

EI58621R/EX7684R

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo n. 3773593

a nome di:

Incyte Corporation

“Trattamento dell'idrosadenite suppurativa utilizzando inibitori di JAK”

DESCRIZIONE

La presente domanda rivendica il beneficio della Domanda Provvisoria Statunitense No. 62/650.600, depositata il 30 marzo 2018.

CAMPO TECNICO

La presente domanda fornisce composti che modulano l'attività della Janus chinasi (JAK) 1 e/o 2 per uso in metodi per il trattamento dell'idrosadenite suppurativa (HS).

FONDAMENTO

Le protein chinasi (PK) regolano diversi processi biologici tra cui la crescita, la sopravvivenza, la differenziazione delle cellule, la formazione degli organi, la morfogenesi, la neovascolarizzazione, la riparazione dei tessuti, e la rigenerazione, tra gli altri. Le protein chinasi svolgono anche ruoli specializzati in una moltitudine di malattie umane tra cui il cancro. Le citochine, polipeptidi o glicoproteine a basso peso molecolare, regolano molte vie coinvolte nella risposta infiammatoria dell'ospite alla sepsi. Le citochine influenzano la differenziazione, la proliferazione e l'attivazione delle cellule, e possono modulare risposte sia pro-infiammatorie che anti-infiammatorie per consentire all'ospite di reagire in modo appropriato ai patogeni. La segnalazione di un'ampia gamma di citochine coinvolge la famiglia delle Janus chinasi (JAK) di protein tirosin-chinasi e i Trasduttori del Segnale e Attivatori della Trascrizione (STAT). Ci sono quattro JAK di mammifero note: JAK1 (Janus chinasi-1), JAK2, JAK3 (nota anche come Janus chinasi, leucocita; JAKL; e L-JAK), e TYK2 (proteina tirosin-chinasi 2).

Risposte immunitarie e infiammatorie stimulate da citochine contribuiscono alla patogenesi di malattie: patologie quale l'immunodeficienza combinata severa (SCID) derivano dalla soppressione del sistema immunitario, mentre una risposta immunitaria/infiammatoria iperattiva o inappropriata contribuisce alla patologia di malattie autoimmuni (*p. es.*, asma, lupus eritematoso sistemico, tiroidite, miocardite), e malattie quali la sclerodermia e l'osteoartrite (Ortmann, R. A., T. Cheng, *et al.* (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

Deficienze nell'espressione di JAK sono associate a molti stati patologici. Ad esempio, topi *Jak1*^{-/-} alla nascita sono più piccoli del normale, non riescono a succhiare il latte, e muoiono perinatalmente (Rodig, S. J., M. A. Meraz, *et al.* (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Gli embrioni di topi *Jak2*^{-/-} sono anemici e muoiono intorno al giorno

12,5 post-coitum a causa dell'assenza di eritropoiesi definitiva.

Si ritiene che la via JAK/STAT, ed in particolare tutte e quattro le JAK, svolgano un ruolo nella patogenesi della risposta asmatica, della broncopneumopatia ostruttiva cronica, della bronchite, e di altre malattie infiammatorie del tratto respiratorio inferiore collegate. Molteplici citochine che segnalano attraverso le JAK sono state collegate a malattie/condizioni infiammatorie del tratto respiratorio superiore, quali quelle che colpiscono il naso e i seni paranasali (*p. es.*, la rinite e la sinusite), indipendentemente dal fatto che si tratti di reazioni allergiche classiche o meno. La via JAK/STAT è stata implicata anche in malattie/condizioni infiammatorie dell'occhio e in risposte allergiche croniche.

L'attivazione di JAK/STAT nei cancro può avvenire mediante stimolazione da parte di citochine (*p. es.* IL-6 o GM-CSF) o mediante una riduzione dei soppressori endogeni di segnalazione attraverso JAK quali un SOCS (soppressore o segnalazione delle citochine) o un PIAS (inibitore proteico di STAT attivato) (Boudny, V., and Kovarik, J., *Neoplasms*. 49:349-355, 2002). L'attivazione di segnalazione attraverso STAT, così come di altre vie a valle delle JAK (*p. es.*, Akt), è stata correlata con una prognosi sfavorevole in molti tipi di cancro (Bowman, T., *et al. Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Livelli elevati di citochine circolanti che segnalano attraverso JAK/STAT svolgono un ruolo causale nella cachessia e/o nella *fatigue* cronica. Come tale, l'inibizione di JAK può essere utile per pazienti oncologici per ragioni che vanno oltre la potenziale attività antitumorale.

La tirosin-chinasi JAK2 può essere utile per pazienti con disordini mieloproliferativi, *p. es.* policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), metaplasia mieloide con mielofibrosi (MMM) (Levin, *et al., Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). L'inibizione della chinasi JAK2V617F diminuisce la proliferazione di cellule ematopoietiche, suggerendo JAK2 come potenziale bersaglio per l'inibizione farmacologica in pazienti con PV, ET, e MMM.

L'inibizione delle JAK può giovare a pazienti che soffrono di disordini immunitari cutanei quale psoriasi, e sensibilizzazione cutanea. Si ritiene che il mantenimento della psoriasi dipenda da un certo numero di citochine infiammatorie oltre a varie chemochine e fattori di crescita (JCI, 113:1664-1675), molti dei quali segnalano attraverso le JAK (*Adv Pharmacol.* 2000; 47:113-74).

Pertanto, c'è una necessità continua di agenti nuovi o migliorati che inibiscano chinasi quali le JAK per lo sviluppo

di prodotti farmaceutici nuovi e più efficaci che sono finalizzati all'aumento o alla soppressione delle vie immunitarie e infiammatorie, quale il trattamento dell'idrosadenite suppurativa. Questa domanda è diretta a tale necessità e ad altre.

WO 2017/143014 A1 descrive metodi per trattare il prurito in un soggetto che ne necessita comprendenti somministrare una quantità terapeutamente efficace di un inibitore di JAK, e metodi di somministrazione intranasale di inibitori di JAK per uso nel trattamento del prurito.

Harumi Ochi et al., "The effect of oral clindamycin and rifampicin combination therapy in patients with hidradenitis suppurativa in Singapore", Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, vol. 11, pagine 37-39, descrive una terapia di combinazione nel trattamento dell'idrosadenite suppurativa in un gruppo di pazienti asiatici a Singapore.

RIASSUNTO

La presente domanda fornisce un composto che inibisce JAK1 e/o JAK2, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, per uso in metodi di trattamento dell'idrosadenite suppurativa in un paziente che ne necessita.

In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale è selettivo per JAK1 e JAK2, che è selettivo rispetto a JAK3 e TYK2.

In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale è selettivo per JAK1 rispetto a JAK2, JAK3, e TYK2.

In alcune forme di realizzazione, il composto è ruxolitinib, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, il composto è ruxolitinib, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, in cui uno o più atomi di idrogeno sono rimpiazzati con atomi di deuterio.

In alcune forme di realizzazione, il sale è ruxolitinib fosfato.

In alcune forme di realizzazione, il composto è {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinolo]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-il}acetoneitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, il sale è sale dell'acido adipico di {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinolo]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-

il}acetoneitrile.

In alcune forme di realizzazione, il composto è 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidina-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, il sale è sale dell'acido fosforico di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidina-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide.

In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale viene somministrato al dosaggio di 15, 30, 60 o 90 mg su una base di base libera.

In alcune forme di realizzazione, il composto è ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetoneitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, il composto è ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetoneitrile monoidrato.

In alcune forme di realizzazione, i metodi comprendono inoltre somministrare un agente terapeutico aggiuntivo (*p. es.*, un antibiotico, un retinoide, un corticosteroide, un agente anti-TNF-alfa, o un immunosoppressore).

In alcune forme di realizzazione, la somministrazione del composto o del sale è topica. In alcune forme di realizzazione, la somministrazione del composto o del sale è orale.

In alcune forme di realizzazione, il metodo si traduce in un miglioramento del 10%, del 20%, del 30%, del 40%, o del 50% dell'HiSCR (Risposta Clinica alla Idrosadenite Suppurativa).

La presente domanda fornisce anche un composto che inibisce JAK1 e/o JAK2, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, per uso nel trattamento dell'idrosadenite suppurativa.

La presente domanda divulga anche l'uso di un composto che inibisce JAK1 e/o JAK2, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, per la preparazione di un medicamento per uso nel trattamento dell'idrosadenite suppurativa.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

La **Figura 1** illustra i singoli valori di espressione genica (MFI) per JAK1, per ogni replicato sperimentale in

cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di Composti da A a D. I cheratinociti sono stati stimolati con TNF α (25 ng/mL) e IFN- γ (25 ng/mL) in presenza/assenza di concentrazioni crescenti di inibitori di JAK. I dati sono presentati come livelli di espressione di JAK1 per ciascun gruppo.

La **Figura 2** illustra i singoli valori di espressione genica (MFI) per JAK2, per ogni replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di Composti da A a D. I cheratinociti sono stati stimolati con TNF α (25 ng/mL) e IFN- γ (25 ng/mL) in presenza/assenza di concentrazioni crescenti di inibitori di JAK. I dati sono presentati come livelli di espressione di JAK2 per ciascun gruppo.

La **Figura 3** illustra i singoli valori di espressione genica (MFI) per IL-1 α per ogni replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di Composti da A a D. I cheratinociti sono stati stimolati con TNF α (25 ng/mL) e IFN- γ (25 ng/mL) in presenza/assenza di concentrazioni crescenti di inibitori di JAK. I dati sono presentati come livelli di espressione di IL-1 α per ciascun gruppo.

La **Figura 4** illustra i singoli valori di espressione genica (MFI) per IL-6, per ogni replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di Composti da A a D. I cheratinociti sono stati stimolati con TNF α (25 ng/mL) e IFN- γ (25 ng/mL) in presenza/assenza di concentrazioni crescenti di inibitori di JAK. I dati sono presentati come livelli di espressione di IL-6 per ciascun gruppo.

La **Figura 5** illustra le singole concentrazioni proteiche (pg/mL) per IL-1 α , per ogni replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di Composti da A a D. I cheratinociti sono stati stimolati con TNF α (25 ng/mL) e IFN- γ (25 ng/mL) in presenza/assenza di concentrazioni crescenti di inibitori di JAK. I dati sono presentati come concentrazioni di IL-1 α per ciascun gruppo.

La **Figura 6** illustra le singole concentrazioni proteiche (pg/mL) per IL-6, per ogni replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di Composti da A a D. I cheratinociti sono stati stimolati con TNF α (25 ng/mL) e IFN- γ (25 ng/mL) in presenza/assenza di concentrazioni crescenti di inibitori di JAK. I dati sono presentati come concentrazioni di IL-6 per ciascun gruppo.

La **Figura 7** illustra l'espressione genica (MFI) di JAK1, JAK3, e TYK2 nella cute di controlli sani e soggetti con idrosadenite suppurativa. I dati sono presentati come livelli di espressione genica di JAK1, JAK3, o TYK2 per

ciascun Controllo Sano (n=4) e soggetto con Idrosadenite Suppurativa (n=41).

La **Figura 8** illustra l'espressione genica (MFI) di STAT1, STAT2, e STAT3 nella cute di controlli sani e soggetti con idrosadenite suppurativa. I dati sono presentati come livelli di espressione genica di STAT1, STAT2, o STAT3 per ciascun Controllo Sano (n=4) e soggetto con Idrosadenite Suppurativa (n=41).

La **Figura 9** illustra l'espressione genica (MFI) di IRAK1, IRAK2, e IRAK4 nella cute di controlli sani e soggetti con idrosadenite suppurativa. I dati sono presentati come livelli di espressione genica di IRAK1, IRAK2, o IRAK4 per ciascun Controllo Sano (n=4) e soggetto con Idrosadenite Suppurativa (n=41).

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

La presente domanda fornisce, *inter alia*, un composto che inibisce JAK1 e/o JAK2, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, per uso in un metodo di trattamento dell'idrosadenite suppurativa in un paziente che ne necessita. Il metodo comprende somministrare una quantità terapeuticamente efficace di composto che inibisce JAK1 e/o JAK2, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

Il metodo descritto nella presente utilizzano composto o sali che sono inibitori di JAK1 e/o JAK2. In alcune forme di realizzazione, il composto è:

ruxolitinib;

ruxolitinib, in cui uno o più atomi di idrogeno sono rimpiazzati con atomi di deuterio;

{ 1-{ 1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile;

4-{ 3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carbossammide;

[3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-1-(1-{ 2-(trifluorometil)pirimidin-4-il}carbonil)piperidin-4-il]azetidin-3-il}acetoneitrile;

4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide;

((2R,5S)-5-{ 2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-

il)acetonitrile;

3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-

il]propanonitrile;

3-(1-[1,3]ossazolo[5,4-b]piridin-2-ilpirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-

il]propanonitrile;

4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrile;

4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrile;

[trans-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-3-(4-{[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil}piperazin-1-il)ciclobutil]acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(3-idrossiazetidina-1-il)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(2S)-2-(idrossimetil)pirrolidina-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(2R)-2-(idrossimetil)pirrolidina-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

4-(4-{3-[(dimetilammino)metil]-5-fluorofenossi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrile;

5-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carbossammide;

4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide;

5-{3-(cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carbossammide;

{1-(cis-4-{[6-(2-idrossietil)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-[(etilammino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-(1-idrossi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-[[3R]-3-idrossipirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-[[3S]-3-idrossipirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[[1S]-2-idrossi-1-metiletil]ammino}metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil} acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[[2R]-2-idrossipropil]ammino}metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil} acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[[2S]-2-idrossipropil]ammino}metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil} acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-(2-idrossietil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil} acetoneitrile;

o un sale farmaceuticamente accettabile di qualsiasi dei suddetti.

In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale è selettivo per JAK1 e JAK2 rispetto a JAK3 e TYK2. In alcune forme di realizzazione, il composto è 3-ciclopentil-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. In alcune forme di realizzazione, il composto è (3R)-3-ciclopentil-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile (ruxolitinib), o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. Ruxolitinib ha una IC₅₀ minore di 10 nM ad 1 mM di ATP (saggio A) a livello di JAK1 e JAK2. 3-Ciclopentil-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-

il]propanonitrile e ruxolitinib possono essere prodotti mediante la procedura descritta in USA 7.598.257 (Esempio 67), depositato il 12 dicembre 2006. In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è sale dell'acido fosforico di (3R)-3-ciclopentil-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile. Il sale dell'acido fosforico può essere prodotto come descritto nel brevetto USA 8.722.693.

In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale è un inibitore di JAK1. In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale è selettivo per JAK1 rispetto a JAK2, JAK3 e TYK2. Ad esempio, alcuni dei composti descritti nella presente, o un sale farmaceuticamente accettabile degli stessi, inibiscono preferenzialmente JAK1 rispetto a uno o più di JAK2, JAK3, e TYK2. JAK1 svolge un ruolo centrale in un certo numero di vie di segnalazione di citochine e di fattori di crescita che, se disregolate, possono comportare stati patologici o contribuirvi. Ad esempio, i livelli di IL-6 sono elevati nell'artrite reumatoide, una malattia in cui è stato suggerito che ha effetti dannosi (Fonesca, et al., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Poiché l'IL-6 segnala, almeno in parte, attraverso JAK1, l'IL-6 può essere indirettamente attraverso inibizione di JAK1, con conseguente potenziale beneficio clinico (Guschin, et al. *Embo J* 14: 1421, 1995; Smolen, et al. *Lancet* 371:987, 2008). Inoltre, in alcuni cancri JAK1 è mutato con conseguente crescita e sopravvivenza delle cellule tumorali costitutiva indesiderata (Mullighan, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106:9414-8, 2009; Flex, *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). In altre malattie autoimmuni e cancri, livelli sistemici elevati di citochine infiammatorie che attivano JAK1 possono anche contribuire alla malattia e/o a sintomi associati. Pertanto, pazienti con tali malattie possono trarre beneficio dall'inibizione di JAK1. Inibitori selettivi di JAK1 possono essere efficaci evitando al contempo effetti non necessari e potenzialmente indesiderati dell'inibizione di altre JAK chinasi.

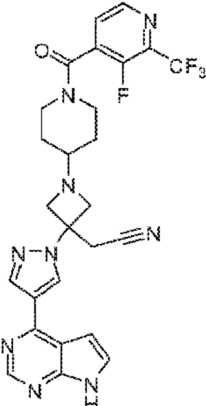
L'idrosadenite suppurativa è caratterizzata da significativa infiammazione cutanea; tuttavia, ci sono pubblicazioni limitate che delineano l'infiammazione (Hoffman et al., *PLOS One*, 28 settembre 2018, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203672>). Nella presente sono presentati Esempi che supportano l'ipotesi che l'infiammazione sia guidata, in gran parte, da vie mediate da JAK/STAT. Esempi C, D ed E illustrano livelli elevati di espressione genica di JAK/STAT nella cute di pazienti con HS rispetto alla cute di soggetti sani. Inoltre, Esempi C, D ed E mostrano che citochine pro-infiammatorie che è noto che sono elevate in HS (TNF-alfa e IFN-gamma)

inducono la via JAK/STAT nei cheratinociti in coltura e che questa induzione può essere ridotta dall'aggiunta di inibitori di JAK. Pertanto, pazienti con HS possono trarre beneficio dall'inibizione di JAK1. Inibitori selettivi di JAK1 possono essere efficaci evitando al contempo effetti inutili e potenzialmente indesiderati dell'inibizione di altre JAK chinasi.

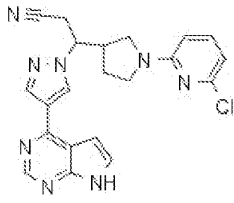
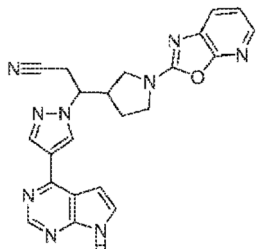
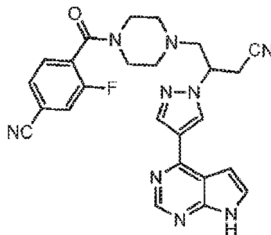
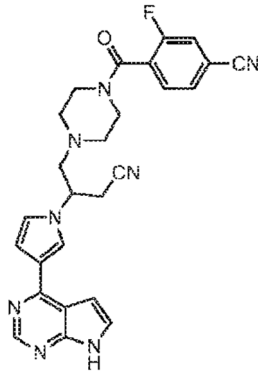
In alcune forme di realizzazione, il composto o il sale inibisce JAK1 preferenzialmente rispetto a JAK2 (*p. es.*, hanno un rapporto $IC_{50} \text{ JAK2/JAK1} > 1$). In alcune forme di realizzazione, i composti o i sali sono circa 10 volte più selettivi per JAK1 rispetto a JAK2. In alcune forme di realizzazione, i composti o i sali sono circa 3 volte, circa 5 volte, circa 10 volte, circa 15 volte, o circa 20 volte più selettivi per JAK1 rispetto a JAK2 come calcolato misurando l' IC_{50} a 1 mM di ATP (si veda l'Esempio A).

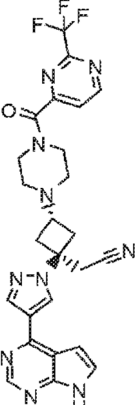
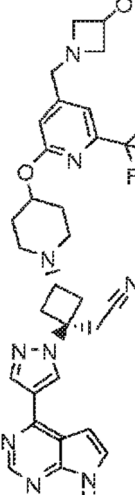
In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è un composto di Tabella 1, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. I composti in Tabella 1 sono inibitori selettivi di JAK1 (selettivi rispetto a JAK2, JAK3, e TYK2). I valori di IC_{50} ottenuti mediante il metodo di Esempio A ad 1 mM di ATP sono mostrati in Tabella 1.

