



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019028101-0 A2



(22) Data do Depósito: 29/06/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 28/07/2020

(54) **Título:** COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA USO DE 2-(4-CLOROFENIL)-N-((2-(2,6-DIOXOPIPERIDIN-3-IL)-1-OXOISOINDOLIN-5-IL)METIL)-2,2-DIFLUOROACETAMIDA)

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/454; A61K 39/395; A61K 47/12.

(30) **Prioridade Unionista:** 05/04/2018 US 62/653,436; 17/05/2018 US 62/673,064; 30/06/2017 US 62/527,744.

(71) **Depositante(es):** CELGENE CORPORATION.

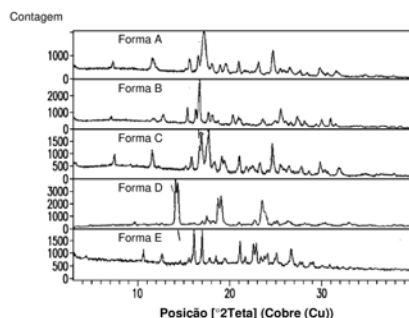
(72) **Inventor(es):** TONIA J. BUCHHOLZ; JAMES CARMICHAEL; SORAYA CARRANCIO; JINHONG FAN; RAJAN GUPTA; GANG LU; KYLE MACBETH; EMILY PACE; DANIEL PIERCE; MICHAEL POURDEHNAD; YU PU; PENG WANG; NAIJUN WU; SHEENA YAO.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2018040286 de 29/06/2018

(87) **Publicação PCT:** WO 2019/006299 de 03/01/2019

(85) **Data da Fase Nacional:** 27/12/2019

(57) **Resumo:** São fornecidas neste documento formulações e métodos para uso de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou uma mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-droga, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato, ou polimorfo dos mesmos.



COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA USO DE (2-(4-CLOROFENIL)-N-((2-(2,6-DIOXOPIPERIDIN-3-IL)-1-OXOISOINDOLIN-5-IL)METIL)-2,2-DIFLUOROACETAMIDA)

PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica o benefício dos Pedidos Provisórios U.S. Nºs 62/527,744, depositado em 30 de junho de 2017, 62/653.436, depositado em 5 de abril de 2018 e 62/673.064, depositado em 17 de maio de 2018, as divulgações das quais são incorporadas por referência em sua totalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

[002] São fornecidas formulações e formas de dosagem de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou uma mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo do mesmo. Métodos de uso das formulações e formas de dosagem para tratamento, gestão e/ou prevenção de câncer também são fornecidos neste documento. Portanto, são fornecidas neste documento formulações e formas de dosagem para uso em métodos de tratar, controlar e/ou prevenir o câncer.

[003] São também fornecidos neste documento métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar um câncer com uma combinação de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou uma mistura de estereoisômeros, um isotópico, sal, tautômero, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo e um segundo agente. Portanto, é fornecida neste documento uma combinação de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou uma mistura de estereoisômeros, um isotópico, sal,

tautômero, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimoro do mesmo e um segundo agente para uso nestes métodos.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[004] 2-(4-Clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo mostrou-se ter atividades anticâncer. As formulações exemplificativas do composto são divulgadas na Publicação U.S. 2017-0196847, depositada em 6 de janeiro de 2017.

[005] Existe uma necessidade de métodos e formulações adicionais de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo para tratamento de câncer.

BREVE SUMÁRIO

[006] O Composto 1 é usado nas formulações e métodos neste documento é descrito na Patente U.S. nº 9.499.514 e Publicação Internacional Nº WO 2016/007848, as divulgações de cada uma delas são incorporadas neste documento por referência na sua totalidade. Em uma modalidade, o Composto 1 é um polimorfo de Forma A, Forma B, Forma C, Forma D, Forma E ou uma forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Em uma modalidade, o Composto 1 é um polimorfo de Forma C de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Os polimorfos de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida são descritos neste documento e na Publicação U.S. Nº 2017-

0197934, depositada em 6 de janeiro de 2017, a divulgação da qual é incorporada neste documento por referência na sua totalidade.

[007] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, β -ciclodextrina de hidroxipropil em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, o tampão citrato compreende ácido cítrico anidro e citrato de sódio anidro.

[008] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25%, hidroxipropil β -ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[009] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,15%, hidroxipropil β -ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,99%.

[010] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,15%, hidroxipropil β -ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,99% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[011] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação. Em uma

modalidade, o tampão citrato compreende ácido cítrico anidro e citrato de sódio anidro.

[012] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25%, sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[013] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de cânceres, incluindo tumores sólidos e cânceres hematológicos, ou um ou mais sintomas ou causas dos mesmos, administrando o Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceosome, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK. Portanto, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tais métodos, em que o método compreende administrar o Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossomas, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK.

[014] Em uma modalidade, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossomas, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores

de RTK.

[015] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento compreendem uma forma sólida de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento compreendem uma forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

[016] Em certas modalidades, é fornecida neste documento uma forma de dosagem unitária compreendendo uma formulação, em que a formulação compreende o Composto 1, um tampão e um agente de volume.

[017] Em um aspecto, as formulações contendo concentrações terapêuticamente eficazes do Composto 1 são administradas a um indivíduo exibindo os sintomas da doença ou distúrbio a ser tratado. As quantidades são eficazes para melhorar ou eliminar um ou mais sintomas da doença ou distúrbio.

[018] É ainda fornecido um pacote ou kit farmacêutico compreendendo um ou mais recipientes preenchidos com um ou mais dos ingredientes das composições farmacêuticas. Opcionalmente associado com tal (is) recipientes (s) pode estar um aviso na forma prescrita por uma agência governamental que regula a fabricação, uso ou venda de produtos farmacêuticos ou biológicos, cujo aviso reflete a aprovação pela agência da fabricação, uso ou venda para administração em seres humanos. A embalagem ou kit pode ser marcada com informação sobre o modo de administração, a sequência de administração da fármaco (por exemplo, separadamente, sequencialmente ou simultaneamente), ou outros semelhantes.

[019] Estes e outros aspectos do assunto descrito neste documento tornam-se evidentes após referência à descrição detalhada que se segue.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[020] A FIG. 1 representa um gráfico de pilha de difractograma de pó de raios X das Formas A, B, C, D e E do Composto 1.

[021] A FIG. 2 representa um diagrama de difractograma de raios X de pó (XRPD) da Forma A do Composto 1.

[022] A FIG. 3 representa uma imagem SEM da Forma A do Composto 1.

[023] A FIG. 4 representa um gráfico de análise termogravimétrica (TGA) da Forma A do Composto 1.

[024] A FIG. 5 representa um gráfico de termograma de calorimetria diferencial de varrimento (DSC) da Forma A do Composto 1.

[025] A FIG. 6 fornece uma representação isotérmica de adsorção dinâmica de vapor (DVS) da Forma A do Composto 1.

[026] A FIG. 7 fornece um espectro ^1H NMR da Forma A do Composto 1.

[027] A FIG. 8 representa a comparação dos gráficos de difractograma de pó de raios X da Forma A do Composto 1 antes (a) e depois da (b) compressão.

[028] A FIG. 9 representa um gráfico de XRPD da Forma B do Composto 1.

[029] A FIG. 10 representa uma imagem SEM da Forma B do Composto 1.

[030] A FIG. 11 representa um gráfico de termograma de TGA da Forma B do Composto 1.

[031] A FIG. 12 representa um gráfico de termograma DSC da Forma B do Composto 1.

[032] A FIG. 13 fornece um gráfico isotérmico DVS da Forma B do Composto 1.

[033] A FIG. 14 fornece um Espectro ^1H NMR da Forma B do Composto 1.

[034] A FIG. 15 representa a comparação dos gráficos de difractograma de pó de raios X da Forma B do Composto 1 antes (a) e depois da (b) compressão.

[035] A FIG. 16 representa um gráfico de XRPD da Forma C do Composto 1.

[036] A FIG. 17 representa uma imagem SEM da Forma C do Composto 1.

[037] A FIG. 18 representa um gráfico de termograma de TGA da Forma C do Composto 1.

[038] A FIG. 19 representa um termograma de DSC da Forma C do Composto 1.

[039] A FIG. 20 fornece uma representação isotérmica de DVS da Forma C do Composto 1.

[040] A FIG. 21 fornece um Espectro de NMR de ^1H da Forma C do Composto 1.

[041] A FIG. 22 representa a comparação dos gráficos de difractograma de pó de raios X da Forma C do Composto 1 antes (a) e depois da (b) compressão.

[042] A FIG. 23 representa um gráfico de XRPD da Forma D do Composto 1.

[043] A FIG. 24 representa um gráfico de termograma de TGA da Forma D do Composto 1.

[044] A FIG. 25 representa um gráfico de XRPD da Forma E do Composto 1.

[045] A FIG. 26 representa um gráfico de termograma de TGA da Forma E do Composto 1.

[046] A FIG. 27 representa o termograma modulado de DSC do Composto 1 amorfo.

[047] A FIG. 28 representa um gráfico de XRPD do Composto 1 amorfo.

[048] A FIG. 29 representa um Espectro ^1H NMR do Composto 1 amorfo.

[049] A FIG. 30 fornece solubilidade do Composto 1 em vários tipos, marcas e porcentagens de ciclodextrina, juntamente com diferentes solventes e razão de solvente/ciclodextrina.

[050] A FIG. 31 fornece pH final da solução em massa vs. pH e força do tampão citrato.

[051] A FIG. 32 fornece perfil de liofilização do 1º lote escalonado para a formulação Ib.

[052] A FIG. 33 fornece solvente residual em função do tempo do processo de liofilização para a formulação Ib.

[053] A FIG. 34 fornece perfil de liofilização do 2º lote escalonado para a formulação Ib.

[054] A FIG. 35 fornece um diagrama de processo da formulação Ia.

[055] A FIG. 36 fornece um diagrama de processo da formulação Ib.

[056] A FIG. 37 mostra aumento na solubilidade do Composto 1 em função da concentração de Kleptose a 25°C (de baixo para cima).

[057] A FIG. 38 demonstra o efeito do aumento da concentração de Kleptose na precipitação do Composto 1.

[058] A FIG. 39 mostra a precipitação do Composto 1 em soluções de Kleptose na condição refrigerada.

[059] A FIG. 40 ilustra o contorno do espaço do desenho para as formulações do Composto 1 e Kleptose.

[060] A FIG. 41 demonstra a diminuição na remoção de ácido fórmico com o aumento da quantidade de Kleptose pelo mesmo ciclo de liofilização.

[061] A FIG. 42 demonstra o impacto da espessura do bolo no nível de ácido fórmico residual.

[062] A FIG. 43 mostra ácido fórmico residual por dose em mg vs. concentração de Kleptose em protótipos da formulação Ic.

[063] A FIG. 44 demonstra que a osmolalidade das soluções reconstituídas está linearmente correlacionada com a concentração de Kleptose.

[064] A FIG. 45 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização do lote 1 de escala laboratorial para a formulação Ic.

[065] A FIG. 46 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização do lote 2 de escala laboratorial para a formulação Ic.

[066] A FIG. 47 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização

do lote de desenvolvimento lc-1 para a formulação lc.

[067] A FIG. 48 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização do lote de desenvolvimento lc-2 para a formulação lc.

[068] A FIG. 49 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização do lote de desenvolvimento lc-3 para a formulação lc.

[069] A FIG. 50 fornece um gráfico de umidade residual em função do tempo do ciclo de liofilização para os lotes de desenvolvimento lc-1-F1, lc-1-F2, lc-2-F1 e lc-2-F2, para a formulação lc.

[070] A FIG. 51 fornece um gráfico de ácido fórmico residual em função do tempo de secagem secundário para os lotes de desenvolvimento lc-1-F1, lc-1-F2, lc-2-F1, lc-2-F2, lc-3-F1 e lc- 3-F2 para a formulação lc.

[071] A FIG. 52 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização do lote C1 para a formulação lc.

[072] A FIG. 53 fornece perfis de temperatura do produto para liofilização do lote C2 para a formulação lc.

[073] A FIG. 54 ilustra a aparência do bolo liofilizado para os lotes C1 e C2 para a formulação lc.

[074] A FIG. 55 fornece um diagrama de processo para a preparação da formulação lc.

[075] A FIG. 56 fornece resposta à dose de proliferação celular (EC_{50}) do Composto 1 na presença de várias concentrações de segundos agentes. Os dados demonstram que o EC_{50} muda para valores mais baixos na presença dos segundos agentes, indicando uma atividade sinérgica do Composto 1 com o segundo agente. A sinergia foi confirmada pela análise de Bliss.

[076] A FIG. 57 fornece curvas de resposta à dose de proliferação celular para combinações do Composto 1 com midostaurina e ruxolitinibe na linhagem celular MOLM-13.

[077] A FIG. 58 fornece um resumo da sinergia observada para o Composto 1 quando usado em combinação com everolimus ou temsirolimus, conforme medido por turnos de EC_{50} e pela análise de Bliss em linhagens celulares de tumores sólidos.

[078] A FIG. 59 fornece curvas de resposta à dose de proliferação celular para combinações do Composto 1 com everolimus em várias linhagens celulares de tumor sólido.

[079] A FIG. 60 fornece o efeito do Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus (RAD, 2 nM, 20 nM e 200 nM) na proliferação de células BON, 24 h após o tratamento.

[080] A FIG. 61 fornece o efeito do Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus (RAD, 2 nM, 20 nM e 200 nM) na proliferação de células BON, 120 h após o tratamento em placas 2D.

[081] A FIG. 62 fornece o efeito do Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus (RAD, 2 nM, 20 nM e 200 nM) na proliferação de células BON, 120 h após o tratamento.

[082] A FIG. 63 fornece o efeito do Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus (RAD, 2 nM, 20 nM e 200 nM) na proliferação de células BON, 96 h após o tratamento em placas 3D.

[083] As FIGs. 64A e 64B fornecem o efeito do Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus (RAD, 2 nM, 20 nM e 200 nM) na proliferação de células BON, 120 h após o tratamento em placas 3D.

[084] As FIGs. 65A e 65B fornecem a resposta de dose do Composto 1 e everolimus em um ensaio de proliferação ex vivo 3D mostrando o IC_{50} e a inibição máxima dos compostos no modelo GA0087 em experiências duplicadas.

[085] A FIG. 66 fornece a resposta dependente da dose de cisplatina (composto de referência) em um ensaio de proliferação de GA0087 ex vivo 3D

mostrando o IC₅₀ e o modelo de inibição máxima de cisplatina (experimentos duplicados).

[086] As FIGs. 67A e 67B fornecem o efeito do Composto 1 em um ensaio de combinação de matriz com everolimus em um modelo de proliferação de células 3D GA0087 (experimentos duplicados).

[087] As FIGs. 68A e 68B fornecem o índice de combinação calculado pelo método de Chou e Talalay para o Composto 1 e everolimus em um modelo de proliferação de células 3D GA0087 (experimentos duplicados).

[088] A FIG. 69 fornece o efeito do Composto 1 e everolimus, sozinho e em combinação, no volume tumoral no modelo GA0087.

[089] A FIG. 70 fornece o efeito do Composto 1 sobre o número de colônias em amostras de pacientes com mielofibrose em um ensaio de formação de colônias.

[090] A FIG. 71 fornece o efeito do Composto 1 na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN e JAK2-V617F.

[091] A FIG. 72 fornece o efeito do ruxolitinib na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN e JAK2-V617F.

[092] A FIG. 73 fornece o efeito de NS-18 na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN e JAK2-V617F.

[093] A FIG. 74 fornece o efeito de momelotinibe na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN e JAK2-V617F.

[094] A FIG. 75 fornece o efeito do pacritinibe na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN

e JAK2-V617F.

[095] A FIG. 76 fornece o efeito de fedratinibe na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN e JAK2-V617F.

[096] A FIG. 77 fornece o efeito de everolimus na viabilidade celular de células BaF3 que expressam hCRBN, hCRNB e JAK2 do tipo selvagem, ou hCRBN e JAK2-V617F.

[097] A FIG. 78 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e NS-018 na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F recentemente transduzido; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[098] A FIG. 79 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e NS-018 de baixa dose na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F transduzido recentemente; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[099] A FIG. 80 fornece o efeito de uma combinação de Composto 1 e ruxolitinibe na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F transduzido recentemente; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[0100] A FIG. 81 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e ruxolitinib de baixa dose na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F recentemente transduzido; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[0101] A FIG. 82 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e momelotinibe na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F transduzido recentemente; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[0102] A FIG. 83 fornece o efeito de uma combinação de Composto 1 e pacritinibe na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F transduzido recentemente; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[0103] A FIG. 84 fornece o efeito de uma combinação de Composto 1 e fedratinibe na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F transduzido recentemente; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[0104] A FIG. 85 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e everolimus na viabilidade celular de hCRBN, JAK2, JAK2-V617F transduzido recentemente; dependente de IL3 e JAK2-V617F; linhagens celulares BaF independentes de IL3.

[0105] A FIG. 86 fornece o efeito de NS-018 e ruxolitinibe como agentes únicos na viabilidade celular de linhagens celulares JAK2V617F AML.

[0106] A FIG. 87 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e NS-018 na viabilidade celular de JAK2 V617F em linhagens celulares HEL, SET-2 e MUTZ-8 AML.

[0107] A FIG. 88 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e ruxolitinibe na viabilidade celular de JAK2 V617F nas linhagens celulares HEL, SET-2 e MUTZ-8 AML.

[0108] A FIG. 89 fornece o efeito de uma combinação do Composto 1 e everolimus na viabilidade celular de células HEL, SET-2 e MUTZ-8 AML.

[0109] A FIG. 90 fornece uma visão geral do efeito dos inibidores de JAK2 em combinação com o Composto 1 nas células JAK2 V617F, em que a sinergia foi pontuada pelo deslocamento de EC_{50} e método de Bliss.

[0110] A FIG. 91 fornece esquemas de dosagem para uma combinação de Composto 1 e enasidenibe inibidor de IDH2 (AG-221).

[0111] A FIG. 92 fornece resultados de uma análise qualitativa de fenótipos em um ensaio de citometria de fluxo.

[0112] A FIG. 93 fornece o efeito de diferenciação da combinação do composto 1 e enasidenibe (AG-221) nas células-tronco e progenitoras TF-1: IDH2R140Q (CD34⁺) e células eritroblásticas CD34⁻/CD235⁺ como mostrado nos gráficos de dispersão do esquema A.

[0113] A FIG. 94 fornece o efeito de diferenciação do Composto 1 e enasidenibe em célula-tronco e progenitoras TF-1:IDH2R140Q (CD34⁺/CD38⁺) e HSC (CD34⁺/CD38⁻) e células não-tronco/progenitoras CD34⁻/CD38⁻ usando Esquemas A, B ou C.

[0114] A FIG. 95 fornece o efeito de diferenciação do Composto 1 e de enasidenibe nos eritroblastos CD235a⁺ (Glicoforinas A).

[0115] A FIG. 96 fornece o efeito do Composto 1 e enasidenibe na degradação de GSPT1 em vários subconjuntos de células em um ensaio TF1.

[0116] A FIG. 97 fornece o efeito do Composto 1 e enasidenibe na degradação de GSPT1 em vários subconjuntos de células em um ensaio de TF1.

[0117] A FIG. 98 fornece o efeito do Composto 1 e enasidenibe na proliferação de células, como mostrado pela contagem total de células e HSC não diferenciada (CD34⁺/CD38⁻) e contagens celulares progenitoras (CD34⁺/CD38⁺).

[0118] A FIG. 99 mostra que o Composto 1 em combinação com RAD resultou em diminuição significativa da proteína GSPT1 e alterações nas proteínas fosforiladas que regulam a tradução e o metabolismo. A análise de Western blot foi realizada em lisados de células BON tratados por 120 h com as concentrações indicadas de veículo, RAD e/ou Composto 1 e sondado com anticorpos indicados. Actina foi usada como um controle de carregamento.

[0119] As FIGs. 100A-100E mostram o efeito de combinação do tratamento

com o Composto 1 e inibidores direcionados a mTOR, FLT3, JAK2 ou JAK3 na proliferação celular em células U937 AML. A FIG. 100A mostra a combinação do Composto 1 com o everolímus inibidor de mTOR; FIG. 100B mostra a combinação do Composto 1 com o quizartinibe, inibidor de FLT3; FIG. 100C mostra a combinação do Composto 1 com o inibidor de JAK2 de ruxolitinibe; a FIG. 100D mostra a combinação do Composto 1 com o inibidor de JAK2 AZD1480; e a FIG. 100E mostra a combinação do Composto 1 com o inibidor de JAK3, tofacitinibe.

[0120] A FIG. 101 mostra o efeito de combinação do tratamento com inibidores do Composto 1 e mTOR, FLT3, JAK2 ou JAK3 na expressão de GSPT1, ativação de mTOR, indução de ATF4 e clivagem de Caspase-3 em células U937 AML.

[0121] As FIGs. 102A-102G mostram o efeito do Composto 1 com e sem venetoclax nas concentrações indicadas na proliferação da linhagem celular AML quando incubadas durante 48 horas.

[0122] A FIG. 103 mostra os níveis relativos de ATP como uma medida de viabilidade em resposta a várias combinações de doses do Composto 1 e venetoclax.

[0123] A FIG. 104 mostra análise de western blot medindo os níveis de proteína GSPT1, Mcl-1, Bcl-2, caspase 3 clivada e GAPDH em células KG-1 16 horas após o tratamento com um conjunto de doses do Composto 1, venetoclax e combinações de Composto 1 e venetoclax.

[0124] As FIGs. 105A e 105B mostram as análises de células vivas da confluência de KG-1 (FIG. 105A) e contagem de eventos apoptóticos (FIG. 105B) após o tratamento com o Composto 1, venetoclax e combinações do Composto 1 e venetoclax.

[0125] A FIG. 106 mostra o efeito de combinação do tratamento com o Composto 1 e everolimus na expressão de GSPT1, ativação de mTOR, expressão

de Mcl-1 e clivagem de Caspase-3.

[0126] A FIG. 107 mostra o efeito do Composto 1 nas células mononucleares da medula óssea ou nas células blásticas CD34⁺ isoladas de 2 pacientes com síndrome mielodisplásica diferentes analisados por cultura líquida.

[0127] A FIG. 108 mostra o efeito do Composto 1 em células mononucleares da medula óssea de pacientes com síndrome mielodisplásica testados por cultura líquida (A) ou ensaio de formação de colônia (B).

[0128] A FIG. 109 mostra o efeito do Composto 1 na ativação da caspase-3 e degradação do GSPT1 em células mononucleares da medula óssea de um paciente com síndrome mielodisplásica, quando testado como um agente único ou em combinação com everolimus 111 nM após 24 horas de exposição do(s) composto(s).

DESCRIÇÃO DETALHADA

Definições

[0129] De forma geral, a nomenclatura usada neste documento e os procedimentos de laboratório em química orgânica, química medicinal e farmacologia descritos neste documento são aqueles bem conhecidos e comumente empregados na técnica. A menos que definido de outro modo, todos os termos técnicos e científicos usados neste documento têm geralmente o mesmo significado que é normalmente entendido por um de conhecimento comum na técnica à qual esta divulgação pertence. Em geral, o ensino técnico de uma modalidade pode ser combinado com o divulgado em outras modalidades fornecidas neste documento.

[0130] O uso da palavra "um" ou "uma", quando usado em conjunto com o termo "compreendendo" nas reivindicações e/ou no relatório descritivo, pode significar "um", mas também é consistente com o significado de "um ou mais",

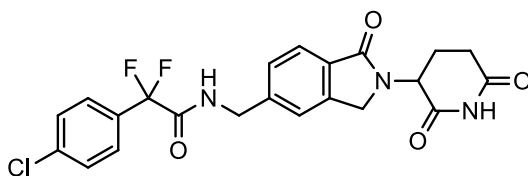
"pelo menos um" e "um ou mais do que um."

[0131] Conforme usado neste documento, os termos "compreendendo" e "incluindo" podem ser usados de forma intercambiável. Os termos "compreendendo" e "incluindo" devem ser interpretados como especificando a presença dos recursos ou componentes declarados, conforme referido, mas não impedem a presença ou adição de um ou mais recursos, componentes ou grupos dos mesmos. Além disso, os termos "compreendendo" e "incluindo" destinam-se a incluir exemplos abrangidos pelo termo "consistindo em". Consequentemente, o termo "consistindo em" pode ser usado no lugar dos termos "compreendendo" e "incluindo" para fornecer modalidades mais específicas da invenção.

[0132] O termo "consistindo em" significa que um objeto tem pelo menos 90%, 95%, 97%, 98% ou 99% dos recursos ou componentes declarados dos quais consiste. Em outra modalidade, o termo "consistindo em" exclui do escopo de qualquer recitação subsequente quaisquer outros recursos ou componentes, exceto aqueles que não são essenciais para o efeito técnico a ser alcançado.

[0133] Conforme usado neste documento, os termos "ou" devem ser interpretados como um "ou" inclusivo, significando qualquer uma ou qualquer combinação. Portanto, "A, B ou C" significa qualquer um dos seguintes: "A; B; C; A e B; A e C; B e C; A, B e C". Uma exceção a essa definição ocorrerá somente quando uma combinação de elementos, funções, etapas ou atos for de alguma forma inerentemente mutuamente exclusiva. Por exemplo, "tratar, prevenir ou controlar" ou listagens semelhantes significa: "tratar; prevenir; controlar; tratar e prevenir; tratar e controlar; prevenir e controlar; tratar, prevenir ou controlar".

[0134] O termo "Composto 1" refere-se a "2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida" tendo a estrutura:



e os seus estereoisômeros ou mistura de estereoisômeros, sais farmacologicamente aceitáveis, tautômeros, pró-fármacos, solvatos, hidratos, co-cristais, clatratos ou polimorfos dos mesmos. Em certas modalidades, o Composto 1 refere-se a 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida e seus tautômeros. Em certas modalidades, o Composto 1 refere-se a um polimorfo de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoindolin-5-il)metil)-2, 2-difluoroacetamida, como Forma A, B, C, D ou E, ou uma mistura do mesmos. Em certas modalidade, o Composto 1 refere-se à Forma C polimórfica de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoindolin-5-il)metil)-2, 2-difluoroacetamida. Em certas modalidades, o Composto 1 refere-se a uma forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoindolin-5-il)metil)-2, 2-difluoroacetamida. Em uma modalidade, o estereoisômero é um enantiômero.

[0135] A menos que especificamente indicado de outra forma, quando um composto pode assumir formas tautomérica alternativa, regioisoméricas e/ou estereoisoméricas, todos os isômeros alternativos destinam-se a ser englobados dentro do âmbito da matéria reivindicada. Por exemplo, quando um composto pode ter uma das duas formas tautoméricas, pretende-se que ambos os tautômeros sejam englobados neste documento.

[0136] Portanto, os compostos deste documento podem ser enantiomericamente puros, ou ser misturas estereoisoméricas ou diastereoméricas. Conforme usado neste documento e a menos que indicado de outra forma, o termo "estereoisomericamente puro" significa uma composição que compreende um estereoisômero de um composto e é substancialmente

livre de outros estereoisômeros desse composto. Por exemplo, uma composição estereoisomericamente pura de um composto tendo um centro quiral estará substancialmente livre do enantiômero oposto do composto. Uma composição estereoisomericamente pura de um composto tendo dois centros quirais estará substancialmente livre de outros diastereoisômeros do composto. Um composto típico estereoisomericamente puro compreende mais do que cerca de 80% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 20% em peso de outros estereoisômeros do composto, mais preferencialmente mais do que cerca de 90% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 10% em peso dos outros estereoisômeros do composto, ainda mais preferencialmente mais do que cerca de 95% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 5% em peso dos outros estereoisômeros do composto e mais preferencialmente mais do que cerca de 97% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 3% em peso dos outros estereoisômeros do composto. Um composto estereoisomericamente puro, conforme usado neste documento, compreende mais do que cerca de 80% em peso de um estereoisômero do composto, mais preferencialmente mais do que cerca de 90% em peso de um estereoisômero do composto, ainda mais preferencialmente mais do que cerca de 95% em peso de um estereoisômero do composto e mais preferencialmente mais do que cerca de 97% em peso de um estereoisômero do composto. Conforme usado neste documento e a menos que indicado de outra forma, o termo "estereoisomericamente enriquecido" significa uma composição que compreende mais do que cerca de 60% em peso de um estereoisômero de um composto, preferencialmente mais do que cerca de 70% em peso, mais preferencialmente mais do que cerca de 80% em peso de um estereoisômero de um composto. Conforme usado neste documento e a menos que indicado de outra forma, o termo "enantiomericamente puro"

significa uma composição estereoisomericamente pura de um composto tendo um centro quiral. Do mesmo modo, o termo "estereoisomericamente enriquecido" significa uma composição estereoisomericamente enriquecida de um composto tendo um centro quiral. Conforme usado neste documento, misturas estereoisoméricas ou diastereoméricas significa uma composição que compreende mais do que um estereoisômero de um composto. Uma mistura estereoisomérica típica de um composto compreende cerca de 50% em peso de um estereoisômero do composto e cerca de 50% em peso de outros estereoisômeros do composto, ou compreende mais do que cerca de 50% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 50% em peso de outros estereoisômeros do composto, ou compreende mais do que cerca de 45% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 55% em peso dos outros estereoisômeros do composto, ou compreende mais do que cerca de 40% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 60% em peso dos outros estereoisômeros do composto, ou compreende mais do que cerca de 35% em peso de um estereoisômero do composto e menos do que cerca de 65% em peso dos outros estereoisômeros do composto.

[0137] Conforme usado neste documento, API refere-se ao Composto 1. Em certas modalidades, API refere-se a 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0138] Conforme usado neste documento, as abreviações para quaisquer grupos protetores, aminoácidos e outros compostos, estão, a não ser que indicado de outra forma, de acordo com o seu uso comum, abreviações reconhecidas, ou pela Comissão IUPAC-IUB na Nomenclatura Bioquímica (ver, *Biochem.* 1972, 11:942-944).

[0139] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado de

outro modo, o termo "liofilizar" refere-se ao processo de isolamento de uma substância sólida da solução e/ou remoção do solvente. Em algumas modalidades, isto pode ser obtido por várias técnicas conhecidas aos versados na técnica, incluindo, por exemplo, evaporação (*por exemplo, sob vácuo, por exemplo, por liofilização e/ou congelamento da solução e evaporação do solvente congelado sob condições de vácuo ou de pressão reduzida, etc*).

[0140] Conforme usado neste documento, o termo "co-solvente" refere-se a um solvente que auxilia a solubilização de um agente ativo em água durante a fabricação de uma formulação fornecida neste documento. O co-solvente pode ser um solvente que também fornece estabilidade suficiente da formulação intermediária durante a fabricação. O co-solvente pode também ser removido da formulação, ou reduzido a um nível aceitável, durante a fabricação. Exemplos de co-solventes incluem acetonitril, clorofórmio, terc-butanol, metanol, tetra-hidrofurano, ácido fórmico, ácido acético, acetona, anisol, butanol, acetato de butil, éter terc-butilmetil, etanol, acetato de etila, éter de etila, formato de etila, heptanos, acetato de isobutil, acetato de isopropil, acetato de metil, 3-metil-butanol, metiletilcetona, metilisobutilcetona, 2-metil-1-propanol, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol e acetato de propil.

[0141] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado de outro modo, o termo "substancialmente isento de" significa conter não mais do que uma quantidade insignificante. Em algumas modalidades, uma composição ou preparação é "substancialmente isenta de" um elemento recitado se contiver menos de 5%, 4%, 3%, 2% ou 1%, em peso do elemento. Em algumas modalidades, a composição ou preparação contém menos de 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1% ou menos do elemento recitado. Em algumas modalidades, a composição ou preparação contém uma quantidade indetectável do elemento recitado.

[0142] Conforme usado neste documento, "solução aquosa reconstituída" ou "composição aquosa reconstituída" ou "formulação aquosa reconstituída" refere-se a uma solução aquosa obtida por dissolução de uma formulação liofilizada fornecida neste documento em um solvente aquoso.

[0143] O termo "diluyente aquoso" usado neste documento refere-se a um líquido aquoso capaz de ser incluído em uma formulação parentérica. Tais diluentes aquosos podem incluir, por exemplo, água, solução salina, ½ de solução salina ou dextrose normal, se desejado, bem como qualquer um dos conservantes ou excipientes auxiliares conhecidos comumente encontrados como parte de formulações parenterais. Os diluentes aquosos exemplificativos incluem água, solução de dextrose a 5% e semelhantes.

[0144] Conforme usado neste documento, e salvo indicação em contrário, o termo "parentérico" inclui injeção subcutânea, intravenosa, intramuscular, intra-articular, intrassinovial, intraesternal, intratecal, intra-hepática, intralesional e intracraniana ou técnicas de infusão.

