

STUDY SYNOPSIS

Titolo: Studio clinico di fase 2/3, multicentrico, adattativo, randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco, a gruppi paralleli, per valutare l'efficacia e la sicurezza di due differenti dosi di raloxifene in pazienti adulti paucisintomatici affetti da COVID-19.
Numero di Protocollo: Codice Sponsor RLX0120
Numero EudraCT: 2020-003936-25
Fase clinica: Studio adattativo di fase 2/3
Tempistiche dello studio Periodo di arruolamento: 12 settimane Periodo di screening: ≤ 1 settimana FPI-FPO: 4 settimane Periodo di trattamento: 2 settimane Periodo di Follow-Up: 2 settimane Valutazione della qualità della vita post-studio: 3 mesi
Razionale: Ad oggi non esistono approcci standard per curare pazienti COVID-19 paucisintomatici. Al momento l'unico intervento efficace per ridurre la mortalità di pazienti con una forma critica di COVID-19 è rappresentato dall'utilizzo di terapie di supporto vitale in unità di terapia intensiva. Diversi antivirali sono stati attualmente proposti come potenziali terapie contro il COVID-19. Tra i composti maggiormente promettenti ci sono anti-HIV PIs, che includono Lopinavir-ritonavir (LPV-r) e Darunavir-cobicistat (DRV-c), un inibitore ad ampio spettro della RNA polimerasi virale, Favipiravir (FAV) e Remdesivir. L'efficacia virale di questi farmaci è generalmente limitata in pazienti COVID-19 per via della ridotta biodisponibilità nei polmoni. Recentemente tramite la piattaforma di supercomputing chiamata Exscalate, sono state individuate diverse molecole promettenti in grado di combattere il virus SARS-CoV-2, le quali mostrano basse concentrazioni plasmatiche ed alte concentrazioni nei polmoni. Tra queste, raloxifene è stata individuata come promettente molecola per il trattamento di pazienti COVID-19 con sintomi lievi/moderati, per via della sua duplice azione: modulatore della replicazione ed attività del virus SARS-CoV-2 ed interazione con i recettori estrogenici (che sembrerebbero giocare un ruolo chiave nella protezione contro il virus attraverso una cascata di eventi che includono un effetto antinfiammatorio). Lo scopo di questo studio è quello di valutare l'efficacia di due differenti dosi di raloxifene (60 mg e 120 mg) per prevenire l'evoluzione del COVID-19 verso forme di malattia gravi e critiche e la sua capacità di ridurre il tempo medio di diffusione virale, in pazienti affetti da COVID-19 che non hanno ancora mostrato sintomi severi di patologia.
Design di studio: multicentrico, adattativo, randomizzato, controllato con placebo, a gruppi paralleli, per valutare efficacia e sicurezza, con le seguenti componenti adattative: <ul style="list-style-type: none">- Bracci multipli paralleli (2 bracci di trattamento ed 1 braccio di controllo con placebo);- Design sequenziale con 2 fasi (1 <i>interim</i> analisi + 1 analisi finale);- Ricalcolo della dimensione campionaria alla fase di <i>interim</i>;- Interruzione precoce per efficacia o futilità alla fase di <i>interim</i>.
Numero pianificato di centri / nazioni: 2/Italy
Centro coordinatore: Prof Emanuele Nicastrì, MD, Dipartimento di Clinica e Ricerca Preclinica INMI Lazzaro Spallanzani, Via Portuense, 292, 00149 Roma, Italia.