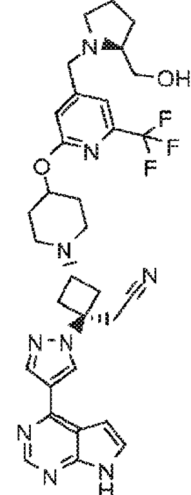
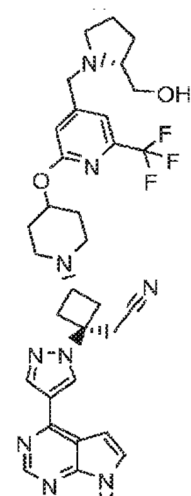
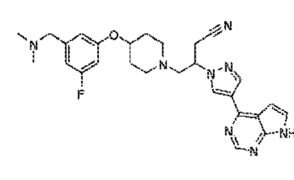
Tabella 1

Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC_{50} (nM)	JAK2 / JAK1
1	USA 2011/0224190 (Esempio 1)	{1-[1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinil]piperidin-4-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidil}acetoneitrile		+	>10

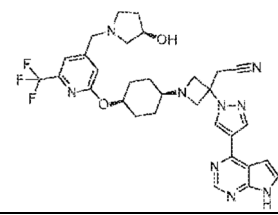
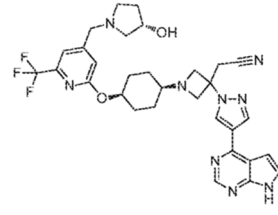
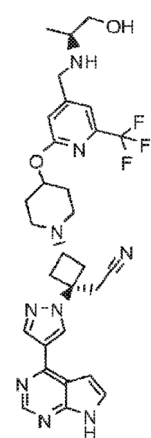
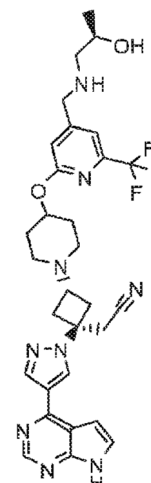
Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
2	USA 2011/0224190 (Esempio 154)	4-[3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-1-il]-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carbossamide		+	>10
3	USA 2011/0224190 (Esempio 85)	[3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-1-(1-{[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil}piperidin-4-il)azetidina-3-il]acetoneitrile		+	>10
4	USA 2014/0343030 (Esempio 7)	4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidina-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide		+++	>10
5	USA 2014/0121198 (Esempio 20)	((2R,5S)-5-[2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il]tetraidro-2H-piran-2-il)acetoneitrile		++	>10

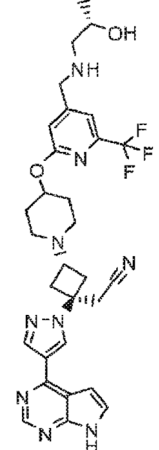
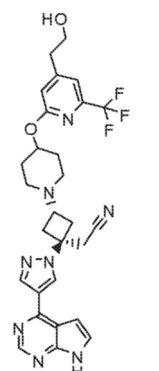
Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
6	USA 2010/0298334 (Esempio 2) ^a	3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile		+	>10
7	USA 2010/0298334 (Esempio 13c)	3-(1-[1,3]ossazolo[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile		+	>10
8	USA 2011/0059951 (Esempio 12)	4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrile		+	>10
9	USA 2011/0059951 (Esempio 13)	4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrile		+	>10

Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
10	USA 2012/0149681 (Esempio 7b)	[<i>trans</i> -1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-3-(4-[[2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]carbonil]piperazin-1-il)ciclobutil]acetonitrile		+	>10
11	USA 2012/0149681 (Esempio 157)	{ <i>trans</i> -3-(4-[[4-(3-idrossiazetidina-1-il)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrile		+	>10

Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
12	USA 2012/0149681 (Esempio 161)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-{{(2S)-2-(idrossimetil)pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrile		+	>10
13	USA 2012/0149681 (Esempio 162)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-{{(2R)-2-(idrossimetil)pirrolidin-1-il]metil}-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrile		+	>10
14	USA 2012/0149682 (Esempio 20) ^b	4-(4-{3-[(dimetilammino)metil]-5-fluorofenossi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]butanonitrile		+	>10

Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
15	USA 2013/0018034 (Esempio 18)	5-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carbossammide		+	>10
16	USA 2013/0018034 (Esempio 28)	4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide		+	>10
17	USA 2013/0018034 (Esempio 34)	5-{3-(cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carbossammide		+	>10
18	USA 2013/0045963 (Esempio 45)	{1-(<i>cis</i> -4-{[6-(2-idrossietil)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile		+	>10
19	USA 2013/0045963 (Esempio 65)	{1-(<i>cis</i> -4-{[4-((etilammino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile		+	>10
20	USA 2013/0045963 (Esempio 69)	{1-(<i>cis</i> -4-{[4-(1-idrossi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile		+	>10

Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
21	USA 2013/0045963 (Esempio 95)	{1-(<i>cis</i> -4-([4-((3R)-3-idrossipirrolidin-1-il]metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi)cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile		+	>10
22	USA 2013/0045963 (Esempio 95)	{1-(<i>cis</i> -4-([4-((3S)-3-idrossipirrolidin-1-il]metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi)cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il} acetoneitrile		+	>10
23	USA 2014/0005166 (Esempio 1)	{ <i>trans</i> -3-(4-([4-(((1S)-2-idrossi-1-metiletil]ammino)metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi)piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil} acetoneitrile		+	>10
24	USA 2014/0005166 (Esempio 14)	{ <i>trans</i> -3-(4-([4-(((2R)-2-idrossipropil]ammino)metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi)piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil} acetoneitrile		+	>10

Comp. No.	Prep.	Nome	Struttura	JAK1 IC ₅₀ (nM)	JAK2 / JAK1
25	USA 2014/0005166 (Esempio 15)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-({(2 <i>S</i>)-2-idrossipropil]ammino}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrile		+	>10
26	USA 2014/0005166 (Esempio 20)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-(2-idrossietil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetonitrile		+	>10

+ significa <10 nM (si veda Esempio A per condizioni di saggio)

++ significa ≤ 100 nM (si veda Esempio A per condizioni di saggio)

+++ significa ≤ 300 nM (si veda Esempio A per condizioni di saggio)

^a Dati per enantiomero 1

^b Dati per enantiomero 2

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-il}acetonitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è sale dell'acido adipico di {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidina-3-il}acetonitrile.

La sintesi e preparazione di {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-

d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il]acetonitrile e il sale dell'acido adipico dello stesso si possono trovare, *p. es.*, in Brevetto USA Pubbl. No. 2011/0224190, depositato il 9 marzo 2011, Brevetto USA Pubbl. No. 2013/0060026, depositato il 6 settembre 2012, e Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0256941, depositato il 5 marzo 2014.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è sale dell'acido fosforico di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide.

In qualche forma di realizzazione, il JAK1 è sale dell'acido cloridrico di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide.

In qualche forma di realizzazione, il JAK1 è sale dell'acido bromidrico di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide.

In qualche forma di realizzazione, il JAK1 è sale dell'acido solforico di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil] benzammide.

La sintesi e preparazione di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide e del sale dell'acido fosforico dello stesso si può trovare, *p. es.*, nel brevetto USA Pubbl. No. 2014/0343030, depositato il 16 maggio 2014.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetonitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetonitrile monoidrato.

Sintesi di ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetonitrile e caratterizzazione delle forme anidra e monoidrato dello stesso sono descritte in brevetto USA

Pubbl. No. 2014/0121198, depositato il 31 ottobre 2013 e in brevetto USA Pubbl. No. 2015/0344497, depositato il 29 aprile 2015.

In alcune forme di realizzazione, i composti di Tabella 1 sono preparati mediante le procedure di sintesi descritte in Brevetto USA Pubbl. No. 2011/0224190, depositato il 9 marzo 2011, Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0343030, depositato il 16 maggio 2014, Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0121198, depositato il 31 ottobre 2013, Brevetto USA Pubbl. No. 2010/0298334, depositato il 21 maggio 2010, Brevetto USA Pubbl. No. 2011/0059951, depositato il 31 agosto 2010, Brevetto USA Pubbl. No. 2012/0149681, depositato il 18 novembre 2011, Brevetto USA Pubbl. No. 2012/0149682, depositato il 18 novembre 2011, Brevetto USA Pubbl. 2013/0018034, depositato il 19 giugno 2012, Brevetto USA Pubbl. No. 2013/0045963, depositato il 17 agosto 2012, e Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0005166, depositato il 17 maggio 2013.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 è selezionato dai composti, o da sali farmaceuticamente accettabili degli stessi, di brevetto USA Pubbl. No. 2011/0224190, depositato il 9 marzo 2011, Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0343030, depositato il 16 maggio 2014, Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0121198, depositato il 31 ottobre 2013, Brevetto USA Pubbl. No. 2010/0298334, depositato il 21 maggio 2010, Brevetto USA Pubbl. No. 2011/0059951, depositato il 31 agosto 2010, Brevetto USA Pubbl. No. 2012/0149681, depositato il 18 novembre 2011, Brevetto USA Pubbl. No. 2012/0149682, depositato il 18 novembre 2011, Brevetto USA Pubbl. 2013/0018034, depositato il 19 giugno 2012, Brevetto USA Pubbl. No. 2013/0045963, depositato il 17 agosto 2012, e Brevetto USA Pubbl. No. 2014/0005166, depositato il 17 maggio 2013.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 può essere un composto isotopicamente marcato, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. Un composto "isotopicamente" o "radio-marcato" è un composto della divulgazione dove uno o più atomi sono rimpiazzati o sostituiti con un atomo avente una massa atomica o un numero di massa diverso dalla massa atomica o dal numero di massa tipicamente trovato in natura (cioè presente in natura). Radionuclidi idonei che possono essere incorporati in composti della presente divulgazione includono ma non si limitano a ^2H (scritto anche come D per deuterio), ^3H (scritto anche come T per trizio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I e ^{131}I . Ad esempio, in

un composto della presente divulgazione uno o più atomi di idrogeno possono essere rimpiazzati con atomi di deuterio, quale $-CD_3$ che viene sostituito a $-CH_3$).

Uno o più atomi costituenti dei composti descritti nella presente possono essere rimpiazzati o sostituiti con isotopi degli atomi in abbondanza naturale o non naturale. In alcune forme di realizzazione, il composto include almeno un atomo di deuterio. In alcune forme di realizzazione, il composto include due o più atomi di deuterio. In alcune forme di realizzazione, il composto include da 1 a 2, da 1 a 3, da 1 a 4, da 1 a 5 o da 1 a 6 atomi di deuterio. In alcune forme di realizzazione, tutti gli atomi di idrogeno in un composto possono essere rimpiazzati o sostituiti con atomi di deuterio.

Metodi di sintesi per includere isotopi in composti organici sono noti nella tecnica (Deuterium Labeling in Organic Chemistry di Alan F. Thomas (New York, N.Y., Appleton-Century-Crofts, 1971; The Renaissance of H/D Exchange di Jens Atzrodt, Volker Derdau, Thorsten Fey and Jochen Zimmermann, Angew. Chem. Int. Ed. 2007, 7744-7765; The Organic Chemistry of Isotopic Labelling di James R. Hanson, Royal Society of Chemistry, 2011). Composti isotopicamente marcati possono essere utilizzati in vari studi quale la spettroscopia NMR, in esperimenti sul metabolismo, e/o in saggi.

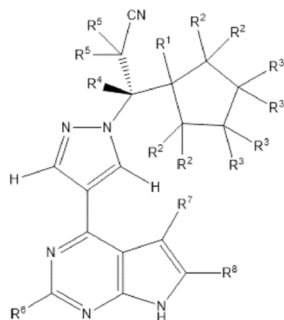
La sostituzione con isotopi più pesanti, quale il deuterio, può offrire alcuni vantaggi terapeutici derivanti da una maggiore stabilità metabolica, ad esempio, aumentata emivita *in vivo* o ridotte esigenze di dosaggio, e quindi può essere preferita in alcune circostanze. (si veda *p. es.*, A. Kerekes et. al. J. Med. Chem. 2011, 54, 201-210; R. Xu et. al. J. Label Compd. Radiopharm. 2015, 58, 308-312). In particolare, la sostituzione in uno o più siti metabolici può offrire uno o più dei vantaggi terapeutici.

Di conseguenza, in alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è un composto, in cui uno o più atomi di idrogeno nel composto sono rimpiazzati con atomi di deuterio, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è ruxolitinib, in cui uno o più atomi di idrogeno sono rimpiazzati con atomi di deuterio, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è qualsiasi dei composti in brevetto USA 9249149, o un sale

farmaceuticamente accettabile degli stessi. In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è CTP-543, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

In alcune forme di realizzazione, il composto è un composto di Formula I:



o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, in cui:

R¹ è selezionato tra H e D;

ogni R² è selezionato indipendentemente tra H e D, a condizione che ogni R² attaccato a un carbonio comune sia lo stesso;

ogni R³ è selezionato indipendentemente tra H e D, a condizione che ogni R³ attaccato a un carbonio comune sia lo stesso;

R⁴ è selezionato tra H e D;

ogni R⁵ è lo stesso ed è selezionato tra H e D; e

R⁶, R⁷, e R⁸ sono selezionati ognuno indipendentemente tra H e D; a condizione che quando R¹ è H, ogni R² e ogni R³ sono H, R⁴ è H, e ognuno di R⁶, R⁷, e R⁸ è H, allora ogni R⁵ sia D.

In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è un composto di Formula I selezionato tra i seguenti composti da 100 a 130 nella tabella di seguito (in cui R⁶, R⁷, e R⁸ sono ognuno H), o un sale farmaceuticamente accettabile degli stessi. In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK1 e/o JAK2 è un composto di Formula I selezionato tra i seguenti composti da 200 a 231 nella tabella di seguito (in cui R⁶, R⁷, e R⁸ sono ognuno D), o un sale farmaceuticamente accettabile degli stessi.

Composto...	R ¹	Ogni R ²	Ogni R ³	R ⁴	Ogni R ⁵
100	H	H	H	D	H
101	H	H	H	H	D
102	H	H	H	D	D
103	H	H	D	H	H
104	H	H	D	D	H
105	H	H	D	H	D
106	H	H	D	D	D
107	H	D	H	H	H
108	H	D	H	D	H
109	H	D	H	H	D
110	H	D	H	D	D
111	H	D	D	H	H
112	H	D	D	D	H
113	H	D	D	H	D
114	H	D	D	D	D
115	D	H	H	H	H
116	D	H	H	D	H
117	D	H	H	H	D
118	D	H	H	D	D
119	D	H	D	H	H
120	D	H	D	D	H
121	D	H	D	H	D
122	D	H	D	D	D
123	D	D	H	H	H
124	D	D	H	D	H
125	D	D	H	H	D
126	D	D	H	D	D
127	D	D	D	H	H
128	D	D	D	D	H
129	D	D	D	H	D
130	D	D	D	D	D

200	H	H	H	D	H
201	H	H	H	H	D
202	H	H	H	D	D
203	H	H	D	H	H
204	H	H	D	D	H
205	H	H	D	H	D
206	H	H	D	D	D
207	H	D	H	H	H
208	H	D	H	D	H
209	H	D	H	H	D
210	H	D	H	D	D
211	H	D	D	H	H
212	H	D	D	D	H
213	H	D	D	H	D
214	H	D	D	D	D
215	D	H	H	H	H
216	D	H	H	D	H
217	D	H	H	H	D
218	D	H	H	D	D
219	D	H	D	H	H
220	D	H	D	D	H
221	D	H	D	H	D
222	D	H	D	D	D
223	D	D	H	H	H
224	D	D	H	D	H
225	D	D	H	H	D
226	D	D	H	D	D
227	D	D	D	H	H
228	D	D	D	D	H
229	D	D	D	H	D
230	D	D	D	D	D
231	H	H	H	H	H

Come usato nella presente, l'espressione "sostituito facoltativamente" significa non sostituito o sostituito. Come usato nella presente, il termine "sostituito" significa che un atomo di idrogeno viene rimosso e rimpiazzato con un sostituente. Va compreso che la sostituzione in corrispondenza di un dato atomo è limitata dalla valenza.

Come usato nella presente, il termine " C_{n-m} alchile", impiegato da solo o in combinazione con altri termini, si riferisce a un gruppo idrocarburico saturo che può essere a catena lineare o ramificato, avente da n a m atomi di carbonio. In alcune forme di realizzazione, il gruppo alchile contiene da 1 a 6, o da 1 a 3 atomi di carbonio. Esempi di porzioni alchile includono, ma non vi sono limitati, gruppi chimici quali metile, etile, n -propile, isopropile, n -butile, isobutile, *sec*-butile, *terz*-butile, n -pentile, 2-metil-1-butile, 3-pentile, n -esile, 1,2,2-trimetilpropile, e simili.

Come usato nella presente, il termine "alchilene", impiegato da solo o in combinazione con altri termini, si riferisce a un gruppo di legame alchile bivalente, che può essere ramificato o a catena lineare, dove i due sostituenti possono essere attaccati qualsiasi posizione del gruppo di legame alchilene. Esempi di gruppi alchilene includono, ma non vi si limitano, etan-1,2-diile, propan-1,3-diile, propan-1,2-diile, e simili.

Come usato nella presente, il termine " $HO-C_{1-3}$ -alchile" si riferisce a un gruppo di formula -alchilene-OH, in cui detto gruppo alchilene ha da 1 a 3 atomi di carbonio.

Come usato nella presente, il termine " $CN-C_{1-3}$ alchile" si riferisce a un C_{1-3} alchile sostituito con un gruppo ciano.

Come usato nella presente, il termine "ammino" si riferisce a un gruppo di formula $-NH_2$.

Come usato nella presente, il termine "di(C_{1-3} -alchil)ammino" si riferisce a un gruppo di formula $-N(\text{alchile})_2$, in cui i due gruppi alchile hanno ognuno, indipendentemente, da 1 a 3 atomi di carbonio.

Come usato nella presente, il termine " C_{1-3} alchilammino" si riferisce a un gruppo di formula $-NH(\text{alchile})$, in cui il gruppo alchile ha da 1 a 3 atomi di carbonio.

Come usato nella presente, il termine "di(C_{1-3} alchil)amminosolfonile" si riferisce a un gruppo di formula $-S(O)_2N(\text{alchile})_2$, in cui ogni gruppo alchile ha indipendentemente da 1 a 3 atomi di carbonio.

Come usato nella presente, il termine " C_{1-3} alchilsolfonile" si riferisce a un gruppo di formula $-S(O)_2$ -alchile, in cui il gruppo alchile ha da 1 a 3 atomi di carbonio.

Come usato nella presente, "alo" o "alogeno", impiegato da solo o in combinazione con altri termini, include fluoro, cloro, bromo, e iodio. In alcune forme di realizzazione, il gruppo alo è fluoro o cloro.

Come usato nella presente, il termine " C_{n-m} aloalchile", impiegato da solo o in combinazione con altri termini, si riferisce a un gruppo C_{n-m} alchile avente fino a $\{2(\text{da } n \text{ a } m)+1\}$ atomi di alogeno che possono essere uguali o diversi. In alcune forme di realizzazione, gli atomi di alogeno sono atomi di fluoro. In alcune forme di realizzazione, il gruppo alchile ha da 1 a 6 o da 1 a 3 atomi di carbonio. Gruppi aloalchile di esempio includono CF_3 , C_2F_5 , CHF_2 , CCl_3 , $CHCl_2$, C_2Cl_5 , e simili. In alcune forme di realizzazione, il gruppo aloalchile è un gruppo fluoroalchile.

Come usato nella presente, il termine " C_{1-3} fluoroalchile" si riferisce a un gruppo C_{1-3} alchile che può essere parzialmente o completamente sostituito con atomi di fluoro.

Come usato nella presente, il termine " C_{3-6} cicloalchile", impiegato da solo o in combinazione con altri termini, si riferisce a una porzione idrocarburica monociclica non-aromatica, avente da 3 a 6 atomi di carbonio, che può contenere facoltativamente uno o più gruppi alchenilene come parte della struttura ad anello. Uno o più atomi di carbonio che formano un anello di un gruppo cicloalchile possono essere ossidati per formare legami carbonile. Gruppi C_{3-6} cicloalchile esemplari includono ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, cicloesile, ciclopentenile, cicloesenile, cicloesadienile, e simili. In alcune forme di realizzazione, il gruppo cicloalchile è ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, o cicloesile.

Come usato nella presente, il termine " C_{3-6} cicloalchil- C_{1-3} alchile" si riferisce a un gruppo di formula - C_{1-3} alchilene- C_{3-6} cicloalchile.