[0145] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado de outro modo, a expressão "dose unitária" refere-se a uma unidade fisicamente discreta de uma formulação apropriada para um sujeito a ser tratado (*por exemplo*, para uma dose única); cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de um agente ativo selecionado para produzir um efeito terapêutico desejado (sendo entendido que doses múltiplas podem ser necessárias para alcançar um efeito desejado ou ótimo), opcionalmente em conjunto com um transportador farmacologicamente aceitável, que pode ser fornecido em uma quantidade predeterminada. A dose unitária pode ser, por exemplo, um volume de líquido (por exemplo, um carreador aceitável) contendo uma quantidade predeterminada de um ou mais agentes terapêuticos, uma quantidade predeterminada de um ou mais agentes terapêuticos na forma

sólida, uma formulação de liberação prolongada ou dispositivo de administração de fármaco contendo uma quantidade predeterminada de um ou mais agentes terapêuticos, etc. Será apreciado que uma dose unitária pode conter uma variedade de componentes para além do (s) agente (s) terapêutico (s). Por exemplo, carreadores aceitáveis (*por exemplo*, transportadores farmacologicamente aceitáveis), diluentes, estabilizadores, tampões, conservantes, etc, podem ser incluídos como descrito *infra*. Será entendido, no entanto, que o uso diário total de uma formulação da presente divulgação será decidido pelo clínico geral dentro do escopo do juízo médico apropriado. O nível específico de dose eficaz para qualquer sujeito ou organismo particular pode depender de uma variedade de fatores, incluindo o distúrbio a ser tratado e a gravidade do distúrbio; atividade do composto ativo específico empregue; composição específica empregada; idade, peso corporal, saúde geral, sexo e dieta do sujeito; tempo de administração e taxa de excreção do composto ativo específico usado; duração do tratamento; fármacos e/ou terapias adicionais usadas em combinação ou coincidentes com composto (s) específico (s) empregados, e fatores semelhantes bem conhecidos nas técnicas médicas.

[0146] Conforme usado neste documento, o termo "forma sólida" refere-se a uma forma de cristal ou uma forma amorfa ou uma sua mistura de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal, tautômero, fármaco, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato ou polimorfo farmacologicamente aceitável do mesmo.

[0147] Conforme usado neste documento, a menos que especificado de outra forma, o termo "sal (is) farmacologicamente aceitável(is)", conforme usado neste documento, inclui, mas não está limitado a, sais de frações ácidas ou básicas do Composto 1. Frações básicas são capazes de formar uma ampla

variedade de sais com diversos ácidos orgânicos e inorgânicos. Os ácidos que podem ser usados para preparar sais de adição de ácido farmacologicamente aceitáveis de tais compostos básicos são aqueles que formam sais de adição de ácido não tóxicos, *por exemplo*, sais contendo ânions farmacologicamente aceitáveis. Os ácidos orgânicos adequados incluem, mas não estão limitados a, maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, acético, fórmico, oxálico, propiônico, tartárico, salicílico, cítrico, glucônico, láctico, mandélico, cinâmico, oleico, tânico, aspártico, esteárico, palmítico, glicólico, glutâmico, glucônico, glucarônico, sacárico, isonicotínico, metanossulfônico, etanossulfônico, p-toluenossulfônico, benzenossulfônico ou p-amônio (*por exemplo*, ácidos 1,1'-metileno-bis-(2-hidróxi-3-naftoato). Os ácidos inorgânicos adequados incluem, mas não estão limitados a, ácidos clorídrico, bromídrico, iodídrico, sulfúrico, fosfórico ou nítrico. Os compostos que incluem uma fração amina podem formar sais farmacologicamente aceitáveis com vários aminoácidos, além dos ácidos mencionados acima. Frações químicas que são acídicas em natureza são capazes de formar sais de base com vários cátions farmacologicamente aceitáveis. Exemplos de tais sais são sais de metais alcalinos ou de metais alcalino-terrosos e, em particular, sais de cálcio, magnésio, sódio, lítio, zinco, potássio ou ferro.

[0148] Tal como usado neste documento, e a menos que especificado de outra forma, o termo "solvato" significa um composto fornecido neste documento, ou um sal do mesmo, que inclui ainda uma quantidade estequiométrica ou não estequiométrica de solvente ligada por forças intermoleculares não covalentes. Onde o solvente é água, o solvato é um hidrato.

[0149] Conforme usado neste documento e a menos que indicado de outra forma, o termo "pró-fármaco" significa um derivado de um composto que pode hidrolisar, oxidar, ou de outro modo reagir sob condições biológicas (in vitro ou

in vivo) para fornecer o composto. Exemplos de pró-fármacos incluem, mas não estão limitados a, derivados dos compostos descritos neste documento (*por exemplo*, Composto 1) que inclui frações bio-hidrolisáveis tais como amidas bio-hidrolisáveis, ésteres bio-hidrolisáveis, carbamatos bio-hidrolisáveis, carbonatos bio-hidrolisáveis, ureidos bio-hidrolisáveis e análogos de fosfato bio-hidrolisáveis.

[0150] Um "excipiente farmacologicamente aceitável" refere-se a uma substância que auxilia a administração de um agente ativo a um sujeito, por exemplo, modificando a estabilidade de um agente ativo ou modificando a absorção por um sujeito após a administração. Um excipiente farmacologicamente aceitável tipicamente não tem nenhum efeito toxicológico adverso significativo sobre o paciente. Exemplos de excipientes farmacologicamente aceitáveis incluem, por exemplo, água, NaCl (incluindo soluções salinas), soluções salinas normais, ½ de soro fisiológico, sacarose, glicose, agentes de volume, tampões, aglutinantes, enchimentos, desintegrantes, lubrificantes, revestimentos, edulcorantes, aromatizantes, álcoois, óleos, gelatinas, carboidratos tais como amilose ou amido, ésteres de ácidos graxos, hidroximetilcelulose, polivinilpirrolidina e cores e semelhantes. Os versados na técnica reconhecerão que outros excipientes farmacêuticos conhecidos na técnica são úteis na presente invenção e incluem aqueles listados, por exemplo, em *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Rowe RC, Shesky PJ e Quinn ME, 6ª Ed., The Pharmaceutical Press, RPS Publishing (2009). Os termos "agente de volume" e "tampão" são usados de acordo com o significado simples e comum dentro da técnica.

[0151] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado de outra forma, o termo "cerca de", quando usado em ligação com doses, quantidades ou porcentagem em peso de ingredientes de uma composição ou

uma forma de dosagem, significa dose, quantidade ou porcentagem em peso que é reconhecida por aqueles versados na técnica como proporcionando um efeito farmacológico equivalente ao obtido a partir da dose, quantidade ou porcentagem em peso especificada é abrangida. Especificamente, o termo "cerca de" contempla uma dose, quantidade ou percentual de peso dentro de 30%, 25%, 20%, 15%, 10% ou 5% da dose especificada, quantidade ou percentual de peso é englobado.

[0152] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado em contrário, o termo "estável", quando usado em ligação com uma formulação líquida ou uma forma de dosagem, significa que o ingrediente ativo da formulação ou forma de dosagem permanece solubilizado durante uma quantidade de tempo especificada e não significa significativamente degradar ou agregar ou ser modificado de outra forma (*por exemplo*, conforme determinado, por exemplo, por HPLC). Em algumas modalidades, cerca de 70% ou mais, cerca de 80% ou mais ou cerca de 90% ou mais do composto permanece solubilizado após o período especificado. Estabilidade também pode se referir à compatibilidade de excipientes farmacologicamente aceitáveis descritos neste documento. Consequentemente, uma forma de dosagem pode ser considerada estável quando os excipientes farmacologicamente aceitáveis e o(s) agente(s) ativo(s) descritos neste documento não degradam ou modificam de outro modo (*por exemplo*, reagem com) a eficácia ou o valor terapêutico de um agente ativo descrito neste documento.

[0153] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado em contrário, o termo "estável", quando usado em ligação com uma formulação sólida ou uma forma de dosagem, significa que o ingrediente ativo da formulação ou forma de dosagem não degrada ou se decompõe significativamente ou é modificado de outra forma (*por exemplo*, *por exemplo*,

por HPLC). Em algumas modalidades, cerca de 85% ou mais, cerca de 90% ou mais, cerca de 95% ou mais ou cerca de 98% ou mais do ingrediente ativo permanecem inalteradas após o período especificado. Estabilidade também pode se referir à compatibilidade de excipientes farmacologicamente aceitáveis descritos neste documento. Conseqüentemente, uma forma de dosagem pode ser considerada estável quando os excipientes farmacologicamente aceitáveis e o(s) agente(s) ativo(s) descritos neste documento não degradam ou modificam de outro modo (por exemplo, reagem com) a eficácia ou o valor terapêutico de um agente ativo descrito neste documento.

[0154] Conforme usado neste documento, "administrar" ou "administração" refere-se ao ato de distribuir fisicamente uma substância tal como existe fora do corpo em um sujeito. Administração inclui todas as formas conhecidas na técnica para administrar agentes terapêuticos, incluindo, mas não se limitando a, oral, tópica, mucosa, injeções, intradérmica, intravenosa, administração intramuscular ou outro método de entrega física descrito neste documento ou conhecido na técnica (*por exemplo*, implantação de um dispositivo de liberação lenta, como uma bomba mini-osmótica para um sujeito; formulações lipossômicas; bucal; sublingual; palatal; gengival; nasal; vaginal; retal; intra-arteríola; intraperitoneal; intraventricular; intracraniano; ou transdérmica).

[0155] "Agentes anti-câncer" refere-se a anti-metabolitos (por exemplo, 5-fluoro-uracil, metotrexato, fludarabina), agentes antimicrotúbulos (por exemplo, alcaloides da vinca tais como vincristina, vinblastina, taxanos tais como paclitaxel, docetaxel), agentes alquilantes (por exemplo, ciclofosfamida, melfalano, carmustina, nitrosoureas tais como biscloroetilnitrosureia e hidroximetilureia), agentes de platina (por exemplo cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, JM-216 ou satraplatina, CI-973), antraciclina (por exemplo,

doxorubicina, daunorrubicina), antibióticos antitumorais (por exemplo, mitomicina, idarubicina, adriamicina, daunomicina), inibidores da topoisomerase (por exemplo, etoposídeo, camptotecinas), agentes antiangiogênese (por exemplo Sutent[®], malato de sunitinibe e bevacizumabe), ou quaisquer outros agentes citotóxicos, (fosfato de estramustina, prednimustina), hormonas ou agonistas de hormonas, antagonistas agonistas parciais ou antagonistas parciais, inibidores de quinase, inibidores de checkpoint e tratamento de radiação.

[0156] Por "co-administração", entende-se que os compostos, composições ou agentes descritos neste documento são administrados ao mesmo tempo, imediatamente antes ou imediatamente após a administração de um ou mais compostos, composições ou agentes adicionais, incluindo, por exemplo, um agente anticâncer. A co-administração destina-se a incluir a administração simultânea ou sequencial de compostos, composições ou agentes individualmente ou em combinação (mais de um composto ou agente). A co-administração inclui a administração de dois compostos, composições ou agentes simultaneamente, aproximadamente simultaneamente (*por exemplo*, dentro de cerca de 1, 5, 10, 15, 20 ou 30 minutos um do outro), ou sequencialmente em qualquer ordem. Portanto, a co-administração pode incluir administrar um agente ativo (*por exemplo*, um composto descrito neste documento) dentro de 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 ou 24 horas de um segundo agente ativo. A co-administração também pode ser realizada por co-formulação, *por exemplo*, preparando uma única forma de dosagem, incluindo ambos os agentes ativos. Os agentes ativos podem ser formulados separadamente. Nesses casos, os agentes ativos são misturados e incluídos juntos na forma final da unidade de dosagem. Alternativamente, a co-administração, conforme descrita neste documento, pode incluir a administração de duas formas de dosagem

unitária separadas de pelo menos dois agentes ativos separados (*por exemplo*, Composto 1 e um segundo agente ativo descrito neste documento).

[0157] Conforme usado neste documento, o termo "diariamente" pretende significar que um composto terapêutico, tal como o Composto 1, é administrado uma vez ou mais do que uma vez por dia, por um período de tempo. O termo "contínuo" pretende significar que um composto terapêutico, tal como o Composto 1, é administrado diariamente por um período contínuo de pelo menos 10 dias a 52 semanas. O termo "intermitente" ou "intermitentemente" tal como usado neste documento pretende significar parar e iniciar a intervalos regulares ou irregulares. Por exemplo, a administração intermitente do Composto 1 é a administração durante um a seis dias por semana, administração em ciclos (*por exemplo*, administração diária durante um a dez dias consecutivos de um ciclo de 28 dias, depois um período de descanso sem administração para o resto do ciclo de 28 dias ou administração diária durante duas a oito semanas consecutivas, depois um período de descanso sem administração até um semana), ou administração em dias alternados. O termo "em ciclos", conforme usado neste documento, destina-se a significar que um composto terapêutico, tal como o Composto 1, é administrado diariamente ou continuamente, mas com um período de repouso.

[0158] Uma "terapia de ciclo" refere-se a um regime ou uma terapia que inclui um período de administração conforme descrito neste documento e um período de descanso conforme descrito neste documento.

[0159] O termo "período de administração", conforme usado neste documento, refere-se a um período de tempo a que um sujeito recebe contínua ou ativamente um composto ou uma composição descritos neste documento.

[0160] O termo "período de descanso", conforme usado neste documento, refere-se a um período de tempo, muitas vezes após um período de

administração, em que um sujeito não recebe um composto ou uma composição descritos neste documento (por exemplo, a descontinuação do tratamento). Em determinadas modalidades, um período de "descanso" refere-se a um período de tempo em que um agente individual não é administrado a um sujeito ou ao tratamento que faz uso de um determinado composto é descontinuado. Nessas modalidades, um segundo agente terapêutico (por exemplo, um agente diferente do composto ou da composição administrados no período de administração anterior) pode ser administrado ao sujeito.

[0161] Uma "quantidade efetiva" é uma quantidade suficiente para alcançar o efeito para o qual é administrada (*por exemplo*, tratar uma doença ou reduzir um ou mais sintomas de uma doença ou condição). Assim, a administração de uma "quantidade" de um composto descrito neste documento a um sujeito refere-se à administração de "uma quantidade eficaz", para atingir o resultado terapêutico desejado. Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" de um composto descrito neste documento para os propósitos neste documento é assim determinada por considerações tais como são conhecidas na técnica. O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" de uma composição descrita neste documento refere-se à quantidade da composição que, quando administrada, é suficiente para tratar um ou mais dos sintomas de uma doença descrita neste documento (*por exemplo*, câncer, por exemplo, AML, MDS, MPN ou tumores sólidos). A administração de um composto descrito neste documento pode ser determinada de acordo com fatores tais como, por exemplo, o estado da doença, idade, sexo e peso do sujeito. Uma quantidade terapeuticamente eficaz também se refere a quaisquer efeitos tóxicos ou prejudiciais do Composto 1 são superados pelos efeitos terapeuticamente benéficos.

[0162] Neste documento, e a menos que especificado em contrário, os termos "tratar", "tratando" e "tratamento" referem-se à erradicação ou

melhoria de uma doença ou distúrbio ou de um ou mais sintomas associados com a doença ou com o distúrbio. Em certas modalidades, os termos referem-se à minimização da disseminação ou à piora da doença ou do distúrbio, resultante da administração de um ou mais agentes profiláticos ou terapêuticos a um paciente com a doença ou com o distúrbio. Em algumas modalidades, os termos referem-se à administração de um composto fornecido neste documento, com ou sem outro agente ativo adicional, após o aparecimento dos sintomas da doença específica. Em uma modalidade, a doença é leucemia, incluindo, mas não se limitando a, leucemia linfocítica crônica (LLC), leucemia mielocítica crônica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda ou leucemia mieloblástica aguda (AML). Em uma modalidade, a leucemia pode ser recidivada, refratária ou resistente a pelo menos uma terapia anticâncer. Em uma modalidade, a doença é AML, incluindo um subtipo de AML discutido neste documento. Em uma modalidade, a doença é a síndrome mielodisplásica MDS, incluindo um subtipo de MDS discutido neste documento.

[0163] Conforme usado neste documento, e, salvo indicação em contrário, os termos "prevenir", "prevenindo" e "prevenção" referem-se à prevenção do aparecimento, recorrência ou propagação de uma doença ou distúrbio ou de um ou mais sintomas. Em certas modalidades, os termos referem-se ao tratamento com ou à administração de um composto fornecido neste documento, com ou sem outro composto ativo adicional, antes do aparecimento dos sintomas, particularmente a pacientes em risco de doenças ou distúrbios fornecidos neste documento. Os termos abrangem a inibição ou a redução de um sintoma da doença específica. Pacientes com história familiar de uma doença em particular são candidatos para regimes preventivos em certas formas de realização. Além disso, os pacientes que têm história de sintomas recorrentes também são candidatos potenciais para a prevenção. A este respeito, o termo "prevenção"

pode ser usado de forma intercambiável com o termo "tratamento profilático". Em uma modalidade, a doença é leucemia, incluindo, mas não está limitada a leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, e leucemia mieloblástica aguda. Em uma modalidade, a leucemia pode ser recidivada, refratária ou resistente a pelo menos uma terapia anticâncer. Em uma modalidade, a doença é AML, incluindo um subtipo de AML discutido neste documento. Em uma modalidade, a doença é MDS, incluindo um subtipo de MDS discutido neste documento.

[0164] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado de outra forma, os termos "controlar", "controle" e "controlando" referem-se a prevenir ou retardar a progressão, propagação ou piora de uma doença ou distúrbio, ou de um ou mais sintomas dela. Com frequência, os efeitos benéficos que o paciente obtém de um agente profilático e/ou terapêutico não resultam na cura da doença ou do distúrbio. A este respeito, o termo "gestão" engloba o tratamento de um paciente que sofria de uma doença específica na tentativa de evitar ou minimizar a recorrência da doença ou o prolongamento do tempo durante o qual o câncer permanece em remissão. Em uma modalidade, a doença é leucemia, incluindo, mas não está limitada a leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, e leucemia mieloblástica aguda. Em uma modalidade, a leucemia pode ser recidivada, refratária ou resistente a pelo menos uma terapia anticâncer. Em uma modalidade, a doença é AML, incluindo um subtipo de AML discutido neste documento. Em uma modalidade, a doença é MDS, incluindo um subtipo de MDS discutido neste documento.

[0165] Conforme usado neste documento, "terapia de indução" refere-se ao primeiro tratamento administrado para uma doença ou ao primeiro tratamento administrado com a intenção de induzir remissão completa em uma

doença, como o câncer. Quando usada sozinha, a terapia de indução é a aceita como o melhor tratamento disponível. Por exemplo, a terapia de indução para AML compreende tratamento com citarabina durante 7 dias mais tratamento com uma antraciclina, como daunorrubicina ou idarubicina, durante 3 dias. Se for detectada leucemia residual, os pacientes são tratados com outro curso de quimioterapia, denominado reindução. Se o paciente estiver em remissão completa após a terapia de indução, é dada uma consolidação adicional e/ou terapia de manutenção para prolongar a remissão ou potencialmente curar o paciente.

[0166] Conforme usado neste documento, "terapia de consolidação" refere-se ao tratamento administrado para uma doença após a remissão ser alcançada pela primeira vez. Por exemplo, terapia de consolidação para o câncer é o tratamento administrado após o desaparecimento do câncer após a terapia inicial. A terapia de consolidação pode incluir radioterapia, transplante de células-tronco ou tratamento com terapia de fármacos para câncer. A terapia de consolidação também é chamada de terapia de intensificação e terapia pós-remissão.

[0167] Conforme usado neste documento, "terapia de manutenção" refere-se ao tratamento administrado para uma doença após a remissão ou a melhor resposta ser alcançada, a fim de prevenir ou retardar a recaída. A terapia de manutenção pode incluir quimioterapia, terapia hormonal ou terapia direcionada.

[0168] "Remissão", conforme usado neste documento, é uma diminuição ou desaparecimento de sinais e sintomas de um câncer, por exemplo, mieloma múltiplo. Em remissão parcial, alguns, mas não todos os sinais e sintomas do câncer desapareceram. Em remissão completa, todos os sinais e sintomas do câncer desapareceram, embora o câncer ainda possa estar no organismo.

[0169] Os termos "sujeito", "paciente", "sujeito que dele necessita", e "paciente que dele necessita" são usados neste documento de forma intercambiável e referem-se a um organismo vivo que sofre de uma ou mais das doenças descritas neste documento (*por exemplo*, AML) que podem ser tratadas pela administração de uma composição descrita neste documento. Exemplos não limitantes de organismos incluem humanos, outros mamíferos, bovinos, ratos, camundongos, cães, macacos, cabras, ovelhas, vacas, cervos e outros animais não mamíferos. Em modalidades, um sujeito é humano. Um sujeito humano pode ser entre as idades de cerca de 1 ano de idade a cerca de 100 anos de idade. Em modalidades, os sujeitos descritos neste documento podem ser caracterizados pela doença a ser tratada (*por exemplo*, um "sujeito com AML", um "sujeito com câncer", ou um "sujeito com leucemia").

[0170] Conforme usado neste documento, o termo "tumor" se refere a todo crescimento e proliferação de células neoplásicas, malignas ou benignas, e a todas as células e tecidos pré-cancerosos e cancerosos. "Neoplásica", conforme usado neste documento, refere-se a qualquer forma de crescimento celular desregulado ou desregulada, malignas ou benignas, resultando em crescimento de tecido anormal. Portanto, "células neoplásicas" incluem células malignas e benignas com o crescimento celular desregulado ou não regulamentado.

[0171] Conforme usado neste documento, "malignidade hematológica" refere-se ao câncer de medula óssea do sistema imune e do sistema de formação do sangue e do tecido linfático do corpo. Tais cânceres incluem leucemias, linfomas (Linfoma Não Hodgkin), doença de Hodgkin (também chamado de linfoma de Hodgkin) e mieloma. Em uma modalidade, o mieloma é mieloma múltiplo. Em algumas modalidades, a leucemia é, por exemplo, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoide aguda (ALL), leucemia de células T

adultas, leucemia linfoide crônica (CLL), tricoleucemia, mielodisplasia, distúrbios mieloproliferativos ou neoplasmo mieloproliferativo (MPN), leucemia mieloide crônica (CML) síndrome mielodisplásica (MDS), leucemia de tipo 1 do vírus linfotrópico humano (HTLV-1), mastocitose ou leucemia linfoblástica aguda das células B. Em algumas modalidades, o linfoma é, por exemplo, linfoma difuso de grandes células B (DLBCL), linfoma imunoblástico de células B, linfoma de células pequenas não clivadas, leucemia/linfoma de vírus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1), adulto Linfoma de células T, linfoma de células T periférico (PTCL), linfoma de células T cutâneo (CTCL), linfoma de células do manto (MCL), linfoma de Hodgkin (HL), linfoma não-Hodgkin (NHL), linfoma relacionado com SIDA, folicular linfoma, linfoma linfocítico pequeno, linfoma de células B grande rico em células T / histiócitos, linfoma transformado, linfoma de grandes células B do mediastino primário (timo), linfoma da zona marginal esplênico, transformação de Richter, linfoma de zona marginal nodular ou grande Linfoma de células B ALK positivas. Em uma modalidade, o câncer hematológico é linfoma indolente, incluindo, por exemplo, DLBCL, linfoma folicular ou linfoma de zona marginal. Em uma modalidade, a malignidade hematológica é AML. Em outra modalidade, a malignidade hematológica é MDS.

[0172] O termo "leucemia" refere-se a neoplasias malignas dos tecidos formadores de sangue. A leucemia inclui, mas não está limitada a leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, e leucemia mieloblástica aguda. A leucemia pode ser recidivada, refratária ou resistente a pelo menos uma terapia anticâncer.

[0173] Em uma modalidade, o sujeito tem AML, incluindo, por exemplo, os seguintes subtipos de AML. O termo "leucemia mieloide aguda ou mieloide" refere-se a condições hematológicas caracterizadas por proliferação e acúmulo de células mieloides primariamente não diferenciadas ou minimamente

diferenciadas na medula óssea e inclui subtipos categorizados pelo sistema de classificação da FAB (francês, americano, britânico) ou da OMS. Conforme descrito neste documento, a AML inclui os seguintes subtipos com base na classificação da FAB: M0 (AML minimamente diferenciada); M1 (AML com maturação mínima); M2 (AML com maturação); M3 (leucemia promielocítica aguda); M4 (leucemia mielomonocítica aguda); M4 (eos leucemia mielomonocítica aguda com eosinofilia); M5 (leucemia monocítica aguda); M6 (leucemia eritróide aguda); e M7 (leucemia megacarioblástica aguda). Conforme descrito neste documento, a AML inclui os seguintes subtipos com base na classificação da OMS: AML com anormalidades genéticas recorrentes (AML com translocação entre os cromossomos 8 e 21); AML com translocação ou inversão no cromossomo 16; AML com translocação entre os cromossomos 9 e 11; APL (M3) com translocação entre os cromossomos 15 e 17; AML com translocação entre os cromossomos 6 e 9; AML com translocação ou inversão no cromossomo 3); AML (megacarioblástico) com translocação entre os cromossomos 1 e 22; AML com alterações relacionadas à mielodisplasia; AML relacionada a quimioterapia ou radiação anterior (AML relacionada ao agente alquilante; AML relacionada ao inibidor da Topoisomerase II); AML não categorizada de outra forma (AML que não se enquadra nas categorias acima, ou seja, AML minimamente diferenciada (M0); AML com maturação mínima (M1); AML com maturação (M2); Leucemia mielomonocítica aguda (M4); Leucemia monocítica aguda (M5)); Leucemia eritróide aguda (M6); Leucemia megacarioblástica aguda (M7); Leucemia basofílica aguda; Panmielose aguda com fibrose); Sarcoma Mieloide (também conhecido como sarcoma granulocítico, cloroma ou mieloblastoma extramedular); e leucemias agudas indiferenciadas e bifenotípicas (também conhecidas como leucemias agudas de fenótipo misto). (Vide [https://www.cancer.org/cancer/acute-myelo id-leukemia/detection-](https://www.cancer.org/cancer/acute-myelo-id-leukemia/detection-)

diagnosis-staging/how-classified.html, acessado pela última vez em 25 de maio de 2017).

[0174] Em certas modalidades, os grupos de risco para AML baseados em citogenética são descritos abaixo:

Status de Risco	Citogenética	Anormalidades Moleculares ^a
Risco Favorável	Fator de ligação do núcleo: inv (16) ^{b, c, d} ou t (16; 16) ^{b, c, d} ou t (8; 21) ^{b, d} ou t (15; 17) ^d	Citogenética normal: Mutação NPM1 na ausência de FLT3-ITD ou mutação bialélica isolada de CEBPA
Risco intermediário	Citogenética normal +8 sozinho t (9; 11) Outros não definidos	Fator de ligação do núcleo com mutação cKIT ^b
Risco baixo	Complexo (≥ 3 anormalidades cromossômicas clonais) Cariótipo monossômico -5, 5q-, -7, 7q- 11q23 - não t(9; 11) inv(3), t(3; 3) t(6; 9) t(9; 22) ^e	Citogenética normal: com mutação FLT3-ITD ^f Mutação TP53

^a As anormalidades moleculares incluídas nesta tabela refletem aquelas para as quais ensaios validados estão disponíveis em laboratórios comerciais padronizados.

^b Dados emergentes indicam que a presença de mutações no KIT em

pacientes com t (8; 21) e, em menor grau inv (16), confere maior risco de recidiva. Esses pacientes são considerados de risco intermediário e devem ser considerados para transplante de células-tronco hematopoiéticas (HSCT) ou ensaios clínicos, se disponíveis. Outras anormalidades citogenéticas, além desses achados, não alteram o status de risco.

^c Paschka P, *et al. Blood* 2013; 121: 170-177.

^d Outras anormalidades citogenéticas, além desses achados, não alteram o melhor status de risco

^e Para Filadélfia + leucemia mieloide aguda (AML) t (9; 22), controle como crise de blastos mieloides na leucemia mieloide crônica (LMC), com adição de inibidores de tirosina quinase.

[0175] Em uma modalidade, o sujeito tem MDS, incluindo, por exemplo, os seguintes subtipos de MDS. O termo "síndrome mielodisplásica" diz respeito a condições hematológicas caracterizadas por anormalidades na produção de um ou mais dos componentes celulares do sangue (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos (outros além de linfócitos) e plaquetas (ou suas células progenitoras, megacariócitos)). A hematopoese ineficaz na medula óssea (BM) e citopenias sanguíneas periféricas na SMD manifestam-se clinicamente como anemia, neutropenia e/ou trombocitopenia de frequência e gravidade variáveis. A anemia é o achado laboratorial mais frequente e frequentemente progride para dependência de transfusão de hemácias (RBC). Outras características clínicas menos comuns, relacionadas às citopenias, são o aumento do risco de infecção e/ou hemorragia e a propensão a progredir para leucemia mieloide aguda (AML) (Catenacci, *et al. Blood Rev* 2005; 19: 301-319).

[0176] MDS inclui os seguintes distúrbios: anemia refratária (RA); RA com sideroblastos em anel (RARS); RA com excesso de blastos (RAEB); citopenia refratária com displasia de linhagem múltipla (RCMD), citopenia refratária com

displasia de linhagem única (RCUD); síndrome mielodisplásica não classificável (MDS-U), síndrome mielodisplásica associada a uma anormalidade do cromossomo de 1(5q) isolada, neoplasias mieloides relacionadas à terapia e leucemia mielomonocítica crônica (CMML). O MDS, conforme usado neste documento, também inclui MDS de risco muito baixo, baixo risco, risco intermediário, alto risco e muito alto. Em algumas modalidades, a MDS é primária ou MDS *de novo*. Em outras modalidades, a MDS é secundária.

[0177] Em certas modalidades, a MDS é classificada com base na classificação da MDS da Organização Mundial da Saúde (OMS), conforme descrito abaixo:

Classificações da OMS para MDS

Classificação de neoplasia mieloide da OMS e leucemia aguda	Descobertas Diplásicas	Cytopenias ^a	Descobertas PB e BM e citogenética
MDS com displasia de linhagem única (MDS-SLD)	1	1 ou 2	BM <5%, PB <1%, sem Bastões de Auer Qualquer citogenética, a menos que atenda a todos os critérios para SMD com del isolado (5q)

Classificação de neoplasia mieloide da OMS e leucemia aguda	Descobertas Diplásicas	Cytopenias ^a	Descobertas PB e BM e citogenética
MDS com sideroblastos em anel (MDS-RS) ^b MDS-RS e displasia de linhagem única MDS-RS e displasia de linhagem múltipla	1 2 ou 3	1 ou 2 3	BM <5%, PB <1%, sem Bastões de Auer Qualquer citogenética, a menos que atenda a todos os critérios para SMD com del isolado (5q)
MDS com displasia de linhagem múltipla (MDS-MLD)	2 ou 3	1-3	BM <5%, PB <1%, sem Bastões de Auer Qualquer citogenética, a menos que atenda a todos os critérios para SMD com del isolado (5q)
MDS com excesso de blastos (MDS-EB)			
MDS-EB-1	0-3	1-3	BM 5-9% ou PB 2-4%, sem Bastões de Auer Quaisquer citogenéticos

Classificação de neoplasia mielóide da OMS e leucemia aguda	Descobertas Diplásicas	Cytopenias ^a	Descobertas PB e BM e citogenética
MDS-EB-2	0-3	1-3	BM 10-19% ou PB 5-19% ou Bastões de Auer Quaisquer citogenéticos
MDS associado ao del(5q) isolado	1-3	1-2	BM <5%, PB <1%, sem Bastões de Auer del(5q) sozinho ou com 1 anormalidade adicional, exceto -7 ou del(7q)
MDS não classificável (MDS-U)			
MDS-U com 1% de blastos do sangue	1-3	1-3	BM <5%, PB =1% ^c , sem Bastões de Auer Quaisquer citogenéticos
MDS-U com SLD e pancitopenia	1	3	BM <5%, PB <1%, sem Bastões de Auer Quaisquer citogenéticos
MDS-U com base na definição de anormalidade citogenética	0	1-3	BM <5%, PB <1%, sem Bastões de Auer Anormalidade definidora de MDS ^d

^aCitopenias definidas como: hemoglobina, <10 g/dL, contagem de plaquetas, $100 \times 10^9/L$; e contagem absoluta de neutrófilos, $<1,8 \times 10^9/L$.

Raramente, a MDS pode apresentar anemia leve ou trombocitopenia acima desses níveis. Os monócitos do sangue periférico devem ser $< 1 \times 10^9/L$.

^bOs casos com sideroblastos em anel $\geq 15\%$, por definição, apresentam displasia eritroide significativa e são classificados como MDS-RS-SLD.

^cUm por cento dos blastos de PB deve ser registrada em pelo menos 2 ocasiões separadas.

^dA anormalidade deve ser demonstrada por cariotipagem convencional, não por FISH ou sequenciamento. A presença de +8, -Y, de del (20q) não é considerada definidora de MDS na ausência de características morfológicas de diagnóstico de MDS. Arber, et al. *Blood* 2016; 127 (20): 2391-2405, e Vardiman, et al. *Blood*. 2009; 114 (5): 937-51.

[0178] Conforme usado neste documento, "leucemia promielocítica" ou "leucemia promielocítica aguda" refere-se a um tumor maligno da medula óssea em que há uma deficiência de células sanguíneas maduras na linha de células mieloides e de um excesso de células imaturas chamadas promielócitos. Geralmente é marcada por uma troca de regiões dos cromossomos 15 e 17.

