

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo n. 4161528

a nome di:

Incyte Corporation

**“Combinazione di ruxolitinib con INCB057643 per uso nel trattamento di neoplasie mieloproliferative”**

## DESCRIZIONE

### **CAMPO TECNICO**

La presente domanda riguarda l'inibitore di JAK1/JAK2, ruxolitinib, in combinazione con un inibitore di proteina BET, 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one per l'uso nel trattamento di neoplasie mieloproliferative, in cui la combinazione è inaspettatamente sinergica.

### **FONDAMENTO**

Il composto 1 è un inibitore a piccola molecola dei bromodomini leganti acili presenti nelle proteine del Bromodominio e del Dominio Extraterminale (BET). I quattro membri della famiglia (BRD2, 3, 4, T) facilitano la trascrizione legando gli istoni acetilati e reclutando complessi di inizio e allungamento della trascrizione, agendo così come collegamento tra la cromatina e l'attivazione trascrizionale (vedere Shi, J., e Vakoc, C.R., "The Mechanisms Behind the Therapeutic Activity of BET Bromodomain Inhibition" *Molecular Cell* 2014; 54, 728-736).

Il gene BRD4 (e occasionalmente BRD3) è un componente di una traslocazione cromosomica che produce un sottotipo aggressivo di carcinomi squamosi denominati carcinoma "della linea mediana NUT". Questi carcinomi della linea mediana sono definiti da traslocazioni t(15;19) che danno origine all'oncogene BRD4-NUT. La proteina di fusione risultante è costituita da BRD4 all'N-terminale e NUT (proteina nucleare nel testicolo) al C-terminale. La rimozione di questa proteina dalla cromatina, tramite silenziamento dell'RNA o inibitori di piccole molecole, determina la differenziazione e l'arresto della crescita in questi carcinomi (vedere Filippakopoulos, P., et al., *Selective Inhibition of BET Bromodomains*. *Nature* 2010; 468, 1067-1073).

Si ritiene che le proteine BET esercitino effetti proliferativi facilitando la trascrizione di oncogeni come c-myc, tra gli altri. È stato dimostrato che i composti inibitori di BRD4 impediscono a BRD4 di associarsi alla cromatina, incluso il promotore di c-myc, nei modelli di mieloma multiplo. Questa dissociazione porta a livelli ridotti di espressione di c-myc e a una ridotta vitalità cellulare (vedere Delmore, JE, et al., "BET Bromodomain Inhibition as a Therapeutic Strategy to Target c-MYC" *Cell* 2011; 146, 904-917). È stato recentemente scoperto

che BRD4 si lega ai "super-potenziatori", che sono vasti elementi regolatori trascrizionali all'interno dei geni necessari per il destino e la sopravvivenza cellulare. Un esempio si trova nel mieloma multiplo, dove è stato trovato che il gene c-myc ha una regione di super-potenziatore legata a BRD4, dando origine ad alti livelli di trascrizione di c-myc (vedere Loven, J., et al., "Selective Inhibition of Tumor Oncogenes by Disruption of Super-Enhancers" Cell 2013; 153, 320-334).

La mutazione MPLW515L è presente in una piccola percentuale di pazienti con neoplasie mieloproliferative (MPN) negative al cromosoma Philadelphia. Questa mutazione causa l'attivazione costitutiva di JAK2, portando a un potenziamento della segnalazione attraverso i suoi bersagli a valle e a un conseguente aumento dei livelli di proliferazione cellulare. Poiché esiste una notevole sovrapposizione tra la via di segnalazione JAK/STAT e le vie infiammatorie regolate trascrizionalmente dalle proteine BET, la combinazione di inibitori di BET e JAK nelle MPN può costituire la base per un nuovo protocollo di trattamento terapeutico.

G. Falchook et al. ("Development of 2 Bromodomain and Extraterminal Inhibitors With Distinct Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profiles for the Treatment of Advanced Malignancies", Clin Cancer Res. 2020 Mar 15;26(6):1247-1257) riportano i risultati di due studi indipendenti di fase 1/2, "first-in-human", di aumento e di espansione della dose, sicurezza e tollerabilità di due inibitori di BET.

Q. Jiang et al. ("BET'ing on Dual JAK/BET Inhibition as a Therapeutic Strategy for Myeloproliferative Neoplasms", Cancer Cell. 8 gennaio 2018;33(1):3-5) si riferisce a una strategia di combinazione progettata per inibire il bromodominio BET e la segnalazione JAK/STAT come metodo per inibire la produzione di NF-κB e citochine nelle neoplasie mieloproliferative (MPN).

C'è bisogno di nuove terapie per migliorare l'esito sui pazienti. Questa domanda è rivolta a questa e ad altre esigenze.

### SOMMARIO

L'invenzione è definita nelle rivendicazioni allegate.

La presente domanda fornisce, tra l'altro, un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile

farmaceuticamente, per l'uso in metodi di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, i metodi comprendenti la somministrazione a detto paziente di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

La presente domanda fornisce anche un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso in metodi per il trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, il metodo comprendente la somministrazione a detto paziente di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e una dose da circa 5 mg/giorno a circa 60 mg/giorno in termini di base libera di ruxolitinib o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

La presente domanda fornisce anche i composti per l'uso secondo l'invenzione come definito nelle rivendicazioni alle dosi qui riportate per l'uso nel trattamento di una neoplasia mieloproliferativa, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

I dettagli di una o più realizzazioni sono esposti nella descrizione seguente. Altre caratteristiche, scopi e vantaggi risulteranno evidenti dalla descrizione e dalle rivendicazioni.

#### **DESCRIZIONE DELLE FIGURE**

FIG. 1A è un grafico che illustra l'efficacia del Composto 1 nel modello di xenotrapianto HEL, volume del tumore ( $\text{mm}^3$ ) in funzione dei giorni successivi all'inoculazione.

FIG. 1B è un grafico che illustra la tollerabilità del Composto 1 nel modello di xenotrapianto HEL, variazione del peso corporeo corretta per il tumore (%) in funzione dei giorni successivi all'inoculazione.

FIG. 2A è un grafico che illustra l'efficacia della combinazione del Composto 1 e ruxolitinib nel modello SET-2, volume del tumore ( $\text{mm}^3$ ) in funzione dei giorni successivi all'inoculazione.

FIG. 2B è un grafico che illustra la tollerabilità della combinazione del Composto 1 e ruxolitinib nel modello SET-2, variazione del peso corporeo corretta per il tumore (%) in funzione dei giorni successivi all'inoculazione.

FIG. 3A è un grafico che illustra l'efficacia della combinazione del Composto 1 e ruxolitinib nel modello SET-2, volume del tumore ( $\text{mm}^3$ ) in funzione dei giorni successivi all'inoculazione.

FIG. 3B è un grafico che illustra la tollerabilità della combinazione del Composto 1 e ruxolitinib nel modello SET-2, variazione del peso corporeo corretta per il tumore (%) in funzione dei giorni successivi all'inoculazione.

FIG. 4A è un grafico che illustra il peso della milza e la conta dei globuli bianchi come misure dell'efficacia del Composto 1 e del ruxolitinib nel modello murino MPLW515L di MPN.

FIG. 4B è un grafico che illustra il peso della milza e la conta dei globuli bianchi come misure dell'efficacia del Composto 1 e del ruxolitinib nel modello murino MPLW515L di MPN.

FIG. 5 è una tabella (Tabella 3) che illustra un riepilogo dei parametri farmacocinetici del Composto 1 per il Composto 1 in monoterapia (parte 1 e 2) allo stato stazionario (ciclo 1 giorno 8).

FIG. 6 è un grafico che illustra l'inibizione dell'espressione della proteina cMyc nel saggio farmacodinamico a cellule stimulate rispetto ai livelli plasmatici del Composto 1.

FIG. 7 è un grafico che illustra le concentrazioni plasmatiche allo stato stazionario del Composto 1 (media  $\pm$  se) nei partecipanti dopo la somministrazione di una dose giornaliera del Composto 1 in monoterapia.

FIG. 8 è un grafico che illustra la probabilità di risposta (iperglicemia) rispetto all'AUC allo stato stazionario del Composto 1 dopo una somministrazione giornaliera del Composto 1 in monoterapia.

## **DESCRIZIONE DETTAGLIATA**

Qualsiasi riferimento nella presente a metodi di trattamento del corpo umano e/o animale si riferisce ai composti, ai prodotti farmaceutici, alle composizioni farmaceutiche e ai medicinali qui descritti per l'uso in un metodo per il trattamento del corpo umano e/o animale mediante terapia o per diagnosi.

Per i termini "ad esempio" e "come", e i loro equivalenti grammaticali, si intende che la frase "e senza limitazione", segue salvo diversa indicazione esplicita.

Come qui utilizzato, le forme singolari "un", "uno" e "il" includono riferimenti plurali a meno che il contesto non indichi chiaramente diversamente.

Come utilizzato nella presente, il termine "circa" significa "approssimativamente" (ad esempio, più o meno circa il 10% del valore indicato).

Come utilizzata nella presente, l'espressione "forma solida" si riferisce a un composto fornito nella presente sia in uno stato amorfo che in uno stato cristallino ("forma cristallina" o "solido cristallino" o "forma solida cristallina"), per cui un composto fornito nella presente in uno stato cristallino può opzionalmente includere solvente o acqua all'interno del reticolo cristallino, ad esempio, per formare una forma cristallina solvatata o idratata. Il termine "idratato", come utilizzato nella presente, si intende riferirsi a una forma cristallina che include molecole d'acqua nel reticolo cristallino. Le forme cristalline "idratate" ad esempio includono emiidrati, monoidrati, diidrati e simili. Altre forme idratate come gli idrati a canale e simili sono anch'esse incluse nel significato del termine.

La presente invenzione riguarda l'uso di un inibitore di JAK1/JAK2, ruxolitinib, in combinazione con un inibitore della proteina BET che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-ossolo-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, per il trattamento di una neoplasia mieloproliferativa, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica. Il ruxolitinib, (3R)-3-ciclopentil-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]propanonitrile, è un inibitore di JAK1 e JAK2. L'IC<sub>50</sub> del ruxolitinib è stato misurato mediante il saggio A

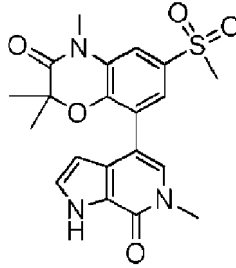
riportato più avanti a 1 mM di ATP ed è risultato inferiore a 10 nM su JAK1 e JAK2. Il ruxolitinib può essere prodotto con la procedura descritta nel brevetto USA n. 7.598.257 (esempio 67), depositato il 12 dicembre 2006.

Il ruxolitinib fosfato può essere preparato come descritto nel brevetto USA n. 2008/0312259.

È stato dimostrato che l'inibizione di BET inibisce la segnalazione infiammatoria nelle neoplasie mieloproliferative (vedere Kleppe M, Koche R, Zou L, et al., "Dual targeting of oncogenic activation and inflammatory signaling increases therapeutic efficacy in myeloproliferative neoplasms". *Cancer Cell* 2018; 33:29-43.e7). Nello studio citato, l'inibitore di BET in combinazione con l'inibizione di JAK ha ridotto la produzione di citochine patologiche e il carico complessivo della malattia. Nello specifico, in un modello in vivo di neoplasia mieloproliferativa, il trattamento combinato con ruxolitinib e JQ1, rispettivamente un inibitore di JAK1/2 e un inibitore di BET, ha determinato una diminuzione dell'infiammazione e una riduzione del carico della malattia. Il trattamento ha anche eliminato la fibrosi nei topi con mielofibrosi, una risposta non precedentemente osservata con la terapia con inibitore di JAK a singolo agente. Meccanicisticamente, si propone che gli effetti sinergici degli inibitori di JAK e BET siano mediati dal blocco di due regolatori principali della segnalazione infiammatoria patologica, rispettivamente JAK/STAT e NF-κB. Nel complesso, questi dati giustificano la valutazione degli inibitori di BET nelle neoplasie caratterizzate da infiammazione sottostante, come le neoplasie mieloproliferative, inclusa la mielofibrosi primaria.

La presente domanda fornisce un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica in un paziente che ne ha bisogno, comprendente la somministrazione a detto paziente di ruxolitinib e 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one (Composto 1 di seguito) che è un inibitore delle proteine BET come BRD2, BRD3, BRD4 e BRD-t. Il Composto 1 può essere preparato come descritto nel

Brevetto USA 9.540.368 o nel Brevetto USA 10.189.832.



Composto 1

La presente domanda fornisce un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, comprendente la somministrazione a detto paziente di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui le neoplasie mieloproliferative sono selezionate tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica. La somministrazione di una combinazione di Composto 1 e ruxolitinib può fornire un'efficacia migliorata. Come dimostrato dagli esempi forniti nella presente, la combinazione di Composto 1 e ruxolitinib ha mostrato un'efficacia migliorata nei modelli *in vivo* e significativamente ( $p < 0,05$ ) più efficace sia di ruxolitinib da solo che del Composto 1 da solo. In altre parole, la combinazione di ruxolitinib e Composto 1 fornisce un'efficacia superiore alla somma delle parti.