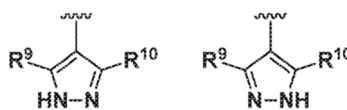
I composti descritti nella presente possono essere asimmetrici (*p. es.*, aventi uno o più stereocentri). Sono intesi tutti gli stereoisomeri, quali gli enantiomeri e i diastereomeri, a meno che non sia indicato diversamente. Composti che contengono atomi di carbonio sostituiti in modo asimmetrico possono essere isolati in forme otticamente attive o racemiche. Metodi su come preparare forme otticamente attive da materiali di partenza otticamente inattivi sono noti nella tecnica, quale mediante risoluzione di miscele racemiche o mediante sintesi stereoselettiva. Molti isomeri geometrici di olefine, doppi legami $C=N$, e simili possono anche essere presenti nei composti descritti nella

presente, e tutti tali isomeri stabili sono contemplati nella presente domanda. Isomeri geometrici *cis* e *trans* dei composti della presente domanda sono descritti e possono essere isolati come miscela di isomeri o come forme isomeriche separate. In alcune forme di realizzazione, il composto ha la configurazione (*R*). In alcune forme di realizzazione, il composto ha la configurazione (*S*).

La risoluzione di miscele racemiche di composti può essere effettuata mediante qualsiasi di numerosi metodi noti nella tecnica. Un metodo di esempio include ricristallizzazione frazionata utilizzando un acido di risoluzione chirale che è un acido organico che forma sale otticamente attivo. Agenti di risoluzione adatti per metodi di ricristallizzazione frazionata sono, ad esempio, acidi otticamente attivi, quali le forme D e L di acido tartarico, acido diacetiltartarico, acido dibenzoiltartarico, acido mandelico, acido malico, acido lattico o dei vari acidi canforsolfonici otticamente attivi quale l'acido β -canforsolfonico. Altri agenti di risoluzione adatti per metodi di cristallizzazione frazionata includono forme stereoisomericamente pure di α -metilbenzilammina (*p. es.*, forme *S* e *R*, o forme diastereomericamente pure), 2-fenilglicino, norefedrina, efedrina, N-metilefedrina, cicloesilettilammina, 1,2-diamminocicloesano, e simili.

La risoluzione di miscele racemiche può essere effettuata anche mediante eluizione su una colonna impaccata con un agente di risoluzione otticamente attivo (*p. es.*, dinitrobenzoilfenilglicina). La composizione del solvente di eluizione adatta può essere determinata da uno esperto nella tecnica.

Composti descritti nella presente includono forme tautomeriche. Le forme tautomeriche derivano dallo scambio di un singolo legame con un doppio legame adiacente insieme alla concomitante migrazione di un protone. Forme tautomeriche includono tautomeri prototropici che sono stati di protonazione isomerici aventi la stessa formula empirica e carica totale. Tautomeri prototropici di esempio includono coppie chetone-enolo, coppie ammido-acido immidico, coppie lattame-lattime, coppie enammina-immina, e forme ad anello dove un protone può occupare due o più posizioni di un sistema eterociclico, ad esempio, 1H- e 3H-imidazolo, 1H-, 2H- e 4H- 1,2,4-triazolo, 1H- e 2H- isoindolo, e 1H- e 2H-pirazolo. Le forme tautomeriche possono essere in equilibrio o stericamente bloccate in una forma mediante opportuna sostituzione. Ad esempio, si riconoscerà che l'anello pirazolico seguente può formare due tautomeri:



È inteso che le rivendicazioni coprono entrambi i tautomeri.

Tutti i composti, e sali farmaceuticamente accettabili degli stessi, possono trovarsi insieme ad altre sostanze quali l'acqua e solventi (*p. es.* idrati e solvati) o possono essere isolati.

In alcune forme di realizzazione, i composti descritti nella presente, o sali degli stessi, sono sostanzialmente isolati. Per "sostanzialmente isolato" si intende che il composto è almeno parzialmente o sostanzialmente separato dall'ambiente in cui è stato formato o rilevato. Separazione parziale può includere, ad esempio, una composizione arricchita nei composti descritti nella presente. Separazione sostanziale può includere composizioni contenenti almeno circa il 50%, almeno circa il 60%, almeno circa il 70%, almeno circa l'80%, almeno circa il 90%, almeno circa il 95%, almeno circa il 97%, o almeno circa il 99% in peso dei composti descritti nella presente, o di un sale degli stessi. Metodi per l'isolamento di composti e loro sali sono di routine nella tecnica.

L'espressione "farmaceuticamente accettabile" è impiegata nella presente per riferirsi a quei composti, materiali, quelle composizioni, e/o forme di dosaggio che sono, nell'ambito del sano giudizio medico, adatti/e all'uso a contatto con i tessuti di esseri umani e animali senza eccessiva tossicità, irritazione, risposta allergica, o altro problema o complicanza, commisurato a un ragionevole rapporto rischio/beneficio.

Le espressioni, "temperatura ambiente" e "temperatura della stanza" o "ta" come usate nella presente sono comprese nella tecnica, e si riferiscono generalmente a una temperatura, *p. es.* una temperatura di reazione, che è circa la temperatura della stanza in cui viene effettuata la reazione, ad esempio, una temperatura da circa 20 °C a circa 30 °C.

La presente domanda include anche sali farmaceuticamente accettabili dei composti descritti nella presente. Come usato nella presente, "sali farmaceuticamente accettabili" si riferisce a derivati dei composti divulgati in cui il composto progenitore viene modificato convertendo una porzione acido o base esistente nella sua forma di sale. Esempi di sali farmaceuticamente accettabili includono, ma non vi sono limitati, sali di acido organico o minerale di residui basici quali le ammine; sali organici o alcalini di residui acidi quali gli acidi carbossilici; e simili. I sali

farmaceuticamente accettabili della presente domanda includono i sali non tossici convenzionali del composto progenitore formati, ad esempio, da acidi inorganici o organici non tossici. I sali farmaceuticamente accettabili della presente domanda possono essere sintetizzati dal composto progenitore che contiene una porzione basica o acida mediante metodi chimici convenzionali. Generalmente, tali sali possono essere preparati facendo reagire le forme acide o basiche libere di questi composti con una quantità stechiometrica della base o dell'acido appropriata/o in acqua o in un solvente organico, o in una miscela dei due; in generale, sono preferiti mezzi non acquosi come etere, acetato di etile, alcoli (*p.es.* metanolo, etanolo, isopropanolo, o butanolo) o acetonitrile (ACN). Elenchi di sali adatti si trovano in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 e in *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977), ognuno dei quali è incorporato nella presente per riferimento nella sua interezza.

Come usato nella presente, il termine "mettere a contatto" si riferisce al mettere insieme porzioni indicate in un sistema *in vitro* o in un sistema *in vivo*. Ad esempio, "mettere a contatto" una JAK con un composto dell'invenzione include la somministrazione di un composto della presente domanda a un individuo o paziente, quale un essere umano, avente una JAK, come pure, ad esempio, l'introduzione di un composto dell'invenzione in un campione contenente un preparato cellulare o purificato contenente la JAK.

Come usato nella presente, il termine "soggetto", "individuo" o "paziente", usato in modo intercambiabile, si riferisce a qualsiasi animale, inclusi i mammiferi, preferibilmente topi, ratti, altri roditori, conigli, cani, gatti, suini, bovini, pecore, cavalli, o primati, e il più preferibilmente esseri umani. In alcune forme di realizzazione, il "soggetto", l'"individuo", o il "paziente" necessita di tale trattamento.

In alcune forme di realizzazione, gli inibitori sono somministrati in una quantità terapeuticamente efficace. Come usato nella presente, l'espressione "quantità terapeuticamente efficace" si riferisce alla quantità di composto attivo o agente farmaceutico che suscita la risposta biologica o medicinale che viene ricercata in un tessuto, in un sistema, in un animale, in un individuo o in un essere umano da un ricercatore, un veterinario, un medico o un altro clinico.

Come usato nella presente, il termine "trattare" o "trattamento" si riferisce a uno o più di (1) inibire la malattia; ad esempio, inibire una malattia, una condizione o un disordine in un individuo che sta sperimentando o manifestando

la patologia o la sintomatologia della malattia, della condizione o del disordine (cioè, arrestare l'ulteriore sviluppo della patologia e/o della sintomatologia); (2) migliorare la malattia; ad esempio, migliorare una malattia, una condizione o un disordine in un individuo che sta sperimentando o manifestando la patologia o la sintomatologia della malattia, della condizione o del disordine (cioè, invertire la patologia e/o la sintomatologia) come ad esempio diminuire la severità della malattia; o (3) prevenire la malattia, la condizione o il disordine in un individuo che può essere predisposto alla malattia, alla condizione o al disordine, ma non sperimenta o manifesta ancora la patologia o la sintomatologia della malattia. In alcune forme di realizzazione, trattare si riferisce a inibire o a migliorare la malattia. In alcune forme di realizzazione, trattare è prevenire la malattia.

Terapie di Combinazione

I metodi descritti nella presente possono comprendere inoltre somministrare uno o più agenti terapeutici aggiuntivi. L'uno o più agenti terapeutici aggiuntivi possono essere somministrati a un paziente simultaneamente o in sequenza.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un antibiotico. In alcune forme di realizzazione, l'antibiotico è clindamicina, doxiciclina, minociclina, trimetoprim-sulfametoxazolo, eritromicina, metronidazolo, rifampicina, moxifloxacina, dapsona, o una combinazione degli stessi. In alcune forme di realizzazione, l'antibiotico è clindamicina, doxiciclina, minociclina, trimetoprim-sulfametoxazolo, o eritromicina in combinazione con metronidazolo. In alcune forme di realizzazione, l'antibiotico è una combinazione di rifampicina, moxifloxacina, e metronidazolo. In alcune forme di realizzazione, l'antibiotico è una combinazione di moxifloxacina e rifampicina.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un retinoide. In alcune forme di realizzazione, il retinoide è etretinato, acitretina, o isotretinoina.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è uno steroide. In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un corticosteroide. In alcune forme di realizzazione, lo steroide è tale quale triamcinolone, desametasone, fluocinolone, cortisone, prednisone, prednisolone, o flumetolone.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un agente anti-TNF-alfa. In alcune forme di

realizzazione, l'agente anti-TNF-alfa è un anticorpo anti-TNF-alfa. In alcune forme di realizzazione, l'agente anti-TNF-alfa è infliximab o etanercept, o adalimumab.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un immunosoppressore. In alcune forme di realizzazione, l'immunosoppressore è metotrexato o ciclosporina A. In alcune forme di realizzazione, l'immunosoppressore è micofenolato mofetile o micofenolato sodico.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è finasteride, metformina, adapalene o acido azelaico.

In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende inoltre somministrare un agente terapeutico aggiuntivo selezionato tra IMiD, un agente anti-IL-6, un agente ipometilante, e un modificatore della risposta biologica (BRM).

Generalmente, un BRM è una sostanza prodotta da organismi viventi per trattare una malattia, che può trovarsi naturalmente nel corpo o può essere prodotta in laboratorio. Esempi di BRM includono IL-2, interferone, vari tipi di fattori stimolanti colonie (CSF, GM-CSF, G-CSF), anticorpi monoclonali quali abciximab, etanercept, infliximab, rituximab, trastuzumab, e ascorbato ad alta dose.

In alcune forme di realizzazione, l'agente ipometilante è un inibitore della DNA metiltransferasi. In alcune forme di realizzazione, l'inibitore della DNA metiltransferasi è selezionato tra 5 azacitidina e decitabina.

Generalmente, gli IMiD sono come agenti immunomodulatori. In alcune forme di realizzazione, l'IMiD è selezionato tra talidomide, lenalidomide, pomalidomide, CC-11006, e CC-10015.

In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende inoltre somministrare un agente terapeutico aggiuntivo selezionato tra globulina anti-timociti, fattore stimolante colonie di granulociti umano ricombinante (G-CSF), CSF di granulociti-monociti (GM-CSF), un agente stimolante l'eritropoiesi (ESA), e ciclosporina.

In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende inoltre somministrare al paziente un inibitore di JAK aggiuntivo. In alcune forme di realizzazione, l'inibitore di JAK aggiuntivo è barcitinib, tofacitinib, oclacitinib, filgotinib, gandotinib, lestaurtinib, momelotinib, bacritinib, PF-04965842, upadacitinib, peficitinib, fedratinib, cucurbitacina I, o CHZ868.

Uno o più agenti farmaceutici aggiuntivi, quali, ad esempio, agenti antinfiammatori, immunosoppressori, nonché inibitori di chinasi PI3K δ , mTor, Bcr-Abl, Flt-3, RAF e FAK, quali, ad esempio, quelli descritti in WO 2006/056399, che è incorporato nella presente per riferimento nella sua interezza, o altri agenti possono essere utilizzati in combinazione con i composti descritti nella presente per trattamento di malattie, disordini o condizioni associati a JAK. L'uno o più agenti farmaceutici aggiuntivi possono essere somministrati a un paziente simultaneamente o in sequenza.

Inibitori di Bcr-Abl di esempio includono i composti, e sali farmaceuticamente accettabili degli stessi, dei generi e delle specie divulgati in Brevetto USA No. 5.521.184, WO 04/005281, e USA Ser. No. 60/578.491.

Inibitori di Flt-3 adatti di esempio includono composti e loro sali farmaceuticamente accettabili, come divulgati in WO 03/037347, WO 03/099771, e WO 04/046120.

Inibitori di RAF adatti di esempio includono composti, e loro sali farmaceuticamente accettabili, come divulgati in WO 00/09495 e WO 05/028444.

Inibitori di FAK adatti di esempio includono composti, e loro sali farmaceuticamente accettabili, come divulgati in WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595, e WO 01/014402.

In alcune forme di realizzazione, uno o più dei composti dell'invenzione possono essere utilizzati in combinazione con uno o più altri inibitori di chinasi, incluso l'imatinib, in particolare per trattare pazienti resistenti a imatinib o a altri inibitori di chinasi.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è fluocinolone acetone (Retisert®), o rimexolone (AL-2178, Vexol, Alcon).

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è ciclosporina (Restasis®).

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è selezionato tra Dehydrex™ (Holle Labs), Civamide (Opko), sodio ialuronato (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), ciclosporina (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosterone, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), ecabet sodico (Senju-Ista), gefarnato (Santen), acido 15-(s)-idrossieicosatetraenoico (15(S)-HETE), cevilemina, doxiciclina (ALTY-0501, Alacrity), minociclina, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), ciclosporina A (Nova22007, Novagali),

ossitetraciclina (Duramicina, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-diidrossi-5-[6-[(3-iodofenil)metilammino]purin-9-il]-N-metil-ossolano-2-carbamile, Can-Fite Biopharma), voclosporina (LX212 o LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (analogo di resolvina sintetico, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazone (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Ophtalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritina (Senju), rebamipide (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (University of Pennsylvania e Temple University), pilocarpina, tacrolimus, pimecrolimus (AMS981, Novartis), loteprednolo etabonato, rituximab, diquafosol tetrasodico (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), deidroepiandrosterone, anakinra, efalizumab, micofenolato sodico, etanercept (Embrel®), idrossiclorochina, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), actemra, gemcitabina, oxaliplatino, L-asparaginasi, o talidomide.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un agente anti-angiogenico, un agonista colinergico, un modulatore del recettore TRP-1, un bloccante dei canali del calcio, un secretagogo della mucina, uno stimolante di MUC1, un inibitore della calcineurina, un corticosteroide, un agonista del recettore P2Y2, un agonista del recettore muscarinico, un inibitore di mTOR, un altro inibitore di JAK, un inibitore di chinasi Bcr-Abl, un inibitore di chinasi Flt-3, un inibitore di chinasi RAF, e un inibitore di chinasi FAK quali, ad esempio, quelli descritti in WO 2006/056399. In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un derivato di tetraciclina (*p. es.*, minociclina o doxiciclina). In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo si lega a FKBP12.

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è un agente alchilante o un agente reticolante il DNA; un agente anti-metabolita/demetilante (*p. es.*, 5-fluorouracile, capecitabina o azacitidina); una terapia anti-ormonale (*p. es.*, antagonisti di recettori per ormoni, i SERM, o inibitore dell'aromatasi); un inibitore della mitosi (*p. es.* vincristina o paclitaxel); un inibitore di topoisomerasi (I o II) (*p. es.* mitoxantrone e irinotecan); un induttori dell'apoptosi (*p. es.* ABT-737); una terapia con acidi nucleici (*p. es.* antisenso o RNAi); ligandi di recettori nucleari (*p. es.* agonisti e/o antagonisti: acido all-trans retinoico o bexarotene); agenti di bersagliamento epigenetico quali gli inibitori dell'istone deacetilasi (*p. es.* vorinostat), gli agenti ipometilanti (*p. es.* decitabina); regolatori di stabilità

delle proteine quali gli inibitori di Hsp90, le molecole coniuganti o deconiuganti ubiquitina e/o ubiquitina simile; o un inibitore dell'EGFR (erlotinib).

In alcune forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo include un antibiotico, un antivirale, un antimicotico, un anestetico, agenti antinfiammatori tra cui antinfiammatori steroidei e non steroidei, e agenti antiallergici. Esempi di medicinali adatti includono amminoglicosidi quali amikacina, gentamicina, tobramicina, streptomina, netilmicina, e kanamicina; fluorochinoloni quali ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina, lomefloxacina, levofloxacina, e enoxacina; naftiridina; sulfonammidi; polimixina; cloramfenicolo; neomicina; paramomicina; colistimetato; bacitracina; vancomicina; tetracicline; rifampicina e suoi derivati ("rifampicine"); cicloserina; beta-lattami; cefalosporine; amfotericine; fluconazolo; flucitosina; natamicina; miconazolo; ketoconazolo; corticosteroidi; diclofenac; flurbiprofene; ketorolac; suprofen; cromolyn; lodoxamide; levocabastina; nafazolina; antazolina; feniramina; o antibiotico azalide.

Formulazioni Farmaceutiche e Forme di Dosaggio

Quando impiegati come prodotti farmaceutici, i composti dell'invenzione possono essere somministrati nella forma di composizioni farmaceutiche. Queste composizioni possono essere preparate in un modo ben noto nella tecnica farmaceutica, e possono essere somministrate per una varietà di vie, a seconda che si desideri un trattamento locale o sistemico e a seconda dell'area da trattare. La somministrazione può essere topica (inclusa transdermica, epidermica, oftalmica e a membrane mucose inclusa veicolazione intranasale, vaginale e rettale), polmonare (p. es. per inalazione o insufflazione di polveri o aerosol, incluso mediante nebulizzatore; intratracheale o intranasale), orale o parenterale. La somministrazione parenterale include iniezione o infusione endovenosa, intraarteriosa, sottocutanea, intraperitoneale intramuscolare; o somministrazione intracranica, p. es. intratecale o intraventricolare. La somministrazione parenterale può essere nella forma di una singola dose in bolo, o può essere, ad esempio, mediante una pompa a perfusione continua. Composizioni e formulazioni farmaceutiche per somministrazione topica possono includere cerotti transdermici, unguenti, lozioni, creme, gel, gocce, supposte, spray, liquidi e polveri. Possono essere necessari o desiderabili veicolanti farmaceutici convenzionali, basi acquose, in polvere o oleose, addensanti e simili.

In alcune forme di realizzazione, la somministrazione è topica. In alcune forme di realizzazione, la somministrazione è somministrazione topica alla cute.

In alcune forme di realizzazione la somministrazione è orale.

La presente invenzione include anche composizioni farmaceutiche che contengono, come principio attivo, il composto dell'invenzione o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, in combinazione con uno o più veicolanti farmaceuticamente accettabili (eccipienti). In alcune forme di realizzazione, la composizione è adatta per somministrazione topica. Nel produrre le composizioni dell'invenzione, il principio attivo viene tipicamente miscelato con un eccipiente, diluito con un eccipiente o racchiuso in un tale veicolante nella forma di, ad esempio, una capsula, una bustina, una cartina, o un altro contenitore. Quando l'eccipiente funge da diluente, può essere un materiale solido, semisolido, o liquido, che agisce come veicolo, veicolante o mezzo per il principio attivo. Pertanto, le composizioni possono essere nella forma di compresse, pillole, polveri, pastiglie, bustine, cachet, elisir, sospensioni, emulsioni, soluzioni, sciroppi, aerosol (come un solido o in un mezzo liquido), unguenti contenenti, ad esempio, fino al 10% in peso del composto attivo, capsule di gelatina dure e molli, supposte, soluzioni iniettabili sterili, e polveri confezionate sterili.