[0179] Conforme usado neste documento, "leucemia linfocítica aguda (ALL)", também conhecida como "leucemia linfoblástica aguda" refere-se a uma doença maligna causada pelo crescimento anormal de células e desenvolvimento primeiros não granular brancas do sangue ou linfócitos.

[0180] Conforme usado neste documento, "leucemia de células T" refere-se a uma doença na qual certas células do sistema linfoide chamado linfócitos T ou células T são malignas. As células T são as células brancas do sangue que normalmente podem atacar as células infectadas com vírus, células estranhas, e células cancerosas e produzem substâncias que regulam a resposta imune.

[0181] O termo "recaída" refere-se a uma situação em que os pacientes que tiveram uma remissão da leucemia após a terapia têm um retorno de células de

leucemia na medula e uma diminuição de células sanguíneas normais.

[0182] O termo "refratário ou resistente" refere-se a uma situação em que os pacientes, mesmo após o tratamento intensivo, possuem células leucêmicas residuais na sua medula.

[0183] O termo "resistência a medicamentos" refere-se à condição em que uma doença não responde ao tratamento com uma determinada fármaco ou fármacos. A resistência às fármacos pode ser intrínseca, o que significa que a doença nunca respondeu à fármaco ou às fármacos específicas, ou pode ser adquirida, o que significa que a doença cessa de responder a uma fármaco ou fármacos específicas à que a doença já havia respondido anteriormente. Em determinadas modalidades, a resistência às fármacos é intrínseca. Em determinadas modalidades, a resistência à fármaco é adquirida.

[0184] Conforme usado neste documento, e a menos que especificado de outra forma, uma "quantidade terapeuticamente eficaz" de um composto é uma quantidade suficiente para proporcionar um benefício terapêutico no tratamento ou tratamento de uma doença ou distúrbio, ou para retardar ou minimizar um ou mais sintomas associados a uma doença ou distúrbio. Uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto significa uma quantidade do agente terapêutico, sozinho ou em combinação com outras terapias, que fornece um benefício terapêutico no tratamento ou gestão da doença ou distúrbio. O termo "quantidade terapeuticamente eficaz" pode englobar uma quantidade que melhora a terapia geral, reduz ou evita sintomas ou causas de doenças ou distúrbios, ou aumenta a eficácia terapêutica de outro agente terapêutico.

[0185] Neste documento, e a menos que especificado de outra forma, uma "quantidade profilaticamente eficaz" de um composto é uma quantidade suficiente para prevenir uma doença ou um distúrbio ou para evitar a sua

recorrência. Uma quantidade profilaticamente eficaz de um composto significa uma quantidade do agente terapêutico, isoladamente ou em combinação com outros agentes, que proporciona um benefício profilático na prevenção da doença. O termo "quantidade profilaticamente eficaz" pode englobar uma quantidade que melhora a profilaxia geral ou aumenta a eficácia profilática de outro agente profilático.

[0186] Como usado neste documento, o status ECOG refere-se ao Status de Desempenho do Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (Oken M, *et al* Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982;5(6):649-655), como mostrado abaixo:

Pontuação	Descrição
0	Totalmente ativo, capaz de transportar em todo desempenho pré-doença sem restrição
1	Restrito em atividade fisicamente extenuante, mas ambulatorial e capaz de realizar trabalhos de natureza leve ou sedentária, por exemplo, trabalho doméstico leve, trabalho de escritório.
2	Ambulatório e capaz de todo autocuidado, mas incapaz de realizar qualquer atividade laboral. Acima e mais de 50% das horas de vigília.
3	Capaz apenas de autocuidado limitado, confinado à cama ou cadeira mais de 50% das horas de vigília.
4	Completamente deficiente. Não pode continuar com qualquer autocuidado. Totalmente confinado à cama ou cadeira
5	Mortos

[0187] No contexto de um câncer, o tratamento ou a inibição podem ser avaliados pela inibição da progressão da doença, inibição do crescimento do tumor, redução do tumor primário, alívio de sintomas relacionados ao tumor, inibição de fatores secretados pelo tumor, atraso no aparecimento de tumores

primários ou secundários, desenvolvimento retardado de tumores primários ou secundários, diminuição da ocorrência de tumores primários ou secundários, diminuição ou diminuição da gravidade dos efeitos secundários da doença, crescimento do tumor interrompido e regressão de tumores, aumento do tempo Progressão (TTP), aumento da sobrevida livre de progressão (PFS), aumento da Sobrevivência Geral (OS), entre outros. OS, conforme usado neste documento, significa o tempo desde o início do tratamento até à morte por qualquer causa. TTP, conforme usado neste documento, significa o tempo desde o início do tratamento até à progressão do tumor; TTP não inclui mortes. Tempo para remissão (TTR), conforme usado neste documento, significa o tempo desde o início do tratamento até a remissão, por exemplo, remissão completa ou parcial. Conforme usado neste documento, PFS significa o tempo desde o início do tratamento até à progressão do tumor ou morte. Em uma modalidade, as taxas de PFS serão calculadas usando as estimativas de Kaplan-Meier. A sobrevida livre de eventos (EFS) significa o tempo desde a entrada no estudo até qualquer falha no tratamento, incluindo progressão da doença, descontinuação do tratamento por qualquer razão ou morte. Sobrevivência livre de recaída (RFS) significa o período de tempo após o término do tratamento, para que o paciente sobreviva sem quaisquer sinais ou sintomas desse câncer. A taxa de resposta global (ORR) significa a soma da porcentagem de pacientes que atingem uma resposta completa e parcial. A taxa de remissão completa (CRR) refere-se à porcentagem de pacientes que alcançam remissão completa (CR). A duração da resposta (DoR) é o tempo de obtenção de uma resposta até recaída ou progressão da doença. A duração da remissão é o tempo desde a remissão, por exemplo, remissão completa ou parcial, até a recaída. No extremo, a inibição completa é aqui referida como prevenção ou quimioprevenção. Neste contexto, o termo “prevenção” inclui a prevenção do aparecimento de câncer clinicamente

evidente ou a prevenção de um estágio pré-clinicamente evidente de um câncer. Também pretende ser abrangido por esta definição é a prevenção da transformação em células malignas ou para parar ou reverter a progressão de células pré-malignas para células malignas. Isso inclui o tratamento profilático daqueles em risco de desenvolver um câncer.

[0188] Para leucemia, em particular AML, a resposta ao tratamento pode ser avaliada com base nos Critérios Internacionais de Resposta do Grupo de Trabalho em AML (Cheson *et al. J Clin Oncol* 2003; 21(24):4642-9).

[0189] A resposta hematológica de acordo com os critérios do IWG para AML:

Critério de Resposta	Tempo de Avaliação	Neutrófilos (μL)	Plaquetas (μL)	Blastos de Medula Óssea (%)	Outros
Avaliação do Tratamento Antecipado	7-10 dias após a terapia	NA	NA	< 5	
Estado Livre de Leucemia Morfológica	Varia por protocolo	NA	NA	< 5	Citometria de Fluxo EMD
CR morfológico	Varia por protocolo	≥ 1.000	≥ 100.000	< 5	EMD de Transfusão
Citogenética CR (CRc)	Varia por protocolo	≥ 1.000	≥ 100.000	< 5	Citogenética —normal, EMD
CR Molecular (CRm)	Varia por protocolo	≥ 1.000	≥ 100.000	< 5	Molecular —negativo, EMD

Critério de Resposta	Tempo de Avaliação	Neutrófilos (μL)	Plaquetas (μL)	Blastos de Medula Óssea (%)	Outros
CR morfológico com recuperação incompleta do sangue (CRi)		Varia por protocolo		Cumprir todos os critérios para CR, exceto para neutropenia residual ($<1.000/\mu\text{L}$) ou trombocitopenia ($<100.000/\mu\text{L}$).	
Remissão Parcial	Varia por protocolo	≥ 1.000	≥ 100.000	Diminui ≥ 50 resultando em 5 a 25	Blastos $\leq 5\%$ se o bastão de Auer for positivo
Recaída após CR		Varia por protocolo		Reaparecimento de blastos leucêmicos no sangue periférico ou $\geq 5\%$ de blastos na medula óssea não atribuíveis a qualquer outra causa (por exemplo, regeneração da medula óssea após a terapia de consolidação).	

[0190] Chave: CR = remissão completa; EMD = doença extramedular; IWG = Grupo de Trabalho Internacional; NA = não aplicável.

[0191] O tratamento do linfoma pode ser avaliado pelo International Workshop Criteria (IWC) para NHL (ver Cheson BD, et al. *J. Clin. Oncol.*: 2007: (25) 579-586), usando as definições de resposta e ponto final mostradas abaixo:

Resposta	Definição	Massas Nodais	Baço, fígado	Medula Óssea
CR	Desaparecimento de todas as evidências de doença	(a) FDG-ávido ou PET positivo antes da terapia; massa de qualquer tamanho permitida se PET negativo (b) Variável, FDG-ávido ou PET negativo; regressão ao tamanho normal no CT	Não palpável, nódulos desapareceram	Infiltrar clarificado em repetir a biópsia; se indeterminado por morfologia, imunohistoquímica deve ser negativo

Resposta	Definição	Massas Nodais	Baço, fígado	Medula Óssea
PR	Regressão de doença mensurável e não novos sítios	Redução $\geq 50\%$ no DPS de até 6 maiores massas dominantes; sem aumento no tamanho de outros nós (a) FDG-ávodo ou PET positivo antes da terapia; um ou mais PET positivos no sítio previamente envolvido (b) Variável, FDG-ávodo ou PET negativo; regressão ao CT	Redução $\geq 50\%$ no SPD dos nódulos (para nódulo único no maior diâmetro transversal); sem aumento no tamanho do fígado ou baço	Irrelevante se positivo antes da terapia; tipo de célula deve ser especificado

Resposta	Definição	Massas Nodais	Baço, fígado	Medula Óssea
SD	Falha para atingir CR / PR ou PD	(a) FDG-ávodo ou PET positivo antes da terapia; PET positivo em sítios anteriores da doença e nenhum novo sítio no CT ou PET (b) Variável, FDG-ávodo ou PET negativo; nenhuma alteração no tamanho das lesões anteriores no CT		

Resposta	Definição	Massas Nodais	Baço, fígado	Medula Óssea
PD ou doença recidivada	Qualquer nova lesão ou aumento de $\geq 50\%$ dos sítios anteriormente envolvidos do nadir	Aparecimento de nova (s) lesão (ões) $\geq 1,5$ cm em qualquer eixo, aumento $\geq 50\%$ no DEP de mais de um nó, ou $\geq 50\%$ de aumento no diâmetro mais longo de um nó anteriormente identificado ≥ 1 cm no eixo curto Lesões de PET positivo se linfoma FDG-ávido ou PET positivo antes da terapia	$\geq 50\%$ de aumento do nadir no SPD de quaisquer lesões anteriores	Envolvimento novo ou recorrente

Abreviaturas: CR, remissão completa; FDG, [^{18}F] fluorodesoxiglicose; PET, tomografia por emissão de pósitrons; TC, tomografia computadorizada; PR, remissão parcial; SPD, soma do produto dos diâmetros; SD, doença estável; PD, doença progressiva.

Pontos finais	Pacientes	Definição	Medido a partir de
Primário			
Sobrevivência geral	Todos	Morte como resultado de qualquer causa	Entrada no estudo
Sobrevivência livre de progressão	Todos	Progressão da doença ou morte como resultado de qualquer causa	Entrada no estudo
Secundário			
Sobrevivência livre de eventos	Todos	Falha de tratamento ou morte como resultado de qualquer causa	Entrada no estudo
Tempo para progressão	Todos	Tempo para progressão ou morte como resultado de linfoma	Entrada no estudo
Sobrevivência livre de doença	Em CR	Tempo para recaída ou morte como resultado de linfoma ou toxicidade aguda do tratamento	Documentação de resposta
Duração da resposta	Em CR ou PR	Tempo para recaída ou progressão	Documentação de resposta
Sobrevivência específica para linfoma	Todos	Tempo para morte como resultado de linfoma	Entrada no estudo
Tempo para o próximo tratamento	Todos	Tempo para novo tratamento	Fim do tratamento primário

Abreviaturas: CR: remissão completa; PR: remissão parcial.

[0192] Numa modalidade, o ponto final para o linfoma é evidência de benefício clínico. O benefício clínico pode refletir melhora na qualidade de vida ou redução nos sintomas do paciente, necessidade de transfusão, infecções frequentes ou outros parâmetros. O tempo para reaparecimento ou progressão dos sintomas relacionados ao linfoma também pode ser usado neste ponto final.

[0193] O tratamento da LLC pode ser avaliado pelas Diretrizes do Workshop Internacional para LLC (*vide Hallek M, et al. Blood, 2008; (111) 12: 5446-5456*) utilizando as definições de resposta e pontos finais aqui mostradas e, em particular:

Parâmetro	CR	PR	PD
Grupo A			
Linfadeno-caminho [†]	Nenhum > 1,5 cm	Diminuir ≥ 50%	Aumentar ≥ 50%
Hepatomegalia	Nenhum	Diminuir ≥ 50%	Aumentar ≥ 50%
Esplenomegalia	Nenhum	Diminuir ≥ 50%	Aumentar ≥ 50%
Linfócitos do sangue	<4000 / μ L	Diminuir ≥ 50% da linha de base	Aumentar ≥ 50% em relação à linha de base
Medula [‡]	Normocelular, <30% de linfócitos, sem nódulos linfóides-B. Medula hipocelular define CRi (5.1.6).	Redução de 50% no infiltrado medular, ou nódulos linfóides B	
Grupo B			
Contagem de plaquetas	> 100 000 / μ L	> 100 000 / μ L ou aumentar ≥ 50% em relação à linha de base	Diminuição de ≥ 50% da linha de base secundária à LLC

Parâmetro	CR	PR	PD
Hemoglobina	> 11,0 g / dL	> 11 g / dL ou aumento \geq 50% em relação à linha de base	Diminuição de > 2 g/dL da linha de base secundária à LLC
Neutrófilos [‡]	> 1500/ μ L	> 1500/ μ L ou > 50% de melhoria em relação à linha de base	

[0194] Os critérios do grupo A definem a carga tumoral; Os critérios do grupo B definem a função do sistema hematopoiético (ou medula). CR (remissão completa): todos os critérios devem ser atendidos, e os pacientes não têm sintomas constitucionais relacionados à doença; PR (remissão parcial): pelo menos dois dos critérios do grupo A mais um dos critérios do grupo B têm que ser cumpridos; SD é ausência de doença progressiva (DP) e falha em alcançar pelo menos RP; PD: pelo menos um dos critérios acima do grupo A ou do grupo B deve ser cumprido. Soma dos produtos de múltiplos linfonodos (avaliados por tomografia computadorizada em ensaios clínicos ou por exame físico em clínica geral). Esses parâmetros são irrelevantes para algumas categorias de resposta.

[0195] O tratamento da MM pode ser avaliado pelos Critérios Internacionais de Resposta Uniforme para Mieloma Múltiplo (IURC) (*vide Durie et al. Leucemia*, 2006; (10) 10: 1-7), usando as definições de resposta e ponto final mostradas abaixo:

Subcategoria de resposta	Critérios de Resposta ^a
sCR	CR conforme definido abaixo mais Razão de FLC normal e Ausência de células clonais na medula óssea ^b por imuno-histoquímica ou imunofluorescência ^c

Subcategoria de resposta	Critérios de Resposta ^a
CR	<p>Imunofixação negativa no soro e urina e</p> <p>Desaparecimento de qualquer plasmocitoma de tecidos moles e</p> <p><5% de células plasmáticas na medula óssea^b</p>
VGPR	<p>Proteína M sérica e urinária detectável por imunofixação, mas não por eletroforese ou redução de 90% ou mais da proteína M sérica mais nível de proteína M na urina <100mg por 24 h</p>
PR	<p>Redução de $\geq 50\%$ da proteína M sérica e redução da proteína M urinária de 24 h em $\geq 90\%$ ou <200mg por 24 h</p> <p>Se o soro e a proteína M da urina forem imensuráveis,^d uma diminuição de $\geq 50\%$ na diferença entre os níveis de FLC envolvidos e não envolvidos é necessária no lugar dos critérios da proteína M</p> <p>Se a proteína M sérica e urinária não for mensurável e o ensaio de luz livre no soro também for imensurável, é necessária uma redução de $\geq 50\%$ nas células plasmáticas em vez da proteína M, desde que a porcentagem de células plasmáticas da medula óssea seja $\geq 30\%$</p> <p>Além dos critérios listados acima, se presente na linha de base, uma redução de $\geq 50\%$ no tamanho dos plasmocitomas dos tecidos moles também é necessária</p>

Subcategoria de resposta	Critérios de Resposta ^a
SD (não recomendado para uso como um indicador de resposta; a estabilidade da doença é melhor descrita fornecendo o tempo até as estimativas de progressão)	Não atender aos critérios para CR, VGPR, PR ou doença progressiva

Abreviaturas: CR, resposta completa; FLC, cadeia leve livre; PR, resposta parcial; SD, doença estável; sCR, resposta completa rigorosa; VGPR, muito boa resposta parcial; ^aTodas as categorias de respostas requerem duas avaliações consecutivas feitas a qualquer momento antes da instituição de qualquer nova terapia; Todas as categorias também não requerem evidência conhecida de lesões ósseas progressivas ou novas se estudos radiográficos foram realizados. Estudos radiográficos não são necessários para satisfazer esses requisitos de resposta; ^bConfirmação com repetição da biópsia da medula óssea não necessária; ^cPresença/ausência de células clonais é baseada na relação κ/λ . Uma razão κ/λ anormal por imuno-histoquímica e/ou imunofluorescência requer um mínimo de 100 células plasmáticas para análise. Uma razão anormal refletindo a presença de um clone anormal é κ/λ de $> 4: 1$ ou $< 1: 2$. ^dDoença mensurável definida por, pelo menos, uma das seguintes medições: Células plasmáticas da medula óssea $\geq 30\%$; Proteína M sérica ≥ 1 g/dl (≥ 10 g/l) [10 g/l]; Proteína M de urina ≥ 200 mg/24 h; Ensaio de FLC no soro: Envolvido nível de FLC ≥ 10 mg/dl (≥ 100 mg/l); desde que a relação de FLC no soro seja anormal.

[0196] O tratamento de um câncer pode ser avaliado pelos Critérios de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (RECIST 1.1) (*Vide Thereasse P., et al. J. do Instituto Nacional do Câncer; 2000; (92) 205-216 e Eisenhauer et al. European J. Cancer; 2009; (45) 228–247*). Respostas globais para todas as combinações possíveis de respostas tumorais em lesões-alvo e não-alvo com ou sem o aparecimento de novas lesões são as seguintes:

Lesões visadas	Lesões não visadas	Novas lesões	Resposta geral
CR	CR	Não	CR
CR	Resposta Incompleta / SD	Não	PR
PR	Não-PD	Não	PR
SD	Não-PD	Não	SD
PD	Qualquer	Sim ou não	PD
Qualquer	PD	Sim ou não	PD
Qualquer	Qualquer	Sim	PD

CR = resposta completa; PR = resposta parcial; SD = doença estável; e PD = doença progressiva.

[0197] Com relação à avaliação das lesões-alvo, a resposta completa (CR) é o desaparecimento de todas as lesões-alvo, sendo a resposta parcial (PR) de pelo menos 30% na soma do maior diâmetro das lesões-alvo, tomando como referência soma maior diâmetro, doença progressiva (PD) é pelo menos 20% de aumento na soma do maior diâmetro de lesões-alvo, tomando como referência a menor soma do maior diâmetro registrado desde o início do tratamento ou o aparecimento de uma ou mais novas lesões e doença estável (SD) não é encolhimento suficiente para se qualificar para resposta parcial nem aumento suficiente para se qualificar para doença progressiva, tomando como referência a menor soma do maior diâmetro desde o início do tratamento.

[0198] Com relação à avaliação de lesões não-alvo, a resposta completa é o desaparecimento de todas as lesões não-alvo e a normalização do nível de marcadores tumorais; resposta incompleta/doença estável é a persistência de uma ou mais lesões não-alvo e/ou a manutenção do nível do marcador tumoral acima dos limites normais, e a doença progressiva (PD) é o surgimento de um ou mais novas lesões e/ou progressão inequívoca de lesões não visadas existentes.

[0199] O tratamento da SMD pode ser avaliado pelos Critérios de Resposta

do Grupo de Trabalho Internacional (IWG) para mielodisplasia.

Critérios de resposta IWG modificados para MDS

Categoria	Critérios de resposta (respostas devem durar pelo menos 4 semanas)
Remissão completa (CR)	<p>Medula óssea: $\leq 5\%$ de mieloblastos com maturação normal de todas as linhas celulares^a</p> <p>A displasia persistente não será notada^{a,b}</p> <p>Sangue periférico^c</p> <ul style="list-style-type: none"> -Hemoglobina ≥ 11 g/dL - Plaquetas $\geq 100 \times 10^9/L$ -Neutrófilos $\geq 1,0 \times 10^9/L^b$ - Blastos 0%
Remissão Parcial (PR)	<p>Todos os critérios de CR se anormal antes do tratamento, exceto:</p> <p>Os blastos da medula óssea diminuíram $\geq 50\%$ em relação ao pré-tratamento, mas ainda $> 5\%$</p> <p>Celularidade e morfologia não relevante</p>
Medula CR ^b ± Melhoria Hematológica (HI)	<p>Medula óssea: $\leq 5\%$ mieloblastos e diminuição de $\geq 50\%$ durante o pré-tratamento^b Nota: Os blastos na linha de base devem ser $\geq 5\%$ para que o sujeito possa ser avaliado quanto à medula CR^d</p> <p>Sangue periférico: se as respostas HI, eles serão notados, além de medula CR^b</p>
Doença estável (SD)	Falha ao alcançar pelo menos PR, mas nenhuma evidência de progressão durante > 8 semanas
Falha	Morte durante o tratamento ou progressão da doença caracterizada pelo agravamento das citopenias, aumento da porcentagem de blastos da medula óssea ou progressão para um subtipo de FAB de SMD mais avançado do que o pré-tratamento

Categoria	Critérios de resposta (respostas devem durar pelo menos 4 semanas)
Recaída após CR ou PR	Pelo menos 1 dentre os seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Retorno ao percentual de blastos da medula óssea pré-tratamento • Decréscimo de $\geq 50\%$ dos níveis máximos de remissão/resposta em granulócitos ou plaquetas • Redução na concentração de Hgb em $\geq 1,5$ g/dL ou dependência transfusional
Resposta Citogenética	Completo-Desaparecimento da anomalia cromossômica sem aparecimento de novas Parcial-Pelo menos 50% de redução da anomalia cromossômica
Progressão da doença (PD)	Para pacientes com: <ul style="list-style-type: none"> • Menos de 5% de blastos: $\geq 50\%$ de aumento em blastos a $> 5\%$ de blastos • 5% -10% de blastos: $\geq 50\%$ de aumento em blastos para $> 10\%$ de blastos • 10% -20% de blastos: $\geq 50\%$ de aumento em blastos para $> 20\%$ de blastos Qualquer um dentre os seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Pelo menos 50% de decréscimo nos níveis de remissão máxima/resposta em granulócitos ou plaquetas • Redução em concentração de Hgb em ≥ 2 g/dL • Dependência de transfusão
Transformação da doença	Transformação para AML (20% ou mais blastos de BM ou PB) ^d
Melhoria Hematológica (HI)	

Categoria	Critérios de resposta (respostas devem durar pelo menos 4 semanas)
Resposta eritroide (HI-E) (Pré-tratamento <11 g/dL)	Hgb aumenta em $\geq 1,5$ g/dL Redução relevante de unidades de transfusões de hemácias por um número absoluto de pelo menos 4 transfusões de hemácias/8 semanas em comparação com o número de transfusões pré-tratamento nas 8 semanas anteriores. Apenas as transfusões de hemácias administradas para um Hgb de $\leq 9,0$ g/dL de pré-tratamento contarão na avaliação da transfusão de RBC
Resposta plaquetária (HI-P) (Pré-tratamento <100 x 10 ⁹ /L)	Aumento absoluto de $\geq 30 \times 10^9/L$ para pacientes começando com $> 20 \times 10^9/L$ Aumento de $<20 \times 10^9/L$ para $> 20 \times 10^9/L$ e pelo menos 100%
Resposta de neutrófilos (HI-N) (Pré-tratamento < 1,0 x 10 ⁹ /L)	Pelo menos 100% de aumento e um aumento absoluto de $> 0,5 \times 10^9/L$
Progressão/recaída após HI	Pelo menos um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Pelo menos 50% de decréscimo dos níveis de resposta máximo em granulócitos ou plaquetas • Redução em Hgb por $\geq 1,5$ g/dL • Dependência de transfusão

BM = medula óssea; RC = remissão completa; FAB = Francês-Americano-Britânico; Hgb = hemoglobina; HI = melhoria hematológica; IWG = Grupo de Trabalho Internacional; SMD = síndromes mielodisplásicas; PB = sangue periférico; PD = Progressão da doença; RP = remissão parcial; RBC = glóbulo vermelho.

^a Alterações displásicas devem considerar a faixa normal de alterações displásicas (modificação).

^b Modificação nos critérios de resposta do IWG.

^c Em algumas circunstâncias, a terapia de protocolo pode exigir o início de tratamento adicional (por exemplo, consolidação, manutenção) antes do período de 4 semanas. Tais sujeitos podem ser incluídos na categoria de resposta, no qual eles se encaixam no momento que a terapia é iniciada. As citopenias transitórias durante as etapas de quimioterapia repetidas não devem ser consideradas como interrompendo a durabilidade da resposta, contanto que as contagens melhoradas da etapa anterior.

^d Modificação do patrocinador dos critérios de IWG.

Fontes: Cheson, 2006 e Vardiman, 2008.

Independência de transfusão de plaquetas e hemácias

	Na Seleção	Durante o Tratamento do Estudo
Independência de Transfusão de RBC	Sujeitos que receberam < 4 unidades de RBC nos 56 dias anteriores	Os sujeitos que apresentaram um aumento de Hgb de 1,5 g/dL em relação à linha de base e que não receberam transfusões de hemácias por um período de 56 dias em tratamento. Nota: Apenas transfusões de hemácias administradas para um Hgb de $\leq 9,0$ g/dL dentro de 3 dias antes da transfusão serão contadas na avaliação da resposta à transfusão de hemácias
Dependência de Transfusão de RBC	Sujeitos que receberam ≥ 4 unidades de RBC nos 56 dias anteriores	

	Na Seleção	Durante o Tratamento do Estudo
Independência de transfusão de plaquetas	Os sujeitos que receberam < 2 transfusões de plaquetas nos 56 dias anteriores	Os sujeitos que não receberam transfusões de plaquetas por um período de 56 dias em tratamento
Dependência de transfusão de plaquetas	Os sujeitos que receberam ≥ 2 transfusões de plaquetas nos 56 dias anteriores.	

Hemácias = glóbulos vermelhos; Hgb = hemoglobina.

^a Independência de transfusão de RBC e a dependência de transfusão de RBC são definidas de acordo com os critérios IWG modificados.

^b Independência de transfusão de plaquetas e dependência de transfusão de plaquetas são definidas pelo Patrocinador.

Fonte: Cheson, *et al. Blood*. 2006; 108 (2): 419-25.

[0200] O Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica Revisado (Revised International Prognostic Scoring System) é usado para o prognóstico de MDS da seguinte forma:

Grupo de Risco Citogenético IPSS-R

Subgrupos de prognóstico citogenético	Anormalidades citogenéticas
Muito boa	-Y, del(11q)
Boa	Normal, del(5q), del(12p), del(20q), duplo incluindo del(5q)
Intermediário	del(7q), +8, +19, i(17q), qualquer outro clone único ou duplo independente
Ruim	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), duplo incluindo -7/del(7q), complexo: 3 anormalidades

Subgrupos de prognóstico citogenético	Anormalidades citogenéticas
Muito ruim	Complexo: > 3 anormalidades

Fonte: Greenburg, et al. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.

Valores de Pontuação Prognóstica de IPSS-R

Variável prognóstica	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Citogenética	Muito Boa	-	Boa	-	Intermediário	Ruim	Muito Ruim
Blastos de Medula Óssea (%)	≤ 2	-	> 2 - < 5	-	5 - 10	> 10	-
Hemoglobina (g/dL)	≥10	-	8 - < 10	<8	-	-	-
Plaquetas (× 10 ⁹ /L)	≥100	50 - < 100	< 50	-	-	-	-
ANC (× 10 ⁹ /L)	≥0,8	< 0,8	-	-	-	-	-

Fonte: Greenburg, et al. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.

[0201] A pontuação de IPSS-R total é calculada como a soma das pontuações individuais citogenéticas, porcentagem de blastos da medula óssea, hemoglobina, plaquetas e ANC.

Categorias de Risco Prognóstico de IPSS-R/Pontuações

Categoria de Risco	Pontuação de Risco
Muito Baixo	≤ 1,5
Baixo	> 1,5 – 3
Intermediário	> 3 – 4,5
Alto	> 4,5 – 6
Muito alto	> 6

Fonte: Greenburg, et al. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.

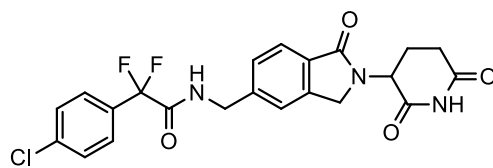
IPSS-R: Resultados Clínicos da Categoria de Risco Prognóstico

Variável prognóstica	Nº pts	Muito Baixo	Baixo	Intermediário	Alto	Muito Alto
Pacientes, %	7012	19%	38%	20%	13%	10%
Sobrevivência Geral Mediana (anos)	-	8,8	5,3	3,0	1,6	0,8
Tempo mediano para evolução de 25% de AML	-	Não alcançado	10,8	3,2	1,4	0,73

Fonte: Greenberg, *et al. Blood*. 2012;120(12):2454-65

Composto

[0202] O composto adequado para uso nos métodos e formulações fornecidos neste documento é o Composto 1: 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida com a estrutura:



ou seus estereoisômeros ou mistura de estereoisômeros, isotopólogos, sais farmacologicamente aceitáveis, tautômeros, solvatos, hidratos, co-cristais, clatratos ou polimorfos dos mesmos. Em certas modalidades, O Composto 1 refere-se a 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0203] O Composto 1 pode ser preparado de acordo com os métodos descritos nos Exemplos aqui proporcionados ou como descrito na Patente US Nº 9.499.514, cuja descrição é incorporada neste documento por referência na sua totalidade. O composto também pode ser sintetizado de acordo com outros

métodos aparentes para aqueles versados na técnica com base nos ensinamentos deste documento.

[0204] Em certas modalidades, o Composto 1 é um sólido. Em certas modalidades, o Composto 1 é um hidrato. Em certas modalidades, o Composto 1 é solvatado. Em certas modalidades, o Composto 1 é anidro.

[0205] Em certas modalidades, o Composto 1 é amorfo. Em certas modalidades, o Composto 1 é cristalino. Em certas modalidades, o Composto 1 está em uma forma cristalina descrita na Publicação U.S. Nº 2017-0197934, depositada em 6 de janeiro de 2017, que é incorporada neste documento por referência em sua totalidade. As formas sólidas exemplificativas são descritas nas páginas nºs 86-101.

[0206] As formas sólidas do Composto 1 podem ser preparadas de acordo com os métodos descritos na divulgação da Publicação U.S. Nº 2017-0197934, depositada em 6 de janeiro de 2017. *Vide as* páginas nºs 86-101. As formas sólidas podem também ser preparadas de acordo com outros métodos aparentes para aqueles versados na técnica.

[0207] Em uma modalidade, o Composto 1 é um polimorfo de Forma A, Forma B, Forma C, Forma D, Forma E ou uma forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Polimorfos de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida são brevemente descritos neste documento.

Forma A de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il) metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0208] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são preparadas a partir da Forma A do Composto 1.

[0209] Em uma modalidade, a Forma A é uma forma anidra do Composto

1. Em outra modalidade, a Forma A do Composto 1 é cristalina.

[0210] Em certas modalidades, a Forma A é obtida por cristalização de certos sistemas solventes, por exemplo, sistemas solventes compreendendo um ou mais dos seguintes solventes: acetona e a mistura solvente de isopropanol e água à temperatura ambiente. Em certas modalidades, a Forma A é obtida como uma forma sólida intermediária a partir de suspensões a temperatura elevada, por exemplo, cerca de 50°C, em etanol/água (1:1), acetona ou acetonitril.

[0211] Em certas modalidades, a Forma A é substancialmente cristalina, como indicado por, por *exemplo*, medições de difração de pó de raios X. Em uma modalidade, a Forma A do Composto 1 tem um padrão de difração de pó de raios X substancialmente como mostrado na FIG. 2.

[0212] Em uma modalidade, a Forma A do Composto 1 tem um ou mais picos de difração de raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 11,5, 15,6, 16,6, 17,2, 18,1, 19,0, 19,6, 21,1, 23,2 ou 24,8 graus 2θ como retratado na FIG. 2. Em outra modalidade, a Forma A do Composto 1 tem um, dois, três ou quatro picos de difração de pó de raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 15,6, 16,6, 17,2, 24,8 graus 2θ . Em outra modalidade, a Forma A do Composto 1 tem um, dois, três, quatro, cinco, seis ou sete picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela A. Em outra modalidade, a Forma A do Composto 1 tem um, dois, ou três picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela A.

