凝胶电泳、真空转移 DNA 印迹法、杂交以及免疫印染等所述步骤。每一张膜含有已知拷贝数的系列稀释的标准品, 将该标准品用于绘制样品带的定量检测的标准曲线。由精密稀释的从转录克隆中获得的 HCV-RNA 制备原始的标准曲线。对转录物进行放射活性掺入法研究、凝胶电泳和 OD 260 检测以测定其具有预期的长度。在 RNA 转录物定量的克隆标准产生后, 产生了可更好地代表 HCV 的异质性的“综合的(pooled)”标准。人们可能遭遇自然感染。这些混合物(pools) 10 就是通过合并已知感染的个体的大量血清或血浆而制备的。用 PCR 对所述血清/血浆混合物相对于克隆转录物进行校准, 并用已知的 PCR-阴性液体稀释。最后, 对照 cDNA Quantiplex 核酸检测系统 (Chiron Inc., Emeryville, CA) 检测所述混合物中的较高拷贝数的样品。将这些“双重定量”的混合物等分并于 -70℃ 保存。每个实验中 20 用每毫升 5,000,000、1,000,000、500,000、100,000、10,000 和 1000 个拷贝数的稀释度。

当所述标准曲线几乎是直线时, 实验每间隔一段时间即测定并用自动扫描仪/光密度仪将每张 DNA 印迹印染的膜扫描到电脑中。然后将产生的电子影像用于测定带的面积和带的平均密度。将所有读数都标准化为综合的带密度并与标准曲线比较以获得每条带的病毒 25 拷贝数的数字化的值。

本发明上下文中使用的术语“持续病毒学反应”意指按照本发明治疗的患者在联合疗法治疗结束后至少 24 周没有可测得的 HCV-

RNA。优选持续病毒学反应的时期为治疗结束后至少一年或更长。

5 治疗期间和治疗后的跟踪，可使用生物化学(ALT)、病毒学(HCV-RNA)、血液学(至少包括以下的血红蛋白(HgB)、红细胞压积(HCT)、RBC、WBC 分类和血小板计数水平)以及组织学(肝组织活检)检查来评估对实验治疗的反应的性质和持续时间。初始效能变量将是完全反应，该反应定义为在治疗结束后 24 周时测到的降低的血清 HCV-RNA/qPCR (<100 拷贝/mL)。此外，也将测定与基线值相比所述血红蛋白水平的降低。另外，通过 Knodell 组织学活性指数(HAI)测得的肝脏炎症的减轻、治疗后肝组织活检的改善以及 ALT 的正常化也将作为第二级效能的终点(Endpoints)而被检测。所述实验治疗的安全性将通过监测选择的实验室参数以及通过记录和评价任何不良反应的发生来评估。

效能

15 所述初始效能目标将是治疗 1 组和 2 组关于所述持续病毒学反应率的比较，将该反应率定义为在治疗结束后 24 周时测定的(可测到的)血清 HCV-RNA/qPCR 丢失(降低)到不可测到的水平或到<100 拷贝/mL 的水平。用逻辑回归法也可检测随后的第二级效能终点。

第二级效能终点：

- 20 ● 在跟踪的 24 周时 ALT 正常化的患者的比例；
- 活组织检查有改善的患者的比例(分类 I + II + III 联合评分)；
- 从所述活组织检查评分的基线的改变(分类 I + II + III 联合评分)；
- 25 ● 以 HCV-RNA/qPCR 为基础的在治疗终点时的反应率；
- 在治疗终点时 ALT 正常化的患者的比例；
- 以 HCV-RNA/qPCR 为基础的在跟踪的 24 周时的反应率。

病毒学：进入状态和从进入改变

5 由中心实验室进行血清 HCV-RNA/qPCR 试验和 HCV 基因型测试。在基线需要阳性 HCV-RNA 检测结果；仅 HCV-RNA 阳性的患者有资格参加。重复检测应安排在 4、12、24 周，并且如果所述患者是在 48 周治疗组则在 36 和 48 周重复检测。所有患者在跟踪的 12 和 24 周应安排有重复检测。

按照以下定义评估反应：

病毒学应答者：如果在给予的时间点 HCV-RNA/qPCR 是阴性(<100 拷贝/mL)，则在该时间点将患者分类为应答者。

持续病毒学应答者：如果在跟踪的 24 周患者是应答者，则将所述患者分类为持续应答者。

注意没有达到这些标准的患者，包括在获得需要的 HCV-RNA/qPCR 评估以前中止的患者，将被分类为非应答者。

完全应答者：通过 Knodell HAI 炎症评分以 HCV-RNA/qPCR 和肝组织学改变这二者为基础作为评估。如果在跟踪的 24 周时，他/她是持续病毒学应答者并且有正常的 ALT，则将该患者分类为对治疗完全的应答者。