Nel preparare una formulazione, il composto attivo può essere macinato per fornire la dimensione delle particelle appropriata prima della combinazione con gli altri ingredienti. Se il composto attivo è sostanzialmente insolubile, può essere macinato fino a una dimensione delle particelle inferiore a 200 mesh. Se il composto attivo è sostanzialmente solubile in acqua, la dimensione delle particelle può essere regolata mediante macinazione per fornire una distribuzione sostanzialmente uniforme nella formulazione, *p. es.* circa 40 mesh.

I composti dell'invenzione possono essere macinati utilizzando procedure di macinazione note quale la macinazione ad umido per ottenere una dimensione delle particelle appropriata per formazione di compresse e per altri tipi di formulazione. Preparazioni finemente divise (nanoparticolato) dei composti dell'invenzione possono essere preparate mediante procedimenti noti nella tecnica, *p. es.*, si veda la Domanda Internazionale No. WO 2002/000196.

Alcuni esempi di eccipienti adatti includono lattosio, destrosio, saccarosio, sorbitolo, mannitolo, amidi, gomma

d'acacia, calcio fosfato, alginati, gomma adragante, gelatina, calcio silicato, cellulosa microcristallina, polivinilpirrolidone, cellulosa, acqua, sciroppo, e metilcellulosa. Le formulazioni possono inoltre includere: agenti lubrificanti quali talco, magnesio stearato, e olio minerale; agenti bagnanti; agenti emulsionanti e sospendenti; agenti conservanti quali metil- e propilidrossi-benzoati; agenti edulcoranti; e agenti aromatizzanti. Le composizioni dell'invenzione possono essere formulate in modo da fornire un rilascio rapido, sostenuto o ritardato del principio attivo dopo somministrazione al paziente impiegando procedure note nella tecnica.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica comprende cellulosa microcristallina silicizzata (SMCC) e almeno un composto descritto nella presente, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. In alcune forme di realizzazione, la cellulosa microcristallina silicizzata comprende circa il 98% di cellulosa microcristallina e circa il 2% di biossido di silicio p/p.

In alcune forme di realizzazione, la composizione è una composizione a rilascio sostenuto comprendente almeno un composto descritto nella presente, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, e almeno un veicolante farmaceuticamente accettabile. In alcune forme di realizzazione, la composizione comprende almeno un composto descritto nella presente, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, e almeno un componente selezionato tra cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato, idrossipropilmetilcellulosa, e polietilene ossido. In alcune forme di realizzazione, la composizione comprende almeno un composto descritto nella presente, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, e cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato, e idrossipropilmetilcellulosa. In alcune forme di realizzazione, la composizione comprende almeno un composto descritto nella presente, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, e cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato, e polietilene ossido. In alcune forme di realizzazione, la composizione comprende inoltre magnesio stearato o biossido di silicio. In alcune forme di realizzazione, la cellulosa microcristallina è Avicel PH102™. In alcune forme di realizzazione, il lattosio monoidrato è Fast-flo 316™. In alcune forme di realizzazione, l'idrossipropil metilcellulosa è idrossipropil metilcellulosa 2208 K4M (p. es., Methocel K4 M Premier™) e/o idrossipropil metilcellulosa 2208 K100LV (p. es., Methocel K00LV™). In alcune forme di realizzazione, il polietilene ossido è polietilene ossido WSR 1105 (p. es., Polyox WSR 1105™).

In alcune forme di realizzazione, un processo di granulazione ad umido è utilizzato per produrre la composizione.

In alcune forme di realizzazione, un processo di granulazione a secco è utilizzato per produrre la composizione.

Le composizioni possono essere formulate in una forma di dosaggio unitario, ciascun dosaggio contenendo da circa 1 a circa 1.000 mg, da circa 1 mg a circa 100 mg, da 1 mg a circa 50 mg, e da circa 1 mg a 10 mg di principio attivo. Preferibilmente, il dosaggio è da circa 1 mg a circa 50 mg o da circa 1 mg a circa 10 mg di principio attivo.

In alcune forme di realizzazione, ogni dosaggio contiene circa 10 mg del principio attivo. In alcune forme di realizzazione, ogni dosaggio contiene circa 50 mg del principio attivo. In alcune forme di realizzazione, ogni dosaggio contiene circa 25 mg del principio attivo. Il termine "forme di dosaggio unitario" si riferisce a unità fisicamente discrete idonee come dosaggi unitari per soggetti umani e altri mammiferi, ciascuna unità contenendo una quantità predeterminata di materiale attivo calcolata produrre l'effetto terapeutico desiderato, in associazione a un eccipiente farmaceutico adatto.

In alcune forme di realizzazione, le composizioni comprendono da circa 1 a circa 1.000 mg, da circa 1 mg a circa 100 mg, da 1 mg a circa 50 mg, e da circa 1 mg a 10 mg di principio attivo. Preferibilmente, le composizioni comprendono da circa 1 mg a circa 50 mg o da circa 1 mg a circa 10 mg di principio attivo. Uno che ha una ordinaria esperienza nella tecnica si renderà conto che questo rappresenta composti o composizioni contenenti da circa 1 mg a circa 10 mg, da circa 1 mg a circa 20 mg, da circa 1 mg a circa 25 mg, da circa 1 mg a circa 50 mg del principio attivo.

In alcune forme di realizzazione, il dosaggio del composto, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, è di 15, 30, 60 o 90 mg su una base di base libera. In alcune forme di realizzazione, il dosaggio è di 15, 30, 60 o 90 mg su una base di base libera, di Composto 4, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso. In alcune forme di realizzazione, il dosaggio del composto, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, è di 15 mg su una base di base libera. In alcune forme di realizzazione, il dosaggio del composto, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, è di 30 mg su una base di base libera. In alcune forme di realizzazione, il dosaggio del composto, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, è di 60 mg su una base di base libera. In alcune forme di realizzazione, il dosaggio del composto, o di un sale farmaceuticamente accettabile dello

stesso, è di 90 mg su una base di base libera.

Il composto attivo può essere efficace su un ampio intervallo di dosaggio ed è generalmente somministrato in una quantità farmaceuticamente efficace. Resta inteso, tuttavia, che la quantità del composto effettivamente somministrata sarà solitamente determinata da un medico, in base alle relative circostanze, tra cui la condizione da trattare, la via di somministrazione scelta, l'effettivo composto somministrato, l'età, il peso e la risposta del singolo paziente, la severità dei sintomi del paziente, e simili.

Per preparare composizioni solide quali le compresse, il principio attivo principale viene miscelato con un eccipiente farmaceutico per formare una composizione di preformulazione solida contenente una miscela omogenea di un composto della presente domanda. Quando ci si riferisce a queste composizioni di preformulazione come omogenee, il principio attivo viene di solito disperso uniformemente in tutta la composizione in modo che la composizione possa essere facilmente suddivisa in forme di dosaggio unitario egualmente efficaci quali le compresse, le pillole e le capsule. Questa preformulazione solida viene poi suddivisa in forme di dosaggio unitario del tipo sopra descritto contenenti, ad esempio, da circa 0,1 a circa 1000 mg del principio attivo della presente domanda.

Le compresse o le pillole della presente domanda possono essere rivestite o altrimenti combinate per fornire una forma di dosaggio che offra il vantaggio di un'azione prolungata. Ad esempio, la compressa o la pillola possono comprendere un componente di dosaggio interno e un componente di dosaggio esterno, quest'ultimo essendo nella forma di un involucro sopra il primo. I due componenti possono essere separati da uno strato enterico che serve a resistere alla disgregazione nello stomaco e a permettere che il componente interno passi intatto nel duodeno o sia ritardato nel rilascio. Una varietà di materiali può essere utilizzata per tali strati o rivestimenti enterici, tali materiali includendo un certo numero di acidi polimerici e miscele di acidi polimerici con tali materiali come gommalacca, alcol cetilico, e acetato di cellulosa.

Le forme liquide in cui i composti e le composizioni della presente domanda possono essere incorporati per somministrazione per via orale o per iniezione includono soluzioni acquose, sciroppi opportunamente aromatizzati, sospensioni acquose o oleose, ed emulsioni aromatizzate con oli commestibili quali l'olio di semi di cotone, l'olio

di sesamo, l'olio di cocco, o l'olio di arachidi, nonché elisir e simili veicoli farmaceutici.

Composizioni per inalazione o insufflazione includono soluzioni e sospensioni in solventi acquosi o organici farmaceuticamente accettabili, o miscele degli stessi, e polveri. Le composizioni liquide o solide possono contenere eccipienti farmaceuticamente accettabili adatti come descritti sopra. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono somministrate tramite la via respiratoria nasale o orale per un effetto locale o sistemico. Composizioni in possono essere nebulizzate mediante uso di gas inerti. Soluzioni nebulizzate possono essere respirate direttamente dal dispositivo nebulizzatore o il dispositivo nebulizzatore può essere attaccato a una tenda di maschera facciale o a un apparecchio per respirazione a pressione positiva intermittente. Composizioni in soluzione, in sospensione o in polvere possono essere somministrate per via orale o nasale da dispositivi che erogano la formulazione in modo appropriato.

Formulazioni topiche possono contenere uno o più veicolanti convenzionali. In alcune forme di realizzazione, gli unguenti possono contenere acqua e uno o più veicolanti idrofobici selezionati, ad esempio, tra paraffina liquida, poliossietilene alchil etere, propilene glicole, Vaseline bianca, e simili. Composizioni di veicolante di creme possono essere a base di acqua in combinazione con glicerolo e uno o più altri componenti, *p. es.* glicerinamonostearato, PEG-glicerina monostearato e alcol cetilstearylco. I gel possono essere formulati utilizzando alcol isopropilico e acqua, opportunamente in combinazione con altri componenti quali, ad esempio, glicerolo, idrossietil cellulosa, e simili. In alcune forme di realizzazione, formulazioni topiche contengono almeno circa lo 0,1, almeno circa lo 0,25, almeno circa lo 0,5, almeno circa l'1, almeno circa il 2, o almeno circa il 5 % in peso del composto dell'invenzione. Le formulazioni topiche possono essere opportunamente confezionate, ad esempio, in tubetti da 100 g che sono facoltativamente associati a istruzioni per il trattamento dell'indicazione selezionata, *p. es.* psoriasi o altra condizione cutanea.

La quantità di composto o di composizione somministrata a un paziente varierà secondo cosa viene somministrato, lo scopo della somministrazione, come ad esempio profilassi o terapia, lo stato del paziente, la modalità di somministrazione, e simili. In applicazioni terapeutiche, le composizioni possono essere somministrate a un paziente già affetto da una malattia in una quantità sufficiente a curare o almeno arrestare parzialmente i sintomi

della malattia e sue complicanze. Le dosi efficaci dipenderanno dalla condizione della malattia da trattare nonché dal giudizio del medico curante dipendente da fattori quali la severità della malattia, l'età, il peso e la condizione generale del paziente, e simili.

Le composizioni somministrate a un paziente possono essere nella forma di composizioni farmaceutiche descritte sopra. Queste composizioni possono essere sterilizzate mediante tecnologie di sterilizzazione convenzionali, o possono essere filtrate sterili. Soluzioni acquose possono essere confezionate per uso tal quali, o liofilizzate, il preparato liofilizzato essendo combinato con un veicolante acquoso sterile prima della somministrazione. Il pH dei preparati di composto sarà tipicamente tra 3 e 11, più preferibilmente tra 5 e 9 e il più preferibilmente tra 7 e 8. Resta inteso che l'uso di alcuni degli eccipienti, dei veicolanti, o degli stabilizzanti di cui sopra comporterà la formazione di sali farmaceutici.

Il dosaggio terapeutico di un composto della presente domanda può variare, ad esempio, secondo l'uso particolare per cui viene fatto il trattamento, la modalità di somministrazione del composto, la salute e la condizione del paziente, e il giudizio del medico prescrittore. La proporzione o la concentrazione di un composto dell'invenzione in una composizione farmaceutica può variare in base a un certo numero di fattori tra cui il dosaggio, le caratteristiche chimiche (*p. es.*, l'idrofobicità), e la via di somministrazione. Ad esempio, i composti dell'invenzione possono essere forniti in una soluzione acquosa fisiologica tampone contenente da circa lo 0,1 a circa il 10% p/v del composto per somministrazione parenterale. Alcuni intervalli di dose tipici vanno da circa 1 µg/kg a circa 1 g/kg di peso corporeo per giorno. In alcune forme di realizzazione, l'intervallo di dose va da circa 0,01 mg/kg a circa 100 mg/kg di peso corporeo per giorno. È probabile che il dosaggio dipenda da tali variabili quali il tipo e il grado di progressione della malattia o del disordine, lo stato di salute generale del particolare paziente, la relativa efficacia biologica del composto selezionato, formulazione dell'eccipiente, e la sua via di somministrazione. Dosi efficaci possono essere estrapolate da curve dose-risposta derivate da sistemi di test su modelli animali o *in vitro*.

Le composizioni dell'invenzione possono inoltre includere uno o più agenti farmaceutici aggiuntivi, esempi dei quali sono elencati sopra nella presente.

Kit

La presente domanda include anche kit farmaceutici utili, ad esempio, nel trattamento e/o nella prevenzione di malattie o disordini correlati a citochine, quale CRS, che includono uno o più contenitori contenenti una composizione farmaceutica comprendente una quantità terapeuticamente efficace di un composto descritto nella presente. Tali kit possono inoltre includere, se lo si desidera, uno o più di vari componenti di kit farmaceutici convenzionali, quali, ad esempio, contenitori con uno o più veicolanti farmaceuticamente accettabili, contenitori aggiuntivi, ecc., come risulterà facilmente evidente a coloro che sono esperti nella tecnica. Nel kit possono essere incluse anche istruzioni, come foglietti illustrativi o come etichette, indicanti quantità dei componenti da somministrare, linee guida per la somministrazione, e/o linee guida per la miscelazione dei componenti.

ESEMPI

L'invenzione sarà descritta in maggior dettaglio per mezzo di specifici esempi. I seguenti esempi sono forniti per scopi illustrativi, e non intendono limitare in alcun modo l'invenzione. Coloro che sono esperti nella tecnica riconosceranno prontamente una varietà di parametri non critici che possono essere cambiati o modificati per produrre essenzialmente gli stessi risultati.

Esempio A: Saggio di JAK Chinasi *In vitro*

Inibitori di JAK1 che possono essere utilizzati per il trattamento di malattie o disordini correlati a citochine vengono testati per l'attività inibitoria di bersagli JAK secondo il seguente saggio *in vitro* descritto in Park *et al.*, *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. I domini catalitici di JAK1 (a.a. 837-1142), JAK2 (a.a. 828-1132) e JAK3 (a.a. 781-1124) umane con un tag di istidina N-terminale vengono espressi utilizzando baculovirus in cellule di insetto e purificati. L'attività catalitica di JAK1, JAK2 o JAK3 è stata saggiata misurando la fosforilazione di un peptide biotinilato. Il peptide fosforilato è stato rivelato mediante fluorescenza omogenea risolta nel tempo (HTRF). Le IC₅₀ dei composti vengono misurate per ciascuna chinasi nelle reazioni da 40 µL che contengono l'enzima, ATP e 500 nM di peptide in un tampone Tris 50 mM (pH 7,8) con 100 mM di NaCl, 5 mM di DTT e BSA 0,1 mg/mL (0,01%). Per le misurazioni di IC₅₀ ad 1 mM, la concentrazione di ATP nelle reazioni è di 1 mM. Le reazioni vengono eseguite a temperatura ambiente per 1 ora e poi arrestate con 20 µL di EDTA 45 mM,

SA-APC 300 nM, Eu-Py20 6 nM in tampone di saggio (Perkin Elmer, Boston, MA). Il legame all'anticorpo marcato con Europio ha luogo per 40 minuti e il segnale di HTRF è stato misurato su un lettore per piastre Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). I composti in Tabella 1 sono stati testati in questo saggio e hanno dimostrato di avere i valori di IC₅₀ in Tabella 1

Esempio B: Studio su Sicurezza ed Efficacia di inibitori di JAK1 e/o JAK2 in Soggetti con Idrosadenite Suppurativa da Moderata a Severa

Uno studio multicentrico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, è stato condotto su uomini e donne di età tra i 18 e i 75 anni con idrosadenite suppurativa da moderata (stadio II di Hurley) a severa (stadio III di Hurley) per almeno 6 mesi. Lo stadio I di Hurley è associato alla formazione di ascessi (singoli o multipli) senza tragitti fistolosi e cicatrizzazione. Lo stadio II di Hurley è associato a ascessi ricorrenti con formazione di tragitti e cicatrizzazione; lesioni singole o multiple, ampiamente separate. Lo stadio III di Hurley è associato a un coinvolgimento diffuso o quasi diffuso o a più tragitti interconnessi e ascessi attraverso l'intera area. I partecipanti allo studio vengono randomizzati in 5 gruppi (circa 50 partecipanti per gruppo) e trattati o con 15, 30, 60 o 90 mg di un inibitore di JAK1 e/o JAK2 (*p. es.*, ruxolitinib, Composto 4, o Composto 5, o un sale farmaceuticamente accettabile degli stessi), o con placebo. Alla settimana 16 (endpoint primario), i partecipanti nel gruppo del placebo sono ri-randomizzati equamente nei bracci di trattamento attivo per 8 settimane. Lo stato in cieco viene mantenuto. L'endpoint primario è la proporzione di soggetti che hanno ottenuto una Risposta Clinica all'Idrosadenite Suppurativa (HiSCR) alla settimana 16.

Gli endpoint secondari includono: (1) Proporzione di soggetti con HiSCR rispetto al basale ad ogni visita; (2) Proporzione di soggetti che ottengono una conta di ascessi e noduli infiammatori (AN) tra 0 e 2 ad ogni visita; (3) Variazione media dal basale nella Scala di Valutazione Numerica del Dolore da HS 1) ad ogni visita; (4) Variazione nella scala di Sartorius modificata nella settimana 16 e nella settimana 24; (5) Variazione nella conta del numero di fistole drenanti ad ogni visita; (6) Proporzione di soggetti che necessitano di trattamento di soccorso di lesione fino alla settimana 24; (7) Numero di episodi di trattamenti di soccorso di lesione fino alla settimana 24; (8) PK di popolazione dell'inibitore di JAK1 e/o JAK2 (*p. es.*, clearance apparente, volume apparente di

distribuzione); (9) Sicurezza e tollerabilità valutate monitorando la frequenza, la durata, e la severità di eventi avversi, l'esame obiettivo, i segni vitali, e i dati di laboratorio per l'ematologia, la chimica del siero, e l'analisi delle urine; (10) Variazione nella valutazione dell'Indice Dermatologico di Qualità della Vita (DLQI); (11) Variazione nella severità della malattia dal basale come valutata dal punteggio IHS43 ad ogni visita; (12) Variazione nella valutazione della qualità della vita con idrosadenite suppurativa (HiSQOL) ad ogni visita rispetto al basale; e (13) Valutazione della dose/esposizione-risposta sulla percentuale di variazione dal basale in termini di endpoint di efficacia e sicurezza durante i periodi di trattamento.

L'HiSCR è definita come almeno una riduzione del 50% nella conta di ascessi e noduli infiammatori (AN) con nessun aumento nella conta di ascessi e nessun aumento nella conta di fistole drenanti alla settimana 16 rispetto al basale). La Scala di Valutazione Numerica del Dolore viene utilizzata per valutare il dolore cutaneo peggiore e cutaneo medio dovuto all'HS. Le valutazioni per i 2 elementi vanno da 0 (nessun dolore cutaneo) a 10 (dolore cutaneo più forte che puoi immaginare). Le valutazioni vengono registrate su un diario giornaliero dai partecipanti prima di andare a letto e sulla base di un periodo di richiamo delle "ultime 24 ore". La scala di Sartorius modificata viene utilizzata per quantificare la severità dell'HS. I punti vengono assegnati per 12 aree corporee (ascella sinistra e destra, aree sotto/inframammarie sinistra e destra, area intermammaria, glutei sinistro e destro, pieghe inguino-crurali sinistra e destra, area perianale, area perineale e altra): punti assegnati per nodulo (2 punti per ciascuno); ascessi (4 punti); fistole (4 punti); cicatrice (1 punto); e la distanza più lunga tra due lesioni (2-6 punti, 0 se non ci sono lesioni); e se le lesioni sono separate da cute normale (sì-0 punti; no-6 punti). La scala di Sartorius totale è la somma dei 12 punteggi regionali. Trattamento di soccorso di lesione: Nel caso in cui una lesione acutamente dolorosa richieda un intervento immediato, i medici hanno l'opzione di eseguire interventi di soccorso. Sono consentiti solo due tipi di interventi: (1) iniezione con sospensione di triamcinolone acetone intralesionale (fino a 30 mg in totale nella stessa visita) e/o (2) incisione e drenaggio. Un intervento può aver luogo su al massimo due diverse lesioni nella stessa visita o sulla stessa lesione in due diverse visite di studio. La stessa lesione non può essere trattata due volte nella stessa visita. Se un soggetto richiede più di due interventi prima della settimana 16, allora è sospeso dallo studio. Sistema di Punteggio di Severità dell'Idrosadenite Suppurativa Internazionale

(IHS4): IH4 (punti) = (numero di noduli ×1) + (numero di ascessi ×2) + (numero di tunnel drenanti [fistole/tragitti fistolosi] ×4). HS Lieve: ≤ 3 punti; HS Moderata: 4-10 punti; HS Severa: ≥11 punti.