STUDY SYNOPSIS

IMP:	
TEST (T):	Capsula dura di gelatine contenente 60 mg di raloxifene, per somministrazione orale.
RIFERIMENTO (o controllo) (R):	Capsula dura di gelatine contenente placebo, per somministrazione orale.
Regime di dosaggio: Dopo la somministrazione di due dosi nel primo giorno di trattamento (una dose al mattino e una dose alla sera, ogni dose somministrata sarà costituita da 2 capsule contenenti 60 mg del principio attivo o placebo), i pazienti assumeranno una singola dose giornaliera di raloxifene (60 mg Gruppo 1, 120 mg Gruppo 2 – gruppi di trattamento) o placebo (Gruppo 3 – gruppo di controllo) per un periodo complessivo di due settimane. I pazienti verranno assegnati in maniera casuale (1:1:1) a ricevere raloxifene o placebo.	
Gruppi di trattamento:	
- <u>Gruppo 1:</u> riceverà 1 capsula di raloxifene 60 mg e 1 capsula di placebo.	
- <u>Gruppo 2:</u> riceverà 2 capsule di raloxifene 60 mg.	
Gruppo di controllo:	
- <u>Gruppo 3:</u> riceverà 2 capsule di placebo.	
Obiettivi:	
L'obiettivo di questo studio è quello di valutare l'efficacia e la sicurezza di due differenti dosi di raloxifene somministrato oralmente, comparate con placebo, in pazienti con diagnosi precoce di COVID-19 paucisintomatici. L'efficacia verrà valutata sulla base della proporzione di pazienti con infezione da SARS-CoV-2 non rilevabile al giorno 7 dopo la randomizzazione e la proporzione di pazienti che richiedono ossigeno-terapia supplementare e/o ventilazione meccanica entro il giorno 14 dalla randomizzazione. La sicurezza verrà inoltre valutata.	
Obiettivi primari:	
- valutazione dell'efficacia della terapia nel ridurre la proporzione di soggetti che hanno ancora virus nelle vie aeree superiori dopo 7 giorni di terapia;	
- valutazione dell'efficacia della terapia nel ridurre la proporzione di soggetti che richiedono ossigeno-terapia supplementare e/o ventilazione meccanica entro 14 giorni dall'inizio della terapia.	
Obiettivi secondari:	
- valutazione dell'efficacia della terapia nel ridurre la proporzione di soggetti che hanno ancora virus nelle vie aeree superiori dopo 14 e 28 giorni di terapia;	
- valutazione dell'efficacia della terapia nel ridurre la proporzione di soggetti che richiedono ossigeno-terapia supplementare e/o ventilazione meccanica entro 7 o 28 giorni dall'inizio della terapia;	
- profilo di sicurezza e tollerabilità del farmaco a 7, 14 e 28 giorni;	
- valutazione della temperatura corporea, parametri sanguigni e biochimici tra T0 e T28.	
Endpoints:	
Endpoints primari:	
Outcome virologico. Proporzione di partecipanti con infezione da SARS-CoV-2 non rilevabile mediante PCR al giorno 7 dopo la randomizzazione.	
Outcome clinico. Proporzione di partecipanti che non richiedono ossigeno-terapia supplementare (NEWS ≤ 2) e/o ventilazione meccanica al giorno 14 dopo la randomizzazione.	
End-points secondari:	
➤ Proporzione di partecipanti con infezione da SARS-CoV-2 non rilevabile mediante PCR al giorno 14 dopo la randomizzazione e al giorno 28 dopo la randomizzazione;	

STUDY SYNOPSIS

- Proporzione di partecipanti che non richiedono ossigeno-terapia supplementare (NEWS ≤ 2) e/o ventilazione meccanica ai giorni 7, 28 dopo la randomizzazione;
- Proporzione di pazienti in ogni categoria ai tempi 0, 7, 14 e 28 dopo la randomizzazione;
- Valore medio della categoria ai tempi 0, 7, 14 e 28 dopo la randomizzazione;
- Proporzione di partecipanti con qualsiasi evento avverso (grado ≤ 2 in accordo alla classificazione CTCAE) ai giorni 7, 14 e 28 dopo la randomizzazione;
- Proporzione di partecipanti con eventi avversi severi (grado ≥ 3 in accordo alla classificazione CTCAE) ai giorni 7, 14 e 28 dopo la randomizzazione;
- Proporzione di partecipanti ammessi in terapia intensive ai giorni 7, 14 e 28 dopo la randomizzazione;
- Proporzione di partecipanti sopravvissuti ai giorni 7, 14 e 28 dopo la randomizzazione;
- Variazione media del valore dei seguenti biomarkers, dal basale ai giorni 7, 14, 21 e 28 dopo la randomizzazione:
 - Emocromo completo con formula;
 - Funzione epatica (ALT, AST e bilirubina);
 - Coagulazione completa (PT, aPTT e INR);
 - Altri marcatori (D-dimero, CPK, LDH).
- Questionario sulla qualità di vita a 3 mesi dalla randomizzazione.