肝组织学

10 在患者加入前六个月内以及在跟踪的 24 周时对所有患者进行肝组织学活检。所述组织学活检的评估由专一病理学家使用 Knodell 组织学活性评分进行。中心病理学家不知道有关患者的身份、治疗组和获得的与治疗有关的组织学活检的时间(治疗前或治疗后)。通过比较在基线处观察到的和在跟踪 24 周时呈现的炎症活性来评估研究治

15 疗的效果。

在所述研究开始前测定患者的体重和他们的基线疾病特征(HCV 基因型、血红蛋白水平和初始病毒负载)。有待于 HCV-RNA/qPCR 测试的患者的血清样本应进行 HCV 基因型检测。

这种包括所述疾病的所有方面的功效的增强将导致:

- 5 • 可测得的 HCV-RNA 的持续根除;
- 肝脏炎症的改善;
- 较低的血红蛋白下降;
- ALT 正常化;
- HQL 的改善。

10

临床研究设计

设计这一治疗方案以证实维生素 E 在上文讨论的所述试验研究中显示的功​​效, 它在治疗慢性丙型肝炎患者时改善与 Rebetron (Intron A + 利巴韦林)有关的溶血。

15 以下双盲治疗方案(arms)将随机地分配给在分解(sunder)这一方案的所选择的中心的患者:

A. Rebetron (Intron A 3MU TIW-利巴韦林 1000-12000 mg, 每日以分开的剂量口服)加上 1000 IU 维生素 E, BID.

20 B. Rebetron (Intron A 3MU TIW + 利巴韦林 1000-12000 mg, 每日以分开的剂量口服)加上 1000 IU 维生素 E 加安慰剂。

C. Rebetron (Intron A 3MU TIW + 利巴韦林 1000-12000 mg, 每日以分开的剂量口服)仅加上匹配的安慰剂。

患者体重必须 ≥ 75 kg, 他们将接受 1200 mg/日的利巴韦林。

如果患者 6 个月不能清除病毒将中止治疗。

25 总共 90 例患者参加(每组 30 例患者)。

目标

这一治疗方案的主要目标是证实维生素 E 能减轻使用利巴韦林

所发生的溶血, (与对照组相比减少血红蛋白从基线的下降)。

第二目标是确定是否有利于降低巴韦林剂量减少的需要、中断治疗的患者的减少以及生活质量的改善。

5

研究概要

10

所述方案是标准剂量的 Rebetrone (Intron A 3 mu TIW + 利巴韦林 1000-12000 mg/日)加上 1000 IU 维生素 E 或 2000 IU 维生素 E 或安慰剂的双盲随机研究。绘制系列的血红蛋白水平、HCV RNA 水平和利巴韦林水平。也将使用其它溶血标记和生活方式质量(活力和抑郁程度)来测定结果。在调查者位置仍保持盲目时, 在 12 和 24 周将进行中期分析。

研究人群

15

成年男性和女性代偿期慢性丙型肝炎患者, 他们以前没有接受过干扰素治疗。符合以下进入标准的患者将被选入。

进入标准:

所述患者必须符合以下进入标准:

成年男性或女性, 年龄 18 到 70 岁。

20

PCR 检测血清丙型肝炎病毒阳性。

在进入这一方案之前肝组织活检病理报告证实病史诊断与慢性肝炎一致。

有以下实验室参数的代偿期肝病进入随访:

血红蛋白值 > 11 g/dL(女性)或 >12 g/dL(男性)

25

WBC > 3,000/mm³

中性粒细胞计数 1,500/mm³

血小板 > 70,000/mm³

凝血酶原时间与对照相比 < 2 秒延长, 或相等的 INR 比率

胆红素在正常上限的 20%以内

白蛋白 > 3.5 g/dL

血清肌酐 < 1.4 mg/dL

非糖尿病患者禁食血糖 < 115 mg/dL

- 5 糖尿病患者血红蛋白 A < 8.5%(不论是药物以及/或是饮食控制)
甲状腺刺激激素(TSH)在正常范围内
抗核抗体(ANA) < 1:160.