Il trattamento di studio 1 (Principio attivo) include una compressa orale contenente 15 mg di 4-[3-(Cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidina-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide. Livelli di somministrazione di dose includono 15 mg (1 compressa), 30 mg (2 compresse), 60 mg (4 compresse) e 90 mg (6 compresse). Il trattamento di studio 2 (placebo) include un placebo in compresse orali.

Campioni di sangue per la misurazione di concentrazioni plasmatiche dell'inibitore di JAK1 e/o JAK2 vengono prelevati, almeno, nelle settimane 2, 12, 16, 20 e 24 prima e dopo somministrazione del farmaco di studio nei punti temporali predose, 1 ora postdose e tra 2 e 5 ore postdose. Alla visita di sospensione anticipata, se i soggetti sospendono prima della settimana 8, un campione PK di valle viene prelevato se possibile. Deve essere registrata anche la data/tempo dell'ultima somministrazione di dose precedente.

I test di superiorità dell'inibitore di JAK1 e/o JAK2 a 90, 60, 30 e 15 mg rispetto al placebo sono effettuati utilizzando la procedura di Hochberg a un livello $\alpha = 0,05$ a 2 lati complessivo. Confronti tra ciascun gruppo di principio attivo e placebo alla settimana 16 sono eseguiti con una regressione logistica. A tutti i livelli di dose i test di superiorità sono significativi (ad esempio, un miglioramento del 10%, del 20%, del 30%, del 40% o del 50% nell'HiSCR (Risposta Clinica all'Idrosadenite Suppurativa)) e dimostrano l'efficacia dell'inibitore di JAK1 e/o JAK2 per trattare HS. I test mostrano una riduzione nei noduli e non-inferiorità/superiorità rispetto al placebo. Tutte le misure di efficacia secondarie ed esplorative sono valutate utilizzando la statistica descrittiva. I dati di sicurezza clinica (segni vitali, test di laboratorio di routine, ed eventi avversi) sono analizzati utilizzando la statistica descrittiva. Sono determinate le relazioni esposizione-risposta (E-R) tra esposizioni PK a inibitore di JAK1 e/o JAK2 plasmatiche e dati di efficacia/sicurezza. Un'analisi *ad interim* per stimare la risposta al trattamento e facilitare la pianificazione per studi futuri è condotta quando almeno la metà dei soggetti randomizzati raggiunge la settimana 16.

Esempio: C. Espressione di Janus-Chinasi Indotta da Interferone-Gamma e Necrosi Tumorale-alfa in

cheratinocita e Conseguente Produzione di Mediatori Infiammatori

Le cellule cheratinociti umani trasformati (HaCaT) sono state acquistate da AddexBio (Catalogo # T0020001) e coltivate in Optimized Dulbecco's Modified Eagle's Medium (AddexBio, Catalogo # C0003-02) supplementato con il 10% di Siero Bovino Fetale (Hyclone, Catalogo # 16140-071) e Penicillina/Streptomicina 1x (Gibco, Catalogo # 15140-122). Quando le cellule hanno raggiunto l'80-90% di confluenza, sono state lavate con DPBS 1x, quindi distaccate dalle fiasche per coltura tissutale mediante incubazione con tripsina allo 0,25% (Gibco, Catalogo # 25200-056) per 3-5 minuti a 37°C/5%CO₂. Il terreno di coltura cellulare è stato aggiunto alle cellule tripsinizzate, poi la sospensione cellulare è stata trasferita in una provetta da centrifuga da 15 mL sterile per essere centrifugata per 10 minuti a 1300 giri/min. Il terreno contenente tripsina è stato aspirato dal pellet cellulare e poi il pellet è stato risospeso in 10 mL di terreno di coltura cellulare. Le cellule sono state contate utilizzando un contatore di cellule automatizzato Countess II quindi seminate in piastre a 24 pozzetti trattate per coltura tissutale a una concentrazione di 4×10⁴ cellule/mL e incubate per 48 ore a 37°C/5%CO₂. Dopo 48 ore il terreno è stato rimosso e sostituito con 500 uL di terreno per coltura cellulare o con una stimolazione combinata di interferone gamma umano ricombinante (R&D Systems, Catalogo # 285-IF-100) e Fattore di Necrosi Tumorale Alfa Umano Ricombinante (R&D Systems, Catalogo # 210-TA-020). Le cellule HaCaT trattate con la stimolazione combinata di citochine sono state trattate alle concentrazioni finali di 10 ng/mL, 25 ng/mL, 50 ng/mL, o 100 ng/mL di ciascuna citochina. Le piastre trattate sono state mescolate mediante leggera agitazione per 30 secondi, quindi incubate per 24 ore a 37°C/5% CO₂. Al termine delle 24 ore di incubazione, il terreno è stato immediatamente rimosso da ciascuna piastra.

RNA è stato isolato dalle cellule HaCaT utilizzando i reagenti e i protocolli del QuantiGene Plex Assay (Affymetrix, Catalogo # QGP-232-M18042302). Le cellule sono state lavate con DPBS 1x poi lisate mediante incubazione con tampone di lisi QuantiGene fornito per 30 minuti a 50-55°C. I lisati cellulari sono stati incubati per 18-24 ore a 55°C con biglie di cattura e set di sonde progettato per ibridare in modo specifico con mRNA da bersagli di interesse. Il pannello di 32 bersagli di interesse includeva geni costitutivi utilizzati per la normalizzazione dei risultati. Dopo l'incubazione per 18-24 ore il segnale è stato amplificato utilizzando

metodologie del DNA ramificato, secondo le procedure del produttore (Affymetrix, Catalogo # QGP-232-M18042302). Dopo i passi di ibridazione e di lavaggio, la piastra del saggio è stata letta sul Luminex 200 e i dati sono stati espressi come Intensità di Fluorescenza Mediana Netta. I dati sono stati poi normalizzati rispetto all'Intensità di Fluorescenza Mediana Netta del gene costitutivo HPRT1 (Tabella 2).

Tabella 2. Stimolazione di Cheratinociti Umani con TNF α e IFN γ Induce la Via JAK/STAT e Citochine Pro-Inflammatorie

Gene	Trattamento	MFP ^a	Valore p
JAK1	Veicolo	126,7 \pm 6,55	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	178,19 \pm 3,41	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	195,02 \pm 3,47	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	198,23 \pm 2,52	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	207,34 \pm 3,91	<,0001
JAK2	Veicolo	21,7 \pm 0,53	-

	10 ng/ml TNF α /IFN γ	154,13 \pm 11,65	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	174,07 \pm 12,34	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	180,71 \pm 13,63	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	187,94 \pm 13,12	<,0001
JAK3	Veicolo	0,1 \pm 0,02	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	0,16 \pm 0,05	0,8111
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	0,18 \pm 0,05	0,596
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	0,33 \pm 0,06	0,0082
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	0,28 \pm 0,06	0,0532
TYK2	Veicolo	167,84 \pm 2,25	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	240,49 \pm 4,4	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	250,15 \pm 3,41	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	257,24 \pm 3,55	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	265,37 \pm 3,1	<,0001
STAT1	Veicolo	484,33 \pm 4,52	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	3834,09 \pm 65,62	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	3935,51 \pm 66,15	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	3943,03 \pm 63,05	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	4136,09 \pm 67,06	<,0001
STAT3	Veicolo	606,76 \pm 11,51	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	1561,14 \pm 40,35	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	1652,97 \pm 39,53	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	1666,52 \pm 52,15	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	1742,81 \pm 38,26	<,0001
STAT4	Veicolo	2,27 \pm 0,12	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	3,78 \pm 0,22	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	3,84 \pm 0,23	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	3,72 \pm 0,25	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	3,61 \pm 0,28	0,0003

STAT5A	Veicolo	1,03 ± 0,1	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	26,06 ± 3,1	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	28,58 ± 3,23	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	31,01 ± 3,37	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	29,61 ± 2,91	<,0001
STAT6	Veicolo	626,95 ± 22	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	1010,38 ± 14,28	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	1044,97 ± 12,71	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	1039,59 ± 10,5	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	1059,01 ± 13,45	<,0001
IL1A	Veicolo	156,9 ± 1,89	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	1786,44 ± 31,13	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	2135,03 ± 66,58	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	2256,89 ± 90,79	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	2459,6 ± 106,2	<,0001
IL6	Veicolo	5,89 ± 0,19	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	311,31 ± 38,81	0,0002
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	410,93 ± 52,93	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	464,27 ± 61,46	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	519,31 ± 68,04	<,0001
^a I dati sono presentati come la media ± errore standard (SEM)			

Proteine bersaglio di interesse nel terreno sono state rilevate e quantificate utilizzando i reagenti e i protocolli del Immunosaggio ProCarta Multiplex (Invitrogen, Catalogo # EPX450-12171-901). Il terreno è stato incubato con biglie coniugate a anticorpo progettate per legarsi agli epitopi di specifiche proteine bersaglio e identificare la proteina legata attraverso il caratteristico pattern spettrale delle biglie. Anticorpi di rivelazione biotinilati, progettati per legarsi a epitopi diversi delle stesse proteine bersaglio, e streptavidina-PE vengono aggiunti alle piastre del saggio per quantificare la quantità della proteina bersaglio. Le piastre del saggio sono state lette sul Luminex 200 e i dati sono stati espressi come Intensità di Fluorescenza Mediana Netta. I valori di Intensità di

Fluorescenza Mediana Netta per la curva standard dell'antigene, preparata secondo le procedure del produttore (Invitrogen, Catalogo # EPX450-12171-901) sono stati graficati *versus* le concentrazioni attese per ciascuno standard. La concentrazione di ciascuna proteina è stata estrapolata dalla curva standard dell'antigene e le concentrazioni sono state espresse come pg/mL (Tabella 3).

Tabella 3. Stimolazione di Cheratinociti Umani con TNF α e IFN γ Induce la Produzione di Citochine Pro-Infiammatorie

Proteina	Trattamento	pg/mL ^a	Valore p
IL-1 α	Veicolo	0,37 \pm 0,05	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	13,22 \pm 1,24	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	15,12 \pm 1,48	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	14,74 \pm 1,45	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	13,64 \pm 1,29	<,0001
IL-6	Veicolo	72,86 \pm 9,77	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	2012,1 \pm 337,23	0,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	2329,01 \pm 384,78	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	2208,6 \pm 370,81	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	1889,75 \pm 298,39	0,0004
IP-10	Veicolo	16,61 \pm 1,6	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	3275,51 \pm 174,48	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	3243,28 \pm 178,41	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	3209,56 \pm 211,43	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	2978,45 \pm 167,27	<,0001
MIP1 α	Veicolo	7,47 \pm 1,13	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	525,75 \pm 87,5	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	546,69 \pm 92,35	<,0001

	50 ng/ml TNF α /IFN γ	531,55 \pm 91,88	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	409,14 \pm 60,62	0,0012
RANTES	Veicolo	11,78 \pm 1,41	-
	10 ng/ml TNF α /IFN γ	126,13 \pm 5,15	<,0001
	25 ng/ml TNF α /IFN γ	127,73 \pm 2,8	<,0001
	50 ng/ml TNF α /IFN γ	119,95 \pm 4,67	<,0001
	100 ng/ml TNF α /IFN γ	103,48 \pm 7,09	<,0001
^a I dati sono presentati come la media \pm errore standard (SEM)			

Esempio: D. Inibitori di Janus Chinasi Interferiscono con Infiammazione Mediata da Interferone-gamma e Necrosi Tumorale-alfa in Cheratinociti

Cellule cheratinociti umani trasformati (HaCaT) sono state acquistate da AddexBio (Catalogo # T0020001) e coltivate come delineato nell'Esempio C. Quattro composti da A a D (A: ruxolitinib, B: itacitinib ($\{1-\{1-[3\text{-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinil}\}piperidin-4\text{-il}\}-3[4-(7H\text{-pirrolo}[2,3\text{-d}]\text{pirimidin-4-il})\}-1H\text{-pirazol-1-il}\}azetid\text{-3-il}\}acetonitrile$), C: 4-[3-(Cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetid\text{-1-il}\]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide, D: ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-Idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetonitrile) sono stati ricostituiti in DMSO poi ciascun composto è stato diluito serialmente con terreno di coltura cellulare alle concentrazioni di 400 nM, 200 nM, 100 nM, e 50 nM. Dopo 48 ore, il terreno di coltura è stato rimosso dalle piastre a 24 pozzetti e rimpiazzato con 250 μ L di terreno contenente farmaco diluito serialmente, poi incubato per 15 minuti a 37°C/5%CO₂. Dopo l'incubazione con farmaco, 250 μ L di stimolazione combinata contenente Interferone gamma Umano Ricombinante (R&D Systems, Catalogo # 285-IF-100) e Fattore di Necrosi Tumorale alfa Umano Ricombinante (R&D Systems, Catalogo # 210-TA-020) è stato aggiunto alle piastre. La concentrazione finale dell'Interferone gamma Umano Ricombinante e del Fattore di Necrosi Tumorale alfa Umano Ricombinante è stata di 25 ng/mL di ciascuna citochina. La stimolazione di citochine aggiunta a pozzetti contenenti il farmaco ha portato le concentrazioni finali per ciascun trattamento di farmaco a 25 nM, 50 nM, 100 nM, e 200 nM. Le piastre trattate sono state mescolate mediante delicata agitazione per 30 secondi poi incubate per 24 ore a 37°C/5%CO₂. Al termine delle 24 ore di incubazione, il terreno di coltura

è stato immediatamente rimosso da ciascuna piastra.

RNA è stato isolato dalle cellule HaCaT utilizzando i reagenti e i protocolli di QuantiGene Plex Assay (Affymetrix, Catalogo # QGP-232-M18042302) secondo le linee guida del produttore. Le cellule sono state lavate con DPBS 1x poi lisate mediante incubazione con tampone di lisi QuantiGene fornito per 30 minuti a 50-55°C. I lisati cellulari sono stati incubati per 18-24 ore a 55°C con biglie di cattura e set di sonde progettato per ibridare in modo specifico con mRNA da bersagli di interesse. I geni includevano geni costitutivi (*p. es.* HPRT1, GAPDH) utilizzati per la normalizzazione dei risultati. Dopo l'incubazione per 18-24 ore il segnale è stato amplificato utilizzando metodologie del DNA ramificato, secondo le procedure del produttore (Affymetrix, Catalogo # QGP-232-M18042302). Dopo i passi di ibridazione e di lavaggio, la piastra del saggio è stata letta sul Luminex 200 e i dati sono stati espressi come Intensità di Fluorescenza Mediana Netta. I dati sono stati poi normalizzati *versus* l'Intensità di Fluorescenza Mediana Netta del gene costitutivo HPRT1 (Tabella 4).

Tabella 4. Espressione Normalizzata di Geni Bersaglio in cellule Chetinoцитi Umani Stimolate con TNF α e IFN γ in Presenza/Assenza di Inibitori di JAK

Gene	Stimolazione ^a	Concentrazione Farmaco	Composto A		Composto B		Composto C		Composto D	
			MFI ^b	Valore p ^c	MFI ^b	Valore p ^c	MFI ^b	Valore p ^c	MFI ^b	Valore p ^c
JAK1	-	-	183,21 \pm 7,55		-		-		-	
	25 ng/mL	-	213,93 \pm 5,55 ^c		-		-		-	
	-	200 nM	159,13 \pm 7,08	-	171,53 \pm 9,49	-	177,67 \pm 11,84	-	177,97 \pm 14,91	-
	25 ng/mL	25 nM	206,18 \pm 7,99	0,894	216,23 \pm 6,41	0,9993	206,29 \pm 6,84	0,7834	200,4 \pm 9,84	0,5654
	25 ng/mL	50 nM	195,48 \pm 9,54	0,2925	210,42 \pm 10,89	0,9965	194,2 \pm 8,24	0,0852	210,52 \pm 7,73	0,9942
	25 ng/mL	100 nM	186,97 \pm 7,49	0,0621	205,03 \pm 11,49	0,9026	193,28 \pm 4,55	0,0669	200,25 \pm 8,15	0,5562
25 ng/mL	200 nM	180,99 \pm 8,58	0,0191	195,97 \pm 10,45	0,4597	182,86 \pm 4,07	0,0026	190,53 \pm 7,68	0,1286	
JAK2	-	-	25,35 \pm 0,95		-		-		-	
	25 ng/mL	-	126,63 \pm 4,89 ^c		-		-		-	
	-	200 nM	23,67 \pm 0,92	-	25,21 \pm 1,12	-	25,25 \pm 1,04	-	25,67 \pm 1,03	-
	25 ng/mL	25 nM	89,4 \pm 2,21	<,0001	109,39 \pm 2,8	0,0021	114,94 \pm 2,16	0,0419	108,89 \pm 3,25	0,0165
	25 ng/mL	50 nM	69,7 \pm 1,78	<,0001	101 \pm 2,26	<,0001	107,16 \pm 2,86	0,0003	106,83 \pm 5,94	0,0063
	25 ng/mL	100 nM	54,4 \pm 1,8	<,0001	94,5 \pm 2,65	<,0001	95,51 \pm 3,13	<,0001	102,64 \pm 3,52	0,0007
25 ng/mL	200 nM	40,25 \pm 1,3	<,0001	89,16 \pm 3,43	<,0001	91,17 \pm 2,15	<,0001	92,21 \pm 2,9	<,0001	
JAK3	-	-	0,66 \pm 0,14		-		-		-	
	25 ng/mL	-	0,52 \pm 0,16		-		-		-	
	-	200 nM	0,53 \pm 0,09	-	0,63 \pm 0,10	-	0,68 \pm 0,17	-	0,71 \pm 0,15	-
	25 ng/mL	25 nM	0,81 \pm 0,15	0,5284	0,84 \pm 0,12	0,3247	1,02 \pm 0,19	0,1022	0,97 \pm 0,18	0,2187
	25 ng/mL	50 nM	1,01 \pm 0,23	0,1284	0,83 \pm 0,15	0,3497	0,99 \pm 0,16	0,1493	0,99 \pm 0,20	0,1854
	25 ng/mL	100 nM	0,84 \pm 0,13	0,4473	0,92 \pm 0,13	0,1608	0,99 \pm 0,15	0,1491	1,01 \pm 0,17	0,1531
25 ng/mL	200 nM	0,68 \pm 0,13	0,9133	0,79 \pm 0,15	0,4876	0,85 \pm 0,15	0,4323	0,86 \pm 0,16	0,4442	