Valutazioni di sicurezza e tollerabilità: tutti i pazienti monitoreranno autonomamente i seguenti parametri e, se necessario, potranno contattare un medico. Eventi avversi emergenti del trattamento (TEAEs); segni vitali (pressione sanguigna [BP], frequenza cardiaca [PR], temperatura corporea [BT], saturazione transdermica di ossigeno (SpO₂).

(vedere appendix 1)

Procedura di design sequenziale: Il disegno sequenziale comprende una procedura a 3 bracci e 2 fasi che consente l'interruzione anticipata dello studio sulla base dell'efficacia e futilità di almeno un braccio attivo. In caso di proseguimento dello studio dopo l'*interim* analisi, il numero effettivo dei nuovi partecipanti sarà calcolato in base all'efficacia osservata del braccio più favorevole e promettente all'*interim* analisi. Le funzioni d'uso secondo Pocock e la funzione di potenza statistica condizionata verranno usate per il controllo degli errori di primo e secondo tipo, considerando che l'analisi ad interim verrà effettuata quando metà degli pazienti pianificati ad inizio studio raggiungono gli endpoint primari. L'aggiustamento secondo Bonferroni verrà usato per correggere la molteplicità di confronti di endpoint tra trattamenti.

Dimensione campionaria: La dimensione campionaria cambierà significativamente in accordo al risultato osservato nel campione di studio (in caso di mancata interruzione anticipata, la dimensione del campione prevista è tra 250 e 450 partecipanti randomizzati). In particolare è prevista la randomizzazione di 50 partecipanti per braccio nella fase intermedia (N=150) e successivamente, in caso di avanzamento dello studio fino alla fase finale, si prevede di randomizzare in media 174 pazienti aggiuntivi, a seconda della rivalutazione della dimensione campionaria e dell'eventuale drop di un braccio di trattamento non efficace. Eventuali drop-outs di pazienti randomizzati non verranno rimpiazzati.

Criteri di selezione:

Criteri di inclusione:

1. Firma del modulo di consenso informato, da parte del soggetto (o suo rappresentante legale autorizzato) prima di iniziare qualsiasi procedura legata allo studio clinico;
2. Uomini e donne ≥ 50 anni al momento dell'arruolamento;

STUDY SYNOPSIS

3. Il soggetto comprende e si impegna a rispettare le procedure di studio previste abbia disponibilità di un indirizzo email nonché di una connessione internet nel luogo di domicilio;
4. Il soggetto acconsente alla raccolta di tamponi nasofaringei e di campioni sanguigni come previsto dal protocollo di studio;
5. In laboratorio ha confermato l'infezione da SARS-CoV-2 come determinato da un test molecolare (PCR) approvato in Italia;
6. Il soggetto lamenta da meno di 7 giorni prima del risultato positivo al tampone, almeno uno dei seguenti sintomi, con intensità da lieve a moderata: febbre, dispnea, mal di testa, tosse, disgeusia, congiuntivite, vomito, diarrea, anosmia, dolori muscolari o corporei.;
7. Il soggetto non necessita di ossigeno-terapia supplementare, ventilazione meccanica;
8. Donne in età fertile e con vita sessuale attiva non devono desiderare di rimanere incinte entro 30 giorni dalla fine dello studio e devono utilizzare almeno uno dei seguenti metodi affidabili di contraccezione:
 - a. Contraccettivi sistemici, impiantabili, transdermici o iniettabili da almeno 2 mesi prima della visita di screening e fino a 30 giorni dopo la visita finale.
 - b. Un dispositivo intrauterino al rame [IUD] o preservativo femminile con spermicida o spugna contraccettiva con spermicida o diaframma con spermicida o cappuccio cervicale con spermicida da almeno 2 mesi prima della visita di screening e fino a 30 giorni dopo la visita finale.
 - c. Partner di sesso maschile che acconsente all'utilizzo di preservativi con spermicida.
 - d. Partner sterile