在此前的一年内, 获得的 α 胎蛋白(AFP)值在正常范围内。对于高出正常值上限但 < 50 ng/ml 的结果病人来说, 需要符合下述两项:

- 10 在进入之前 3 个月内获得的 α 胎蛋白值 < ng/ml 以及在进入之前 3 个月内获得的超声波为肝细胞癌征象阴性。

排除标准

如果下述条件的任何一项发生, 则将病人从进入的方案中排除:

- 15 对 α 干扰素或利巴韦林过敏。

除了慢性 C 型肝炎以外的任何其它慢性肝病的病因。

血红蛋白性疾病(如地中海贫血)或任何其它溶血性贫血的病因。

进行性肝病迹象如腹水既往史或现病史、静脉曲张性出血或自发性脑病。

- 20 任何已知的能干扰患者参加所述方案的以前存在的疾病包括: 需要治疗的 CNS 创伤或活动性癫痫发作疾病、控制不良的糖尿病、严重的肺病、免疫学药物治疗的疾病、痛风、或在所述研究过程期间任何需要或可能需要长期全身给予类固醇的疾病。

- 25 对紧张试验(对于有冠状动脉疾病风险或病史的患者需要)有缺血证据的患者、有(心肌)缺血的 ECG 证据、心律失常、心脏衰竭、冠状动脉外科手术、未控制的高血压、12 个月内的心绞痛或心肌梗塞的患者。

临床上显著视网膜异常的患者。

滥用药物，如酒精(80 g/日)、静脉使用毒品和吸毒。如果所述患者有滥用药物史，可考虑进入所述方案，该患者必须戒除滥用药物至少1年。在过去的一年中接受美沙酮的患者也须排除。

5 必须与患者商讨有关戒除酒精消费的需要。对于所述方案，酒精消费 > 20 g/日的患者是不符合条件的。

同时使用核苷类似物、金刚烷胺/金刚乙胺和蛋白酶抑制剂将被排除在外。

有器官移植病史的患者排除。

10 排除以前存在精神疾病、尤其是重度抑郁、或严重精神疾病病史、如严重精神病、自杀思想和/或自杀企图。

研究药物治疗

利巴韦林供给

15 以标准包装的 Rebetron 提供给研究药物治疗。通过患者的药房、直接由办公室分配或通过 Schering's Commitment 提供利巴韦林来从事该计划。利巴韦林胶囊必须在 15-25°C (59-77°F) 室温储存。

利巴韦林的给予

20 利巴韦林将通过口服途径每日二次(BID)以 600-1200 mg/日的剂量给予。800 mg 以上剂量的利巴韦林将以进入随访的患者体重为基础，如下表中所指出：

表

利巴韦林剂量 胶囊/剂量	患者体重	总的日剂量	治疗方案 (每粒 200 mg)	总数
	<75 kg	1000 mg	400mg/600mg 分开的剂量, BID,	上午 2 粒胶囊 下午 3 粒胶囊
	≥75 kg	1200 mg	600 mg/600 mg 分开的剂 量, BID	上午 3 粒胶囊 下午 3 粒胶囊

所有利巴韦林剂量均以 BID 方案给予。如果发生副反应则需要减少剂量, 总的日剂量也应调整。

5

Intron A 的供给

所述患者以合适的浓度获得 Intron A, 以便提供 3 MU TIW 的剂量。这可以从患者的药房、直接由办公室分配或通过 Schering Corporation's Commitment 获得来从事该计划。

10

Intron A 的给予

Intron A 通过皮下途径给予。其它信息参见 Intron A 包装内插页的说明。

15

维生素 E/安慰剂的供给和给予

维生素 E(得自 R.P.Scherer Corp, St Petersburg, FLA)以 500 IU 的维生素 E 浓度的胶囊形式供给。所述胶囊包装于普通瓶中。适宜地, 匹配的安慰剂胶囊也以普通瓶供给。这些可直接由 Schering-Plough 公司供给。依照所述研究组, 胶囊以 1 个月的供应量包装(维生素 E/

维生素 E、维生素 E/安慰剂或安慰剂/安慰剂)。每位患者在每日的基础上上午服用 2 粒胶囊和下午服用 2 粒胶囊，具体如下：所述研究组(维生素 E/维生素 E)-上午 2 粒 500 IU 维生素 E 的胶囊和下午 2 粒维生素 E 胶囊；所述研究组(维生素 E/安慰剂)-上午 2 粒 500 IU 维生素 E 胶囊和下午 2 粒安慰剂胶囊；以及所述研究组(安慰剂/安慰剂)-上午 2 粒安慰剂胶囊和下午 2 粒安慰剂胶囊 PM。

疗程

Intron A 和利巴韦林二者的疗程最长可达 48 周。

10 我们期望与既往史对照相比，按照本发明的临床研究设计的抗氧化剂与所述联合治疗的结合使用将显著降低所述联合治疗的第一个 12 周内的利巴韦林-相关溶血性贫血的严重程度，并且在所述联合治疗全部时期继续维持较低的利巴韦林-相关的溶血性贫血水平。