

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0614863-8 A2**

(22) Data de Depósito: 03/08/2006
(43) Data da Publicação: 19/04/2011
(RPI 2102)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 47/48
A61K 38/21
A61K 31/7056

(54) Título: **USO DE CONJUGADOS DE PEG-IFN-ALFA EM ASSOCIAÇÃO A RIBAVIRINA, BEM COMO KIT COMPREENDENDO OS MESMOS**

(30) Prioridade Unionista: 15/08/2005 EP 05 107473.0

(73) Titular(es): F. Hoffmann-La Roche Ag

(72) Inventor(es): HENRICUS LEONARDUS ANTONIUS
JANSSEN, MATEI POPESCU, NIGEL PLUCK

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler &
Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT EP2006065026 de 03/08/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/020195 de 22/02/2007

(57) Resumo: USO DE CONJUGADOS DE PEG-IFN-ALFA EM ASSOCIAÇÃO COM RIBAVIRINA, BEM COMO KIT COMPREENDENDO OS MESMOS. A presente invenção refere-se ao uso de conjugados de PEG- IFN- α em associação com ribavirina para o tratamento de infecções de hepatite B crônica. A presente invenção refere-se também um método para tratar infecções de hepatite B crônica em pacientes que necessitam de tal tratamento, compreendendo administrar uma quantidade de conjugado de PEG-IFN- α em associação com uma quantidade de ribavirina, eficaz para tratar hepatite B crônica.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"USO DE CONJUGADOS DE PEG-IFN-ALFA EM ASSOCIAÇÃO COM RIBAVIRINA, BEM COMO KIT COMPREENDENDO OS MESMOS"**.

A presente invenção refere-se ao campo de tratamento de infecções pelo vírus da hepatite B crônica, usando uma quantidade de um conjugado de PEG-IFN- α em associação com ribavirina, eficaz para tratar hepatite B crônica.

Os interferons (IFNs) são proteínas de ocorrência natural que têm atividade antiviral, antiproliferativa e imunorreguladora. Quatro classes distintas de interferons são conhecidas como existentes em seres humanos (Pestka *et al.*, *Ann. Rev. Biochem.* 56:727-777 (1987); e Emanuel e Pestka, *J. Biol. Chem.* 268:12565-12569 (1993)). A família de INF- α representa a classe predominante de IFNs produzidos por leucócitos do sangue periférico estimulados (Pestka *et al.*, *loc. cit.*; Havell *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72:2185-2187 (1975); Cavalieri *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74:3287-3291 (1977)), e linhagens de células linfoblastóides e mieloblastóides (Familletti *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 20:5-9 (1981)). O efeito antiviral de IFN- α é atingido não apenas por uma influência direta sobre os vírus em si, mas por uma atividade sobre suas células-alvo no sentido de uma proteção contra a infecção viral. Os interferons podem exercer efeitos sobre tumores cancerosos e podem influenciar o sistema imunológico do corpo pelo fato de que, por exemplo, eles ativam macrófagos e células NK e intensificam a expressão de vários constituintes imunologicamente significativos da membrana celular. Os detalhes para a preparação do DNAc de interferons e a sua expressão direta, especialmente em *E. coli*, foram objeto de muitas publicações. Assim sendo, por exemplo, a preparação de interferons recombinantes é conhecida, por exemplo, pelas publicações *Nature* 295:503-508 (1982); *Nature* 284:326-320 (1980); *Nature* 290:20-26 (1981); *Nucleic Acids Res.* 8:4057-4074 (1980), bem como pelas patentes européias nºs 32134, 43980 e 211148.