Le partecipanti donna non fertili o in stato di menopausa da almeno 1 anno, potranno essere ammesse a partecipare allo studio. Per tutte le partecipanti di sesso femminile in età fertile il test di gravidanza dovrà risultare negativo prima della prima assunzione del farmaco sperimentale, alla visita T7 e T14.

Criteri di esclusione:

1. Il soggetto è totalmente asintomatico per meno di 7 giorni prima del risultato positivo al tampone;
2. Il soggetto richiede ossigeno-terapia supplementare o ventilazione meccanica;
3. Il soggetto al momento della randomizzazione è già in trattamento con raloxifene o altri SERMs per altre condizioni mediche
4. Il soggetto sta partecipando ad un altro studio clinico o ha partecipato a qualsiasi studio 1 mese prima dell'inizio di questo trial. L'intervallo di 1 mese è calcolato come il tempo che intercorre tra l'ultima visita del precedente studio e il primo giorno del presente studio (data di firma del modulo di consenso informato);
5. Anormalità all'esame fisico, clinicamente significative, che potrebbero interferire con gli obiettivi dello studio;
6. *Malattie:*
 - infezione da HIV (sulla base dell'anamnesi),
 - storia clinica di ictus e/o tromboembolismo venoso,
 - insufficienza renale grave: Malattia Renale Cronica (CKD) stadio 3 o maggiore (eGFR <60 ml/min/m²), o CKD stadio 4 o maggiore (eGFR <15 ml/min/m²),
 - insufficienza epatica (Child-Pugh classe A o maggiore);
 - segni o sintomi di cancro endometriale;
 - presenza di ipoalbuminemia (albumina < 3.5 g/dL) che potrebbe interferire con lo scopo dello studio.
7. Malattie autoimmuni in terapia al momento della randomizzazione;
8. Rischio di trombosi venosa o qualsiasi condizione/patologia che potrebbe portare ad estendere il periodo di immobilità;
9. Ipersensibilità accertata o presunta al principio attivo (raloxifene) e/o agli eccipienti o reazioni allergiche in generale, che lo Sperimentatore ritiene possano influenzare l'esito dello studio;
10. *Farmaci:* in particolare colestiramine (o qualsiasi resina a scambio ionico), farmaci utilizzati per il trattamento del cancro al seno, precoce o avanzato (inclusa la terapia adiuvante), warfarin, uso di qualsiasi farmaco antiretrovirale, qualsiasi farmaco che non può essere co-somministrato con il composto sperimentale.
11. *Gravidanza:* test di gravidanza positivo o mancante prima della prima assunzione del farmaco sperimentale o al giorno 1, donne gravide o che allattano;
12. Donne e uomini fertili devono acconsentire all'utilizzo di almeno una delle forme primarie di contraccezione per tutta la durata dello studio.

STUDY SYNOPSIS

Piano statistico e analisi dei dati:

Questo è uno studio clinico a bracci multipli paralleli, randomizzato, controllato con l'obiettivo di dimostrare la superiorità del raloxifene somministrato per via orale rispetto al placebo, in termini di esito virologico o clinico.