Tabela A

Nº	Pos. [$^{\circ}2\theta$.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
1	7,23	12,2187	17,6
2	11,52	7,6789	29,7
3	15,22	5,8209	7,5

Nº	Pos. [°2Th.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
4	15,62	5,6720	31,2
5	16,58	5,3466	40,3
6	17,19	5,1576	100,0
7	18,08	4,9056	22,3
8	19,00	4,6702	19,6
9	19,60	4,5302	22,1
10	21,05	4,2197	29,2
11	21,74	4,0884	8,3
12	22,01	4,0388	7,1
13	22,47	3,9576	6,0
14	23,22	3,8312	28,6
15	24,17	3,6825	5,6
16	24,77	3,5945	57,2
17	25,59	3,4813	14,6
18	25,94	3,4356	10,5
19	26,63	3,3470	17,4
20	27,73	3,2172	10,0
21	28,51	3,1307	7,1
22	29,88	2,9906	19,3
23	30,76	2,9065	7,1
24	31,59	2,8327	11,1
25	34,82	2,5766	4,8
26	36,05	2,4913	4,3

[0213] Em uma modalidade, a Forma A do Composto 1 tem a imagem SEM, conforme mostrado na FIG. 3.

[0214] Em uma modalidade, a forma cristalina do Composto 1 tem um termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondendo substancialmente ao termograma representativo de TGA tal como descrito na FIG. 4. Em certas modalidades, não é observada perda de peso no TGA para a Forma A.

[0215] Em uma modalidade, a forma cristalina A do Composto 1 tem um termograma DSC correspondendo substancialmente como representado na FIG. 5. Em certas modalidades, a Forma A é caracterizada por um gráfico de DSC compreendendo um evento de fusão com uma temperatura de início de 229°C e calor de fusão de 118 J/g.

[0216] Em certas modalidades, a Forma A é caracterizada por análise dinâmica de absorção de vapor. Uma representação isotérmica dinâmica de sorção de vapor (DVS) é mostrada na FIG. 6. Em certas modalidades, quando a umidade relativa (“RH”) é aumentada de cerca de 0% a cerca de 90% RH, a Forma A exibe menos do que 1,5%, menos do que 1,2% ou cerca de 1,2% p/p de absorção de água. Em certas modalidades, a Forma A compreende menos de 0,1% de água como determinado em um titulador coulométrico Karl Fischer (KF) equipado com um processador de amostra de forno ajustado a 225°C.

[0217] Em certas modalidades, nenhuma degradação significativa ou solvente residual para a Forma A é observado por ^1H NMR (FIG. 7).

[0218] Em certas modalidades, a Forma A do Composto 1 é caracterizada pelo seu perfil de estabilidade após compressão. Em certas modalidades, a Forma A é estável, *por exemplo*, o seu padrão de XRPD permanece substancialmente inalterado com picos de difração mais amplos, após a aplicação de uma pressão de 2000 psi durante cerca de 1 minuto (FIG. 8).

[0219] Ainda em outra modalidade, a Forma A do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades, a Forma A substancialmente pura do Composto 1 está substancialmente isenta de outras formas sólidas, *por exemplo*, forma amorfa. Em certas modalidades, a pureza da Forma A do Composto 1 substancialmente pura não é inferior a cerca de 95% pura, não inferior a 96% pura, não inferior a 97% pura, não inferior a cerca de 98% pura, não menos do que cerca de 98,5% pura, não inferior a cerca de 99% pura, não

inferior a cerca de 99,5% pura, ou não inferior a cerca de 99,8% pura.

[0220] Em certas modalidades, a Forma A do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades neste documento, a Forma A do Composto 1 está substancialmente livre de outras formas sólidas compreendendo o Composto 1 incluindo, *por exemplo*, Formas B, C, D, E e/ou uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1. Em certas modalidades, a Forma A é uma mistura de formas sólidas compreendendo o Composto 1, incluindo, *por exemplo*, uma mistura compreendendo um ou mais dos seguintes: Formas B, C, D, E uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1.

Forma B de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0221] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são preparadas a partir da Forma B do Composto 1 anidro.

[0222] Em certas modalidades, a Forma B é obtida por recristalização anti-solvente de certos sistemas solventes, por exemplo, sistemas solventes compreendendo um ou mais dos seguintes solventes: metanol/água, DMSO/isopropanol, DMSO/tolueno e DMSO/água. Em certas modalidades, a Forma B é obtida por arrefecimento da recristalização a partir de THF/água (1:1).

[0223] Em certas modalidades, a Forma B é cristalina, conforme indicado por, *por exemplo*, medições de difração de pó de raios X. Em uma modalidade, a Forma B do Composto 1 tem um padrão de difração de pó de raios X substancialmente como mostrado na FIG. 9.

[0224] Em uma modalidade, a Forma B do Composto 1 tem um ou mais picos de difração de pó raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 15,4, 16,3, 16,7, 17,7, 20,4, 25,6 ou 27,5, graus 2θ conforme ilustrado na FIG. 9. Em outra modalidade, a Forma B do Composto 1 tem um,

dois, três ou quatro picos de difração de pó de raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 16,7, 25,6, 15,4, 16,3 graus 2θ . Em outra modalidade, a Forma B do Composto 1 tem um, dois, três, quatro, cinco, seis ou sete picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela B. Em outra modalidade, a Forma B do Composto 1 tem um, dois, ou três picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela B.

Tabela B

Nº	Pos. [$^{\circ}2\theta$.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
1	7,01	12,6035	9,3
2	11,58	7,6444	8,3
3	11,80	7,5027	6,8
4	12,73	6,9551	18,4
5	15,38	5,7601	34,8
6	16,32	5,4330	31,4
7	16,72	5,3012	100,0
8	17,72	5,0046	26,6
9	18,13	4,8930	19,8
10	18,77	4,7271	7,5
11	20,41	4,3516	22,0
12	21,02	4,2258	15,9
13	21,21	4,1881	13,5
14	21,93	4,0529	3,4
15	23,68	3,7581	14,2
16	25,01	3,5601	10,4
17	25,63	3,4755	37,3
18	26,19	3,4030	9,8
19	26,73	3,3349	8,5
20	27,45	3,2499	20,9
21	27,71	3,2193	9,4

Nº	Pos. [°2Th.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
22	28,22	3,1623	11,8
23	29,48	3,0296	4,7
24	30,10	2,9692	15,0
25	31,08	2,8775	18,3
26	31,65	2,8272	6,2
27	34,29	2,6150	3,4

[0225] Em uma modalidade, a Forma B do Composto 1 tem a imagem SEM conforme mostrado na FIG. 10. Em uma modalidade, uma forma cristalina do Composto 1 tem um termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondendo substancialmente ao termograma representativo de TGA tal como descrito na FIG. 11. Em certas modalidades, a Forma B não mostra perda de peso TGA abaixo de 170°C. Em certas modalidades, a Forma B mostra uma perda de peso de TGA de 0,4% entre 170 ~ 230°C.

[0226] Em uma modalidade, a forma cristalina B do Composto 1 tem um termograma DSC correspondendo substancialmente conforme representado na FIG. 12. Em certas modalidades, a Forma B é caracterizada por um gráfico de DSC compreendendo um evento de fusão/recristalização a 219 ~ 224°C e um evento de fusão principal com uma temperatura de pico de 231°C.

[0227] Em certas modalidades, a Forma B é caracterizada por análise dinâmica de sorção de vapor. Uma representação isotérmica dinâmica de sorção de vapor (DVS) é mostrada na FIG. 13. Em certas modalidades, quando a umidade relativa ("RH") é aumentada de cerca de 0% a cerca de 90% de HR, a Forma B exibe cerca de 1,4% p/p de absorção de água. Em certas modalidades, a Forma B compreende menos de 0,1% de água como determinado num titulador coulométrico Karl Fischer (KF) equipado com um processador de amostra de forno ajustado a 225 °C.

[0228] Em certas modalidades, a Forma B não mostra degradação

significativa ou solvente residual por ^1H NMR (FIG. 14).

[0229] Em certas modalidades, a Forma B do Composto 1 é caracterizada pelo seu perfil de estabilidade após compressão. Em certas modalidades, a Forma B é estável, *por exemplo*, o seu padrão de XRPD permanece substancialmente inalterado com picos de difração mais amplos, após a aplicação de uma pressão de 2000 psi durante cerca de 1 minuto (FIG. 15).

[0230] Em ainda outra modalidade, a Forma B do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades, a Forma B substancialmente pura do Composto 1 está substancialmente isenta de outras formas sólidas, *por exemplo*, forma amorfa. Em certas modalidades, a pureza da Forma B do Composto 1 substancialmente pura não é inferior a cerca de 95% pura, não inferior a 96% pura, não inferior a 97% pura, não inferior a cerca de 98% pura, não menos do que cerca de 98,5% pura, não inferior a cerca de 99% pura, não inferior a cerca de 99,5% pura, ou não inferior a cerca de 99,8% pura.

[0231] Em certas modalidades, a Forma B do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades neste documento, a Forma B do Composto 1 está substancialmente livre de outras formas sólidas compreendendo o Composto 1 incluindo, *por exemplo*, Formas A, C, D, E e/ou uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1. Em certas modalidades, a Forma B é uma mistura de formas sólidas compreendendo o Composto 1, incluindo, *por exemplo*, uma mistura compreendendo um ou mais dos seguintes: Formas A, C, D, E uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1.

Forma C de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il) metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0232] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são preparadas a partir da Forma C do Composto 1 anidro. Em certas

modalidades, a Forma C é o anidrato termodinamicamente mais estável entre as formas cristalinas do Composto 1.

[0233] Em certas modalidades, a Forma C é obtida pela formação de uma pasta do Composto 1 em certos sistemas solventes, por exemplo, sistemas solventes compreendendo um ou mais dos seguintes solventes: acetonitrila/água, acetona, ou etanol/água por um período de tempo prolongado.

[0234] Em certos aspectos, a Forma C é obtida formando a Forma B (1X peso) em acetona (30 X vol) a uma temperatura elevada, por exemplo, de 60-80°C ou 70-75°C durante pelo menos 24 horas e arrefecer a mistura para a temperatura ambiente. Em um aspecto, a pasta é conduzida a uma temperatura de 70-75°C sob pressão de nitrogênio de 50-55 psi. Em um aspecto, a mistura é arrefecida até à temperatura ambiente durante pelo menos 6 horas.

[0235] Em certas modalidades, a Forma C é cristalina, conforme indicado por, *por exemplo*, medições de difração de pó de raios X. Em uma modalidade, a Forma C do Composto 1 tem um padrão de difração de pó de raios X substancialmente conforme mostrado na FIG. 16.

[0236] Em uma modalidade, a Forma C do Composto 1 tem um ou mais picos de difração de pó de raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 7,4, 11,5, 15,8, 16,7, 16,9, 17,7, 18,4, 19,2, 19,5, 21,1, 23,4, 24,7, ou 29,9, graus 2θ como descrito na FIG. 16. Em outra modalidade, a Forma C do Composto 1 tem um, dois, três ou quatro picos de difração de pó de raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 16,7, 16,9, 17,7, 24,7 graus 2θ . Em outra modalidade, a Forma C do Composto 1 tem um, dois, três, quatro, cinco, seis ou sete picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela C. Em outra modalidade, a Forma C do Composto 1 tem um, dois, ou três picos de difração de pó de raios X

característicos, conforme estabelecido na Tabela C.

Tabela C

Nº	Pos. [°2Th.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
1	7,36	12,0091	32,0
2	9,14	9,6750	8,3
3	11,51	7,6855	44,7
4	12,22	7,2420	4,9
5	15,17	5,8398	8,4
6	15,82	5,6011	31,8
7	16,68	5,3140	57,1
8	16,92	5,2392	86,8
9	17,72	5,0057	100,0
10	18,39	4,8242	21,9
11	19,18	4,6268	36,4
12	19,45	4,5649	27,1
13	21,11	4,2077	40,4
14	21,82	4,0724	12,4
15	22,28	3,9902	12,0
16	22,57	3,9398	17,6
17	23,36	3,8082	24,7
18	24,26	3,6695	7,1
19	24,71	3,6026	72,5
20	25,74	3,4615	16,9
21	26,03	3,4231	9,7

Nº	Pos. [°2Th.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
22	26,51	3,3627	17,7
23	27,88	3,1998	18,0
24	28,70	3,1104	6,9
25	29,91	2,9871	30,5
26	30,43	2,9375	10,7
27	30,83	2,9006	5,8
28	32,01	2,7960	16,6
29	37,94	2,3718	5,5

[0237] Em uma modalidade, a Forma C do Composto 1 tem a imagem SEM como mostrado na FIG. 17. Em uma modalidade, uma forma cristalina do Composto 1 tem um termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondendo substancialmente ao termograma representativo de TGA tal como descrito na FIG. 18. Em certas modalidades, a Forma C não mostra perda de peso TGA.

[0238] Em uma modalidade, a forma cristalina C do Composto 1 tem um termograma DSC correspondendo substancialmente conforme representado na FIG. 19. Em certas modalidades, a Forma C é caracterizada por um gráfico de DSC compreendendo um evento de fusão com uma temperatura de início de 232°C e calor de fusão de 126 J/g.

[0239] Em certas modalidades, a Forma C é caracterizada por análise dinâmica de sorção de vapor. Uma representação isotérmica dinâmica de sorção de vapor (DVS) é mostrada na FIG. 20. Em certas modalidades, quando a umidade relativa ("RH") é aumentada de cerca de 0% a cerca de 90% de RH, a Forma C exibe cerca de 0,6% p/p de absorção de água. Em certas modalidades, a Forma C compreende menos de 0,1% de água como determinado num titulador coulométrico Karl Fischer (KF) equipado com um processador de

amostra de forno ajustado a 225 °C.

[0240] Em certas modalidades, a Forma C não mostra degradação significativa ou solvente residual por ^1H NMR (FIG. 21).

[0241] Em certas modalidades, a Forma C do Composto 1 é caracterizada pelo seu perfil de estabilidade após compressão. Em certas modalidades, a Forma C é estável, *por exemplo*, o seu padrão de XRPD permanece substancialmente inalterado com picos de difração mais amplos, após a aplicação de uma pressão de 2000 psi durante cerca de 1 minuto (FIG. 22).

[0242] Em ainda outra modalidade, a Forma C do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades, a Forma C substancialmente pura do Composto 1 está substancialmente isenta de outras formas sólidas, *por exemplo*, forma amorfa. Em certas modalidades, a pureza da Forma C do Composto 1 substancialmente pura não é inferior a cerca de 95% pura, não inferior a 96% pura, não inferior a 97% pura, não inferior a cerca de 98% pura, não menos do que cerca de 98,5% pura, não inferior a cerca de 99% pura, não inferior a cerca de 99,5% pura, ou não inferior a cerca de 99,8% pura.

[0243] Em certas modalidades, a Forma C do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades neste documento, a Forma C do Composto 1 está substancialmente livre de outras formas sólidas compreendendo o Composto 1 incluindo, *por exemplo*, Formas A, B, D, E e/ou uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1. Em certas modalidades, a Forma C é uma mistura de formas sólidas compreendendo o Composto 1, incluindo, *por exemplo*, uma mistura compreendendo um ou mais dos seguintes: Formas A, B, D, E uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1.

Forma D de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0244] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são preparadas a partir da Forma D do Composto 1. Em certas modalidades, a Forma D do Composto 1 é um solvato de DMSO.

[0245] Em certas modalidades, a Forma D é obtida por aquecimento da Forma B em DMSO/metil isobutil cetona e arrefecimento da solução.

[0246] Em certas modalidades, a Forma D é cristalina, conforme indicado por, por *exemplo*, medições de difração de pó de raios X. Em uma modalidade, a Forma D do Composto 1 tem um padrão de difração de pó de raios X substancialmente conforme mostrado na FIG. 23.

[0247] Em uma modalidade, a Forma D do Composto 1 tem um ou mais picos de difração de raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 14,1, 14,3, 18,8, 19,1, 23,6 ou 24,0 graus 2θ como ilustrado na FIG. 23. Em outra modalidade, a Forma D do Composto 1 tem um, dois, três ou quatro picos característicos de difração de pó de raios X em um ângulo dois-teta de aproximadamente 14,1, 14,3, 18,8 ou 19,1 graus 2θ . Em outra modalidade, a Forma D do Composto 1 tem um, dois, três, quatro, cinco, seis ou sete picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela D. Em outra modalidade, a Forma D do Composto 1 tem um, dois, ou três picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela D.

Tabela D

Nº	Pos. [$^{\circ}2\theta$.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
1	4,77	18,5435	3,0
2	9,57	9,2399	7,0
3	10,55	8,3876	3,1
4	11,95	7,4070	3,7
5	12,50	7,0808	3,5
6	14,06	6,2990	100,0

Nº	Pos. [°2Th.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
7	14,30	6,1927	92,9
8	16,13	5,4943	3,8
9	17,02	5,2097	8,4
10	17,50	5,0676	19,8
11	17,78	4,9881	8,0
12	18,09	4,9049	7,7
13	18,27	4,8561	9,0
14	18,75	4,7326	58,5
15	19,09	4,6482	63,5
16	21,04	4,2228	7,3
17	22,77	3,9053	10,9
18	23,58	3,7738	53,6
19	24,02	3,7045	24,6
20	24,90	3,5756	8,4
21	25,22	3,5310	10,0
22	26,37	3,3796	9,4
23	26,63	3,3470	7,9
24	28,21	3,1640	5,8
25	29,82	2,9958	3,0
26	30,16	2,9629	5,0
27	30,45	2,9361	6,7
28	32,48	2,7566	3,3
29	33,03	2,7120	8,1
30	33,69	2,6604	3,4
31	35,32	2,5413	3,0
32	37,96	2,3702	3,2
33	38,70	2,3269	3,0

[0248] Em uma modalidade, fornecida neste documento está uma forma cristalina do Composto 1 tendo um termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondendo substancialmente ao termograma representativo de TGA tal

como descrito na FIG. 24. Em certas modalidades, a Forma D mostra uma perda de peso de TGA de cerca de 14,1% até 140°C.

[0249] Em certas modalidades, a Forma D compreende DMSO em cerca de 14,3% em peso, conforme medido por cromatografia gasosa.

[0250] Em ainda outra modalidade, a Forma D do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades, a Forma D substancialmente pura do Composto 1 está substancialmente isenta de outras formas sólidas, *por exemplo*, forma amorfa. Em certas modalidades, a pureza da Forma D do Composto 1 substancialmente pura não é inferior a cerca de 95% pura, não inferior a 96% pura, não inferior a 97% pura, não inferior a cerca de 98% pura, não menos do que cerca de 98,5% pura, não inferior a cerca de 99% pura, não inferior a cerca de 99,5% pura, ou não inferior a cerca de 99,8% pura.

[0251] Em certas modalidades, a Forma D do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades neste documento, a Forma D do Composto 1 está substancialmente livre de outras formas sólidas compreendendo o Composto 1 incluindo, *por exemplo*, Formas A, B, C, E e/ou uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1. Em certas modalidades, a Forma D é uma mistura de formas sólidas compreendendo o Composto 1, incluindo, *por exemplo*, uma mistura compreendendo um ou mais dos seguintes: Formas A, B, C, E uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1.

Forma E de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il) metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0252] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são preparadas a partir da Forma E do Composto 1. Em certas modalidades, a Forma E do Composto 1 é um solvato de DMSO.

[0253] Em certas modalidades, a Forma E é obtida a partir da Forma C em

DMSO/MIBK ou DMSO/IPA ou DMSO/anisol à temperatura ambiente.

[0254] Em certas modalidades, a Forma E é cristalina, conforme indicado por, por *exemplo*, medições de difração de pó de raios X. Em uma modalidade, a Forma E do Composto 1 tem um padrão de difração de pó de raios X substancialmente conforme mostrado na FIG. 25.

[0255] Em uma modalidade, a Forma E do Composto 1 tem um ou mais picos de difração de pó raios X característicos num ângulo dois-teta de aproximadamente 10,5, 12,5, 16,1, 17,0, 18,5, 21,2, 21,7, 22,6, 22,9, 23,4, 23,8, 24,1, 25,1 ou 26,7, graus 2θ como descrito na FIG. 25. Em outra modalidade, a Forma E do Composto 1 tem um, dois, três ou quatro picos de difração de pó de raios X característicos em um ângulo dois-teta de aproximadamente 16,1, 17,0, 21,2, 22,9 graus 2θ . Em outra modalidade, a Forma E do Composto 1 tem um, dois, três, quatro, cinco, seis ou sete picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela E. Em outra modalidade, a Forma E do Composto 1 tem um, dois, ou três picos de difração de pó de raios X característicos, conforme estabelecido na Tabela E.

Tabela E

Nº	Pos. [$^{\circ}2\theta$.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
1	4,20	21,0329	9,6
2	10,48	8,4394	32,0
3	12,54	7,0591	28,4
4	14,52	6,1023	9,9
5	15,51	5,7131	17,7
6	16,08	5,5121	100,0
7	16,97	5,2256	94,5
8	17,77	4,9908	17,1
9	18,48	4,8001	20,5
10	19,54	4,5422	14,7

Nº	Pos. [°2Th.]	d-espacamento [Å]	Rel. Int. [%]
11	21,15	4,2007	62,8
12	21,72	4,0924	20,8
13	22,64	3,9270	57,4
14	22,91	3,8826	59,9
15	23,43	3,7977	23,6
16	23,83	3,7348	23,2
17	24,13	3,6881	29,5
18	25,14	3,5421	35,2
19	26,72	3,3362	49,5
20	27,68	3,2232	14,6
21	27,93	3,1949	15,3
22	28,86	3,0942	15,6
23	29,08	3,0703	18,3
24	30,12	2,9671	7,1
25	30,92	2,8923	12,8
26	32,35	2,7672	5,0
27	33,21	2,6979	6,9

[0256] Em uma modalidade, fornecida neste documento está uma forma cristalina do Composto 1 tendo um termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondendo substancialmente ao termograma representativo de TGA tal como descrito na FIG. 26. Em certas modalidades, a Forma E mostra perda de peso de TGA de cerca de 19,4% até 120°C. Em certas modalidades, a Forma E mostra perda de peso adicional de 24,9% entre 120 e 220°C.

[0257] Em uma modalidade, a Forma E do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades, a Forma E substancialmente pura do Composto 1 está substancialmente isenta de outras formas sólidas, *por exemplo*, forma amorfa. Em certas modalidades, a pureza da Forma E do Composto 1 substancialmente pura não é inferior a cerca de 95% pura, não inferior a 96%

pura, não inferior a 97% pura, não inferior a cerca de 98% pura, não menos do que cerca de 98,5% pura, não inferior a cerca de 99% pura, não inferior a cerca de 99,5% pura, ou não inferior a cerca de 99,8% pura.

[0258] Em certas modalidades, a Forma E do Composto 1 é substancialmente pura. Em certas modalidades neste documento, a Forma E do Composto 1 está substancialmente livre de outras formas sólidas compreendendo o Composto 1 incluindo, *por exemplo*, Formas A, B, C, D e/ou uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1. Em certas modalidades, a Forma E é uma mistura de formas sólidas compreendendo o Composto 1, incluindo, *por exemplo*, uma mistura compreendendo um ou mais dos seguintes: Formas A, B, C, D e uma forma sólida amorfa compreendendo o Composto 1.

Forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il) metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0259] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento compreendem o Composto 1 amorfo.

[0260] Em certas modalidades, são fornecidos neste documento métodos para produzir a forma amorfa aquecendo o Composto 1 em THF e água e arrefecendo a solução.

[0261] Em uma modalidade, fornecida neste documento uma forma sólida amorfa do Composto 1 tendo um termograma DSC modulado, conforme descrito na FIG. 27.

[0262] Em uma modalidade, o Composto 1 amorfo tem um padrão de difração de pó de raios X substancialmente conforme mostrado na FIG. 28.

[0263] Em uma modalidade, o Composto amorfo 1 tem um espectro ¹H NMR substancialmente conforme mostrado na FIG. 29.

[0264] Em ainda outra modalidade, o Composto 1 amorfo é

substancialmente pura. Em certas modalidades, o Composto 1 amorfo substancialmente puro está substancialmente livre de outras formas sólidas, por exemplo, Forma A, Forma B, Forma C, Forma D ou Forma E. Em certas modalidades, a pureza do Composto 1 amorfo substancialmente puro não é menos do que cerca de 95% puro, não menos do que cerca de 96% puro, não menos do que cerca de 97% puro, não menos do que cerca de 98% puro, não menos do que cerca de 98,5% puro, não menos do que cerca de 99% puro, não menos do que cerca de 99,5% puro, ou não menos do que cerca de 99,8% puro.

Formulações do Composto 1

[0265] Em um aspecto, são fornecidas neste documento formulações estáveis do Composto 1. Em uma modalidade, as formulações do Composto 1 compreendem uma forma sólida de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Em uma modalidade, as formulações do Composto 1 compreendem uma forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

[0266] Em certas modalidades, as formulações são preparadas com dimetilsulfóxido como um co-solvente ou um auxiliar de processamento. Em certas modalidades, as formulações são preparadas com ácido fórmico como co-solvente ou um auxiliar de processamento. Em certas modalidades, as formulações são preparadas sem qualquer co-solvente ou auxiliar de processamento.

[0267] Em certas modalidades, as formulações compreendem dimetilsulfóxido como um co-solvente ou um auxiliar de processamento. Em certas modalidades, as formulações compreendem ácido fórmico como co-solvente ou um auxiliar de processamento. Em certas modalidades, as formulações não compreendem nenhum co-solvente ou auxiliar de

processamento.

[0268] Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são formulações liofilizadas. Em certas modalidades, as formulações fornecidas neste documento são formulações reconstituídas obtidas em um solvente farmacologicamente aceitável para produzir uma solução farmacologicamente aceitável.

Formulação Ia

[0269] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, β -ciclodextrina de hidroxipropil (HPBCD) em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, com base no peso total da formulação.

[0270] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6% e sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, com base no peso total da formulação.

[0271] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, HPBCD em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação.

[0272] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação.

[0273] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações que compreendem o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3%-6% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 94-96%, com base no peso total da formulação.

[0274] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6% e sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 94 a 96% e com base no peso total da formulação.

[0275] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, HPBCD em uma quantidade de cerca de 94 a 96%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação.

[0276] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 94 a 96%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação.

[0277] Em um aspecto, a formulação fornecida neste documento compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08 a cerca de 0,15% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de Composto 1 é de cerca de 0,09% a cerca de 0,15%, cerca de 0,1% a cerca de 0,13% ou cerca de 0,11% a cerca de 0,12% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de Composto 1 é de cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,11%, 0,12%, 0,13% ou 0,15% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de Composto 1 na formulação é

de cerca de 0,12% com base no peso total da formulação.

[0278] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação que compreende o composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,5 mg a cerca de 2 mg em um frasco de 20 cc. Ainda outro aspecto é uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,5 mg a cerca de 1,5 mg, cerca de 0,75 mg a cerca de 1,25 mg, ou cerca de 0,8 mg a cerca de 1,1 mg em um frasco de 20 cc. Em um aspecto, o Composto 1 está presente numa quantidade de cerca de 0,7, 0,75, 0,76, 0,8, 0,9, 1,0, 1,05 ou 1,2 mg num frasco de 20 cc. Em um aspecto, o Composto 1 está presente em uma quantidade de cerca de 1,05 mg em um frasco de 20 cc.

[0279] Em um aspecto, as formulações fornecidas neste documento contêm um tampão citrato. Em um aspecto, a quantidade de tampão citrato nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 3% a cerca de 6% com base no peso total da formulação. Em um aspecto, a quantidade de tampão citrato nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 3%, 3,5%, 4%, 4,2%, 4,5% ou 5% com base no peso total da formulação. Em um aspecto, a quantidade de tampão citrato nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 4,2% com base no peso total da formulação. Em um aspecto, a quantidade de tampão citrato nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 37 mg em um frasco de 20 cc.

[0280] Em uma modalidade, o tampão citrato compreende ácido cítrico anidro e citrato de sódio anidro. Em certas modalidades, a quantidade de ácido cítrico anidro é de cerca de 1,5% a cerca de 3%, cerca de 1,75% a cerca de 2,75%, ou cerca de 2% a cerca de 2,5% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de ácido cítrico anidro na formulação é de cerca de 1,5%, 1,75%, 2%, 2,1% ou 2,5% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de ácido cítrico anidro na formulação é de cerca de

2%, 2,1%, 2,22% ou 2,3% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de ácido cítrico anidro na formulação é de cerca de 2,10% com base no peso total da formulação.

[0281] Em ainda outro aspecto está uma formulação que compreende ácido cítrico anidro em uma quantidade de cerca de 16 mg a cerca de 20 mg em um frasco de 20 cc. Em uma modalidade, a quantidade de ácido cítrico anidro é de cerca de 16, 17, 18, 18,2, 18,4, 18,6, 18,8, 19 ou 20 mg em um frasco de 20 cc. Em uma modalidade, a quantidade de ácido cítrico anidro é de cerca de 18,6 mg em um frasco de 20 cc.

[0282] Em certas modalidades, a quantidade de citrato de sódio anidro é de cerca de 1,5% a cerca de 3%, cerca de 1,75% a cerca de 2,75%, ou cerca de 2% a cerca de 2,5% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de citrato de sódio anidro na formulação é de cerca de 1,5%, 1,75%, 2%, 2,1% ou 2,5% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de citrato de sódio anidro na formulação é de cerca de 2%, 2,05%, 2,08% ou 2,1% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de citrato de sódio anidro na formulação é de cerca de 2,08% com base no peso total da formulação.

[0283] Em ainda outro aspecto está uma formulação que compreende citrato de sódio anidro em uma quantidade de cerca de 16 mg a cerca de 20 mg em um frasco de 20 cc. Em uma modalidade, a quantidade de citrato de sódio é de cerca de 16, 17, 18, 18,2, 18,4, 18,6, 18,8, 19 ou 20 mg em um frasco de 20 cc. Em uma modalidade, a quantidade de citrato de sódio anidro é de cerca de 18,4 mg em um frasco de 20 cc.

[0284] Em certas modalidades, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 94 a cerca de 97% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de HPBCD nas

formulações fornecidas neste documento é de cerca de 94,5%, 95%, 95,5% ou 96% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 95% com base no peso total da formulação.

[0285] Em certas modalidades, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 94 a cerca de 97% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 94,5%, 95%, 95,5% ou 96% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 95% com base no peso total da formulação.

[0286] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 800-900 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 810-880 mg, 820-860 mg ou 830-850 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 840 mg em um frasco de 20 cc.

[0287] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende éter sulfobutil-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 800-900 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende éter sulfobutil-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 810-880 mg, 820-860 mg ou 830-850 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende éter sulfobutil-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 840 mg em um frasco de 20 cc.

[0288] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende Kleptose®HPB em uma quantidade de cerca de 840 mg em um frasco de 20 cc.

[0289] Em uma modalidade, as formulações compreendem dimetilsulfóxido em uma quantidade não superior a cerca de 1,5% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, as formulações compreendem dimetilsulfóxido em uma quantidade de até 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% ou 1% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, as formulações compreendem não mais do que cerca de 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% ou 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, as formulações compreendem dimetilsulfóxido em uma quantidade não superior a cerca de 0,1% a 1,5% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de sulfóxido de dimetil nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,1 a cerca de 1,3% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, a quantidade de dimetilsulfóxido nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9% ou 1% com base no peso total da formulação. Em uma modalidade, as formulações fornecidas neste documento não contêm nenhum dimetilsulfóxido. Em uma modalidade, a quantidade de dimetilsulfóxido nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,4% a 0,8% com base no peso total da formulação.

[0290] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende dimetilsulfóxido em uma quantidade de cerca de 4 a 7 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende dimetilsulfóxido em uma quantidade de cerca de 4,5-6,5 mg ou 5 a 6 mg em um frasco de 20 cc.

[0291] Em certas modalidades, a formulação fornecida neste documento é liofilizada e a formulação liofilizada após reconstituição tem um pH de cerca de 4 a 5. Em certas modalidades, as formulações após reconstituição têm um pH de cerca de 4,2 a 4,4. Em uma modalidade, a formulação liofilizada após reconstituição tem um pH de cerca de 4, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9

ou 5.

[0292] Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 250-290 mOsm/kg. Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 260-280 mOsm/kg.

[0293] Em certas modalidades, é fornecido neste documento um recipiente compreendendo uma formulação fornecida neste documento. Em um aspecto, o recipiente é um frasco de vidro. Em um aspecto, o recipiente é um frasco de vidro de 20 cc.