Na hepatite B crônica, a combinação de ribavirina e interferon alfa padrão induz uma proliferação duradoura de células T CD4+ e a liberação da citocina Th1, que intensifica a probabilidade de erradicação prolon-

gada de HBV (M.A. Rico, J.A. Quiroga, D. Subira, S. Castanon, J.M. Esteban, M. Pardo, V. Carreno: Hepatitis B virus-specific T-cell proliferation and cytokine secretion in chronic hepatitis B e antibody-positive patients treated with ribavirin and interferon alpha. *Hepatology* 33:295-300 (2001)). Em um

5 estudo-piloto, 24 pacientes com hepatite B crônica HBeAg-negativos foram tratados com uma combinação de interferon-padrão (5 MU três vezes por semana) e ribavirina (1.000-1.200 mg diariamente) por 12 meses (T. Cotonat, J.A. Quiroga, J.M. Lopez-Alcorocho, R. Clouet, M. Pardo, F. Manzarbeitia, V. Cerreno: Pilot study of combination therapy with ribavirin and interferon

10 alfa for the retreatment of chronic hepatitis B in antibody-positive patients. *Hepatology* 31:502-506 (2000)). Todos pacientes eram não-respondedores anteriores à monoterapia com interferon. Nesta população com dificuldade para tratar depois de 12 meses, a resposta virológica no acompanhamento (negatividade do DNA de HBV por PCR) atingiu 50% dos pacientes e

15 normalização de ALT em 21% dos pacientes (T. Cotonat, J.A. Quiroga, J.M. Lopez-Alcorocho, R. Clouet, M. Pardo, F. Manzarbeitia, V. Carreno: Pilot study of combination therapy with ribavirin and interferon alfa for the retreatment of chronic hepatitis B e antibody-positive patients. *Hepatology* 31:502-506 (2000)). Assim sendo, este tratamento não é sempre eficaz.

20 A terapia combinada com conjugados PEG-IFN- α e ribavirina pode ser, assim, mais eficaz do que a terapia combinada de IFN- α e ribavirina.

Observou-se que no caso de IFN- α , a "peguilação" aumenta a meia-vida circulante e o tempo de residência plasmática, reduz a imunogenicidade, diminui a depuração e aumenta a atividade *in vivo*.

25

A presente invenção fornece, portanto, o uso de conjugados de PEG-IFN- α em associação com ribavirina para a fabricação de medicamentos para o tratamento de infecções de hepatite B crônica. Além disso, a presente invenção fornece um método para tratar infecções de hepatite B crônica em pacientes que necessitam de tal tratamento, compreendendo administrar uma quantidade de um conjugado de PEG-IFN- α em associação com

30 uma quantidade de ribavirina, eficaz para hepatite B crônica. A presente in-

venção fornece também um *kit* que compreende PEG-IFN- α e ribavirina para o tratamento de infecções de hepatite B crônica.

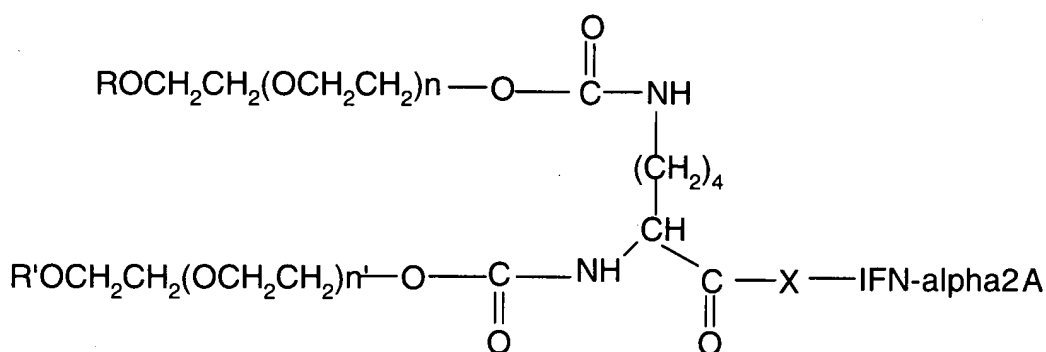
De preferência, a dita hepatite B crônica é uma hepatite B crônica HBeAg-negativa ou HBeAg-positiva. Mais preferivelmente, a dita hepatite B crônica é uma hepatite B crônica HBeAg-negativa. Os pacientes são pacientes não-tratados anteriormente, tratados anteriormente com IFN- α e/ou ribavirina ou qualquer outro fármaco, mas que subsequenteemente recidivaram ou são não-respondedores ao tratamento anterior com IFN- α e/ou ribavirina ou qualquer outro fármaco. De preferência, os pacientes são não-respondedores anteriores à monoterapia com interferon. O antígeno "e" da hepatite B (HBeAg) é usado para diferenciar entre hepatite B crônica HBeAg-positiva, que se deve ao HBV do tipo selvagem, e hepatite B crônica HBeAg-negativa, que se deve a uma variante de HBV de ocorrência natural com mutações nas regiões pré-núcleo e/ou do promotor do núcleo básico do genoma.