La dimensione campionaria dello studio è stata effettuata basandosi sulle seguenti ipotesi:

- **Ipotesi virologica:** Il trattamento precoce con antivirali aumenta la percentuale di pazienti con SARS-CoV-2 non rilevabile nel tratto respiratorio superiore al giorno 7 dopo la terapia, dal 25% al 50%;
- **Ipotesi clinica:** Il trattamento precoce con antivirali aumenta la percentuale di partecipanti che si riprendono senza bisogno di ventilazione meccanica e/o ossigeno-terapia supplementare entro il 14° giorno dopo la terapia, dal 50% al 75%.

Sulla base di queste assunzioni, la dimensione del campione pianificata consentirà di raggiungere una potenza statistica maggiore di 80% per dimostrare la superiorità del raloxifene rispetto al placebo in termini di una delle due variabili primarie, mantenendo l'errore di primo tipo ad una coda sotto 0,025.

Statistiche riassuntive verranno presentate per variabili quantitative (numero di osservazioni, media, deviazione standard, mediana, minimo e massimo) e per variabili qualitative (numero e percentuale per categoria).

La proporzione di soggetti con SARS-CoV-2 non rilevabile al giorno 7 post-randomizzazione e la proporzione di soggetti che non necessitano di ventilazione meccanica e/o ossigeno-terapia supplementare ($NEWS \leq 2$) al giorno 14 post-randomizzazione verranno analizzati e confrontati tra trattamenti (raloxifene versus placebo) per mezzo di un modello di regressione logistica.

Tutti gli endpoints secondari saranno analizzati ad ogni timepoint disponibile mediante statistiche descrittive e test parametrici appropriati. La variazione rispetto il valore basale e tabelle di scostamento rispetto al basale saranno riassunte per tutte le visite post-basali, se applicabile.

Gli Eventi Avversi verranno presentati in termini di numero di AE ed incidenza. Altri parametri di sicurezza saranno riassunti per trattamento ad ogni visita disponibile attraverso statistiche descrittive.

La popolazione per l'analisi della sicurezza (Safety Set – SAF) e per l'analisi dell'efficacia (Full Analysis Set – FAS) saranno composte da tutti i pazienti randomizzati che riceveranno almeno una dose del farmaco sperimentale. La popolazione SAF sarà analizzata in base al trattamento effetti vivamente ricevuto; la popolazione FAS sarà analizzata secondo il principio ITT (Intent-to-Treat), ossia in base all'assegnazione del trattamento. Le analisi di efficacia primaria e secondaria saranno condotte sulla popolazione FAS mentre la popolazione SAF sarà utilizzata per le analisi di sicurezza.

Il piano statistico verrà emesso con elaborazioni più tecniche e dettagliate delle principali metodologie statistiche che verranno utilizzate. Qualsiasi deviazione del piano statistico originale sarà descritta nel report clinico dello studio.

Appendix 1

Parametri biochimici (Screening & T0, T7, T14, T21, T28)

Sodium
Potassium
Chloride
Urea
Uric acid
Creatinine
Calcium
Inorganic phosphorus
Fasting Glucose
Total and direct bilirubin
Total protein
Proteins
Albumin
Globulin
Alkaline phosphatase
AST
ALT
Gamma glutamyl transferase
Total Cholesterol
Triglycerides

Altri marcatori (Screening & T0, T7, T14, T21, T28)

D-dimer;
Creatine phosphokinase (CPK);
dehydrogenase (LDH).

Parametri ematologici (Screening & T0, T7, T14, T21, T28)

Haemoglobin
Red cell count
Packed cell volume
Mean cell volume
Mean cell haemoglobin
Mean cell haemoglobin concentration
Platelet count
White cell count
Neutrophils
Lymphocytes
Monocytes
Eosinophils
Basophils

Coagulazione (Screening & T0, T7, T14, T21, T28)

Prothrombin time
Activated partial thromboplastin time
INR

Virologia (Screening & T0, T7, T14, T21, T28)

PCR