[0294] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida e um carreador farmacologicamente aceitável ou excipiente que inclui um agente de volume conforme descrito neste documento. Em uma modalidade, a formulação compreende adicionalmente não mais do que cerca de 7 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual. Em uma modalidade, a formulação compreende não mais do que cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual. Em uma modalidade, a formulação compreende não mais do que cerca de 5 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual. Em uma modalidade, a formulação compreende não mais do que cerca de 4 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual. Em uma modalidade, a formulação compreende de cerca de 3 mg a cerca de 7 mg, cerca de 4 mg a cerca de 6 mg, cerca de 4 mg a cerca de 5 mg ou cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual. Em uma modalidade, a formulação compreende cerca de 4, 4,5, 5, 5,3, 5,5, 5,7, 6 ou 6,5 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual.

[0295] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações

que consistem essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3%-6% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 92-98%, com base no peso total da formulação.

[0296] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações que consistem essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6% e sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, com base no peso total da formulação.

[0297] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações que consistem essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, HPBCD em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação.

[0298] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações que consistem essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6%, sulfonil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 92 a 98%, e não mais do que cerca de 1% de dimetilsulfóxido com base no peso total da formulação.

[0299] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida e um carreador farmacologicamente aceitável ou excipiente que inclui um tampão e agente de volume conforme descrito neste documento e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como um solvente residual. O tampão e agente de volume podem estar presentes numa quantidade tal como descrito neste documento.

[0300] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação

em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 18,6 mg de ácido cítrico anidro, 18,4 mg de citrato de sódio anidro, 840 mg de HPBCD e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual conforme descrito neste documento. Em uma modalidade, a formulação em um frasco de 20 cc é reconstituída com 3,8 ml de água estéril para injeção.

[0301] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste essencialmente em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 18,6 mg de ácido cítrico anidro, 18,4 mg de citrato de sódio anidro, 840 mg de HPBCD e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual conforme descrito neste documento. Em uma modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 3,8 ml de água estéril para injeção.

[0302] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 18,6 mg de ácido cítrico anidro, 18,4 mg de citrato de sódio anidro, 840 mg de HPBCD e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual conforme descrito neste documento. Em uma modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 3,8 ml de água estéril para injeção.

[0303] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação aquosa compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2% com base no peso total dos sólidos, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% -6% com base no peso total dos sólidos, HPBCD em uma

quantidade de cerca de 92-98% com base no peso total dos sólidos e um diluente.

[0304] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação aquosa que consiste essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,2% com base no peso total dos sólidos, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3% a 6% com base no peso total de os sólidos, HPBCD em uma quantidade de cerca de 92-98% com base no peso total dos sólidos e um diluente.

[0305] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 18,6 mg de ácido cítrico anidro, 18,4 mg de citrato de sódio anidro, 840 mg de HPBCD e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual e cerca de 3,8 mL de diluente.

[0306] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que consiste essencialmente em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 18,6 mg de ácido cítrico anidro, 18,4 mg de citrato de sódio anidro, 840 mg de HPBCD e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual e cerca de 3,8 mL de diluente.

[0307] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1,05 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 18,6 mg de ácido cítrico anidro, 18,4 mg de citrato de sódio anidro, 840 mg de HPBCD e cerca de 5 mg a cerca de 6 mg de dimetilsulfóxido como solvente residual e cerca de 3,8 mL de diluente.

[0308] Em certas modalidades, a formulação liofilizada tem uma

composição conforme descrita na Tabela 43.

Formulação Ib

[0309] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,15%, hidroxipropil β -ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,99%. Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,15%, hidroxipropil β -ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,99% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0310] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% com base no peso total da formulação.

[0311] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25%, HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0312] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,9% com base no peso total da formulação.

[0313] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0314] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações

compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25%, HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,9% e não mais do que cerca de 0,2% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0315] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,8-99,9% com base no peso total da formulação.

[0316] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,8-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0317] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15%, HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,8-99,9% e não mais do que cerca de 0,12% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0318] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,12% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,88% com base no peso total da formulação.

[0319] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% com base no peso total da formulação.

[0320] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25%, sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0321] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,75-99,9% com base no peso total da formulação.

[0322] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15% e sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,8-99,9% com base no peso total da formulação.

[0323] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,08-0,15%, sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,8-99,9% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0324] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,12% e sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,88% com base no peso total da formulação.

[0325] Num aspecto, a formulação fornecida neste documento compreende o Composto 1 numa quantidade de cerca de 0,08 a cerca de 0,15% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de Composto 1 é de cerca de 0,09% a cerca de 0,15%, cerca de 0,1% a cerca de 0,13% ou cerca de 0,11% a cerca de 0,12% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de Composto 1 é de cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,11%, 0,12%, 0,13% ou 0,15% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de Composto 1 na formulação é de cerca de 0,12% com base no peso total da formulação.

[0326] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação

que compreende o composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,5 mg a cerca de 2 mg em um frasco de 20 cc. Ainda outro aspecto é uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,5 mg a cerca de 1,5 mg, cerca de 0,75 mg a cerca de 1,25 mg, ou cerca de 0,8 mg a cerca de 1,1 mg em um frasco de 20 cc. Num aspecto, o Composto 1 está presente numa quantidade de cerca de 0,7, 0,75, 0,76, 0,8, 0,9, 1,0, 1,05 ou 1,2 mg num frasco de 20 cc. Num aspecto, o Composto 1 está presente numa quantidade de cerca de 1 mg num frasco de 20 cc.

[0327] Numa modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 97 a cerca de 99,9% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 98 a cerca de 99,9% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 99,1%, 99,3%, 99,5%, 99,7% ou 99,9% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 99,5% com base no peso total da formulação. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 750-850 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 790-840 mg, 780-830 mg ou 790-810 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 800 mg em um frasco de 20 cc.

[0328] Noutro aspecto, está uma formulação que compreende Kleptose®HPB numa quantidade de cerca de 800 mg num frasco de 20 cc.

[0329] Numa modalidade, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 97 a

cerca de 99,9% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 98 a cerca de 99,9% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 99,1%, 99,3%, 99,5%, 99,7% ou 99,9% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 99,5% com base no peso total da formulação.

[0330] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 750-850 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 790-840 mg, 780-830 mg ou 790-810 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende éter sulfobutil-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 800 mg em um frasco de 20 cc.

[0331] Noutro aspecto, está uma formulação que compreende Kleptose®HPB numa quantidade de cerca de 800 mg num frasco de 20 cc.

[0332] Numa modalidade, as formulações compreendem ácido fórmico em não mais do que 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, as formulações compreendem ácido fórmico em uma quantidade de até cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% ou 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, as formulações compreendem ácido fórmico em não mais do que cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% ou 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05 a cerca de 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a

quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05 a cerca de 0,1% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% ou 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, as formulações fornecidas neste documento não contêm nenhum ácido fórmico. Numa modalidade, a quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05% a 0,09% com base no peso total da formulação.

[0333] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende ácido fórmico em uma quantidade não superior a cerca de 1 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, é uma formulação que compreende ácido fórmico em uma quantidade de até cerca de 0,2, 0,5, 0,7, 0,9 mg ou 1 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende ácido fórmico em uma quantidade de cerca de 0,3-0,9 mg ou 0,4 a 0,8 mg em um frasco de 20 cc.

[0334] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 1 mg e HPBCD em uma quantidade de cerca de 800 mg em um frasco de 20 cc.

[0335] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 1 mg, HPBCD em uma quantidade de cerca de 800 mg e ácido fórmico em uma quantidade de cerca de 0,9 mg em um frasco de 20 cc.

[0336] Em certas modalidades, a formulação tem uma composição conforme descrita na Tabela 43.

Formulação Ic

[0337] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações que compreendem o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,08% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,40-99,99% com base no peso total

da formulação.

[0338] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações que compreendem o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,08% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,40-99,99% e não mais do que cerca de 0,5% de ácido fórmico com base no peso total da formulação.

[0339] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações que compreendem o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,03-0,06% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,60-99,99% com base no peso total da formulação.

[0340] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 de cerca de 0,01 a cerca de 0,08%, hidroxipropil β-ciclodextrina de cerca de 99,40% a cerca de 99,99% e ácido fórmico de cerca de 0,1 a cerca de 0,3% com base no peso total da formulação.

[0341] Num aspecto, a formulação fornecida neste documento compreende o Composto 1 numa quantidade de cerca de 0,02 a cerca de 0,06% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de Composto 1 é de cerca de 0,03% a cerca de 0,06%, ou cerca de 0,04% a cerca de 0,06% com base no peso total da formulação. Em certas modalidades, a quantidade de Composto 1 é de cerca de 0,03%, 0,04%, 0,05% ou 0,06% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de Composto 1 na formulação é de cerca de 0,05% com base no peso total da formulação.

[0342] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,75 mg a cerca de 1,5 mg em um frasco de 20 cc. Ainda outro aspecto é uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,75 mg a cerca de 1,25 mg em um frasco de 20 cc. Num aspecto, o Composto 1 está presente numa quantidade de cerca de 0,75, 0,8, 0,9, 1,0, 1,05 ou 1,2 mg num frasco de 20 cc.

Num aspecto, o Composto 1 está presente numa quantidade de cerca de 1 mg num frasco de 20 cc.

[0343] Numa modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 99,40 a cerca de 99,99% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de HPBCD nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 99,5, 99,6, 99,7, 99,8, 99,9, 99,95 ou 99,99% com base no peso total da formulação. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 1800-1900 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 1850-1900 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende HPBCD em uma quantidade de cerca de 1875 mg em um frasco de 20 cc.

[0344] Numa modalidade, as formulações compreendem ácido fórmico em não mais do que 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, as formulações compreendem ácido fórmico em uma quantidade de até cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% ou 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, as formulações compreendem ácido fórmico em não mais do que cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% ou 0,5% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05 a cerca de 0,3% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05 a cerca de 0,25% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, a quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%, 0,2% ou 0,3% com base no peso total da formulação. Numa modalidade, as formulações fornecidas neste documento não contêm nenhum ácido fórmico. Numa modalidade, a

quantidade de ácido fórmico nas formulações fornecidas neste documento é de cerca de 0,11% a 0,3% com base no peso total da formulação.

[0345] Em outro aspecto, está uma formulação que compreende ácido fórmico em uma quantidade não superior a cerca de 4 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, é uma formulação que compreende ácido fórmico em uma quantidade de até cerca de 1, 1,8, 2, 2,1, 2,5, 3, 3,5, 3,8, 3,9, 4, 4,5, 4,9 mg ou 5 mg em um frasco de 20 cc. Em outro aspecto, está uma formulação que compreende ácido fórmico em uma quantidade de cerca de 1-1,8 mg, 2,1-3,8 mg ou 3,9-4,9 mg em um frasco de 20 cc.

[0346] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 1 mg e HPBCD em uma quantidade de cerca de 1875 mg em um frasco de 20 cc.

[0347] Em outro aspecto, é fornecida neste documento uma formulação que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 1 mg, HPBCD em uma quantidade de cerca de 1875 mg e ácido fórmico em uma quantidade de cerca de 2,1-3,8 mg em um frasco de 20 cc.

[0348] Em certas modalidades, a formulação tem uma composição conforme descrita na Tabela 64.

Formulações sem co-solvente

[0349] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações que compreendem o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,15-0,5%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 15% a cerca de 35% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 92% a cerca de 98%, com base no peso total da formulação. Numa modalidade, o tampão citrato compreende ácido cítrico anidro e citrato de sódio anidro.

[0350] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,25-0,30%, um

tampão citrato em uma quantidade de cerca de 30-32% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 67-69%, com base no peso total da formulação.

[0351] Em uma modalidade, são fornecidas neste documento formulações que compreendem o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,30-0,33%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 17-18% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 80-85%, com base no peso total da formulação.

Formulações Exemplificativas

[0352] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações que consistem essencialmente do Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,95% com base no peso total da formulação.

[0353] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações que consistem essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,99% com base no peso total da formulação.

[0354] Numa modalidade, são fornecidas neste documento formulações que consistem essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% e sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,75-99,95% com base no peso total da formulação.

[0355] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD e cerca de 0,6 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 4,5 ml de água estéril para injeção.

[0356] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste essencialmente em: Composto 1 em uma

quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD e cerca de 0,6 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 4,5 ml de água estéril para injeção.

[0357] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD e cerca de 0,6 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 4,5 ml de água estéril para injeção.

[0358] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina e cerca de 0,6 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 4,5 ml de água estéril para injeção.

[0359] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste essencialmente em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina e cerca de 0,6 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 4,5 ml de água estéril para injeção.

[0360] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que

fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de sulfobutil éter-beta-ciclodextrina e cerca de 0,6 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação num frasco de 20 cc é reconstituída com 4,5 ml de água estéril para injeção.

[0361] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 1875 mg de HPBCD e cerca de 2,1-3,8 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação em um frasco de 20 cc é reconstituída com 12,5 ml de soro fisiológico para injeção.

[0362] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste essencialmente em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 1875 mg de HPBCD e cerca de 2,1-3,8 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação em um frasco de 20 cc é reconstituída com 12,5 ml de soro fisiológico para injeção.

[0363] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 1875 mg de HPBCD e cerca de 2,1-3,8 mg de ácido fórmico, conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação em um frasco de 20 cc é reconstituída com 12,5 ml de soro fisiológico para injeção.

[0364] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação

aquosa compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% com base no peso total dos sólidos e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,1-99,9% com base no peso total dos sólidos, e um diluente.

[0365] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação aquosa compreendendo o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% com base no peso total dos sólidos e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,95% com base no peso total dos sólidos, e um diluente.

[0366] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação aquosa que consiste essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,05-0,25% com base no peso total dos sólidos e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,75-99,95% com base no peso total dos sólidos e um diluente.

[0367] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD, cerca de 0,6 mg de ácido fórmico e cerca de 4,5 mL de diluente.

[0368] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD, cerca de 0,6 mg de ácido fórmico e cerca de 4,5 mL de diluente.

[0369] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação aquosa que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,08% com base no peso total dos sólidos e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,50-99,99% com base no peso total dos sólidos, e um diluente.

[0370] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação

aquosa que compreende o Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,08% com base no peso total dos sólidos e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,50-99,99% com base no peso total dos sólidos, e um diluente.

[0371] Em uma modalidade, é fornecida neste documento uma formulação aquosa que consiste essencialmente no Composto 1 em uma quantidade de cerca de 0,01-0,08% com base no peso total dos sólidos e HPBCD em uma quantidade de cerca de 99,50-99,99% com base no peso total dos sólidos e um diluente.

[0372] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD, cerca de 0,6 mg de ácido fórmico e cerca de 4,5 mL de diluente.

[0373] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação aquosa que consiste em: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 800 mg de HPBCD, cerca de 0,6 mg de ácido fórmico e cerca de 4,5 mL de diluente.

[0374] Em certas modalidades, a formulação tem uma composição conforme descrita na Tabela 43. Em certas modalidades, a formulação tem uma composição conforme descrita na Tabela 64.

[0375] Em certas modalidades, a formulação fornecida neste documento é liofilizada e a formulação liofilizada após reconstituição tem um pH de cerca de 2,5 a 4. Em certas modalidades, as formulações liofilizadas após reconstituição têm um pH de cerca de 2,5 a 3,5. Em certas modalidades, as formulações liofilizadas após reconstituição têm um pH de cerca de 3,0 a 3,6. Numa modalidade, a formulação liofilizada após reconstituição tem um pH de cerca de

2,5, 3, 3,2, 3,4, 3,6, 3,8 ou 4. Numa modalidade, a formulação liofilizada após reconstituição tem um pH de cerca de 2,5, 2,8, 3, 3,2, 3,4, 3,6, 3,8 ou 4.

[0376] Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 260-290 mOsm/kg. Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 280 mOsm/kg. Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 260-370 mOsm/kg. Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 360 mOsm/kg. Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 350-450 mOsm/kg. Em certas modalidades, a formulação liofilizada após reconstituição tem uma osmolalidade de cerca de 416 mOsm.

[0377] Em certas modalidades, a formulação liofilizada é reconstituída com solução salina metade normal (solução estéril de cloreto de sódio a 0,45% para injeção) e tem uma osmolalidade de cerca de 280-320 mOsm/kg após reconstituição. Em certas modalidades, a formulação liofilizada é reconstituída com solução salina metade normal (solução estéril de cloreto de sódio a 0,45% para injeção) e tem um pH de 3,0-3,2 e uma osmolalidade de cerca de 280-320 mOsm/kg após reconstituição. Em certas modalidades, a formulação liofilizada é reconstituída com 4,5 mL de solução salina metade normal (solução estéril de cloreto de sódio a 0,45% para injeção) e tem um pH de 3,0-3,2 e uma osmolalidade de cerca de 280-320 mOsm/kg após reconstituição. Em uma modalidade, a solução reconstituída da dose necessária é diluída com soro fisiológico (solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% para injeção) em um saco de infusão para um volume de 50 mL para administração intravenosa de 30 minutos.

[0378] Em certas modalidades, a formulação liofilizada é reconstituída com

soro fisiológico e tem uma osmolalidade de cerca de 440 mOsm/kg após reconstituição. Numa modalidade, a solução reconstituída da dose requerida é diluída com soro fisiológico até um volume de 50 mL para obter uma solução de dosagem com uma osmolalidade de cerca de 310-380 mOsm/kg. Numa modalidade, a solução reconstituída da dose requerida é diluída com soro fisiológico até um volume de 50 mL para obter uma solução de dosagem com uma osmolalidade de cerca de 310-355 mOsm/kg. Numa modalidade, a solução reconstituída da dose requerida é diluída com soro fisiológico até um volume de 50 mL para obter uma solução de dosagem com uma osmolalidade de cerca de 317-371 mOsm/kg. Numa modalidade, a solução reconstituída da dose requerida é diluída com soro fisiológico até um volume de 50 mL para obter uma solução de dosagem com uma osmolalidade de cerca de 317 mOsm/kg. Numa modalidade, a solução reconstituída da dose requerida é diluída com soro fisiológico até um volume de 50 mL para obter uma solução de dosagem com uma osmolalidade de cerca de 371 mOsm/kg. Numa modalidade, a osmolalidade da solução de dosagem não é superior a 352 mOsm/kg. Numa modalidade, a osmolalidade da solução de dosagem com uma dose de 4,8 mg de Composto 1 é de 352 mOsm/kg.

[0379] Em certas modalidades, é fornecido neste documento um recipiente compreendendo uma formulação fornecida neste documento. Em um aspecto, o recipiente é um frasco de vidro. Em um aspecto, o recipiente é um frasco de vidro de 20 cc.

[0380] Em um aspecto fornecido neste documento, está uma formulação em um frasco de 20 cc que compreende: Composto 1 em uma quantidade que fornece 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, e um agente de volume conforme descrito neste documento. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais

do que cerca de 5 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais do que cerca de 4 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais do que cerca de 3 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais do que cerca de 2 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais do que cerca de 1,5 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais do que cerca de 1 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ainda não mais do que cerca de 0,8 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende de cerca de 0,4 mg a cerca de 1,5 mg, cerca de 0,5 mg a cerca de 1 mg ou cerca de 0,5 mg a cerca de 0,9 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende cerca de 0,4 mg, cerca de 0,6 mg, cerca de 0,8 mg, cerca de 1 mg ou cerca de 1,5 mg de ácido fórmico como solvente residual. Numa modalidade, a formulação compreende ácido fórmico como solvente residual em uma quantidade de cerca de 1,0 mg/mg do Composto 1 a cerca de 1,8 mg/mg do Composto 1, cerca de 2,1 mg/mg do Composto 1 a cerca de 3,8 mg/mg do Composto 1, ou cerca de 3,9 mg/mg de Composto 1 a cerca de 4,9 mg/mg de Composto 1.

[0381] As formulações do Composto 1 fornecidas neste documento podem ser administradas a um paciente em necessidade do mesmo utilizando métodos terapêuticos padrão para distribuir o Composto 1 incluindo, mas não limitado aos métodos descritos neste documento. Numa modalidade, as formulações fornecidas neste documento são reconstituídas num solvente farmacologicamente aceitável para produzir uma solução farmacologicamente aceitável, em que a solução é administrada (tal como por injeção intravenosa)

ao paciente.

[0382] Num aspecto, as formulações fornecidas liofilizadas neste documento, e as formulações liofilizadas são adequadas para reconstituição com um diluente adequado para a concentração apropriada antes da administração. Numa modalidade, a formulação liofilizada é estável à temperatura ambiente. Numa modalidade, a formulação liofilizada é estável à temperatura ambiente durante até cerca de 24 meses. Numa modalidade, a formulação liofilizada é estável à temperatura ambiente até cerca de 24 meses, até cerca de 18 meses, até cerca de 12 meses, até cerca de 6 meses, até cerca de 3 meses ou até cerca de 1 mês. Numa modalidade, a formulação liofilizada é estável por armazenamento sob condição acelerada de 40°C/75% RH durante até cerca de 12 meses, até cerca de 6 meses ou até cerca de 3 meses.

[0383] A formulação liofilizada fornecida neste documento pode ser reconstituída para administração parentérica a um paciente utilizando qualquer diluente farmacologicamente aceitável. Tais diluentes incluem, mas não estão limitados a Água Estéril para Injeção (SWFI), Dextrose a 5% em Água (D5W), ou um sistema co-solvente. Qualquer quantidade de diluente pode ser utilizada para reconstituir a formulação liofilizada de tal modo que seja preparada uma solução adequada para injeção. Por conseguinte, a quantidade do diluente deve ser suficiente para dissolver a formulação liofilizada. Em uma modalidade, 1-5 mL ou 1 a 4 mL de um diluente são usados para reconstituir a formulação liofilizada para produzir uma concentração final de, cerca de 0,05-0,3 mg/mL ou cerca de 0,15-0,25 mg/mL do Composto 1. Em certas modalidades, a concentração final do Composto 1 na solução reconstituída é de cerca de 0,25 mg/mL. Em certas modalidades, a concentração final do Composto 1 na solução reconstituída é de cerca de 0,20 mg/mL. Em certas modalidades, o volume do diluente de reconstituição varia entre 3 ml e 5 ml para produzir uma

concentração final de 0,15-0,3 mg/mL. Em certas modalidades, dependendo da dose requerida, podem ser utilizados vários frascos para reconstituição.

[0384] As soluções reconstituídas de formulação liofilizada podem ser armazenadas e utilizadas em até cerca de 24 horas, cerca de 12 horas ou cerca de 8 horas. Numa modalidade, a solução aquosa reconstituída é estável a temperatura ambiente desde cerca de 1-24, 2-20, 2-15, 2-10 horas após reconstituição. Numa modalidade, a solução aquosa reconstituída é estável a temperatura ambiente durante até cerca de 20, 15, 12, 10, 8, 6, 4 ou 2 horas após a reconstituição. Em algumas modalidades, a solução é utilizada dentro de 8 horas após a preparação. Em algumas modalidades, a solução é utilizada dentro de 5 horas após a preparação. Em algumas modalidades, a solução é utilizada dentro de 1 hora após a preparação.

Processo para Fazer Formulações

[0385] As formulações fornecidas neste documento podem ser preparadas por qualquer um dos métodos conhecidos na técnica e conforme descrito neste documento, mas todos os métodos incluem a etapa de colocar o ingrediente ativo em associação com o excipiente farmacologicamente aceitável, que constitui um ou mais ingredientes necessários (tais como tampão e/ou agente de volume).

[0386] Em um aspecto, as formulações fornecidas neste documento são preparadas dissolvendo o Composto 1, um agente de volume e um tampão citrato em água e dimetilsulfóxido (DMSO) para obter uma solução e, opcionalmente, liofilizando a solução. FIG. 37 e 38 fornecem fluxogramas ilustrando processos exemplificativos para preparar as formulações fornecidas neste documento.

[0387] Numa modalidade, o processo para preparar a formulação compreende: dissolver o HPBCD em um tampão citrato para obter uma solução

tampão, dissolver o Composto 1 em DMSO para obter uma pré-mistura, adicionando a pré-mistura à solução tampão para obter uma solução; e opcionalmente liofilizar a solução para produzir a formulação liofilizada.

[0388] Em uma modalidade, o processo compreende dissolver o Kleptose® HPB em um tampão citrato de 20 mM, pH 4 - 4,5 para obter uma solução tampão, dissolver o Composto 1 em DMSO para obter uma pré-mistura ativa, adicionar a pré-mistura à solução tampão para obter uma mistura, adicionar água à mistura para obter uma solução de volume, filtrar a solução de volume por um ou mais filtros de 0,45 µm e 0,22 µm para obter uma solução filtrada, enchendo a solução filtrada em um frasco e liofilizar a solução. Numa modalidade, a solução é filtrada através de um filtro de 0,45 µm e dois filtros 0,22 µm. Em uma modalidade, o processo compreende dissolver o Kleptose® HPB em um tampão citrato de 20 mM, pH 4,3 para obter uma solução tampão, dissolver o Composto 1 em DMSO para obter uma pré-mistura ativa, adicionar a pré-mistura à solução tampão para obter uma mistura, adicionar água à mistura para obter uma solução de volume, filtrar a solução de volume através de um filtro de 0,45 µm e dois filtros de 0,22 µm para obter uma solução filtrada, enchendo a solução filtrada em um frasco de vidro de 20 cc e, opcionalmente, liofilizar a solução. Em uma modalidade, o frasco é vedado sob nitrogênio após liofilização.

[0389] Num aspecto, as formulações fornecidas neste documento são preparadas dissolvendo o Composto 1 em ácido fórmico para obter uma pré-mistura, dissolvendo HPBCD em água para obter uma solução, adicionando a pré-mistura à solução para obter uma solução de fármaco; e opcionalmente liofilizando a solução da fármaco para produzir a formulação liofilizada.

[0390] Em um aspecto, as formulações fornecidas neste documento são preparadas ao dissolver o Composto 1 em ácido fórmico para obter uma pré-mistura ativa, dissolver Kleptose® HPB em água para obter uma solução de

Kleptose, adicionar a pré-mistura à solução de Kleptose para obter uma mistura, adicionar água à mistura para obter uma solução de volume, filtrar a solução de volume através de um ou mais filtros de 0,45 μm e 0,22 μm para obter uma solução filtrada, encher a solução filtrada em um frasco e liofilizar a solução. Numa modalidade, a solução é filtrada através de um filtro de 0,45 μm e dois filtros 0,22 μm . Em um aspecto, o processo compreende dissolver o Composto 1 em ácido fórmico para obter uma pré-mistura ativa, dissolver Kleptose® HPB em água para obter uma solução de Kleptose, adicionar a pré-mistura à solução de Kleptose para obter uma mistura, adicionar água à mistura para obter uma solução de volume, filtrar a solução de volume através de um ou mais filtros de 0,45 μm e 0,22 μm para obter uma solução filtrada, encher a solução filtrada em um frasco de 20cc e liofilizar a solução. Em uma modalidade, o frasco é vedado sob nitrogênio após liofilização.

[0391] Em um aspecto, o processo de liofilização contém três estágios: congelamento, secagem primária e secagem secundária. Uma formulação líquida é transformada em uma forma de pó liofilizado, passando por solidificação completa através de estágio de congelamento, sublimação de gelo e solventes através de secagem primária e dessorção de umidade residual e solventes através de secagem secundária. A temperatura de conservação e a pressão da câmara na secagem primária e na secagem secundária são controladas para se obter a qualidade desejada da fármaco final. Em um aspecto do processo, a aparência e a estrutura do bolo foram caracterizadas por inspeção visual.

Kits

[0392] São também fornecidos pacotes ou kits farmacêuticos que compreendem composições farmacêuticas ou formas de dosagem fornecidas neste documento. Os kits exemplificativos incluem um aviso na forma prescrita

por uma agência governamental que regula a fabricação, uso ou venda de produtos farmacêuticos, cujo aviso reflete a aprovação pela agência da fabricação, uso ou venda para administração em seres humanos.

Métodos de Uso e Composto 1 para uso em tais métodos

[0393] O Composto 1 conforme fornecido neste documento pode ser usado em todos os métodos fornecidos neste documento. Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar cânceres, incluindo tumores sólidos e cânceres hematológicos, ou um ou mais sintomas ou causas dos mesmos, administrar o Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tais métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar cânceres, incluindo tumores sólidos e cânceres hematológicos, ou um ou mais sintomas ou causas dos mesmos, administrar o Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK.

[0394] Numa modalidade, é fornecido neste documento um método de tratar e prevenir câncer, o qual compreende administrar a um paciente uma formulação liofilizada do Composto 1 fornecido neste documento. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em tal método de tratar e prevenir câncer.

[0395] Noutra modalidade, é fornecido neste documento um método de

controlar câncer, o qual compreende administrar a um paciente uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tal método de controlar câncer.

[0396] Em uma modalidade, os métodos fornecidos neste documento compreendem administrar uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK.

[0397] Também são fornecidos neste documento métodos para tratar pacientes que tenham sido previamente tratados para o câncer, mas não respondem a terapias de câncer, bem como aqueles que não tenham sido previamente tratados. Também são englobados métodos de tratamento de pacientes, independentemente da idade do paciente, embora algumas doenças ou distúrbios sejam mais comuns em determinados grupos de idade. Ainda englobados são os métodos para o tratamento de pacientes que tenham sido submetidos a cirurgia, numa tentativa de tratar a doença ou condição em causa, bem como aqueles que não foram. Como os pacientes com câncer têm manifestações clínicas heterogêneas e resultados clínicos diferentes, o tratamento dado a um paciente pode variar, dependendo de seu prognóstico. O médico versado na técnica será capaz de determinar prontamente sem experimentação indevida agentes específicos secundários, tipos de cirurgia, e os tipos de terapia padrão não baseados em fármacos que podem ser eficazmente usados para o tratamento de um paciente individual com câncer.

[0398] Numa modalidade, são fornecidos neste documento métodos para melhorar o Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental (ECOG) de um paciente com câncer, compreendendo administrar uma

quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, mTOR inibidores, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em métodos para melhorar o Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental (ECOG) de um paciente com câncer, compreendendo administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0399] Numa modalidade, são fornecidos neste documento métodos para melhorar o Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental (ECOG) de um paciente com câncer, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, FLT3 inibidores, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. Fornecida neste documento está uma formulação do Composto 1 para uso em métodos para melhorar o Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental (ECOG) de um paciente com câncer, compreendendo administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, mTOR inibidores, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1,

inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0400] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para melhorar o Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental (ECOG) de um paciente com câncer, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de um Composto 1 descrito neste documento. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso na melhoria do Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental (ECOG) de um paciente com câncer.

[0401] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para inibir a progressão da doença, inibir o crescimento tumoral, reduzir o tumor primário, aliviar sintomas relacionados ao tumor, inibir fatores secretados por tumor, atrasar o aparecimento de tumores primários ou secundários, atrasar o desenvolvimento de tumores primários ou secundários, diminuir a ocorrência de tumores primários ou secundários, retardar ou diminuir a gravidade dos efeitos secundários da doença, interromper o crescimento tumoral e regredir tumores, aumentar o tempo para progressão, aumentar a sobrevivência livre de progressão, aumentar a sobrevivência global ou um ou mais dos mesmos, em um paciente com câncer, compreendendo administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. Fornecido neste documento está o Composto 1 para uso em todos estes tais métodos em um paciente com câncer, compreendendo administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de

FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0402] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para inibir a progressão da doença, inibir o crescimento tumoral, reduzir o tumor primário, aliviar sintomas relacionados ao tumor, inibir fatores secretados por tumor, atrasar o aparecimento de tumores primários ou secundários, atrasar o desenvolvimento de tumores primários ou secundários, diminuir a ocorrência de tumores primários ou secundários, retardar ou diminuir a gravidade dos efeitos secundários da doença, interromper o crescimento e regredir tumores, aumentar o tempo até a progressão, aumentar a sobrevivência livre de progressão, aumentar a sobrevivência global em um paciente com câncer ou um ou mais dos mesmos, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. Fornecido neste documento está o Composto 1 para uso em todos esses tais métodos em um paciente com câncer, ou um ou mais dos mesmos, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, mTOR inibidores, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0403] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para inibir a progressão da doença, inibir o crescimento do tumor, reduzir o

tumor primário, aliviar sintomas relacionados ao tumor, inibir fatores secretados por tumor, atrasar o aparecimento de tumores primários ou secundários, atrasar o desenvolvimento de tumores primários ou secundários, diminuir a ocorrência de tumores primários ou secundários, retardar ou diminuir da gravidade dos efeitos secundários da doença, interromper o crescimento e regredir tumores, aumentar o tempo até a progressão, aumentar a sobrevivência livre de progressão, aumentar a sobrevivência global em um paciente com câncer, ou um ou mais dos mesmos, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em todos esses métodos em um paciente com câncer, ou um ou mais dos mesmos, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente.

[0404] Em certas modalidades, o câncer é um tumor sólido ou um câncer hematológico. Em certas modalidades, o câncer é independente da interleucina-3 (IL-3). Em certas modalidades, o câncer é um tumor sólido. Em certas modalidades, o tumor sólido é metastático. Em certas modalidades, o tumor sólido é resistente às fármacos.

