

Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. _____ S. _____ D. _____

Trámite: 11
Evento: 378
Actuación: 444

Re: PI.-**INCYTE CORPORATION**.-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para "**FORMAS DE DOSIFICACIÓN DE LIBERACIÓN PROLONGADA PARA UN INHIBIDOR DE JAK1**".-Clase **A61K 9/20**.-Expediente número **NC2018/0001133**.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho mediante notificación por fijación en lista el 26 de Marzo de 2018.
2. Con el fin de dar respuesta al **Oficio N 3385** emitido por la División de Nuevas Creaciones, a continuación me permito presentar los siguientes comentarios y modificaciones en relación con los requerimientos y objeciones formulados por ese Despacho:
3. **MODIFICACIÓN A LA DESCRIPCIÓN DE LA SOLICITUD OBJETO DE ESTUDIO (EXPEDIENTE NÚMERO NC2018/0001133).**

De conformidad con los numerales 1.2.2.3.2. y 1.2.2.3.2.1. de la Resolución No. 3719 de 2016, en donde se requiere que la memoria descriptiva de la solicitud divisional esté acorde con la división de la materia realizada, me permito señalar que es deseo del solicitante **modificar la memoria descriptiva de la presente solicitud NC2018/0001133 (solicitud divisional)**, de tal forma que la solicitud divisional cuenta ahora con una descripción modificada de **70 páginas**, en donde **se ha eliminado toda referencia kits** que comprenden una o más formas de dosificación de liberación prolongada que comprenden cada una {1 - {1 - [3 - fluoro - 2 - (trifluorometil) isonicotinoil] piperidin - 4 - il} - 3 - [4 - (7H - pirrolo [2,3 - d] pirimidin - 4 - il) - 1H - pirazol - 1 - il] azetidin - 3 - il} acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, materia que se encuentra cubierta y reclamada en la solicitud parental 16-051.256.

Para mayor claridad, se adjuntan dos documentos, un primer documento con la versión originalmente presentada que contiene el control de cambios de las partes del texto eliminadas (las cuales se encuentran **tachadas**) y una versión en limpio que incluye todos los cambios.

Por favor note que **se eliminó el texto desde el último párrafo de la página 18 hasta el segundo párrafo de la página 21**, es decir, se eliminó toda referencia a kits que comprenden una o más formas de dosificación de liberación prolongada que comprenden cada una {1 - {1 - [3 - fluoro - 2 - (trifluorometil) isonicotinoil] piperidin - 4 - il} - 3 - [4 - (7H - pirrolo [2,3 - d] pirimidin - 4 - il) - 1H - pirazol - 1 - il] azetidin - 3 - il} acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

De acuerdo con las anteriores modificaciones, me permito resaltar que **la descripción modificada de la solicitud divisional NC2018/0001133** comprende las enseñanzas respectivas de conformidad con la materia que se encuentra actualmente reclamada en el capítulo reivindicatorio de la divisional en cuestión, y por lo tanto, cumplen a cabalidad con los requerimientos establecidos por la Resolución No. 3719 de 2016 y por el Señor Examinador.

4. **MODIFICACIÓN VOLUNTARIA AL CAPITULO REIVINDICATORIO.**

Debidamente autorizado por mi Representado, me permito manifestar a ese Despacho que es deseo del solicitante realizar de manera voluntaria una modificación sobre el capítulo reivindicatorio actualmente presentado, de forma tal que el nuevo capítulo pasa a estar conformado por **22 reivindicaciones** como se explica a continuación:

- ✓ Se modifica la dependencia de las reivindicaciones 7, 11, 12, y 17 a 22.

De esta forma, **el capítulo reivindicatorio modificado queda constituido por 22 reivindicaciones**, las cuales se refieren de manera más clara y concisa a las características técnicas esenciales del objeto de la presente solicitud, y que cuenta con pleno sustento en las enseñanzas de la descripción.

De acuerdo con lo anterior, me permito manifestar a ese Despacho que la anterior modificación no amplía de ninguna manera el alcance de la invención tal como fue presentada originalmente, cumpliendo por lo tanto a cabalidad con las disposiciones de patentabilidad establecidas en el Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000.

5. De conformidad con lo anterior, anexo al presente memorial por favor encuentren:
- ✓ Copia de las páginas **1 a 78** del texto de la descripción modificado de la presente solicitud divisional, en su versión **con control de cambios**;
 - ✓ Copia de las páginas **1 a 70** del texto de la descripción modificado de la presente solicitud divisional, **en su versión en limpio**; y
 - ✓ Copia de la páginas **71 a 74** que corresponden al capítulo reivindicatorio modificado que consta de **22 reivindicaciones** y que reemplaza al actualmente presentado.
6. Adicionalmente, informamos que el respectivo pago por las modificaciones al capítulo reivindicatorio mencionadas se efectuaron a través de la plataforma SIPI el día de hoy.
7. Ruego a usted tomar atenta nota de lo anterior y proceder de conformidad.
8. Mi dirección es Calle 72 No. 5-83, Piso 6º, Bogotá D.C., Colombia.

Señor Superintendente,



ALICIA LLORED A RICAURTE

T.P. 53.215

Direcciones para Notificación: notificacionesip@lloredacamacho.com
notificacionespatentes@lloredacamacho.com

FORMAS DE DOSIFICACIÓN DE LIBERACIÓN PROLONGADA PARA UN INHIBIDOR DE JAK1

Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional estadounidense n.º 61/863,325, presentada el 7 de agosto de 2013, y la Solicitud Provisional estadounidense n.º 61/913,066, presentada el 6 de diciembre de 2013, cada una de las cuales se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

CAMPO TÉCNICO

La presente solicitud se refiere a una forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este y dosis y métodos relacionadas con estas.

ANTECEDENTES

Las proteínas quinasas (PK, por sus siglas en inglés) regulan diversos procesos biológicos como crecimiento celular, supervivencia, diferenciación, formación de órganos, morfogénesis, neovascularización, reparación tisular y regeneración, entre otros. Las proteínas quinasas también tienen papeles especializados en hospedadores de enfermedades humanas como el cáncer. Las citocinas son polipéptidos o glicoproteínas de bajo peso molecular que regulan muchas vías involucradas en la respuesta inflamatoria del hospedador a la septicemia. Las citocinas influyen en la diferenciación, proliferación y activación celular, y pueden modular respuestas tanto proinflamatorias como antiinflamatorias para permitir que el hospedador reaccione apropiadamente a los patógenos. La señalización de una amplia variedad de citocinas involucra a la familia de las quinasas de Janus (JAK, por sus siglas en inglés) de proteínas tirosinas quinasas y los transductores de señal y activadores de transcripción (STAT, por sus siglas en inglés). Existen cuatro JAK mamíferas conocidas: JAK1 (quinasa de Janus -1), JAK2, JAK3 (también conocida como quinasa de Janus, leucocito; JAKL; y L-JAK), y TYK2 (proteína tirosina quinasa 2).

Las respuestas inmunitarias e inflamatorias estimuladas por citocinas contribuyen a la patogénesis de las enfermedades: patologías tales como la inmunodeficiencia

combinada grave (SCID, por sus siglas en inglés) surgen de la supresión del sistema inmunitario, en tanto una respuesta inmunitaria/inflamatoria hiperactiva o inapropiada contribuye a la patología de enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, asma, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis, miocarditis), y dolencias tales como dermatosclerosis y osteoartritis (Ortmann, R. A., T. Cheng, et ál. (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

Las deficiencias en la expresión de las JAK se asocian con muchos estados de enfermedad. Por ejemplo, los ratones Jak1^{-/-} son intervenidos durante el nacimiento, se les omite la asistencia y mueren en etapa perinatal (Rodig, S. J., M. A. Meraz, et ál. (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Los embriones de ratones Jak2^{-/-} son anémicos y mueren cerca del día 12,5 después del coito debido a la ausencia de eritropoyesis definitiva.

Se cree que las vías JAK/STAT, y particularmente las cuatro JAK, desempeñan un papel en la patogénesis de respuesta asmática, en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, en bronquitis y en otras enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio inferior relacionadas. Las citocinas múltiples que se señalizan a través de las JAK han sido vinculadas a enfermedades/afecciones inflamatorias del tracto respiratorio superior, tales como aquellas que afectan nariz y senos (por ejemplo, rinitis y sinusitis), ya sean reacciones alérgicas clásicas o no. La vía de JAK/STAT también ha sido implicada en enfermedades/afecciones inflamatorias del ojo y en respuestas alérgicas crónicas.

La activación de JAK/STAT en cánceres se puede producir por estimulación de citocinas (por ejemplo, IL-6 o GM-CSF) o por una reducción en los supresores endógenos de la señalización de JAK como los SOCS (señalización de citocinas o supresor) o los PIAS (inhibidor de proteínas de STAT activado) (Boudny, V., y Kovarik, J., *Neoplasia*. 49:349-355, 2002). La activación de la señalización de STAT, así como otras vías posteriores de JAK (por ejemplo, Akt), ha sido correlacionada con malos pronósticos en varios tipos de cáncer (Bowman, T., et ál. *Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Los niveles elevados de citocinas circulantes que se señalizan a través de JAK/STAT desempeñan un papel causal en la caquexia y/o fatiga crónica. En ese sentido, la inhibición de la JAK podría ser beneficiosa para pacientes de cáncer por motivos que van más allá de una actividad antitumoral potencial.

La tirosina quinasa JAK2 puede ser beneficiosa para pacientes con trastornos mieloproliferativos, por ejemplo, policitemia verdadera (PV, por sus siglas en

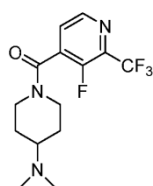
inglés), trombocitosis esencial (ET, por sus siglas en inglés), mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM, por sus siglas en inglés) (Levin, et ál., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). La inhibición de la quinasa JAK2V617F disminuye la proliferación de células hemopoyéticas, lo que sugiere a JAK2 como un objetivo potencial para inhibición farmacológica en pacientes con PV, ET y MMM.

La inhibición de las JAK podría beneficiar a pacientes que padecen trastornos inmunitarios como psoriasis y sensibilización cutánea. Se cree que el mantenimiento de la psoriasis depende de una serie de citocinas inflamatorias, además de varias quimiocinas y factores de crecimiento (JCI, 113:1664-1675), muchos de los cuales se señalizan a través de las JAK (*Adv Pharmacol.* 2000;47:113-74).

Debido a la utilidad de los compuestos que inhiben a la JAK para dirigirse al aumento o la supresión de las vías inmunitarias o inflamatorias (tales como agentes inmunosupresores para trasplantes de órganos), así como el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, enfermedades que involucran una respuesta antiinflamatoria hiperactiva (por ejemplo, eccema), alergias, cáncer (por ejemplo, próstata, leucemia, mieloma múltiple) y algunas reacciones inmunitarias (por ejemplo, erupciones cutáneas, dermatitis de contacto o diarrea) causadas por otros agentes terapéuticos, existe una necesidad de formulaciones mejoradas para la administración de quinasas JAK. Las formas de dosificación descritas en la presente, así como las dosis y métodos descritos anteriormente, están orientadas a satisfacer esta necesidad y a otros fines.

COMPENDIO

Los inhibidores de JAK se describen en número de serie 13/043.986 estadounidense (US 2011/0224190), presentada el 9 de marzo de 2011, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad, que incluyen {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo, que se representa a continuación como la Fórmula I.



La presente solicitud proporciona, entre otros, formas de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 25 mg a alrededor de 600 mg (por ejemplo, 25 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg o 600 mg) con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente invención además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dichas una o más formas de dosificación de liberación prolongada juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente invención además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dicha dosis proporciona una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la

base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud proporciona además métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud también proporciona métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud proporciona además métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud además proporciona métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las FIGURAS 1A-C representan concentraciones en plasma para el compuesto de la Fórmula I (media $\pm$ SE) en individuos saludables que reciben única dosis de cápsulas IR de 300 mg (1A: Cohortes 1-4, en ayuno), comprimidos SR1, SR2, SR3 y SR4 (2B: Cohortes 1-4, en ayuno; y 2C: Cohortes 1-4, con ingesta de un alimento con alto contenido de grasas).

La FIGURA 2A-B representa los perfiles PK de una única dosis SR3 de 300 mg (media $\pm$ SE) (2A: Cohorte 3, SR3, en ayuno con respecto a ingesta de alimento con alto contenido de grasas; y 2B: Cohorte 5, SR3, en ayuno con respecto a ingesta de alimento con contenido medio de grasas).

La FIGURA 3 representa una comparación de los perfiles PK (media $\pm$ SE) entre los comprimidos SR3 de 25 mg y 100 mg (tratamiento A con respecto a C) y el efecto de la alimentación con un alimento con alto contenido de grasas sobre el comprimido SR3 de 25 mg (Tratamiento B con respecto a A).

La FIGURA 4 representa el porcentaje de cambio con respecto al valor de referencia para la hemoglobina para varios regímenes de dosificación para comprimidos de liberación prolongada con respecto a placebo.

La FIGURA 5(a) ilustra el porcentaje de pacientes que tienen una reducción ≥ 50 % en la puntuación total de los síntomas (TSS) en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD).

La FIGURA 5(b) ilustra el porcentaje de cambio en la puntuación total de los síntomas (TSS) respecto del valor de referencia en la semana 12 por cohorte de

dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD).

La FIGURA 6(a) ilustra los niveles de hemoglobina promedio con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD).

La FIGURA 6(b) ilustra los niveles de hemoglobina promedio (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) a las 48 semanas.

La FIGURA 6(c) ilustra los niveles de hemoglobina promedio (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis a las 48 semanas como un promedio para los tres cohortes de dosis en comparación con individuos dosificados con placebo o ruxolitinib.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente solicitud proporciona formas de dosificación de liberación prolongada que comprenden {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona una forma de dosificación de liberación prolongada que comprende alrededor de 25 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada

comprende alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 100 nM a alrededor de 1000 nM. Tal como se utiliza en este contexto, la administración oral significa que una única dosis se administra al individuo (en este caso, 3 x 100 mg) y el parámetro de PK se calcula a partir de las mediciones de la concentración en plasma en función del tiempo. En este contexto, el parámetro de PK (en este caso, $C_{m\acute{a}x}$) se utiliza para caracterizar la forma de dosificación de liberación prolongada única (es decir, la reivindicaciones se refieren a una única forma de dosificación, no a tres formas de dosificación).

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 400 nM a alrededor de 700 nM.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio para alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-

(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 0,5 horas a alrededor de 3 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio para alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de al menos 0,5 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 5 a alrededor de 50.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 9 a alrededor de 40.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 30.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de

{1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 5 horas a alrededor de 15 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 7 horas a alrededor de 12 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 20 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1000 nM*h a alrededor de 4000 nM*h.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1500 nM*h a alrededor de 3100 nM*h.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 200 nM a alrededor de

2000 nM.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 500 nM a alrededor de 1500 nM.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 9 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico (T_{max}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de al menos 1,5 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 10 a alrededor de 70.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprende alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$)

con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 50.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 25 a alrededor de 45.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 7 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 2 horas a alrededor de 5 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 2000 nM*h a alrededor de 5000 nM*h.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-

2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 3000 nM*h a alrededor de 4000 nM*h.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual de la forma de dosificación de liberación prolongada con respecto a una forma de dosificación de liberación intermedia para $C_{\text{máx}}$ es alrededor de 15 % a alrededor de 30 %, donde una o más formas de dosificación de liberación intermedia y una o más formas de dosificación de liberación prolongada se administran por vía oral independientemente a individuos en ayuno como una única dosis, donde se administra la misma dosis de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual de la forma de dosificación de liberación prolongada con respecto a una forma de dosificación de liberación intermedia para C_{max} es alrededor de 15 % a alrededor de 30 %, donde una o más formas de dosificación de liberación intermedia y una o más formas de dosificación de liberación prolongada se administran por vía oral independientemente a individuos en ayuno como una única dosis, donde se administra la misma dosis de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual de la forma de dosificación de liberación prolongada con respecto a una forma de dosificación de liberación intermedia para $AUC_{0-\infty}$ es alrededor de 40 % a alrededor de 55 %, donde una o más formas de dosificación de liberación intermedia y una o más formas de dosificación de liberación prolongada se administran por vía oral independientemente a individuos en ayuno como una única dosis, donde se administra la misma dosis de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual para $C_{\text{máx}}$ de la forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas con respecto a una forma de dosificación de liberación prolongada administrada por

vía oral a un individuo en ayuno es alrededor de 150 % a alrededor de 250 %.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual para $AUC_{0-\infty}$ de la forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas con respecto a una forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo en ayuno es alrededor de 125 % a alrededor de 170 %.

En algunas modalidades, las formas de dosificación de liberación prolongada de la invención pueden incluir un formador de matriz de liberación prolongada. Los ejemplos de formadores de matriz de liberación prolongada incluyen éteres de celulosa tales como hidroxipropil metilcelulosa (HPMC, hipromelosa) que es un polímero de alta viscosidad y metilcelulosas. Los ejemplos de hidroxipropil metilcelulosas incluyen Methocel™ K15M, Methocel™ K4M, Methocel™ K100LV, Methocel™ E3, Methocel™ E5, Methocel™ E6, Methocel™ E15, Methocel™ E50, Methocel™ E10M, Methocel™ E4M y Methocel™ E10M. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende una primera hipromelosa que se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 80 cP a alrededor de 120 cP y una segunda hipromelosa que se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 3000 cP a alrededor de 5600 cP. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 8 % a alrededor de 20 % en peso de una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 10 % a alrededor de 15 % en peso de una o más hipromelosas.

En algunas modalidades, las formas de dosificación de liberación prolongada de la invención pueden incluir además una o más cargas, deslizantes, desintegrantes, aglutinantes o lubricantes como ingredientes inactivos. En algunas modalidades, la carga comprende celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa o ambos. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 16 % a alrededor de 22 % en peso de celulosa microcristalina. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 45 % a alrededor de 55 % en peso de monohidrato de lactosa.

En algunas modalidades, los lubricantes pueden estar presentes en las formas de dosificación de la invención en una cantidad de 0 a alrededor de 5 % en peso. Los ejemplos no taxativos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico (estearina), aceite hidrogenado, polietilenglicol, fumarato estearil de sodio y behenato de glicerilo. En algunas modalidades, las formulaciones incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico o ambos. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 0,3 % a alrededor de 0,7 % en peso de estearato de magnesio.

En algunas modalidades, pueden estar presentes deslizantes en las formas de dosificación. En algunas modalidades, los deslizantes pueden estar presentes en las formas de dosificación de la invención en una cantidad de 0 a alrededor de 5 % en peso. Los ejemplos no taxativos de deslizantes incluyen talco, dióxido de silicio coloidal y almidón de maíz. En algunas modalidades, el deslizante es dióxido de silicio coloidal.

En algunas modalidades, pueden estar presentes agentes de recubrimiento de película en una cantidad de 0 a alrededor de 5 % en peso. Los ejemplos ilustrativos no taxativos de agentes de recubrimiento de película incluyen recubrimientos a base de hipromelosa o alcohol polivinílico con dióxido de titanio, talco y opcionalmente colorantes disponibles en varios sistemas de recubrimiento completo disponibles en el mercado.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende almidón pregelatinizado.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada es un comprimido.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada se prepara mediante un proceso que comprende granulación húmeda.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende uno o más excipientes seleccionados independientemente de hipromelosas y celulosas microcristalinas.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende uno o más excipientes seleccionados independientemente de

hipromelosas, celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa y monohidrato de lactosa.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende uno o más excipientes seleccionados independientemente de hipromelosas, celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa, monohidrato de lactosa y almidón pregelatinizado.

La presente invención además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dichas una o más formas de dosificación de liberación prolongada juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente invención además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dicha dosis proporciona una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada como se describen en la presente, que juntas proporcionan

una dosificación oral diaria de alrededor de 500 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud proporciona además una o más formas de liberación prolongada como se describen en la presente que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este

a un paciente.

La presente solicitud también proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada como se describen en la presente que proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 500 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud también proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada como se describen en la presente que proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

En algunas modalidades, la dosis comprende seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la dosis comprende tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la dosis comprende dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la dosis comprende una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Tal como se utiliza en la presente, “liberación prolongada” se utiliza tal como se

entiende generalmente en la técnica y se refiere a una formulación diseñada para liberar lentamente el ingrediente activo en un paciente después de la administración oral.

Tal como se utiliza en la presente, "dosis" se refiere a la cantidad total del compuesto de Fórmula I administrado por vía oral al individuo o paciente. La dosis puede ser una única forma de dosificación, o múltiples formas de dosificación (por ejemplo, una dosis de 600 mg puede ser una forma de dosificación de 600 mg, dos formas de dosificación de 300 mg, tres formas de dosificación de 200 mg, seis formas de dosificación de 100 mg, etc.). Por lo tanto, una dosis puede hacer referencia a múltiples píldoras que el paciente debe tomar casi simultáneamente.

Tal como se utiliza en la presente, "un individuo en ayuno" significa un individuo que ha ayunado durante al menos 10 horas antes de la administración de la dosis.

Tal como se utiliza en la presente, "media/o" cuando precede a un valor farmacocinético (por ejemplo, $C_{\text{máx}}$ media) representa el valor medio aritmético del valor farmacocinético tomado de una población de pacientes, a menos que se especifique lo contrario.

Tal como se utiliza en la presente, " $C_{\text{máx}}$ " significa la concentración en plasma máxima observada.

Tal como se utiliza en la presente, " $C_{12\text{h}}$ " se refiere a la concentración en plasma medida 12 horas después de la administración.

Tal como se utiliza en la presente, " $T_{\text{máx}}$ " se refiere al tiempo en que se observa la concentración máxima en el plasma sanguíneo.

Tal como se utiliza en la presente, " $T_{1/2}$ " se refiere al tiempo en el que la concentración en plasma es la mitad de la máxima observada.

Tal como se utiliza en la presente, "AUC" se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo que es una medida de la biodisponibilidad total.

Tal como se utiliza en la presente, " $\text{AUC}_{0-\infty}$ " se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo extrapolada al infinito.

Tal como se utiliza en la presente, " AUC_{0-t} " se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo del tiempo 0 hasta el último punto de tiempo con una concentración en plasma cuantificable, en general alrededor de 12-36 horas.

Tal como se utiliza en la presente, " $AUC_{0-\infty}$ " se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo del tiempo 0 hasta el tiempo de la siguiente dosis.

Tal como se utiliza en la presente, " Cl/F " se refiere al aclaramiento del fármaco administrado por vía oral.

La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente. Tal como se utiliza en la presente, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos, donde el compuesto base se modifica al convertir un resto ácido o base existente en una forma salina. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, de modo no taxativo, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas del compuesto base formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto base que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. En general, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiados en agua o en un disolvente orgánico, o una mezcla de ambos; generalmente se prefieren medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (ACN). Pueden encontrarse listas de sales adecuadas en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418 y *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977), cada uno de los cuales se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En algunas modalidades, los compuestos descritos en la presente incluyen formas N-óxido.

Métodos

La presente solicitud proporciona además métodos para tratar una enfermedad

autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. La presente solicitud proporciona además un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más dosificaciones de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud además proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud además proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar

por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 500 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud además proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 400 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de

dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 0,5 horas a alrededor de 3 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de al menos 0,5 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 5 a alrededor de 50.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 9 a alrededor de 40.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 30.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 20 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 9 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de al menos 1,5 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 10 a alrededor de 70.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 50.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 25 a alrededor de 45.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 7 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 2 horas a alrededor de 5 horas.

En algunas modalidades, cada una de la una o más forma de dosificación de liberación prolongada es un comprimido. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada se preparan por un proceso que comprende granulación húmeda.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, uno o más excipientes que se seleccionan independientemente de hipromelosas y celulosas microcristalinas. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, uno o más excipientes que se seleccionan independientemente de hipromelosas, celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa y monohidrato de lactosa. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, una primera hipromelosa caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 80 cP a alrededor de 120 cP y una segunda hipromelosa caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 3000 cP a alrededor de 5600 cP.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 10 % a alrededor de 15 % en peso de una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 16 % a alrededor de 22 % en peso de celulosa microcristalina. En algunas modalidades,

la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 45 % a alrededor de 55 % en peso de monohidrato de lactosa. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 0,3 % a alrededor de 0,7 % en peso de estearato de magnesio.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada que comprende, cada una, {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia. En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 600 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 500 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 400 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-

fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoniitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoniitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoniitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoniitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetoniitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, “puntuación total de los síntomas (TSS)” se refiere a la TSS derivada del diario electrónico de Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF) (por ejemplo, v3.0) en comparación con el valor de referencia (el valor de referencia es el TSS de referencia del paciente antes del tratamiento). En algunas modalidades, la mielofibrosis es mielofibrosis primaria (PMF), MF post policitemia vera, o MF post trombocitemia esencial.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg

con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dicho método da como resultado anemia reducida.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosis diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde dicho método da como resultado anemia reducida.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosis diaria de alrededor de 500 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde dicho método da como resultado anemia reducida.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosis diaria de alrededor de 400 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal

farmacéuticamente aceptable de este, donde dicho método da como resultado anemia reducida. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. La anemia reducida se relaciona con la que se experimentó para una dosis de dos veces por día de 200 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, que comprende cada una {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El compuesto de Fórmula I es un inhibidor de JAK. Un inhibidor selectivo de JAK1 es un compuesto que inhibe la actividad de JAK1 preferentemente con respecto a otras quinasas Janus. La JAK1 tiene un papel central en varias vías de señalización de citocina y factor de crecimiento que, cuando se desregulan, pueden resultar o contribuir a estados de enfermedad. Por ejemplo, los niveles de IL-6 son elevados en la artritis reumatoide, un enfermedad en la que se ha sugerido que tiene efectos nocivos (Fonesca, J.E. et ál., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Debido a que la IL-6 se señaliza, al menos en parte, a través de JAK1, se espera proporcionar un beneficio clínico al antagonizar a IL-6 directa o indirectamente a través de la inhibición de JAK1 (Guschin, D., N., et ál Embo J

14:1421, 1995; Smolen, J. S., et ál. *Lancet* 371:987, 2008). Asimismo, en algunos cánceres, el JAK1 se presenta mutado, resultando en un crecimiento y supervivencia de células tumorales indeseables constitutivos (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106:9414-8, 2009; Flex E., et ál. *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). En otras enfermedades autoinmunitarias y cánceres los niveles sistémicos elevados de citocinas inflamatorias que activan a JAK1 también pueden contribuir a la enfermedad y/o síntomas asociados. Por consiguiente, los pacientes con dichas enfermedades pueden beneficiarse con la inhibición de JAK1. Los inhibidores selectivos de JAK1 pueden ser eficaces mientras se evitan efectos innecesarios y potencialmente indeseables de la inhibición de otras quinasas JAK.