La presente domanda fornisce inoltre un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, comprendente la somministrazione a detto paziente di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-

1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e una quantità terapeuticamente efficace di ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente di cui, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

La presente domanda fornisce inoltre composti per l'uso secondo l'invenzione in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, comprendente la somministrazione a detto paziente di una dose da circa 2 mg/giorno a circa 20 mg/giorno su una base libera di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e una quantità terapeuticamente efficace di ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è da circa 2 mg/giorno a circa 18 mg/giorno in termini di base libera

In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è da circa 2 mg/giorno a circa 12 mg/giorno in termini di base libera

In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 4 mg/giorno a circa 8 mg/giorno in termini di base libera

Ad esempio, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-

(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 2, circa 4, circa 6, circa 10, circa 12, circa 14, circa 16, circa 18 o circa 20 mg/giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 2, circa 4, circa 6, circa 8, circa 10, circa 12, circa 14, circa 16, circa 18 o circa 20 mg/giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 2, circa 4, circa 6, circa 8, circa 10 o circa 12 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 4, circa 6 o circa 8 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 8, circa 10, circa 12, circa 14 o circa 16 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 10, circa 12, circa 14, circa 16 mg o circa 18 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 2 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 4 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 6 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 8 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose

di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 10 mg al giorno in termini di base libera. In alcune realizzazioni, la dose di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 12 mg al giorno in termini di base libera

In alcune realizzazioni, 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati una volta al giorno (QD). In alcune realizzazioni, 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati due volte al giorno (BID).

In alcune realizzazioni, la dose di ruxolitinib, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 5 mg/giorno fino a circa 60 mg/giorno in termini di base libera. Ad esempio, la dose di ruxolitinib, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 5, circa 10, circa 15, circa 20, circa 25, circa 30, circa 35, circa 40, circa 45, circa 50, circa 55 o 60 mg/giorno in termini di base libera

In alcune realizzazioni, la dose di ruxolitinib, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 2,5 mg BID a circa 30 mg BID in termini di base libera. Ad esempio, la dose di ruxolitinib, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, è di circa 2,5, circa 5, circa 7,5, circa 10, circa 12,5, circa 15, circa 17,5, circa 20, circa 25 o circa 30 mg BID in termini di base libera.

In alcune realizzazioni, il sale accettabile farmaceuticamente del ruxolitinib è il fosfato di ruxolitinib.

In alcune realizzazioni, il 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, è scelto tra il sale di acido fosforico, il sale di acido dicloridrico, il sale di acido cloridrico, il sale di acido maleico, il sale di acido adipico, il sale di acido bromidrico, il sale di acido (R)-(-)-mandelico, il sale di acido salicilico, il sale di acido benzoico, il sale di acido benzensolfonico, il sale di acido L-piroglutammico, il sale di acido metansolfonico, il

sale di acido (1S)-(+)-10-canforasolfonico, il sale di acido fumarico, il sale di acido solforico, il sale di acido L-tartarico e il sale di acido D-tartarico di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one. In alcune realizzazioni, il 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one è una base libera.

In alcune realizzazioni, il 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one include una o più forme solide cristalline di un inibitore di una proteina BET. Una discussione più dettagliata delle forme cristalline del Composto 1 può essere trovata nel brevetto USA n. 10.626.114, che è brevemente descritto nella presente. Tipicamente, diverse forme cristalline della stessa sostanza hanno diverse proprietà di massa relative, ad esempio, a igroscopicità, solubilità, stabilità e simili.

Le forme solide cristalline del Composto 1 possono includere solventi come l'acqua (ad esempio, una forma idratata) o essere sostanzialmente prive di acqua e solventi (ad esempio, formando un anidro). In alcune realizzazioni, la forma solida cristallina è un composto anidro. In altre realizzazioni, la forma solida cristallina è idratata. Il Composto 1 può essere ottenuto in una forma solida cristallina denominata Forma I, Forma II, Forma III, Forma IV, Forma V, Forma Va, Forma VI, Forma VII, Forma VIII, Forma IX, Forma X, Forma XI, Forma XII, Forma XIII, Forma XIV, e Forma X, che sono descritte nel brevetto USA N. 10.626.114.

I dati sperimentali mostrano che la Forma I è anidra. La Forma I è caratterizzata dal suo modello XRPD e da altre caratteristiche dello stato solido. In alcune realizzazioni, la Forma I presenta uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,7, circa 9,8, circa 12,7, circa 21,4 e circa 23,3 gradi.

I dati sperimentali mostrano che la Forma II è anidra. Forma II è caratterizzata dal suo modello XRPD e da altre caratteristiche dello stato solido. In alcune realizzazioni, Forma II ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 6,7, circa 9,5, circa 10,5, circa 14,8, circa 16,2, circa 17,0, circa 18,8, e circa 19,3 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma III ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 7,8, circa 12,4, circa 13,1, circa 15,2, circa 15,5, circa 16,9, circa 17,5, e circa 20,3 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma IV ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 11,2, circa 16,3, circa 18,7, e circa 22,1 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma V ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,2, circa 8,5, circa 14,1, circa 16,3, circa 17,1, circa 18,9, circa 19,8, circa 21,8, e circa 22,7 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma Va ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,7, circa 16,5, circa 17,3, circa 19,9, e circa 21,6 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma VI ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,5, circa 9,6, circa 11,4, circa 12,1, circa 13,5, circa 14,5, circa 15,2, circa 17,1, circa 17,7, circa 18,1, circa 19,2, e circa 20,7 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma VII ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 9,9, circa 12,2, circa 14,8, circa 15,7, circa 17,0, circa 17,5, e circa 18,8 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma VIII ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,1, circa 8,5, circa 16,2, circa 16,6, circa 17,0, circa 17,5, circa 18,0, circa 18,9, circa 19,6, e circa 20,1 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma IX ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,6, circa 9,1, circa 11,4, circa 13,4, circa 15,2, circa 18,2, circa 22,1, circa 22,8, e circa 23,9 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma X ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 14,9, circa 15,3, circa 15,8, circa 17,0, circa 17,7, circa 18,3, e circa 19,7 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma XI ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,9, circa 12,8, circa 18,0, circa 21,5, circa 22,6, e circa 23,3 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma XII ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 5,6, circa 11,7, circa 13,8, circa 14,5, circa 16,9, circa 17,7, circa 18,7, circa 23,5, circa 24,6, circa 34,3, circa 44,2, e 44,6 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma XIII ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 5,7, circa 8,6, circa 9,8, circa 11,8, circa 12,6, circa 13,4, circa 14,1, circa 14,8, circa 16,6, e circa 19,1 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma XIV ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa

4,0, circa 11,2, circa 11,9, circa 14,1, circa 14,8, e circa 15,9 gradi.

In alcune realizzazioni, Forma XV ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 7,4, circa 9,6, circa 12,4, circa 13,4, circa 15,5, circa 16,9, circa 17,7, circa 19,0, circa 19,5, circa 20,6, e circa 22,5 gradi.

La presente domanda fornisce un metodo per trattare una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, comprendente la somministrazione a detto paziente di 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e una quantità terapeuticamente efficace di ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

In alcune realizzazioni, la neoplasia mieloproliferativa è la policitemia vera (PV).

In alcune realizzazioni, la neoplasia mieloproliferativa è la trombocitemia essenziale (ET).

In alcune realizzazioni, la neoplasia mieloproliferativa è mielofibrosi primaria.

In alcune realizzazioni, la neoplasia mieloproliferativa è la mielofibrosi.

In alcune realizzazioni, ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati per via orale. In alcune realizzazioni, ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, viene somministrato per via orale. In alcune realizzazioni, 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, viene somministrato per via orale.

In alcune realizzazioni, ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati simultaneamente o in sequenza.

Le precedenti realizzazioni sono destinate ad essere combinate in qualsiasi combinazione adatta come se le realizzazioni fossero rivendicazioni dipendenti multiple (ad esempio, le realizzazioni relative alle dosi individuali per ruxolitinib, le realizzazioni relative alle dosi individuali per l'inibitore della proteina BET (Composto 1), le realizzazioni relative alle forme saline, le realizzazioni relative ai singoli tipi di neoplasie mieloproliferative e le realizzazioni relative alla somministrazione orale possono essere combinate in qualsiasi combinazione). Le combinazioni non sono elencate separatamente nella presente semplicemente per brevità.

Tutti i composti e i loro sali accettabili farmaceuticamente si possono trovare insieme ad altre sostanze come acqua e solventi (ad esempio, idrati e solvati) o possono essere isolati. Allo stato solido, i composti qui descritti e i loro sali possono presentarsi in varie forme e possono, ad esempio, assumere la forma di solvati, compresi gli idrati. I composti possono presentarsi in qualsiasi forma allo stato solido, come un polimorfo o un solvato, pertanto, salvo diversa indicazione, il riferimento nella descrizione ai composti e ai loro sali deve essere inteso come comprendente qualsiasi forma allo stato solido del composto.

L'espressione "accettabile farmaceuticamente" è qui utilizzata per riferirsi a quei composti, materiali, composizioni e/o forme di dosaggio che sono, nell'ambito di un ponderato giudizio medico, adatti all'uso a contatto con i tessuti di esseri umani e animali senza eccessiva tossicità, irritazione, risposta allergica o altri problemi o complicazioni, commisurati a un ragionevole rapporto beneficio/rischio.

La presente invenzione include anche sali accettabili farmaceuticamente dei composti qui descritti. Il termine "sali accettabili farmaceuticamente" si riferisce a derivati dei composti descritti in cui il composto originario viene modificato convertendo una porzione acida o basica esistente nella sua forma salina. Esempi di sali accettabili farmaceuticamente includono, a titolo illustrativo ma non esaustivo, sali di acidi minerali o organici di residui basici come le ammine; sali alcalini o organici di residui acidi come gli acidi carbossilici; e simili. I sali accettabili farmaceuticamente della presente invenzione includono i sali non tossici del composto originario formati, ad esempio, da acidi inorganici o organici non tossici. I sali accettabili farmaceuticamente della presente invenzione possono essere sintetizzati dal composto originario 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 appropriato in acqua o in un solvente organico, o in una miscela dei due; in genere, si preferiscono mezzi non acquosi come etere, acetato di etile, alcoli (ad esempio metanolo, etanolo, isopropanolo o butanolo) o acetonitrile (MeCN). Elenchi di sali adatti si trovano in Remington's Pharmaceutical Sciences, 17a edizione, (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, Berge et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66(1), 1-19, e in Stahl et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Wiley, 2002). In alcune realizzazioni, i composti qui descritti includono le forme *N-ossido*.

I dosaggi descritti nella presente sono basati su una base libera. La frase "su una base libera" indica che la quantità del composto (ad esempio, ruxolitinib o un suo sale) nella forma di dosaggio è misurata in base al peso molecolare della base libera del composto, anche quando il principio attivo effettivo è un sale del composto avente un peso molecolare diverso da quello della base libera. Ad esempio, il fattore di conversione per il sale fosfato di ruxolitinib in base libera è 0,7575.

I termini "individuo" o "paziente", usati in modo intercambiabile, si riferiscono a qualsiasi animale, compresi i mammiferi, preferibilmente topi, ratti, altri roditori, conigli, cani, gatti, suini, bovini, pecore, cavalli o primati, e più preferibilmente gli esseri umani.

L'espressione "quantità terapeuticamente efficace" si riferisce alla quantità di composto attivo o agente farmaceutico che provoca la risposta biologica o medicinale in un tessuto, sistema, animale, individuo o essere umano desiderata da un ricercatore, veterinario, medico o altro personale clinico.

Il termine "trattare" o "trattamento" si riferisce a uno o più dei seguenti: (1) inibizione della malattia; ad esempio, inibizione di una malattia, condizione o disturbo in un individuo che sta vivendo o manifestando la patologia o la sintomatologia della malattia, condizione o disturbo (cioè, arresto dell'ulteriore sviluppo della patologia e/o della sintomatologia); e (2) miglioramento della malattia; ad esempio, miglioramento di una malattia, condizione o disturbo in un individuo che sta vivendo o manifestando la patologia o la sintomatologia della malattia, condizione o disturbo (cioè, inversione della patologia e/o della sintomatologia) come la riduzione della gravità della malattia. In una realizzazione, trattare o trattamento include la prevenzione o la riduzione del rischio di

sviluppare la malattia; ad esempio, prevenire o ridurre il rischio di sviluppare una malattia, una condizione o un disturbo in un individuo che potrebbe essere predisposto alla malattia, alla condizione o al disturbo ma che non sperimenta o non manifesta ancora la patologia o la sintomatologia della malattia.

Il termine “BID” significa due volte al giorno.

Il termine “QD” significa una volta al giorno.

#### *Combinazioni aggiuntive*

Il Composto 1 può essere usato in trattamenti combinati aggiuntivi in cui il Composto 1 viene somministrato in concomitanza con altri trattamenti, come la somministrazione di uno o più agenti terapeutici aggiuntivi. Gli agenti terapeutici aggiuntivi sono in genere quelli normalmente utilizzati per trattare la particolare condizione da trattare. Gli agenti terapeutici aggiuntivi possono includere, ad esempio, chemioterapici, agenti antinfiammatori, steroidi, immunosoppressori, nonché inibitori delle chinasi Bcr-Ab1, Flt-3, RAF, FAK e JAK per il trattamento di malattie, disturbi o condizioni associati alla proteina BET. Uno o più agenti farmaceutici aggiuntivi possono essere somministrati a un paziente simultaneamente o in sequenza.

In alcune realizzazioni, il Composto 1 può essere utilizzato in combinazione con un agente terapeutico che ha come bersaglio un regolatore epigenetico. Esempi di regolatori epigenetici includono le istone lisina metiltransferasi, le istone arginina metiltransferasi, le istone demetilasi, le istone deacetilasi, le istone acetilasi e le DNA metiltransferasi. Gli inibitori delle istone deacetilasi includono, ad esempio, vorinostat.