A hepatite B crônica HBeAg-negativa foi reconhecida como crescente em muitos países dentro da última década e ela representa a maioria dos casos em muitos países. Esta forma de hepatite B está genericamente associada a uma doença hepática mais grave com uma baixa taxa de remissão espontânea da doença e uma baixa taxa de resposta prolongada à terapia antiviral.

O termo "conjugado de PEG-IFN- α ", como aqui utilizado, inclui IFN- α 's derivados de qualquer material natural (por exemplo, leucócitos, fibroblastos, linfócitos) ou material derivado dele (por exemplo, linhagens de células), ou aqueles preparados com tecnologia de DNA recombinante. Os detalhes da clonagem de IFN- α e sua expressão direta, especialmente em *E. coli*, foram objeto de muitas publicações. A preparação de IFN- α 's recombinantes é conhecida, por exemplo, pelas publicações por Goeddel *et al.*, *Nature* 284:316-320 (1980); e *Nature* 290:20-26 (1981), e pelas patentes européias nºs 32134, 43980 e 211148. Há muitos tipos de IFN- α , tais como IFN- α 1, IFN- α 2; e outros de seus subtipos, incluindo, porém sem limitações, IFN- α 2A, IFN- α 2B, IFN- α 2C, e IFN- α II (também designado IFN- α II ou α -

IFN), O termo "IFN- α " inclui também IFN- α de consenso disponível na Amgen ou misturas de IFN- α 's ou variantes de IFN- α naturais e/ou recombinantes descritos nos documentos n^{os} WO 2001/25438 ou WO 2004/046356. O uso de IFN- α 2A é preferido. A fabricação de IFN- α 2A está descrita nas patentes europeias n^{os} 43980 e 211148.

O IFN- α é conjugado a um polímero, tal como um polialquilenoglicol (substituído ou não-substituído), por exemplo, polietilenoglicol, para formar o conjugado PEG- IFN- α . A conjugação pode ser realizada por meio de vários ligantes conhecidos nessas técnicas, particularmente os ligantes tais como aqueles descritos nos pedidos de patente europeus publicados n^{os} 0510356, 593868 e 809996. O peso molecular do polímero, que é de preferência polietilenoglicol, pode ficar na faixa entre 300 e 70.000 dáltons, e um ou mais, de preferência um a três polímeros podem ser conjugados ao IFN- α . Um conjugado de PEG- IFN- α preferido tem a fórmula:



onde R e R' são metila, X é NH, e n e n' são individualmente ou ambos 420 ou 520.

A ribavirina, 1- β -D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida, está descrito no Merck Index, composto n^o 8199, Décima Primeira Edição. Sua fabricação de formulação estão descritas na patente n^o US 4.211.771.

A dosagem do conjugado de PEG-IFN- α para praticar a terapia combinada desta invenção é de cerca de 33 a 540 microgramas (μ g) por semana, independentemente do peso corporal, em uma ou duas administrações semanais.

A dosagem de ribavirina para praticar esta invenção é de cerca de 400 a 1.200 mg por dia pelo menos cinco dias por semana, de preferên-

cia sete dias por semana. Baseado na suposição de um paciente que pesa entre 40 e 150 kg, a faixa de dosagem é, portanto, entre 10 e 30 mg por quilograma de peso corporal por dia. Em uma modalidade mais específica, a dosagem diária de ribavirina é 800-1.200 mg, mais preferivelmente 1.000 a 1.200 mg. Esta dosagem diária pode ser administrada uma vez ao dia em uma única dose ou em doses divididas duas ou três vezes ao dia. De preferência, a dosagem diária de ribavirina é administrada em doses divididas duas vezes ao dia.