TYK2	-	-	217,40 ± 8,13				-	-	-	-	-	-	-
	25 ng/mL	-	296,98 ± 6,92 ^x				-	-	-	-	-	-	-
	-	200 nM	205,57 ± 10,87	217,28 ± 10,09	-	217,28 ± 14,28	0,9929	283,97 ± 8,59	0,5015	220,78 ± 12,01	-	283,93 ± 8,16	0,7981
	25 ng/mL	25 nM	298,27 ± 10,83	292,92 ± 7,99	>0,999	283,97 ± 8,59	0,8603	273,68 ± 7,44	0,0823	307,36 ± 14,87	0,0823	307,36 ± 14,87	0,8958
	25 ng/mL	50 nM	287,93 ± 16,28	287,31 ± 11,08	0,9305	273,68 ± 7,44	0,7043	266 ± 6,82	0,0123	280,63 ± 10,46	0,0123	280,63 ± 10,46	0,65
	25 ng/mL	100 nM	260,21 ± 7,05	284,15 ± 9,62	0,0546	266 ± 6,82	0,3578	263,49 ± 5,05	0,0061	283,28 ± 10,88	0,0061	283,28 ± 10,88	0,7707
25 ng/mL	200 nM	264,75 ± 8,44	277,52 ± 8,67	0,1204	263,49 ± 5,05	-	-	-	-	-	-	-	
STAT1	-	-	545,83 ± 15,37				-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	3106,13 ± 217,15 ^x				-	-	-	-	-	-	-
25 ng/mL	200 nM	526,90 ± 13,46	535,07 ± 22,13	-	554,39 ± 11,80	0,7833	3111,17 ± 182,20	>0,9999	554,64 ± 11,36	-	3164,74 ± 242,35	0,9986	
25 ng/mL	25 nM	2907,12 ± 206,85	2868,69 ± 202,69	0,8632	554,39 ± 11,80	0,7685	3058,64 ± 154,86	0,9989	3017,08 ± 167,96	0,9989	3017,08 ± 167,96	0,9928	
25 ng/mL	50 nM	2902,82 ± 173,71	2862,58 ± 163,98	0,8544	3058,64 ± 154,86	0,5807	3035,33 ± 122,14	0,995	2999,87 ± 197,86	0,995	2999,87 ± 197,86	0,9862	
25 ng/mL	100 nM	2712,93 ± 182,91	2790,32 ± 176,4	0,3789	3035,33 ± 122,14	0,7553	2984,14 ± 163,4	0,9634	3161,66 ± 135,8	0,9634	3161,66 ± 135,8	0,9988	
25 ng/mL	200 nM	2475,58 ± 134,64	2857,2 ± 174,57	0,0734	2984,14 ± 163,4	-	-	-	-	-	-	-	
STAT3	-	-	751,20 ± 14,97				-	-	-	-	-	-	-
25 ng/mL	-	-	1608,39 ± 70,09 ^x				-	-	-	-	-	-	-
-	200 nM	728,97 ± 20,48	732,19 ± 23,03	-	746,17 ± 16,73	0,3206	1557,84 ± 58,15	0,9399	750,90 ± 27,68	-	1572,76 ± 65,5	0,988	
25 ng/mL	25 nM	1434,08 ± 43,26	1466,73 ± 66,75	0,074	746,17 ± 16,73	0,1762	1519,61 ± 69,92	0,7044	1543,4 ± 58,65	0,7044	1543,4 ± 58,65	0,9042	
25 ng/mL	50 nM	1301,55 ± 51,7	1437,28 ± 60,69	0,0005	1519,61 ± 69,92	0,0352	1457,24 ± 54,48	0,26	1549,17 ± 89,41	0,26	1549,17 ± 89,41	0,9288	
25 ng/mL	100 nM	1150,46 ± 52,66	1373,34 ± 55,51	<,0001	1457,24 ± 54,48	0,0738	1483,1 ± 51,73	0,4201	1570,19 ± 51,51	0,4201	1570,19 ± 51,51	0,9845	
25 ng/mL	200 nM	1082,84 ± 39,32	1400,77 ± 58,44	<,0001	1483,1 ± 51,73	-	-	-	-	-	-	-	
STAT4	-	-	4,52 ± 0,64				-	-	-	-	-	-	-
25 ng/mL	-	-	6,19 ± 0,53 ^c				-	-	-	-	-	-	-
-	200 nM	3,75 ± 0,33	4,01 ± 0,45	-	4,28 ± 0,61	-	-	-	4,32 ± 0,53	-	4,32 ± 0,53	-	

25 ng/mL	25 nM	6,15 ± 0,47	>0,999	6,00 ± 0,46	0,9967	5,65 ± 0,44	0,7981	5,4 ± 0,45	0,5462
25 ng/mL	50 nM	5,57 ± 0,53	0,7712	6,22 ± 0,42	>0,999	5,41 ± 0,33	0,5151	6,1 ± 0,36	0,9997
25 ng/mL	100 nM	5,63 ± 0,39	0,8269	6,21 ± 0,48	>0,999	5,32 ± 0,46	0,4157	5,83 ± 0,34	0,9448
25 ng/mL	200 nM	5,25 ± 0,45	0,4853	6,27 ± 0,56	0,9999	5,04 ± 0,36	0,1833	5,42 ± 0,52	0,5691
STATSA									
-	-	2,17 ± 0,54							
25 ng/mL	-	26,41 ± 2,26 [†]							
200 nM	200 nM	1,12 ± 0,19	-	1,44 ± 0,41	-	1,75 ± 0,44	-	1,99 ± 0,51	-
25 ng/mL	25 nM	19,04 ± 1,94	0,0111	23,69 ± 1,63	0,7471	22,82 ± 1,77	0,4520	20,12 ± 1,29	0,0428
25 ng/mL	50 nM	16,18 ± 1,66	0,0003	22,32 ± 1,16	0,4225	20,71 ± 1,77	0,1117	22,69 ± 1,71	0,3629
25 ng/mL	100 nM	12,94 ± 1,27	<0,001	20,87 ± 2,1	0,1784	18,44 ± 1,85	0,0138	19,54 ± 1,34	0,0233
25 ng/mL	200 nM	9,48 ± 0,86	<0,001	19,2 ± 1,94	0,0505	17,64 ± 1,46	0,0059	18,33 ± 1,83	0,0059
STAT6									
-	-	749,34 ± 20,85							
25 ng/mL	-	1045,99 ± 26,73 [†]							
200 nM	200 nM	723,56 ± 20,76	-	740,11 ± 34,98	-	762,04 ± 9,44	-	777,03 ± 29,31	-
25 ng/mL	25 nM	1043,96 ± 20,37	>0,999	1004,82 ± 23,76	0,5557	1020,89 ± 23,57	0,8238	1042,76 ± 29,23	>0,999
25 ng/mL	50 nM	1016,85 ± 25,68	0,8028	990,05 ± 21,06	0,2895	982,62 ± 14,34	0,1389	1046,46 ± 29,12	>0,999
25 ng/mL	100 nM	966,76 ± 28,58	0,0739	987,64 ± 15,75	0,2557	943,66 ± 25,99	0,0059	985,1 ± 39,79	0,3955
25 ng/mL	200 nM	976,22 ± 14,93	0,1487	985,17 ± 29,31	0,224	966,51 ± 12,3	0,0429	1013,25 ± 17,15	0,8453
IL-1α									
-	-	95,72 ± 5,84							
25 ng/mL	-	1405,01 ± 27,93 [†]							
200 nM	200 nM	84,51 ± 7,04	-	85,16 ± 6,50	-	88,72 ± 5,90	-	92,67 ± 5,54	-
25 ng/mL	25 nM	1115,1 ± 18,96	<0,001	1288,02 ± 20	0,0047	1370,52 ± 35,28	0,8379	1269,66 ± 50,59	0,0744
25 ng/mL	50 nM	962,51 ± 23	<0,001	1258,76 ± 23,63	0,0003	1308,7 ± 45,12	0,0995	1336,95 ± 50,97	0,5871
25 ng/mL	100 nM	839,16 ± 21,04	<0,001	1162,35 ± 23,34	<0,001	1194,29 ± 12,27	<0,001	1244,96 ± 41,03	0,0264
25 ng/mL	200 nM	755,65 ± 16,88	<0,001	1126,94 ± 26,22	<0,001	1151,31 ± 20,01	<0,001	1163,14 ± 26,71	0,0004

IL-6		5,86 ± 0,38									
		170,83 ± 5,28 ^y									
25 ng/mL	-	-	-	4,97 ± 0,36	-	4,98 ± 0,28	-	5,15 ± 0,31	-	-	-
25 ng/mL	200 nM	4,70 ± 0,32	-	130,24 ± 3,84	<0,0001	135,32 ± 3,36	<0,0001	132,28 ± 7,41	<0,0001	137,61 ± 5,87	<0,0001
25 ng/mL	25 nM	93,79 ± 4,03	<0,0001	122,69 ± 4,36	<0,0001	128,14 ± 6,83	<0,0001	122,46 ± 5,35	<0,0001	119,49 ± 4,42	<0,0001
25 ng/mL	50 nM	69,7 ± 2,81	<0,0001	111,07 ± 4,74	<0,0001	112,13 ± 3,37	<0,0001	122,46 ± 5,35	<0,0001	119,49 ± 4,42	<0,0001
25 ng/mL	100 nM	51,01 ± 1,57	<0,0001	93,03 ± 3,25	<0,0001	101,17 ± 2,91	<0,0001	122,46 ± 5,35	<0,0001	119,49 ± 4,42	<0,0001
25 ng/mL	200 nM	40,39 ± 2,19	<0,0001	93,03 ± 3,25	<0,0001	101,17 ± 2,91	<0,0001	122,46 ± 5,35	<0,0001	119,49 ± 4,42	<0,0001

^a Stimolazione con TNF α (25 ng/mL) e IFN γ (25 ng/mL)
^b Dati sono presentati come media \pm errore standard
^c Differenze significative confrontate con la stimolazione con TNF α e IFN γ singolarmente
^x Indica differenza significativa di p<0,0001 dal veicolo (no stimolazione e no concentrazione di farmaco) singolarmente
^e Indica differenza significativa di p<0,1 dal veicolo

Le Figure da 1 a 4 illustrano i singoli valori di espressione genica (MFI) per JAK1, JAK2, IL-1 α , e IL-6, rispettivamente, per ciascun replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di inibitori di JAK.

Proteine bersaglio di interesse nel terreno sono state rilevate e quantificate utilizzando i reagenti e i protocolli dell'immunosaggio ProCarta multiplex (Invitrogen, Catalogo # EPX450-12171-901). Il terreno è stato incubato con biglie coniugate a anticorpo progettate per legarsi agli epitopi di specifiche proteine bersaglio e identificare la proteina legata attraverso il caratteristico pattern spettrale delle biglie. Anticorpi di rivelazione biotinilati, progettati per legarsi a epitopi diversi delle stesse proteine bersaglio, e Streptavidina-PE vengono aggiunti alle piastre del saggio per quantificare la quantità delle proteine bersaglio. Le piastre del saggio sono state lette sul Luminex 200 e i dati sono stati espressi come Intensità di Fluorescenza Mediana Netta. I valori di fluorescenza mediana netta per la curva standard dell'antigene, preparata secondo le procedure del produttore (Invitrogen, Catalogo # EPX450-12171-901) sono stati graficati *versus* le concentrazioni attese per ciascuno standard. La concentrazione di ciascuna proteina è stata estrapolata dalla curva standard dell'antigene e le concentrazioni sono state espresse come pg/mL (Tabella 5).

Tabella 5. Concentrazioni di Mediatori Infiammatori Prodotti da cellule Cheratinociti Umani Stimolate con TNF α e IFN γ in Presenza/Assenza di Inibitori di JAK

Proteina	Stimolazione ^a	Concentrazione Farmaco	Composto A		Composto B		Composto C		Composto D	
			pg/ml ^b	Valore p ^c	pg/ml ^b	Valore p ^c	pg/ml ^b	Valore p ^c	pg/ml ^b	Valore p ^c
IL-1 α	-	-								
	25 ng/mL	-								
	-	-								
	200 nM	-	0,26 \pm 0,05	-	0,29 \pm 0,03	-	0,30 \pm 0,05	-	0,31 \pm 0,04	-
	25 nM	25 nM	5,93 \pm 0,29	<,0001	7,34 \pm 0,31	0,7043	7,74 \pm 0,36	0,9994	6,8 \pm 0,39	0,1498
	25 ng/mL	50 nM	4,9 \pm 0,3	<,0001	7,06 \pm 0,37	0,3281	7,01 \pm 0,39	0,3537	6,76 \pm 0,4	0,1249
25 ng/mL	100 nM	4,12 \pm 0,26	<,0001	7 \pm 0,41	0,2631	7,27 \pm 0,47	0,6747	6,92 \pm 0,4	0,2281	
25 ng/mL	200 nM	3,45 \pm 0,23	<,0001	6,16 \pm 0,35	0,0034	6,45 \pm 0,38	0,0358	6,3 \pm 0,35	0,0121	
IL-6	-	-								
	25 ng/mL	-								
	-	-								
	200 nM	-	26,86 \pm 2,62	-	28,49 \pm 2,89	-	28,79 \pm 2,91	-	28,84 \pm 1,89	-
	25 nM	25 nM	594,5 \pm 25,17	<,0001	749,64 \pm 32,94	0,0158	774,87 \pm 31,09	0,1794	743,07 \pm 36,3	0,0476
	25 ng/mL	50 nM	446,35 \pm 19,73	<,0001	674,21 \pm 27,15	<,0001	710,89 \pm 36,7	0,006	698,04 \pm 29,79	0,0037
25 ng/mL	100 nM	362,14 \pm 18,73	<,0001	643,8 \pm 27,14	<,0001	690,4 \pm 35,25	0,0016	703,99 \pm 42,22	0,0054	
25 ng/mL	200 nM	295,21 \pm 15,22	<,0001	568,73 \pm 24,74	<,0001	621,79 \pm 33,44	<,0001	646,2 \pm 32,46	<,0001	
IP-10/ CXCL10	-	-								
	25 ng/mL	-								
	-	-								
	200 nM	-	19,75 \pm 0,42	-	19,83 \pm 0,40	-	20,23 \pm 0,48	-	20,39 \pm 0,57	-
	25 nM	25 nM	3497,56 \pm 194,81	0,6232	4068,98 \pm 507,12	0,9982	3999,39 \pm 370,53	0,9998	3903,67 \pm 366,97	>,0,999
	25 ng/mL	50 nM	3599,04 \pm 402,58	0,7995	3872,74 \pm 295,01	0,9999	3665,2 \pm 277,11	0,9431	3998,62 \pm 456,34	0,9999
25 ng/mL	100 nM	3158,24 \pm 189,25	0,1574	4050,7 \pm 471,31	0,999	3860,41 \pm 323,05	0,9995	4100,26 \pm 502,48	0,9978	
25 ng/mL	200 nM	2662,18 \pm 89,27	0,0059	4071,78 \pm 411,22	0,9979	3835,78 \pm 304,58	0,9984	4407,56 \pm 645,63	0,8945	

MIPI α		3,14 \pm 0,24																		
		105,63 \pm 3,74 ^x																		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25 ng/mL	-	2,63 \pm 0,35	2,75 \pm 0,26	2,90 \pm 0,21	2,90 \pm 0,21	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28	3,11 \pm 0,28
200 nM	-	82,56 \pm 3,1	103,81 \pm 3,29	0,9925	101,71 \pm 3,84	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931	102,06 \pm 4,18	0,931
25 ng/mL	25 nM	70,57 \pm 3,32	100,64 \pm 4,66	0,7866	104,54 \pm 6,56	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994	96,35 \pm 3,57	0,9994
25 ng/mL	50 nM	50,91 \pm 1,6	91,52 \pm 5,05	0,0532	96,4 \pm 4,18	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229	96,22 \pm 3,58	0,4229
25 ng/mL	100 nM	40,36 \pm 0,88	83,1 \pm 2,77	0,0007	98,72 \pm 3,87	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469	88,49 \pm 5,06	0,6469
25 ng/mL	200 nM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RANTES		9,56 \pm 0,56																		
		230,17 \pm 9,43 ^x																		
25 ng/mL	-	10,17 \pm 0,54	8,42 \pm 0,51	-	8,61 \pm 0,52	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56	9,51 \pm 0,56
200 nM	-	192 \pm 12,74	203,77 \pm 12,55	0,4195	216,88 \pm 13,45	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096	237,57 \pm 17,46	0,9096
25 ng/mL	25 nM	165,12 \pm 11,76	198,35 \pm 15,1	0,262	201,93 \pm 15,44	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439	237,55 \pm 21,78	0,439
25 ng/mL	50 nM	136,24 \pm 7,8	194,21 \pm 12,67	0,1736	207,79 \pm 17,38	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354	241,39 \pm 22,79	0,6354
25 ng/mL	100 nM	111,94 \pm 6,48	183,18 \pm 13,92	0,0416	189,62 \pm 13,78	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403	238,51 \pm 23,12	0,1403
25 ng/mL	200 nM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^a Stimolazione con TNF α (25 ng/ml) e IFN γ (25 ng/ml)

^b Dati sono presentati come media \pm errore standard

^c Differenze significative confrontate con la stimolazione con TNF α e IFN γ singolarmente

^x Indica differenza significativa di p < 0,0001 dal veicolo (no stimolazione e no concentrazione di farmaco) singolarmente

Le Figure 5 e 6 illustrano le singole concentrazioni proteiche (pg/mL) per IL-1 α e IL-6, rispettivamente, per ciascun replicato sperimentale in cheratinociti simulati con TNF α e IFN- γ in presenza/assenza di inibitori di JAK.

Esempio E: Biopsie Cutanee di Idrosadenite Suppurativa sono caratterizzate da Aumentata Espressione di

Janus Chinasi

RNA totale cutaneo Controllo Sano da 3 singoli donatori è stato acquistato da Amsbio (Catalogo #s HR101 e R1234218-50). RNA totale cutaneo Controllo Sano da un pool di donatori è stato acquistato da Life Technologies Corporation (Catalogo # QS0639). Biopsie Cutanee di Idrosadenite Suppurativa (41 donatori) sono state acquistate da Discovery Life Sciences come blocchi FFPE (fissati in formalina incorporati in paraffina) da cui è stato purificato RNA totale.

L'espressione genica dai campioni di RNA totale cutaneo Controllo Sano (n=4) e di Idrosadenite Suppurativa (n=41) è stata misurata per geni delineati nella Tabella 6 utilizzando i reagenti e i protocolli del QuantiGene Plex Assay (Life Technologies Corporation, Catalogo # QGP-277-M19012402). RNA purificati sono stati utilizzati nell'intervallo di saggio raccomandato da 50 ng a 500 ng e sono stati incubati per una notte con biglie di cattura progettate per ibridare in modo specifico con mRNA da geni selezionati (Tabella 6). Questo pannello di bersagli includeva diversi geni costitutivi sono stati utilizzati per la normalizzazione dei risultati. Dopo l'incubazione per una notte il segnale è stato amplificato utilizzando metodologie del DNA ramificato, secondo le procedure del produttore (Life Technologies Corporation). La piastra del saggio è stata letta su un Luminex 200 e i dati sono stati espressi come Intensità di Fluorescenza Mediana Netta (MFI netta). I dati sono stati normalizzati rispetto alla media geometrica della MFI netta per i geni costitutivi ACTB e GAPDH. Le Figure da 7 a 9 illustrano l'espressione genica di JAK1, JAK3, TYK2, STAT1, STAT2, STAT3, IRAK1, IRAK2, e IRAK4 nella cute di controlli sani e di soggetti con idrosadenite suppurativa.

Tabella 6. Geni bersagliati

Identificatore Gene	Nome Gene
JAK1	Janus chinasi 1
JAK2	Janus chinasi 2
JAK3	Janus chinasi 3
IRAK1	chinasi 1 associata al recettore dell'interleuchina-1
IRAK2	chinasi 2 associata al recettore dell'interleuchina-1
IRAK4	chinasi 4 associata al recettore dell'interleuchina-1
STAT1	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 1
STAT3	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 3
STAT4	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 4
STAT5A	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 5A
STAT6	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 6
STAT2	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 2
STAT5B	trasduttore del segnale e attivatore della trascrizione 5B
TYK2	tiosin chinasi 2
SYK	tiosin chinasi associata alla milza
GAPDH	gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi
ACTB	beta-actina

RIVENDICAZIONI

1. Composto che inibisce JAK1 e/o JAK2, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso, per uso nel trattamento di idrosadenite suppurativa, in cui il composto è:

ruxolitinib;

ruxolitinib, in cui uno o più atomi di idrogeno sono rimpiazzati con atomi di deuterio;

{1-{1-[3-Fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile;

4-{3-(Cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-1-il}-N-[4-fluoro-2-(trifluorometil)fenil]piperidina-1-carbossammide;

[3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-1-(1-{2-(trifluorometil)pirimidin-4-il}carbonil)piperidin-4-il]azetidin-3-il}acetoneitrile;

4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide;

((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il}acetoneitrile;

3-[1-(6-cloropiridin-2-il)pirrolidin-3-il]-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile;

3-(1-[1,3]ossazolo[5,4-b]piridin-2-il)pirrolidin-3-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile;

4-[(4-{3-ciano-2-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrile;

4-[(4-{3-ciano-2-[3-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirrol-1-il]propil}piperazin-1-il)carbonil]-3-fluorobenzonitrile;

[trans-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]-3-(4-{2-(trifluorometil)pirimidin-4-il}carbonil)piperazin-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(3-idrossiazetidino-1-il)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(2S)-2-(idrossimetil)pirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(2R)-2-(idrossimetil)pirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

4-(4-{3-[(dimetilammino)metil]-5-fluorofenossi}piperidin-1-il)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]butanonitrile;

5-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carbossammide;

4-{3-(cianometil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide;

5-{3-(cianometil)-3-[4-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-1-il}-N-isopropilpirazina-2-carbossammide;

{1-(cis-4-{[6-(2-idrossietil)-2-(trifluorometil)pirimidin-4-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-3-il}acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-[(etilammino)metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-3-il}acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-(1-idrossi-1-metiletil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-3-il}acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-[(3R)-3-idrossipirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-3-il}acetoneitrile;

{1-(cis-4-{[4-[(3S)-3-idrossipirrolidin-1-il]metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}cicloesil)-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazolo-1-il]azetidino-3-il}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-[(1S)-2-idrossi-1-metiletil]ammino}metil]-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-

il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-({[(2R)-2-idrossipropil]ammino}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-({[(2S)-2-idrossipropil]ammino}metil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

{trans-3-(4-{[4-(2-idrossietil)-6-(trifluorometil)piridin-2-il]ossi}piperidin-1-il)-1-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]ciclobutil}acetoneitrile;

o un sale farmaceuticamente accettabile di qualsiasi dei suddetti.