Per il trattamento del cancro e di altre malattie proliferative, il Composto 1 può essere utilizzato in combinazione con agenti chemioterapici o altri agenti antiproliferativi. Il Composto 1 può anche essere utilizzato in combinazione con terapia medica come chirurgia o radioterapia, ad esempio radiazioni gamma, radioterapia a fascio di neutroni, radioterapia a fascio di elettroni, terapia protonica, brachiterapia e isotopi radioattivi sistemici. Esempi di agenti chemioterapici adatti includono: abarelix, aldesleuchina, alemtuzumab, alitretinoina, allopurinolo, altretamina, anastrozolo, triossido di arsenico, asparaginasi, azacitidina, bevacizumab, bexarotene, bleomicina, bortezomi, bortezomib, busulfan endovenoso, busulfan orale, calusterone, capecitabina, carboplatino, carmustina, cetuximab, clorambucile, cisplatino, cladribina, clofarabina, ciclofosfamida, citarabina,

dacarbazina, dactinomicina, dalteparina sodica, dasatinib, daunorubicina, decitabina, denileuchina, denileuchina diftotox, dexrazossane, docetaxel, doxorubicina, dromostanolone propionato, eculizumab, epirubicina, erlotinib, estramustina, etoposide fosfato, etoposide, exemestane, fentanil citrato, filgrastim, floxuridina, fludarabina, fluorouracile, fulvestrant, gefitinib, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicin, goserelin acetato, histrelin acetato, ibritumomab tiuxetan, idarubicina, ifosfamide, imatinib mesilato, interferone alfa 2a, irinotecan, lapatinib ditosilato, lenalidomide, letrozolo, leucovorin, leuprolide acetato, levamisolo, lomustina, mecloretamina, megestrolo acetato, melfalan, mercaptopurina, metotrexato, metoxsalen, mitomicina C, mitotano, mitossantrone, nandrolone fenpropionato, nelarabina, nofetumomab, ossaliplatino, paclitaxel, pamidronato, panitumumab, pegaspargasi, pegfilgrastim, pemetrexed disodico, pentostatina, pipobroman, plicamicina, procarbazine, quinacrina, rasburicase, rituximab, ruxolitinib, sorafenib, streptozocina, sunitinib, maleato di sunitinib, tamoxifene, temozolomide, teniposide, testolattone, talidomide, tioguanina, tiotepa, topotecan, toremifene, tositumomab, trastuzumab, tretinoina, uracile mostarda, valrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vorinostat e zoledronato.

Per il trattamento del cancro e di altre malattie proliferative, il Composto 1 può essere utilizzato in combinazione con ruxolitinib.

Il composto 1 può essere utilizzato in combinazione con uno o più inibitori del punto di controllo immunitario. Esempi di inibitori del punto di controllo immunitario includono inibitori contro molecole del punto di controllo immunitario come CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K delta, PI3K gamma, TAM, arginasi, CD137 (noto anche come 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, PD-1, PD-L1 e PD-L2. In alcune realizzazioni, la molecola del punto di controllo immunitario è una molecola del punto di controllo stimolatorio scelta tra CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR e CD137. In alcune realizzazioni, la molecola del punto di controllo immunitario è una molecola di punto di controllo inibitorio scelta tra A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3 e VISTA. In alcune realizzazioni, i composti qui forniti possono essere utilizzati in combinazione con uno o più agenti scelti tra inibitori di KIR, inibitori di TIGIT, inibitori di LAIR1, inibitori di CD160, inibitori di 2B4 e

inibitori di TGFR beta.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è l'anticorpo anti-PD1, l'anticorpo anti-PD-L1 o l'anticorpo anti-CTLA-4.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è un inibitore di PD-1, ad esempio un anticorpo monoclonale anti-PD-1. In alcune realizzazioni, l'anticorpo monoclonale anti-PD-1 è nivolumab, pembrolizumab (noto anche come MK-3475), pidilizumab, SHR-1210, PDR001 o AMP-224. In alcune realizzazioni, l'anticorpo monoclonale anti-PD-1 è nivolumab o pembrolizumab. In alcune realizzazioni, l'anticorpo anti-PD1 è pembrolizumab.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è un inibitore di PD-L1, ad esempio un anticorpo monoclonale anti-PD-L1. In alcune realizzazioni, l'anticorpo monoclonale anti-PD-L1 è BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (noto anche come RG7446) o MSB0010718C. In alcune realizzazioni, l'anticorpo monoclonale anti-PD-L1 è MPDL3280A o MEDI4736.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è un inibitore di CTLA-4, ad esempio un anticorpo anti-CTLA-4. In alcune realizzazioni, l'anticorpo anti-CTLA-4 è ipilimumab.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è un inibitore di LAG3, ad esempio un anticorpo anti-LAG3. In alcune realizzazioni, l'anticorpo anti-LAG3 è BMS-986016 o LAG525.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è un inibitore di GITR, ad esempio un anticorpo anti-GITR. In alcune realizzazioni, l'anticorpo anti-GITR è TRX518 o MK-4166.

In alcune realizzazioni, l'inibitore di una molecola di punto di controllo immunitario è un inibitore di OX40, ad esempio un anticorpo anti-OX40 o una proteina di fusione OX40L. In alcune realizzazioni, l'anticorpo anti-OX40 è MEDI0562. In alcune realizzazioni, la proteina di fusione OX40L è MEDI6383.

Il Composto 1 può essere usato in combinazione con uno o più agenti per il trattamento di malattie come il cancro. In alcune realizzazioni, l'agente è un agente alchilante, un inibitore del proteasoma, un corticosteroide o un agente immunomodulatore. Esempi di un agente alchilante includono ciclofosfamide (CY), melfalan (MEL) e bendamustina. In alcune realizzazioni, l'inibitore del proteasoma è carfilzomib. In alcune realizzazioni, il

corticosteroide è desametasone (DEX). In alcune realizzazioni, l'agente immunomodulatore è lenalidomide (LEN) o pomalidomide (POM).

Per il trattamento di condizioni autoimmuni o infiammatorie, il Composto 1 può essere somministrato in combinazione con un corticosteroide come triamcinolone, desametasone, fluocinolone, cortisone, prednisolone o flumetolone.

Per il trattamento di condizioni autoimmuni o infiammatorie, il Composto 1 può essere somministrato in combinazione con un immunosoppressore come fluocinolone acetone (Retisert®), rimexolone (AL-2178, Vexol, Alcon) o ciclosporina (Restasis®).

Per il trattamento di condizioni autoimmuni o infiammatorie, il Composto 1 può essere somministrato in combinazione con uno o più agenti aggiuntivi scelti tra Dehydrex™ (Holles Labs), Civamide (Opko), ialuronato di sodio (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 (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S, 3S, 4R, 5R)-3, 4-diidrossi-5-[6-[(3-iodofenil)metilammino]purin-9-il]-N-metil-ossolano-2-carbamil, Can-Fite Biopharma), voclosporina (LX212 o LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (analogo sintetico della resolvina, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazone (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Ophthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritin (Senju), rebamipide (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (University of Pennsylvania e Temple University), pilocarpina, tacrolimus, pimecrolimus (AMS981, Novartis), loteprednol etabonato, rituximab, diquafosol tetrasodio (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), deidroepiandrosterone, anakinra, efalizumab, micofenolato sodico, etanercept (Embrei®), idrossiclorochina, NGX267 (TorreyPines Therapeutics) o talidomide.

In alcune realizzazioni, il Composto 1 può essere somministrato in combinazione con uno o più agenti scelti tra antibiotici, antivirali, antimicotici, anestetici, antinfiammatori, inclusi antinfiammatori steroidei e non steroidei, e

agenti antiallergici. Esempi di farmaci adatti includono aminoglicosidi come amikacina, gentamicina, tobramicina, streptomina, netilmicina e kanamicina; fluorochinoloni come ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina, lomefloxacina, levofloxacina ed enossacina; naftiridina; solfonamidi; polimixina; cloramfenicolo; neomicina; paramomicina; colistimetato; bacitracina; vancomicina; tetraciline; rifampicina e suoi derivati ("rifampine"); cicloserina; beta-lattamici; cefalosporine; amfotericine; fluconazolo; flucitosina; natamicina; miconazolo; ketoconazolo; corticosteroidi; diclofenac; flurbiprofene; ketorolac; suprofen; cromolyn; lodoxamide; levocabastina; nafazolina; antazolina; feniramina; antibiotico azalide.

Altri esempi di agenti, uno o più dei quali possono essere anche combinati con un composto fornito includono: un trattamento per il morbo di Alzheimer come donepezil e rivastigmina; un trattamento per il morbo di Parkinson come L-DOPA/carbidopa, entacapone, ropinirolo, pramipexolo, bromocriptina, pergolide, triisfenidile e amantadina; un agente per il trattamento della sclerosi multipla (SM) come interferone beta (ad esempio, Avonex® e Rebif®), glatiramer acetato e mitoxantrone; un trattamento per l'asma come albuterolo e montelukast; un agente per il trattamento della schizofrenia come zyprexa, risperdal, seroquel e aloperidolo; un agente antinfiammatorio come un corticosteroide, come il desametasone o il prednisone, un bloccante del TNF, IL-1 RA, azatioprina, ciclofosfamide e solfasalazina; un agente immunomodulatore, compresi gli agenti immunosoppressori, come ciclosporina, tacrolimus, rapamicina, micofenolato mofetile, un interferone, un corticosteroide, ciclofosfamide, azatioprina e solfasalazina; un fattore neurotrofico come un inibitore dell'acetilcolinesterasi, un inibitore delle MAO, un interferone, un anticonvulsivo, un bloccante dei canali ionici, riluzolo o un agente anti-Parkinson; un agente per il trattamento delle malattie cardiovascolari come un beta-bloccante, un ACE inibitore, un diuretico, un nitrato, un bloccante dei canali del calcio o una statina; un agente per il trattamento delle malattie del fegato come un corticosteroide, la colestiramina, un interferone e un agente antivirale; un agente per il trattamento delle malattie del sangue come un corticosteroide, un agente antileucemico o un fattore di crescita; o un agente per il trattamento dei disturbi da immunodeficienza come la gammaglobulina.

In alcune realizzazioni, il Composto 1 viene somministrato in combinazione con un inibitore della chinasi JAK

(ad esempio, ruxolitinib, tofacitinib, baricitinib, CYT387, GLPG0634, lestaurtinib, pacritinib, TG101348 o un inibitore selettivo di JAK1), un inibitore della chinasi Pim (inclusi gli inibitori di uno o più di PIM1, PIM2 e PIM3), un inibitore della chinasi PI3 inclusi inibitori PI3K selettivi e ad ampio spettro, un inibitore di MEK, un inibitore della chinasi ciclina-dipendente, un inibitore di b-RAF, un inibitore di mTOR, un inibitore del proteasoma (ad esempio, bortezomib, carfilzomib), un inibitore di HDAC (ad esempio, panobinostat, vorinostat), un inibitore della DNA metil transferasi, desametasone, melfalan, o un immunomodulatore (ad esempio, lenolidomide, pomalidomide).

Quando più di un agente farmaceutico viene somministrato a un paziente, essi possono essere somministrati simultaneamente, sequenzialmente o in combinazione (ad esempio, per più di due agenti).

### *Composizioni*

I composti per l'uso secondo l'invenzione possono essere somministrati sotto forma di composizioni farmaceutiche. Queste composizioni possono essere preparate in un modo ben noto nella tecnica farmaceutica e possono essere somministrate attraverso una varietà di vie, a seconda che sia indicato un trattamento locale o sistemico e dell'area da trattare. La somministrazione può essere topica (inclusa transdermica, epidermica, oftalmica e sulle mucose, inclusa la somministrazione intranasale, vaginale e rettale), polmonare (ad esempio, per inalazione o insufflazione di polveri o aerosol, anche mediante nebulizzatore; intratracheale o intranasale), orale o parenterale. La somministrazione parenterale include la somministrazione endovenosa, intraarteriosa, sottocutanea, intraperitoneale, intramuscolare o iniezione o infusione; o intracranica, ad esempio, intratecale o intraventricolare. La somministrazione parenterale può essere sotto forma di una singola dose in bolo o può essere, ad esempio, tramite una pompa per infusione continua. Le composizioni e le formulazioni farmaceutiche per somministrazione topica possono includere cerotti transdermici, unguenti, lozioni, creme, gel, gocce, supposte, spray, liquidi e polveri. Possono essere necessari o desiderabili veicoli farmaceutici convenzionali, basi acquose, in polvere o oleose, addensanti e simili.

Le composizioni farmaceutiche possono contenere, come principio attivo, i composti, o un sale accettabile farmaceuticamente degli stessi, in combinazione con uno o più veicoli accettabili farmaceuticamente

(eccipienti). In alcune realizzazioni, la composizione è adatta alla somministrazione topica. Nella preparazione delle composizioni, il principio attivo viene tipicamente miscelato con un eccipiente, diluito da un eccipiente o racchiuso in tale veicolo sotto forma, ad esempio, di una capsula, bustina, carta o altro contenitore. Quando l'eccipiente funge da diluente, può essere un materiale solido, semisolido o liquido, che funge da veicolo, vettore o mezzo per il principio attivo. Pertanto, le composizioni possono essere sotto forma di compresse, pillole, polveri, pastiglie, bustine, capsule, elisir, sospensioni, emulsioni, soluzioni, sciroppi, aerosol (come solido o in un mezzo liquido), unguenti contenenti, ad esempio, fino al 10% in peso del principio attivo, capsule di gelatina molle e dura, supposte, soluzioni iniettabili sterili e polveri confezionate sterili.

Nella preparazione di una formulazione, il composto attivo può essere macinato per ottenere la dimensione delle particelle appropriata prima della combinazione con gli altri ingredienti. Se il composto attivo è sostanzialmente insolubile, può essere macinato fino a ottenere 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 ottenere una distribuzione sostanzialmente uniforme nella formulazione, ad esempio circa 40 mesh.