De acordo com esta invenção, a ribavirina é administrada ao paciente em associação com o conjugado de PEG-IFN- α , isto é, a dose do conjugado de PEG-IFN- α é administrada durante na mesma hora ou em períodos de tempo diferentes daqueles em que o paciente recebe as doses de ribavirina. Em uma modalidade desta invenção, pelo menos uma dose diária de ribavirina é administrada dentro da mesma semana, como pelo menos uma dose de PEG-IFN- α . Em uma modalidade mais específica, a maioria das administrações de ribavirina ocorre dentro da mesma semana que uma ou mais administrações de PEG-IFN- α . Em outra modalidade específica, todas ou substancialmente todas as administrações de ribavirina ocorrem dentro da mesma semana que uma ou mais administrações de PEG-IFN- α . Atualmente, as formulações do conjugado de PEG-IFN- α não são eficazes quando administradas por via oral, e assim sendo, o método preferido para administrar o conjugado de PEG-IFN- α é por via parenteral, de preferência por injeção subcutânea (sc) ou intramuscular (im). A ribavirina pode ser administrada por via oral na forma de cápsulas ou comprimidos em associação com a administração parenteral do conjugado de PEG-IFN- α . Evidentemente, outros tipos de administração de ambos medicamentos, à medida que se tornem disponíveis, estão contemplados, tais como por *spray* nasal, via transdérmica, supositório, forma de dosagem com liberação prolongada, etc. Qualquer forma de administração funcionará, desde que as dosagens apropriadas sejam distribuídas sem destruir o ingrediente ativo.

A eficácia do tratamento pode ser determinada por ensaios clínicos controlados da terapia combinada *versus* a monoterapia e/ou terapia

combinada de IFN- α e ribavirina. A eficácia da terapia combinada em aliviar os sinais e sintomas de hepatite B crônica, de preferência infecção de hepatite B crônica HBeAg-negativa ou HBeAg-positiva, mais preferivelmente infecção de hepatite B crônica HBeAg-negativa, e a frequência e gravidade dos efeitos colaterais serão comparados com monoterapia de IFN- α e/ou terapia combinada de IFN- α e ribavirina anterior. Três populações que sofrem de infecção de hepatite B crônica, de preferência HBeAg-negativa ou HBeAg-positiva, mais preferivelmente hepatite B crônica HBeAg-negativa, são de relevância para a avaliação. Seja apenas uma ou todas as três populações de pacientes serão estudadas com a combinação:

1. Pacientes não tratados anteriormente.
2. Pacientes tratados anteriormente com IFN- α e/ou ribavirina ou qualquer outro fármaco, e que tinham subsequentemente recidivado.
3. Pacientes que eram não-responsivos ao tratamento anterior com IFN- α e/ou ribavirina ou qualquer outro fármaco.

A eficácia da terapia combinada será determinada pelo grau até o qual os sinais e sintomas de hepatite B crônica, descritos anteriormente, de preferência HBeAg-negativa ou HBeAg-positiva, mais preferivelmente hepatite B crônica HBeAg-negativa, são aliviados.

20

EXEMPLO

O principal propósito deste estudo é comparar a eficácia e a segurança da combinação de PEG-IFN- α 2A e ribavirina com PEG-IFN- α 2A no tratamento de hepatite B crônica HBeAg-negativa. Números iguais de pacientes (61 pacientes por grupo de tratamento) estão recebendo outra combinação de PEG-IFN- α 2A e ribavirina ou PEG-IFN- α 2A por 48 semanas. Um terceiro grupo de pacientes (165 pacientes) estão recebendo PEG-IFN- α 2A mais placebo por 48 semanas. A ramificação de monoterapia fornece um comparador de segurança e eficácia para a ramificação da combinação PEG-IFN- α 2A.

30

A dose de PEG-IFN- α 2A é 180 μ g, administrada por via subcutânea uma vez por semana, em combinação com ribavirina ou placebo por 48 semanas, enquanto que pacientes pesando ≥ 75 kg recebem 1200 mg

por dia (600 mg pela manhã e 600 mg a noite).