Los inhibidores selectivos de JAK1, con respecto a otras quinasas JAK, pueden tener múltiples ventajas terapéuticas con respecto a inhibidores menos selectivos. En relación con la selectividad contra JAK2, varias citocinas y factores de crecimiento importantes se señalizan a través de JAK2 incluidos, por ejemplo, eritropoyetina (Epo) y trombopoyetina (Tpo) (Parganas E, et ál. *Cell*. 93:385-95, 1998). La Epo es un factor de crecimiento clave para la producción de glóbulos rojos; por lo tanto, una escasez de la señalización dependiente de Epo puede resultar en cantidades reducidas de glóbulos rojos y anemia (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). La Tpo, otro ejemplo de un factor de crecimiento dependiente de JAK2, tiene un papel central en el control de la proliferación y maduración de megacariocitos – las células a partir de las cuales se producen las plaquetas (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). Como tal, la señalización reducida de Tpo disminuiría la cantidad de megacariocitos (megacariocitopenia) y reduciría los recuentos de plaquetas en circulación (trombocitopenia). Esto puede resultar en una hemorragia indeseable y/o incontrolable. La inhibición reducida de otras JAK, tales como JAK3 y Tyk2, también puede ser deseable ya que los humanos que carecen de la versión funcional de estas quinasas han demostrado padecer numerosas enfermedades tales como inmunodeficiencia grave-combinada o síndrome de hiperinmunoglobulina E (Minegishi, Y, et ál. *Immunity* 25:745-55, 2006; Macchi P, et ál. *Nature*. 377:65-8, 1995). Por consiguiente, un inhibidor de JAK1 con afinidad reducida con otras JAK tendría ventajas considerables con respecto a un inhibidor menos selectivo en relación con efectos secundarios reducidos que impliquen supresión inmunitaria, anemia y trombocitopenia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a métodos para tratar una enfermedad o trastorno asociado con JAK en un individuo (por ejemplo, un

paciente) al administrar al individuo que necesita dicho tratamiento una forma de dosificación de liberación prolongada de la invención. Una enfermedad asociada con JAK puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que está directa o indirectamente ligada con la expresión o actividad de JAK, incluida la sobreexpresión y/o niveles de actividad anormales. Una enfermedad asociada con JAK también puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que puede prevenirse, mejorarse o curarse al modular la actividad de JAK.

Los ejemplos de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades que implican el sistema inmunitario, lo que incluye, por ejemplo, rechazo de trasplante de órgano (por ejemplo, rechazo de aloinjerto y enfermedad de injerto contra hospedador).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide, artritis juvenil, artritis psoriásica, diabetes tipo I, lupus, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, miastenia gravis, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis, trastornos tiroideos autoinmunitarios, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y similares. En algunas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria es una dermatitis ampollosa autoinmunitaria tal como pénfigo vulgar (PV) o pénfigo vesicular (BP).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen afecciones alérgicas tales como asma, alergias a alimentos, dermatitis eccematosa, dermatitis de contacto, dermatitis atópica (eccema atópico) y rinitis. Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades virales como el virus de Epstein Barr (VEB), Hepatitis B, Hepatitis C, VIH, HTLV 1, virus Varicela-Zóster (VVZ) y virus del Papiloma humano (VPH).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades asociadas con renovación de cartílagos, por ejemplo, artritis gotosa, artritis séptica o infecciosa, artritis reactiva, distrofia simpatética refleja, algodistrofia, síndrome de Tietze, atropatía costal, osteoartritis deformante endémica, enfermedad de Meleni, enfermedad de Handigodu, degeneración resultante de fibromialgia, lupus sistémico eritematoso, esclerodermia o espondilitis anquilosante.

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen

malformaciones de cartílago congénitas, que incluyen condrólisis hereditaria, condrodisplasias y pseudocondrodisplasias (por ejemplo, microtia, enotia y condrodisplasia metafisaria).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen trastornos cutáneos tales como psoriasis (por ejemplo, psoriasis vulgar), dermatitis atópica, erupción cutánea, irritación cutánea, sensibilización cutánea (por ejemplo, dermatitis de contacto o dermatitis de contacto alérgica). Por ejemplo, ciertas sustancias, incluidos algunos fármacos, cuando se aplican tópicamente pueden provocar una sensibilización cutánea. En algunas modalidades, la coadministración o administración secuencial de al menos un inhibidor de JAK de la invención junto con un agente que provoca una sensibilización indeseada puede ayudar en el tratamiento de dicha sensibilización indeseada o dermatitis. En algunas modalidades, el trastorno cutáneo se trata mediante la administración tópica de al menos un inhibidor de JAK de la invención.

En modalidades adicionales, la enfermedad asociada con JAK es cáncer que incluyen aquellos caracterizado por tumores sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cánceres de las vías aéreas altas, cáncer de tiroides, glioblastoma, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman, liomiosarcoma uterino, melanoma, etc.), cánceres hematológicos (por ejemplo, linfoma, leucemia tal como leucemia linfoblástica aguda (ALL, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena aguda (AML, por sus siglas en inglés) o mieloma múltiple) y cáncer de piel tal como linfoma de células T cutáneo (CTCL, por sus siglas en inglés) y linfoma de células B cutáneo. Los CTCL ejemplares incluyen síndrome de Sezary y micosis fungoides.

En algunas modalidades, las formas de dosificación descritas en la presente o en combinación con otros inhibidores de JAK, tales como los descritos en el N.º de serie estadounidense 11/637,545, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia, pueden utilizarse para tratar cánceres asociados con inflamación. En algunas modalidades, el cáncer se asocia con la enfermedad inflamatoria intestinal. En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa. En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria intestinal es enfermedad de Crohn. En algunas modalidades, el cáncer asociado con inflamación es cáncer asociado con colitis. En algunas modalidades, el cáncer asociado con inflamación es cáncer de colon o cáncer colorrectal. En algunas

modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor estromal gastrointestinal (GIST, por sus siglas en inglés), adenocarcinoma, cáncer de intestino delgado o cáncer rectal.

Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir además aquellas caracterizadas por la expresión de: mutantes de JAK2 tales como aquellos que tienen al menos una mutación en el dominio pseudoquinasa (por ejemplo, JAK2V617F); mutantes de JAK2 que tienen al menos una mutación fuera del dominio pseudoquinasa; mutantes de JAK1; mutantes de JAK3; mutantes del receptor de eritropoyetina (EPOR); o expresión desregulada de CRLF2.

Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir además trastornos mieloproliferativos (MPD, por sus siglas en inglés) tales como policitemia verdadera (PV, por sus siglas en inglés), trombocitemia esencial (ET, por sus siglas en inglés), mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM, por sus siglas en inglés), mielofibrosis primaria (PMF, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena crónica (CML, por sus siglas en inglés), leucemia mielomonocítica crónica (CMML, por sus siglas en inglés), síndrome hipereosinofílico (HES, por sus siglas en inglés), enfermedad de mastocitos sistémica (SMCD, por sus siglas en inglés) y similares. En algunas modalidades, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis (por ejemplo, mielofibrosis primaria (PMF, por sus siglas en inglés) o mielofibrosis postpolicitemia verdadera/trombocitemia esencial (Post-PV/ET MF, por sus siglas en inglés)). En algunas modalidades, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis posttrombocitemia esencial (Post-ET, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis postpolicitemia esencial (Post-PV MF, por sus siglas en inglés).

En algunas modalidades, las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse para tratar la hipertensión arterial pulmonar.

La presente invención además proporciona un método para tratar los efectos secundarios dermatológicos de otros fármacos mediante la administración de las formas de dosificación de la invención. Por ejemplo, varios agentes farmacéuticos resultan en reacciones alérgicas indeseadas que pueden manifestarse como erupción acneiforme o dermatitis relacionada. Los agentes farmacéuticos que tienen dichos efectos secundarios indeseables incluyen fármacos anticancerosos tales como gefitinib, cetuximab, erlotinib y similares. Las formas de dosificación de la invención pueden administrarse sistémicamente en combinación con (por ejemplo, simultáneamente o secuencialmente) el agente farmacéutico que tiene el

efecto secundario dermatológico indeseable.

Las enfermedades asociadas con JAK adicionales incluyen inflamación y enfermedades inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias ejemplares incluyen sarcoidosis, enfermedades inflamatorias del ojo (por ejemplo, iritis, uveitis, escleritis, conjuntivitis o una enfermedad relacionada), enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio (por ejemplo, el tracto respiratorio superior que incluye la nariz y los senos nasales tales como rinitis o sinusitis o el tracto respiratorio inferior que incluye bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y similares), miopatía inflamatoria tal como miocarditis y otras enfermedades inflamatorias. En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria del ojo es blefaritis.

Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar lesiones por isquemia-reperfusión o una enfermedad o afección relacionada con un episodio isquémico inflamatorio tal como un accidente cerebrovascular o paro cardíaco. Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar un estado de enfermedad desencadenado por endotoxina (por ejemplo, complicaciones después de una revascularización quirúrgica o estados crónicos de endotoxina que contribuyen a una insuficiencia cardíaca crónica). Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar la anorexia, caquexia o fatiga tal como la resultante o asociada con el cáncer. Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar la restenosis, esclerodermatitis o fibrosis. Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar afecciones relacionadas con hipoxia o astrogliosis tales como, por ejemplo, retinopatía diabética, cáncer o neurodegeneración. Véase, por ejemplo, Dudley, A.C. et ál. *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2):427-36 y Sriram, K. et ál. *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 2 de marzo de 2004, las cuales se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia. Los inhibidores de JAK descritos en la presente pueden utilizarse para tratar la enfermedad de Alzheimer.

Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar otras enfermedades inflamatorias tales como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS, por sus siglas en inglés) y choque septicémico.

Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse adicionalmente para tratar la gota y el tamaño de próstata aumentado debido a,

por ejemplo, hipertrofia prostática benigna o hiperplasia prostática benigna.

Las enfermedades asociadas con JAK adicionales incluyen enfermedades de resorción ósea tales como osteoporosis, osteoartritis. La resorción ósea también puede asociarse con otras afecciones tales como desequilibrio hormonal y/o terapia hormonal, enfermedad autoinmunitaria (por ejemplo, sarcoidosis ósea) o cáncer (por ejemplo, mieloma). La reducción de la resorción ósea debido al compuesto de Fórmula I puede ser de alrededor de 10 %, alrededor de 20 %, alrededor de 30 %, alrededor de 40 %, alrededor de 50 %, alrededor de 60 %, alrededor de 70 %, alrededor de 80 % o alrededor de 90 %.

En algunas modalidades, las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar un trastorno de ojo seco. Tal como se utiliza en la presente, “trastorno de ojo seco” pretende abarcar los estados de enfermedad resumidos en un informe oficial reciente del Taller sobre ojo seco (DEWS, por sus siglas en inglés), que define al ojo seco como “una enfermedad multifactorial de las lágrimas y la superficie ocular que resulta en síntomas de molestias, trastorno visual e inestabilidad de la película lagrimal con daño potencial a la superficie ocular. Va acompañada por una osmolaridad aumentada de la película lagrimal e inflamación de la superficie ocular”. Lemp, “The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop”, *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 abril de 2007, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En algunas modalidades, el trastorno de ojo seco se selecciona de ojo seco por falta de secreción acuosa (ADDE, por sus siglas en inglés) o trastorno de ojo seco evaporativo o combinaciones adecuadas. En algunas modalidades, el trastorno de ojo seco es el ojo seco del síndrome de Sjogren (SSDE, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el trastorno de ojo seco es el ojo seco no relacionado con el síndrome de Sjogren (NSSDE, por sus siglas en inglés).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para tratar la conjuntivitis, uveitis (incluida uveitis crónica), corioditis, retinitis, ciclitis, escleritis, episcleritis o iritis; tratar una inflamación o dolor relacionado con un trasplante de córnea, LASIK (queratomileusis in situ asistida por láser), queratectomía fotorrefractiva o LASEK (queratomileusis subepitelial asistida por láser); inhibir la pérdida de agudeza visual relacionada con el trasplante de córnea, LASIK, queratectomía fotorrefractiva o LASEK; o inhibir el rechazo del trasplante en un paciente que lo necesita, que comprende administrar al paciente una forma

de dosificación de la invención.

Adicionalmente, las formas de dosificación descritas de la invención o en combinación con otros inhibidores de JAK, tales como los descritos en el N.º de serie estadounidense 11/637,545, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia, pueden utilizarse para tratar la insuficiencia o falla asociada con la infección viral, tal como influenza y SARS.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona una forma de dosificación tal como se describió en cualquiera de las modalidades proporcionadas en la presente, para uso en un método para tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente. En algunas modalidades, la presente invención proporciona el uso de una forma de dosificación tal como se describió en cualquiera de las modalidades en la presente, para la preparación de un medicamento para uso en un método para tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona una forma de dosificación tal como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para uso en un método para modular JAK1. En algunas modalidades, la presente invención también proporciona el uso de una forma de dosificación tal como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para la preparación de un medicamento para uso en un método para modular JAK1.

Tal como se utiliza en la presente, el “individuo” es un humano. En algunas modalidades, el humano es un sujeto adulto.

Tal como se utiliza en la presente, el término “tratar” o “tratamiento” se refiere a uno o más de (1) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que sufre o presenta la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener el desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología); y (2) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que sufre o presenta la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) tal como reducir la gravedad de la enfermedad.

Terapias de combinación

Uno o más agentes farmacéuticos tales como, por ejemplo, quimioterapéuticos, agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores, así como inhibidores de Bcr-Abl, Flt-3, RAF y quinasa FAK tales como, por ejemplo, los descritos en WO 2006/056399, la cual se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia, u otros agentes, pueden utilizarse en combinación con las formas de dosificación descritas en la presente para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con JAK. Los uno o más agentes farmacéuticos adicionales pueden administrarse a un paciente simultáneamente o secuencialmente.

Los quimioterapéuticos de ejemplo incluyen inhibidores de proteosoma (por ejemplo, bortezomib), talidomida, revlimid y agentes que dañan el ADN tales como melfalán, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.

Los esteroides de ejemplo incluyen corticoesteroides tales como dexametasona o prednisona.

Los inhibidores de Bcr-Abl de ejemplo incluyen los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de los géneros y especies divulgados en la patente estadounidense N.º 5,521.184, WO 04/005281 y N.º de serie estadounidense 60/578,491, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

Los inhibidores de Flt-3 adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como se divulgan en WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

Los inhibidores de RAF adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como se divulgan en WO 00/09495 y WO 05/028444, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

Los inhibidores de FAK adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como se divulgan en WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 y WO 01/014402, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

En algunas modalidades, una o más de las formas de dosificación de la invención pueden utilizarse en combinación con uno o más inhibidores de quinasa distintos incluidos imatinib, particularmente para dirigirse a pacientes resistentes al imatinib u otros inhibidores de quinasa.

En algunas modalidades, una o más formas de dosificación de la invención pueden utilizarse en combinación con un quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer, tal como mieloma múltiple, y pueden mejorar la respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta al agente quimioterapéutico solo, sin la exacerbación de sus efectos tóxicos. Los ejemplos de agentes farmacéuticos adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple, por ejemplo, pueden incluir, de modo no taxativo, melfalán, melfalán más prednisona [MP], doxorubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen inhibidores de Bcr-Abl, Flt-3, RAF y quinasa FAK. Los efectos aditivos o sinérgicos son resultados deseables de la combinación de una forma de dosificación de la presente invención con un agente adicional. Además, la resistencia de las células del mieloma múltiple a agentes tales como dexametasona puede ser reversible tras el tratamiento con una forma de dosificación de la presente invención. Los agentes pueden combinarse con los compuestos de la presente en una forma de dosificación unitaria o continua, o los agentes pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

En algunas modalidades, un corticoesteroide tal como dexametasona se administra a un paciente en combinación con la forma de dosificación de la invención, donde la dexametasona se administra intermitentemente en oposición a continuamente.

En algunas modalidades adicionales, las combinaciones de uno o más inhibidores de JAK de la invención con otros agentes terapéuticos pueden administrarse a un paciente antes, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o trasplante de células madre.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es acetónido de fluocinolona (Retisert®) o rimexolona (AL-2178, Vexol, Alcon).

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es ciclosporina

(Restasis®).

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un corticoesteroide. En algunas modalidades, el corticoesteroide es triamcinolona, dexametasona, fluocinolona, cortisona, prednisolona o flumetolona.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se selecciona de Dehydrex™ (Holles Labs), Civamida (Opko), hialuronato de sodio (Vismed, Lantibio/TRB Chemedia), ciclosporina (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosterona, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), sodio de ecabet (Senju-Ista), gefarnato (Santen), ácido 15-(s)-hidroxieicosatetraenoico (15(S)-HETE), cevilemina, doxiciclina (ALTY-0501, Alacrity), minociclina, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), ciclosporina A (Nova22007, Novagali), oxitetraciclina (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-[6-[(3-yodofenil)metilamino]purin-9-il]-N-metil-oxolano-2-carbamilo, Can-Fite Biopharma), voclosporina (LX212 o LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (análogo de resolvina sintético, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazona (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Opthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritina (Senju), rebamipida (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (Universidad de Pensilvania y Universidad de Temple), pilocarpina, tacrolimus, pimecrolimus (AMS981, Novartis), loteprednol etabonato, rituximab, dicuafosol tetrasódico (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), deshidroepiandrosterona, anakinra, efalizumab, micofenolato sódico, etanercept (Embrel®), hidroxiclороquina, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), actemra, gemcitabina, oxaliplatino, L-asparaginasa o talidomida.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un agente antiangiόgeno, agonista colinérgico, modulador del receptor de TRP-1, bloqueador del canal de calcio, un secretagogo de mucina, estimulante de MUC1, un inhibidor de calcineurina, un corticoesteroide, un agonista del receptor de P2Y2, un agonista del receptor muscarínico, un inhibidor de mTOR, otro inhibidor de JAK, inhibidor de quinasa Bcr-Abl, inhibidor de quinasa Flt-3, inhibidor de quinasa RAF e inhibidor de quinasa FAK tales como, por ejemplo, aquellos descritos en WO 2006/056399, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un derivado de tetraciclina (por ejemplo, minociclina o doxiciclina). En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se une a FKBP12.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un agente alquilante o agente reticulante de ADN; un agente antimetabolito/desmetilante (por ejemplo, 5-fluorouracil, capecitabina o azacitidina); un terapia antihormonal (por ejemplo, antagonistas del receptor de hormona, SERM o inhibidor de aromotasa); un inhibidor mitótico (por ejemplo, vincristina o paclitaxel); un inhibidor de topoisomerasa (I o II) (por ejemplo, mitoxantrona y irinotecan); inductores apoptóticos (por ejemplo, ABT-737); una terapia con ácido nucleico (por ejemplo, no codificante o ARNi); ligandos de receptor nuclear (por ejemplo, agonistas y/o antagonistas: ácido todo-trans-retinoico o bexaroteno); agente de direccionamiento epigenético tales como inhibidores de histona desacetilasa (por ejemplo, vorinostat), agentes hipometilantes (por ejemplo, decitabina); reguladores de estabilidad proteica tales como inhibidores de Hsp90, ubiquitina y/o moléculas de conjugación o desconjugación similares a ubiquitina; o un inhibidor de EGFR (erlotinib).

En algunas modalidades, el/los agentes terapéuticos adicionales son gotas emolientes para los ojos (también conocidas como “lágrimas artificiales”), que incluyen, de modo no taxativo, composiciones que contienen alcohol polivinílico, hidroxipropil metilcelulosa, glicerina, polietilenglicol (por ejemplo, PEG400) o carboximetilcelulosa. Las lágrimas artificiales pueden ayudar en el tratamiento del ojo seco compensando la capacidad de humectación y lubricación reducida de la película lagrimal. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un fármaco mucolítico, tal como N-acetil-cisteína, que puede interactuar con las mucoproteínas y, por consiguiente, disminuir la viscosidad de la película lagrimal.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional incluye un antibiótico, antiviral, antimicótico, anestésico, agentes antiinflamatorios incluidos antiinflamatorios esteroides y no esteroides y agentes antialérgicos. Los ejemplos de medicamentos adecuados incluyen aminoglucósidos tales como antibiótico amikacina, gentamicina, tobramicina, estreptomina, netilmicina y kanamicina; fluoroquinolonas tales como ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina, lomefloxacina, levofloxacina y enoxacina; naftiridina; sulfonamidas; polimixina; cloranfenicol; neomicina; paramomicina; colistimetato; bacitracina; vancomicina; tetraciclinas; rifampina y sus derivados (“rifampinas”); cicloserina; beta-lactamas; cefalosporinas; amfotericinas; fluconazol; flucitosina; natamicina; miconazol; cetoconazol; corticosteroides; diclofenac; flurbiprofen; cetorolac; suprofen; cromolina; lodoxamida; levocabastina; nafazolina; antazolina;

feniramina; o azalida.

También se aprecia que determinadas características de la invención, que, con fines de claridad, se describen en el contexto de las modalidades, también se pueden proporcionar en combinación en una única modalidad (tal como si las modalidades de la memoria descriptiva estuvieran escritas como reivindicaciones dependientes múltiples).

Ejemplo 1. Preparación de formulaciones de liberación prolongada

Se prepararon comprimidos de liberación prolongada con los excipientes en las cantidades que se muestran en la tabla más adelante. Se utilizó el protocolo A para los comprimidos SR1, se utilizó el protocolo B para los comprimidos SR2, se utilizó el protocolo C para los comprimidos SR3 y los comprimidos SR de 25 mg y se utilizó el protocolo D para los comprimidos SR4.

Protocolo A:

Etapa 1. Tamizar individualmente la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la celulosa microcristalina, las hipromelosas (Methocel K100 LV y Methocel K4M) y el monohidrato de lactosa.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 a un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Transferir los gránulos de la Etapa 4 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 6. Tamizar los gránulos de la Etapa 5.

Etapa 7. Mezclar el estearato de magnesio tamizado con gránulos de la Etapa 6 en una mezcladora adecuada.

Etapa 8. Comprimir la mezcla final de la Etapa 7 en una prensa de

comprimidos rotatoria adecuada.

Protocolo B:

Etapa 1. Tamizar individualmente la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la celulosa microcristalina, la hipromelosa y el almidón pregelatinizado.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Transferir los gránulos de la Etapa 4 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 6. Tamizar los gránulos de la Etapa 5.

Etapa 7. Tamizar individualmente poliox, hidroxitolueno butilado y dióxido de silicona coloidal.

Etapa 8. Transferir los gránulos de la Etapa 6 y el material de la Etapa 7 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 9. Agregar estearato de magnesio tamizado al material de la Etapa 8 y continuar mezclando.

Etapa 10. Comprimir la mezcla final de la Etapa 9 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

Protocolo C:

Etapa 1. Tamizar individualmente monohidrato de lactosa, la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la celulosa microcristalina, las hipromelosas a través de un tamiz adecuado.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 a un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Tamizar los gránulos húmedos a través de un tamiz adecuado.

Etapa 6. Transferir los gránulos de la Etapa 5 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 7. Moler los gránulos de la Etapa 6.

Etapa 8. Mezclar el estearato de magnesio tamizado con gránulos de la Etapa 7 en una mezcladora adecuada.

Etapa 9. Comprimir la mezcla final de la Etapa 8 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

Protocolo D:

Etapa 1. Tamizar individualmente almidón pregelatinizado, la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la hipromelosa y una porción de celulosa microcristalina requerida a través de un tamiz adecuado.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 a un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Tamizar los gránulos húmedos a través de un tamiz adecuado.

Etapa 6. Transferir los gránulos de la Etapa 5 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

- Etapa 7. Moler los gránulos de la Etapa 6.
- Etapa 8. Tamizar la porción restante de celulosa microcristalina y mitad del bicarbonato de sodio.
- Etapa 9. Transferir los gránulos molidos de la Etapa 7 y los materiales tamizados de la Etapa 8 a una mezcladora adecuada y mezclar.
- Etapa 10. Tamizar la porción restante del bicarbonato de sodio y mezclar con la mezcla de la Etapa 9.
- Etapa 11. Tamizar el estearato de magnesio y mezclar con la mezcla de la Etapa 10.
- Etapa 12. Comprimir la mezcla final de la Etapa 11 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

SR1: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,42 ^a	21,1
Celulosa microcristalina	Carga	60,0	10,0
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Control de liberación	60,0	10,0
Hipromelosa (Methocel K4M)	Control de liberación	60,0	10,0
Monohidrato de lactosa	Carga	290,58	48,4
Estearato de			

- a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911
- b Agregado después de la granulación
- c Retirado durante el procesamiento

SR2: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Dióxido de silicona coloidal b	Deslizante	3,0	0,5
Hidroxitolueno butilado b	Antioxidante	0,012	0,002
Estearato de magnesio b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		600,0	100,0

- a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911
- b Agregado después de la granulación
- c Retirado durante el procesamiento

SR3 (100 mg): Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,4 ^a	21,1
Celulosa microcristalina	Carga	108,0	18,0
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Control de liberación	42,0	7,0
Hipromelosa (Methocel K4M)	Control de liberación	30,0	5,0
Monohidrato de lactosa	Carga	290,6	48,4
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada ^c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		600,0	100,0

a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911

b Agregado después de la granulación

c Retirado durante el procesamiento

SR4: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Excipiente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,4 ^a	21,1
Celulosa microcristalina d	Carga	104,6	17,4
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Control de liberación	210,0	35,0
Almidón pregelatinizado	Carga	60,0	10,0
Bicarbonato de sodio ^b	Auxiliar de flotación gástrica	96,0	16,0
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada ^c	Líquido de granulación	c.s.	--
Total		600,0	100,0

a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911

b Agregado después de la granulación

c Retirado durante el procesamiento

d Agregado parcialmente antes y agregado parcialmente después de la granulación

SR de 25mg: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 25 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	31,6 ^a	12,6
Celulosa microcristalina	Carga	105,0	42,0
Hipromelosa, (Methocel K100LV)	Control de liberación	25,0	10,0
Hipromelosa, (Methocel K4M)	Control de liberación	25,0	10,0
Monohidrato de lactosa	Carga	62,15	24,9
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	1,25	0,5
Agua purificada ^c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		250	100,0

a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911

b Agregado después de la granulación

c Retirado durante el procesamiento

Ejemplo 2. Preparación de la formulación IR del Compuesto de Fórmula I

La formulación IR utilizada en los estudios en el Ejemplo 3 se preparó como

cápsulas de 50 mg con la composición que se muestra en la tabla más adelante de acuerdo con el protocolo E a continuación.

Protocolo E:

Etapa 1. Premezclar la cantidad requerida de la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I y una cantidad aproximadamente igual de celulosa microcristalina silificada (SMCC, por sus siglas en inglés).

Etapa 2. Pasar la mezcla de la Etapa 1 a través de un tamiz adecuado (por ejemplo malla 40).

Etapa 3. Tamizar la SMCC restante a través del mismo tamiz utilizado en la Etapa 2.

Etapa 4. Mezclar la SMCC tamizada de la Etapa 3 junto con la mezcla de la Etapa 2 en una mezcladora adecuada (por ejemplo mezcladora Turbula) durante aproximadamente 5 minutos.

Etapa 5. Colocar la mezcla en cápsulas hasta el peso de carga deseado.

INGREDIENTE	PESO DE COMPOSICIÓN (%)	CANTIDAD POR UNIDAD (mg)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I	35,11	63,20*
Celulosa microcristalina silificada, NF (Prosolv SMCC HD 90)	64,89	116,80
TOTAL	100,00 %	180,00
Cápsulas No. 2, Gelatina dura, Blanco opaco	NA	1 cada uno

* Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I con un factor de conversión de sal de 0,7911

Ejemplo 3. Estudio de biodisponibilidad relativa de formas de dosificación de liberación prolongada

Participaron un total de 72 sujetos adultos sanos en 6 cohortes (12 sujetos por cohorte) y se seleccionaron de manera aleatoria para la secuencias de tratamiento dentro de cada cohorte de acuerdo con un programa de selección aleatoria. Todos los tratamientos fueron administraciones de única dosis del compuesto de Fórmula I. Hubo un período de reposo de 7 días entre los períodos de tratamiento.