I composti possono essere macinati utilizzando procedure di macinazione note come la macinazione a umido per ottenere una dimensione delle particelle appropriata per la formazione di compresse e per altri tipi di formulazione. Preparazioni finemente suddivise (nanoparticellari) dei composti dell'invenzione possono essere preparate mediante processi noti nella tecnica, vedere, ad esempio, WO 2002/000196.

Alcuni esempi di eccipienti adatti includono lattosio, destrosio, saccarosio, sorbitolo, mannitolo, amidi, gomma d'acacia, fosfato di calcio, alginati, gomma adragante, gelatina, silicato di calcio, cellulosa microcristallina, polivinilpirrolidone, cellulosa, acqua, sciroppo e metilcellulosa. Le formulazioni possono inoltre includere: agenti lubrificanti come talco, stearato di magnesio e olio minerale; agenti bagnanti; agenti emulsionanti e sospendenti; agenti conservanti come metil- e propilidrossi-benzoati; e agenti dolcificanti e aromatizzanti. Le composizioni dell'invenzione possono essere formulate in modo da fornire un rilascio rapido, prolungato o ritardato del principio attivo dopo la somministrazione al paziente utilizzando procedure note nella tecnica.

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

In alcune realizzazioni, la composizione è una composizione a rilascio prolungato che include almeno un composto descritto nella presente, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e almeno un veicolo accettabile farmaceuticamente. In alcune realizzazioni, la composizione include almeno un composto descritto nella presente, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e almeno un componente scelto tra cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato, idrossipropilmetilcellulosa e ossido di polietilene. In alcune realizzazioni, la composizione include almeno un composto descritto nella presente, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato e idrossipropilmetilcellulosa. In alcune realizzazioni, la composizione include almeno un composto descritto nella presente, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e cellulosa microcristallina, lattosio monoidrato e ossido di polietilene. In alcune realizzazioni, la composizione include inoltre stearato di magnesio o biossido di silicio. In alcune realizzazioni, la cellulosa microcristallina è Avicel PH102™. In alcune realizzazioni, il lattosio monoidrato è Fast-flo 316™. In alcune realizzazioni, l'idrossipropilmetilcellulosa è idrossipropilmetilcellulosa 2208 K4M (ad esempio, Methocel K4 M Premier™) e/o idrossipropilmetilcellulosa 2208 K100LV (ad esempio, Methocel K00LV™). In alcune realizzazioni, l'ossido di polietilene è ossido di polietilene WSR 1105 (ad esempio, Polyox WSR 1105™).

I componenti utilizzati per formulare le composizioni farmaceutiche sono di elevata purezza e sono sostanzialmente privi di contaminanti potenzialmente dannosi (ad esempio, almeno di grado National Food, generalmente almeno di grado analitico e, più tipicamente, almeno di grado farmaceutico). In particolare per il consumo umano, la composizione è preferibilmente prodotta o formulata secondo gli standard di Buona Pratica di Fabbricazione come definiti nelle normative applicabili della Food and Drug Administration statunitense. Ad esempio, le formulazioni idonee possono essere sterili e/o sostanzialmente isotoniche e/o pienamente conformi a tutte le normative di Buona Pratica di Fabbricazione della Food and Drug Administration statunitense.

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

Il dosaggio terapeutico di un composto della presente invenzione può variare in base, ad esempio, all'uso particolare per cui viene effettuato il trattamento, alla modalità di somministrazione del composto, alla salute e alle condizioni del paziente e al giudizio del medico prescrittore. La proporzione o la concentrazione di un composto dell'invenzione in una composizione farmaceutica può variare in base a una serie di fattori, tra cui il dosaggio, le caratteristiche chimiche (ad esempio, l'idrofobicità) e la via di somministrazione.

Per la preparazione di composizioni solide come le compresse, il principio attivo principale viene miscelato con un eccipiente farmaceutico per formare una composizione preformulativa solida contenente una miscela omogenea di un composto della presente invenzione. Quando si fa riferimento a queste composizioni preformulative come omogenee, il principio attivo è tipicamente disperso uniformemente in tutta la composizione in modo che la composizione possa essere facilmente suddivisa in forme di dosaggio unitario ugualmente efficaci come compresse, pillole e capsule. Questa preformulazione solida viene quindi suddivisa in forme di dosaggio unitario del tipo descritto sopra contenenti, ad esempio, da circa 0,1 a circa 1000 mg del principio attivo della presente invenzione.

Le compresse o pillole della presente invenzione possono essere rivestite o altrimenti composte per fornire una forma di dosaggio che offra il vantaggio di un'azione prolungata. Ad esempio, la compressa o la pillola può comprendere un dosaggio interno e un componente di dosaggio esterno, quest'ultimo sotto forma di un involucro sopra il primo. I due componenti possono essere separati da uno strato enterico che serve a resistere alla disintegrazione nello stomaco e consente al componente interno di passare intatto nel duodeno o di essere rilasciato con ritardo. Per tali strati o rivestimenti enterici può essere utilizzata una varietà di materiali, tra cui diversi acidi polimerici e miscele di acidi polimerici con materiali quali gommalacca, alcol cetilico e acetato di

cellulosa.

Le forme liquide in cui i composti e le composizioni della presente invenzione possono essere incorporati per la somministrazione orale o per iniezione includono soluzioni acquose, sciroppi opportunamente aromatizzati, sospensioni acquose o oleose ed emulsioni aromatizzate con oli commestibili come olio di semi di cotone, olio di sesamo, olio di cocco o olio di arachidi, nonché elisir e veicoli farmaceutici simili.

Le composizioni per inalazione o insufflazione includono soluzioni e sospensioni in solventi acquosi o organici accettabili farmaceuticamente, o miscele degli stessi, e polveri. Le composizioni liquide o solide possono contenere eccipienti accettabili farmaceuticamente adatti, come descritto sopra. In alcune realizzazioni, le composizioni vengono somministrate per via respiratoria orale o nasale per un effetto locale o sistemico. Le composizioni possono essere nebulizzate mediante l'uso di gas inerti. Le soluzioni nebulizzate possono essere inalate direttamente dal dispositivo di nebulizzazione oppure il dispositivo di nebulizzazione può essere collegato a una maschera facciale, a una tenda o a un respiratore a pressione positiva intermittente. Le composizioni in soluzione, sospensione o polvere possono essere somministrate per via orale o nasale da dispositivi che erogano la formulazione in modo appropriato.

Le formulazioni topiche possono contenere uno o più vettori convenzionali. In alcune realizzazioni, gli unguenti possono contenere acqua e uno o più vettori idrofobici scelti tra, ad esempio, paraffina liquida, poliossietilnalchil etere, glicole propilenico, vaselina bianca® (vaselina) e simili. Le composizioni di vettori delle creme possono essere a base di acqua in combinazione con glicerolo e uno o più altri componenti, ad esempio, glicerina monostearato, PEG-glicerina monostearato e alcol cetilstearylco. I gel possono essere formulati utilizzando alcol isopropilico e acqua, opportunamente in combinazione con altri componenti come, ad esempio, glicerolo, idrossietilcellulosa e simili.

La quantità di composto o composizione somministrata a un paziente varierà a seconda di cosa viene somministrato, dello scopo della somministrazione, come profilassi o terapia, dello stato del paziente, della modalità di somministrazione e simili. Nelle applicazioni terapeutiche, le composizioni possono essere somministrate a un paziente già affetto da una malattia in una quantità sufficiente a curare o almeno parzialmente

arrestare i sintomi della malattia e le sue complicanze. Le dosi efficaci dipenderanno dalla condizione della malattia da trattare nonché dal giudizio del medico curante a seconda di fattori quali la gravità della malattia, l'età, il peso e le condizioni generali del paziente e simili.

Le composizioni somministrate a un paziente possono essere sotto forma di composizioni farmaceutiche descritte sopra. Queste composizioni possono essere sterilizzate mediante tecniche di sterilizzazione convenzionali o possono essere filtrate in modo sterile. Le soluzioni acquose possono essere confezionate per l'uso tal quali o liofilizzate, combinando la preparazione liofilizzata con un veicolo acquoso sterile prima della somministrazione. Il pH delle preparazioni composte sarà tipicamente compreso tra 3 e 11, più preferibilmente tra 5 e 9 e ancora più preferibilmente tra 7 e 8. Resta inteso che l'uso di alcuni degli eccipienti, vettori o stabilizzanti sopra menzionati darà luogo alla formazione di sali farmaceutici.

### ***Kit***

La presente domanda comprende anche utili kit farmaceutici, che includono uno o più contenitori contenenti una composizione farmaceutica comprendente una quantità terapeuticamente efficace del composto, o una qualsiasi delle sue realizzazioni. Tali kit possono inoltre includere uno o più dei vari componenti convenzionali dei kit farmaceutici, come, ad esempio, contenitori con uno o più vettori accettabili farmaceuticamente, contenitori aggiuntivi, *ecc.*, come sarà facilmente evidente agli esperti nella tecnica. Istruzioni, sia come inserti che come etichette, che indicano le quantità dei componenti da somministrare, linee guida per la somministrazione e/o linee guida per la miscelazione dei componenti, possono anche essere incluse nel kit.

L'invenzione sarà descritta più dettagliatamente mediante esempi specifici. Gli esempi seguenti sono forniti a scopo illustrativo e non intendono in alcun modo limitare l'invenzione. Gli esperti nella tecnica riconosceranno facilmente una varietà di parametri non critici che possono essere cambiati o modificati per produrre essenzialmente gli stessi risultati. I composti degli esempi sono risultati essere inibitori della proteina chinasi BET secondo almeno un test descritto nella presente.

### **ESEMPI**

#### **Esempio 1: Caratterizzazione del composto 1 nei modelli di xenotrapianto di JAK2V617F-MPN/AML**

*Composti e formulazioni:*

Il composto 1 è stato utilizzato in questi studi ed è stato prodotto presso Incyte Corporation. Il ruxolitinib è stato utilizzato in questi studi ed è stato prodotto da Wilmington PharmaTech.

*Metodi:*

Topi SCID femmine di circa 5-6 settimane di età sono stati inoculati per via sottocutanea con 10<sup>7</sup> cellule SET-2 in matrigel. Il dosaggio è iniziato quando le dimensioni del tumore hanno raggiunto circa 200 mm<sup>3</sup>. Il dosaggio per questi studi è stato eseguito mediante sondino orale.

Per gli studi di efficacia, le misurazioni dei tumori sono state effettuate ogni 2-3 giorni utilizzando un calibro digitale. I volumi dei tumori sono stati calcolati utilizzando la formula: Volume = (lunghezza x larghezza<sup>2</sup>)/2 dove la larghezza era la dimensione più piccola. È stato anche monitorato il peso corporeo.

Gli animali venivano sacrificati (1) alla fine dello studio, (2) se la dimensione del tumore raggiungeva il 10% del peso corporeo totale, o (3) se si perdeva il 20% del peso corporeo.

Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software Prism Graphpad. Tutti i confronti sono stati effettuati utilizzando ANOVA a 2 vie con  $p < 0,05$  ritenuto significativo.

*Efficacia del composto 1 nel modello di xenotrapianto HEL esprimente JAK2 V617F di eritroleucemia*

Lo scopo di questo studio era di esaminare la capacità dell'inibitore BET Composto 1 di inibire la crescita tumorale in un modello di LAM simile a MPN che esprime la mutazione JAK2 V617F. Topi SCID femmine sono stati inoculati per via sottocutanea con 10<sup>7</sup> cellule HEL in matrigel. Quando i tumori hanno raggiunto circa 160 mm<sup>3</sup>, ai topi (n = 10 per gruppo) è stato somministrato per via orale il Composto 1 per 14 giorni come segue:

1. BID a 1 o 3 mg/kg, o controllo del veicolo
2. QD a 3, 10 o 30 mg/kg

Come mostrato in FIG. 1A, la somministrazione del Composto 1 inibiva la crescita tumorale in modo dose-correlato, e i volumi tumorali medi di ciascuno dei gruppi di trattamento con Composto 1 erano statisticamente significativamente ridotti rispetto a quelli del gruppo del veicolo ( $p < 0,02$  per ciascun gruppo, ANOVA a 2 vie).

La dose QD di 30 mg/kg era la più efficace e portava a una regressione statistica del tumore. I dati indicano che il dosaggio del Composto 1 con un regime BID potrebbe essere preso in considerazione, ma non è necessario, poiché il dosaggio QD è efficace quanto il dosaggio BID in questo modello. Tutte le dosi sono state tollerate come determinato dalla mancanza di perdita di peso corporeo come mostrato in FIG. 1B.

*Efficacia della combinazione del Composto 1 e del ruxolitinib nel modello di xenotrapianto SET-2*

Topi SCID femmina sono stati inoculati per via sottocutanea con  $10^7$  cellule SET-2 in matrigel. Quando i tumori hanno raggiunto circa  $175 \text{ mm}^3$ , i topi ( $n = 8$  per gruppo) sono stati trattati per via orale per 14 giorni come segue:

1. Controllo del veicolo, o ruxolitinib a 30 mg/kg BID
2. Composto 1 a 10 mg/kg QD
3. Combinazione di ruxolitinib e Composto 1

Il Composto 1 e il ruxolitinib sono stati dosati in modo subottimale per una lettura ottimale dei possibili effetti combinatori. Come si vede nella FIG. 2A, entrambe le monoterapie hanno inibito significativamente la crescita tumorale rispetto ai controlli con veicolo ( $p < 0,02$  per ciascuna, ANOVA a 2 vie). Inoltre, la combinazione del Composto 1 e del ruxolitinib ha fornito un'efficacia migliorata e significativa ( $p < 0,007$  per la combinazione rispetto a entrambi i bracci con agente singolo; ANOVA a 2 vie) rispetto ai risultati attesi basati sull'efficacia del singolo agente. Nel gruppo di combinazione si è verificata una perdita di peso corporeo di circa il 15% (FIG. 2B), ma questo nadir era entro i limiti della tollerabilità.