A dose de ribavirina é 1.000 mg ou 120 mg baseado no peso corporal, por dia em doses divididas. Os pacientes que pesam < 75 kg (165 lb) recebem 1.000 mg por dia (400 mg pela manhã e 600 mg à noite).

- 5 Os parâmetros principais da eficácia são as respostas virológicas prolongadas combinadas [isto é, nível do DNA de HBV < 10^4 cópias/mL, medido pelo ensaio AMPLICOR® PCR (sensibilidade ≥ 100 cópias/mL)] e bioquímicas (normalização da concentração sérica de ALT), na conclusão do período de acompanhamento sem tratamento. Para ser considerado um res-
- 10 pondeador, o paciente deve ter uma atividade sérica normal de alanina aminotransferase (ALT) nas semanas 68 e 72 e nenhum vírus detectável na semana 72.

- As avaliações da segurança são realizadas durante a triagem, no referencial, nas semanas 1, 2, 4, 6 e 8, e depois a cada 4 semanas de-
- 15 pois disso durante o período inteiro de tratamento de 48 semanas. A avaliação da segurança continua durante o período subsequente de acompanhamento de 24 semanas. As medidas de segurança incluem episódios adversos, sinais vitais, e testes de laboratório, bem como tabulações de ajustes da dose e abandonos prematuros do tratamento por razões de segurança ou
- 20 tolerabilidade.

- Os pacientes masculinos e femininos com 18 anos de idade ou mais, com hepatite B crônica HBeAg-negativa, que não tinham sido tratados contra HBV dentro dos 6 meses anteriores, que não foram tratados com qualquer fármaco em pesquisa dentro de 30 dias da entrada no presente
- 25 ensaio, constituíram a população de pacientes. Os pacientes devem ter o DNA de HBV quantificável, ALT anormal em duas ocasiões dentro de 2 meses antes da randomização (valores normais de ALT no ínterim são permitidos) e biópsia do fígado dentro de 12 meses consistente com hepatite B crônica HBeAg-negativa. Os pacientes com outras formas de doença hepática,
- 30 co-infecção com HCV, hepatite D ou vírus da imunodeficiência humana (HIV), carcinoma hepatocelular, depressão grave preexistente ou outra doença psiquiátrica, doença cardíaca, doença renal, distúrbios convulsivos, ou

retinopatia grave, etc., são excluídos.

Um período de triagem (tempo a partir da primeira avaliação de triagem até a primeira administração do fármaco em teste) de até 4 semanas precede a parte do tratamento do ensaio (48 semanas). Os pacientes que
5 atendem a todos os critérios de elegibilidade são randomizados para um dos dois esquemas de tratamento.

O resultado primário no final do acompanhamento é tomado como base para a análise de potência posterior (apêndice C). A taxa de resposta estimada é de 30% para a monoterapia com PEG-IFN e 55% para a
10 terapia combinada. A principal questão do estudo será resolvida por uma comparação emparelhada entre as taxas de resposta no final do acompanhamento. O nível de significância emparelhada será estabelecido em $\alpha = 0,05$ (teste bilateral). A potência é estabelecida em 80%. Os abandonos serão calculados como não-respondedores no final do acompanhamento. O
15 número total a ser randomizado passando a ser:

	Resposta	Tamanho da amostra Final 1:1
Monoterapia de PEG-IFN	30%	61
Terapia Combinada	55%	61
Total:		122

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de conjugados de PEG-IFN- α em associação com ribavirina, caracterizado pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de infecções de hepatite B crônica.

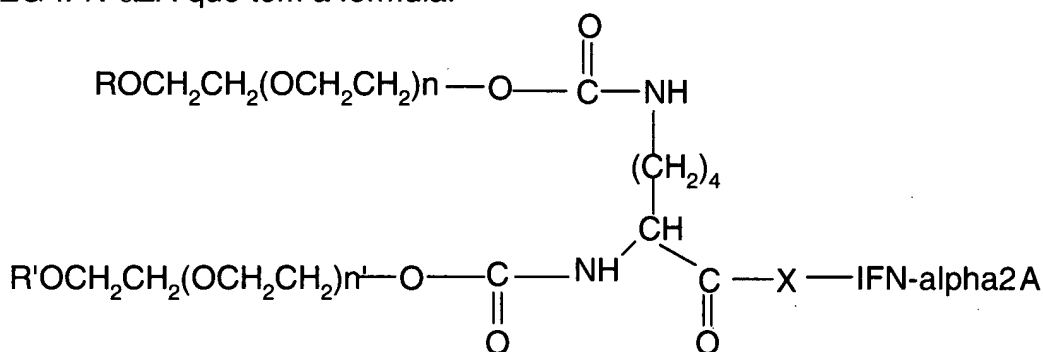
5 2. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a dita infecção de hepatite B crônica é infecção de hepatite B crônica HBeAg-negativa ou HBeAg-positiva.