[0405] Em certas modalidades, câncer refere-se a uma doença de tecidos, órgãos, sangue e vasos da pele. Em certas modalidades, o câncer é um tumor sólido, incluindo, sem limitação, câncer de bexiga, osso, sangue, cérebro, mama, colo do útero, peito, cólon, endométrio, esôfago, olho, cabeça, rim, fígado, linfa nós, pulmão, boca, pescoço, ovários, pâncreas, próstata, reto, estômago, testículo, garganta e útero. Cânceres específicos incluem, mas não estão limitados a, neoplasia avançada, amiloidose, neuroblastoma, meningioma, hemangiopericitoma, metástase cerebral múltipla, glioblastoma multiforme, glioblastoma, glioma do tronco cerebral, mau prognóstico de tumor cerebral maligno, glioma maligno, glioma maligno recorrente, astrocitoma anaplásico,

oligodendroglioma anaplásico, tumor neuroendócrino, adenocarcinoma retal, câncer colorretal, incluindo estágio 3 e estágio 4, carcinoma colorretal não operável, carcinoma hepatocelular metastático, sarcoma de Kaposi, leucemia mieloblástica aguda do cariótipo, linfoma de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, linfoma cutâneo de células T, linfoma cutâneo de células B, linfoma difuso de grandes células B, linfoma de baixo grau folicular, melanoma maligno, mesotelioma maligno, síndrome de mesotelioma por derrame pleural maligno, carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilífero, sarcoma ginecológico, sarcoma de tecido mole, esclerodermia, vasculite cutânea, histiocitose das células de Langerhans, leiomiossarcoma, fibrodisplasia ossificante progressiva, hormônio do câncer de próstata refratário, sarcoma de tecido mole de alto risco ressecado, carcinoma hepatocelular não operável, macroglobulinemia de Waldenstrom, mieloma fumegante, mieloma indolente, câncer de trompas de Falópio, câncer de próstata independente de androgênio, câncer de próstata não metastático em estágio IV androgênico dependente, câncer de próstata insensível à quimioterapia, carcinoma, incluindo carcinoma papilífero da tireoide, carcinoma folicular da tireoide, carcinoma medular da tireoide e leiomioma.

[0406] Em certas modalidades, o câncer é um tumor sólido, incluindo, mas não limitado a, cânceres de pele, do sistema nervoso central, de tecidos moles, da glândula salivar, de ovário, do rim, do pulmão, do osso, do estômago, do endométrio, do pâncreas, do trato urinário, da tireoide, do trato aerodigestivo superior, de mama, do intestino grosso, do esôfago, de próstata, do fígado, dos gânglios autonômicos e mesotelioma pleural maligno.

[0407] Em certas modalidades, o tumor sólido é o carcinoma hepatocelular, câncer da próstata, câncer do ovário ou glioblastoma.

[0408] Em certas modalidades, o tumor sólido é câncer de mama, câncer

renal, câncer de pâncreas, câncer gastrointestinal, câncer de pulmão, tumor neuroendócrino (NET) ou carcinoma de células renais (RCC).

[0409] Em certas modalidades, o câncer é um câncer hematológico. Em certas modalidades, o câncer hematológico é metastático. Em certas modalidades, o câncer hematológico é resistente a fármacos em pelo menos uma terapia anticâncer. Em certas modalidades, o câncer hematológico é recidivo ou refratário em pelo menos uma terapia anticâncer.

[0410] Em uma modalidade, o câncer hematológico é mieloma múltiplo (MM). Numa modalidade, o câncer hematológico é MM recidivo/refratário (R/R). Numa modalidade, o paciente com R/R MM tem função renal comprometida.

[0411] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa rigorosa (sCR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, mTOR inibidores, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa rigorosa (sCR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0412] Em uma modalidade fornecida neste documento, é um método para

alcançar uma remissão completa rigorosa (sCR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, FLT3 inibidores, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa rigorosa (sCR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0413] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa rigorosa (sCR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa rigorosa (sCR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente.

[0414] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de

inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0415] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0416] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método

para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente.

[0417] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma resposta parcial muito boa (VGPR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma resposta parcial muito boa (VGPR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0418] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma resposta parcial muito boa (VGPR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1,

inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma resposta parcial muito boa (VGPR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0419] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma resposta parcial muito boa (VGPR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para obter uma resposta parcial muito boa (VGPR) em um paciente com MM.

[0420] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma resposta parcial (PR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma resposta parcial (PR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a

partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0421] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma resposta parcial (PR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma resposta parcial (PR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0422] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma resposta parcial (PR) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para obter uma resposta parcial (PR) em um paciente com MM.

[0423] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com MM, em que o

método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0424] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3,

inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0425] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com MM, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para obter uma doença estável em um paciente com MM.

[0426] Numa modalidade, o câncer hematológico é leucemia mieloide aguda (AML). Numa modalidade, o câncer hematológico é leucemia linfocítica aguda (ALL). Numa modalidade, o câncer hematológico é leucemia de células T adultas. Numa modalidade, o câncer hematológico é leucemia linfocítica crônica (CLL). Numa modalidade, o câncer hematológico é leucemia de células pilosas. Em uma modalidade, o câncer hematológico é mielodisplasia. Numa modalidade, o câncer hematológico é um distúrbio mieloproliferativo ou neoplasia mieloproliferativa (MPN). Numa modalidade, o câncer hematológico é leucemia mieloide crônica (CML). Numa modalidade, o câncer hematológico é a síndrome mielodisplásica (MDS). Numa modalidade, o câncer hematológico é a leucemia do vírus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1). Em uma modalidade, o câncer hematológico é mastocitose. Numa modalidade, o câncer hematológico é a leucemia linfoblástica aguda de células B. Em uma modalidade, o câncer hematológico é CLL.

[0427] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar um câncer selecionado a partir de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma imunoblástico de células B, linfoma de células pequenas não clivadas, leucemia/linfoma do vírus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1), linfoma de células T adultas, linfoma de células do manto (MCL), linfoma de Hodgkin (HL), linfoma não-Hodgkin (NHL), linfoma

relacionado à AIDS, linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeno, linfoma de grandes células B rico em células T/histiócitos, linfoma transformado, linfoma de células B grandes mediastinal primário (tímico), linfoma de zona marginal esplênico, transformação de Richter, linfoma de zona marginal nodal e linfoma de células B grandes ALK positivo em um sujeito, compreendendo a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar o câncer. Assim, é fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em todos os referidos métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar um câncer, em que o câncer é selecionado a partir de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma imunoblástico de células B, linfoma de células pequenas não clivadas, leucemia/linfoma do vírus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1), linfoma de células T adultas, linfoma de células do manto (MCL), linfoma de Hodgkin (HL), linfoma não-Hodgkin (NHL), linfoma relacionado à AIDS, linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeno, linfoma de células B grandes rico em células T/histiócito, linfoma transformado, linfoma de células B grandes mediastinal primário (tímico), linfoma de zona marginal esplênico, transformação de Richter, linfoma de zona marginal nodal e linfoma de células B grandes ALK-positivo em um sujeito. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar o câncer. Em uma modalidade, o câncer hematológico é HL. Em uma modalidade, o câncer hematológico é NHL. Numa modalidade, o câncer hematológico é linfoma indolente, incluindo, por exemplo, DLBCL, linfoma folicular e linfoma de zona marginal.

[0428] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método

para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0429] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET,

inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0430] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com NHL.

[0431] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0432] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a

partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0433] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com NHL.

[0434] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do

Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0435] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0436] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com NHL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para obter uma doença estável (SD) em um paciente com NHL.

[0437] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos de

tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar a leucemia através da administração de uma quantidade terapêuticamente ativa do Composto 1 a um sujeito. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tais métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar a leucemia. Numa modalidade, a leucemia é leucemia mieloide aguda (AML). Numa modalidade, a AML é AML recidivada ou refratária. Numa modalidade, a AML é AML recém-diagnosticada. Em outra modalidade, a AML tem a classificação FAB M0/1. Noutra modalidade, a AML tem a classificação FAB M2. Em outra modalidade, a AML tem a classificação FAB M3. Em outra modalidade, a AML tem a classificação FAB M4. Noutra modalidade, a AML tem a classificação FAB M5. Em uma modalidade, a AML é AML com pelo menos uma anormalidade genética recorrente (por exemplo, AML com translocação entre os cromossomos 8 e 21; AML com translocação ou inversão no cromossomo 16; AML com translocação entre os cromossomos 9 e 11; APL (M3) com translocação entre os cromossomos 15 e 17; AML com translocação entre os cromossomos 6 e 9; AML com translocação ou inversão no cromossomo 3); AML (megacarioblástico) com uma translocação entre os cromossomos 1 e 22; AML com alterações relacionadas à mielodisplasia; AML relacionada à quimioterapia ou radiação anterior (por exemplo, AML relacionada ao agente alquilante; ou AML relacionada ao inibidor da topoisomerase II); AML não categorizada de outro modo (por exemplo, AML que não se enquadra nas categorias acima, ou seja, AML minimamente diferenciada (M0); AML com maturação mínima (M1); AML com maturação (M2); leucemia mielomonocítica aguda (M4); leucemia monocítica aguda (M5); leucemia eritroide aguda (M6); leucemia megacarioblástica aguda (M7); leucemia basofílica aguda; ou panmielose aguda com fibrose); sarcoma mieloide (também conhecido como sarcoma granulocítico, cloroma ou mieloblastoma extramedular); ou leucemias agudas indiferenciadas e bifenotípicas (também conhecidas como leucemias

agudas de fenótipo misto). Numa modalidade, a AML é caracterizada por um alelo mutante de IDH2. Em um aspecto dessa modalidade, o alelo mutante de IDH2 tem uma mutação R140X. Em outro aspecto dessa modalidade, a mutação de R140X é uma mutação R140Q. Em outro aspecto dessa modalidade, a mutação R140X é uma mutação R140W. Em outro aspecto dessa modalidade, a mutação R140X é uma mutação R140L. Em outro aspecto dessa modalidade, o alelo mutante de IDH2 tem uma mutação R172X. Em outro aspecto dessa modalidade, a mutação R172X é uma mutação R172K. Em outro aspecto dessa modalidade, a mutação R172X é uma mutação R172G.

[0438] Numa modalidade, a AML é AML recidivada após HSCT alogênico. Numa modalidade, a AML é a segunda ou mais tardia AML recidiva. Numa modalidade, a AML é refratária ao tratamento inicial de indução ou reindução. Em certas modalidades, a AML é refratária a pelo menos uma terapia de indução/reindução ou consolidação. Numa modalidade, a AML é refratária ou recidivada após o agente de hipometilação (HMA). Conforme usado neste documento, a falha no HMA é definida como progressão primária ou falta de benefício clínico após um mínimo de 6 ciclos ou incapaz de tolerar o HMA devido à toxicidade. Numa modalidade, a AML é recidivada dentro de 1 ano do tratamento inicial (excluindo a AML com status de risco favorável).

[0439] Em certas modalidades, os métodos de tratar, prevenir e/ou controlar a leucemia mieloide aguda num sujeito compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar a leucemia mieloide aguda. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar a leucemia mieloide

aguda.

[0440] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar um estado livre de leucemia morfológica em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar um estado livre de leucemia morfológica em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0441] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar um estado livre de leucemia morfológica em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar um estado livre de leucemia morfológica em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma

formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0442] Em uma modalidade fornecida neste documento está um método para alcançar um estado livre de leucemia morfológica em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar um estado livre de leucemia morfológica em um paciente com AML.

[0443] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão morfológica completa em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão morfológica completa em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0444] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método

para alcançar uma remissão morfológica completa em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão morfológica completa em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0445] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão morfológica completa em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão morfológica completa em um paciente com AML.

[0446] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão citogenética completa (CRc) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK,

inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0447] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão citogenética completa (CRc) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão citogenética completa (CRc) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0448] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão citogenética completa (CRc) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão citogenética completa (CRc) em um paciente com AML.

[0449] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão molecular completa (CRm) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do

Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão molecular completa (CRm) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0450] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão molecular completa (CRm) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão molecular completa (CRm) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de

topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0451] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão molecular completa (CRm) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão molecular completa (CRm) em um paciente com AML.

[0452] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão morfológica completa com recuperação sanguínea incompleta (CRi) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão morfológica completa com recuperação sanguínea incompleta (CRi) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0453] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão morfológica completa com recuperação sanguínea incompleta (CRi) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em

combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão morfológica completa com recuperação sanguínea incompleta (CRi) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0454] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão morfológica completa com recuperação sanguínea incompleta (CRi) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão morfológica completa com recuperação sanguínea incompleta (CRi) em um paciente com AML.

[0455] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É

fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0456] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0457] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR)

em um paciente com AML.

[0458] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0459] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um

ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0460] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com AML, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com AML.

[0461] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento englobam tratar, prevenir e/ou controlar a leucemia linfocítica aguda (ALL) num sujeito. Em algumas modalidades, ALL inclui leucemia que se origina nas células blásticas da medula óssea (células B), timo (células T), e nódulos linfáticos. A ALL pode ser classificada de acordo com o Sistema de Classificação Morfológica Francês-Americano-Britânico (FAB) como L1 - linfoblastos de aparência madura (células T ou células pré-B), L2 - Linfoblastos imaturos e pleomórficos (células T e células pré-B) e L3 - Linfoblastos (células B, células de Burkitt). Numa modalidade, a ALL se origina nas células blásticas da medula óssea (células B). Numa modalidade, a ALL se origina no timo (células T). Numa modalidade, a ALL se origina nos nódulos linfáticos. Numa modalidade, a ALL é de tipo L1 caracterizada por linfoblastos de aparência madura (células T ou células pré-B). Numa modalidade, a ALL é de tipo L2 caracterizada por linfoblastos imaturos e pleomórficos (de várias formas) (células T ou células pré-B). Numa modalidade, a ALL é do tipo L3 caracterizada por linfoblastos (células B; células de Burkitt). Em certas modalidades, a ALL é leucemia de células T. Numa modalidade, a leucemia de células T é a leucemia de células T periféricas. Numa outra

modalidade, a leucemia das células T é a leucemia linfoblástica das células T. Numa outra modalidade, a leucemia das células T é a leucemia das células T. Numa outra modalidade, a leucemia de células T é a leucemia linfoblástica de células T. Em certas modalidades, os métodos de tratar, prevenir e/ou controlar a ALL num sujeito compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar a ALL. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar a ALL.

[0462] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento englobam tratar, prevenir e/ou controlar a leucemia mieloide crônica (CML) num sujeito. Os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar a CML. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar a CML.

[0463] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento englobam tratar, prevenir ou controlar a leucemia linfocítica crônica (CLL) num sujeito. Os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar a leucemia linfocítica crônica. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar a CLL.

[0464] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0465] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores

de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0466] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com CLL.

[0467] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0468] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do

Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0469] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com CLL.

[0470] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com CLL,

em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0471] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0472] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com CLL, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma doença estável (SD) em um paciente com CLL.

[0473] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos de

tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar a síndrome mielodisplásica (MDS) através da administração de uma quantidade terapêuticamente ativa do Composto 1 a um sujeito. Numa modalidade fornecida neste documento está um método de tratar MDS. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tais métodos de tratar, prevenir, controlar e/ou melhorar a MDS. Numa modalidade, a MDS é MDS recidivada, resistente ou refratária. Em uma modalidade, MDS é anemia refratária (RA); RA com sideroblastos em anel (RARS); RA com excesso de blastos (RAEB); citopenia refratária com displasia multilinhagem (RCMD), citopenia refratária com displasia de unilinhagem (RCUD); síndrome mielodisplásica não classificável (MDS-U), síndrome mielodisplásica associada a uma anormalidade do cromossomo del(5q) isolada, neoplasias mieloides relacionadas à terapia e leucemia mielomonocítica crônica (CMML). Em algumas modalidades, a MDS é de risco muito baixo, baixo risco, risco intermediário, alto risco ou risco muito alto. Numa modalidade, a MDS é de risco muito baixo. Em outra modalidade, a MDS é de baixo risco. Em outra modalidade, a MDS é de risco intermediário. Em outra modalidade, a MDS é de alto risco. Em outra modalidade, a MDS é uma MDS de risco muito alto. Numa modalidade, a MDS é MDS recidivada ou refratária de alto risco. Em uma modalidade, a MDS está com uma pontuação > 3,5 pontos no Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica Revisado (IPSS-R) (por exemplo, risco intermediário do IPSS-R (em combinação com mais de 10% de blastos de medula óssea ou risco citogenético com IPSS ruim ou muito ruim), IPSS-R risco citogenético), IPSS-R alto e IPSS-R muito alto]. Numa modalidade, a MDS não é adequada para outras terapias estabelecidas (por exemplo, transplante ou agente de hipometilação). Em algumas modalidades, a MDS é primária ou recidivada. Em outras modalidades, a MDS é MDS secundária. Numa modalidade, a MDS é refratária ao tratamento inicial de indução ou reindução.

Em certas modalidades, a MDS é refratária a pelo menos uma terapia de indução/reindução ou consolidação. Em certas modalidades, os métodos de tratar, prevenir e/ou controlar a MDS num sujeito compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar a MDS. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar a MDS.

[0474] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0475] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma

quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0476] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa (CR) em um paciente com MDS.

[0477] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa da medula (mCR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa da medula (mCR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0478] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método

para alcançar uma remissão completa da medula (mCR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa da medula (mCR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0479] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão completa da medula (mCR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão completa da medula (mCR) em um paciente com MDS.

[0480] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK,

inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0481] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK para o paciente.

[0482] Em uma modalidade fornecida neste documento, está um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com MDS, em que o método compreende administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do

Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em um método para alcançar uma remissão parcial (PR) em um paciente com MDS.

[0483] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para aumentar a sobrevida global, aumentar a sobrevida livre de recidiva, aumentar a sobrevida livre de progressão, aumentar a sobrevida livre de eventos, aumentar a duração da remissão, aumentar a duração da resposta ou aumentar o tempo de transformação em AML em um paciente com MDS, compreendendo administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos BH3, inibidores de topoisomerase e Inibidores de RTK para o paciente. Fornecido neste documento está o Composto 1 para uso em métodos para aumentar a sobrevida global, aumentar a sobrevida livre de recidiva, aumentar a sobrevida livre de progressão, aumentar a sobrevida livre de eventos, aumentar a duração da remissão, aumentar a duração da resposta ou aumentar o tempo de transformação em AML em um paciente com MDS, compreendendo administrar uma quantidade eficaz do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos BH3, inibidores de topoisomerase, e inibidores de RTK para o paciente.

[0484] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para aumentar a sobrevida global, aumentar a sobrevida livre de recidiva, aumentar a sobrevida livre de progressão, aumentar a sobrevida livre de

eventos, aumentar a duração da remissão, aumentar a duração da resposta ou aumentar o tempo de transformação em AML em um paciente com MDS, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos BH3, topoisomerase inibidores e inibidores de RTK para o paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em métodos para aumentar a sobrevida global, aumentar a sobrevida livre de recidiva, aumentar a sobrevida livre de progressão, aumentar a sobrevida livre de eventos, aumentar a duração da remissão, aumentar a duração da resposta ou aumentar o tempo de transformação em AML em um paciente com MDS, compreendendo administrar uma quantidade eficaz de Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos BH3, inibidores de topoisomerase e Inibidores de RTK para o paciente.

[0485] Em uma modalidade, são fornecidos neste documento métodos para aumentar a sobrevida global, aumentar a sobrevida livre de recidiva, aumentar a sobrevida livre de progressão, aumentar a sobrevida livre de eventos, aumentar a duração da remissão, aumentar a duração da resposta ou aumentar o tempo de transformação em AML em um paciente com MDS, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de uma formulação do Composto 1 ao paciente. É fornecida neste documento uma formulação do Composto 1 para uso em métodos para aumentar a sobrevida global, aumentar a sobrevida livre de recidiva, aumentar a sobrevida livre de progressão,

aumentar a sobrevida livre de eventos, aumentar a duração da remissão, aumentar a duração da resposta ou aumentar o tempo de transformação para AML em um paciente com MDS.

[0486] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento englobam tratar, prevenir e/ou controlar uma neoplasia mieloproliferativa. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é policitemia vera, trombocitemia primária ou essencial, mielofibrose, leucemia mieloide crônica, leucemia neutrofílica crônica, leucemia mielomonocítica juvenil, leucemia mielomonocítica juvenil, leucemia eosinofílica crônica ou síndrome hiper eosinofílica. Em uma modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é policitemia vera, trombocitemia primária ou essencial, mielofibrose primária ou idiopática, mielofibrose secundária, mielofibrose pós-policitemia vera, mielofibrose pós trombocitemia essencial, leucemia mieloide crônica, leucemia neutrofílica crônica, leucemia mielomonocítica juvenil, leucemia eosinofílica crônica ou síndrome hipereosinofílica. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é policitemia vera. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é trombocitemia primária ou essencial. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é mielofibrose. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é mielofibrose primária ou idiopática. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é mielofibrose secundária. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é mielofibrose pós policitemia vera. Em uma modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é mielofibrose pós-trombocitemia essencial. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é leucemia mieloide crônica. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é leucemia neutrofílica crônica. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é leucemia mielomonocítica juvenil. Numa modalidade, a neoplasia mieloproliferativa é leucemia eosinofílica crônica. Numa modalidade, a

neoplasia mieloproliferativa é a síndrome hipereosinofílica. Em certas modalidades, a neoplasia mieloproliferativa é independente da interleucina-3 (IL-3). Em algumas modalidades, a neoplasia mieloproliferativa é caracterizada por uma mutação JAK, por exemplo, uma mutação V617, como V617F.

[0487] Em certas modalidades, os métodos de tratar, prevenir e/ou controlar uma neoplasia mieloproliferativa num sujeito compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma quantidade de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento eficaz para tratar, prevenir e/ou controlar a neoplasia mieloproliferativa. Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar a neoplasia mieloproliferativa.

[0488] Numa modalidade, os métodos de tratar, prevenir e/ou controlar de câncer fornecidos neste documento compreendem administrar de forma intravenosa uma formulação do Composto 1. Numa modalidade, a formulação do Composto 1 é dissolvida em água para formar uma solução aquosa para administrar de forma intravenosa em métodos de tratar, prevenir e/ou controlar câncer fornecidos neste documento.

[0489] Em algumas modalidades, os métodos compreendem a etapa de administrar ao sujeito uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento em combinação com um segundo agente ativo em quantidades eficazes para tratar, prevenir e/ou controlar o câncer.

[0490] Em certas modalidades, são fornecidos neste documento métodos para tratar, prevenir, e/ou controlar o câncer em pacientes com função renal comprometida. Em certas modalidades, são fornecidos neste documento métodos de fornecer ajustes adequados da dose para pacientes com

insuficiência renal devido a, mas não se limitando a, doença, envelhecimento ou outros fatores do paciente.

[0491] Numa modalidade, são fornecidos neste documento métodos para reduzir os níveis de GSPT1 em um sujeito, compreendendo os métodos de administrar o Composto 1 em combinação com um segundo agente, como descrito neste documento, ao sujeito. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em métodos de redução dos níveis de GSPT1 em um sujeito, compreendendo os métodos administrar o Composto 1 em combinação com um segundo agente, conforme descrito neste documento, ao sujeito. Em algumas modalidades, é fornecido neste documento um método para monitorar a eficácia do tratamento com o Composto 1 em combinação com um segundo agente no tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo: (a) administrar o Composto 1 e um segundo agente ao sujeito; (b) obter uma amostra do sujeito; (c) determinar o nível de GSPT1 na amostra; (d) comparar o nível de GSPT1 na amostra com o nível de GSPT1 em uma amostra de referência, em que uma diminuição no nível de GSPT1 na amostra em comparação com a amostra de referência é indicativa da eficácia do tratamento com o Composto 1 e o segundo agente do câncer no sujeito. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tal método de monitorar a eficácia do tratamento com o Composto 1 em combinação com um segundo agente no tratamento de câncer em um sujeito. Em ainda outro aspecto, é fornecido neste documento um método para prever a capacidade de resposta de um sujeito com ou com suspeita de câncer ao tratamento com o Composto 1 e um segundo agente, o método compreendendo (a) administrar o Composto 1 e um segundo agente ao sujeito; (b) obter uma amostra do sujeito; (c) determinar o nível de GSPT1 na amostra; (d) diagnosticar o sujeito como sendo suscetível de responder ao tratamento do câncer com o Composto 1 e o segundo agente se o nível de GSPT1 na amostra

for reduzido em comparação com o nível de GSPT1 em uma amostra de referência. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método de prever a capacidade de resposta de um sujeito com ou com suspeita de câncer ao tratamento com o Composto 1 e um segundo agente.

[0492] Numa modalidade, são fornecidos neste documento métodos para reduzir os níveis de Mcl-1 em um sujeito, compreendendo os métodos administrar o Composto 1 em combinação com um segundo agente, como descrito neste documento, ao sujeito. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em métodos de redução dos níveis de Mcl-1 em um sujeito, compreendendo os métodos administrar o Composto 1 em combinação com um segundo agente, conforme descrito neste documento, ao sujeito. Em algumas modalidades, é fornecido neste documento um método para monitorar a eficácia do tratamento com o Composto 1 em combinação com um segundo agente no tratamento de câncer em um sujeito, compreendendo: (a) administrar o Composto 1 e um segundo agente ao sujeito; (b) obter uma amostra do sujeito; (c) determinar o nível de Mcl-1 na amostra; (d) comparar o nível de Mcl-1 na amostra com o nível de Mcl-1 em uma amostra de referência, em que uma diminuição no nível de Mcl-1 na amostra em comparação com a amostra de referência é indicativa da eficácia do tratamento com o Composto 1 e o segundo agente do câncer no sujeito. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em tal método de monitorar a eficácia do tratamento com o Composto 1 em combinação com um segundo agente no tratamento de câncer em um sujeito. Em ainda outro aspecto, é fornecido neste documento um método para prever a capacidade de resposta de um sujeito com ou com suspeita de câncer ao tratamento com o Composto 1 e um segundo agente, o método compreendendo (a) administrar o Composto 1 e um segundo agente ao sujeito; (b) obter uma amostra do sujeito; (c) determinar o nível de Mcl-1 na amostra;

(d) diagnosticar o sujeito como sendo suscetível de responder ao tratamento do câncer com o Composto 1 e o segundo agente se o nível de Mcl-1 na amostra for reduzido em comparação com o nível de Mcl-1 em uma amostra de referência. Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método de prever a capacidade de resposta de um sujeito com ou com suspeita de câncer ao tratamento com o Composto 1 e um segundo agente.

[0493] Em algumas modalidades dos métodos fornecidos neste documento, a amostra de referência é obtida do sujeito antes da administração do Composto 1 e do segundo agente ao sujeito, e a amostra de referência é da mesma fonte da amostra. Em outras modalidades dos métodos fornecidos neste documento, a amostra de referência é obtida de um segundo sujeito com câncer e a amostra de referência é da mesma fonte da amostra. Em ainda outras modalidades dos métodos fornecidos neste documento, a amostra de referência é obtida de um grupo de sujeitos com câncer e a amostra de referência é da mesma fonte da amostra.

[0494] Numa modalidade, é fornecido neste documento um método para identificar um sujeito com câncer adequado para tratamento com o Composto 1 e um segundo agente compreendendo: (a) obter uma amostra de um sujeito com câncer; (b) determinar o nível de GSPT1 na amostra; (c) entrar em contato com a amostra com o Composto 1 e o segundo agente; (d) determinar o nível de GSPT1 na amostra após a etapa de contato; (e) identificar o sujeito como sendo suscetível de responder ao tratamento do câncer com o Composto 1 e o segundo agente se o nível de GSPT1 na etapa (d) for reduzido em comparação com o nível de GSPT1 na etapa (b). Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para identificar um sujeito com câncer adequado para tratamento com o Composto 1 e um segundo agente.

[0495] Numa modalidade, é fornecido neste documento um método para

identificar um sujeito com câncer adequado para tratamento com o Composto 1 e um segundo agente compreendendo: (a) obter uma amostra de um sujeito com câncer; (b) determinar o nível de Mcl-1 na amostra; (c) entrar em contato com a amostra com o Composto 1 e o segundo agente; (d) determinar o nível de Mcl-1 na amostra após a etapa de contato; (e) identificar o sujeito como sendo suscetível de responder ao tratamento do câncer com o Composto 1 e o segundo agente se o nível de Mcl-1 na etapa (d) for reduzido em comparação com o nível de Mcl-1 na etapa (b). Assim, é fornecido neste documento o Composto 1 para uso em um método para identificar um sujeito com câncer adequado para tratamento com o Composto 1 e um segundo agente.

[0496] O termo "amostra", conforme utilizado neste documento, refere-se a um material ou mistura de materiais obtidos de um sujeito, incluindo uma amostra de origem de tecido ou fluido, obtida, alcançada ou coletada *in vivo* ou *in situ*. Uma amostra também inclui amostras de uma região de um sujeito contendo células ou tecidos pré-cancerígenos ou cancerígenos. Tais amostras podem ser, mas não estão limitadas a órgãos, tecidos e células isolados de um mamífero. Exemplos de amostras incluem, mas não estão limitados a lisado celular, uma cultura celular, uma linha celular, um tecido, tecido oral, tecido gastrointestinal, um órgão, uma organela, um fluido biológico, uma amostra de sangue, uma amostra de urina, uma amostra de pele, e similar. Numa modalidade, as amostras incluem, mas não estão limitadas a sangue total, sangue parcialmente purificado, PBMC, biópsias de tecido incluindo biópsia do núcleo da medula óssea, aspirado da medula óssea, células mononucleares isoladas da medula óssea, células tumorais circulantes e similares.

[0497] Em algumas dessas modalidades, o segundo agente é selecionado a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK,

inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK, conforme descrito neste documento.

[0498] Em certas modalidades, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,005 a cerca de 20 mg por dia, de cerca de 0,05 a 20 mg por dia, de cerca de 0,01 a cerca de 10 mg por dia, de cerca de 0,01 a cerca de 7 mg por dia, de cerca de 0,01 a cerca de 5 mg por dia, de cerca de 0,01 a cerca de 3 mg por dia, de cerca de 0,05 a cerca de 10 mg por dia, de cerca de 0,05 a cerca de 7 mg por dia, de cerca de 0,05 a cerca de 5 mg por dia, de cerca de 0,05 a cerca de 3 mg por dia, de cerca de 0,1 a cerca de 15 mg por dia, de cerca de 0,1 a cerca de 10 mg por dia, de cerca de 0,1 a cerca de 7 mg por dia, de cerca de 0,1 a cerca de 5 mg por dia, de cerca de 0,1 a cerca de 3 mg por dia, de cerca de 0,5 a cerca de 10 mg por dia, de cerca de 0,05 a cerca de 5 mg por dia, de cerca de 0,5 a cerca de 3 mg por dia, de cerca de 0,5 a cerca de 2 mg por dia, de cerca de 0,3 a cerca de 10 mg por dia, de cerca de 0,3 a cerca de 8,5 mg por dia, de cerca de 0,3 a cerca de 8,1 mg por dia, de cerca de 0,6 a cerca de 10 mg por dia ou de cerca de 0,6 a cerca de 5 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,005 a cerca de 20 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,05 a 20 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,01 a cerca de 10 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,01 a cerca de 7 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,01 a cerca de 5 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,01 a cerca de 3 mg por dia. Numa modalidade, uma

quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,05 a cerca de 10 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,05 a cerca de 7 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,05 a cerca de 5 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,05 a cerca de 3 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,1 a cerca de 15 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,1 a cerca de 10 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,1 a cerca de 7 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,1 a cerca de 5 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,1 a cerca de 3 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,5 a cerca de 10 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,5 a cerca de 5 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,5 a cerca de 3 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,5 a cerca de 2 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,3 a cerca de 10 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,3 a cerca de 8,5 mg por dia. Numa modalidade, uma

quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,3 a cerca de 8,1 mg por dia. Numa modalidade, uma quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz do Composto 1 é de cerca de 0,6 a cerca de 10 mg por dia ou de cerca de 0,6 a cerca de 5 mg por dia.

[0499] Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,1, cerca de 0,2, cerca de 0,5, cerca de 1, cerca de 2, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6, cerca de 7, cerca de 8, cerca de 9 ou cerca de 10 mg por dia. Em algumas das tais modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,5, cerca de 0,6, cerca de 0,75, cerca de 1, cerca de 2, cerca de 3, cerca de 4, cerca de 5, cerca de 6 ou cerca de 7 mg por dia. Em algumas dessas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,6, cerca de 1,2, cerca de 1,8, cerca de 2,4 ou cerca de 3,6 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,1 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,2 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,5 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 1 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 2 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 3 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 4 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 5 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 6 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz

é de cerca de 7 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 8 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 9 mg por dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 10 mg por dia.