Las formulaciones SR1, SR2, SR3 y SR4 se evaluaron en la Cohorte 1, Cohorte 2, Cohorte 3 y Cohorte 4, respectivamente (véase el Ejemplo 1 para los comprimidos SR1, SR2, SR3, SR4 y SR de 25 mg utilizados en el estudio). Los sujetos recibieron los tratamientos IR y SR de acuerdo con un diseño cruzado de 3 vías:

Tratamiento A: Administración por vía oral de 300 mg (6 × comprimidos de 50 mg) de formulación IR del compuesto de Fórmula I después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento B: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg) de formulación SR del compuesto de Fórmula I después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento C: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg) de formulación SR del compuesto de Fórmula I después de ingesta de alimento con alto contenido de grasas.

Los sujetos en la Cohorte 5 recibieron los siguientes tratamientos en un diseño cruzado de 2 vías:

Tratamiento A: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg del compuesto de Fórmula I) de SR3 después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento B: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg de compuesto de Fórmula I) de SR3 después de ingesta de alimento con contenido medio de grasas.

Los sujetos en la Cohorte 6 recibieron los siguientes tratamientos en un diseño cruzado de 3 vías:

Tratamiento A: Administración por vía oral de 50 mg (2 × comprimidos de 25 mg del compuesto de Fórmula I (comprimidos SR de 25 mg del Ejemplo 1)) después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento B: Administración por vía oral de 50 mg (2 × comprimidos de 25 mg del compuesto de Fórmula I (comprimidos SR de 25 mg del Ejemplo 1)) después de ingesta de alimento con alto contenido de grasas.

Tratamiento C: Administración por vía oral de 100 mg (1 × comprimidos de 100 mg) de SR3 después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Se recogieron muestras de sangre para la determinación de las concentraciones en plasma del compuesto de Fórmula I utilizando tubos con tapones de color lavanda (K2EDTA) Vacutainer® a 0, 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36 y 48 horas después de la dosis.

Las muestras de plasma se sometieron a ensayo mediante un método GLP, LC/MS/MS validado con un rango lineal de 5,0 a 5000 nM. La Tabla 1 resume la exactitud y precisión (% de CV) de las muestras de control de la calidad del ensayo durante el análisis de las muestras de plasma de este estudio.

Tabla 1: Exactitud y precisión de las muestras de control de calidad del ensayo de plasma

	----- CC Bajo			----- CC			----- CC		
	-----			Medio -----			Alto -----		
Anali to (Unid ad)	Teo	Exact itud	% CV	Teo	Exact itud	% CV	Teo	Exact itud	% CV
Compu esto de -	15,0	99,0 %	4,6 %	250	101 %	4,2 %	400 0	99,5 %	2,2 %

Para el análisis PK, se utilizaron los tiempos de recolección de muestras reales. Para cualquier muestra con un tiempo de recolección real faltante, se utilizó el tiempo programado siempre que no se notase una desviación del protocolo para la recolección de estas muestras.

Se utilizaron métodos PK no compartimentales convencionales para analizar los datos para la concentración en plasma del compuesto de Fórmula Phoenix WinNonlin versión 6.0 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). Por lo tanto, $C_{\text{máx}}$ y $T_{\text{máx}}$ se tomaron directamente de los datos de concentración en plasma observados. La constante de tasa de disposición de fase terminal (λ_z) se estimó utilizando una regresión lineal log de los datos de concentración en la fase de disposición terminal y se estimó $t_{1/2}$ como $\ln(2)/\lambda_z$. La AUC_{0-t} se estimó utilizando la regla trapezoidal lineal para concentraciones crecientes y la regla trapezoidal-log para concentraciones decrecientes, y se calculó la $AUC_{0-\infty}$ total como $AUC_{0-t} + C_t/\lambda_z$. El aclaramiento de la dosis oral (CL/F) se estimó como $\text{Dosis}/AUC_{0-\infty}$, y el volumen de distribución de la fase terminal (V_z/F) se estimó como $\text{Dosis}/[AUC_{0-\infty} * \lambda_z]$.

La $C_{\text{máx}}$ transformada por log y los valores de AUC (después de la normalización de dosis, cuando las dosis eran diferentes) se compararon entre los tratamientos de dosificación en ayuno y con alimentación, y entre los tratamientos de dosificación SR y IR, utilizando un ANOVA cruzado (factor fijo = tratamiento, secuencia y período, efecto aleatorio = sujeto (secuencia)). Se determinaron las relaciones medias geométricas ajustadas de $C_{\text{máx}}$ y AUC entre los tratamientos (referencia = IR o administración en ayuno de SR) y los correspondientes intervalos de confianza del 90 % (IC). Además, se exploraron la correlación entre el efecto observado de la alimentación con un alimento con alto contenido de grasas en la $AUC_{0-\infty}$ y la biodisponibilidad relativa de las formulaciones SR (en referencia a la cápsula IR) mediante un diagrama cuantil utilizando los datos de todos los sujetos que completaron el Tratamiento A, B y C en las Cohortes 1 a 4. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando Phoenix WinNonlin versión 6.0.

La FIGURA 1 presenta las concentraciones en plasma del compuesto de Fórmula I (media $\pm$ SE) para los sujetos en las Cohortes 1 a 4 luego del Tratamiento A (administración IR de 300 mg en estado de ayuno), Tratamiento B (administración SR de 300 mg en estado de ayuno) y Tratamiento C (administración SR de 300 mg con ingesta de alimento con alto contenido de grasas). La FIGURA 2 compara el efecto de un alimento con alto contenido de grasas y un alimento con contenido medio de grasas en el perfil PK medio luego de la administración de una única dosis de 300 mg (3×100 mg) del compuesto de Fórmula I en comprimidos SR3. La FIGURA 3 presenta las concentraciones en plasma del compuesto de Fórmula I (media $\pm$ SE) para los sujetos en la Cohorte 6 luego del Tratamiento A

(administración de comprimido SR 2 × de 25 mg en estado de ayuno), Tratamiento B (administración de comprimido SR 2 × de 25 mg con ingesta de un alimento con alto contenido de grasas) y Tratamiento C (administración de 1 × 100 mg SR3 en estado de ayuno).

Las Tablas 2A, 2B, 3A, y 3B resumen los parámetros PK medios para sujetos en las Cohortes 1 a 4, la biodisponibilidad relativa (referencia = cápsula IR) y el efecto del alimento (alto contenido de grasas) para los comprimidos SR1-SR4 con potencia de 100 mg. Las Tablas 4A y 4B resumen los parámetros PK medios para sujetos en la Cohorte 5 y el efecto del alimento (contenido medio de grasas) para el comprimido SR3 con potencia de 100 mg. Las Tablas 5A y 5B resumen los parámetros PK medios para sujetos en la Cohorte 6, la biodisponibilidad relativa de la dosis normalizada (referencia = comprimido SR3 de 100 mg) y el efecto del alimento (alto contenido de grasas) para el comprimido SR de 25 mg.

Tabla 2A

Cohorte/Tratamiento	n	C _{máx} (µM)	T _{máx} (h)	C _{máx} /C _{12h}	t _½ (h)
Cohorte 1					
300 mg IR (en ayuno)	12	2,29 ±	1,0	197 ±	2,0 ±
		0,50	(0,50-	147	0,27
		2,24	2,0)	159	2,0
300 mg SR1 (en ayuno)	12	0,341	1,3	13,2 ±	9,2 ±
		± 0,13	(0,50-	7,8	4,5
		0,317	3,0)	11,6	8,3
300 mg SR1 (alimento con alto contenido de grasas)	12	0,610	4,0	18,0 ±	3,2 ±
		± 0,14	(2,0-	6,4	1,4
		0,595	8,0)	16,8	3,0
Cohorte 2					
300 mg IR (en ayuno)	12	2,05 ±	1,0	130 ±	2,1 ±
		0,67	(0,50-	72,9	0,34
		1,92	3,0)	112	2,1
300 mg SR4 (alimento con alto contenido de grasas)	12	0,549 ±	4,0	12,8 ±	4,9 ±
		0,28	(2,0-	14,8	2,6
		0,481	16)	6,06	4,4

Cohorte/Tratamiento	AUC _{0-t} (µM*h)	AUC _{0-∞} (µM*h)	CL/F (L/h)
Cohorte 1			
300 mg IR	4,43 ± 1,00	4,45 ± 1,00	127 ± 27,1
(en ayuno)	4,33	4,35	124
300 mg SR1	1,55 ± 0,54	1,65 ± 0,54	359 ± 106
(en ayuno)	1,47	1,57	345
300 mg SR1			
(alimento con alto	2,88 ± 0,65	2,91 ± 0,65	194 ± 39,9
contenido de	2,82	2,85	190
grasas)			
Cohorte 2			
300 mg IR	4,45 ± 1,36	4,47 ± 1,36	134 ± 50,1
(en ayuno)	4,24	4,27	127
300 mg SR2	1,00 ± 037	1,17 ± 0,43	510 ± 148
(en ayuno)	0,95	1,11	488

Tabla 3A

Cohorte/Tratamiento	C _{máx} (µM)	T _{máx} (h)	C _{máx} / C _{12h}	t _{1/2} (h)
SR1 en ayuno vs IR	14,2 %			
	(11,4 %-17,5 %)			
SR1 alimentado vs	188 %			
en ayuno	(152 %-232 %)			
SR2 en ayuno vs IR	8,9 %			
	(6,7 %-11,9 %)			
SR2 alimentado vs	258 %			
en ayuno				por

Tabla 3B

300 mg SR2 (en ayuno)	12	0,191 ± 0,10 0,172	2,5 (1,0- 4,0)	11,4 ± 9,9 8,60	11 ± 8,4 9,23
300 mg SR2 (alimento con alto contenido de grasas)	12	0,470 ± 0,16 0,443	6,0 (1,5- 6,0)	11,0 ± 4,0 10,4	3,5 ±2,6 3,0
Cohorte 3					
300 mg IR (en ayuno)	11	2,35 ± 0,41 2,31	1,0 (0,50- 2,0)	136 ± 70,8 120	2,2 ± 0,53 2,2
300 mg SR3 (en ayuno)	11	0,553 ± 0,24 0,502	1,5 (0,50- 3,0)	22,9 ± 13,4 19,3	9,8 ± 8,5 7,2
300 mg SR3 (alimento con alto contenido de grasas)	12	1,05 ± 0,47 0,968	4,0 (1,5- 8,0)	34,9 ± 15,8 30,8	3,3 ± 1,2 3,1
Cohorte 4					
300 mg IR (en ayuno)	12	2,94 ± 0,98 2,78	1,0 (0,25- 1,5)	170 ± 58,6 162	2,1 ± 0,58 2,1
300 mg SR4 (en ayuno)	12	0,321 ± 0,27 0,249	2,0 (1,5- 8,1)	10,3 ± 6,0 8,92	7,3 ± 5,3 6,0
Cohorte/Tratamiento		AUC _{0-t} (µM*h)		AUC _{0-∞} (µM*h)	CL/F (L/h)
Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %					

SR3 alimentado vs en	151 %	145 %
ayuno	(132 %-173 %)	(128 %-164 %)
SR4 en ayuno vs IR	26,9 %	28,5 %
	(21,6 %-33,4 %)	(23,2 %-35,1 %)
SR4 alimentado vs en	213 %	215 %
ayuno	(171 %-264 %)	(172 %-268 %)

Los valores del parámetro PK son media ± SD y media geométrica excepto por T_{máx}, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 4A

Cohorte/Tratamiento	n	C _{máx} (µM)	T _{máx} (h)	C _{máx} /C _{12h}	t _½ (h)
300 mg SR2 (alimento con alto contenido de grasas)		2,48 ± 0,70 2,38	2,52 ± 0,72 2,42	235 ± 83,5	224
Cohorte 3					
300 mg IR (en ayuno)		5,00 ± 1,33 4,83	5,03 ± 1,34 4,87	115 ± 32,4	111
300 mg SR3 (en ayuno)		2,28 ± 0,71 2,17	2,39 ± 0,70 2,29	248 ± 82,8	236
300 mg SR3 (alimento con alto contenido de grasas)		3,55 ± 1,13 3,40	3,59 ± 1,13 3,44	165 ± 50,2	158
Cohorte 4					
300 mg IR (en ayuno)		5,23 ± 2,16 4,88	5,25 ± 2,15 4,90	117 ± 39,8	111
300 mg SR4 (en ayuno)		1,61 ± 1,23 1,31	1,70 ± 1,25 1,40	456 ± 259	387
300 mg SR4 (alimento con alto contenido de grasas)		3,00 ± 1,17 2,78	3,13 ± 1,20 2,92	200 ± 80,0	186

Cohorte/Tratamiento	AUC _{0-t} (µM*h)	AUC _{0-∞} (µM*h)	CL/F (L/h)
---------------------	------------------------------	------------------------------	---------------

Los valores del parámetro PK son media $\pm$ SD y media geométrica excepto por $T_{m\acute{a}x}$, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 5A

2 × 25 mg SR3 vs	58,7 % ¹⁾
1 × 100 mg SR3	(46,9 %-73,5
(en ayuno)	%)

NC= no se calculó debido a números significativos de T_{last} mal emparejados dentro de los sujetos entre tratamientos; NR= No se informó debido a que los números significativos de valores C_{12h} fueron BQL. Los valores del parámetro PK son media $\pm$ SD y media geométrica excepto por T_{max} , donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

ⁱ⁾La comparación estadística se normalizó según la dosis significativos de valores C_{12h} fueron BQL. Los valores del parámetro PK son media $\pm$ SD y media geométrica excepto por T_{max} , donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Cohorte/Trat	AUC _{0-t}	AUC _{0-∞}	CL/F
amiento	(nM*h)	(nM*h)	(L/h)

Cohorte/Tratam	n	C _{max} (nM)	T _{max} (h)	C _{max} /C ₁₂ h	t _{1/2} (h)
----------------	---	--------------------------	-------------------------	--	-------------------------

Cohorte 6					
2 × 25 mg SR3	12	55,1 ±	1,3		4,0 ±
(en ayuno)		30,3	(0,50-	NR	2,6
		48,0	4,0)		3,4
2 × 25 mg SR3		80,3 ±	3,0		2,2 ±
(alimento con		27,3	(1,5-	NR	0,4
alto contenido		76,7	6,0)		2,2
de grasas)		174 ±	1,8		3,0 ±
1 × 100 mg SR3	11	69,5	(0,50-	NR	1,3
(en ayuno)		161	4,0)		2,7

Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %

2 × 25 mg SR3 160 %

alimentado (129 %-199

vs en ayuno %)

Tabla 5B

NC= no se calculó debido a números significativos de T_{last} mal emparejados dentro de los sujetos entre tratamientos; NR= No se informó debido a que los números

ⁱ⁾La comparación estadística se normalizó según la dosis s mismos sujetos. Las relaciones medias geométricas porcentuales (IC de 90 %) de $C_{m\acute{a}x}$ fueron 14,2 % (11,4 %-17,5 %), 8,9 % (6,7 %-11,9 %), 22,3 % (17,4 %-28,6 %) y 9,0 % (6,8 %-11,9 %) para SR1, SR2, SR3 y SR4, respectivamente. Las relaciones medias geométricas porcentuales (IC de 90 %) de $AUC_{0-\infty}$ fueron 36,1 % (33,3 %-39,2 %), 26,0 % (21,6 %-31,3 %), 47,5 % (41,9 %-53,9 %) y 28,5 % (23,2 %-35,1 %) para SR1, SR2, SR3 y SR4, respectivamente. SR3 y SR1 demostraron la mejor y la segunda mejor biodisponibilidad relativa, respectivamente, entre las formulaciones SR evaluadas.

Los perfiles PK medios luego de la administración en ayuno de una única dosis de cápsulas IR de 300 mg fueron similares entre los sujetos en las Cohortes 1 a 4 (FIGURA 1). En comparación con la formulación IR, luego de la administración en ayuno de una única dosis de las formulaciones SR1-SR4 (3 × comprimidos de 100 mg), los valores de $T_{m\acute{a}x}$ medios en plasma observados fueron moderadamente prolongados (de 0,3 a 1,5 horas) con valores de $C_{m\acute{a}x}$ media considerablemente reducidos (los límites superiores del IC de 90 % para las relaciones de $C_{m\acute{a}x}$ media geométricas fueron < 30 %), lo cual sugiere una tasa de absorción reducida del compuesto de Fórmula I para los comprimidos SR. El $t_{1/2}$ de disposición aparente medio observado en la fase terminal fue considerablemente más prolongado, oscilando de 7,3 a 11 horas para SR1-SR4, en comparación con alrededor de 2 horas para la cápsula IR, lo cual indica que la eliminación sistémica del compuesto de Fórmula I fue probablemente limitada por la tasa de su absorción, que fue prolongada en la fase de disposición terminal. Como resultado de la $C_{m\acute{a}x}$ más baja y un $t_{1/2}$ de disposición más prolongado, las relaciones $C_{m\acute{a}x}/C_{12h}$ fueron considerablemente más bajas para los comprimidos SR en comparación con la cápsula IR para los mismos sujetos estudiados. Las relaciones $C_{m\acute{a}x}/C_{12h}$ medias geométricas fueron 11,6, 8,6, 19,3 y 8,9 veces, respectivamente, para los comprimidos SR1, SR2, SR3 y SR4, en comparación con 112 a 162 veces para

las cápsulas IR administradas en estado de ayuno.

Para la administración en estado de ayuno, los 4 comprimidos SR exhibieron biodisponibilidad relativa reducida en comparación con la cápsula IR dosificada a

2 × 25 mg			
SR3			
(alimento	333 ±	376 ±	253 ±
con alto	104	94,6	57.7
contenido de	319	366	247

En la dosificación en estado de ayuno, la variabilidad intersujeto tal como se midió por el porcentaje de coeficiente de variabilidad (% de CV) en la exposición al plasma fue considerablemente más alta para la formulación de gastrorretención SR4, pero comparable entre los 3 comprimidos SR convencionales diseñados para liberación intestinal. El %CV intersujeto para el comprimido SR1 de 100 mg fue de 39 % y 33 % para $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. El % de CV intersujeto para el comprimido SR2 de 100 mg fue de 50 % y 37 % para $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. El % de CV intersujeto para el comprimido SR3 de 100 mg fue de 43 % y 29 % para $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. El % de CV intersujeto para el comprimido SR4 de 100 mg fue de 83 % y 73 % para $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. Al agrupar a todos los sujetos en las Cohortes 1-5 (n = 59) a los que se administraron 300 mg IR en estado de ayuno, el % de CV intersujeto fue de 49 % y 39 % para $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente, comparables con los valores de % de CV observados para SR1, SR2 y SR3.

Se observó un efecto de la alimentación positivo para todas las formulaciones SR estudiadas en el nivel de dosis de 300 mg (3 × 100 mg). Con la administración después de la ingesta de un alimento con alto contenido de grasas, los valores medios geométricos de $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$ aumentaron en 88 % y 81 %, respectivamente, para SR1; en 158 % y 118 %, respectivamente; para SR2; en 91 % y 45 %; respectivamente; para SR3; y en 93 % y 115 %; respectivamente; para SR4. El efecto de la alimentación fue moderado para un alimento con contenido medio de grasas en comparación con un alimento con alto contenido de grasas, tal como lo sugieren los datos para SR3 en la Cohorte 5. Para SR3, los valores de $C_{m\acute{a}x}$ y $AUC_{0-\infty}$ aumentaron en 46 % y 17 %, respectivamente, cuando se administró luego de una alimentación estandarizada con contenido medio de grasas. La administración con alimentos no cambió considerablemente el % de CV intersujeto en la exposición del plasma al compuesto de Fórmula I para SR1, SR2

y SR3, que son formulaciones SR diseñadas para liberación intrainestinal. Para SR4, que es una formulación SR de gastrorretención, el %CV intersujeto en las exposiciones al plasma pareció reducirse considerablemente con una alimentación con alto contenido de grasas concomitante.

Este estudio también exploró la biodisponibilidad relativa normalizada por dosis del comprimido SR de 25 mg en referencia al comprimido SR3 de 100 mg. Para los sujetos de la Cohorte 6, la relación media geométrica porcentual normalizada por dosis de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$ para el tratamiento con $2 \times$ SR3 de 25 mg fue de 59 % y 66 %, respectivamente, con respecto a la administración de $1 \times$ SR3 de 100 mg en estado en ayuno. Sin embargo, debido a la relación de exposición a dosis supralineal para el compuesto de Fórmula I, la biodisponibilidad relativa del comprimido SR de 25 mg puede ser subestimada. Para la dosis de $2 \times$ SR de 25 mg, un alimento con alto contenido de grasas aumento los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$ del compuesto de Fórmula I en 60 % y 58 %, respectivamente.

Para las cuatro formulaciones SR evaluadas, el $t_{1/2}$ de disposición aparente observado fue comparable, y las relaciones $C_{\text{máx}}/C_{12h}$ de una administración de única dosis en ayuno (que se usa como un sustitutivo para la relación P/T de la administración dos veces al día) fueron similares entre SR1, SR2 y SR4 (~10 veces) y moderadamente más altas para SR3 (~20 veces). En general, las 4 formulaciones SR demostraron un perfil PK considerablemente más plano en comparación con la cápsula IR, alcanzando un objetivo importante para la liberación prolongada. La biodisponibilidad de los productos farmacológicos administrados por vía oral puede definirse como la tasa y medida de la absorción del fármaco en la circulación sistémica. Una reducción en la tasa de absorción del fármaco al limitar la tasa de liberación del fármaco de los productos farmacológicos es un requisito de diseño en las formulaciones de liberación prolongada. Por lo tanto, para las formulaciones SR, la medida de la absorción del compuesto de Fórmula I tal como se mide por la $AUC_{0-\infty}$ en plasma, se utiliza como criterio de valoración primario para evaluar la biodisponibilidad relativa. Por consiguiente, la biodisponibilidad relativa media es similar entre SR2 (26 %) y SR4 (29 %), la cual fue ligeramente más baja que la de SR1 (36 %). La mejor biodisponibilidad relativa se observó para SR3 (48 %). Los resultados concuerdan con los perfiles de disolución *in vitro* obtenidos antes de llevar a cabo este estudio. Hubo una correlación inversa aparente entre el efecto de la alimentación y la biodisponibilidad relativa para las formulaciones SR. En promedio, dosificado con un alimento con alto contenido de grasas, el efecto de la alimentación medido por

el aumento en la $AUC_{0-\infty}$ fue mayor para SR2 (118 %) y SR4 (115 %), el cual fue más bajo que para SR1 (81 %). El efecto de la alimentación más bajo se observó para SR3 (45 %). Esta correlación también fue aparente cuando se agruparon los datos de todos los sujetos. Un diagrama cuantil utilizando los datos individuales agrupados (divididos en 5 grupos con 9 sujetos por grupo) sugiere que el efecto de la alimentación fue más significativo (aumento de > 2 veces en AUC) para los sujetos con biodisponibilidad relativa menos que 35 %, independientemente de la formulación. El efecto de la alimentación fue moderado (~ 50 % o un aumento menor en AUC) para los sujetos con biodisponibilidad relativa mayor que 40 %, independientemente de la formulación. SR3 proporcionó una biodisponibilidad relativa media de 48 % y probablemente se asocia con un efecto de la alimentación moderado. De hecho, cuando se dosificó el comprimido SR3 (3×100 mg) con un alimento con contenido medio de grasas (que es una dieta diaria más típica), el aumento observado en la $AUC_{0-\infty}$ geométrica media fue de solo 17 %, lo cual sugiere que esta formulación puede administrarse independientemente de los alimentos con contenido medio o bajo de grasas. Desde la perspectiva de evitar un efecto de la alimentación significativo, SR3 es superior a las otras formulaciones.

Ejemplo 4. Resultados clínicos en Fase 2a en pacientes con artritis reumatoide activa (RA)

Una parte inicial de 28 días del estudio se llevó a cabo a efectos de seleccionar las dosis que continuaban, guiando la selección de dosis para la segunda parte del estudio de 3 meses. La Parte 2 del estudio fue se realizó de manera aleatoria, doble ciego, controlada con placebo (patrocinador abierto) con tratamiento durante 84 días. Sesenta sujetos para seleccionar de manera aleatoria, utilizando la misma población que en la Parte 1: cohorte única, cinco grupos de tratamiento paralelos, 12 sujetos en cada uno: comprimidos SR3 de 100 mg BID; 300 mg ($3 \times$ comprimidos SR3 de 100 mg) QD; 200 mg ($2 \times$ comprimidos SR3 de 100 mg) BID; 600 mg ($6 \times$ comprimidos SR3 de 100 mg) QD; y placebo. Se enviaron los datos intermedios al ACR (American College of Rheumatology) 2013 ($n=40$ sujetos que completaron hasta el día 84). Los puntajes de ACR a los 3 meses se muestran en la Tabla 6. Las puntuaciones ACR para los 600 mg QD no tienen precedentes en comparación con otros inhibidores de JAK que se aprueban para tratamiento de RA. Por ejemplo, el producto aprobado para citrato de tofacitinib (5 mg BID) mostró puntuaciones ACR mucho más bajas a los 3 meses: 59 % (ACR20), 31 % (ACR50), y 15 % (ACR70) (Tabla 5 de XELJANZ® - comprimido de citrato de

tofacitinib – etiqueta).

Tabla 6

	Placebo	100 mg BID	300 mg QD	200 mg BID	600 mg QD
ACR20	38	50	44	50	100
ACR50	25	38	44	38	71
ACR70	13	25	22	13	57

también se estudió para cada uno de los regímenes de dosificación (FIGURA 4). Tal como puede observarse en la FIGURA 4, la dosis de 200 mg BID exhibió una caída con respecto al valor de referencia en comparación con las otras dosis que tendieron a permanecer próximas a los niveles del placebo. Por ejemplo, la dosis de 600 mg QD no exhibió la misma tendencia hacia abajo que exhibió la dosis BID. Sin embargo, tal como puede observarse en la Tabla 6, la dosificación diaria (600 mg QD) no comprometió la eficacia en comparación con las dosis BID. Esto indica que la dosificación diaria (tal como 600 mg QD) puede alcanzar una eficacia máxima sin inducir efectos secundarios tales como anemia. Como se muestra en la FIGURA 4 y la Tabla 6, la dosis de 600 mg QD tiene una eficacia sólida con cambios insignificantes en los niveles de hemoglobina.

Se cree que este perfil de eficacia/efecto secundario puede deberse a que la dosis QD alcanza la señalización de JAK1 máxima (relacionada con la eficacia) con baja inhibición de JAK2 en el punto mínimo, ya que la señalización de JAK2 está relacionada con la hematopoyesis. Esta hipótesis se respalda por la PK derivada de los datos de inhibición de JAK1 (IL-6) y JAK2 (TPO) para el compuesto de Fórmula en varias dosis (Tabla 7). En particular, la dosis de 600 mg QD exhibió una inhibición promedio de IL-6 similar a la de las dosis de 200 mg BID y 400 mg BID (61 % contra 64 % y 69 %), pero más baja para la inhibición en el punto mínimo de TPO en comparación con la de las dosis de 200 mg BID y 400 mg BID (4 % contra 13 % y 16 %). La inhibición en el punto mínimo de IL-6 para la dosis de 600 mg QD también es más baja que la inhibición en el punto mínimo de IL-6 para las dosis de 200 mg BID y 400 mg BID, lo cual sugiere que puede hacer una reducción en la infección a partir de la dosis QD.