3. Uso de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a dita infecção de hepatite B crônica é infecção de hepatite B crônica HBeAg-negativa.

4. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que a quantidade do conjugado de PEG-IFN- α é de cerca de 33 a 540 μ g por semana.

5. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a quantidade de ribavirina é de 40 a 1.200 mg diariamente.

6. Uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que o conjugado de PEG-IFN- α é o conjugado de PEG-IFN- α 2A que tem a fórmula:



20 em que R e R' são metila, X é NH, e n e n' são individualmente ou ambos 420 ou 520.

7. Kit, caracterizado pelo fato de que compreende um conjugado de PEG-IFN- α e ribavirina para o tratamento de infecções de hepatite B crônica.

25 8. Kit de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a dita infecção de hepatite B crônica é infecção de hepatite B crônica

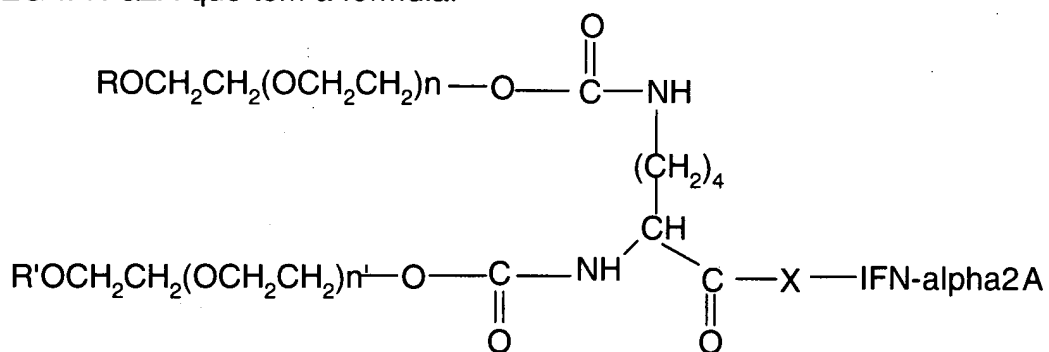
HBeAg-negativa ou HBeAg-positiva.

9. Kit de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a dita infecção de hepatite B crônica é infecção de hepatite B crônica HBeAg-negativa.

5 10. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 9, caracterizado pelo fato de que a quantidade do conjugado de PEG-IFN- α é de cerca de 33 a 540 μ g por semana.

10 11. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 10, caracterizado pelo fato de que a quantidade de ribavirina é de 400 a 1.200 mg diariamente.

12. Kit de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 11, caracterizado pelo fato de que o conjugado de PEG-IFN- α é o conjugado de PEG-IFN- α 2A que tem a fórmula:



em que R e R' são metila, X é NH, e n e n' são individualmente ou ambos
15 420 ou 520.

RESUMO

Patente de Invenção: **"USO DE CONJUGADOS DE PEG-IFN-ALFA EM ASSOCIAÇÃO COM RIBAVIRINA, BEM COMO KIT COMPREENDENDO OS MESMOS"**.

- 5 A presente invenção refere-se ao uso de conjugados de PEG-IFN- α em associação com ribavirina para o tratamento de infecções de hepatite B crônica. A presente invenção refere-se também um método para tratar infecções de hepatite B crônica em pacientes que necessitam de tal tratamento, compreendendo administrar uma quantidade de conjugado de
- 10 PEG-IFN- α em associação com uma quantidade de ribavirina, eficaz para tratar hepatite B crônica.