[0500] Numa modalidade, a faixa de doses diárias recomendadas do Composto 1, para as condições descritas neste documento situa-se na faixa de cerca de 0,01 mg a cerca de 20 mg por dia, preferivelmente administrada como uma dose única uma vez por dia ou em doses divididas ao longo de um dia. Numa modalidade, a faixa de doses diárias recomendadas do Composto 1, para as condições descritas neste documento situa-se na faixa de cerca de 0,01 mg a cerca de 15 mg por dia, preferivelmente administrada como uma dose única uma vez por dia ou em doses divididas ao longo de um dia. Numa modalidade, a faixa de doses diárias recomendadas do Composto 1, para as condições descritas neste documento situa-se na faixa de cerca de 0,01 mg a cerca de 12 mg por dia, preferivelmente administrada como uma dose única uma vez por dia ou em doses divididas ao longo de um dia. Em algumas modalidades, a dosagem varia entre cerca de 0,1 mg a cerca de 10 mg por dia. Em outras modalidades, a dosagem varia de cerca de 0,5 a cerca de 5 mg por dia. Doses específicas por dia incluem 0,1, 0,2, 0,5, 0,6, 1, 1,2, 1,5, 1,8, 2, 2,4, 2,5, 3, 3,5, 3,6, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,2, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,4, 14,5 ou 15 mg por dia. Em outras modalidades, a dosagem varia de cerca de 0,5 a cerca de 5 mg por dia. Doses específicas por dia incluem 0,1, 0,2, 0,5, 0,6, 1, 1,2, 1,5, 1,8, 2, 2,4, 2,5, 3, 3,5, 3,6, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 ou 10 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 0,1 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 0,2 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 0,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 0,6 mg por dia.

Numa modalidade, a dose por dia é de 1 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 1,2 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 1,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 1,8 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 2 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 2,4 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 2,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 3 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 3,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 3,6 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 4 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 4,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 5,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 6 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 6,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 7 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 7,2 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 7,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 8 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 8,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 9 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 9,5 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 10 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 12 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 10 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 12 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 14,4 mg por dia. Numa modalidade, a dose por dia é de 15 mg por dia.

[0501] Em uma modalidade específica, a dosagem inicial recomendada pode ser 0,1, 0,5, 0,6, 0,7, 1, 1,2, 1,5, 1,8, 2, 2,4, 2,5, 3, 3,5, 3,6, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5 ou 7 mg por dia. Numa outra modalidade, a dose inicial recomendada pode ser 0,1 0,5, 0,6, 1, 1,2, 1,8, 2, 2,4, 3, 3,6, 4, ou 5 mg por dia. Numa modalidade, a dose pode ser aumentada para 7, 8, 9 10, 12 ou 15 mg/dia. Numa modalidade, a dose pode ser aumentada para 7, 8, 9 ou 10 mg/dia.

[0502] Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 0,1 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 1 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 3 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 4 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Em uma modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 5 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Em uma modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 6 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Em uma modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 7 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Em uma modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 10 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Em uma modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 12 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML. Em uma modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 15 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo AML.

[0503] Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 0,1 mg/dia para pacientes com leucemia, incluindo MDS. Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 1 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade

específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 3 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade específica, o Composto 1 pode ser administrado numa quantidade de cerca de 4 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 5 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 6 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 7 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 10 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 12 mg/dia para pacientes com MDS. Numa modalidade particular, o Composto 1 fornecido neste documento pode ser administrado numa quantidade de cerca de 15 mg/dia para pacientes com MDS.

[0504] Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,001 a cerca de 20 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 15 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 10 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 9 mg/kg/dia, 0,01 a cerca de 8 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 7 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 6 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 5 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 4 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 3 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 2 mg/kg/dia, de cerca de 0,01 a cerca de 1 mg/kg/dia, ou de cerca de 0,01 a cerca de 0,05 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,001 a cerca de 20 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapêuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 15

mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 10 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 9 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de 0,01 a cerca de 8 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 7 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 6 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 5 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 4 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 3 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 2 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 1 mg/kg/dia. Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente ou profilaticamente eficaz é de cerca de 0,01 a cerca de 0,05 mg/kg/dia.

[0505] A dose administrada pode também ser expressa em unidades que não sejam mg/kg/dia. Por exemplo, as doses para administração parentérica podem ser expressas em mg/m²/dia. Um versado na técnica saberia facilmente como converter doses de mg/kg/dia para mg/m²/dia a dada a altura ou peso de um sujeito, ou ambos (*ver*, www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Por exemplo, uma dose de 1 mg/kg/dia para um humano 65 kg é aproximadamente igual a 38 mg/m²/dia.

[0506] Em certas modalidades, a quantidade do Composto 1 administrado

é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, varia entre cerca de 0,001 a cerca de 500 μM , cerca de 0,002 a cerca de 200 μM , cerca de 0,005 a cerca de 100 μM , cerca de 0,01 a cerca de 50 μM , desde cerca de 1 a cerca de 50 μM , cerca de 0,02 a cerca de 25 μM , de cerca de 0,05 a cerca de 20 μM , desde cerca de 0,1 a cerca de 20 μM , desde cerca de 0,5 a cerca de 20 μM , ou desde cerca de 1 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade do Composto 1 administrado é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, varia entre cerca de 0,001 a cerca de 500 μM , cerca de 0,002 a cerca de 200 μM , cerca de 0,005 a cerca de 100 μM , cerca de 0,01 a cerca de 50 μM , desde cerca de 1 a cerca de 50 μM , cerca de 0,02 a cerca de 25 μM , de cerca de 0,05 a cerca de 20 μM , desde cerca de 0,1 a cerca de 20 μM , desde cerca de 0,5 a cerca de 20 μM , ou desde cerca de 1 a cerca de 20 μM .

[0507] Em outras modalidades, a quantidade de uma formulação de Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, variando de cerca de 5 a cerca de 100 nM, cerca de 5 a cerca de 50 nM, cerca de 10 a cerca de 100 nM, cerca de 10 a cerca de 50 nM ou de cerca de 50 a cerca de 100 nM. Em outras modalidades, a quantidade de uma formulação de Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, variando de cerca de 5 a cerca de 100 nM. Em outras modalidades, a quantidade de uma formulação de Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, variando de cerca de 5 a cerca de 50 nM. Em outras modalidades, a quantidade de uma formulação de Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, variando de cerca de 10 a cerca de 100 nM. Em outras modalidades, a quantidade de uma

formulação de Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, variando de cerca de 10 a cerca de 50 nM. Em outras modalidades, a quantidade de uma formulação de Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma do composto no estado de equilíbrio, variando de cerca de 50 a cerca de 100 nM.

[0508] Como utilizado neste documento, o termo “concentração no plasma no estado de equilíbrio” é a concentração atingida após um período de administração de uma formulação fornecida neste documento. Uma vez que o estado de equilíbrio é atingido, há menores picos e vales da curva dependente do tempo da concentração de plasma na forma sólida.

[0509] Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrado é suficiente para fornecer uma concentração máxima no plasma (concentração de pico) do composto, varia entre cerca de 0,001 a cerca de 500 μM , cerca de 0,002 a cerca de 200 μM , cerca de 0,005 a cerca de 100 μM , cerca de 0,01 a cerca de 50 μM , desde cerca de 1 a cerca de 50 μM , cerca de 0,02 a cerca de 25 μM , de cerca de 0,05 a cerca de 20 μM , desde cerca de 0,1 a cerca de 20 μM , desde cerca de 0,5 a cerca de 20 μM , ou desde cerca de 1 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,001 a cerca de 500 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,002 a cerca de 200 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,005

a cerca de 100 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,01 a cerca de 50 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 1 a cerca de 50 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,02 a cerca de 25 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,05 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,1 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 0,5 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma máxima (concentração de pico) do composto, variando de cerca de 1 a cerca de 20 μM .

[0510] Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração mínima no plasma (concentração de vale) do composto, varia entre cerca de 0,001 a cerca de 500 μM , cerca de 0,002 a cerca de 200 μM , cerca de 0,005 a cerca de 100 μM , cerca de 0,01 a cerca de 50 μM , de cerca de 1 a cerca de 50 μM , cerca

de 0,01 a cerca de 25 μM , de cerca de 0,01 a cerca de 20 μM , de cerca de 0,02 a cerca de 20 μM , de cerca de 0,02 a cerca de 20 μM , ou de cerca de 0,01 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,001 a cerca de 500 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,002 a cerca de 200 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,005 a cerca de 100 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,01 a cerca de 50 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 1 a cerca de 50 μM , cerca de 0,01 a cerca de 25 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,01 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,02 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,02 a cerca de 20 μM . Em certas modalidades,

a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma concentração no plasma mínima (concentração de vale) do composto, variando de cerca de 0,01 a cerca de 20 μM .

[0511] Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma área sob a curva (AUC) do composto, variando de cerca de 100 a cerca de 100000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$, desde cerca de 1.000 a cerca de 50.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$, desde cerca de 5.000 a cerca de 25.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$, ou desde cerca de 5.000 a cerca de 10.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$. Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma área sob a curva (AUC) do composto, variando de cerca de 100 a cerca de 100.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$. Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma área sob a curva (AUC) do composto, variando de cerca de 1.000 a cerca de 50.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$. Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma área sob a curva (AUC) do composto, variando de cerca de 5.000 a cerca de 25.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$. Em certas modalidades, a quantidade de uma formulação do Composto 1 administrada é suficiente para fornecer uma área sob a curva (AUC) do composto, variando de cerca de 5.000 a cerca de 10.000 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$.

[0512] Em certas modalidades, o paciente a ser tratado com um dos métodos fornecidos neste documento não foi tratado com terapia anticâncer antes da administração de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento. Em certas modalidades, o paciente a ser tratado com um dos métodos fornecidos neste documento foi tratado com terapia anticâncer antes da administração de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento. Em certas modalidades, o paciente a ser tratado com um dos métodos fornecidos neste documento desenvolveu resistência a fármacos para

a terapia anticâncer.

[0513] Os métodos fornecidos neste documento abrangem o tratamento de um paciente, independentemente da idade do paciente, embora algumas doenças ou distúrbios são mais comuns em determinados grupos de idade.

[0514] A formulação do Composto 1 fornecida neste documento pode ser administrada como uma dose única tal como, *por exemplo*, uma injeção única em bolus, ou ao longo do tempo, tal como *por exemplo*, infusão contínua ao longo do tempo ou doses de bolus divididas ao longo do tempo. A formulação do Composto 1 pode ser administrado várias vezes se necessário, por exemplo, até que o paciente experimente doença estável ou regressão ou até a progressão da doença do paciente ou toxicidade inaceitável. Por exemplo, a doença estável para tumores sólidos em geral, significa que o diâmetro perpendicular de lesões mensuráveis não aumentou em 25% ou mais desde a última medição. Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) Guidelines, *Journal of the National Cancer Institute* 92(3): 205-216 (2000). A doença estável ou a falta dela é determinada por métodos conhecidos na técnica, como a avaliação dos sintomas do paciente, exame físico, visualização do tumor que foi fotografada usando raios-X, CAT, PET ou ressonância magnética e outras modalidades de avaliação normalmente aceitáveis.

[0515] A formulação do Composto 1 fornecida neste documento pode ser administrada uma vez por dia (QD) ou dividida em múltiplas doses diárias, tais como duas vezes por dia (BID), três vezes diariamente (TID) e quatro vezes por dia (QID). Além disso, a administração pode ser contínua (*isto é*, por dia durante dias consecutivos ou todos os dias), intermitentes, *por exemplo*, em ciclos (*isto é*, incluindo dias, semanas ou meses de descanso sem fármacos). Tal como utilizado neste documento, o termo "diariamente" pretende significar que um composto terapêutico, é administrado uma vez ou mais do que uma vez por dia,

por exemplo, por um período de tempo. O termo "contínuo" pretende significar que um composto terapêutico, é administrado diariamente por um período contínuo de pelo menos 10 dias a 52 semanas. O termo "intermitente" ou "intermitentemente" tal como utilizado neste documento pretende significar parar e iniciar a intervalos regulares ou irregulares. Por exemplo, a administração intermitente da formulação do Composto 1 é administração durante um a seis dias por semana, administração em ciclos (*por exemplo*, administração diária durante um a dez dias consecutivos de um ciclo de 28 dias, depois um período de descanso sem administração para o resto do ciclo de 28 dias ou administração diária durante duas a oito semanas consecutivas, depois um período de descanso sem administração até um semana), ou administração em dias alternados. A terapia de ciclismo com o Composto 1 é discutida em outra parte neste documento.

[0516] Em algumas modalidades a frequência da administração está no intervalo de cerca de uma dose por dia a cerca de uma dose mensal. Em certas modalidades, a administração é de uma vez por dia, duas vezes por dia, três vezes por dia, quatro vezes por dia, uma vez a cada dois dias, duas vezes por semana, uma vez por semana, uma vez a cada duas semanas, uma vez a cada três semanas ou uma vez a cada quatro semanas. Em uma modalidade, o Composto 1 é administrado uma vez por dia. Noutra modalidade, o Composto 1 é administrado duas vezes por dia. Ainda noutra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado três vezes por dia. Ainda noutra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado quatro vezes ao dia. Ainda em outra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado uma vez em dias alternados. Ainda em outra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado duas vezes por semana. Ainda em outra modalidade, o Composto 1 fornecido neste

documento é administrado uma vez por semana. Ainda em outra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado uma vez a cada duas semanas. Ainda em outra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado uma vez a cada três semanas. Ainda em outra modalidade, o Composto 1 fornecido neste documento é administrado uma vez a cada quatro semanas.

[0517] Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia de um dia a seis meses, de uma semana a três meses, de uma semana a quatro semanas, de uma semana a três semanas, ou de uma semana a duas semanas. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante uma semana, duas semanas, três semanas ou quatro semanas. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante 1 dia. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante 2 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante 3 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante 4 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante 5 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante 6 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia por uma semana. Numa modalidade, uma formulação liofilizada do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante até 10 dias. Numa modalidade, uma formulação liofilizada do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez

por dia durante duas semanas. Ainda noutra modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante três semanas. Ainda noutra modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada uma vez por dia durante quatro semanas.

Terapia de Combinação

[0518] Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento, prevenção e/ou controle de câncer, compreendendo a administração a um paciente do Composto 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores de topoisomerase e inibidores de RTK, e opcionalmente em combinação com radioterapia, transfusões de sangue ou cirurgia. Exemplos de segundos agentes ativos são divulgados neste documento.

[0519] Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento, prevenção e/ou gestão de câncer, compreendendo administrar a um paciente uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em combinação com um ou mais agentes ativos segundos e, opcionalmente, em combinação com radioterapia, transfusões de sangue ou cirurgia. Exemplos de segundos agentes ativos são divulgados neste documento.

[0520] Tal como utilizado neste documento, o termo "em combinação" inclui o uso de mais do que uma terapia (*por exemplo*, um ou mais agentes profiláticos e/ou terapêuticos). No entanto, o uso do termo "em combinação" não restringe a ordem na qual terapias (*por exemplo*, agentes profiláticos e/ou terapêuticos) são administrados a um paciente com uma doença ou distúrbio. Por exemplo, "em combinação" pode incluir administração como uma mistura,

administração simultânea usando formulações separadas e administração consecutiva em qualquer ordem. "Consecutivo" significa que um tempo específico passou entre a administração dos agentes ativos. Por exemplo, "consecutivo" pode ser que mais de 10 minutos se passaram entre a administração dos agentes ativos separados. O período de tempo pode ser mais de 10 minutos, mais de 30 minutos, mais de 1 hora, mais de 3 horas, mais de 6 horas ou mais de 12 horas. Por exemplo, uma primeira terapia (*por exemplo*, um agente profilático ou terapêutico, como uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento) pode ser administrada antes de (*por exemplo*, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas ou 12 semanas antes), concomitantemente com, ou subsequente a (*por exemplo*, 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas ou 12 semanas após) a administração de uma segunda terapia (*por exemplo*, um agente profilático ou terapêutico) ao indivíduo. A terapia tripla é também contemplada neste documento.

[0521] Numa modalidade, a administração do Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, e um ou mais segundos agentes ativos a um paciente, podem ocorrer simultaneamente ou sequencialmente pelas mesmas ou diferentes vias de administração. Numa modalidade, a administração do Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, e um ou mais segundos agentes ativos a um paciente, podem ocorrer simultaneamente ou sequencialmente pelas mesmas ou diferentes vias de administração. A adequabilidade de uma via particular de administração empregue para um agente ativo particular

dependerá do próprio agente ativo (*por exemplo*, se pode ser administrado oralmente sem se decompor antes de entrar na corrente sanguínea) e do câncer a ser tratado.

[0522] A via de administração do Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é independente da via de administração de uma segunda terapia. Assim, em uma modalidade, o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento, é administrado por via intravenosa, e a segunda terapia pode ser administrada por via oral, parentérica, intraperitoneal, intravenosa, intra-arterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, retal, transbucal, intranasal, lipossomal, por inalação, vaginal, intraocular, administração local por cateter ou stent, por via subcutânea, intra-adiposa, intra-articular, por via intratecal ou numa forma de dosagem de liberação lenta. Numa modalidade, o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, e uma segunda terapia são administrados pelo mesmo modo de administração, por IV. Em outra modalidade, o composto 1, incluindo uma formulação do composto 1 fornecido neste documento, é administrado por um modo de administração, *por exemplo*, por IV, enquanto o segundo agente (um agente anticâncer) é administrado por outro modo de administração, *por exemplo*, oralmente.

[0523] Em uma modalidade, o segundo agente ativo é administrado por via intravenosa ou por via subcutânea e, uma vez ou duas vezes por dia em uma quantidade de cerca de 1 a cerca de 1000 mg, de cerca de 5 a cerca de 500 mg, de cerca de 10 a cerca de 350 mg ou de cerca de 50 a cerca de 200 mg. A quantidade específica do segundo agente ativo dependerá do agente específico utilizado, do tipo de doença a ser tratada e/ou gerida, a severidade e estágio da doença e a quantidade do Composto 1 e quaisquer agentes ativos opcionais adicionais administrados simultaneamente ao paciente.

[0524] Um ou mais segundos ingredientes ou agentes ativos podem ser utilizados em conjunto com o Composto 1 nos métodos e composições fornecidos neste documento. Segundos agentes ativos podem ser moléculas grandes (*por exemplo*, proteínas ou moléculas pequenas) (*por exemplo*, inorgânico sintético, organometálico, ou moléculas orgânicas).

[0525] Exemplos de agentes ativos da grande molécula incluem, mas não estão limitados aos fatores de crescimento hematopoiéticos, citocinas, anticorpos monoclonais e policlonais e, em particular, anticorpos terapêuticos para antígenos do câncer. Agentes ativos de moléculas grandes típicas são moléculas biológicas, tais como proteínas que ocorrem naturalmente ou sintéticas ou proteínas recombinantes. As proteínas que são particularmente úteis nos métodos e composições fornecidas neste documento incluem proteínas que estimulam a sobrevivência e/ou a proliferação de células precursoras hematopoiéticas e células imunologicamente ativas poéticas *in vitro* ou *in vivo*. Outras proteínas úteis estimulam a divisão e diferenciação de progenitores eritroides comprometidos nas células *in vitro* ou *in vivo*. As proteínas particulares incluem, mas não estão limitadas a: interleucinas, tais como IL-2 (incluindo recombinante IL-II ("rIL2") e canarypox IL-2), IL-10, IL-12 e IL-18; interferons, tais como interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, interferon alfa-n1, interferon alfa-n3, interferon beta-1 a, e interferon gama-1 b; GM-CSF e GM-CSF; e EPO.

[0526] Em certas modalidades, GM-CSF, G-CSF, SCF ou EPO é administrada subcutaneamente durante cerca de cinco dias de um ciclo de quatro ou seis semanas em uma quantidade que varia de cerca de 1 a cerca de 750 mg/m²/dia, de cerca de 25 a cerca de 500 mg/m²/dia, de cerca de 50 a cerca de 250 mg/m²/dia ou cerca de 50 a cerca de 200 mg/m²/dia. Em uma certa modalidade, o GM-CSF pode ser administrado em uma quantidade de desde cerca de 60 a

cerca de 500 mcg/m² por via intravenosa durante 2 horas ou de cerca de 5 a cerca de 12 mcg/m²/dia por via subcutânea. Em uma determinada modalidade, o G-CSF pode ser administrado subcutaneamente em uma quantidade de cerca de 1 mcg/kg/dia inicialmente e pode ser ajustado dependendo da subida das contagens totais de granulócitos. A dose de manutenção de G-CSF pode ser administrada em uma quantidade de cerca de 300 (em pacientes menores) ou 480 mcg por via subcutânea. Uma determinada modalidade, a EPO pode ser administrada subcutaneamente em uma quantidade de 10.000 Unidades 3 vezes por semana.

[0527] As proteínas particulares que podem ser utilizadas nos métodos e composições incluem, mas não estão limitadas a: filgrastim, que é vendida nos Estados Unidos sob o nome comercial Neupogen[®] (Amgen, Thousand Oaks, CA); sargramostim, que é vendida nos Estados Unidos sob o nome comercial Leukine[®] (Immunex, Seattle, WA); e a EPO recombinante, que é vendida nos Estados Unidos sob o nome comercial Epogen[®] (Amgen, Thousand Oaks, CA).

[0528] As formas recombinantes e mutadas de GM-CSF podem ser preparadas como descrito na Patente US N^{os} 5.391.485; 5.393.870; e 5.229.496; todas as quais são neste documento incorporadas por referência. As formas recombinantes e mutadas de G-CSF podem ser preparadas como descrito na Patente US N^o 4.810.643; 4.999.291; 5.528.823; e 5.580.755; a totalidade dos quais são neste documento incorporados por referência.

[0529] Também são fornecidas para uso em combinação com o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1, proteínas nativas, de ocorrência natural e recombinantes. Incluem-se ainda mutantes e derivados (*por exemplo*, formas modificadas) de proteínas que ocorrem naturalmente e que exibem, *in vivo*, pelo menos, alguma atividade farmacológica das proteínas sobre as quais se baseiam. Os exemplos de mutantes incluem, mas não estão limitados às

proteínas que têm um ou mais resíduos de aminoácidos que diferem dos resíduos correspondentes nas formas de ocorrência natural das proteínas. Também são englobadas pelo termo "mutantes" as proteínas que não possuem porções de carboidrato normalmente presentes nas suas formas de ocorrência natural (*por exemplo*, formas não glicosiladas). Exemplos de derivados incluem, mas não estão limitados aos derivados peguizados e proteínas de fusão, tais como as proteínas formadas pela fusão de IgG1 ou IgG3 com a proteína ou porção ativa da proteína de interesse. *Ver, por exemplo*, Penichet, ML e Morrison, SL, *J. Immunol. Methods* 248:91-101 (2001).

[0530] Os anticorpos que podem ser utilizados em combinação com o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, incluem anticorpos monoclonais e policlonais. Exemplos desses anticorpos incluem, mas não estão limitados a, trastuzumabe (Herceptin[®]), rituximabe (Rituxan[®]), bevacizumabe (Avastin[™]), pertuzumabe (Omnitarg[™]), tositumomabe (Bexxar[®]), edrecolomabe (Panorex[®]) e G250. A formulação do Composto 1 também pode ser combinada ou utilizada em combinação com anticorpos anti-TNF- α e/ou anticorpos anti-EGFR, tais como, por exemplo, Erbitux[®] ou panitumumabe.

[0531] Os agentes ativos de moléculas grandes podem ser administrados sob a forma de vacinas contra o câncer. Por exemplo, vacinas que secretam, ou provocam a secreção de, citocinas tais como IL-2, G-CSF, e GM-CSF podem ser utilizadas nos métodos e, composições farmacêuticas fornecidas. *Vide, por exemplo*, Emens, LA, *et al.*, *Curr. Opinion Mol. Ther.* 3(1):77-84 (2001).

[0532] Os segundos agentes ativos que são moléculas pequenas também podem ser usados para aliviar os efeitos adversos associados com a administração da formulação do Composto 1 fornecida neste documento. No entanto, como algumas moléculas grandes, muitas são acreditadas para serem

capazes de fornecer um efeito sinérgico quando administradas com (*por exemplo*, antes, depois ou simultaneamente) o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento. Exemplos de segundos agentes ativos de pequenas moléculas incluem, mas não estão limitados aos agentes anticancerígenos, antibióticos, agentes imunossupressores e esteroides.

[0533] Em certas modalidades, o segundo agente é um inibidor de HSP, um inibidor de proteassoma, um inibidor de FLT3 ou um inibidor de mTOR. Em algumas modalidades, o inibidor de mTOR é um inibidor de mTOR quinase.

[0534] Exemplos de agentes anticancerígenos a serem usados nos métodos ou composições descritos neste documento incluem, sem limitação: acivicina; aclarubicina; cloridrato de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleucina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginase; asperlina; azacitidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; cloridrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar sódico; bropirimina; busulfano; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimer; carboplatina; carmustina; cloridrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; celecoxibe (inibidor de COX-2); clorambucil; cirolemicina; cisplatina; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; Ara-C; dacarbazina; dactinomicina; cloridrato de daunorrubicina; decitabina; dexormaplatina; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; cloridrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; cloridrato de eflornitina; elsamitrucina; enloplatina; enpromato; epipropidina; cloridrato de epirubicina; erbulozol; cloridrato de esorubicina; estramustina; estramustina fosfato sódico; etanidazol etoposídeo; fosfato de etoposídeo; etoprina; cloridrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracil;

flurocitabina; fosquidona; fostriecina sódica; gemcitabina; cloridrato de gemcitabina; hidroxiureia; cloridrato de idarubicina; ifosfamida; ilmofofina; iproplatina; irinotecano; cloridrato de irinotecano; lanreotídeo acetato; letrozol; acetato de leuprolídeo; cloridrato de liarozol; lometrexol sódico; lomustina; cloridrato de losoxantrona; masoprocol; maitansina; coridrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalano; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato de sódio; metoprina; meturedepa; mitindomida; mitocárcina; mitocromina; mitoglina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; cloridrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatina; oxisurano; paclitaxel; pegaspargase; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobromano; piposulfano; cloridrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero de sódio; porfiromicina; prednimustina; cloridrato de procarbazona; puromicina; cloridrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; safingol; cloridrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato de sódio; esparsomicina; cloridrato de espirogermânio; espiromustina; espiroplatina; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalano sódico; taxotere; tegafur; cloridrato de teloxantrona; temoporfina; teniposídeo; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; cloridrato de tubulozol; uracil mostarda; uredepa; vapreotídeo; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vingcilcinato; sulfato de vinileurosina; tartarato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatina; zinostatina; e cloridrato de zorrubicina.

[0535] Outros fármacos anticâncer a serem incluídos nos métodos

descritos neste documento incluem, mas não estão limitados a: 20-epi-1,25 di-hidroxitamina D3; 5-etiniluracil; abiraterona; aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inibidores da angiogênese; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína morfogenética anti-dorsalizante-1; antiandrogênio, carcinoma prostático; antiestrogênio; antineoplaston; oligonucleótidos antisense; glicinato de afidicolina; moduladores de genes de apoptose; reguladores de apoptose; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina desaminase; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetron; azatoxina; azatirosina; derivados de bacatina III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzocloros; benzoilstaurosporina; derivados de beta-lactama; beta-aletina; betaclamamicina B; ácido betulínico; inibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilpermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfostina C; derivados de camptotecina; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inibidor derivado de cartilagem; carzelesina; inibidores de caseína quinase (ICOS); castanospermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; sulfonamida cloroquinoxalina; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo da combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatame; cipemicina; ocfosfato de Ara-C; fator citolítico; citostatina; dacliximabe; decitabina; desidrodidemnina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamil; diaziquona; didemnina B; didox; dietilnorspermina; di-hidro-5-azacitidina; di-hidrotaxol, 9-;

dioxamicina; difenil espiromustina; docetaxel; docosanol; dolasetron; doxifluridina; doxorubicina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebselen; ecomustina; edelfosina; edrecolomabe; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de estrogênio; antagonistas de estrogênio; etanidazol; fosfato de etoposídeo; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; cloridrato de fluorodaunorunicina; forfenimex; formestano; fostriecin; fotemustina; texafirina de gadolínio; nitrato de gálio; galocitabina; ganirelix; inibidores de gelatinase; gencitabina; inibidores de glutatona; hepsulfam; heregulina; bisacetamida de hexametileno; hipericina; ácido ibandrônico; idarrubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofofina; ilomastat; imatinibe (*por exemplo*, Gleevec®); imiquimod; peptídeos imunoestimulantes; inibidor de receptor de fator de crescimento 1 semelhante a insulina; agonistas de interferon; interferons; interleucinas; iobenguano; iododoxorubicina; ipomeanol, 4-; iroplacto; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetron; jasplakinolida; cahalalida F; triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinano; leptolstatina; letrozol; fator inibidor da leucemia; interferon alfa de leucócitos; leuprolida + estrogênio + progesterona; leuprorelina; levamisol; liarozol; análogo linear de poliamina; peptídeo dissacarídeo lipofílico; compostos lipofílicos de platina; lissoclinamida 7; lobaplatina; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; loxoribina; lurtotecano; texafirina de lutécio; lisofilina; peptídeos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inibidores de matrilisina; inibidores de metaloproteinase da matriz; menogaril; merbarona; meterelina; metioninase; metoclopramida; inibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; fator de crescimento de fibroblastos da mitoxina-

saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; Erbitux, gonadotrofina coriônica humana; parede celular de monofosforil lipídeo A + myobacterium sk; mopidamol; agente anticâncer de mostarda; micaperóxido B; extrato de parede celular micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; Benzamidas N-substituídas; nafarelina; nagrestip; naloxona + pentazocina; napavina; naftalina; nartograstim; nedaplatina; nemorrubicina; ácido neridrônico; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante nitroxido; nitrulina; oblimersen (Genasense®); O⁶-benzilguanina; octreotida; okicenona; oligonucleotídeos; onapristona; ondansetron; ondansetron; oracina; indutor de citocina oral; ormaplatina; osaterona; oxaliplatina; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilrizoxina; ácido pamidrônico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazelliptina; pegaspargase; peldesina; pentosano polissulfato de sódio; pentostatina; pentrozol; perflubron; perfosfamida; álcool perilílico; fenazinomicina; acetato de fenil; inibidores de fosfatase; picibanil; cloridrato de pilocarpina; pirarubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inibidor de ativador do plasminogênio; complexo de platina; compostos de platina; complexo de platina-triamina; porfímero sódico; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inibidores de proteassoma; modulador imune baseado em proteína A; inibidor da proteína quinase C; inibidores da proteína quinase C, microalgal; inibidores de proteína tirosina fosfatase; inibidores de fosforilase de nucleosídeo de purina; & purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de polioxietileno de hemoglobina piridoxilada; antagonistas de raf; raltitrexed; ramosetron; inibidores de ras farnesil-proteína transferase; inibidores de ras; inibidor de ras-GAP; retelliptina desmetilada; etidronato de rênio Re 186; rizoxina; ribozimas; Retinamida RII; rohitukina; romurtide; roquinimex; rubiginona B1; ruboxil; safingol; Saintopina; SarCNU; sarcofitol A; sargramostim; Miméticos Sdi 1;

semustina; inibidor derivado de senescência 1; oligonucleotídeos sense; inibidores de transdução de sinal; sizofiran; sobuzoxano; borocaptato de sódio; fenilacetato de sódio; solverol; proteína de ligação à somatostatina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongiostatina 1; esqualamina; estipiamicina; inibidores de estromielina; sulfinosina; antagonista peptídico intestinal vasoativo superativo; suradista; suramina; swainsonina; tallimustina; metiodeto de tamoxifeno; taumustina; tazaroteno; tecogalano de sódio; tegafur; telurapirílio; inibidores de telomerase; temoporfina; teniposídeo; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoietina; trombopoietina mimética; timalfasina; agonista do receptor de timopoietina; timotrinano; hormônio estimulador da tireoide; etiopurpurina de etil de estanho; tirapazamina; bicloreto de titanoceno; topsentina; toremifeno; inibidores de tradução; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterido; inibidores de tirosina quinase; tirfostinas; inibidores de UBC; ubenimex; fator inibidor do crescimento derivado do seio urogenital; antagonistas do receptor de uroquinase; vaporeotida; variolina B; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinoxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatina; zilascorb; e estimalâmero de zinostatina.

[0536] Em certas modalidades, o segundo agente é selecionado a partir de um ou mais inibidores de ponto de checagem. Numa modalidade, um inibidor de ponto de checagem é utilizado em combinação com o Composto 1 ou uma formulação do Composto 1 nos métodos fornecidos neste documento. Em outra modalidade, dois inibidores de ponto de checagem do Composto 1 são usados em combinação com uma formulação do Composto 1 em ligação com os métodos fornecidos neste documento. Em ainda outra modalidade, três ou mais inibidores de ponto de checagem são usados em combinação com o Composto

1 ou uma formulação do Composto 1 em conexão com os métodos fornecidos neste documento.

[0537] Conforme usado neste documento, o termo "inibidor do ponto de checagem imunológico" ou "inibidor do ponto de checagem" refere-se a moléculas que reduzem, inibem, interferem ou modificam total ou parcialmente uma ou mais proteínas de ponto de checagem. Sem estar limitado por uma teoria particular, as proteínas do ponto de controle regulam a ativação ou função das células T. São conhecidas inúmeras proteínas de ponto de controle, como CTLA-4 e seus ligantes CD80 e CD86; e PD-1 com seus ligantes PD-L1 e PD-L2 (Pardoll, *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12, 252-264). Essas proteínas parecem ser responsáveis pelas interações coestimuladoras ou inibitórias das respostas das células T. As proteínas do ponto de controle imune parecem regular e manter a autotolerância e a duração e amplitude das respostas imunes fisiológicas. Os inibidores do ponto de controle imune incluem anticorpos ou são derivados de anticorpos.