Régimen de dosis	Inhibición de IL-6 promedio	Inhibición de IL-6 en el punto	Inhibición de TPO promedio	Inhibición de TPO en el punto
---------------------	-----------------------------------	--------------------------------------	----------------------------------	-------------------------------------

Ejemplo 5. Resultados clínicos en pacientes con psoriasis en placas

Se llevó a cabo un estudio doble ciego (patrocinador abierto), de manera aleatoria, controlado por placebo en alrededor de 48 sujetos tratados durante 28 días. Los requisitos para la participación incluían: psoriasis en placas activa durante al menos 6 meses en la selección; área superficial del cuerpo (BSA, por sus siglas en inglés) de psoriasis en placas de $\geq 5\%$; puntaje de área e índice de gravedad de psoriasis (PASI, por sus siglas en inglés) de ≥ 5 ; puntaje de evaluación global de médico estática (sPGA, por sus siglas en inglés) de ≥ 3 ; respuesta inadecuada a terapias tópicas; diseño innovador permitiendo un avance rápido entre dosis, con evaluación de seguridad conservadora. Cuatro grupos de dosis escalonada con 12 sujetos cada uno (9 activos y 3 PBO) avanzaron de 100 mg QD a 200 mg QD a 200 mg BID a 600 mg QD. Una vez que el 4to sujeto (bloque de 3 activos 1 PBO) completó 28 días de administración sin un Grado 3 o mayor de AE, el siguiente grupo de 12 sujetos inició el tratamiento con la siguiente dosis más alta; mientras los primeros 4 sujetos de este grupo se trataban durante 28 días, el 1.º grupo se cargaba. Se seleccionaron 60 sujetos de manera aleatoria con psoriasis moderada a grave. Hubo cinco grupos de tratamiento: placebo, 100 mg QD, 200 mg QD, 200 mg BID y 600 mg QD. Se utilizó un método secuencial de selección, aumentado desde la dosis más baja hasta la más alta, cada una después de completar los 28 días para los primeros cuatro sujetos en la dosis previa. Los resultados a los 28 días se muestran en la Tabla 8 (PASI 50 es Área e Índice de Gravedad de Psoriasis). Esta puntuación de PASI 50 de 81,8 % para la dosis de 600 mg QD no tiene precedentes en comparación con otros inhibidores de JAK que están en desarrollo para el tratamiento de psoriasis. Por ejemplo, 5 mg de tofacitinib (también denominado tasocitinib) mostró una puntuación de PASI 50 más baja de 65,3 % a las 12 semanas (publicado en <http://press.pfizer.com> el 10/7/2010). La dosis de 5 mg de tofacitinib es el nivel de dosis aprobado para RA por razones de seguridad en Estados Unidos.

Tabla 8

	Placebo	100 mg BID	200 mg QD	200 mg BID	600 mg QD
% de cambio medio de sPGA	-12,5 %	-22,2 %	-29,4 %	-35,2 %	-42,4 %
% de sPGA (ausente o mínimo)	0	11,1 %	22,2 %	33,3 %	45,5 %
% de PASI 50	8,3 %	22,2 %	66,7 %	44,4 %	81,8 %

Ejemplo 6. Estudio de fase II abierto en pacientes con mielofibrosis

En este estudio, se inscribieron pacientes con ≥ 18 años de edad, un diagnóstico de mielofibrosis primaria (PMF) o MF post policitemia vera o MF post trombocitemia esencial (estado de mutación positivo o negativo para JAK2V617F), conteo de plaquetas $\geq 50 \times 10^9/L$, niveles de hemoglobina $\geq 8,0$ g/dL (se permitían transfusiones para alcanzar estos niveles), criterio por DIPSS intermedio 1 o mayor, y bazo palpable o esplenectomía previa. Se evaluaron tres diferentes cohortes de dosis: (1) 100 mg de comprimidos de SR3 BID) (2) 200 mg (2 x 100 mg de comprimidos SR3) BID; y (3) 600 mg (6 x 100 mg de comprimidos SR3) QD. Las FIGURA 5(a)-(b) muestran resultados provisionales con respecto a la proporción de sujetos con ≥ 50 % de reducción en la puntuación total de los síntomas (TSS) en cada grupo de dosis por el diario electrónico modificado de Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF) v3.0 a la semana 12 en comparación con el valor de referencia (MFSAF v3.0 modificado comprende 19 preguntas que evalúan los síntomas relacionados con MF en una escala de 0 (ausente) a 10 (peor imaginable)). La FIGURA 5(a) ilustra el porcentaje de pacientes con una reducción de ≥ 50 % de reducción en TSS en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) (se consideró que los pacientes que suspendieron antes de la visita de la semana 12 no respondían). La FIGURA 5(b) ilustra el cambio porcentual en TSS respecto del valor de referencia en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) (se incluyeron solo los pacientes con datos de valor de referencia y semana 12). La FIGURA 6(a) ilustra los niveles de hemoglobina medios (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) (resultados provisionales del estudio para todos los pacientes). La FIGURA 6(b) ilustra niveles

de hemoglobina medio (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) a las 48 semanas. La FIGURA 6(c) ilustra niveles de hemoglobina medios (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis a las 48 semanas como un promedio para tres cohortes de dosis en comparación con individuos a los que se les dosificó placebo o ruxolitinib (ruxolitinib se dosificó de acuerdo con la etiqueta para Jakafi®). Los datos muestran un aumento en los niveles de hemoglobina para la dosis de 600 mg QD. Por último, la Tabla 9 a continuación muestra los resultados de laboratorio provisionales (nuevos y que empeoran) para cada cohorte de dosis. La Tabla 9a muestra los resultados de laboratorio para la hematología (nuevos y que empeoran) para cada cohorte de dosis después de exposición prolongada.

Tabla 9

Evento n/N %	100 mg BID	200 mg BID	600 mg QD
Días de exposición, medio (intervalo)	102,5 (23,0, 376,0)	169,0 (22,0, 339,0)	16,0 (1,0, 196,0)
Anemia, Grado 3	3/9 (33,3)	12/42 (28,6)	2/29 (6,9)
Trombocitopenia			
Grado 3	4/9 (44,4)	12/44 (27,3)	1/29 (3,4)
Grado 4	0/9 (0)	2/45 (4,4)	0/29 (0)

Evento n/N %	100 mg BID (N=10)	200 mg BID (N=45)	600 mg QD (N=32)
Días de exposición, promedio (intervalo)	102,0 (23.519)	254,0 (22,.535)	192,0 (28.343)
Anemia, Grado 3	3/10 (30.,0)	19/45 (42,2)	8/32 (25,0)
Trombocitopenia			
Grado 3	4/10 (40,0)	13/45 (28,9)	4/32 (12,5)
Grado 4	0/10 (0,0)	3/45 (6,7)	1/32 (3,1)

Ejemplo A: Ensayo de quinasas JAK *in vitro*

El compuesto de Fórmula I en la presente se evaluó para determinar la actividad inhibidora de los objetivos JAK de acuerdo con el siguiente ensayo *in vitro* tal como se describe en Park et ál., *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. Se expresaron los dominios catalíticos de JAK1 (a.a. 837-1142) y JAK2 humanas (a.a. 828-1132) con una etiqueta His en extremo N utilizando baculovirus en células de insectos y se purificaron. La actividad catalítica de JAK1 y JAK2 se evaluó midiendo la fosforilación de un péptido biotinilado. El péptido fosforilado se detectó mediante fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTRF, por sus siglas en inglés). Se midió la Cl₅₀ de los compuestos para cada quinasas en las reacciones de 40 microL que contenían la enzima, ATP y 500 nM de péptido en 50 mM de solución amortiguadora Tris (pH 7,8) con 100 mM de NaCl, 5 mM de DTT y 0,1 mg/mL (0,01 %) de BSA. Para las mediciones de Cl₅₀ de 1 mM, la concentración de ATP en las reacciones fue de 1 mM. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 1 hr y luego se detuvieron con 20 µL 45 mM de EDTA, 300 nM de SA-APC, 6 nM de Eu-Py20 en solución amortiguadora de ensayo (Perkin Elmer, Boston, MA). La unión del anticuerpo etiquetado con Europium se llevó a cabo durante 40 minutos y la señal de HTRF se midió en un lector de placas Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). El compuesto de Fórmula I y la sal de ácido adípico exhibieron una Cl₅₀ a JAK1 de ≤ 5 nM (medida en 1 mM de ATP) con una relación JAK2/JAK1 de > 10 (medida a 1 mM de ATP).

Ejemplo B: Ensayos celulares

Las líneas celulares de cáncer dependientes de citocinas y por consiguiente de la transducción de la señal JAK/STAT, para crecimiento, pueden colocarse en placas a 6000 células por pocillo (formato de placa de 96 pocillos) en RPMI 1640, 10 % de FBS y 1 nG/mL de la citocina apropiada. Los compuestos pueden agregarse a las células en DMSO/medios (concentración final 0,2 % de DMSO) e incubarse durante 72 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. El efecto del compuesto sobre la viabilidad de las células se evalúa utilizando el ensayo CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega) y posteriormente mediante cuantificación TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA). Los efectos inespecíficos potenciales de los compuestos se miden en paralelo utilizando una línea celular no desencadenada por JAK con la misma lectura del ensayo. Todos los experimentos se llevan a cabo típicamente por duplicado.

Las líneas celulares mencionadas anteriormente también pueden utilizarse para examinar los efectos de los compuestos sobre la fosforilación de las quinasas JAK o potenciales sustratos posteriores tales como proteínas STAT, Akt, Shp2 o Erk. Estos experimentos pueden llevarse a cabo luego de una privación de citocina durante toda la noche, con posterior incubación breve con el compuesto (2 horas o menos) y estimulación de la citocina de alrededor de 1 hora o menos. A continuación, las proteínas se extraen de las células y se analizan mediante técnicas conocidas para los expertos en la técnica que incluyen transferencia Western o ELISA utilizando anticuerpos que pueden diferenciar entre proteína fosforilada y total. Estos experimentos pueden utilizar células normales o cancerígenas para investigar la actividad de los compuestos en la biología de supervivencia de las células tumorales o en mediadores de la enfermedad inflamatoria. Por ejemplo, independientemente de lo expresado anteriormente, las citocinas tales como IL-6, IL-12, IL-23 o IFN pueden utilizarse para estimular la activación de JAK resultando en la fosforilación de la proteína(s) STAT y potencialmente los perfiles de transcripción (evaluados mediante tecnología de matriz o qPCR) o la producción y/o secreción de proteínas, tal como IL-17. La capacidad de los compuestos para inhibir estos efectos mediados por citocina pueden medirse utilizando técnicas comunes para los expertos en la técnica.

Los compuestos en la presente también pueden evaluarse en modelos celulares diseñados para evaluar su potencia y actividad contra las JAK mutantes, por ejemplo, la mutación JAK2V617F encontrada en los trastornos mieloproliferativos. Estos experimentos a menudo utilizan células dependientes de citocina de linaje hematológico (por ejemplo, BaF/3) en las cuales las quinasas JAK naturales o

mutantes se expresa ectópicamente (James, C., et ál. *Nature* 434:1144-1148; Staerk, J., et ál. *JBC* 280:41893-41899). Los criterios de valoración incluyen los efectos de los compuestos en la supervivencia celular, proliferación y proteínas JAK, STAT, Akt o Erk fosforiladas.

Determinados compuestos en la presente pueden evaluarse para determinar su actividad en la inhibición de la proliferación de células T. Dicho ensayo puede considerarse como un segundo ensayo de proliferación desencadenada por citocina (es decir, JAK) y también como un ensayo simple de supresión inmunitaria o inhibición de la activación inmunitaria. A continuación sigue una breve descripción de cómo se pueden llevar a cabo dichos e. Se preparan células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) a partir de muestras de sangre completa humana utilizando el método de separación Ficoll Hypaque y se pueden obtener las células T (fracción 2000) de las PBMC mediante decantación. Las células T humanas aisladas en el momento pueden mantenerse en el medio de cultivo (RPMI 1640 complementado con 10 % de suero fetal bovino, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina) a una densidad de 2×10^6 células/ml a 37 °C durante hasta 2 días. Para el análisis de proliferación celular estimulado por IL-2, las células T primero se tratan con Fitoheماغlutinina (PHA, por sus siglas en inglés) a una concentración de 10 µg/mL durante 72h. Después de lavar una vez con PBS, se colocan en placas 6000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se tratan con compuestos a diferentes concentraciones en el medio de cultivo en presencia de 100 U/mL de IL-2 humana (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Las placas se incuban a 37 °C durante 72h y se evalúa el índice de proliferación utilizando reactivos CellTiter-Glo Luminescent siguiendo el protocolo sugerido por el fabricante (Promega; Madison, WI).

Ejemplo C: Eficacia antitumoral *in vivo*

Los compuestos en la presente pueden evaluarse en modelos de xenoinjerto de tumor humano en ratones inmunodeprimidos. Por ejemplo, una variante tumorigénica de la línea celular de plasmacitoma INA-6 puede utilizarse para inocular SCID a los ratones subcutáneamente (Burger, R., et ál. *Hematol J.* 2:42-53, 2001). Los animales que portan tumores a continuación pueden aleatorizarse en los grupos de tratamiento con fármaco o vehículo y se pueden administrar diferentes dosis de compuestos mediante cualquier cantidad de vías convencionales incluidas oral, i.p. o infusión continua utilizando bombas implantables. El crecimiento tumoral se somete a seguimiento a lo largo del tiempo

utilizando calibradores. Además, las muestras tumorales pueden cosecharse en cualquier momento después del inicio del tratamiento para análisis tal como se describió anteriormente (Ejemplo B) para evaluar los efectos del compuesto sobre la actividad de JAK y las vías de señalización posteriores. Adicionalmente, se puede evaluar la selectividad del compuesto(s) utilizando modelos tumorales de xenoinjerto que son desencadenados por otras quinasas conducidas (por ejemplo, Bcr-Abl) tal como el modelo de tumor K562.

Ejemplo D: Prueba de respuesta de hipersensibilidad retardada por contacto cutáneo de murino

Los compuestos en la presente también pueden someterse a prueba para determinar sus eficacias (para inhibir objetivos JAK) en el modelo de prueba de hipersensibilidad retardada de murino desencadenada por células T. La respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH, por sus siglas en inglés) por contacto cutáneo de murino se considera un modelo válido de dermatitis de contacto clínica y otros trastornos cutáneos inmunitarios mediados por linfocitos T, tales como la psoriasis (*Immunol Today*. 1998 Jan;19(1):37-44). La DTH murina comparte múltiples características con la psoriasis, incluido el infiltrado inmunitario, el aumento paralelo de las citocinas inflamatorias y la hiperproliferación de queratinocitos. Además, muchas clases de agentes que son eficaces para tratar la psoriasis en la clínica también son inhibidores eficaces de la respuesta de DTH en ratones (*Agents Actions*. 1993 Jan;38(1-2):116-21).

El Día 0 y 1, los ratones Balb/c se sensibilizan con una aplicación tópica, sobre su abdomen rasurado, del antígeno 2,4,dinitro-fluorobenceno (DNFB, por sus siglas en inglés). El día 5, se miden las orejas para determinar su espesor utilizando un micrómetro de ingeniero. Esta medición se registra y se utiliza como valor de referencia. Ambas orejas de los animales a continuación se someten a exposición tópica de DNFB en un total de 20 μ L (10 μ L en el pabellón interno y 10 μ L en el pabellón externo) a una concentración de 0,2 %. Veinticuatro o setenta y dos horas después de la exposición, se miden nuevamente las orejas. El tratamiento con los compuestos de prueba se proporcionar a través de las fases de sensibilización y exposición (día -1 a día 7) o antes y durante la fase de exposición (generalmente en la tarde del día 4 al día 7). El tratamiento de los compuestos de prueba (en una concentración diferente) se administra sistémicamente o tópicamente (aplicación tópica del tratamiento sobre las orejas). Las eficacias de los compuestos de prueba se indican por la reducción de la hinchazón en la oreja en comparación con la situación sin el tratamiento. Los compuestos que provocan

una reducción del 20 % o mayor se consideraron eficaces. En algunos experimentos, los ratones se someten a la exposición pero no se sensibilizan (testigo negativo).

El efecto inhibidor (inhibir la activación de las vías de JAK-STAT) de los compuestos de prueba puede confirmarse mediante análisis inmunohistoquímicos. La activación de la vía(s) de JAK-STAT resulta en la formación y translocación de factores de transcripción funcionales. Además, el influjo de células inmunitarias y la proliferación aumentada de queratinocitos también deberían proporcionar cambios en el perfil de expresión único en la oreja que pueden investigarse y cuantificarse. Las secciones de oreja fijadas con formalina y embebidas en parafina (cultivadas después de la fase de exposición en el modelo DTH) se someten a análisis inmunohistoquímico utilizando un anticuerpo que interactúa específicamente con STAT3 fosforilado (clon 58E12, Cell Signaling Technologies). Las orejas de ratón se tratan con compuestos de prueba, vehículo o dexametasona (un tratamiento clínicamente eficaz para la psoriasis), o sin ningún tratamiento, en el modelo DTH para realizar comparaciones. Los compuestos de prueba y la dexametasona pueden producir cambios transcripcionales similares tanto cualitativamente como cuantitativamente, y los compuestos de prueba y la dexametasona puede reducir la cantidad de células infiltrantes. La administración sistémica y tópica de los compuestos de prueba puede producir efectos inhibidores, es decir, reducción en la cantidad de células infiltrantes e inhibición de los cambios transcripcionales.

Ejemplo E: Actividad antiinflamatoria *in vivo*

Los compuestos en la presente pueden evaluarse en modelos de roedores o no roedores diseñados para reproducir una respuesta de inflamación simple o compleja. Por ejemplo, los modelos roedores de artritis pueden utilizarse para evaluar el potencial terapéutico de compuestos dosificados preventivamente o terapéuticamente. Estos modelos incluyen, de modo no taxativo, artritis inducida por colágeno de ratón o rata, artritis inducida por adyuvante de rata y artritis inducida por anticuerpo de colágeno. Las enfermedades autoinmunitarias que incluyen, de modo no taxativo, esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo I, uveorretinitis, tiroditis, miastenia gravis, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis, sensibilización de las vías aéreas (asma), lupus o colitis también pueden utilizarse para evaluar el potencial terapéutico de los compuestos en la presente. Estos modelos están establecidos en la comunidad de investigación y son conocidos para los expertos en la técnica (Current Protocols in Immunology,

Tomo 3., Coligan, J.E. et ál, Wiley Press.; *Methods in Molecular Biology*: Tomo 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. and Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

Ejemplo F: Modelos animales para el tratamiento de Ojo seco, Uveitis y Conjuntivitis

Se pueden evaluar agentes en uno o más modelos preclínicos de ojo seco conocidos para los expertos en la técnica incluidos, de modo no taxativo, modelo de glándula lagrimal de concanavalina A (ConA) de conejo, el modelo de ratón de escopolamina (subcutáneo o transdérmico), el modelo de glándula lagrimal de ratón de toxina botulínica o cualquier otro de una variedad de modelos autoinmunitarios de roedores espontáneos que resultan en disfunción de la glándula ocular (por ejemplo, NOD-SCID, MRL/lpr o NZB/NZW) (Barabino et ál., *Experimental Eye Research* 2004, 79, 613-621 y Schrader et ál., *Developmental Ophthalmology*, Karger 2008, 41, 298-312, incorporándose cada una a la presente por referencia en su totalidad). Los criterios de valoración en estos modelos pueden incluir la histopatología de las glándulas oculares y el ojo (córnea, etc.) y posiblemente la prueba de Schirmer clásica o versiones modificadas de la misma (Barabino et ál.) que miden la producción de lágrimas. La actividad puede evaluarse mediante dosificación a través de múltiples vías de administración (por ejemplo, sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que la enfermedad medible exista.

Los agentes pueden evaluarse en uno o más modelos preclínicos de uveitis conocidos para los expertos en la técnica. Estos incluyen, de modo no taxativo, modelos de uveitis autoinmunitaria experimental (EAU, por sus siglas en inglés) y uveitis inducida por exotoxina (EIU, por sus siglas en inglés). Los experimentos con EAU pueden llevarse a cabo en conejos, ratas o ratones y pueden implicar inmunización pasiva o activa. Por ejemplo, cualquiera de varios antígenos retinales pueden utilizarse para sensibilizar a los animales para un inmunógeno relevantes y luego los animales pueden someterse a exposición ocular con el mismo antígeno. El modelo de EIU es más agudo e implica la administración local o sistémica de lipopolisacáridos a dosis subletales. Los criterios de valoración para los modelos de EIU y EAU pueden incluir examen de fondo de ojo, histopatología entre otros. Estos modelos se describen en Smith et ál. (*Immunology and Cell Biology* 1998, 76, 497-512, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). La actividad se evalúa mediante dosificación a través de múltiples vías de administración (por ejemplo, sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o

después de que la enfermedad medible exista. Algunos modelos indicados anteriormente también pueden desarrollar escleritis/episcleritis, corioiditis, ciclitis o iritis y, por lo tanto, son útiles para investigar la actividad potencial de los compuestos para el tratamiento terapéutico de estas enfermedades.

Los agentes también pueden evaluarse en uno o más modelos preclínicos de conjuntivitis conocidos para los expertos en la técnica. Estos incluyen, de modo no taxativo, modelos de roedores que utilizan cobayos, ratas o ratones. Los modelos de cobayos incluyen aquellos que utilizan inmunización activa o pasiva y/o protocolos de exposición inmunitaria tal como con ovoalbúmina o artemisa (descritos en Groneberg, D.A., et ál., *Allergy* 2003, 58, 1101-1113, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). Los modelos de rata y ratón son similares en el diseño general a los de cobayos (también descritos por Groneberg). La actividad puede evaluarse mediante dosificación a través de múltiples vías de administración (por ejemplo, sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que la enfermedad medible exista. Los criterios de valoración para dichos estudios pueden incluir, por ejemplo, análisis histológico, inmunológico, bioquímica o molecular de tejidos oculares tales como la conjuntiva.

Ejemplo G: Protección ósea *in vivo*

Los compuestos pueden evaluarse en varios modelos preclínicos de osteopenia, osteoporosis o resorción ósea conocidos para los expertos en la técnica. Por ejemplo, se pueden utilizar roedores ovariectomizados para evaluar la capacidad de los compuestos para afectar signos y marcadores de remodelación y/o densidad ósea (W.S.S. Jee and W. Yao, *J Musculoskel. Nueron. Interact.*, 2001, 1(3), 193-207, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). Alternativamente, se pueden evaluar la densidad y arquitectura ósea en roedores tratados con testigo o compuesto en modelos de osteopenia inducida por terapia (por ejemplo, glucocorticoides) (Yao, et ál. *Arthritis and Rheumatism*, 2008, 58(6), 3485-3497; y *id.* 58(11), 1674-1686, incorporándose ambos a la presente por referencia en su totalidad). Además, los efectos de los compuestos sobre la resorción y densidad ósea pueden ser evaluables en modelos de roedores de artritis tratados anteriormente (Ejemplo E). Los criterios de valoración para todos estos modelos pueden variar pero a menudo incluyen valoraciones histológicas y radiológicas, así como inmunohisotología y marcadores bioquímicos apropiados de remodelación ósea.

REIVINDICACIONES

1. Una forma de dosificación de liberación prolongada que comprende:
 - (i) {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 - (ii) Una primera hipromelosa; y
 - (iii) Una segunda hipromelosa.
2. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la primera hipromelosa se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2% en agua de aproximadamente 80 cP a aproximadamente 120 cP.
3. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la segunda hipromelosa se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2% en agua de aproximadamente 3000 cP a aproximadamente 5600 cP.
4. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la primera hipromelosa se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2% en agua de aproximadamente 80 cP a aproximadamente 120 cP, y en donde la segunda hipromelosa se caracteriza por tener una viscosidad aparente en una concentración de 2% en agua de aproximadamente 3000 cP a aproximadamente 5600 cP.
5. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la forma de dosificación comprende de aproximadamente 8% a aproximadamente 20% de la primera y segunda hipromelosas.
6. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la forma de dosificación comprende de aproximadamente 10% a aproximadamente 15% de la primera y segunda hipromelosas.

7. La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además uno o más excipientes seleccionados independientemente de celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa y monohidrato de lactosa.
8. La forma de dosificación de la reivindicación 1, que comprende además de aproximadamente 16% a aproximadamente 22% en peso de celulosa microcristalina.
9. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la forma de dosificación comprende además de aproximadamente 45% a aproximadamente 55% en peso de monohidrato de lactosa.
10. La forma de dosificación de la reivindicación 1, en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 100 mg en base a una base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
11. La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la sal es la sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo.
12. La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la forma de dosificación es un comprimido.
13. Una comprimido de liberación prolongada que comprende
 - (i) aproximadamente 100 mg en una base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
 - (ii) una primera hipromelosa caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2% en agua de aproximadamente 80 cP a aproximadamente 120 cP;

- (iii) una segunda hipromelosa, caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2% en agua de aproximadamente 3000 cP a aproximadamente 5600 cP,
en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 8% a aproximadamente 20% de la primera y segunda hipromelosas;
- (iv) aproximadamente 16% a aproximadamente 22% en peso de celulosa microcristalina; y
- (v) aproximadamente 45% a aproximadamente 55% en peso de monohidrato de lactosa.
- 14.** Una forma de dosificación de liberación sostenida que comprende
- (i) {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y
- (ii) hipromelosa caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2% en agua de aproximadamente 3000 cP a aproximadamente 5600 cP.
- 15.** La forma de dosificación de la reivindicación 14, en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 8% a aproximadamente 20% de la hipromelosa.
- 16.** La forma de dosificación de la reivindicación 14, en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 10% a aproximadamente 15% de la hipromelosa.
- 17.** La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, que comprende además uno o más excipientes seleccionados independientemente de celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa y monohidrato de lactosa.
- 18.** La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 200 mg en base a una base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

- 19.** La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 300 mg en base a una base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20.** La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, en donde la forma de dosificación comprende aproximadamente 600 mg en base a una base libre de 1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 21.** La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 20, en donde la sal es la sal del ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo.
- 22.** La forma de dosificación de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 21, en la que la forma de dosificación es un comprimido.

FORMAS DE DOSIFICACIÓN DE LIBERACIÓN PROLONGADA PARA UN INHIBIDOR DE JAK1

Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional estadounidense n.º 61/863,325, presentada el 7 de agosto de 2013, y la Solicitud Provisional estadounidense n.º 61/913,066, presentada el 6 de diciembre de 2013, cada una de las cuales se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

CAMPO TÉCNICO

La presente solicitud se refiere a una forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este y dosis y métodos relacionadas con estas.