*Efficacia della combinazione del Composto 1 e ruxolitinib nel modello di xenotrapianto SET-2*

Topi SCID femmina sono stati inoculati per via sottocutanea con  $10^7$  cellule SET-2 in matrigel. Quando i tumori hanno raggiunto circa  $150 \text{ mm}^3$ , i topi ( $n = 8$  per gruppo) sono stati trattati per via orale per 11 giorni come segue:

1. Controllo del veicolo, o ruxolitinib a 60 mg/kg BID
2. Composto 1 a 10 mg/kg QD
3. Combinazione di ruxolitinib e Composto 1

In questo studio, il ruxolitinib è stato somministrato a una dose più alta rispetto a quella dello studio 1.2, risultando in una significativa inibizione della crescita tumorale in monoterapia (FIG. 3A). La somministrazione del Composto 1 con ruxolitinib non ha aumentato l'inibizione della crescita tumorale osservata con il singolo agente ruxolitinib o con il singolo agente Composto 1. Tutte le dosi sono state tollerate, sebbene la combinazione del Composto 1 e ruxolitinib abbia comportato una perdita di peso corporeo (FIG. 3B circa il 12%) entro il limite consentito.

L'inibitore di BET Composto 1 è efficace a dosi tollerabili in due modelli di LMA JAK2V617F. La combinazione del Composto 1 con una dose sub-ottimale dell'inibitore di JAK1/2 ruxolitinib (30 mg/kg BID) determina un aumento significativo dell'inibizione della crescita tumorale rispetto alle monoterapie. Questi dati dimostrano il potenziale degli inibitori BET in combinazione con gli inibitori JAK nelle neoplasie mieloidi indotte da JAK2V617F.

#### **Esempio 2: Efficacia del composto 1 in combinazione con ruxolitinib in un modello murino di MPN indotta da MPLW515L**

##### *Composti e formulazioni:*

In questi studi sono stati utilizzati Composto 1 e ruxolitinib, prodotti da Wilmington PharmaTech.

##### *Metodi:*

Una settimana prima del trapianto di midollo osseo, topi femmina Balb/c di otto settimane (Charles River Laboratories) sono stati iniettati una volta per via intraperitoneale con 150 mg/kg di 5-fluorouracile. Cinque giorni dopo, questi topi sono stati sacrificati e il midollo osseo è stato raccolto mediante aspirazione dei femori. I globuli rossi sono stati lisati utilizzando il tampone BD Pharma Lyse (BD Biosciences), quindi lavati con PBS. Il midollo rimanente è stato piastrato in FBS/RPMI al 10% per una notte in incubazione standard di coltura cellulare. Il giorno seguente, il midollo osseo è stato infettato con retrovirus ecotropico (ossatura MSCV puromicina) che esprimeva il gene MPLW515L aggiungendo 1 ml di virus a 10<sup>6</sup> cellule, quindi centrifugando a 1800 gpm, 37 °C, 90 minuti in piastre a 6 pozzetti. Dopo la centrifugazione, le cellule infettate sono state conservate nell'incubatrice fino al giorno successivo, quando sono state iniettate nei riceventi.

Il midollo osseo dei topi riceventi è stato ablato in Topi Balb/c all'età di otto settimane trattati con 50 mg/kg di 5-fluorouracile cinque giorni prima del trapianto con midollo osseo Balb/c esprime MPLW515L tramite infezione retrovirale (circa  $2 \times 10^5$  cellule per topo ricevente). L'emocromo è stato eseguito 7 giorni dopo il trapianto e sono state generate 4 coorti (n=10 per coorte) con lo stesso numero medio di piastrine per il trattamento. La somministrazione è iniziata l'ottavo giorno dopo l'impianto ed è continuata per 13 giorni. Il quattordicesimo giorno dopo l'impianto, i topi sono stati sacrificati, il sangue è stato prelevato tramite puntura cardiaca e le milze sono state pesate come parametro sostitutivo del carico di malattia.

Il sangue è stato raccolto tramite il seno orbitale una volta alla settimana e l'emocromo completo (CBC) è stato determinato mediante strumentazione ematologica (Abaxis, modello HM5).

Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software Prism Graphpad. Tutti i confronti sono stati effettuati utilizzando test t non accoppiati con  $p < 0,05$  ritenuto significativo.

#### *Efficacia del Composto 1 in combinazione con ruxolitinib nel modello MPLW515L di MPN nel topo*

Femmine di topi Balb/c sono state trapiantate con midollo osseo esprime MPLW515L al fine di valutare la capacità dell'inibitore BET Composto 1 di migliorare l'attività del ruxolitinib da solo in un modello preclinico di MPN. Il 7° giorno dopo il trapianto, i topi sono stati randomizzati in coorti per il dosaggio in base ai livelli piastrinici, determinati mediante emocromo. Il giorno successivo è iniziata la somministrazione orale, con i topi che hanno ricevuto il Composto 1 a 10 mg/kg QD, ruxolitinib a 60 mg/kg BID, la combinazione di Composto 1 e ruxolitinib o il controllo con il veicolo. La somministrazione è proseguita per 14 giorni, dopodiché i topi sono stati dissanguati per l'emocromo e le milze sono state raccolte e pesate come surrogato del carico di malattia. Due topi trattati con il veicolo sono morti prima della fine dello studio il 14° giorno dopo la somministrazione, uno il 12° giorno di somministrazione e uno il 13° giorno dopo la somministrazione.

Sebbene ogni singolo agente fosse in grado di ridurre le dimensioni della milza, la combinazione ha dato la massima efficacia. I topi trattati con la combinazione Composto 1/ ruxolitinib avevano milze significativamente più piccole di quelle di ciascun singolo agente da solo (FIG. 4A). Ruxolitinib ha avuto un effetto più profondo sulla riduzione della conta dei globuli bianchi rispetto al Composto 1, e c'era poca differenza tra la conta dei

globuli bianchi dei topi trattati con ruxolitinib e quella dei topi che ricevevano la terapia combinata (FIG. 4B).

Le statistiche sono state determinate mediante test t non accoppiati eseguiti utilizzando il software Prism Graphpad (\*\*p < 0,01; \*\*\*\*p < 0,0001).

Alle dosi scelte per questo studio, sia Composto 1 che ruxolitinib erano in grado di rallentare l'espansione dei globuli bianchi e sopprimere la splenomegalia causata dal midollo osseo che esprime MPLW515L. La combinazione del Composto 1 con il ruxolitinib ha portato a una significativa riduzione del carico di malattia rispetto a entrambe le monoterapie, misurata in base al peso della milza. Questi dati dimostrano il potenziale degli inibitori BET in combinazione con gli inibitori JAK nelle neoplasie mieloproliferative.

### **Esempio 3: dimostrazione statistica della sinergia tra Composto 1 e ruxolitinib**

La sinergia tra il Composto 1 e il ruxolitinib è stata valutata utilizzando l'equazione di Chou-Talalay (vedere Chou, "Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method" *Cancer Res*; 70(2) 15 gennaio 2010). La sinergia descrive un effetto maggiore con la combinazione rispetto a quanto ci si aspetterebbe in base al funzionamento dei singoli composti. Nella Tabella 1, sono presenti i dati per i due esperimenti qui descritti. La prima serie di dati elencata è il modello MPLW515L, i pesi della milza sono utilizzati come marcatori di progressione della malattia (ovvero, milza più grande = malattia peggiore). MPL SPL descrive le dimensioni delle milze in grammi dal modello MPN murino MPLW515L. Fa mostra la frazione interessata che è la variazione percentuale rispetto al veicolo. La riga prevista mostra l'effetto previsto della combinazione in base all'indice di sinergia di Chou-Talalay. Poiché il numero è inferiore all'effetto nella frazione interessata, ciò dimostra un effetto maggiore del previsto dalla combinazione del Composto 1 e ruxolitinib, dimostrando che si sta verificando una sinergia tra i due composti, dando origine a un effetto inaspettato. Il secondo esperimento è SET-2, che è la linea cellulare esprimente JAK2V617F utilizzata in un modello tumorale di xenotrapianto. Fa per SET-2 sono i livelli di inibizione della crescita tumorale per ciascuna dose utilizzata e per la combinazione. Anche in questo caso, il valore atteso è inferiore all'effetto effettivo, dimostrando una sinergia inaspettata. In entrambi gli esperimenti, l'equazione di Chou-Talalay ci ha fornito un valore inferiore all'effetto osservato con le combinazioni di ruxolitinib più Composto 1; questo viene interpretato come una

combinazione sinergica in ciascun esperimento.

**Tabella 1**

	<b>Veicolo</b>	<b>Ruxolitinib 60 mg/kg BID</b>	<b>Composto 1 10 mg/kg QD</b>	<b>Combinazione</b>
MPL SPL	0,812975	0,3367	0,3611	0,0965
Fa		0,585842123	0,5558289	0,881300163
Previsto				0,81604304
SET-2				
Fa		0,44	0,24	0,71
Previsto				0,5744

**Esempio 4: Protocollo di studio clinico del composto 1 come monoterapia nei partecipanti con mielofibrosi**

*Disegno dello studio*

Questo è uno studio di Fase 1, in aperto, in 2 parti, del Composto 1 come monoterapia in partecipanti con mielofibrosi recidivante o refrattaria (per ulteriori dettagli vedere "Studio di sicurezza e tollerabilità di INCB057643 in partecipanti con mielofibrosi", Identificativo ClinicalTrials.gov: NCT04279847). INCB057643 è anche indicato come Composto 1 in questa informativa. I partecipanti includono coloro che hanno ricevuto almeno 1 linea di terapia precedente, incluso ruxolitinib, e non hanno ulteriori terapie disponibili note per fornire benefici clinici e con una categoria di rischio intermedio-2 o alta secondo DIPSS. I partecipanti riceveranno 4 mg QD di Composto 1 su base continuativa.

Lo studio sarà condotto in 2 parti. La Parte 1 valuterà la sicurezza e la tollerabilità iniziali di 4 mg QD del Composto 1 nei partecipanti con mielofibrosi recidivante o refrattaria. Il farmaco in studio sarà auto-somministrato una volta al giorno, tutti i giorni, per 28 giorni, ovvero 1 ciclo. I partecipanti continueranno ad assumere il farmaco in studio finché ne trarranno beneficio e non saranno soddisfatti i criteri di interruzione.

Se la dose iniziale di 4 mg QD è ritenuta tollerabile nella Parte 1, la dose iniziale nella Parte 2 sarà di 4 mg QD; in caso contrario, la dose iniziale nella Parte 2 sarà di 2 mg QD. La Parte 2 somministrerà il Composto 1 anche come monoterapia.

Durante l'intero studio, sia nella Parte 1 che nella Parte 2, gli eventi avversi (AE) saranno monitorati continuamente. Se l'incidenza cumulativa di eventi avversi correlati al farmaco di grado 3 o 4 si verifica in > 40% dei partecipanti, lo studio verrà interrotto. Allo stesso modo, se si verifica più di un evento fatale correlato al farmaco, lo studio verrà interrotto. Lo studio potrà essere ripreso solo dopo aver discusso con la FDA.

#### *Farmacocinetica del composto 1 in monoterapia*

La farmacocinetica clinica del Composto 1 nei partecipanti con neoplasie avanzate (neoplasie solide ed ematologiche) è stata valutata in uno studio di fase 1/2, in aperto, con aumento/espansione della dose, sulla sicurezza e tollerabilità. I partecipanti hanno ricevuto dosi QD continue del Composto 1. Alla data di soglia dei dati (23 settembre 2019), 25, 101 e 8 partecipanti che hanno ricevuto rispettivamente 8 mg, 12 mg e 16 mg nella Parte 1 e nella Parte 2 (Composto 1 trattato in monoterapia) sono stati valutati per la farmacocinetica. I parametri farmacocinetici del Composto 1 originario sono riassunti nella Tabella 2 e nella Tabella 3 (vedere FIG. 5). La Tabella 2 presenta un sommario dei parametri farmacocinetici del Composto 1 per il Composto 1 in monoterapia (parte 1 e 2) al giorno 1 del ciclo 1. La Tabella 3 presenta un riepilogo dei parametri farmacocinetici del Composto 1 per il Composto 1 in monoterapia (parte 1 e 2) allo stato stazionario (giorno 8 del ciclo 1).

**Tabella 2**

<b>Analita</b>	<b>Dose</b>	<b>Partecipante /i</b>	<b>C<sub>max</sub> (nM)</b>	<b>T<sub>max</sub> (h)</b>	<b>AUC<sub>ultimo</sub> (h*nM)</b>
Composto 1 (progenitore)	8 mg	N = 12	201 ± 83,6	2,00 (1,00, 24,0)	2310 ± 1120
			188 (38,8)		2090 (50,1)
	12 mg	N = 99	266 ± 94,7	0,50 (2,00, 8,00)	2740 ± 1090
			249 (39,1)		2550 (39,5)

Analita	Dose	Partecipante /i	C <sub>max</sub> (nM)	T <sub>max</sub> (h)	AUC <sub>ultimo</sub> (h*nM)
	16 mg	N = 7	343 ± 93,2	2,00 (2,00, 4,00)	3370 ± 1060
			329 (34,5)		3210 (34.3)

Nota: i valori sono presentati nel formato media ± DS e media geometrica (CV%), ad eccezione del fatto che T<sub>max</sub> è riportato come mediana (intervallo).