2. Composto per uso secondo la rivendicazione 1, in cui il composto o il sale è selettivo per JAK1 e JAK2 rispetto a JAK3 e TYK2.
3. Composto per uso secondo la rivendicazione 2, in cui il composto è ruxolitinib, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.
4. Composto per uso secondo la rivendicazione 3, in cui il composto è ruxolitinib, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso o in cui uno o più atomi di idrogeno sono rimpiazzati con atomi di deuterio.
5. Composto per uso secondo la rivendicazione 3, in cui il sale è ruxolitinib fosfato.
6. Composto per uso secondo la rivendicazione 1, in cui il composto o il sale è selettivo per JAK1 rispetto a JAK2, JAK3, e TYK2.
7. Composto per uso secondo la rivendicazione 6, in cui il composto è {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.
8. Composto per uso secondo la rivendicazione 7, in cui il sale è sale dell'acido adipico di {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoneitrile.
9. Composto per uso secondo la rivendicazione 6, in cui il composto è 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide, o un sale

farmaceuticamente accettabile dello stesso.

10. Composto per uso secondo la rivendicazione 9, in cui il sale è sale dell'acido fosforico di 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidina-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzammide.

11. Composto per uso secondo la rivendicazione 6, in cui il composto è ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetonitrile, o un sale farmaceuticamente accettabile dello stesso.

12. Composto per uso secondo la rivendicazione 6, in cui il composto è ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-idrossietil]-1H-imidazo[4,5-d]tieno[3,2-b]piridin-1-il}tetraidro-2H-piran-2-il)acetonitrile monoidrato.

13. Composto per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 7 a 12, in cui il composto o il sale viene somministrato al dosaggio di 15, 30, 60 o 90 mg su una base di base libera.

14. Composto per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 13, in cui il composto viene somministrato in combinazione con un agente terapeutico aggiuntivo.

15. Composto per uso secondo la rivendicazione 14, in cui l'agente terapeutico aggiuntivo è un antibiotico, un retinoide, un corticosteroide, un agente anti-TNF-alfa, o un immunosoppressore.

16. Composto per uso secondo la rivendicazione 15, in cui

a) l'antibiotico è clindamicina, doxiciclina, minociclina, trimetoprim-sulfametossazolo, eritromicina, metronidazolo, rifampicina, moxifloxacina, dapsona, o una combinazione degli stessi, o

b) il retinoide è etretinato, acitretina, o isotretinoina, o

c) il corticosteroide è triamcinolone, desametasone, fluocinolone, cortisone, prednisone, prednisolone o flumetolone, o

d) l'agente anti-TNF-alfa è infliximab, etanercept, o adalimumab, o

e) l'immunosoppressore è metotrexato, ciclosporina A, micofenolato mofetile, o micofenolato sodico.

17. Composto per uso secondo la rivendicazione 14, in cui l'agente terapeutico aggiuntivo è finasteride, metformina, adapalene, o acido azelaico.

18. Composto per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 17, in cui il composto o il sale viene somministrato:

a) per via topica; o

b) per via orale.

Si dichiara che la presente traduzione è perfettamente conforme al testo originale.

Il mandatario

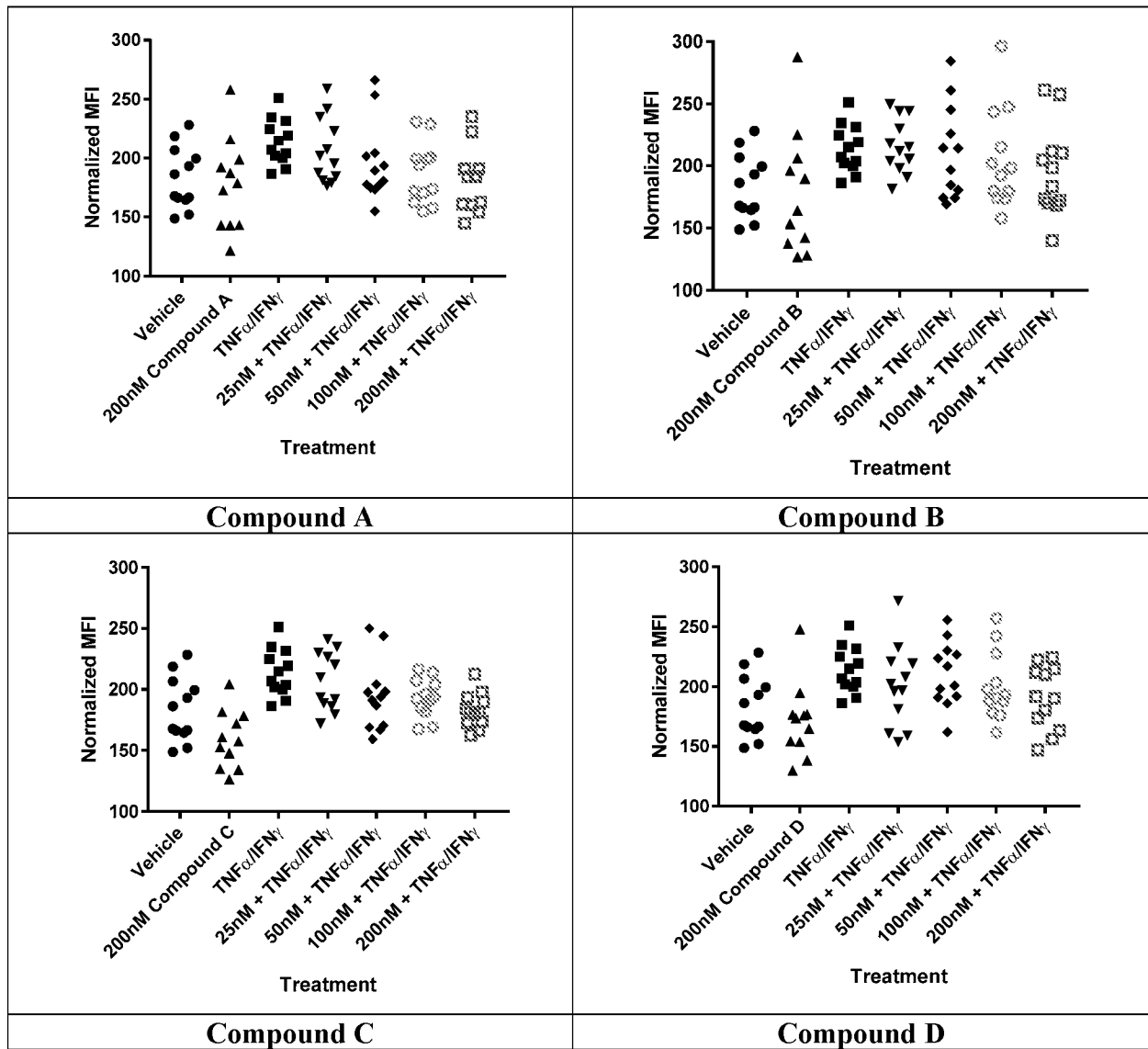
Società Italiana Brevetti S.p.A.

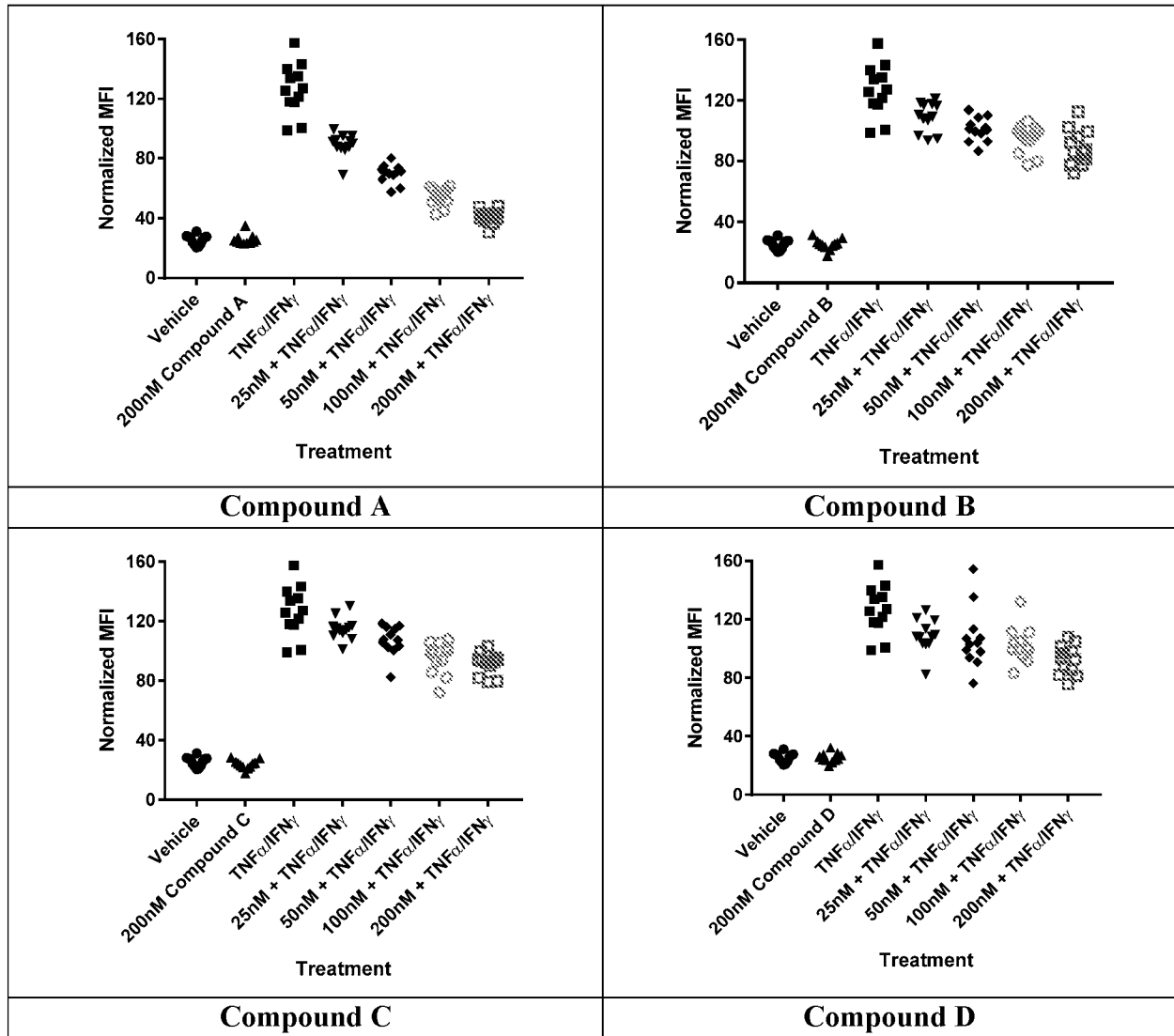
LEGENDA – DISEGNI

FIGURA 1	
Compound A	Composto A
Compound B	Composto B
Compound C	Composto C
Compound D	Composto D
Normalized MFI	MFI normalizzata
Treatment	Trattamento
Vehicle	Veicolo
FIGURA 2	
Compound A	Composto A
Compound B	Composto B
Compound C	Composto C
Compound D	Composto D
Normalized MFI	MFI normalizzata
Treatment	Trattamento
Vehicle	Veicolo
FIGURA 3	
Compound A	Composto A
Compound B	Composto B
Compound C	Composto C
Compound D	Composto D
Normalized MFI	MFI normalizzata

Treatment	Trattamento
Vehicle	Veicolo
FIGURA 4	
Compound A	Composto A
Compound B	Composto B
Compound C	Composto C
Compound D	Composto D
Normalized MFI	MFI normalizzata
Treatment	Trattamento
Vehicle	Veicolo
FIGURA 5	
Compound A	Composto A
Compound B	Composto B
Compound C	Composto C
Compound D	Composto D
IL-1 α Concentration	Concentrazione di IL-1 α
Treatment	Trattamento
Vehicle	Veicolo
FIGURA 6	
Compound A	Composto A
Compound B	Composto B
Compound C	Composto C
Compound D	Composto D
IL-6 Concentration	Concentrazione di IL-6
Treatment	Trattamento

Vehicle	Veicolo
FIGURA 7	
Normalized MFI	MFI Normalizzata
Healthy Control	Controllo Sano
Hidradenitis Suppurativa	Idrosadenite Suppurativa
FIGURA 8	
Normalized MFI	MFI Normalizzata
Healthy Control	Controllo Sano
Hidradenitis Suppurativa	Idrosadenite Suppurativa
FIGURA 9	
Normalized MFI	MFI Normalizzata
Healthy Control	Controllo Sano
Hidradenitis Suppurativa	Idrosadenite Suppurativa34444