ANTECEDENTES

Las proteínas quinasas (PK, por sus siglas en inglés) regulan diversos procesos biológicos como crecimiento celular, supervivencia, diferenciación, formación de órganos, morfogénesis, neovascularización, reparación tisular y regeneración, entre otros. Las proteínas quinasas también tienen papeles especializados en hospedadores de enfermedades humanas como el cáncer. Las citocinas son polipéptidos o glicoproteínas de bajo peso molecular que regulan muchas vías involucradas en la respuesta inflamatoria del hospedador a la septicemia. Las citocinas influyen en la diferenciación, proliferación y activación celular, y pueden modular respuestas tanto proinflamatorias como antiinflamatorias para permitir que el hospedador reaccione apropiadamente a los patógenos. La señalización de una amplia variedad de citocinas involucra a la familia de las quinasas de Janus (JAK, por sus siglas en inglés) de proteínas tirosinas quinasas y los transductores de señal y activadores de transcripción (STAT, por sus siglas en inglés). Existen cuatro JAK mamíferas conocidas: JAK1 (quinasa de Janus -1), JAK2, JAK3 (también conocida como quinasa de Janus, leucocito; JAKL; y L-JAK), y TYK2 (proteína tirosina quinasa 2).

Las respuestas inmunitarias e inflamatorias estimuladas por citocinas contribuyen a la patogénesis de las enfermedades: patologías tales como la inmunodeficiencia

combinada grave (SCID, por sus siglas en inglés) surgen de la supresión del sistema inmunitario, en tanto una respuesta inmunitaria/inflamatoria hiperactiva o inapropiada contribuye a la patología de enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, asma, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis, miocarditis), y dolencias tales como dermatosclerosis y osteoartritis (Ortmann, R. A., T. Cheng, et ál. (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

Las deficiencias en la expresión de las JAK se asocian con muchos estados de enfermedad. Por ejemplo, los ratones Jak1^{-/-} son intervenidos durante el nacimiento, se les omite la asistencia y mueren en etapa perinatal (Rodig, S. J., M. A. Meraz, et ál. (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Los embriones de ratones Jak2^{-/-} son anémicos y mueren cerca del día 12,5 después del coito debido a la ausencia de eritropoyesis definitiva.

Se cree que las vías JAK/STAT, y particularmente las cuatro JAK, desempeñan un papel en la patogénesis de respuesta asmática, en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, en bronquitis y en otras enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio inferior relacionadas. Las citocinas múltiples que se señalizan a través de las JAK han sido vinculadas a enfermedades/afecciones inflamatorias del tracto respiratorio superior, tales como aquellas que afectan nariz y senos (por ejemplo, rinitis y sinusitis), ya sean reacciones alérgicas clásicas o no. La vía de JAK/STAT también ha sido implicada en enfermedades/afecciones inflamatorias del ojo y en respuestas alérgicas crónicas.

La activación de JAK/STAT en cánceres se puede producir por estimulación de citocinas (por ejemplo, IL-6 o GM-CSF) o por una reducción en los supresores endógenos de la señalización de JAK como los SOCS (señalización de citocinas o supresor) o los PIAS (inhibidor de proteínas de STAT activado) (Boudny, V., y Kovarik, J., *Neoplasia* 49:349-355, 2002). La activación de la señalización de STAT, así como otras vías posteriores de JAK (por ejemplo, Akt), ha sido correlacionada con malos pronósticos en varios tipos de cáncer (Bowman, T., et ál. *Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Los niveles elevados de citocinas circulantes que se señalizan a través de JAK/STAT desempeñan un papel causal en la caquexia y/o fatiga crónica. En ese sentido, la inhibición de la JAK podría ser beneficiosa para pacientes de cáncer por motivos que van más allá de una actividad antitumoral potencial.

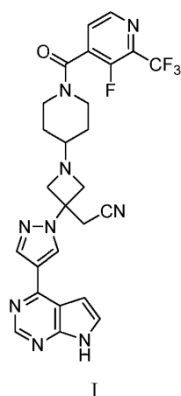
La tirosina quinasa JAK2 puede ser beneficiosa para pacientes con trastornos mieloproliferativos, por ejemplo, policitemia verdadera (PV, por sus siglas en inglés), trombocitosis esencial (ET, por sus siglas en inglés), mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM, por sus siglas en inglés) (Levin, et ál., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). La inhibición de la quinasa JAK2V617F disminuye la proliferación de células hemopoyéticas, lo que sugiere a JAK2 como un objetivo potencial para inhibición farmacológica en pacientes con PV, ET y MMM.

La inhibición de las JAK podría beneficiar a pacientes que padecen trastornos inmunitarios como psoriasis y sensibilización cutánea. Se cree que el mantenimiento de la psoriasis depende de una serie de citocinas inflamatorias, además de varias quimiocinas y factores de crecimiento (JCI, 113:1664-1675), muchos de los cuales se señalizan a través de las JAK (*Adv Pharmacol.* 2000;47:113-74).

Debido a la utilidad de los compuestos que inhiben a la JAK para dirigirse al aumento o la supresión de las vías inmunitarias o inflamatorias (tales como agentes inmunosupresores para trasplantes de órganos), así como el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, enfermedades que involucran una respuesta antiinflamatoria hiperactiva (por ejemplo, eccema), alergias, cáncer (por ejemplo, próstata, leucemia, mieloma múltiple) y algunas reacciones inmunitarias (por ejemplo, erupciones cutáneas, dermatitis de contacto o diarrea) causadas por otros agentes terapéuticos, existe una necesidad de formulaciones mejoradas para la administración de quinasas JAK. Las formas de dosificación descritas en la presente, así como las dosis y métodos descritos anteriormente, están orientadas a satisfacer esta necesidad y a otros fines.

COMPENDIO

Los inhibidores de JAK se describen en número de serie 13/043.986 estadounidense (US 2011/0224190), presentada el 9 de marzo de 2011, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad, que incluyen {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo, que se representa a continuación como la Fórmula I.



La presente solicitud proporciona, entre otros, formas de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 25 mg a alrededor de 600 mg (por ejemplo, 25 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg o 600 mg) con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente invención además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dichas una o más formas de dosificación de liberación prolongada juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente invención además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dicha dosis proporciona una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud proporciona además métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud también proporciona métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud proporciona además métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de

órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud además proporciona métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las FIGURAS 1A-C representan concentraciones en plasma para el compuesto de la Fórmula I (media $\pm$ SE) en individuos saludables que reciben única dosis de cápsulas IR de 300 mg (1A: Cohortes 1-4, en ayuno), comprimidos SR1, SR2, SR3 y SR4 (2B: Cohortes 1-4, en ayuno; y 2C: Cohortes 1-4, con ingesta de un alimento con alto contenido de grasas).

La FIGURA 2A-B representa los perfiles PK de una única dosis SR3 de 300 mg (media $\pm$ SE) (2A: Cohorte 3, SR3, en ayuno con respecto a ingesta de alimento con alto contenido de grasas; y 2B: Cohorte 5, SR3, en ayuno con respecto a ingesta de alimento con contenido medio de grasas).

La FIGURA 3 representa una comparación de los perfiles PK (media $\pm$ SE) entre los comprimidos SR3 de 25 mg y 100 mg (tratamiento A con respecto a C) y el efecto de la alimentación con un alimento con alto contenido de grasas sobre el comprimido SR3 de 25 mg (Tratamiento B con respecto a A).

La FIGURA 4 representa el porcentaje de cambio con respecto al valor de referencia para la hemoglobina para varios regímenes de dosificación para comprimidos de liberación prolongada con respecto a placebo.

La FIGURA 5(a) ilustra el porcentaje de pacientes que tienen una reducción ≥ 50 % en la puntuación total de los síntomas (TSS) en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD).

La FIGURA 5(b) ilustra el porcentaje de cambio en la puntuación total de los síntomas (TSS) respecto del valor de referencia en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD).

La FIGURA 6(a) ilustra los niveles de hemoglobina promedio con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD).

La FIGURA 6(b) ilustra los niveles de hemoglobina promedio (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) a las 48 semanas.

La FIGURA 6(c) ilustra los niveles de hemoglobina promedio (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis a las 48 semanas como un promedio para los tres cohortes de dosis en comparación con individuos dosificados con placebo o ruxolitinib.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente solicitud proporciona formas de dosificación de liberación prolongada que comprenden {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona una forma de dosificación de liberación prolongada que comprende alrededor de 25 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-

pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de sal de ácido adípico de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 100 nM a alrededor de 1000 nM. Tal como se utiliza en este contexto, la administración oral significa que una única dosis se administra al individuo (en este caso, 3 x 100 mg) y el parámetro de PK se calcula a partir de las mediciones de la concentración en plasma en función del tiempo. En este contexto, el parámetro de PK (en este caso, $C_{m\acute{a}x}$) se utiliza para caracterizar la forma de dosificación de liberación prolongada única (es decir, la reivindicaciones se refieren a una única forma de dosificación, no a tres formas de dosificación).

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-

(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 400 nM a alrededor de 700 nM.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio para alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 0,5 horas a alrededor de 3 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio para alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de al menos 0,5 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 5 a alrededor de 50.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 9 a alrededor de 40.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a la concentración en

plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 30.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 5 horas a alrededor de 15 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 7 horas a alrededor de 12 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 20 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1000 nM*h a alrededor de 4000 nM*h.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo en ayuno proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1500 nM*h a alrededor de 3100 nM*h.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 200 nM a alrededor de 2000 nM.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 500 nM a alrededor de 1500 nM.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 9 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico (T_{max}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de al menos 1,5 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-

il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 10 a alrededor de 70.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprende alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 50.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de la concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a la concentración en plasma media en 12 horas ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 25 a alrededor de 45.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 7 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 2 horas a alrededor de 5 horas.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo de alrededor de 2000 nM*h a alrededor de 5000 nM*h.

En algunas modalidades de la forma de dosificación de liberación prolongada que comprenden alrededor de 100 mg, la administración oral de tres de dichas formas de dosificación a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido proporciona una biodisponibilidad media ($AUC_{0-\infty}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 3000 nM*h a alrededor de 4000 nM*h.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual de la forma de dosificación de liberación prolongada con respecto a una forma de dosificación de liberación intermedia para $C_{\max}$ es alrededor de 15 % a alrededor de 30 %, donde una o más formas de dosificación de liberación intermedia y una o más formas de dosificación de liberación prolongada se administran por vía oral independientemente a individuos en ayuno como una única dosis, donde se administra la misma dosis de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual de la forma de dosificación de liberación prolongada con respecto a una forma de dosificación de liberación intermedia para $C_{\max}$ es alrededor de 15 % a alrededor de 30 %, donde una o más formas de dosificación de liberación intermedia y una o más formas de dosificación de liberación prolongada se administran por vía oral independientemente a individuos en ayuno como una única dosis, donde se administra la misma dosis de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual de la forma de dosificación de liberación prolongada con respecto a una forma de dosificación de liberación intermedia para $AUC_{0-\infty}$ es alrededor de 40 % a alrededor de 55 %, donde una o más formas de dosificación de liberación intermedia y una o más formas de dosificación de liberación prolongada se administran por vía oral independientemente a individuos en ayuno como una única dosis, donde se administra la misma dosis de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual para $C_{\text{máx}}$ de la forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas con respecto a una forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo en ayuno es alrededor de 150 % a alrededor de 250 %.

En algunas modalidades, la relación media geométrica porcentual para $AUC_{0-\infty}$ de la forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo después de ingerir un alimento con alto contenido de grasas con respecto a una forma de dosificación de liberación prolongada administrada por vía oral a un individuo en ayuno es alrededor de 125 % a alrededor de 170 %.

En algunas modalidades, las formas de dosificación de liberación prolongada de la invención pueden incluir un formador de matriz de liberación prolongada. Los ejemplos de formadores de matriz de liberación prolongada incluyen éteres de celulosa tales como hidroxipropil metilcelulosa (HPMC, hipromelosa) que es un polímero de alta viscosidad y metilcelulosas. Los ejemplos de hidroxipropil metilcelulosas incluyen Methocel™ K15M, Methocel™ K4M, Methocel™ K100LV, Methocel™ E3, Methocel™ E5, Methocel™ E6, Methocel™ E15, Methocel™ E50, Methocel™ E10M, Methocel™ E4M y Methocel™ E10M.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende una primera hipromelosa que se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 80 cP a alrededor de 120 cP y una segunda hipromelosa que se caracteriza por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 3000 cP a alrededor de 5600 cP. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 8 % a alrededor de 20 % en peso de una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 10 % a alrededor de 15 % en peso de una o más hipromelosas.

En algunas modalidades, las formas de dosificación de liberación prolongada de la invención pueden incluir además una o más cargas, deslizantes, desintegrantes, aglutinantes o lubricantes como ingredientes inactivos.

En algunas modalidades, la carga comprende celulosa microcristalina, monohidrato de lactosa o ambos. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 16 % a alrededor de 22 % en peso de celulosa microcristalina. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 45 % a alrededor de 55 % en peso de monohidrato de lactosa.

En algunas modalidades, los lubricantes pueden estar presentes en las formas de dosificación de la invención en una cantidad de 0 a alrededor de 5 % en peso. Los ejemplos no taxativos de lubricantes incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico (estearina), aceite hidrogenado, polietilenglicol, fumarato estearil de sodio y behenato de glicerilo. En algunas modalidades, las formulaciones incluyen estearato de magnesio, ácido esteárico o ambos. En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende alrededor de 0,3 % a alrededor de 0,7 % en peso de estearato de magnesio.

En algunas modalidades, pueden estar presentes deslizantes en las formas de dosificación. En algunas modalidades, los deslizantes pueden estar presentes en las formas de dosificación de la invención en una cantidad de 0 a alrededor de 5 % en peso. Los ejemplos no taxativos de deslizantes incluyen talco, dióxido de silicio coloidal y almidón de maíz. En algunas modalidades, el deslizante es dióxido de silicio coloidal.

En algunas modalidades, pueden estar presentes agentes de recubrimiento de película en una cantidad de 0 a alrededor de 5 % en peso. Los ejemplos ilustrativos no taxativos de agentes de recubrimiento de película incluyen recubrimientos a base de hipromelosa o alcohol polivinílico con dióxido de titanio, talco y opcionalmente colorantes disponibles en varios sistemas de recubrimiento completo disponibles en el mercado.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende almidón pregelatinizado.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada es un comprimido.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada se prepara mediante un proceso que comprende granulación húmeda.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende uno o más excipientes seleccionados independientemente de hipromelosas y celulosas microcristalinas.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende uno o más excipientes seleccionados independientemente de hipromelosas, celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa y monohidrato de lactosa.

En algunas modalidades, la forma de dosificación de liberación prolongada comprende uno o más excipientes seleccionados independientemente de hipromelosas, celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa, monohidrato de lactosa y almidón pregelatinizado.

La presente invención además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dichas una o más formas de dosificación de liberación prolongada juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente invención además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dicha dosis proporciona una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la

base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud además proporciona una o más formas de dosificación de liberación prolongada como se describen en la presente, que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 500 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud proporciona además una o más formas de liberación prolongada como se describen en la presente que juntas proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, se proporcionan una o más formas de dosificación de liberación prolongada que es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud además proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente, que proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud también proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada como se describen en la presente que proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 500 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

La presente solicitud también proporciona una dosis que comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada como se describen en la presente que proporcionan una dosificación oral diaria de alrededor de 400 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente.

En algunas modalidades, la dosis comprende seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la dosis comprende tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la dosis comprende dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la dosis comprende una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-

pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Tal como se utiliza en la presente, "liberación prolongada" se utiliza tal como se entiende generalmente en la técnica y se refiere a una formulación diseñada para liberar lentamente el ingrediente activo en un paciente después de la administración oral.

Tal como se utiliza en la presente, "dosis" se refiere a la cantidad total del compuesto de Fórmula I administrado por vía oral al individuo o paciente. La dosis puede ser una única forma de dosificación, o múltiples formas de dosificación (por ejemplo, una dosis de 600 mg puede ser una forma de dosificación de 600 mg, dos formas de dosificación de 300 mg, tres formas de dosificación de 200 mg, seis formas de dosificación de 100 mg, etc.). Por lo tanto, una dosis puede hacer referencia a múltiples píldoras que el paciente debe tomar casi simultáneamente.

Tal como se utiliza en la presente, "un individuo en ayuno" significa un individuo que ha ayunado durante al menos 10 horas antes de la administración de la dosis.

Tal como se utiliza en la presente, "media/o" cuando precede a un valor farmacocinético (por ejemplo, $C_{\text{máx}}$ media) representa el valor medio aritmético del valor farmacocinético tomado de una población de pacientes, a menos que se especifique lo contrario.

Tal como se utiliza en la presente, " $C_{\text{máx}}$ " significa la concentración en plasma máxima observada.

Tal como se utiliza en la presente, " $C_{12\text{h}}$ " se refiere a la concentración en plasma medida 12 horas después de la administración.

Tal como se utiliza en la presente, " $T_{\text{máx}}$ " se refiere al tiempo en que se observa la concentración máxima en el plasma sanguíneo.

Tal como se utiliza en la presente, " $T_{1/2}$ " se refiere al tiempo en el que la concentración en plasma es la mitad de la máxima observada.

Tal como se utiliza en la presente, "AUC" se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo que es una medida de la biodisponibilidad total.

Tal como se utiliza en la presente, " $AUC_{0-\infty}$ " se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo extrapolada al infinito.

Tal como se utiliza en la presente, " AUC_{0-t} " se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo del tiempo 0 hasta el último punto de tiempo con una concentración en plasma cuantificable, en general alrededor de 12-36 horas.

Tal como se utiliza en la presente, " $AUC_{0-\square}$ " se refiere al área debajo de la curva de concentración en plasma-tiempo del tiempo 0 hasta el tiempo de la siguiente dosis.

Tal como se utiliza en la presente, "Cl/F" se refiere al aclaramiento del fármaco administrado por vía oral.

La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente. Tal como se utiliza en la presente, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos, donde el compuesto base se modifica al convertir un resto ácido o base existente en una forma salina. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, de modo no taxativo, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas del compuesto base formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto base que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. En general, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiados en agua o en un disolvente orgánico, o una mezcla de ambos; generalmente se prefieren medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (ACN). Pueden encontrarse listas de sales adecuadas en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, pág. 1418 y *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977), cada uno de los cuales se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En algunas modalidades, los compuestos descritos en la presente incluyen formas N-óxido.

Métodos

La presente solicitud proporciona además métodos para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más formas de dosificación de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. La presente solicitud proporciona además un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una o más dosificaciones de liberación prolongada tales como se describen en la presente.

La presente solicitud además proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol-2,3-d)pirimidin-4-il]-1H-pirazol-1-il]azetid-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud además proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 500 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La presente solicitud además proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 400 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la

una o más formas de dosificación de liberación prolongada es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo de alrededor de 0,5 horas a alrededor de 3 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{\text{máx}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo de al menos 0,5 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo de alrededor de 5 a alrededor de 50.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo de alrededor de 9 a alrededor de 40.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetónitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 30.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo en ayuno proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 20 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 9 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona un tiempo medio hasta alcanzar la concentración en plasma pico ($T_{m\acute{a}x}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de al menos 1,5 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 10 a alrededor de 70.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{m\acute{a}x}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media (C_{12h}) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 15 a alrededor de 50.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con

alto contenido de grasas proporciona una relación de concentración en plasma pico media ($C_{\text{máx}}$) con respecto a una concentración en plasma de 12 horas media ($C_{12\text{h}}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 25 a alrededor de 45.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 1 hora a alrededor de 7 horas.

En algunas modalidades, la administración oral de una o más formas de dosificación de liberación prolongada a un individuo después de un alimento con alto contenido de grasas proporciona una semivida media ($t_{1/2}$) de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo de alrededor de 2 horas a alrededor de 5 horas.

En algunas modalidades, cada una de la una o más forma de dosificación de liberación prolongada es un comprimido. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada se preparan por un proceso que comprende granulación húmeda.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, uno o más excipientes que se seleccionan independientemente de hipromelosas y celulosas microcristalinas.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, uno o más excipientes que se seleccionan independientemente de hipromelosas, celulosas microcristalinas, estearato de magnesio, lactosa y monohidrato de lactosa. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, una primera hipromelosa caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 80 cP a alrededor de 120 cP y una segunda hipromelosa caracterizada por tener una viscosidad aparente a una concentración de 2 % en agua de alrededor de 3000 cP a alrededor de 5600 cP.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 10 % a alrededor de 15 % en peso de una o más hipromelosas. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 16 % a alrededor de 22 % en peso de celulosa microcristalina. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 45 % a alrededor de 55 % en peso de monohidrato de lactosa. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada comprende, cada una, alrededor de 0,3 % a alrededor de 0,7 % en peso de estearato de magnesio.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil) isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d] pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada que comprende, cada una, {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 600 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 500 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable

de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades, la presente solicitud proporciona un método para tratar la mielofibrosis en un paciente, que comprende administrarle oralmente a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosificación diaria de alrededor de 400 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde el método da como resultado una puntuación total de los síntomas (TSS) reducida de dicho paciente en comparación con el valor de referencia.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades de los métodos de los tres párrafos que anteceden, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirroló[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, “puntuación total de los síntomas (TSS)” se refiere a la TSS derivada del diario electrónico de Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF) (por ejemplo, v3.0) en comparación con el valor de referencia (el valor de

referencia es el TSS de referencia del paciente antes del tratamiento). En algunas modalidades, la mielofibrosis es mielofibrosis primaria (PMF), MF post policitemia vera, o MF post trombocitemia esencial.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, que comprende administrar por vía oral a dicho paciente una dosis diaria de alrededor de 400 mg a alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, donde cada una comprende {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este; donde dicho método da como resultado anemia reducida.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosis diaria de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde dicho método da como resultado anemia reducida.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosis diaria de alrededor de 500 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidín-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde dicho método da como resultado

anemia reducida.

La presente solicitud también proporciona un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, un cáncer, un trastorno mieloproliferativo, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad de resorción ósea o un rechazo a un trasplante de órgano en un paciente que lo necesita, donde el método comprende administrar por vía oral a dicho paciente la una o más formas de dosificación de liberación prolongada como una dosis diaria de alrededor de 400 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde dicho método da como resultado anemia reducida.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son seis formas de dosificación de alrededor de 100 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son tres formas de dosificación de alrededor de 200 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada son dos formas de dosificación de alrededor de 300 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, la una o más formas de dosificación de liberación prolongada es una forma de dosificación de alrededor de 600 mg con respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil] piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

La anemia reducida se relaciona con la que se experimentó para una dosis de dos veces por día de 200 mg respecto a la base libre de {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-

il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde la dosis comprende una o más formas de dosificación de liberación prolongada, que comprende cada una {1-{1-[3-fluoro-2-(trifluorometil)isonicotinoil]piperidin-4-il}-3-[4-(7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-il)-1H-pirazol-1-il]azetidin-3-il}acetonitrilo o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

El compuesto de Fórmula I es un inhibidor de JAK. Un inhibidor selectivo de JAK1 es un compuesto que inhibe la actividad de JAK1 preferentemente con respecto a otras quinasas Janus. La JAK1 tiene un papel central en varias vías de señalización de citocina y factor de crecimiento que, cuando se desregulan, pueden resultar o contribuir a estados de enfermedad. Por ejemplo, los niveles de IL-6 son elevados en la artritis reumatoide, un enfermedad en la que se ha sugerido que tiene efectos nocivos (Fonesca, J.E. et ál., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Debido a que la IL-6 se señala, al menos en parte, a través de JAK1, se espera proporcionar un beneficio clínico al antagonizar a IL-6 directa o indirectamente a través de la inhibición de JAK1 (Guschin, D., N., et ál *Embo J* 14:1421, 1995; Smolen, J. S., et ál. *Lancet* 371:987, 2008). Asimismo, en algunos cánceres, el JAK1 se presenta mutado, resultando en un crecimiento y supervivencia de células tumorales indeseables constitutivos (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A*.106:9414-8, 2009; Flex E., et ál. *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). En otras enfermedades autoinmunitarias y cánceres los niveles sistémicos elevados de citocinas inflamatorias que activan a JAK1 también pueden contribuir a la enfermedad y/o síntomas asociados. Por consiguiente, los pacientes con dichas enfermedades pueden beneficiarse con la inhibición de JAK1. Los inhibidores selectivos de JAK1 pueden ser eficaces mientras se evitan efectos innecesarios y potencialmente indeseables de la inhibición de otras quinasas JAK.

Los inhibidores selectivos de JAK1, con respecto a otras quinasas JAK, pueden tener múltiples ventajas terapéuticas con respecto a inhibidores menos selectivos. En relación con la selectividad contra JAK2, varias citocinas y factores de crecimiento importantes se señalizan a través de JAK2 incluidos, por ejemplo, eritropoyetina (Epo) y trombopoyetina (Tpo) (Parganas E, et ál. *Cell*. 93:385-95, 1998). La Epo es un factor de crecimiento clave para la producción de glóbulos rojos; por lo tanto, una escasez de la señalización dependiente de Epo puede resultar en cantidades reducidas de glóbulos rojos y anemia (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). La Tpo, otro ejemplo de un factor de crecimiento dependiente de JAK2, tiene un papel central en el control de la proliferación y maduración de megacariocitos – las células a partir de las cuales se producen las

plaquetas (Kaushansky K, NEJM 354:2034-45, 2006). Como tal, la señalización reducida de Tpo disminuiría la cantidad de megacariocitos (megacariocitopenia) y reduciría los recuentos de plaquetas en circulación (trombocitopenia). Esto puede resultar en una hemorragia indeseable y/o incontrolable. La inhibición reducida de otras JAK, tales como JAK3 y Tyk2, también puede ser deseable ya que los humanos que carecen de la versión funcional de estas quinasas han demostrado padecer numerosas enfermedades tales como inmunodeficiencia grave-combinada o síndrome de hiperinmunoglobulina E (Minegishi, Y, et ál. Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P, et ál. Nature. 377:65-8, 1995). Por consiguiente, un inhibidor de JAK1 con afinidad reducida con otras JAK tendría ventajas considerables con respecto a un inhibidor menos selectivo en relación con efectos secundarios reducidos que impliquen supresión inmunitaria, anemia y trombocitopenia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a métodos para tratar una enfermedad o trastorno asociado con JAK en un individuo (por ejemplo, un paciente) al administrar al individuo que necesita dicho tratamiento una forma de dosificación de liberación prolongada de la invención. Una enfermedad asociada con JAK puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que está directa o indirectamente ligada con la expresión o actividad de JAK, incluida la sobreexpresión y/o niveles de actividad anormales. Una enfermedad asociada con JAK también puede incluir cualquier enfermedad, trastorno o afección que puede prevenirse, mejorarse o curarse al modular la actividad de JAK.

Los ejemplos de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades que implican el sistema inmunitario, lo que incluye, por ejemplo, rechazo de trasplante de órgano (por ejemplo, rechazo de aloinjerto y enfermedad de injerto contra hospedador).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades autoinmunitarias tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide, artritis juvenil, artritis psoriásica, diabetes tipo I, lupus, psoriasis, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, miastenia gravis, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis, trastornos tiroideos autoinmunitarios, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y similares. En algunas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria es una dermatitis ampollosa autoinmunitaria tal como pénfigo vulgar (PV) o pénfigo vesicular (BP).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen afecciones alérgicas tales como asma, alergias a alimentos, dermatitis eccematosa, dermatitis de contacto, dermatitis atópica (eccema atópico) y rinitis. Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades virales como el virus de Epstein Barr (VEB), Hepatitis B, Hepatitis C, VIH, HTLV 1, virus Varicela-Zóster (VVZ) y virus del Papiloma humano (VPH).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen enfermedades asociadas con renovación de cartílagos, por ejemplo, artritis gotosa, artritis séptica o infecciosa, artritis reactiva, distrofia simpatética refleja, algodistrofia, síndrome de Tietze, atropatía costal, osteoartritis deformante endémica, enfermedad de Mseleni, enfermedad de Handigodu, degeneración resultante de fibromialgia, lupus sistémico eritematoso, esclerodermia o espondilitis anquilosante.