I campioni di sangue per la determinazione delle concentrazioni plasmatiche del Composto 1 nelle Parti 1 e 2 sono stati raccolti prima della dose il Giorno 1 del Ciclo 1, il Giorno 2 del Ciclo 1 e il Giorno 8 del Ciclo 1, e a 0,5, 1, 2, 4, 6 e 8 ore il Giorno 1 del Ciclo 1 e il Giorno 8 del Ciclo 1. I campioni di plasma del Composto 1 sono stati analizzati mediante un metodo LC-MS/MS convalidato.

Con la somministrazione di dosi multiple a digiuno, le concentrazioni plasmatiche del Composto 1 hanno raggiunto i valori di picco (C<sub>max</sub>) tipicamente a 1-2 ore (T<sub>max</sub> mediana) dopo la dose, e successivamente hanno mostrato un decadimento monofasico, con un t<sub>1/2</sub> in media geometrica allo stato stazionario di circa 10 ore che non era dose-dipendente. Si prevedeva che lo stato stazionario fosse raggiunto dopo 2 giorni con una somministrazione giornaliera, sulla base di un'emivita effettiva di 10 ore. Vi è un accumulo minimo di esposizione al Composto 1 (< 10%) confrontando l'AUC<sub>0-24</sub> allo stato stazionario con l'AUC<sub>0-24</sub> della prima dose. All'interno dell'intervallo di dose da 8 a 16 mg QD, gli aumenti della C<sub>max</sub> allo stato stazionario e dell'AUC<sub>0-24</sub> del Composto 1 erano proporzionali alla dose, ovvero il Composto 1 ha mostrato una farmacocinetica approssimativamente lineare nell'intervallo di dose studiato. L'ANOVA dei parametri farmacocinetici normalizzati per la dose (C<sub>max,ss</sub> e AUC<sub>ss,0-24</sub>) utilizzando test globali o confronti a coppie (vedere Tabella 2) ha dimostrato che la C<sub>max,ss</sub> o l'AUC<sub>ss,0-24</sub> normalizzata per la dose non erano statisticamente significativamente diverse (P > 0,05) tra o attraverso le dosi. Il composto 1 ha mostrato una bassa clearance orale allo stato stazionario con una media geometrica di CL<sub>ss</sub>/F di 9,92-10,7 L/h e un volume di distribuzione moderato con una media geometrica di V<sub>z</sub>/F di 138-197 L. A una dose di 12 mg QD, la media geometrica (CV%) di t<sub>1/2</sub>, C<sub>max</sub> allo stato stazionario e AUC<sub>ss 0-24</sub> erano rispettivamente di 9,17 h (49,7%), 272 nM (40,9%) e 2740 h\*nM (43,2%).

L' $AUC_{0-24}$  allo stato stazionario stimato del Composto 1 è 457 h\*nM e 913 h\*nM per 2 mg QD e 4 mg QD, rispettivamente, sulla base dell'estrapolazione PK lineare dall' $AUC_{ss,0-24}$  media geometrica di 12 mg QD. I dati PK simulati del Composto 1 a 4 mg QD sono presentati nella FIG. 7.

#### *Farmacodinamica per il trattamento del composto 1 in monoterapia*

L'analisi farmacodinamica è stata eseguita utilizzando un saggio ex vivo che misurava i livelli proteici di cMyc, un gene bersaglio di BRD4, nelle cellule KMS12BM, che sono state aggiunte ai campioni di plasma dei partecipanti raccolti prima della dose e in vari momenti successivi alla dose. Nell'analisi PD preliminare dopo somministrazione orale di 8 mg, 12 mg e 16 mg, il Composto 1 ha dimostrato l'inibizione dell'espressione proteica totale di cMyc con inibizione massima verificatasi tra 1 e 4 ore. L'inibizione media di cMyc allo stato stazionario (giorno 8, dalla pre-dose a 8 ore) è stata del 30%, 44% e 65% per la dose di 8 mg (n = 11), 12 mg (n = 51) e 16 mg (n = 7), rispettivamente. Il picco massimo individuale di inibizione dell'espressione proteica totale di cMyc variava dal 16% al 77% a 8 mg, dal 20% al 92% a 12 mg e dal 61% al 97% a 16 mg. L'inibizione di cMyc è stata ridotta a < 10% al minimo (Ciclo 1 Giorno 8 pre-dose) nelle coorti da 8 mg e 12 mg e a ~30% nella coorte da 16 mg. È stata tracciata una curva PK PD composta per 70 partecipanti e un valore di IC50 di 202,4 nM è stato determinato mediante adattamento della curva di regressione non lineare (vedere FIG. 6). La copertura di IC50 ex vivo sulle concentrazioni allo stato stazionario del Composto 1 è mostrata in FIG. 7.

#### *Relazione tra AUC allo stato stazionario del composto 1 e gli eventi avversi emergenti dal trattamento*

I punti finali di sicurezza clinica selezionati, come ritenuto appropriato (ad esempio, TEAE (eventi avversi emergenti dal trattamento) che si verificano frequentemente, tasso di incidenza > 20% per tutti gli AE (eventi avversi) ed eventi avversi clinicamente notevoli) sono stati utilizzati per valutare le relazioni esposizione-sicurezza. I dati di sicurezza di un totale di 106 partecipanti (inclusi tumori solidi e neoplasie ematologiche) che hanno ricevuto un trattamento in monoterapia con il Composto 1 (n = 10 a 8 mg, n = 89 a 12 mg e n = 8 a 16 mg) nelle Parti 1 e 2 sono stati utilizzati per l'analisi. Gli eventi avversi (TEAE) più frequenti (di tutti i gradi e con qualsiasi causalità) nei partecipanti che hanno ricevuto almeno una dose del farmaco in studio includevano nausea (47,9%), affaticamento (45,5%), diminuzione dell'appetito (35,5%), trombocitopenia (28,9%), vomito

(28,1%), anemia (27,3%), diarrea (27,3%), stitichezza (20,7%) e disgeusia (19,8%), nonché eventi avversi clinicamente rilevanti tra cui iperglicemia (17,4%), epistassi (9,9%), aumento dell'INR (8,5%) ed emorragia gastrointestinale (1,9%).

Non è stata identificata alcuna correlazione statisticamente significativa per l'AUC del Composto 1 allo stato stazionario e per qualsiasi TEAE o AE clinicamente notevole valutati in questa analisi, ad eccezione dell'iperglicemia (valore  $p < 0,05$ ). FIG. 8 mostra la relazione prevista dal modello rispetto a quella osservata tra l'AUC dello stato stazionario del Composto 1 e la probabilità di iperglicemia. La probabilità prevista di incidenza di iperglicemia alla dose di 2 mg e 4 mg è rispettivamente dell'8,0% e del 9,2%, in base alla relazione tra AUC e iperglicemia (Nota: i quadrati vuoti rappresentano il primo (893-2035 h\*nM), il secondo (2074-2605 nM), il terzo (2622-3564 nM) e il quarto (3606-9788 nM) quartile dell'AUC<sub>ss,0-24</sub> del Composto 1). La mancanza di correlazione tra l'AUC<sub>ss,0-24</sub> del composto 1 e gli eventi avversi cardiovascolari (TEAE) potrebbe essere dovuta allo stretto intervallo di dose (8, 12 o 16 mg) esaminato in questo studio e alle piccole dimensioni del campione nei gruppi da 8 mg e 16 mg dello studio (la maggior parte dei partecipanti ha ricevuto 12 mg).

Tabella 4 elenca i parametri stimati per l'aumento dell'AUC del Composto 1 e dell'INR (rapporto internazionale normalizzato) di Grado 3 e dell'emorragia gastrointestinale di Grado 4. Due eventi di INR di Grado 3 si sono verificati nei partecipanti che assumevano contemporaneamente warfarin. L'AUC allo stato stazionario di questi 2 partecipanti era di 6990 h\*nM e 9770 h\*nM che ricevevano rispettivamente 12 mg QD e 16 mg QD del Composto 1, e le AUC erano molto più alte della media geometrica dell'AUC allo stato stazionario in 12 mg QD (2740 h\*nM) e 16 mg QD (3610 h\*nM), rispettivamente.

Sono stati osservati due eventi di emorragia gastrointestinale di grado 4 in 2 partecipanti che ricevevano una dose di 12 mg QD, e l'AUC allo stato stazionario di questi 2 partecipanti era rispettivamente di 3470 h\*nM e 3610 h\*nM, e le AUC erano leggermente superiori alla media geometrica dell'AUC allo stato stazionario in 12 mg QD.

Tabella 4

Partecipanti	Evento avverso	Grado	Dose (mg)	AUC <sub>ss, 0-24</sub> (h <sup>*</sup> nM)
1011	Emorragia gastrointestinale	4	12	3470
9002	Emorragia gastrointestinale	4	12	2150
12005	INR aumentato	3	12	6990
16001	INR aumentato	3	16	9790

#### **Esempio 5: Efficacia del Composto 1 in combinazione con Ruxolitinib in partecipanti con mielofibrosi**

L'efficacia preliminare (riduzione della lunghezza e/o del volume della milza) è stata osservata in 2 dei 3 partecipanti con mielofibrosi trattati nello studio qui menzionato (per ulteriori dettagli vedere "Studio di sicurezza e tollerabilità di INCB057643 in partecipanti con mielofibrosi", Identificativo ClinicalTrials.gov: NCT04279847). A tutti e tre i partecipanti è stato somministrato ruxolitinib per 6 mesi prima. Un primo partecipante e un secondo partecipante avevano una mielofibrosi recidivante che era stata trattata con la monoterapia con il Composto 1. Un terzo partecipante era in trattamento con un singolo agente di ruxolitinib, ma con risposte subottimali. In risposta alle risposte subottimali, il terzo partecipante è stato quindi trattato con il Composto 1 in combinazione con ruxolitinib.

Il primo partecipante ha ricevuto il Composto 1 in monoterapia 12 mg QD e ha avuto una riduzione della lunghezza della milza del 92,5% tramite palpazione splenica (nadir rispetto al basale). Il secondo partecipante con mielofibrosi recidivante ha ricevuto il Composto 1 in monoterapia 8 mg QD. Il secondo partecipante con la dose inferiore di Composto 1 ha avuto solo una progressione della malattia e il secondo partecipante è rimasto nello studio per 24 giorni. Il terzo partecipante ha ricevuto il Composto 1 a 8 mg QD in combinazione con ruxolitinib e ha avuto una riduzione della lunghezza della milza del 77% tramite palpazione splenica e una riduzione del volume della milza del 44% tramite diagnostica per immagini (nadir rispetto al basale). Per contestualizzare i risultati positivi del primo e del terzo partecipante, quando è stata impiegata una monoterapia

con ruxolitinib negli studi clinici è stata osservata una riduzione di circa il 35% delle dimensioni della milza (per ulteriori dettagli vedere Verstovsek S., Morgan G, "Results of COMFORT- I, a randomized double-blind phase III trial of JAK 1/2 inhibitor INCB18424 (424) vs placebo (PB) for patients with myelofibrosis (MF)", Abstract #6500, 2011 American Society of Clinical Oncology Annual Meeting).

Inoltre l'efficacia preliminare di un inibitore BET (CPI-0610) nei partecipanti con mielofibrosi è stata riportata anche nello studio MANIFEST (NCT02158858; Hoffman et al 2019, Mascarenhas et al 2019). I partecipanti con mielofibrosi arruolati erano refrattari, intolleranti o non idonei al ruxolitinib (nella coorte in monoterapia con CPI-0610), oppure stavano ricevendo ruxolitinib ma presentavano una risposta subottimale o una progressione della mielofibrosi (nella coorte in combinazione con CPI-0610 e ruxolitinib). I partecipanti hanno sperimentato la migliore riduzione del volume della milza, che variava dal 6% al 44% in 10 partecipanti valutabili (monoterapia e combinazione combinate).

### RIVENDICAZIONI

1. Composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per uso in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, il metodo comprendente la somministrazione a detto paziente del composto, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente; e ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente;

in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL), e leucemia eosinofila cronica.

2. Ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, il metodo comprendente la somministrazione a detto paziente di ruxolitinib, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente; e un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente;

in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET), mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL), e leucemia eosinofila cronica.

3. Combinazione di un composto che è 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso in un metodo di trattamento di una neoplasia mieloproliferativa in un paziente che ne ha bisogno, il metodo comprendente la somministrazione a detto paziente del composto, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente, e di ruxolitinib, o di un suo sale accettabile farmaceuticamente;

in cui la neoplasia mieloproliferativa è scelta tra policitemia vera (PV), trombocitemia essenziale (ET),

mielofibrosi primaria, leucemia mieloide cronica (CML), leucemia mielomonocitica cronica (CMML), sindrome ipereosinofila (HES), malattia sistemica dei mastociti (SMCD), leucemia neutrofila cronica (CNL) e leucemia eosinofila cronica.

4. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 1, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 2, o la combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 3, in cui il ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, è ruxolitinib fosfato.

5. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 1 o 4, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 2 o 4, o combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 3 o 4, in cui il 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one è una forma solida.

6. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 5, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 5, o combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 5, in cui la forma solida è anidra.

7. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 5, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 5, o combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 5, in cui la forma solida è la Forma I.

8. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 7, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 7, o combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 7, in cui la Forma I ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 8,7, circa 9,8, circa 11,6, circa 12,7, circa 14,7, circa 15,7, circa 20,0, circa 21,4, circa 23,3 e circa 27,1 gradi.

9. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 5, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 5, o combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 5, la forma solida avente Forma II.

10. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 9, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo la rivendicazione 9, o combinazione per l'uso secondo la rivendicazione 9, in cui la Forma II ha uno o più picchi XRPD caratteristici, in termini di 2-theta, scelti tra circa 6,7, circa 9,5, circa 10,5, circa 14,8, circa 16,2, circa 17,0, circa 18,8, e circa 19,3 gradi.

11. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 4-10, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2 e 4-10, o combinazione per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 3-10, in cui la dose di ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, è:

(a) da circa 5 mg/giorno a circa 60 mg/giorno; o

(b) da circa 2,5 mg BID a circa 30 mg BID.

12. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 4-11, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2 e 4-11, o combinazione per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 3-11, in cui la dose di CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=CC=C2C3=CC=CC=C3C4=CC=CC=C4C5=CC=CC=C5C6=CC=CC=C6C7=CC=CC=C7C8=CC=CC=C8C9=CC=CC=C9C10=CC=CC=C10C11=CC=CC=C11C12=CC=CC=C12C13=CC=CC=C13C14=CC=CC=C14C15=CC=CC=C15C16=CC=CC=C16C17=CC=CC=C17C18=CC=CC=C18C19=CC=CC=C19C20=CC=CC=C20C21=CC=CC=C21C22=CC=CC=C22C23=CC=CC=C23C24=CC=CC=C24C25=CC=CC=C25C26=CC=CC=C26C27=CC=CC=C27C28=CC=CC=C28C29=CC=CC=C29C30=CC=CC=C30C31=CC=CC=C31C32=CC=CC=C32C33=CC=CC=C33C34=CC=CC=C34C35=CC=CC=C35C36=CC=CC=C36C37=CC=CC=C37C38=CC=CC=C38C39=CC=CC=C39C40=CC=CC=C40C41=CC=CC=C41C42=CC=CC=C42C43=CC=CC=C43C44=CC=CC=C44C45=CC=CC=C45C46=CC=CC=C46C47=CC=CC=C47C48=CC=CC=C48C49=CC=CC=C49C50=CC=CC=C50C51=CC=CC=C51C52=CC=CC=C52C53=CC=CC=C53C54=CC=CC=C54C55=CC=CC=C55C56=CC=CC=C56C57=CC=CC=C57C58=CC=CC=C58C59=CC=CC=C59C60=CC=CC=C60C61=CC=CC=C61C62=CC=CC=C62C63=CC=CC=C63C64=CC=CC=C64C65=CC=CC=C65C66=CC=CC=C66C67=CC=CC=C67C68=CC=CC=C68C69=CC=CC=C69C70=CC=CC=C70C71=CC=CC=C71C72=CC=CC=C72C73=CC=CC=C73C74=CC=CC=C74C75=CC=CC=C75C76=CC=CC=C76C77=CC=CC=C77C78=CC=CC=C78C79=CC=CC=C79C80=CC=CC=C80C81=CC=CC=C81C82=CC=CC=C82C83=CC=CC=C83C84=CC=CC=C84C85=CC=CC=C85C86=CC=CC=C86C87=CC=CC=C87C88=CC=CC=C88C89=CC=CC=C89C90=CC=CC=C90C91=CC=CC=C91C92=CC=CC=C92C93=CC=CC=C93C94=CC=CC=C94C95=CC=CC=C95C96=CC=CC=C96C97=CC=CC=C97C98=CC=CC=C98C99=CC=CC=C99C100=CC=CC=C100, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, è:

(a) da circa 2 mg/giorno a circa 20 mg/giorno;

(b) da circa 2 mg/giorno a circa 18 mg/giorno;

(c) da circa 2 mg/giorno a circa 12 mg/giorno;

(d) da circa 4 mg/giorno a circa 8 mg/giorno;

(e) circa 2, circa 4, circa 6, circa 8, circa 10, circa 12, circa 14, circa 16, circa 18 o circa 20 mg/giorno in termini di base libera;

(f) circa 2 mg/giorno in termini di base libera;

(g) circa 4 mg/giorno in termini di base libera;

(h) circa 6 mg/giorno in termini di base libera;

(i) circa 8 mg/giorno in termini di base libera;

(j) circa 10 mg/giorno in termini di base libera; o

(k) circa 12 mg/giorno in termini di base libera

13. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 4-12, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2 e 4-12, o combinazione per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 3-12, in cui:

(a) la neoplasia mieloproliferativa è la policitemia vera (PV);

(b) la neoplasia mieloproliferativa è la trombocitemia essenziale (ET); oppure

(c) la neoplasia mieloproliferativa è la mielofibrosi primaria.

14. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 4-13, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2 e 4-13, o combinazione per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 3-13, in cui ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati per via orale.

15. Composto, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 e 4-14, o ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2 e 4-14, o combinazione per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 3-14, in cui ruxolitinib, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e 2,2,4-trimetil-8-(6-metil-7-osso-6,7-diidro-1H-pirrolo[2,3-c]piridin-4-il)-6-(metilsolfonil)-2H-1,4-benzossazin-3(4H)-one, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, vengono somministrati simultaneamente o in sequenza.

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

Il mandatario

Società Italiana Brevetti S.p.A.

## LEGENDA – DISEGNI

FIGURA 1A	
Tumor volume	Volume del tumore
Days post inoculation	Giorni post-inoculazione
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
FIGURA 1B	
Tumor corrected body weight change	Variazione di peso corporeo corretta per il tumore
Days post inoculation	Giorni post-inoculazione
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
FIGURA 2A	
Tumor volume	Volume del tumore
Days post inoculation	Giorni post-inoculazione
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
FIGURA 2B	
Tumor corrected body weight change	Variazione di peso corporeo corretta per il tumore
Days post inoculation	Giorni post-inoculazione
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
FIGURA 3A	
Tumor volume	Volume del tumore
Days post inoculation	Giorni post-inoculazione
Vehicle	Veicolo

Cmpd	Composto
FIGURA 3B	
Tumor corrected body weight change	Variazione di peso corporeo corretta per il tumore
Days post inoculation	Giorni post-inoculazione
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
FIGURA 4A	
Spleen weight	Peso della milza
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
Combination	Combinazione
FIGURA 4B	
WBC count	Conta dei globuli bianchi
Vehicle	Veicolo
Cmpd	Composto
Combination	Combinazione
FIGURA 5	
Table	Tabella
Analyte	Analita
Participant(s)	Partecipante(i)
Compound	Composto
Parent	Progenitore
P-values from a 1-factor ANOVA of log-transformed, dose-normalized data (factor = dose)	Valori P da una ANOVA a 1 fattore di dati normalizzati alla dose, trasformati in logaritmi (fattore = dose)
Pairwise p-values from a 1-factor ANOVA of log-	Valori P abbinati da una ANOVA a 1 fattore di dati

transformed, dose-normalized data (factor = dose)	normalizzati alla dose, trasformati in logaritmi (fattore = dose)
V <sub>s</sub>	Contro
Note: values are presented in the format of mean $\pm$ SD and geometric mean (CV%) except that T <sub>max</sub> is reported as median (range)	Nota: i valori sono presentati nel formato di media $\pm$ SD e media geometrica (CV%) eccetto che la T <sub>max</sub> è riportata come mediana (intervallo)
FIGURA 6	
Ex vivo c-Myc inhibition	Inibizione di c-Myc ex vivo
Avg at ...	Media a ...
Plasma compound 1 con.	Concentrazione plasmatica di composto 1
FIGURA 7	
Compound 1 plasma conc	Concentrazione plasmatica di composto 1
Time (hour)	Tempo (ore)
Ex vivo IC <sub>50</sub> (c-Myc inhibition)	IC <sub>50</sub> ex vivo (inibizione di c-Myc)
Simulated	Simulato
FIGURA 8	
Probability of hyperglycaemia	Probabilità di iperglicemia
Obs. Mean	Media osservata
Obs. Response	Risposta osservata
Pred. Mean	Media prevista
Pred. 90% confidence limits	Limiti di confidenza al 90% previsti