**FIG. 1**

**FIG. 2**

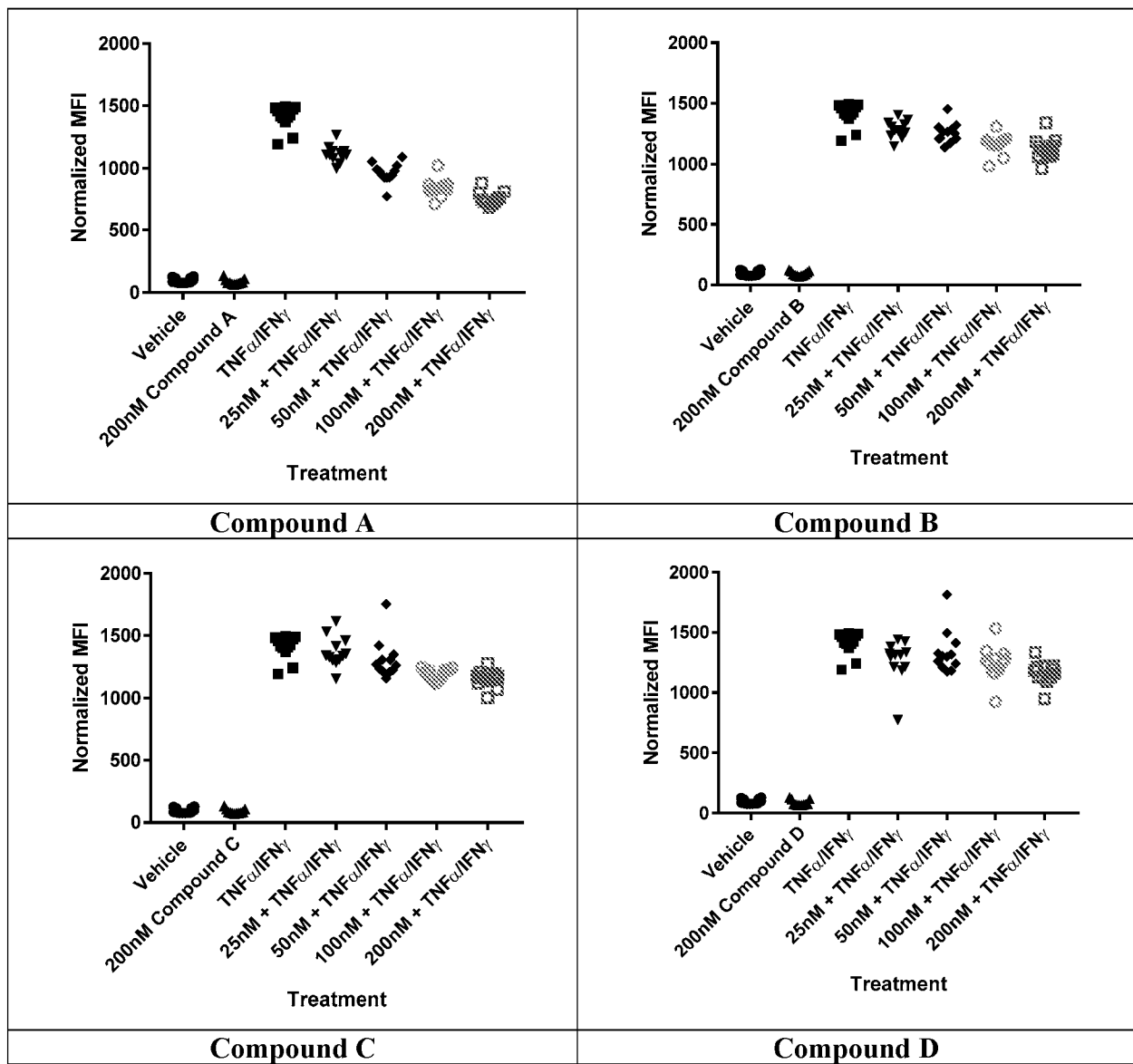


FIG. 3

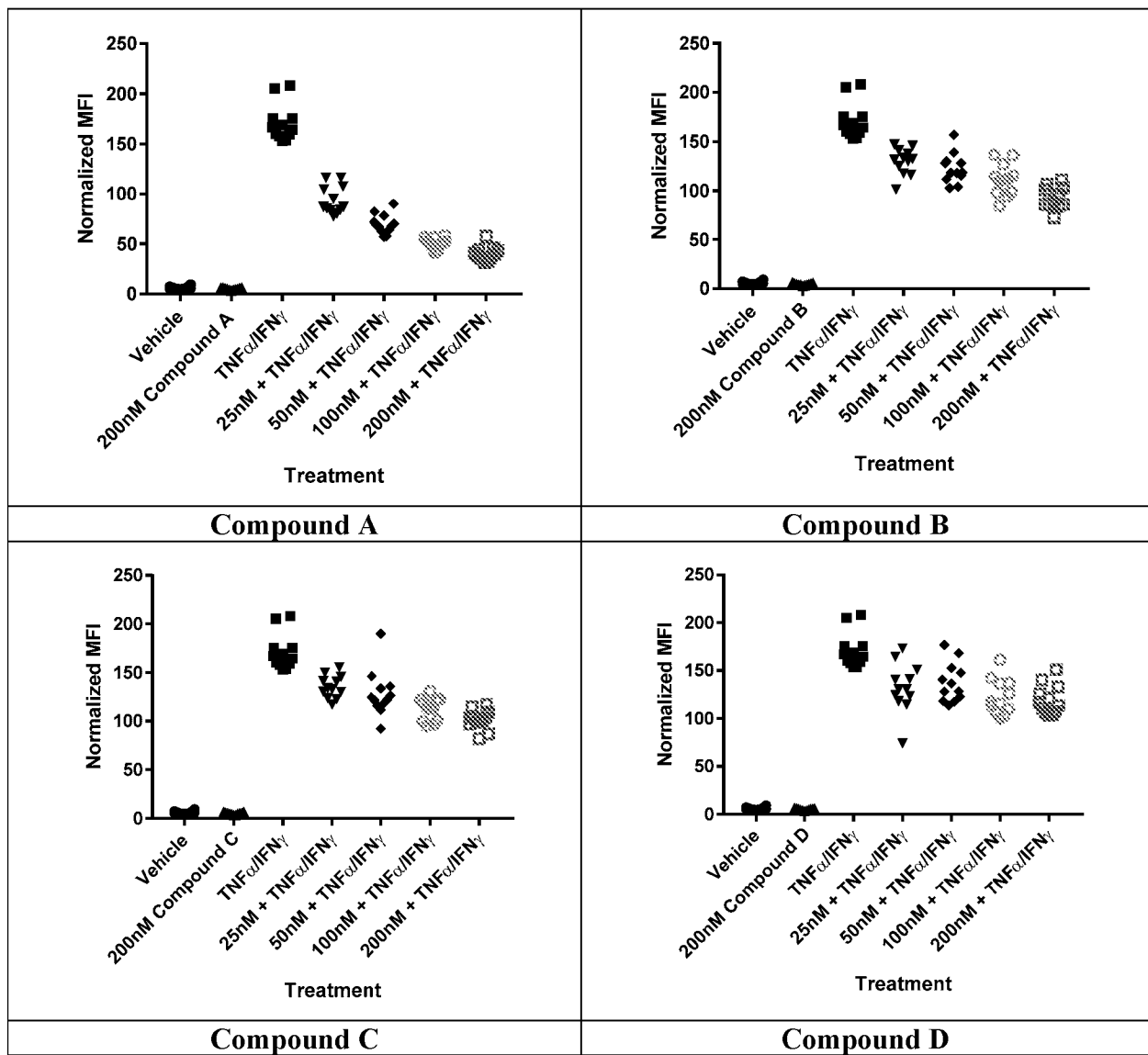


FIG. 4

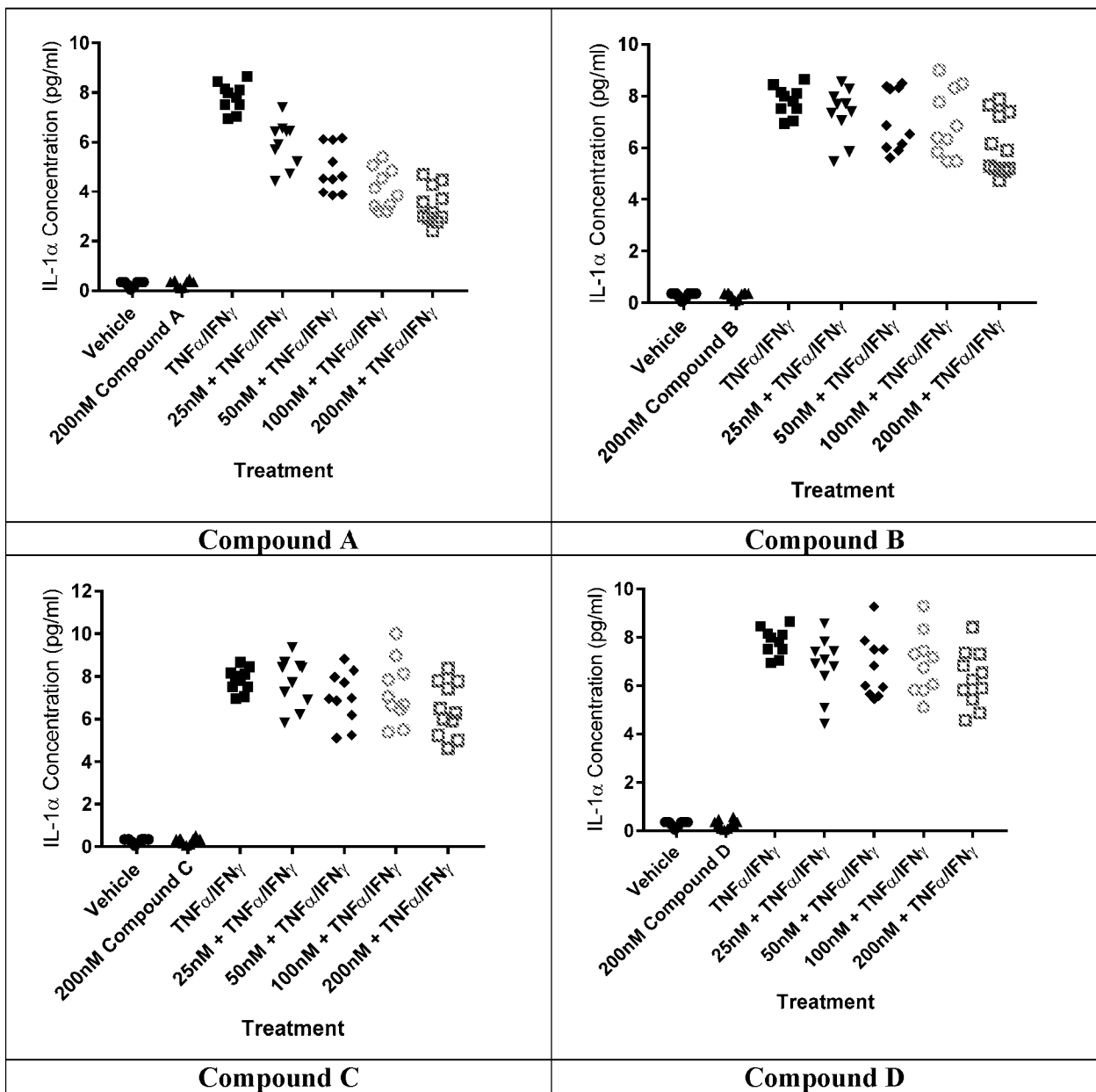


FIG. 5

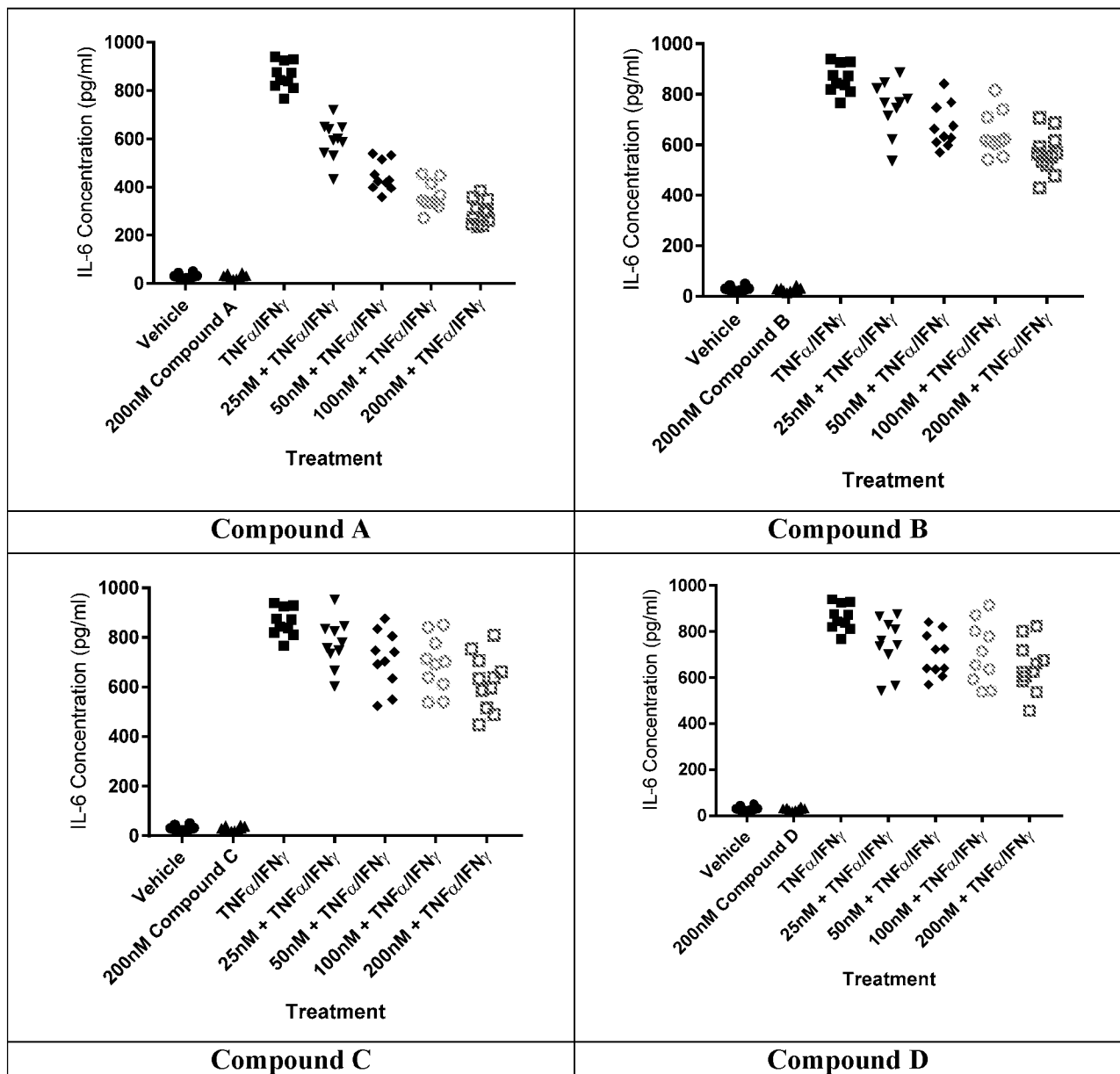
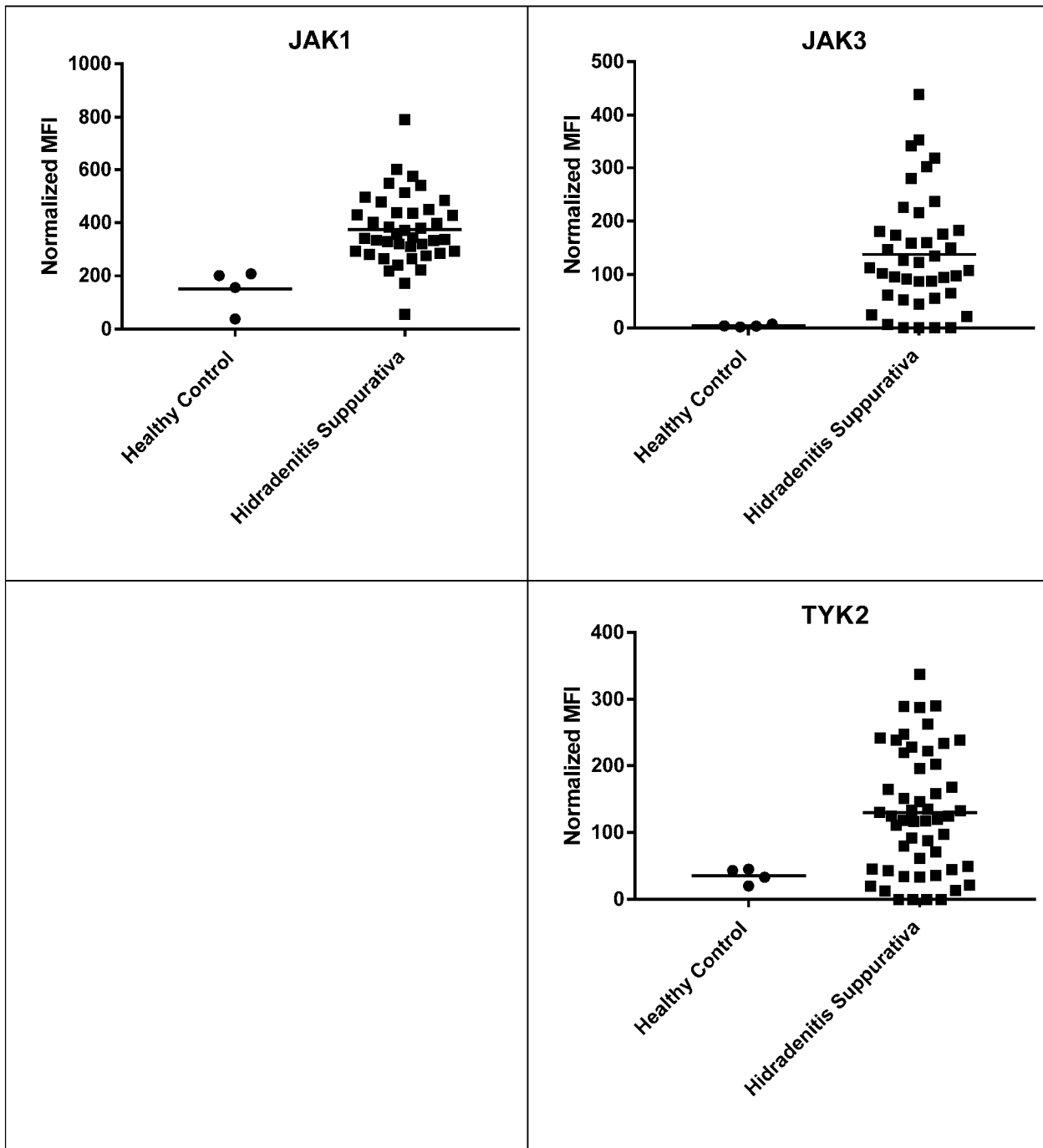
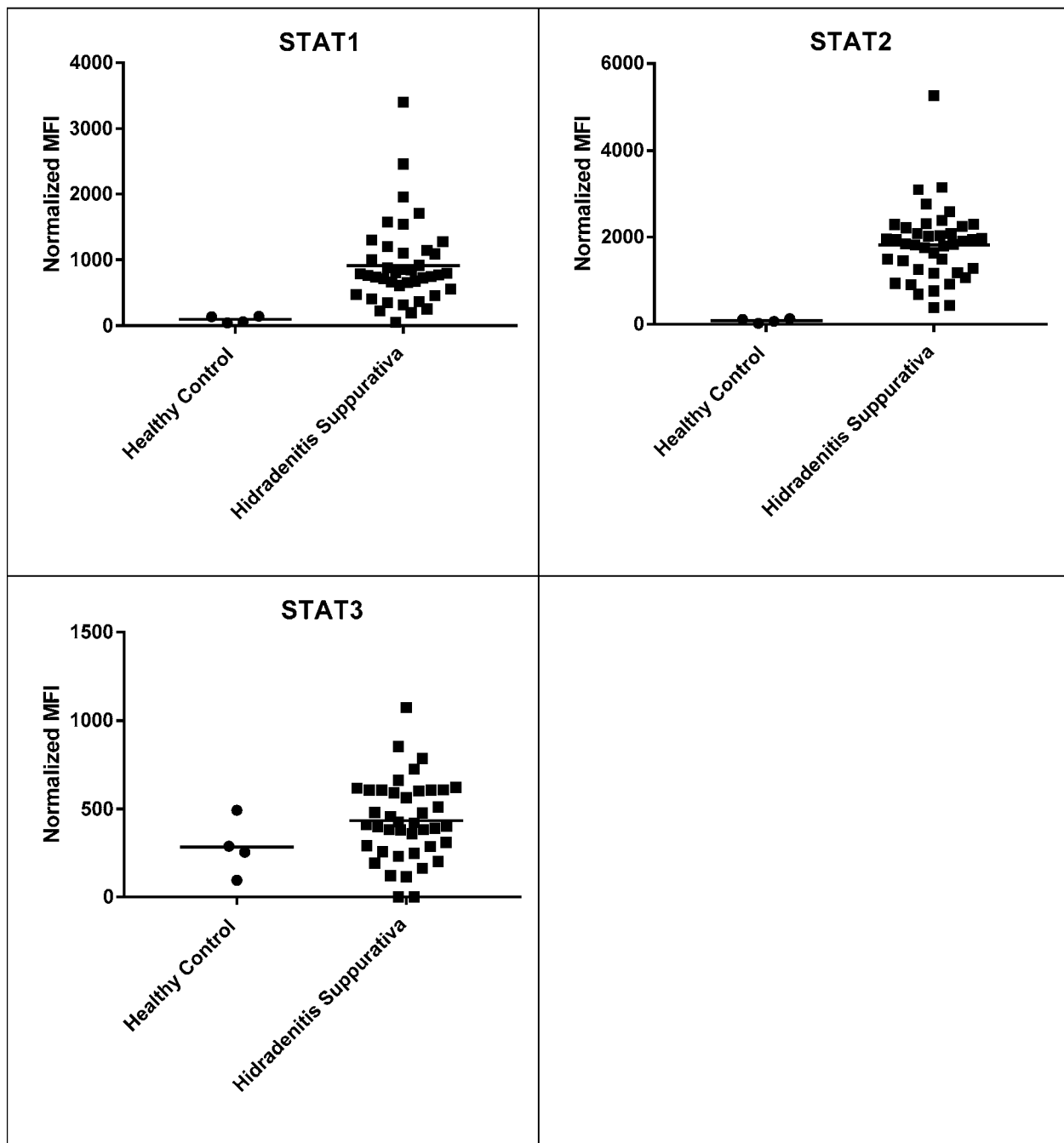
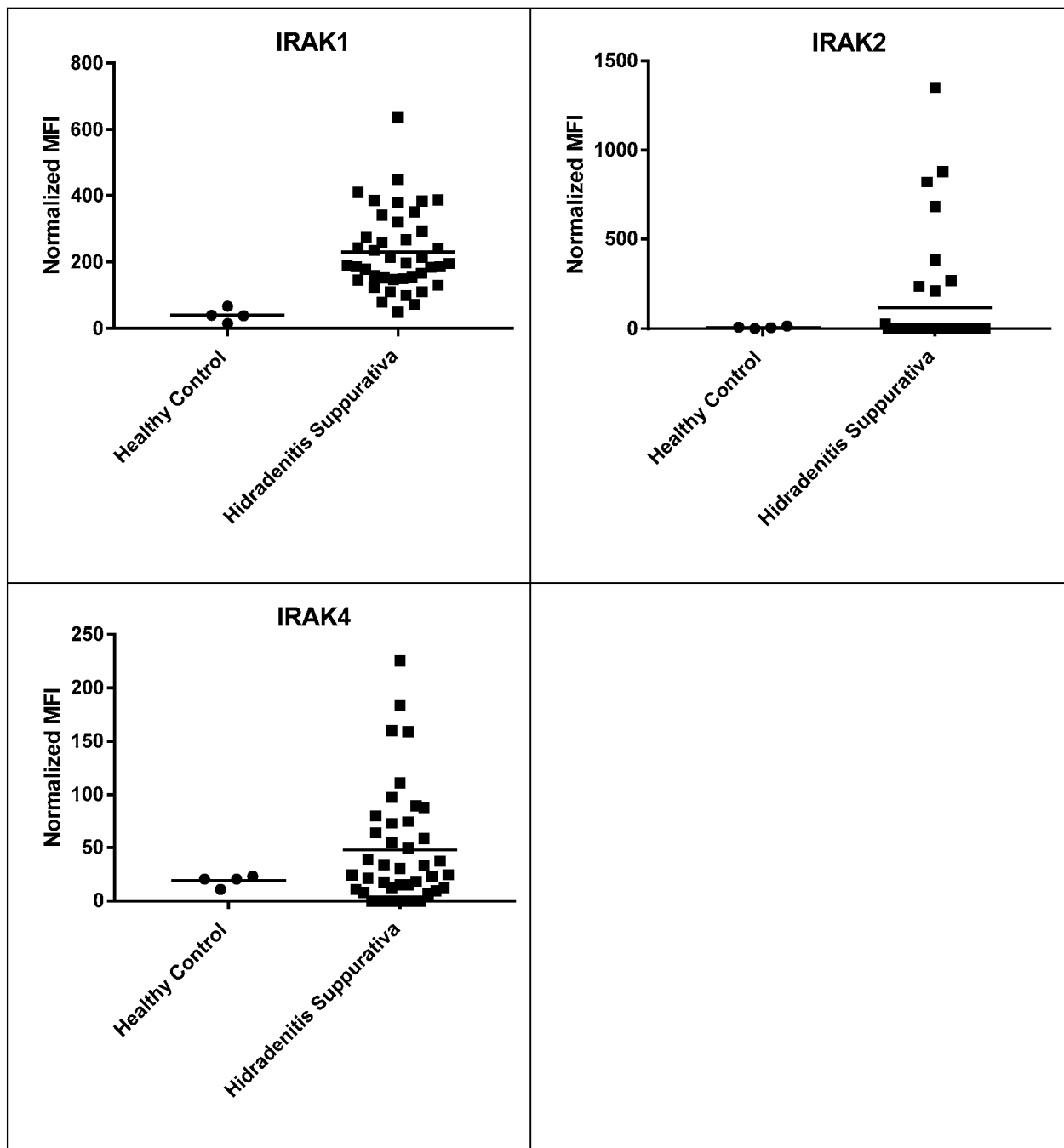


FIG. 6

**FIG. 7**

**FIG. 8**

**FIG. 9**