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen malformaciones de cartílago congénitas, que incluyen condrólisis hereditaria, condrodisplasias y pseudocondrodisplasias (por ejemplo, microtia, enotia y condrodisplasia metafisaria).

Los ejemplos adicionales de enfermedades asociadas con JAK incluyen trastornos cutáneos tales como psoriasis (por ejemplo, psoriasis vulgar), dermatitis atópica, erupción cutánea, irritación cutánea, sensibilización cutánea (por ejemplo, dermatitis de contacto o dermatitis de contacto alérgica). Por ejemplo, ciertas sustancias, incluidos algunos fármacos, cuando se aplican tópicamente pueden provocar una sensibilización cutánea. En algunas modalidades, la coadministración o administración secuencial de al menos un inhibidor de JAK de la invención junto con un agente que provoca una sensibilización indeseada puede ayudar en el tratamiento de dicha sensibilización indeseada o dermatitis. En algunas modalidades, el trastorno cutáneo se trata mediante la administración tópica de al menos un inhibidor de JAK de la invención.

En modalidades adicionales, la enfermedad asociada con JAK es cáncer que incluyen aquellos caracterizado por tumores sólidos (por ejemplo, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer hepático, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cánceres de las vías aéreas altas, cáncer de tiroides, glioblastoma, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman, liomiosarcoma uterino, melanoma, etc.), cánceres hematológicos (por ejemplo,

linfoma, leucemia tal como leucemia linfoblástica aguda (ALL, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena aguda (AML, por sus siglas en inglés) o mieloma múltiple) y cáncer de piel tal como linfoma de células T cutáneo (CTCL, por sus siglas en inglés) y linfoma de células B cutáneo. Los CTCL ejemplares incluyen síndrome de Sezary y micosis fungoides.

En algunas modalidades, las formas de dosificación descritas en la presente o en combinación con otros inhibidores de JAK, tales como los descritos en el N.º de serie estadounidense 11/637,545, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia, pueden utilizarse para tratar cánceres asociados con inflamación. En algunas modalidades, el cáncer se asocia con la enfermedad inflamatoria intestinal. En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria intestinal es colitis ulcerosa. En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria intestinal es enfermedad de Crohn. En algunas modalidades, el cáncer asociado con inflamación es cáncer asociado con colitis. En algunas modalidades, el cáncer asociado con inflamación es cáncer de colon o cáncer colorrectal. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer gástrico, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor estromal gastrointestinal (GIST, por sus siglas en inglés), adenocarcinoma, cáncer de intestino delgado o cáncer rectal.

Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir además aquellas caracterizadas por la expresión de: mutantes de JAK2 tales como aquellos que tienen al menos una mutación en el dominio pseudoquinasa (por ejemplo, JAK2V617F); mutantes de JAK2 que tienen al menos una mutación fuera del dominio pseudoquinasa; mutantes de JAK1; mutantes de JAK3; mutantes del receptor de eritropoyetina (EPOR); o expresión desregulada de CRLF2.

Las enfermedades asociadas con JAK pueden incluir además trastornos mieloproliferativos (MPD, por sus siglas en inglés) tales como policitemia verdadera (PV, por sus siglas en inglés), trombocitemia esencial (ET, por sus siglas en inglés), mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM, por sus siglas en inglés), mielofibrosis primaria (PMF, por sus siglas en inglés), leucemia mielógena crónica (CML, por sus siglas en inglés), leucemia mielomonocítica crónica (CMML, por sus siglas en inglés), síndrome hipereosinofílico (HES, por sus siglas en inglés), enfermedad de mastocitos sistémica (SMCD, por sus siglas en inglés) y similares. En algunas modalidades, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis (por ejemplo, mielofibrosis primaria (PMF, por sus siglas en inglés) o mielofibrosis pospolicitemia verdadera/trombocitemia esencial (Post-PV/ET MF, por sus siglas

en inglés)). En algunas modalidades, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis posttrombocitemia esencial (Post-ET, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el trastorno mieloproliferativo es mielofibrosis pospolicitemia esencial (Post-PV MF, por sus siglas en inglés).

En algunas modalidades, las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse para tratar la hipertensión arterial pulmonar.

La presente invención además proporciona un método para tratar los efectos secundarios dermatológicos de otros fármacos mediante la administración de las formas de dosificación de la invención. Por ejemplo, varios agentes farmacéuticos resultan en reacciones alérgicas indeseadas que pueden manifestarse como erupción acneiforme o dermatitis relacionada. Los agentes farmacéuticos que tienen dichos efectos secundarios indeseables incluyen fármacos anticancerosos tales como gefitinib, cetuximab, erlotinib y similares. Las formas de dosificación de la invención pueden administrarse sistémicamente en combinación con (por ejemplo, simultáneamente o secuencialmente) el agente farmacéutico que tiene el efecto secundario dermatológico indeseable.

Las enfermedades asociadas con JAK adicionales incluyen inflamación y enfermedades inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias ejemplares incluyen sarcoidosis, enfermedades inflamatorias del ojo (por ejemplo, iritis, uveítis, escleritis, conjuntivitis o una enfermedad relacionada), enfermedades inflamatorias del tracto respiratorio (por ejemplo, el tracto respiratorio superior que incluye la nariz y los senos nasales tales como rinitis o sinusitis o el tracto respiratorio inferior que incluye bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y similares), miopatía inflamatoria tal como miocarditis y otras enfermedades inflamatorias. En algunas modalidades, la enfermedad inflamatoria del ojo es blefaritis.

Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar lesiones por isquemia-reperfusión o una enfermedad o afección relacionada con un episodio isquémico inflamatorio tal como un accidente cerebrovascular o paro cardíaco. Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar un estado de enfermedad desencadenado por endotoxina (por ejemplo, complicaciones después de una revascularización quirúrgica o estados crónicos de endotoxina que contribuyen a una insuficiencia cardíaca crónica). Las formas de dosificación descritas en la presente pueden

utilizarse además para tratar la anorexia, caquexia o fatiga tal como la resultante o asociada con el cáncer. Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar la restenosis, esclerodermatitis o fibrosis. Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar afecciones relacionadas con hipoxia o astrogliosis tales como, por ejemplo, retinopatía diabética, cáncer o neurodegeneración. Véase, por ejemplo, Dudley, A.C. et ál. *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2):427-36 y Sriram, K. et ál. *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 2 de marzo de 2004, las cuales se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia. Los inhibidores de JAK descritos en la presente pueden utilizarse para tratar la enfermedad de Alzheimer.

Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar otras enfermedades inflamatorias tales como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS, por sus siglas en inglés) y choque septicémico.

Las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse adicionalmente para tratar la gota y el tamaño de próstata aumentado debido a, por ejemplo, hipertrofia prostática benigna o hiperplasia prostática benigna.

Las enfermedades asociadas con JAK adicionales incluyen enfermedades de resorción ósea tales como osteoporosis, osteoartritis. La resorción ósea también puede asociarse con otras afecciones tales como desequilibrio hormonal y/o terapia hormonal, enfermedad autoinmunitaria (por ejemplo, sarcoidosis ósea) o cáncer (por ejemplo, mieloma). La reducción de la resorción ósea debido al compuesto de Fórmula I puede ser de alrededor de 10 %, alrededor de 20 %, alrededor de 30 %, alrededor de 40 %, alrededor de 50 %, alrededor de 60 %, alrededor de 70 %, alrededor de 80 % o alrededor de 90 %.

En algunas modalidades, las formas de dosificación descritas en la presente pueden utilizarse además para tratar un trastorno de ojo seco. Tal como se utiliza en la presente, “trastorno de ojo seco” pretende abarcar los estados de enfermedad resumidos en un informe oficial reciente del Taller sobre ojo seco (DEWS, por sus siglas en inglés), que define al ojo seco como “una enfermedad multifactorial de las lágrimas y la superficie ocular que resulta en síntomas de molestias, trastorno visual e inestabilidad de la película lagrimal con daño potencial a la superficie ocular. Va acompañada por una osmolaridad aumentada de la película lagrimal e inflamación de la superficie ocular”. Lemp, “The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification

Subcommittee of the International Dry Eye Workshop”, *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 abril de 2007, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En algunas modalidades, el trastorno de ojo seco se selecciona de ojo seco por falta de secreción acuosa (ADDE, por sus siglas en inglés) o trastorno de ojo seco evaporativo o combinaciones adecuadas. En algunas modalidades, el trastorno de ojo seco es el ojo seco del síndrome de Sjogren (SSDE, por sus siglas en inglés). En algunas modalidades, el trastorno de ojo seco es el ojo seco no relacionado con el síndrome de Sjogren (NSSDE, por sus siglas en inglés).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para tratar la conjuntivitis, uveitis (incluida uveitis crónica), corioditis, retinitis, ciclitis, escleritis, episcleritis o iritis; tratar una inflamación o dolor relacionado con un trasplante de córnea, LASIK (queratomileusis in situ asistida por láser), queratectomía fotorrefractiva o LASEK (queratomileusis subepitelial asistida por láser); inhibir la pérdida de agudeza visual relacionada con el trasplante de córnea, LASIK, queratectomía fotorrefractiva o LASEK; o inhibir el rechazo del trasplante en un paciente que lo necesita, que comprende administrar al paciente una forma de dosificación de la invención.

Adicionalmente, las formas de dosificación descritas de la invención o en combinación con otros inhibidores de JAK, tales como los descritos en el N.º de serie estadounidense 11/637,545, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia, pueden utilizarse para tratar la insuficiencia o falla asociada con la infección viral, tal como influenza y SARS.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona una forma de dosificación tal como se describió en cualquiera de las modalidades proporcionadas en la presente, para uso en un método para tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente. En algunas modalidades, la presente invención proporciona el uso de una forma de dosificación tal como se describió en cualquiera de las modalidades en la presente, para la preparación de un medicamento para uso en un método para tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos en la presente.

En algunas modalidades, la presente invención proporciona una forma de dosificación tal como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para uso en un método para modular JAK1. En algunas modalidades, la presente invención también proporciona el uso de una forma de

dosificación tal como se describe en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para la preparación de un medicamento para uso en un método para modular JAK1.

Tal como se utiliza en la presente, el “individuo” es un humano. En algunas modalidades, el humano es un sujeto adulto.

Tal como se utiliza en la presente, el término “tratar” o “tratamiento” se refiere a uno o más de (1) inhibir la enfermedad; por ejemplo, inhibir una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que sufre o presenta la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, detener el desarrollo adicional de la patología y/o sintomatología); y (2) mejorar la enfermedad; por ejemplo, mejorar una enfermedad, afección o trastorno en un individuo que sufre o presenta la patología o sintomatología de la enfermedad, afección o trastorno (es decir, revertir la patología y/o sintomatología) tal como reducir la gravedad de la enfermedad.

Terapias de combinación

Uno o más agentes farmacéuticos tales como, por ejemplo, quimioterapéuticos, agentes antiinflamatorios, esteroides, inmunosupresores, así como inhibidores de Bcr-Abl, Flt-3, RAF y quinasa FAK tales como, por ejemplo, los descritos en WO 2006/056399, la cual se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia, u otros agentes, pueden utilizarse en combinación con las formas de dosificación descritas en la presente para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones asociadas con JAK. Los uno o más agentes farmacéuticos adicionales pueden administrarse a un paciente simultáneamente o secuencialmente.

Los quimioterapéuticos de ejemplo incluyen inhibidores de proteosoma (por ejemplo, bortezomib), talidomida, revlimid y agentes que dañan el ADN tales como melfalán, doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, etopósido, carmustina y similares.

Los esteroides de ejemplo incluyen corticoesteroides tales como dexametasona o prednisona.

Los inhibidores de Bcr-Abl de ejemplo incluyen los compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de los géneros y especies divulgados en la patente estadounidense N.º 5,521.184, WO 04/005281 y N.º de serie estadounidense 60/578,491, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

Los inhibidores de Flt-3 adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como se divulgan en WO 03/037347, WO 03/099771 y WO 04/046120, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

Los inhibidores de RAF adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como se divulgan en WO 00/09495 y WO 05/028444, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

Los inhibidores de FAK adecuados de ejemplo incluyen compuestos y sus sales farmacéuticamente aceptables, tales como se divulgan en WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 y WO 01/014402, que se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

En algunas modalidades, una o más de las formas de dosificación de la invención pueden utilizarse en combinación con uno o más inhibidores de quinasa distintos incluidos imatinib, particularmente para dirigirse a pacientes resistentes al imatinib u otros inhibidores de quinasa.

En algunas modalidades, una o más formas de dosificación de la invención pueden utilizarse en combinación con un quimioterapéutico en el tratamiento del cáncer, tal como mieloma múltiple, y pueden mejorar la respuesta al tratamiento en comparación con la respuesta al agente quimioterapéutico solo, sin la exacerbación de sus efectos tóxicos. Los ejemplos de agentes farmacéuticos adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple, por ejemplo, pueden incluir, de modo no taxativo, melfalán, melfalán más prednisona [MP], doxorrubicina, dexametasona y Velcade (bortezomib). Otros agentes adicionales utilizados en el tratamiento del mieloma múltiple incluyen inhibidores de Bcr-Abl, Flt-3, RAF y quinasa FAK. Los efectos aditivos o sinérgicos son resultados deseables de la combinación de una forma de dosificación de la presente invención con un agente adicional. Además, la resistencia de las células del mieloma múltiple a agentes tales como dexametasona puede ser reversible tras el

tratamiento con una forma de dosificación de la presente invención. Los agentes pueden combinarse con los compuestos de la presente en una forma de dosificación unitaria o continua, o los agentes pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente como formas de dosificación separadas.

En algunas modalidades, un corticoesteroide tal como dexametasona se administra a un paciente en combinación con la forma de dosificación de la invención, donde la dexametasona se administra intermitentemente en oposición a continuamente.

En algunas modalidades adicionales, las combinaciones de uno o más inhibidores de JAK de la invención con otros agentes terapéuticos pueden administrarse a un paciente antes, durante y/o después de un trasplante de médula ósea o trasplante de células madre.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es acetónido de fluocinolona (Retisert®) o rimexolona (AL-2178, Vexol, Alcon).

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es ciclosporina (Restasis®).

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un corticoesteroide. En algunas modalidades, el corticoesteroide es triamcinolona, dexametasona, fluocinolona, cortisona, prednisolona o flumetolona.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se selecciona de Dehydrex™ (Holles Labs), Civamida (Opko), hialuronato de sodio (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), ciclosporina (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosterona, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), sodio de ecabet (Senju-Ista), gefarnato (Santen), ácido 15-(s)-hidroxieicosatetraenoico (15(S)-HETE), cevilemina, doxiciclina (ALTY-0501, Alacrity), minociclina, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), ciclosporina A (Nova22007, Novagali), oxitetraciclina (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-[6-[(3-yodofenil)metilamino]purin-9-il]-N-metil-oxolano-2-carbamilo, Can-Fite Biopharma), voclosporina (LX212 o LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (análogo de resolvina sintético, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazona (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Opthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritina (Senju),

rebamipida (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (Universidad de Pensilvania y Universidad de Temple), pilocarpina, tacrolimus, pimecrolimus (AMS981, Novartis), loteprednol etabonato, rituximab, dicuafosol tetrasódico (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), deshidroepiandrosterona, anakinra, efalizumab, micofenolato sódico, etanercept (Embrel®), hidroxiclороquina, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), actemra, gemcitabina, oxaliplatino, L-asparaginasa o talidomida.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un agente antiangiógeno, agonista colinérgico, modulador del receptor de TRP-1, bloqueador del canal de calcio, un secretagogo de mucina, estimulante de MUC1, un inhibidor de calcineurina, un corticoesteroide, un agonista del receptor de P2Y2, un agonista del receptor muscarínico, un inhibidor de mTOR, otro inhibidor de JAK, inhibidor de quinasa Bcr-Abl, inhibidor de quinasa Flt-3, inhibidor de quinasa RAF e inhibidor de quinasa FAK tales como, por ejemplo, aquellos descritos en WO 2006/056399, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un derivado de tetraciclina (por ejemplo, minociclina o doxiciclina). En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional se une a FKBP12.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un agente alquilante o agente reticulante de ADN; un agente antimetabolito/desmetilante (por ejemplo, 5-fluorouracil, capecitabina o azacitidina); un terapia antihormonal (por ejemplo, antagonistas del receptor de hormona, SERM o inhibidor de aromotasa); un inhibidor mitótico (por ejemplo, vincristina o paclitaxel); un inhibidor de topoisomerasa (I o II) (por ejemplo, mitoxantrona y irinotecan); inductores apoptóticos (por ejemplo, ABT-737); una terapia con ácido nucleico (por ejemplo, no codificante o ARNi); ligandos de receptor nuclear (por ejemplo, agonistas y/o antagonistas: ácido todo-trans-retinoico o bexaroteno); agente de direccionamiento epigenético tales como inhibidores de histona desacetilasa (por ejemplo, vorinostat), agentes hipometilantes (por ejemplo, decitabina); reguladores de estabilidad proteica tales como inhibidores de Hsp90, ubiquitina y/o moléculas de conjugación o desconjugación similares a ubiquitina; o un inhibidor de EGFR (erlotinib).

En algunas modalidades, el/los agentes terapéuticos adicionales son gotas emolientes para los ojos (también conocidas como “lágrimas artificiales”), que incluyen, de modo no taxativo, composiciones que contienen alcohol polivinílico,

hidroxipropil metilcelulosa, glicerina, polietilenglicol (por ejemplo, PEG400) o carboximetilcelulosa. Las lágrimas artificiales pueden ayudar en el tratamiento del ojo seco compensando la capacidad de humectación y lubricación reducida de la película lagrimal. En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un fármaco mucolítico, tal como N-acetil-cisteína, que puede interactuar con las mucoproteínas y, por consiguiente, disminuir la viscosidad de la película lagrimal.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional incluye un antibiótico, antiviral, antimicótico, anestésico, agentes antiinflamatorios incluidos antiinflamatorios esteroides y no esteroides y agentes antialérgicos. Los ejemplos de medicamentos adecuados incluyen aminoglucósidos tales como antibiótico amikacina, gentamicina, tobramicina, estreptomina, netilmicina y kanamicina; fluoroquinolonas tales como ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacina, trovafloxacina, lomefloxacina, levofloxacina y enoxacina; naftiridina; sulfonamidas; polimixina; cloranfenicol; neomicina; paramomicina; colistimetato; bacitracina; vancomicina; tetraciclinas; rifampina y sus derivados ("rifampinas"); cicloserina; beta-lactamas; cefalosporinas; amfotericinas; fluconazol; flucitosina; natamicina; miconazol; cetoconazol; corticosteroides; diclofenac; flurbiprofen; cetorolac; suprofen; cromolina; lodoxamida; levocabastina; nafazolina; antazolina; feniramina; o azalida.

También se aprecia que determinadas características de la invención, que, con fines de claridad, se describen en el contexto de las modalidades, también se pueden proporcionar en combinación en una única modalidad (tal como si las modalidades de la memoria descriptiva estuvieran escritas como reivindicaciones dependientes múltiples).

Ejemplo 1. Preparación de formulaciones de liberación prolongada

Se prepararon comprimidos de liberación prolongada con los excipientes en las cantidades que se muestran en la tabla más adelante. Se utilizó el protocolo A para los comprimidos SR1, se utilizó el protocolo B para los comprimidos SR2, se utilizó el protocolo C para los comprimidos SR3 y los comprimidos SR de 25 mg y se utilizó el protocolo D para los comprimidos SR4.

Protocolo A:

Etapas 1. Tamizar individualmente la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la celulosa microcristalina, las hipromelosas (Methocel K100 LV y

Methocel K4M) y el monohidrato de lactosa.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 a un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Transferir los gránulos de la Etapa 4 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 6. Tamizar los gránulos de la Etapa 5.

Etapa 7. Mezclar el estearato de magnesio tamizado con gránulos de la Etapa 6 en una mezcladora adecuada.

Etapa 8. Comprimir la mezcla final de la Etapa 7 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

Protocolo B:

Etapa 1. Tamizar individualmente la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la celulosa microcristalina, la hipromelosa y el almidón pregelatinizado.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Transferir los gránulos de la Etapa 4 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 6. Tamizar los gránulos de la Etapa 5.

Etapa 7. Tamizar individualmente poliox, hidroxitolueno butilado y dióxido de

silicona coloidal.

Etapa 8. Transferir los gránulos de la Etapa 6 y el material de la Etapa 7 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 9. Agregar estearato de magnesio tamizado al material de la Etapa 8 y continuar mezclando.

Etapa 10. Comprimir la mezcla final de la Etapa 9 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

Protocolo C:

Etapa 1. Tamizar individualmente monohidrato de lactosa, la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la celulosa microcristalina, las hipromelosas a través de un tamiz adecuado.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 a un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Tamizar los gránulos húmedos a través de un tamiz adecuado.

Etapa 6. Transferir los gránulos de la Etapa 5 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 7. Moler los gránulos de la Etapa 6.

Etapa 8. Mezclar el estearato de magnesio tamizado con gránulos de la Etapa 7 en una mezcladora adecuada.

Etapa 9. Comprimir la mezcla final de la Etapa 8 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

Protocolo D:

Etapa 1. Tamizar individualmente almidón pregelatinizado, la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I, la hipromelosa y una porción de celulosa microcristalina requerida a través de un tamiz adecuado.

Etapa 2. Transferir el material tamizado de la Etapa 1 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 3. Transferir la mezcla de la Etapa 2 a un granulador adecuado y mezclar.

Etapa 4. Agregar agua purificada mientras se mezcla.

Etapa 5. Tamizar los gránulos húmedos a través de un tamiz adecuado.

Etapa 6. Transferir los gránulos de la Etapa 5 a un secador adecuado y secar hasta que el LOD sea menor que 3 %.

Etapa 7. Moler los gránulos de la Etapa 6.

Etapa 8. Tamizar la porción restante de celulosa microcristalina y mitad del bicarbonato de sodio.

Etapa 9. Transferir los gránulos molidos de la Etapa 7 y los materiales tamizados de la Etapa 8 a una mezcladora adecuada y mezclar.

Etapa 10. Tamizar la porción restante del bicarbonato de sodio y mezclar con la mezcla de la Etapa 9.

Etapa 11. Tamizar el estearato de magnesio y mezclar con la mezcla de la Etapa 10.

Etapa 12. Comprimir la mezcla final de la Etapa 11 en una prensa de comprimidos rotatoria adecuada.

SR1: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,42 ^a	21,1
Celulosa microcristalina	Carga	60,0	10,0
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Control de liberación	60,0	10,0
Hipromelosa (Methocel K4M)	Control de liberación	60,0	10,0
Monohidrato de lactosa	Carga	290,58	48,4
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada ^c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		600,0	100

a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911

b Agregado después de la granulación

c Retirado durante el procesamiento

SR2: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,4 ^a	21,1
Celulosa microcristalina	Carga	180,0	30,0
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Aglutinante	6,0	1,0
Óxido de polietileno (Polyox WRS 1105) ^b	Control de liberación	180,0	30,0
Almidón pregelatinizado	Carga	101,6	16,9
Dióxido de sílica coloidal ^b	Deslizante	3,0	0,5
Hidroxitolueno butilado ^b	Antioxidante	0,012	0,002
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada ^c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		600,0	100,0

a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911

b Agregado después de la granulación

c Retirado durante el procesamiento

SR3 (100 mg): Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,4 ^a	21,1
Celulosa microcristalina	Carga	108,0	18,0
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Control de liberación	42,0	7,0
Hipromelosa (Methocel K4M)	Control de liberación	30,0	5,0
Monohidrato de lactosa	Carga	290,6	48,4
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada ^c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		600,0	100,0

- a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911
- b Agregado después de la granulación
- c Retirado durante el procesamiento

SR4: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 100 mg

Excipiente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	126,4 ^a	21,1
Celulosa microcristalina ^d	Carga	104,6	17,4
Hipromelosa (Methocel K100LV)	Control de liberación	210,0	35,0
Almidón pregelatinizado	Carga	60,0	10,0
Bicarbonato de sodio ^b	Auxiliar de flotación gástrica	96,0	16,0
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	3,0	0,5
Agua purificada ^c	Líquido de granulación	c.s.	--
Total		600,0	100,0

- a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911
- b Agregado después de la granulación
- c Retirado durante el procesamiento
- d Agregado parcialmente antes y agregado parcialmente después de la granulación

SR de 25mg: Composición de comprimidos de liberación prolongada de 25 mg

Componente	Función	Peso (mg/comprimido)	Composición (% en p)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I ^a	Ingrediente activo	31,6 ^a	12,6
Celulosa microcristalina	Carga	105,0	42,0
Hipromelosa, (Methocel K100LV)	Control de liberación	25,0	10,0
Hipromelosa, (Methocel K4M)	Control de liberación	25,0	10,0
Monohidrato de lactosa	Carga	62,15	24,9
Estearato de magnesio ^b	Lubricante	1,25	0,5
Agua purificada ^c	Líquido granulador	c.s.	--
Total		250	100,0

- a El factor de conversión para la sal de adipato con respecto a la base libre es 0,7911
- b Agregado después de la granulación
- c Retirado durante el procesamiento

Ejemplo 2. Preparación de la formulación IR del Compuesto de Fórmula I

La formulación IR utilizada en los estudios en el Ejemplo 3 se preparó como cápsulas de 50 mg con la composición que se muestra en la tabla más adelante de acuerdo con el protocolo E a continuación.

Protocolo E:

- Etapa 1. Premezclar la cantidad requerida de la sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I y una cantidad aproximadamente igual de celulosa microcristalina silificada (SMCC, por sus siglas en inglés).
- Etapa 2. Pasar la mezcla de la Etapa 1 a través de un tamiz adecuado (por ejemplo malla 40).
- Etapa 3. Tamizar la SMCC restante a través del mismo tamiz utilizado en la Etapa 2.
- Etapa 4. Mezclar la SMCC tamizada de la Etapa 3 junto con la mezcla de la

Etapa 2 en una mezcladora adecuada (por ejemplo mezcladora Turbula) durante aproximadamente 5 minutos.

Etapa 5. Colocar la mezcla en cápsulas hasta el peso de carga deseado.

INGREDIENTE	PESO DE COMPOSICIÓN (%)	CANTIDAD POR UNIDAD (mg)
Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I	35,11	63,20*
Celulosa microcristalina silificada, NF (Prosolv SMCC HD 90)	64,89	116,80
TOTAL	100,00 %	180,00
Cápsulas No. 2, Gelatina dura, Blanco opaco	NA	1 cada uno

* Sal de ácido adípico del compuesto de Fórmula I con un factor de conversión de sal de 0,7911

Ejemplo 3. Estudio de biodisponibilidad relativa de formas de dosificación de liberación prolongada

Participaron un total de 72 sujetos adultos sanos en 6 cohortes (12 sujetos por cohorte) y se seleccionaron de manera aleatoria para la secuencias de tratamiento dentro de cada cohorte de acuerdo con un programa de selección aleatoria. Todos los tratamientos fueron administraciones de única dosis del compuesto de Fórmula I. Hubo un período de reposo de 7 días entre los períodos de tratamiento.