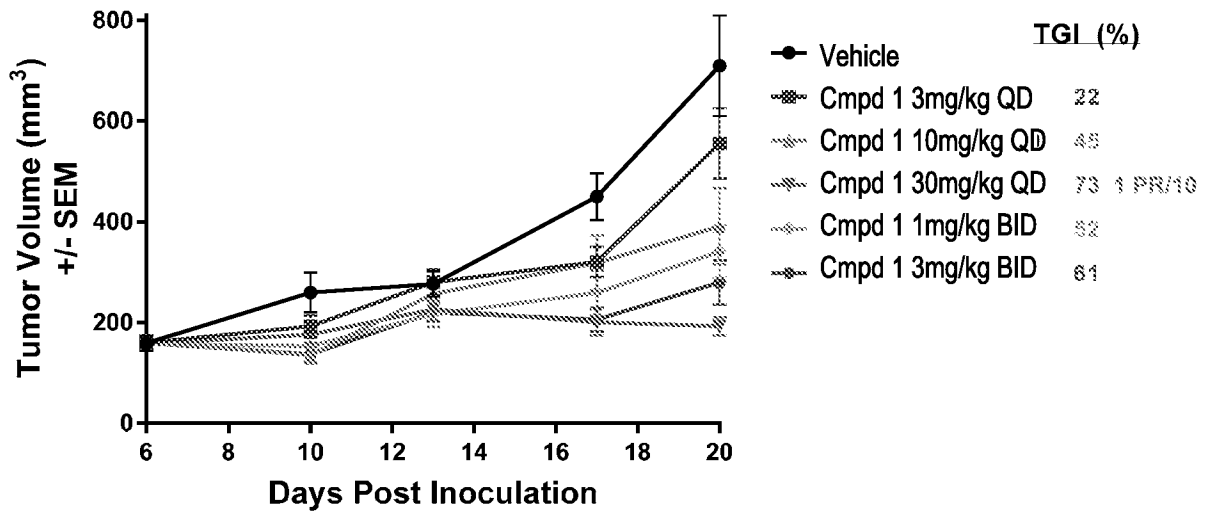


FIG. 1A

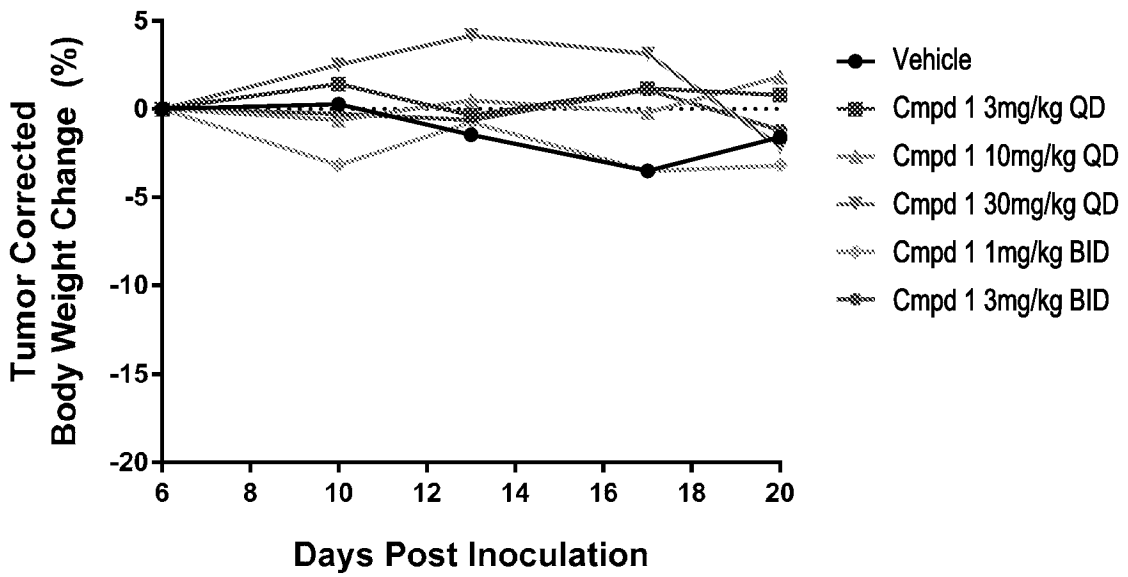


FIG. 1B

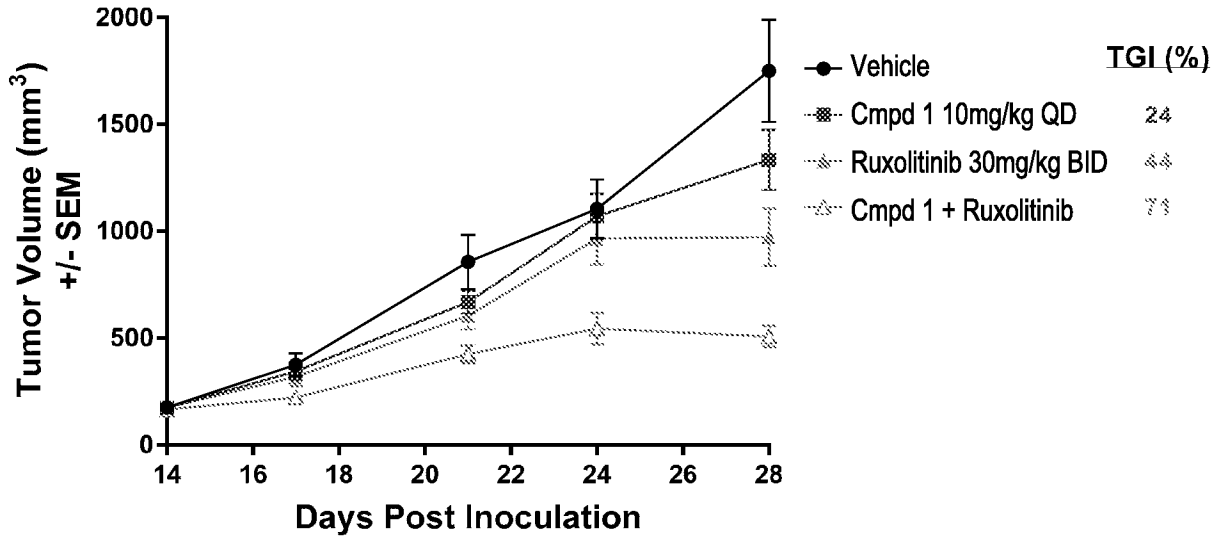


FIG. 2A

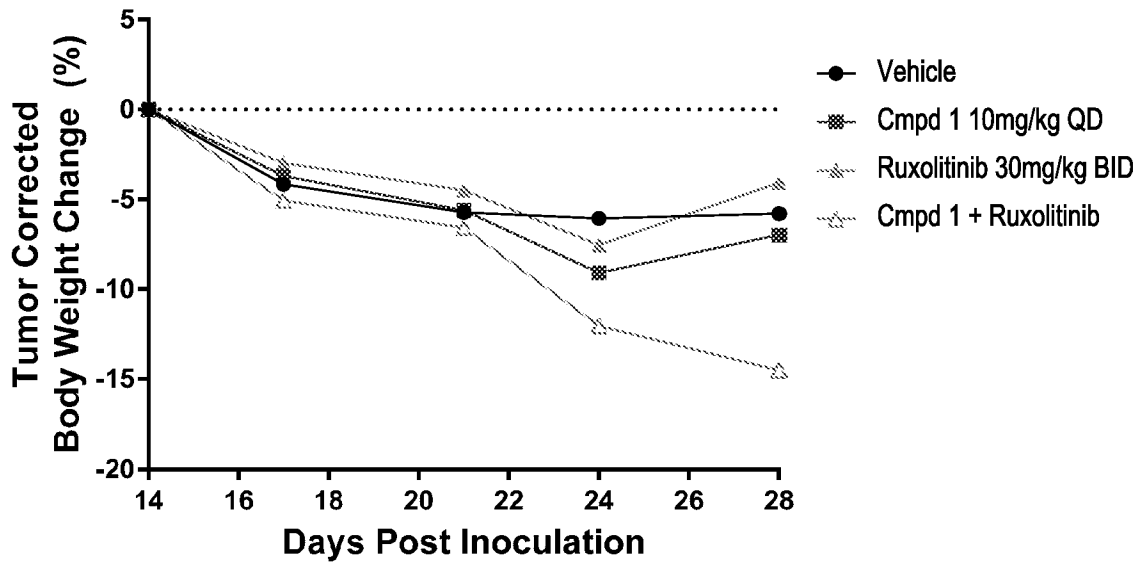


FIG. 2B

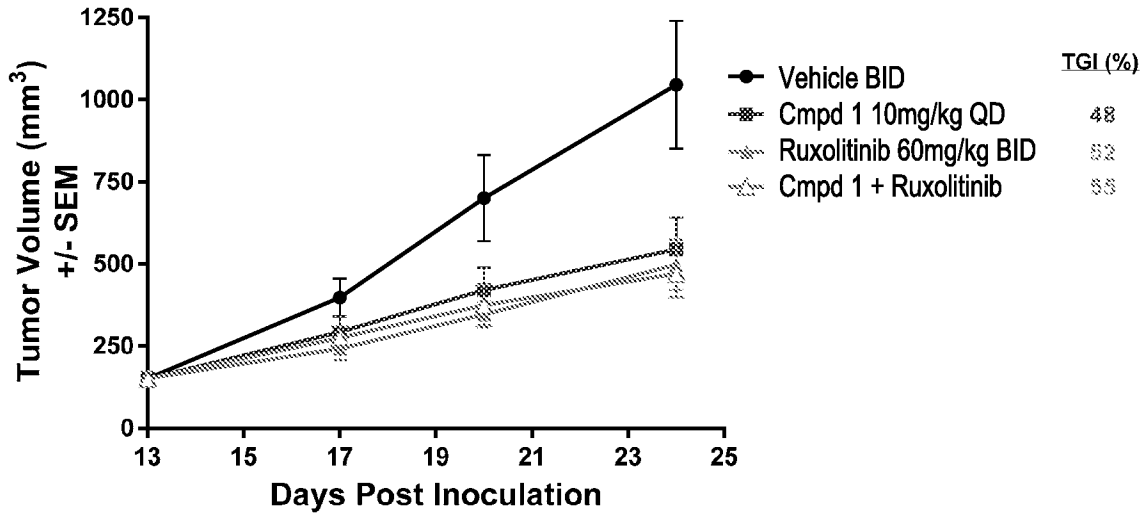


FIG. 3A

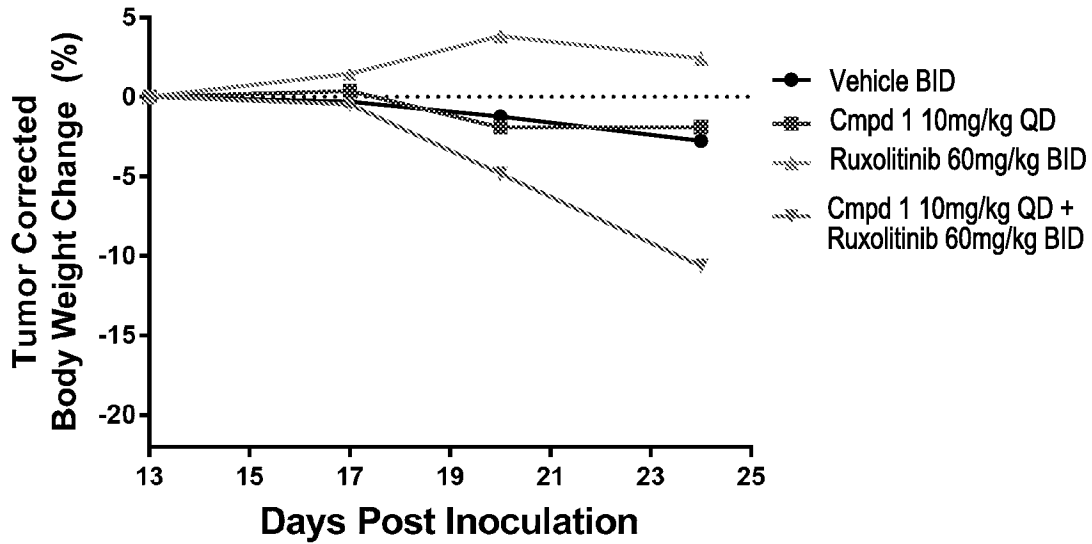
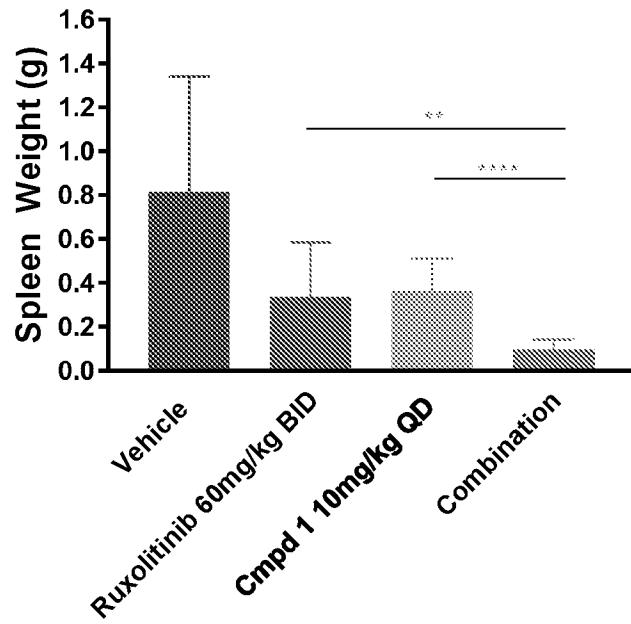
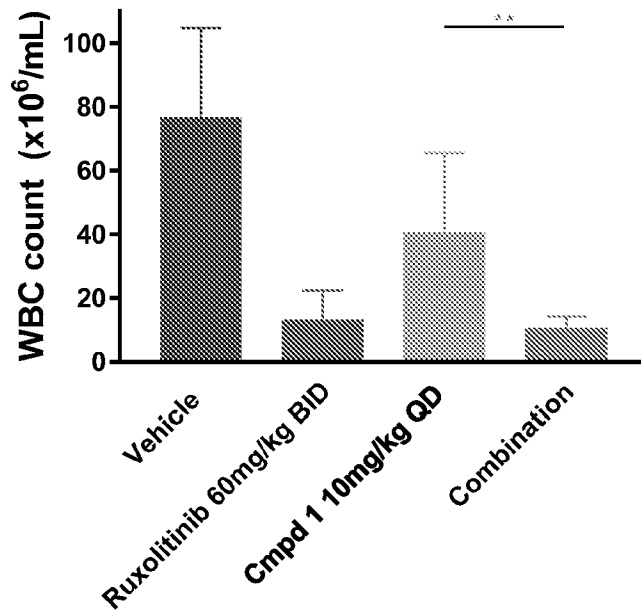


FIG. 3B



**FIG. 4A**



**FIG. 4B**

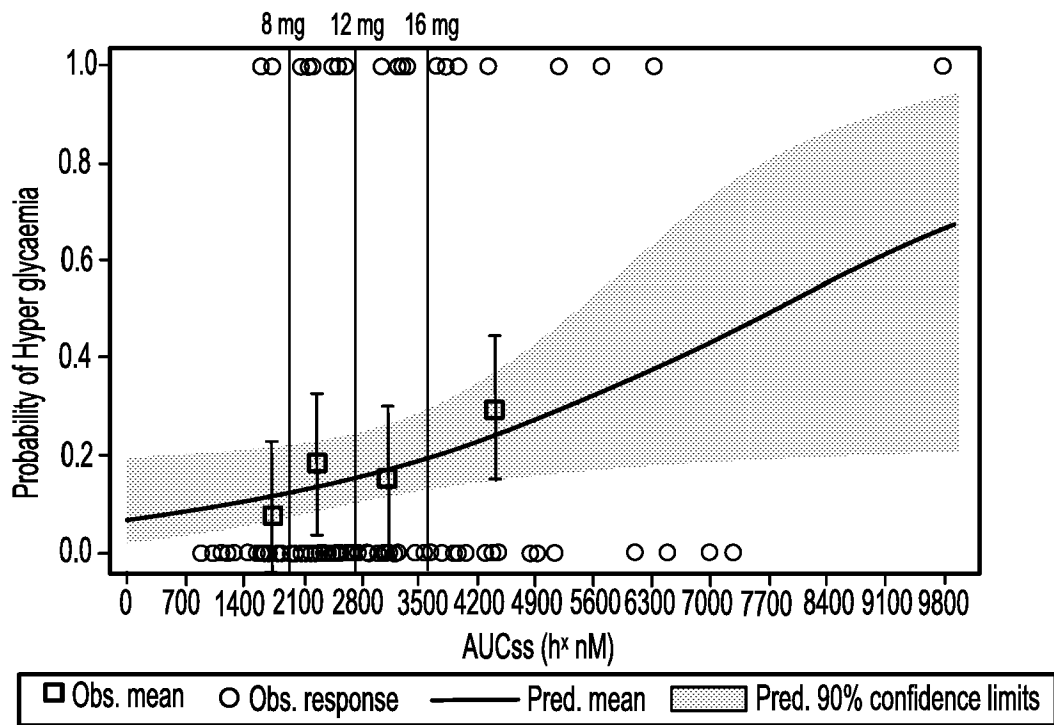
Table 3

Analyte	Dose	Participant(s)	C <sub>max,ss</sub> (nM)	T <sub>max</sub> (h)	t <sub>1/2</sub> (h)	C <sub>min,ss</sub> (nM)	AUC <sub>ss,0-24</sub> (h*nM)	CL <sub>ss/F</sub> (L/h)	V <sub>z/F</sub> (L)
Compound 1 (Parent)	8 mg	N = 10	210 ± 93.2 191 (50.3)	1.00 (1.00, 4.00)	10.7 ± 5.51 9.67 (50.8)	35.5 ± 27.8 27.1 (92.9)	2100 ± 869 1940 (45.1)	10.8 ± 4.99 9.92 (45.1)	150 ± 57.6 138 (46.1)
	12 mg	N = 89	293 ± 113 272 (40.9)	0.50 (2.00, 8.00)	11.0 ± 14.8 9.17 (49.7)	50.6 ± 41.8 39.1 (82.5)	2990 ± 1330 2740 (43.2)	11.4 ± 4.86 10.5 (43.2)	158 ± 99.9 139 (51.2)
	16 mg	N = 7	340 ± 165 310 (47.5)	2.00 (2.00, 4.00)	15.3 ± 9.96 12.8 (71.4)	101 ± 87.5 63.7 (163)	4320 ± 2860 3610 (71.9)	12.6 ± 7.46 10.7 (71.9)	210 ± 72.9 197 (42.9)
<i>P-values from a 1-Factor ANOVA of log-transformed, dose-normalized data (factor = dose)</i>									
Dose			0.556	--	--	--	0.915	--	--
<i>Pairwise p-values from a 1-factor ANOVA of log-transformed, dose-normalized data (factor = dose)</i>									
8 mg vs 12 mg			0.689	--	--	--	0.685	--	--
8 mg vs 16 mg			0.298	--	--	--	0.739	--	--
12 mg vs 16 mg			0.334	--	--	--	0.942	--	--

Note: Values are presented in the format of mean ± SD and geometric mean (CV%) except that T<sub>max</sub> is reported as median (range).

## FIG. 5



**FIG. 8**