Las formulaciones SR1, SR2, SR3 y SR4 se evaluaron en la Cohorte 1, Cohorte 2, Cohorte 3 y Cohorte 4, respectivamente (véase el Ejemplo 1 para los comprimidos SR1, SR2, SR3, SR4 y SR de 25 mg utilizados en el estudio). Los sujetos recibieron los tratamientos IR y SR de acuerdo con un diseño cruzado de 3 vías:

Tratamiento A: Administración por vía oral de 300 mg (6 × comprimidos de 50 mg) de formulación IR del compuesto de Fórmula I después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento B: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg) de formulación SR del compuesto de Fórmula I después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento C: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg) de formulación SR del compuesto de Fórmula I después de ingesta de alimento con alto contenido de grasas.

Los sujetos en la Cohorte 5 recibieron los siguientes tratamientos en un diseño cruzado de 2 vías:

Tratamiento A: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg del compuesto de Fórmula I) de SR3 después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento B: Administración por vía oral de 300 mg (3 × comprimidos de 100 mg de compuesto de Fórmula I) de SR3 después de ingesta de alimento con contenido medio de grasas.

Los sujetos en la Cohorte 6 recibieron los siguientes tratamientos en un diseño cruzado de 3 vías:

Tratamiento A: Administración por vía oral de 50 mg (2 × comprimidos de 25 mg del compuesto de Fórmula I (comprimidos SR de 25 mg del Ejemplo 1)) después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Tratamiento B: Administración por vía oral de 50 mg (2 × comprimidos de 25 mg del compuesto de Fórmula I (comprimidos SR de 25 mg del Ejemplo 1)) después de ingesta de alimento con alto contenido de grasas.

Tratamiento C: Administración por vía oral de 100 mg (1 × comprimidos de 100 mg) de SR3 después de ayuno durante toda la noche de al menos 10 horas.

Se recogieron muestras de sangre para la determinación de las concentraciones en plasma del compuesto de Fórmula I utilizando tubos con tapones de color lavanda (K2EDTA) Vacutainer® a 0, 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36 y 48 horas después de la dosis.

Las muestras de plasma se sometieron a ensayo mediante un método GLP, LC/MS/MS validado con un rango lineal de 5,0 a 5000 nM. La Tabla 1 resume la exactitud y precisión (% de CV) de las muestras de control de la calidad del

ensayo durante el análisis de las muestras de plasma de este estudio.

Tabla 1: Exactitud y precisión de las muestras de control de calidad del ensayo de plasma.

	---- CC Bajo ----			--- CC Medio ---			---- CC Alto ---		
Analito (Unidad)	Teo	Exactitud	% CV	Teo	Exactitud	% CV	Teo	Exactitud	% CV
Compuest o de Fórmula I	15,0	99,0 %	4,6 %	250	101 %	4,2 %	4000	99,5 %	2,2 %

% de CV = porcentaje de coeficiente de variabilidad; CC = control de calidad; Teo = concentración teórica o nominal.

Para el análisis PK, se utilizaron los tiempos de recolección de muestras reales. Para cualquier muestra con un tiempo de recolección real faltante, se utilizó el tiempo programado siempre que no se notase una desviación del protocolo para la recolección de estas muestras.

Se utilizaron métodos PK no compartimentales convencionales para analizar los datos para la concentración en plasma del compuesto de Fórmula Phoenix WinNonlin versión 6.0 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). Por lo tanto, $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$ se tomaron directamente de los datos de concentración en plasma observados. La constante de tasa de disposición de fase terminal (λ_z) se estimó utilizando una regresión lineal log de los datos de concentración en la fase de disposición terminal y se estimó $t_{1/2}$ como $\ln(2)/\lambda_z$. La AUC_{0-t} se estimó utilizando la regla trapezoidal lineal para concentraciones crecientes y la regla trapezoidal-log para concentraciones decrecientes, y se calculó la $AUC_{0-\infty}$ total como $AUC_{0-t} + C_t/\lambda_z$. El aclaramiento de la dosis oral (CL/F) se estimó como $Dosis/AUC_{0-\infty}$, y el volumen de distribución de la fase terminal (V_z/F) se estimó como $Dosis/[AUC_{0-\infty} * \lambda_z]$.

La $C_{m\acute{a}x}$ transformada por log y los valores de AUC (después de la normalización de dosis, cuando las dosis eran diferentes) se compararon entre los tratamientos de dosificación en ayuno y con alimentación, y entre los tratamientos de dosificación SR y IR, utilizando un ANOVA cruzado (factor fijo = tratamiento, secuencia y período, efecto aleatorio = sujeto (secuencia)). Se determinaron las

relaciones medias geométricas ajustadas de $C_{m\acute{a}x}$ y AUC entre los tratamientos (referencia = IR o administración en ayuno de SR) y los correspondientes intervalos de confianza del 90 % (IC). Además, se exploraron la correlación entre el efecto observado de la alimentación con un alimento con alto contenido de grasas en la $AUC_{0-\infty}$ y la biodisponibilidad relativa de las formulaciones SR (en referencia a la cápsula IR) mediante un diagrama cuantil utilizando los datos de todos los sujetos que completaron el Tratamiento A, B y C en las Cohortes 1 a 4. El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando Phoenix WinNonlin versión 6.0.

La FIGURA 1 presenta las concentraciones en plasma del compuesto de Fórmula I (media $\pm$ SE) para los sujetos en las Cohortes 1 a 4 luego del Tratamiento A (administración IR de 300 mg en estado de ayuno), Tratamiento B (administración SR de 300 mg en estado de ayuno) y Tratamiento C (administración SR de 300 mg con ingesta de alimento con alto contenido de grasas). La FIGURA 2 compara el efecto de un alimento con alto contenido de grasas y un alimento con contenido medio de grasas en el perfil PK medio luego de la administración de una única dosis de 300 mg (3×100 mg) del compuesto de Fórmula I en comprimidos SR3. La FIGURA 3 presenta las concentraciones en plasma del compuesto de Fórmula I (media $\pm$ SE) para los sujetos en la Cohorte 6 luego del Tratamiento A (administración de comprimido SR $2 \times$ de 25 mg en estado de ayuno), Tratamiento B (administración de comprimido SR $2 \times$ de 25 mg con ingesta de un alimento con alto contenido de grasas) y Tratamiento C (administración de 1×100 mg SR3 en estado de ayuno).

Las Tablas 2A, 2B, 3A, y 3B resumen los parámetros PK medios para sujetos en las Cohortes 1 a 4, la biodisponibilidad relativa (referencia = cápsula IR) y el efecto del alimento (alto contenido de grasas) para los comprimidos SR1-SR4 con potencia de 100 mg. Las Tablas 4A y 4B resumen los parámetros PK medios para sujetos en la Cohorte 5 y el efecto del alimento (contenido medio de grasas) para el comprimido SR3 con potencia de 100 mg. Las Tablas 5A y 5B resumen los parámetros PK medios para sujetos en la Cohorte 6, la biodisponibilidad relativa de la dosis normalizada (referencia = comprimido SR3 de 100 mg) y el efecto del alimento (alto contenido de grasas) para el comprimido SR de 25 mg.

Tabla 2A

Cohorte/Tratamiento	n	C _{máx} (μM)	T _{máx} (h)	C _{máx} /C _{12h}	t _½ (h)
Cohorte 1					
300 mg IR (en ayuno)	12	2,29 ± 0,50 2,24	1,0 (0,50-2,0)	197 ± 147 159	2,0 ± 0,27 2,0
300 mg SR1 (en ayuno)	12	0,341 ± 0,13 0,317	1,3 (0,50-3,0)	13,2 ± 7,8 11,6	9,2 ± 4,5 8,3
300 mg SR1 (alimento con alto contenido de grasas)	12	0,610 ± 0,14 0,595	4,0 (2,0-8,0)	18,0 ± 6,4 16,8	3,2 ± 1,4 3,0
Cohorte 2					
300 mg IR (en ayuno)	12	2,05 ± 0,67 1,92	1,0 (0,50-3,0)	130 ± 72,9 112	2,1 ± 0,34 2,1
300 mg SR2 (en ayuno)	12	0,191 ± 0,10 0,172	2,5 (1,0-4,0)	11,4 ± 9,9 8,60	11 ± 8,4 9,23
300 mg SR2 (alimento con alto contenido de grasas)	12	0,470 ± 0,16 0,443	6,0 (1,5-6,0)	11,0 ± 4,0 10,4	3,5 ± 2,6 3,0
Cohorte 3					
300 mg IR (en ayuno)	11	2,35 ± 0,41 2,31	1,0 (0,50-2,0)	136 ± 70,8 120	2,2 ± 0,53 2,2
300 mg SR3 (en ayuno)	11	0,553 ± 0,24 0,502	1,5 (0,50-3,0)	22,9 ± 13,4 19,3	9,8 ± 8,5 7,2
300 mg SR3 (alimento con alto contenido de grasas)	12	1,05 ± 0,47 0,968	4,0 (1,5-8,0)	34,9 ± 15,8 30,8	3,3 ± 1,2 3,1
Cohorte 4					
300 mg IR (en ayuno)	12	2,94 ± 0,98 2,78	1,0 (0,25-1,5)	170 ± 58,6 162	2,1 ± 0,58 2,1
300 mg SR4 (en ayuno)	12	0,321 ± 0,27 0,249	2,0 (1,5-8,1)	10,3 ± 6,0 8,92	7,3 ± 5,3 6,0
300 mg SR4 (alimento con alto contenido de grasas)	12	0,549 ± 0,28 0,481	4,0 (2,0-16)	12,8 ± 14,8 6,06	4,9 ± 2,6 4,4

Tabla 2B

Cohorte/Tratamiento	AUC _{0-t} (μM*h)	AUC _{0-∞} (μM*h)	CL/F (L/h)
Cohorte 1			
300 mg IR	4,43 ± 1,00	4,45 ± 1,00	127 ± 27,1
(en ayuno)	4,33	4,35	124
300 mg SR1	1,55 ± 0,54	1,65 ± 0,54	359 ± 106
(en ayuno)	1,47	1,57	345
300 mg SR1	2,88 ± 0,65	2,91 ± 0,65	194 ± 39,9
(alimento con alto contenido de grasas)	2,82	2,85	190
Cohorte 2			
300 mg IR	4,45 ± 1,36	4,47 ± 1,36	134 ± 50,1
(en ayuno)	4,24	4,27	127
300 mg SR2	1,00 ± 0,37	1,17 ± 0,43	510 ± 148
(en ayuno)	0,95	1,11	488
300 mg SR2	2,48 ± 0,70	2,52 ± 0,72	235 ± 83,5
(alimento con alto contenido de grasas)	2,38	2,42	224
Cohorte 3			
300 mg IR	5,00 ± 1,33	5,03 ± 1,34	115 ± 32,4
(en ayuno)	4,83	4,87	111
300 mg SR3	2,28 ± 0,71	2,39 ± 0,70	248 ± 82,8
(en ayuno)	2,17	2,29	236
300 mg SR3	3,55 ± 1,13	3,59 ± 1,13	165 ± 50,2
(alimento con alto contenido de grasas)	3,40	3,44	158
Cohorte 4			
300 mg IR	5,23 ± 2,16	5,25 ± 2,15	117 ± 39,8
(en ayuno)	4,88	4,90	111
300 mg SR4	1,61 ± 1,23	1,70 ± 1,25	456 ± 259
(en ayuno)	1,31	1,40	387
300 mg SR4	3,00 ± 1,17	3,13 ± 1,20	200 ± 80,0
(alimento con alto contenido de grasas)	2,78	2,92	186

Tabla 3ª

Cohorte/Tratamiento	C _{máx} (μM)	T _{máx} (h)	C _{máx} / C _{12h}	t _{1/2} (h)
SR1 en ayuno vs IR	14,2 % (11,4 %-17,5 %)			
SR1 alimentado vs en ayuno	188 % (152 %-232 %)			
SR2 en ayuno vs IR	8,9 % (6,7 %-11,9 %)			
SR2 alimentado vs en ayuno	258 % (193 %-344 %)			
SR3 en ayuno vs IR	22,3 % (17,4 %-28,6 %)			
SR3 alimentado vs en ayuno	191 % (150 %-244 %)			
SR4 en ayuno vs IR	9,0 % (6,8 %-11,9 %)			
SR4 alimentado vs en ayuno	193 % (146 %-256 %)			

*Los valores del parámetro PK son media ± SD y media geométrica excepto por T_{máx}, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 3B

Cohorte/Tratamiento	AUC _{0-t} (μM*h)	AUC _{0-∞} (μM*h)	CL/F (L/h)
Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %			
SR1 en ayuno vs IR	34,1 % (31,3 %-37,0 %)	36,1 % (33,3 %-39,2 %)	
SR1 alimentado vs en ayuno	191 % (176 %-208 %)	181 % (167 %-196 %)	
SR2 en ayuno vs IR	22,4 % (18,3 %-27,4 %)	26,0 % (21,6 %-31,3 %)	
SR2 alimentado vs en ayuno	250 % (204 %-306 %)	218 % (181 %-262 %)	
SR3 en ayuno vs IR	45,4 % (39,6 %-52,0 %)	47,5 % (41,9 %-53,9 %)	
SR3 alimentado vs en ayuno	151 % (132 %-173 %)	145 % (128 %-164 %)	
SR4 en ayuno vs IR	26,9 % (21,6 %-33,4 %)	28,5 % (23,2 %-35,1 %)	
SR4 alimentado vs en ayuno	213 % (171 %-264 %)	215 % (172 %-268 %)	

*Los valores del parámetro PK son media ± SD y media geométrica excepto por T_{máx}, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 4A

Cohorte/Tratamiento	n	C _{máx} (μM)	T _{máx} (h)	C _{máx} /C _{12h}	t _½ (h)
Cohorte 5					
300 mg SR3 (en ayuno)	12	0,619 ± 0,41 0,523	1,75 (0,50-4,0)	22,8 ± 16,7 17,8	7,7 ± 5,2 6,2
300 mg SR3 (alimento con contenido medio de grasas)	12	0,875 ± 0,47 0,764	2,5 (1,5-6,0)	40,6 ± 22,7 31,2	3,6 ± 2,0 3,3
Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %					
SR3 alimentado vs en ayuno		146 % (105 %-202 %)			

*Los valores del parámetro PK son media ± SD y media geométrica excepto por T_{máx}, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 4B

Cohorte/Tratamiento	AUC _{0-t} (μM*h)	AUC _{0-∞} (μM*h)	CL/F (L/h)
Cohorte 5			
300 mg SR3 (en ayuno)	2,46 ± 1,13 2,23	2,58 ± 1,12 2,36	251 ± 105 230
300 mg SR3 (alimento con contenido medio de grasas)	2,98 ± 1,34 2,72	3,02 ± 1,35 2,76	215 ± 94.2 196
Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %			
SR3 alimentado vs en ayunos	122 % (102 %-146 %)	117 % (99,9 %-137 %)	

* Los valores del parámetro PK son media ± SD y media geométrica excepto por T_{máx}, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 5A

Cohorte/Tratamiento	n	C _{max} (nM)	T _{max} (h)	C _{max} /C _{12h}	t _½ (h)
Cohorte 6					
2 × 25 mg SR3 (en ayuno)	12	55,1 ± 30,3 48,0	1,3 (0,50-4,0)	NR	4,0 ± 2,6 3,4
2 × 25 mg SR3 (alimento con alto contenido de grasas)	12	80,3 ± 27,3 76,7	3,0 (1,5-6,0)	NR	2,2 ± 0,4 2,2
1 × 100 mg SR3 (en ayuno)	11	174 ± 69,5 161	1,8 (0,50-4,0)	NR	3,0 ± 1,3 2,7
Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %					
2 × 25 mg SR3 alimentado vs en ayuno		160 % (129 %-199 %)			
2 × 25 mg SR3 vs 1 × 100 mg SR3 (en ayuno)		58,7 % ¹⁾ (46,9 %-73,5 %)			

NC= no se calculó debido a números significativos de T_{last} mal emparejados dentro de los sujetos entre tratamientos; NR= No se informó debido a que los números

significativos de valores C_{12h} fueron BQL. Los valores del parámetro PK son media $\pm$ SD y media geométrica excepto por $T_{m\acute{a}x}$, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

ⁱ⁾La comparación estadística se normalizó según la dosis significativos de valores C_{12h} fueron BQL. Los valores del parámetro PK son media $\pm$ SD y media geométrica excepto por $T_{m\acute{a}x}$, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

Tabla 5B

Cohorte/Tratamiento	AUC _{0-t} (nM*h)	AUC _{0-∞} (nM*h)	CL/F (L/h)
Cohorte 6			
2 × 25 mg SR3 (en ayuno)	205 ± 103 183	243 ± 99,9 226	429 ± 167 400
2 × 25 mg SR3 (alimento con alto contenido de grasas)	333 ± 104 319	376 ± 94,6 366	253 ± 57.7 247
1 × 100 mg SR3 (en ayuno)	671 ± 230 639	704 ± 230 673	280 ± 81.5 268
Media geométrica respecto de la biodisponibilidad y los intervalos de confianza de 90 %			
2 × 25 mg SR3 alimentado vs en ayuno	174 % (150 %-202 %)	158 % (138 %-182 %)	
2 × 25 mg SR3 vs 1 × 100 mg SR3 (en ayuno)	NC	66,1 % ^a (57,5 %-75,9 %)	

NC= no se calculó debido a números significativos de T_{last} mal emparejados dentro de los sujetos entre tratamientos; NR= No se informó debido a que los números significativos de valores C_{12h} fueron BQL. Los valores del parámetro PK son media $\pm$ SD y media geométrica excepto por $T_{m\acute{a}x}$, donde se informa el (intervalo de confianza de 90 %) mediano.

ⁱ⁾La comparación estadística se normalizó según la dosis

Los perfiles PK medios luego de la administración en ayuno de una única dosis de cápsulas IR de 300 mg fueron similares entre los sujetos en las Cohortes 1 a 4 (FIGURA 1). En comparación con la formulación IR, luego de la administración en ayuno de una única dosis de las formulaciones SR1-SR4 (3 × comprimidos de 100 mg), los valores de $T_{m\acute{a}x}$ medios en plasma observados fueron moderadamente prolongados (de 0,3 a 1,5 horas) con valores de $C_{m\acute{a}x}$ media considerablemente reducidos (los límites superiores del IC de 90 % para las relaciones de $C_{m\acute{a}x}$ media geométricas fueron < 30 %), lo cual sugiere una tasa de absorción reducida del compuesto de Fórmula I para los comprimidos SR. El $t_{1/2}$ de disposición aparente

medio observado en la fase terminal fue considerablemente más prolongado, oscilando de 7,3 a 11 horas para SR1-SR4, en comparación con alrededor de 2 horas para la cápsula IR, lo cual indica que la eliminación sistémica del compuesto de Fórmula I fue probablemente limitada por la tasa de su absorción, que fue prolongada en la fase de disposición terminal. Como resultado de la $C_{\text{máx}}$ más baja y un $t_{1/2}$ de disposición más prolongado, las relaciones $C_{\text{máx}}/C_{12\text{h}}$ fueron considerablemente más bajas para los comprimidos SR en comparación con la cápsula IR para los mismos sujetos estudiados. Las relaciones $C_{\text{máx}}/C_{12\text{h}}$ medias geométricas fueron 11,6, 8,6, 19,3 y 8,9 veces, respectivamente, para los comprimidos SR1, SR2, SR3 y SR4, en comparación con 112 a 162 veces para las cápsulas IR administradas en estado de ayuno.

Para la administración en estado de ayuno, los 4 comprimidos SR exhibieron biodisponibilidad relativa reducida en comparación con la cápsula IR dosificada a los mismos sujetos. Las relaciones medias geométricas porcentuales (IC de 90 %) de $C_{\text{máx}}$ fueron 14,2 % (11,4 %-17,5 %), 8,9 % (6,7 %-11,9 %), 22,3 % (17,4 %-28,6 %) y 9,0 % (6,8 %-11,9 %) para SR1, SR2, SR3 y SR4, respectivamente. Las relaciones medias geométricas porcentuales (IC de 90 %) de $AUC_{0-\infty}$ fueron 36,1 % (33,3 %-39,2 %), 26,0 % (21,6 %-31,3 %), 47,5 % (41,9 %-53,9 %) y 28,5 % (23,2 %-35,1 %) para SR1, SR2, SR3 y SR4, respectivamente. SR3 y SR1 demostraron la mejor y la segunda mejor biodisponibilidad relativa, respectivamente, entre las formulaciones SR evaluadas.

En la dosificación en estado de ayuno, la variabilidad intersujeto tal como se midió por el porcentaje de coeficiente de variabilidad (% de CV) en la exposición al plasma fue considerablemente más alta para la formulación de gastrorretención SR4, pero comparable entre los 3 comprimidos SR convencionales diseñados para liberación intestinal. El %CV intersujeto para el comprimido SR1 de 100 mg fue de 39 % y 33 % para $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. El % de CV intersujeto para el comprimido SR2 de 100 mg fue de 50 % y 37 % para $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. El % de CV intersujeto para el comprimido SR3 de 100 mg fue de 43 % y 29 % para $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. El % de CV intersujeto para el comprimido SR4 de 100 mg fue de 83 % y 73 % para $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente. Al agrupar a todos los sujetos en las Cohortes 1-5 ($n = 59$) a los que se administraron 300 mg IR en estado de ayuno, el % de CV intersujeto fue de 49 % y 39 % para $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$, respectivamente, comparables con los valores de % de CV observados para SR1, SR2 y SR3.

Se observó un efecto de la alimentación positivo para todas las formulaciones SR estudiadas en el nivel de dosis de 300 mg (3×100 mg). Con la administración después de la ingesta de un alimento con alto contenido de grasas, los valores medios geométricos de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$ aumentaron en 88 % y 81 %, respectivamente, para SR1; en 158 % y 118 %, respectivamente; para SR2; en 91 % y 45 %; respectivamente; para SR3; y en 93 % y 115 %; respectivamente; para SR4. El efecto de la alimentación fue moderado para un alimento con contenido medio de grasas en comparación con un alimento con alto contenido de grasas, tal como lo sugieren los datos para SR3 en la Cohorte 5. Para SR3, los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$ aumentaron en 46 % y 17 %, respectivamente, cuando se administró luego de una alimentación estandarizada con contenido medio de grasas. La administración con alimentos no cambió considerablemente el % de CV intersujeto en la exposición del plasma al compuesto de Fórmula I para SR1, SR2 y SR3, que son formulaciones SR diseñadas para liberación intrainestinal. Para SR4, que es una formulación SR de gastrorretención, el %CV intersujeto en las exposiciones al plasma pareció reducirse considerablemente con una alimentación con alto contenido de grasas concomitante.

Este estudio también exploró la biodisponibilidad relativa normalizada por dosis del comprimido SR de 25 mg en referencia al comprimido SR3 de 100 mg. Para los sujetos de la Cohorte 6, la relación media geométrica porcentual normalizada por dosis de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$ para el tratamiento con $2 \times$ SR3 de 25 mg fue de 59 % y 66 %, respectivamente, con respecto a la administración de $1 \times$ SR3 de 100 mg en estado en ayuno. Sin embargo, debido a la relación de exposición a dosis supralineal para el compuesto de Fórmula I, la biodisponibilidad relativa del comprimido SR de 25 mg puede ser subestimada. Para la dosis de $2 \times$ SR de 25 mg, un alimento con alto contenido de grasas aumento los valores de $C_{\text{máx}}$ y $AUC_{0-\infty}$ del compuesto de Fórmula I en 60 % y 58 %, respectivamente.

Para las cuatro formulaciones SR evaluadas, el $t_{1/2}$ de disposición aparente observado fue comparable, y las relaciones $C_{\text{máx}}/C_{12h}$ de una administración de única dosis en ayuno (que se usa como un sustitutivo para la relación P/T de la administración dos veces al día) fueron similares entre SR1, SR2 y SR4 (~10 veces) y moderadamente más altas para SR3 (~20 veces). En general, las 4 formulaciones SR demostraron un perfil PK considerablemente más plano en comparación con la cápsula IR, alcanzando un objetivo importante para la liberación prolongada. La biodisponibilidad de los productos farmacológicos

administrados por vía oral puede definirse como la tasa y medida de la absorción del fármaco en la circulación sistémica. Una reducción en la tasa de absorción del fármaco al limitar la tasa de liberación del fármaco de los productos farmacológicos es un requisito de diseño en las formulaciones de liberación prolongada. Por lo tanto, para las formulaciones SR, la medida de la absorción del compuesto de Fórmula I tal como se mide por la $AUC_{0-\infty}$ en plasma, se utiliza como criterio de valoración primario para evaluar la biodisponibilidad relativa. Por consiguiente, la biodisponibilidad relativa media es similar entre SR2 (26 %) y SR4 (29 %), la cual fue ligeramente más baja que la de SR1 (36 %). La mejor biodisponibilidad relativa se observó para SR3 (48 %). Los resultados concuerdan con los perfiles de disolución *in vitro* obtenidos antes de llevar a cabo este estudio.

Hubo una correlación inversa aparente entre el efecto de la alimentación y la biodisponibilidad relativa para las formulaciones SR. En promedio, dosificado con un alimento con alto contenido de grasas, el efecto de la alimentación medido por el aumento en la $AUC_{0-\infty}$ fue mayor para SR2 (118 %) y SR4 (115 %), el cual fue más bajo que para SR1 (81 %). El efecto de la alimentación más bajo se observó para SR3 (45 %). Esta correlación también fue aparente cuando se agruparon los datos de todos los sujetos. Un diagrama cuantil utilizando los datos individuales agrupados (divididos en 5 grupos con 9 sujetos por grupo) sugiere que el efecto de la alimentación fue más significativo (aumento de > 2 veces en AUC) para los sujetos con biodisponibilidad relativa menos que 35 %, independientemente de la formulación. El efecto de la alimentación fue moderado (~50 % o un aumento menor en AUC) para los sujetos con biodisponibilidad relativa mayor que 40 %, independientemente de la formulación. SR3 proporcionó una biodisponibilidad relativa media de 48 % y probablemente se asocia con un efecto de la alimentación moderado. De hecho, cuando se dosificó el comprimido SR3 (3 × 100 mg) con un alimento con contenido medio de grasas (que es una dieta diaria más típica), el aumento observado en la $AUC_{0-\infty}$ geométrica media fue de solo 17 %, lo cual sugiere que esta formulación puede administrarse independientemente de los alimentos con contenido medio o bajo de grasas. Desde la perspectiva de evitar un efecto de la alimentación significativo, SR3 es superior a las otras formulaciones.

Ejemplo 4. Resultados clínicos en Fase 2a en pacientes con artritis reumatoide activa (RA)

Una parte inicial de 28 días del estudio se llevó a cabo a efectos de seleccionar las

dosis que continuaban, guiando la selección de dosis para la segunda parte del estudio de 3 meses. La Parte 2 del estudio fue se realizó de manera aleatoria, doble ciego, controlada con placebo (patrocinador abierto) con tratamiento durante 84 días. Sesenta sujetos para seleccionar de manera aleatooria, utilizando la misma población que en la Parte 1: cohorte única, cinco grupos de tratamiento paralelos, 12 sujetos en cada uno: comprimidos SR3 de 100 mg BID; 300 mg (3 x comprimidos SR3 de 100 mg) QD; 200 mg (2 x comprimidos SR3 de 100 mg) BID; 600 mg (6 x comprimidos SR3 de 100 mg) QD; y placebo. Se enviaron los datos intermedios al ACR (American College of Rheumatology) 2013 (n=40 sujetos que completaron hasta el día 84). Los puntajes de ACR a los 3 meses se muestran en la Tabla 6. Las puntuaciones ACR para los 600 mg QD no tienen precedentes en comparación con otros inhibidores de JAK que se aprueban para tratamiento de RA. Por ejemplo, el producto aprobado para citrato de tofacitinib (5 mg BID) mostró puntuaciones ACR mucho más bajas a los 3 meses: 59 % (ACR20), 31 % (ACR50),y 15 % (ACR70) (Tabla 5 de XELJANZ® - comprimido de citrato de tofacitinib – etiqueta).

Tabla 6

	Placebo	100 mg BID	300 mg QD	200 mg BID	600 mg QD
ACR20	38	50	44	50	100
ACR50	25	38	44	38	71
ACR70	13	25	22	13	57

El cambio porcentual con respecto al valor de referencia para la hemoglobina también se estudió para cada uno de los regímenes de dosificación (FIGURA 4). Tal como puede observarse en la FIGURA 4, la dosis de 200 mg BID exhibió una caída con respecto al valor de referencia en comparación con las otras dosis que tendieron a permanecer próximas a los niveles del placebo. Por ejemplo, la dosis de 600 mg QD no exhibió la misma tendencia hacia abajo que exhibió la dosis BID. Sin embargo, tal como puede observarse en la Tabla 6, la dosificación diaria (600 mg QD) no comprometió la eficacia en comparación con las dosis BID. Esto indica que la dosificación diaria (tal como 600 mg QD) puede alcanzar una eficacia máxima sin inducir efectos secundarios tales como anemia. Como se muestra en la FIGURA 4 y la Tabla 6, la dosis de 600 mg QD tiene una eficacia sólida con cambios insignificantes en los niveles de hemoglobina.

Se cree que este perfil de eficacia/efecto secundario puede deberse a que la dosis

QD alcanza la señalización de JAK1 máxima (relacionada con la eficacia) con baja inhibición de JAK2 en el punto mínimo, ya que la señalización de JAK2 está relacionada con la hematopoyesis. Esta hipótesis se respalda por la PK derivada de los datos de inhibición de JAK1 (IL-6) y JAK2 (TPO) para el compuesto de Fórmula en varias dosis (Tabla 7). En particular, la dosis de 600 mg QD exhibió una inhibición promedio de IL-6 similar a la de las dosis de 200 mg BID y 400 mg BID (61 % contra 64 % y 69 %), pero más baja para la inhibición en el punto mínimo de TPO en comparación con la de las dosis de 200 mg BID y 400 mg BID (4 % contra 13 % y 16 %). La inhibición en el punto mínimo de IL-6 para la dosis de 600 mg QD también es más baja que la inhibición en el punto mínimo de IL-6 para las dosis de 200 mg BID y 400 mg BID, lo cual sugiere que puede hacer una reducción en la infección a partir de la dosis QD.

Tabla 7

Régimen de dosis	Inhibición de IL-6 promedio	Inhibición de IL-6 en el punto mínimo	Inhibición de TPO promedio	Inhibición de TPO en el punto mínimo
100 mg QD	30 %	7 %	7 %	<1 %
200 mg QD	39 %	11 %	11 %	<1 %
300 mg QD	47 %	16 %	18 %	1 %
600 mg QD	61 %	31 %	36 %	4 %
100 mg BID	44 %	22 %	11 %	2 %
200 mg BID	64 %	52 %	24 %	13 %
400 mg BID	69 %	56 %	33 %	16 %

Ejemplo 5. Resultados clínicos en pacientes con psoriasis en placas

Se llevó a cabo un estudio doble ciego (patrocinador abierto), de manera aleatoria, controlado por placebo en alrededor de 48 sujetos tratados durante 28 días. Los requisitos para la participación incluían: psoriasis en placas activa durante al menos 6 meses en la selección; área superficial del cuerpo (BSA, por sus siglas en inglés) de psoriasis en placas de ≥ 5 %; puntaje de área e índice de gravedad de psoriasis (PASI, por sus siglas en inglés) de ≥ 5 ; puntaje de evaluación global de médico estática (sPGA, por sus siglas en inglés) de ≥ 3 ; respuesta inadecuada a terapias tópicas; diseño innovador permitiendo un avance rápido entre dosis, con evaluación de seguridad conservadora. Cuatro grupos de dosis escalonada con 12

sujetos cada uno (9 activos y 3 PBO) avanzaron de 100 mg QD a 200 mg QD a 200 mg BID a 600 mg QD. Una vez que el 4to sujeto (bloque de 3 activos 1 PBO) completó 28 días de administración sin un Grado 3 o mayor de AE, el siguiente grupo de 12 sujetos inició el tratamiento con la siguiente dosis más alta; mientras los primeros 4 sujetos de este grupo se trataban durante 28 días, el 1.ª grupo se cargaba. Se seleccionaron 60 sujetos de manera aleatoria con psoriasis moderada a grave. Hubo cinco grupos de tratamiento: placebo, 100 mg QD, 200 mg QD, 200 mg BID y 600 mg QD. Se utilizó un método secuencial de selección, aumentado desde la dosis más baja hasta la más alta, cada una después de completar los 28 días para los primeros cuatro sujetos en la dosis previa. Los resultados a los 28 días se muestran en la Tabla 8 (PASI 50 es Área e Índice de Gravedad de Psoriasis). Esta puntuación de PASI 50 de 81,8 % para la dosis de 600 mg QD no tiene precedentes en comparación con otros inhibidores de JAK que están en desarrollo para el tratamiento de psoriasis. Por ejemplo, 5 mg de tofacitinib (también denominado tasocitinib) mostró una puntuación de PASI 50 más baja de 65,3 % a las 12 semanas (publicado en <http://press.pfizer.com> el 10/7/2010). La dosis de 5 mg de tofacitinib es el nivel de dosis aprobado para RA por razones de seguridad en Estados Unidos.

Tabla 8

	Placebo	100 mg BID	200 mg QD	200 mg BID	600 mg QD
% de cambio medio de sPGA	-12,5 %	-22,2 %	-29,4 %	-35,2 %	-42,4 %
% de sPGA (ausente o mínimo)	0	11,1 %	22,2 %	33,3 %	45,5 %
% de PASI 50	8,3 %	22,2 %	66,7 %	44,4 %	81,8 %

Ejemplo 6. Estudio de fase II abierto en pacientes con mielofibrosis

En este estudio, se inscribieron pacientes con ≥ 18 años de edad, un diagnóstico de mielofibrosis primaria (PMF) o MF post policitemia vera o MF post trombocitemia esencial (estado de mutación positivo o negativo para JAK2V617F), conteo de plaquetas ≥ 50 x 10⁹/L, niveles de hemoglobina ≥ 8,0 g/dL (se permitían transfusiones para alcanzar estos niveles), criterio por DIPSS intermedio 1 o mayor, y bazo palpable o esplenectomía previa. Se evaluaron tres diferentes

cohortes de dosis: (1) 100 mg de comprimidos de SR3 BID) (2) 200 mg (2 x 100 mg de comprimidos SR3) BID; y (3) 600 mg (6 x 100 mg de comprimidos SR3) QD. Las FIGURA 5(a)-(b) muestran resultados provisionales con respecto a la proporción de sujetos con $\geq 50\%$ de reducción en la puntuación total de los síntomas (TSS) en cada grupo de dosis por el diario electrónico modificado de Myelofibrosis Symptom Assessment Form (MFSAF) v3.0 a la semana 12 en comparación con el valor de referencia (MFSAF v3.0 modificado comprende 19 preguntas que evalúan los síntomas relacionados con MF en una escala de 0 (ausente) a 10 (peor imaginable)). La FIGURA 5(a) ilustra el porcentaje de pacientes con una reducción de $\geq 50\%$ de reducción en TSS en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) (se consideró que los pacientes que suspendieron antes de la visita de la semana 12 no respondían). La FIGURA 5(b) ilustra el cambio porcentual en TSS respecto del valor de referencia en la semana 12 por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) (se incluyeron solo los pacientes con datos de valor de referencia y semana 12). La FIGURA 6(a) ilustra los niveles de hemoglobina medios (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) (resultados provisionales del estudio para todos los pacientes). La FIGURA 6(b) ilustra niveles de hemoglobina medio (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis (100 mg BID, 200 mg BID y 600 mg QD) a las 48 semanas. La FIGURA 6(c) ilustra niveles de hemoglobina medios (g/dL) con el tiempo por cohorte de dosis a las 48 semanas como un promedio para tres cohortes de dosis en comparación con individuos a los que se les dosificó placebo o ruxolitinib (ruxolitinib se dosificó de acuerdo con la etiqueta para Jakafi®). Los datos muestran un aumento en los niveles de hemoglobina para la dosis de 600 mg QD. Por último, la Tabla 9 a continuación muestra los resultados de laboratorio provisionales (nuevos y que empeoran) para cada cohorte de dosis. La Tabla 9a muestra los resultados de laboratorio para la hematología (nuevos y que empeoran) para cada cohorte de dosis después de exposición prolongada.

Tabla 9

Evento n/N %	100 mg BID	200 mg BID	600 mg QD
Días de exposición, medio (intervalo)	102,5 (23,0, 376,0)	169,0 (22,0, 339,0)	16,0 (1,0, 196,0)
Anemia, Grado 3	3/9 (33,3)	12/42 (28,6)	2/29 (6,9)
Trombocitopenia			
Grado 3	4/9 (44,4)	12/44 (27,3)	1/29 (3,4)
Grado 4	0/9 (0)	2/45 (4,4)	0/29 (0)

Table 9a

Evento n/N %	100 mg BID (N=10)	200 mg BID (N=45)	600 mg QD (N=32)
Días de exposición, promedio (intervalo)	102,0 (23.519)	254,0 (22,.535)	192,0 (28.343)
Anemia, Grado 3	3/10 (30.,0)	19/45 (42,2)	8/32 (25,0)
Trombocitopenia			
Grado 3	4/10 (40,0)	13/45 (28,9)	4/32 (12,5)
Grado 4	0/10 (0,0)	3/45 (6,7)	1/32 (3,1)

Ejemplo A: Ensayo de quinasa JAK *in vitro*

El compuesto de Fórmula I en la presente se evaluó para determinar la actividad inhibidora de los objetivos JAK de acuerdo con el siguiente ensayo *in vitro* tal como se describe en Park et ál., *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. Se expresaron los dominios catalíticos de JAK1 (a.a. 837-1142) y JAK2 humanas (a.a. 828-1132) con una etiqueta His en extremo N utilizando baculovirus en células de insectos y se purificaron. La actividad catalítica de JAK1 y JAK2 se evaluó midiendo la fosforilación de un péptido biotinilado. El péptido fosforilado se detectó mediante fluorescencia con resolución temporal homogénea (HTRF, por sus siglas en inglés). Se midió la CI_{50} de los compuestos para cada quinasa en las reacciones de 40 microL que contenían la enzima, ATP y 500 nM de péptido en 50 mM de solución amortiguadora Tris (pH 7,8) con 100 mM de NaCl, 5 mM de DTT y 0,1 mg/mL (0,01 %) de BSA. Para las mediciones de CI_{50} de 1 mM , la concentración de ATP en las reacciones fue de 1 mM. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente durante 1 hr y luego se detuvieron con 20 µL 45 mM de EDTA, 300 nM de SA-APC, 6 nM de Eu-Py20 en solución amortiguadora de ensayo (Perkin Elmer, Boston, MA). La unión del anticuerpo etiquetado con Europium se llevó a cabo durante 40 minutos y la señal de HTRF se midió en un lector de placas Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). El compuesto de Fórmula I y la sal de ácido adípico exhibieron una CI_{50} a JAK1 de ≤ 5 nM (medida en 1 mM de ATP) con una relación JAK2/JAK1 de > 10 (medida a 1 mM de ATP).

Ejemplo B: Ensayos celulares

Las líneas celulares de cáncer dependientes de citocinas y por consiguiente de la transducción de la señal JAK/STAT, para crecimiento, pueden colocarse en placas a 6000 células por pocillo (formato de placa de 96 pocillos) en RPMI 1640, 10 %

de FBS y 1 nG/mL de la citocina apropiada. Los compuestos pueden agregarse a las células en DMSO/medios (concentración final 0,2 % de DMSO) e incubarse durante 72 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. El efecto del compuesto sobre la viabilidad de las células se evalúa utilizando el ensayo CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega) y posteriormente mediante cuantificación TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA). Los efectos inespecíficos potenciales de los compuestos se miden en paralelo utilizando una línea celular no desencadenada por JAK con la misma lectura del ensayo. Todos los experimentos se llevan a cabo típicamente por duplicado.

Las líneas celulares mencionadas anteriormente también pueden utilizarse para examinar los efectos de los compuestos sobre la fosforilación de las quinasas JAK o potenciales sustratos posteriores tales como proteínas STAT, Akt, Shp2 o Erk. Estos experimentos pueden llevarse a cabo luego de una privación de citocina durante toda la noche, con posterior incubación breve con el compuesto (2 horas o menos) y estimulación de la citocina de alrededor de 1 hora o menos. A continuación, las proteínas se extraen de las células y se analizan mediante técnicas conocidas para los expertos en la técnica que incluyen transferencia Western o ELISA utilizando anticuerpos que pueden diferenciar entre proteína fosforilada y total. Estos experimentos pueden utilizar células normales o cancerígenas para investigar la actividad de los compuestos en la biología de supervivencia de las células tumorales o en mediadores de la enfermedad inflamatoria. Por ejemplo, independientemente de los expresado anteriormente, las citocinas tales como IL-6, IL-12, IL-23 o IFN pueden utilizarse para estimular la activación de JAK resultando en la fosforilación de la proteína(s) STAT y potencialmente los perfiles de transcripción (evaluados mediante tecnología de matriz o qPCR) o la producción y/o secreción de proteínas, tal como IL-17. La capacidad de los compuestos para inhibir estos efectos mediados por citocina pueden medirse utilizando técnicas comunes para los expertos en la técnica.

Los compuestos en la presente también pueden evaluarse en modelos celulares diseñados para evaluar su potencia y actividad contra las JAK mutantes, por ejemplo, la mutación JAK2V617F encontrada en los trastornos mieloproliferativos. Estos experimentos a menudo utilizan células dependientes de citocina de linaje hematológico (por ejemplo, BaF/3) en las cuales las quinasas JAK naturales o mutantes se expresa ectópicamente (James, C., et ál. *Nature* 434:1144-1148; Staerk, J., et ál. *JBC* 280:41893-41899). Los criterios de valoración incluyen los efectos de los compuestos en la supervivencia celular, proliferación y proteínas

JAK, STAT, Akt o Erk fosforiladas.

Determinados compuestos en la presente pueden evaluarse para determinar su actividad en la inhibición de la proliferación de células T. Dicho ensayo puede considerarse como un segundo ensayo de proliferación desencadenada por citocina (es decir, JAK) y también como un ensayo simple de supresión inmunitaria o inhibición de la activación inmunitaria. A continuación sigue una breve descripción de cómo se pueden llevar a cabo dichos e. Se preparan células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) a partir de muestras de sangre completa humana utilizando el método de separación Ficoll Hypaque y se pueden obtener las células T (fracción 2000) de las PBMC mediante decantación. Las células T humanas aisladas en el momento pueden mantenerse en el medio de cultivo (RPMI 1640 complementado con 10 % de suero fetal bovino, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina) a una densidad de 2×10^6 células/ml a 37 °C durante hasta 2 días. Para el análisis de proliferación celular estimulado por IL-2, las células T primero se tratan con Fitohemaglutinina (PHA, por sus siglas en inglés) a una concentración de 10 µg/mL durante 72h. Después de lavar una vez con PBS, se colocan en placas 6000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se tratan con compuestos a diferentes concentraciones en el medio de cultivo en presencia de 100 U/mL de IL-2 humana (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Las placas se incuban a 37 °C durante 72h y se evalúa el índice de proliferación utilizando reactivos CellTiter-Glo Luminescent siguiendo el protocolo sugerido por el fabricante (Promega; Madison, WI).

Ejemplo C: Eficacia antitumoral *in vivo*

Los compuestos en la presente pueden evaluarse en modelos de xenoinjerto de tumor humano en ratones inmunodeprimidos. Por ejemplo, una variante tumorigénica de la línea celular de plasmacitoma INA-6 puede utilizarse para inocular SCID a los ratones subcutáneamente (Burger, R., et ál. *Hematol J.* 2:42-53, 2001). Los animales que portan tumores a continuación pueden aleatorizarse en los grupos de tratamiento con fármaco o vehículo y se pueden administrar diferentes dosis de compuestos mediante cualquier cantidad de vías convencionales incluidas oral, i.p. o infusión continua utilizando bombas implantables. El crecimiento tumoral se somete a seguimiento a lo largo del tiempo utilizando calibradores. Además, las muestras tumorales pueden cosecharse en cualquier momento después del inicio del tratamiento para análisis tal como se describió anteriormente (Ejemplo B) para evaluar los efectos del compuesto sobre

la actividad de JAK y las vías de señalización posteriores. Adicionalmente, se puede evaluar la selectividad del compuesto(s) utilizando modelos tumorales de xenoinjerto que son desencadenados por otras quinasas conducidas (por ejemplo, Bcr-Abl) tal como el modelo de tumor K562.

Ejemplo D: Prueba de respuesta de hipersensibilidad retardada por contacto cutáneo de murino

Los compuestos en la presente también pueden someterse a prueba para determinar sus eficacias (para inhibir objetivos JAK) en el modelo de prueba de hipersensibilidad retardada de murino desencadenada por células T. La respuesta de hipersensibilidad de tipo retardada (DTH, por sus siglas en inglés) por contacto cutáneo de murino se considera un modelo válido de dermatitis de contacto clínica y otros trastornos cutáneos inmunitarios mediados por linfocitos T, tales como la psoriasis (*Immunol Today*. 1998 Jan;19(1):37-44). La DTH murina comparte múltiples características con la psoriasis, incluido el infiltrado inmunitario, el aumento paralelo de las citocinas inflamatorias y la hiperproliferación de queratinocitos. Además, muchas clases de agentes que son eficaces para tratar la psoriasis en la clínica también son inhibidores eficaces de la respuesta de DTH en ratones (*Agents Actions*. 1993 Jan;38(1-2):116-21).

El Día 0 y 1, los ratones Balb/c se sensibilizan con una aplicación tópica, sobre su abdomen rasurado, del antígeno 2,4,dinitro-fluorobenceno (DNFB, por sus siglas en inglés). El día 5, se miden las orejas para determinar su espesor utilizando un micrómetro de ingeniero. Esta medición se registra y se utiliza como valor de referencia. Ambas orejas de los animales a continuación se someten a exposición tópica de DNFB en un total de 20 μ L (10 μ L en el pabellón interno y 10 μ L en el pabellón externo) a una concentración de 0,2 %. Veinticuatro o setenta y dos horas después de la exposición, se miden nuevamente las orejas. El tratamiento con los compuestos de prueba se proporcionar a través de las fases de sensibilización y exposición (día -1 a día 7) o antes y durante la fase de exposición (generalmente en la tarde del día 4 al día 7). El tratamiento de los compuestos de prueba (en una concentración diferente) se administra sistémicamente o tópicamente (aplicación tópica del tratamiento sobre las orejas). Las eficacias de los compuestos de prueba se indican por la reducción de la hinchazón en la oreja en comparación con la situación sin el tratamiento. Los compuestos que provocan una reducción del 20 % o mayor se consideraron eficaces. En algunos experimentos, los ratones se someten a la exposición pero no se sensibilizan (testigo negativo).

El efecto inhibitor (inhibir la activación de las vías de JAK-STAT) de los compuestos de prueba puede confirmarse mediante análisis inmunohistoquímicos. La activación de la vía(s) de JAK-STAT resulta en la formación y translocación de factores de transcripción funcionales. Además, el influjo de células inmunitarias y la proliferación aumentada de queratinocitos también deberían proporcionar cambios en el perfil de expresión único en la oreja que pueden investigarse y cuantificarse. Las secciones de oreja fijadas con formalina y embebidas en parafina (cultivadas después de la fase de exposición en el modelo DTH) se someten a análisis inmunohistoquímico utilizando un anticuerpo que interactúa específicamente con STAT3 fosforilado (clon 58E12, Cell Signaling Technologies). Las orejas de ratón se tratan con compuestos de prueba, vehículo o dexametasona (un tratamiento clínicamente eficaz para la psoriasis), o sin ningún tratamiento, en el modelo DTH para realizar comparaciones. Los compuestos de prueba y la dexametasona pueden producir cambios transcripcionales similares tanto cualitativamente como cuantitativamente, y los compuestos de prueba y la dexametasona puede reducir la cantidad de células infiltrantes. La administración sistémica y tópica de los compuestos de prueba puede producir efectos inhibidores, es decir, reducción en la cantidad de células infiltrantes e inhibición de los cambios transcripcionales.

Ejemplo E: Actividad antiinflamatoria *in vivo*

Los compuestos en la presente pueden evaluarse en modelos de roedores o no roedores diseñados para reproducir una respuesta de inflamación simple o compleja. Por ejemplo, los modelos roedores de artritis pueden utilizarse para evaluar el potencial terapéutico de compuestos dosificados preventivamente o terapéuticamente. Estos modelos incluyen, de modo no taxativo, artritis inducida por colágeno de ratón o rata, artritis inducida por adyuvante de rata y artritis inducida por anticuerpo de colágeno. Las enfermedades autoinmunitarias que incluyen, de modo no taxativo, esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo I, uveorretinitis, tiroiditis, miastenia gravis, nefropatías por inmunoglobulina, miocarditis, sensibilización de las vías aéreas (asma), lupus o colitis también pueden utilizarse para evaluar el potencial terapéutico del compuestos en la presente. Estos modelos están establecidos en la comunidad de investigación y son conocidos para los expertos en la técnica (Current Protocols in Immunology, Tomo 3., Coligan, J.E. et ál, Wiley Press.; *Methods in Molecular Biology*: Tomo 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. and Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

Ejemplo F: Modelos animales para el tratamiento de Ojo seco, Uveitis y Conjuntivitis

Se pueden evaluar agentes en uno o más modelos preclínicos de ojo seco conocidos para los expertos en la técnica incluidos, de modo no taxativo, modelo de glándula lagrimal de concanavalina A (ConA) de conejo, el modelo de ratón de escopolamina (subcutáneo o transdérmico), el modelo de glándula lagrimal de ratón de toxina botulínica o cualquier otro de una variedad de modelos autoinmunitarios de roedores espontáneos que resultan en disfunción de la glándula ocular (por ejemplo, NOD-SCID, MRL/lpr o NZB/NZW) (Barabino et ál., *Experimental Eye Research* 2004, 79, 613-621 y Schrader et ál., *Developmental Ophthalmology*, Karger 2008, 41, 298-312, incorporándose cada una a la presente por referencia en su totalidad). Los criterios de valoración en estos modelos pueden incluir la histopatología de las glándulas oculares y el ojo (córnea, etc.) y posiblemente la prueba de Schirmer clásica o versiones modificadas de la misma (Barabino et ál.) que miden la producción de lágrimas. La actividad puede evaluarse mediante dosificación a través de múltiples vías de administración (por ejemplo, sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que la enfermedad medible exista.

Los agentes pueden evaluarse en uno o más modelos preclínicos de uveitis conocidos para los expertos en la técnica. Estos incluyen, de modo no taxativo, modelos de uveitis autoinmunitaria experimental (EAU, por sus siglas en inglés) y uveitis inducida por exotoxina (EIU, por sus siglas en inglés). Los experimentos con EAU pueden llevarse a cabo en conejos, ratas o ratones y pueden implicar inmunización pasiva o activa. Por ejemplo, cualquiera de varios antígenos retinales pueden utilizarse para sensibilizar a los animales para un inmunógeno relevantes y luego los animales pueden someterse a exposición ocular con el mismo antígeno. El modelo de EIU es más agudo e implica la administración local o sistémica de lipopolisacáridos a dosis subletales. Los criterios de valoración para los modelos de EIU y EAU pueden incluir examen de fondo de ojo, histopatología entre otros. Estos modelos se describen en Smith et ál. (*Immunology and Cell Biology* 1998, 76, 497-512, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). La actividad se evalúa mediante dosificación a través de múltiples vías de administración (por ejemplo, sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que la enfermedad medible exista. Algunos modelos indicados anteriormente también pueden desarrollar escleritis/episcleritis, corioditis, ciclitis o iritis y, por lo tanto, son útiles para investigar la actividad potencial de los

compuestos para el tratamiento terapéutico de estas enfermedades.

Los agentes también pueden evaluarse en uno o más modelos preclínicos de conjuntivitis conocidos para los expertos en la técnica. Estos incluyen, de modo no taxativo, modelos de roedores que utilizan cobayos, ratas o ratones. Los modelos de cobayos incluyen aquellos que utilizan inmunización activa o pasiva y/o protocolos de exposición inmunitaria tal como con ovoalbúmina o artemisa (descritos en Groneberg, D.A., et ál., *Allergy* 2003, 58, 1101-1113, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). Los modelos de rata y ratón son similares en el diseño general a los de cobayos (también descritos por Groneberg). La actividad puede evaluarse mediante dosificación a través de múltiples vías de administración (por ejemplo, sistémica o tópica) que pueden comenzar antes o después de que la enfermedad medible exista. Los criterios de valoración para dichos estudios pueden incluir, por ejemplo, análisis histológico, inmunológico, bioquímica o molecular de tejidos oculares tales como la conjuntiva.

Ejemplo G: Protección ósea *in vivo*

Los compuestos pueden evaluarse en varios modelos preclínicos de osteopenia, osteoporosis o resorción ósea conocidos para los expertos en la técnica. Por ejemplo, se pueden utilizar roedores ovariectomizados para evaluar la capacidad de los compuestos para afectar signos y marcadores de remodelación y/o densidad ósea (W.S.S. Jee and W. Yao, *J Musculoskel. Nueron. Interact.*, 2001, 1(3), 193-207, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad). Alternativamente, se pueden evaluar la densidad y arquitectura ósea en roedores tratados con testigo o compuesto en modelos de osteopenia inducida por terapia (por ejemplo, glucocorticoides) (Yao, et ál. *Arthritis and Rheumatism*, 2008, 58(6), 3485-3497; y *id.* 58(11), 1674-1686, incorporándose ambos a la presente por referencia en su totalidad). Además, los efectos de los compuestos sobre la resorción y densidad ósea pueden ser evaluables en modelos de roedores de artritis tratados anteriormente (Ejemplo E). Los criterios de valoración para todos estos modelos pueden variar pero a menudo incluyen valoraciones histológicas y radiológicas, así como inmunohisotología y marcadores bioquímicos apropiados de remodelación ósea.