[0538] Numa modalidade, o inibidor do ponto de controle é um inibidor de CTLA-4. Numa modalidade, o inibidor de CTLA-4 é um anticorpo anti-CTLA-4. Exemplos de anticorpos anti-CTLA-4 incluem, mas não estão limitados a aqueles descritos nas Patentes US Nos: 5,811,097; 5,811,097; 5.855.887; 6,051,227; 6.207.157; 6.682.736; 6.984.720; e 7.605.238, todos os quais estão neste documento incorporados na sua totalidade. Numa modalidade, o anticorpo anti-CTLA-4 é tremelimumabe (também conhecido como ticilimumabe ou CP-675,206). Noutra modalidade, o anticorpo anti-CTLA-4 é ipilimumabe (também conhecido como MDX-010 ou MDX-101). Ipilimumabe é um anticorpo de IgG monoclonal totalmente humano que se liga a CTLA-4. Ipilimumabe é comercializado sob o nome comercial Yervoy™.

[0539] Numa modalidade, o inibidor do ponto de controle é um inibidor PD-

1/PD-L1. Exemplos de inibidores de PD-1/PD-L1 incluem, mas não estão limitados aos descritos nas Patentes US Nos. 7,488,802; 7.943.743; 8,008,449; 8,168,757; 8,217,149, e Publicações dos Pedidos de Patente PCT Nos. WO2003042402, WO2008156712, WO2010089411, WO2010036959, WO2011066342, WO2011159877, WO2011082400 e WO2011161699, todos os quais são neste documento incorporados na sua totalidade.

[0540] Numa modalidade, o inibidor do ponto de verificação é um inibidor PD-1. Numa modalidade, o inibidor PD-1 é um anticorpo anti-PD-1. Numa modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é BGB-A317, nivolumabe (também conhecido como ONO-4538, BMS-936558 ou MDX1106) ou pembrolizumabe (também conhecido como MK-3475, SCH 900475 ou lambrolizumabe). Numa modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é nivolumabe. Nivolumabe é um anticorpo monoclonal IgG4 anti-PD-1 humano e é comercializado sob o nome comercial Opdivo™. Noutra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é pembrolizumabe. O pembrolizumabe é um anticorpo IgG4 monoclonal humanizado e é comercializado sob o nome comercial Keytruda™. Ainda noutra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é CT-011, um anticorpo humanizado. CT-011 administrado sozinho não conseguiu mostrar resposta no tratamento da leucemia mieloide aguda (AML) na recaída. Ainda noutra modalidade, o anticorpo anti-PD-1 é AMP-224, uma proteína de fusão. Em outra modalidade, o anticorpo PD-1 é BGB-A317. O BGB-A317 é um anticorpo monoclonal no qual a capacidade de se ligar ao receptor gama Fc I é projetada especificamente e possui uma assinatura de ligação exclusiva a PD-1 com alta afinidade e especificidade de alvo superior.

[0541] Numa modalidade, o inibidor do ponto de checagem é um inibidor de PD-L1. Numa modalidade, o inibidor de PD-L1 é um anticorpo anti-PD-L1. Numa modalidade, o anticorpo anti-PD-L1 é MEDI4736 (durvalumabe). Noutra modalidade, o anticorpo anti-PD-L1 é BMS-936559 (também conhecido como

MDX-1105-01). Ainda noutra forma de realização, o inibidor de PD-L1 é atezolizumabe (também conhecido como MPDL3280A e Tecentriq®).

[0542] Numa modalidade, o inibidor do ponto de checagem é um inibidor de PD-L2. Numa modalidade, o inibidor de PD-L2 é um anticorpo anti-PD-L2. Numa modalidade, o anticorpo anti-PD-L2 é rHIgM12B7A.

[0543] Numa modalidade, o inibidor do ponto de checagem é um inibidor do gene-3 (LAG-3) de ativação de linfócito. Numa modalidade, o inibidor de LAG-3 é IMP321, uma proteína de fusão de Ig solúvel (Brignone *et al.*, *J. Immunol.*, 2007, 1794202-4211). Noutra modalidade, o inibidor de LAG-3 é BMS-986016.

[0544] Numa modalidade, o inibidor do ponto de checagem é um inibidor de B7. Numa modalidade, o inibidor de B7 é um inibidor de B7-H3 ou um inibidor de B7-H4. Numa modalidade, o inibidor de B7-H3 é MGA271, um anticorpo anti-B7-H3 (Loo *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, 2012, 3834).

[0545] Numa modalidade, os inibidores do ponto de checagem são um inibidor do domínio TIM3 (domínio da imunoglobulina das células T e da mucina 3) (Fourcade *et al.*, *J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2175-86; Sakuishi *et al.*, *J. Exp. Med.*, 2010, 207, 2187-94).

[0546] Numa modalidade, o inibidor do ponto de checagem é um agonista de OX40 (CD134). Numa modalidade, o inibidor do ponto de controle é um anticorpo anti-OX40. Numa modalidade, o anticorpo anti-OX40 é anti-OX-40. Noutra modalidade, o anticorpo anti-OX40 é MEDI6469.

[0547] Em uma modalidade, o inibidor do ponto de verificação é um agonista de GITR. Numa modalidade, o inibidor do ponto de verificação é um anticorpo anti-GITR. Numa modalidade, o anticorpo anti-GITR é TRX518.

[0548] Em uma modalidade, o inibidor do ponto de controle é um agonista de CD137. Numa modalidade, o inibidor do ponto de controle é um anticorpo anti-CD137. Numa modalidade, o anticorpo anti-CD137 é urelumabe. Noutra

modalidade, o anticorpo anti-CD137 é PF-05082566.

[0549] Em uma modalidade, o inibidor do ponto de controle é um agonista CD40. Numa modalidade, o inibidor do ponto de controle é um anticorpo anti-CD40. Numa modalidade, o anticorpo anti-CD40 é CF-870.893.

[0550] Numa modalidade, o inibidor do ponto de verificação é a interleucina-15 humana recombinante (rhIL-15).

[0551] Numa modalidade, o inibidor do ponto de controle é um inibidor IDO. Numa modalidade, o inibidor IDO é INCB024360. Noutra modalidade, o inibidor IDO é indoximod.

[0552] Em certas modalidades, as terapias de combinação fornecidas neste documento incluem dois ou mais inibidores do ponto de verificação descritos neste documento (incluindo inibidores do ponto de verificação da mesma classe ou de classe diferente). Além disso, as terapias de combinação descritas neste documento podem ser usadas em combinação com agentes ativos secundários como descrito neste documento, quando apropriado para o tratamento de doenças descritas neste documento e entendidas na técnica.

[0553] Em certas modalidades, o Composto 1 pode ser utilizado em combinação com uma ou mais células imunes que expressam um ou mais receptores de antígeno quiméricos (CARs) na sua superfície (por exemplo, uma célula imune modificada). Geralmente, os CARs compreendem um domínio extracelular de uma primeira proteína, por exemplo, uma proteína de ligação ao antígeno), um domínio transmembranar e um domínio de sinalização intracelular. Em certas modalidades, uma vez que o domínio extracelular se liga a uma proteína-alvo, como um antígeno tumor-associado (TAA) ou antígeno tumor-específico (TSA), um sinal é gerado através do domínio de sinalização intracelular que ativa a célula imune, por exemplo, para se direcionar a uma célula expressando a proteína alvo e matá-la.

[0554] Domínios extracelulares: Os domínios extracelulares dos CARs se ligam a um antígeno de interesse. Em certas modalidades, o domínio extracelular do CAR compreende um receptor, ou uma porção de um receptor, que se liga ao referido antígeno. Em certas modalidades, o domínio extracelular compreende, ou é, um anticorpo ou uma porção sua de ligação ao antígeno. Em modalidades específicas, o domínio extracelular compreende, ou é, um domínio de Fv de cadeia simples (scFv). O domínio de Fv de cadeia simples pode compreender, por exemplo, um V_L ligado a V_H por um ligante flexível, em que o referido V_L e V_H são de um anticorpo que se liga ao referido antígeno.

[0555] Em certas modalidades, o antígeno reconhecido pelo domínio extracelular de um polipeptídeo descrito neste documento é um antígeno associado a um tumor (TAA) ou um antígeno específico de tumor (TSA). Em várias modalidades específicas, o antígeno associado a um tumor ou o antígeno específico de tumor é, sem limitação: Her2, antígeno de células tronco da próstata (PSCA), alfa-fetoproteína (AFP), antígeno carcinoembrionário (CEA), antígeno-125 do câncer (CA-125), CA19-9, calretinina, MUC-1, antígeno de maturação de células B (BCMA), proteína da membrana epitelial (EMA), antígeno de tumor epitelial (ETA), tirosinase, antígeno associado ao melanoma-24 (MAGE), CD19, CD22, CD27, CD30, CD34, CD45, CD70, CD99, CD117, EGFRvIII (fator de crescimento epidérmico variante III), mesotelina, PAP (fosfatase ácida prostática), prosteína, TARP (proteína de estrutura de leitura alternativa do receptor de células T gama), Trp-p8, STEAPI (antígeno epitelial de seis transmembranas da próstata 1), cromogranina, citoqueratina, desmina, proteína ácida fibrilar glial (GFAP), proteína fluida da doença cística grossa (GCDFP-15), antígeno HMB-45, proteína melan-A (antígeno melanoma reconhecido pelos linfócitos T; MART-I), myo-D1, actina específica do músculo (MSA), neurofilamento, enolase específica do neurônio (NSE), fosfatase alcalina

da placenta, sinaptise, tiroglobulina, fator 1 de transcrição da tiroide, a forma dimérica da isoenzima de tipo piruvato quinase M2 (tumor M2-PK), uma proteína ras anormal ou uma proteína p53 anormal. Em algumas outras modalidades, o TAA ou o TSA reconhecido pelo domínio extracelular de um CAR é a integrina $\alpha\beta3$ (CD61), a galactina ou Ral-B.

[0556] Em certas modalidades, o TAA ou TSA reconhecido pelo domínio extracelular de um CAR é um antígeno de câncer/testículo (CT), por exemplo, BAGE, CAGE, CTAGE, FATE, GAGE, HCA661, HOM-TES-85, MAGEA, MAGEB, MAGEC, NA88, NY-ESO-1, NY-SAR-35, OY-TES-1, SPANXBI, SPA17, SSX, SYCPI ou TPTE.

[0557] Em certas modalidades, o TAA ou TSA reconhecido pelo domínio extracelular de um CAR é um carboidrato ou um gangliosídeo, por exemplo, fuc-GMI, GM2 (antígeno oncofetal-imunogênico-1; OFA-I-1); GD2 (OFA-I-2), GM3, GD3 e semelhantes.

[0558] Em certas outras encarnações, a TAA ou TSA reconhecido pelo domínio extracelular de um CAR é a alfa-actinina-4, Bage-I, BCR-ABL, proteína de fusão Bcr-Abl, beta-catenina, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, Casp-8, cdc27, cdk4, cdkn2a, CEA, coa-I, a proteína de fusão dekan, CEAN, EF2, antígenos do vírus de Epstein-Barr, a proteína de fusão ETV6-AML1, HLA-A2, HLA-All, hsp70-2, KIAA0205, Mart2, Mum-1, 2 e 3, neo-PAP, miosina classe I, OS-9, a proteína de fusão pml-RAR α , PTPRK, K-ras, N-ras, triose isomerase, Gage 3,4,5,6,7, GnTV, Herv-K-mel, Lage-1, NA-88, NY-Eso-1/Lage-2, SP17, SSX-2, TRP2-Int2, gp100 (Pmel17), tirosinase, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, RAGE, GAGE-1, GAGE-2, p15(58), RAGE, SCP-1, Hom/Mel-40, PRAME, p53, HRas, HER-2/neu, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, antígenos E6 e E7 de papilomavírus humano (HPV), TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, PSA, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM

17.1, NuMa, K-ras, 13-Catenin, Mum-1, p16, TAGE, PSMA, CT7, telomerase, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 13HCG, BCA225, BTAA, CD68\KP1, CO-029, FGF-5, G250, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB\70K, NY-CO-1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90, TAAL6, TAG72, TLP ou TPS.

[0559] Em várias modalidades específicas, o antígeno associado ao tumor ou antígeno específico ao tumor é um antígeno relacionado a AML, conforme descrito em S. Anguille et al., *Leukemia* (2012), 26, 2186-2196.

[0560] Outros antígenos associados a tumores e específicos de tumores são conhecidos por aqueles versados na técnica.

[0561] Receptores, anticorpos e scFvs que se ligam aos TSAs e TAAs, úteis na construção de receptores de antígeno quiméricos, são conhecidos na técnica, assim como as sequências de nucleotídeos que os codificam.

[0562] Em certas modalidades específicas, o antígeno reconhecido pelo domínio extracelular de um receptor de antígeno quimérico é um antígeno geralmente não considerado como sendo um TSA ou um TAA, mas que está associado a células tumorais ou danos causados por um tumor. Em certas modalidades, por exemplo, o antígeno é, por exemplo, um fator de crescimento, citocina ou interleucina, por exemplo, um fator de crescimento, citocina ou interleucina associados à angiogênese ou à vasculogênese. Esses fatores de crescimento, citocinas ou interleucinas podem incluir, por exemplo, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) ou interleucina-8 (IL-8). Os tumores também podem criar um ambiente hipóxico local para o tumor. Como tal, em outras modalidades específicas, o antígeno é um fator associado à hipóxia, por exemplo, HIF-1 α , HIF-1 β , HIF-2 α , HIF-2 β , HIF-3 α ou HIF-3 β . Os tumores também podem causar danos localizados

ao tecido normal, causando a liberação de moléculas conhecidas como moléculas de padrão molecular associadas a danos (DAMPs; também conhecidas como alarminas). Em certas outras modalidades específicas, portanto, o antígeno é uma DAMP, por exemplo, uma proteína associada a cromatina de alta mobilidade do grupo box 1 (HMGB 1), proteína de choque térmico, S100A8 (MRP8, calgranulina A), S100A9 (MRP14, calgranulina B), amiloide sérico A (SAA) ou pode ser um ácido desoxirribonucleico, trifosfato de adenosina, ácido úrico ou sulfato de heparina.

[0563] Domínio transmembranar: Em certas modalidades, o domínio extracelular do CAR é ligado ao domínio transmembranar do polipeptídeo por uma sequência de ligantes, de espaçadores ou de polipeptídeos de haste, por exemplo, uma sequência de CD28 ou uma sequência de CTLA4. O domínio transmembranar pode ser obtido ou derivado do domínio transmembranar de qualquer proteína transmembranar e pode incluir todo o ou uma porção desse domínio transmembranar. Em modalidades específicas, o domínio transmembranar pode ser obtido ou derivado de, por exemplo, CD8, CD16, um receptor de citocina e receptor de interleucina, ou um receptor de fator de crescimento, ou similares.

[0564] Domínios de sinalização intracelular: Em certas modalidades, o domínio intracelular de um CAR é ou compreende um domínio ou motivo intracelular de uma proteína que é expressa na superfície de células T e desencadeia a ativação e/ou a proliferação das referidas células T. Um tal domínio ou motivo é capaz de transmitir um sinal de ligação ao antígeno primário que é necessário para a ativação de um linfócito T em resposta à ligação do antígeno à porção extracelular do CAR. Tipicamente, este domínio ou motivo compreende, ou é, um ITAM (motivo de ativação à base de tirosina imunorreceptora). Os polipeptídeos que contêm ITAM adequados para os CARs

incluem, por exemplo, a cadeia CD3 zeta (CD3 ζ) ou as respectivas porções que contêm ITAM. Em uma modalidade específica, o domínio intracelular é um domínio de sinalização intracelular de CD3 ζ . Em outras modalidades específicas, o domínio intracelular é de uma cadeia receptora de linfócitos, uma proteína complexa TCR/CD3, uma subunidade de receptores FE ou uma subunidade receptora IL-2. Em certas modalidades, o CAR compreende adicionalmente um ou mais domínios ou motivos coestimuladores, por exemplo, como parte do domínio intracelular do polipeptídeo. Um ou mais domínios ou motivos coestimulantes podem ser, ou podem incluir, uma ou mais de uma sequência de polipeptídeos CD27, uma sequência de polipeptídeos CD28, uma sequência de polipeptídeos OX40 (CD134), uma sequência de polipeptídeos 4-1BB (CD137) coestimuladores ou uma sequência de polipeptídeos coestimuladores induzíveis de células T (ICOS) ou outro domínio coestimulador ou motivo, ou qualquer combinação deles.

[0565] O CAR pode também compreender um motivo de sobrevivência de células T. O motivo de sobrevivência de células T pode ser qualquer sequência ou motivo polipeptídico que facilite a sobrevivência do linfócito T após a estimulação por um antígeno. Em certas modalidades, o motivo de sobrevivência de células T é ou é derivado de CD3, CD28, um domínio de sinalização intracelular do receptor de IL-7 (IL-7R), um domínio de sinalização intracelular do receptor de IL-12, um domínio de sinalização intracelular do receptor de IL-15, um domínio de sinalização intracelular do receptor de IL-21 ou um domínio de sinalização intracelular do receptor do fator de crescimento de transformação β (TGF β).

[0566] As células imunes modificadas que expressam os CARs podem ser, por exemplo, linfócitos T (células T, por exemplo, células T CD4+ ou células T CD8+), linfócitos citotóxicos (CTLs) ou células exterminadoras naturais (NK). Os

linfócitos T utilizados nas composições e métodos fornecidos neste documento podem ser linfócitos T virgens ou linfócitos T restritos a MHC. Em certas modalidades, os linfócitos T são linfócitos infiltrantes de tumores (TILs). Em certas modalidades, os linfócitos T foram isolados de uma biópsia de tumor ou foram expandidos a partir de linfócitos T isolados de uma biópsia de tumor. Em algumas outras modalidades, as células T foram isoladas ou são expandidas a partir de linfócitos T isolados do sangue periférico, do sangue do cordão umbilical ou da linfa. As células imunes a serem usadas para gerar as células imunes modificadas que expressam um CAR podem ser isoladas pelo uso de métodos rotineiros, aceitos na técnica, por exemplo: coleta de sangue seguida por aférese e opcionalmente isolamento ou triagem de células mediada por anticorpos.

[0567] As células imunes modificadas são preferencialmente autólogas a um indivíduo a quem as células imunes modificadas devem ser administradas. Em algumas outras modalidades, as células imunes modificadas são alogênicas a um indivíduo a quem as células imunes modificadas devem ser administradas. Quando linfócitos T alogênicos ou células NK são usados para preparar linfócitos T modificados, é preferível selecionar linfócitos T ou células NK que reduzam a possibilidade da doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD) no indivíduo. Por exemplo, em certas modalidades, os linfócitos T específicos de vírus são selecionados para a preparação de linfócitos T modificados; espera-se que esses linfócitos tenham uma capacidade nativa grandemente reduzida de se ligar a, e assim tornarem-se ativados por, quaisquer antígenos receptores. Em certas modalidades, a rejeição mediada por receptor de linfócitos T alogênicos pode ser reduzida pela coadministração ao hospedeiro de um ou mais agentes imunossuppressores, por exemplo, ciclosporina, tacrolimo, sirolimo, ciclofosfamida ou semelhantes.

[0568] Linfócitos T, por exemplo, linfócitos T não modificados ou linfócitos T expressando CD3 e CD28, ou compreendendo um polipeptídeo que compreende um domínio de sinalização de CD3 ζ e um domínio coestimulador de CD28, podem ser expandidos usando anticorpos para CD3 e CD28, por exemplo, anticorpos ligados a grânulos; ver, por exemplo, as Patentes US N^os 5.948.893; 6.534.055; 6.352.694; 6.692.964; 6.887.466; e 6.905.681.

[0569] As células imunes modificadas, por exemplo, linfócitos T modificados, podem opcionalmente compreender um "gene suicida" ou "interruptor de segurança" que proporciona a morte de substancialmente todas as células imunes modificadas quando desejado. Por exemplo, os linfócitos T modificados, em certas modalidades, podem compreender um gene de timidinaquinase de HSV (HSV-TK), que causa a morte dos linfócitos T modificados pelo contato com o ganciclovir. Em outra modalidade, os linfócitos T modificados compreendem uma caspase induzível, por exemplo, uma caspase 9 induzível (icaspase 9), por exemplo, uma proteína de fusão entre a caspase 9 e a proteína de ligação a FK506 humana que permite a dimerização utilizando um fármaco de molécula pequena específica. Ver Straathof *et al.*, *Blood* 105 (11): 4247-4254 (2005).

[0570] Os segundos agentes ativos específicos úteis nos métodos ou composições incluem, mas não estão limitados a rituximabe, oblimersen (Genasense[®]), remicade, docetaxel, celecoxibe, melfalano, dexametasona (Decadron[®]), esteroides, gemcitabina, cisplatina, temozolomida, etoposídeo, ciclofosfamida, temodar, carboplatina, procarbazina Gliadel, tamoxifeno, topotecano, metotrexato, Arisa[®], taxol, taxotere, fluorouracil, leucovorina, irinotecano, xeloda, interferon alfa, interferon alfa peguilado (*por exemplo*, PEG INTRON-A), capecitabina, cisplatina, tiotepa, fludarabina, Carboplatina, daunorubicina lipossomal, Ara-C, doxetaxol, pacilitaxel, vinblastina, IL-2, GM-

CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrônico, palmitronato, biaxina, busulfano, prednisona, bifosfonato, trióxido de arsênio, vincristina, doxorubicina (Doxil®) Paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de estramustina e sódio (Emcyt®), sulindac e etoposídeo.

[0571] Em certas modalidades dos métodos fornecidos neste documento, o uso de um segundo agente ativo em combinação com o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento, pode ser modificado ou retardado durante ou logo após a administração do Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, como considerado apropriado por aqueles versados na técnica. Em certas modalidades, os indivíduos a quem está sendo administrado o Composto 1, incluindo uma formulação de Composto 1 fornecida neste documento, isoladamente ou em combinação com outras terapias, podem receber cuidados de prateleira, incluindo antieméticos, fatores de crescimento de mielóide e transfusões de plaquetas, quando apropriado. Em algumas modalidades, os indivíduos a quem se administra o Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, podem receber administração de um fator de crescimento como um segundo agente ativo de acordo com o julgamento daquele versado na técnica. Em algumas modalidades, é fornecida a administração do Composto 1, incluindo uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, em combinação com eritropoietina ou darbepoetina (Aranesp).

[0572] Em um aspecto, é fornecido neste documento um método de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria do câncer de bexiga de células de transição metastático ou avançado localmente, compreendendo a administração de uma formulação do Composto 1 com gemcitabina, cisplatina, 5-fluorouracil, mitomicina, metotrexato, vinblastina, doxorubicina,

carboplatina, tiotepa, paclitaxel, docetaxel, atezolizumabe, avelumabe, durvalumabe, keytruda (pembrolizumabe) e/ou nivolumabe.

[0573] Em um aspecto, os métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 em combinação com um segundo ingrediente ativo da seguinte forma: temozolomida para pacientes pediátricos com tumores cerebrais recorrentes ou progressivos ou neuroblastoma recorrente; celecoxibe, etoposídeo e ciclofosfamida para câncer de SNC recidivado ou progressivo; temodar para pacientes com meningioma recorrente ou progressivo, meningioma maligno, hemangiopericitoma, múltiplas metástases cerebrais, tumores cerebrais recidivantes ou multiformes de glioblastoma recentemente diagnosticados; irinotecano para pacientes com glioblastoma recorrente; carboplatina para pacientes pediátricos com glioma do tronco encefálico; procarbazina para pacientes pediátricos com gliomas malignos progressivos; ciclofosfamida em pacientes com mau prognóstico de tumores cerebrais malignos, multiformes de glioblastoma recentemente diagnosticados ou recorrentes; Gliadel[®] para gliomas malignos recorrentes de alto grau; temozolomida e tamoxifeno para astrocitoma anaplásico; ou topotecano para gliomas, glioblastoma, astrocitoma anaplásico ou oligodendroglioma anaplásico.

[0574] Em um aspecto, métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer de mama metastático fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com metotrexato, ciclofosfamida, capecitabina, 5-fluorouracil, taxano, tensirolimo, ABRAXANE[®] (partículas ligadas a proteína de paclitaxel para suspensão injetável) (ligada à albumina), lapatinibe, herceptina, pamidronato dissódico, mesilato de eribulina, everolimo, gemcitabina, palbociclibe, ixabepilona, kadcyła,

pertuzumabe, teotepa, anastrozol, docetaxel, cloridrato de epirrubicina, toremifeno, fulvestrant, acetato de goserelina, ribociclibe, acetato de megestrol, vinblastina, inibidores da aromatase, como letrozol, exemestano, moduladores seletivos de estrogênio, antagonistas dos receptores de estrogênio, antraciclinas, emtansina e/ou pexidartinibe para pacientes com câncer de mama metastático.

[0575] Em um aspecto, métodos de tratamento, prevenção, gerenciamento e/ou melhoria de tumores neuroendócrinos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com pelo menos um de everolimo, avelumabe, sunitinibe, nexavar, leucovorina, oxaliplatina, temozolomida, capecitabina, bevacizumabe, doxorubicina (Adriamicina), fluorouracil (Adrucil, 5-fluorouracil), estreptozocina (Zanosar), dacarbazina, sandostatina, lanreotida e/ou pasireotida em pacientes com tumores neuroendócrinos.

[0576] Em um aspecto, métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer de mama metastático fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com metotrexato, gemcitabina, cisplatina, cetuximabe, 5-fluorouracil, bleomicina, docetaxel, carboplatina, hidroxiureia, pembrolizumabe e/ou nivolumabe em pacientes com câncer de cabeça ou pescoço recorrente ou metastático.

[0577] Em um aspecto, os métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer de pâncreas fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com gemcitabina, ABRAXANE®, 5-fluorouracil, afinitor, irinotecano, mitomicina C, sunitinibe, sunitinibmalato e/ou tarceva para pacientes com câncer de pâncreas.

[0578] Em um aspecto, os métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer de cólon ou retal fornecidos neste documento

compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com ARISA®, avastatina, oxaliplatina, 5-fluorouracil, irinotecano, capecitabina, cetuximabe, ramucirumabe, panitumumabe, bevacizumabe, leucovorina cálcica, lonsurf, regorafenibe, ziv-aflibercept, taxol e/ou taxotere.

[0579] Em um aspecto, métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer colorretal refratário fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com capecitabina e/ou vemurafenibe a pacientes com câncer colorretal refratário ou pacientes que sofrem falha na terapia de primeira linha ou apresentam baixo desempenho no adenocarcinoma do cólon ou retal.

[0580] Em um aspecto, os métodos de tratamento, prevenção, controle e/ou melhoria de um câncer colorretal fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com fluorouracil, leucovorina e/ou irinotecano a pacientes com câncer colorretal, incluindo o estágio 3 e o estágio 4, ou a pacientes que foram tratados anteriormente para câncer colorretal metastático.

[0581] Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer colorretal refratário em combinação com capecitabina, xeloda e/ou irinotecano.

[0582] Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada com capecitabina e irinotecano a pacientes com câncer colorretal refratário ou a pacientes com carcinoma colorretal metastático ou irressecável.

[0583] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com interferon alfa ou capecitabina a pacientes com carcinoma hepatocelular irressecável ou metastático; ou com cisplatina e tiotepa, ou com tosilato de

sorafenibe em pacientes com câncer hepático primário ou metastático.

[0584] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com doxorubicina, paclitaxel, vinblastina, interferon alfa peguilado e/ou interferon alfa-2b recombinante a pacientes com sarcoma de Kaposi.

[0585] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com pelo menos um de enasidenibe, trióxido de arsênico, fludarabina, carboplatina, daunorubicina, ciclofosfamida, citarabina, doxorubicina, idarubicina, cloridrato de mitoxantrona, tioguanina, vinocristina midostaurina e/ou topotecano para pacientes com leucemia mieloide aguda, incluindo leucemia mieloide aguda refratária ou recidivada ou de alto risco.

[0586] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com pelo menos um de enasidenibe, daunorubicina lipossômica, topotecano e/ou citarabina em pacientes com leucemia mieloblástica aguda de cariótipo desfavorável.

[0587] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 com um inibidor de IDH2 a um paciente com leucemia, em que a leucemia é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Inibidores de IDH2 exemplares são divulgados nas Patentes US N^{os} 9.732.062; 9.724.350; 9.738.625; e 9.579.324; e as Publicações US N^{os} 2016-0159771 e US 2016-0158230 A1. Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 com enasidenibe a um paciente com leucemia, em que a leucemia é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Em certas modalidades, a combinação do Composto 1 e um inibidor de IDH2 aumenta

células diferenciadas (CD34-/CD38) e eritroblastos em um paciente com leucemia mieloide aguda, em que a leucemia mieloide aguda é caracterizada pela presença de IDH2 R140Q. Em certas modalidades, a combinação do Composto 1 e um inibidor de IDH2 reduz células progenitoras (CD34 +/CD38 +) e HSC em um paciente com leucemia mieloide aguda, em que a leucemia mieloide aguda é caracterizada pela presença de IDH2 R140Q.

[0588] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 com enasidenibe a um paciente com leucemia mieloide aguda, em que a leucemia mieloide aguda é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Numa modalidade, o alelo mutante de IDH2 é IDH2 R140Q ou R172K.

[0589] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com enasidenibe a um paciente com leucemia, em que a leucemia é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com enasidenibe a um paciente com leucemia mieloide aguda, em que a leucemia mieloide aguda é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Numa modalidade, o alelo mutante de IDH2 é IDH2 R140Q ou R172K.

[0590] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 com 6-(6-(trifluorometil) piridin-2-il)-N²-(2-(trifluorometil)piridin-4-il)-1,3,5-triazina-2,4-diamina (Composto 2) a um paciente com leucemia, em que a leucemia é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 com Composto 2 a um paciente com leucemia mieloide aguda, em que a leucemia mieloide aguda

é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Numa modalidade, o alelo mutante de IDH2 é IDH2 R140Q ou R172K.

[0591] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com Composto 2 a um paciente com leucemia, em que a leucemia é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com Composto 2 a um paciente com leucemia mieloide aguda, em que a leucemia mieloide aguda é caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Numa modalidade, o alelo mutante de IDH2 é IDH2 R140Q ou R172K.

[0592] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com metotrexato, cloridrato de mecloretamina, dimaleato de afatinibe, pemetrexede, bevacizumabe, carboplatina, cisplatina, ceritinibe, crizotinibe, ramucirumabe, pembrolizumabe, docetaxel, tartrato de vinorelbina, gemcitabina, ABRAXANE®, erlotinibe, gefitinibe, irinotecano, everolimo, alectinibe, brigatinibe, nivolumabe, osimertinibe, atezolizumabe, necitumumabe e/ou para pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas.

[0593] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com carboplatina e irinotecano a pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas.

[0594] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com doxetaxol a pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas que foram

previamente tratados com carbo/etoposídeo e radioterapia.

[0595] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com carboplatina e/ou taxotere, ou em combinação com carboplatina, paclitaxel e/ou radioterapia torácica a pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas.

[0596] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com taxotere a pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas em estágio IIIB ou IV.

[0597] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com oblimersen (Genasense®), metotrexato, cloridrato de mecloretamina, etoposídeo, topotecano e/ou doxorubicina em pacientes com câncer de pulmão de pequenas células.

[0598] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com Venetoclax, ABT-737 (Abbott Laboratories) e/ou obatoclax (GX15-070) a pacientes com linfoma e outros cânceres de sangue.

[0599] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com um segundo ingrediente ativo, como vinblastina ou fludarabina adcetris, amboclorina, becenum, bleomicina, brentuximabe vedotina, carambustina clorambucil, ciclofosfamida, dacarbazina, doxorubicina, lomustina, matomina, cloridrato, prednisona, cloridrato de procarbazina, vincristina, metotrexato, nelarabina, belinostat, bendamustina HCl, tositumomab e iodo 131 tositumomab, denileucina diftitox, dexametasona, pralatrexato, prelixafor,

obinutuzumabe, ibritumomabe, tiuxefano, ibritinibe, idelasibe, intron A, romidepsina, lenalidomia, rituximabe e/ou vorinostat em pacientes com vários tipos de linfoma, incluindo, entre outros, linfoma de Hodgkin, linfoma não-Hodgkin, linfoma cutâneo de células T, linfoma cutâneo de células B, linfoma difuso de células B grandes ou recidiva ou linfoma folicular de baixo grau refratário.

[0600] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com taxotere, dabrafenib, imlygic, ipilimumabe, pembrolizumabe, nivolumabe, trametinibe, vemurafenibe, talimogene laherparepvec, IL-2, IFN, GM-CSF e/ou dacarbazina, aldesleucina, cobimetinibe, Intron A[®], peginterferon Alfa-2b e/ou trametinibe para pacientes com vários tipos ou estágios de melanoma.

[0601] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com vinorelbina ou pemetrexede dissódico a pacientes com mesotelioma maligno ou câncer de pulmão de células não pequenas de estágio IIIB com implantes pleurais ou síndrome do mesotelioma de derrame pleural maligno.

[0602] Em um aspecto, os métodos de tratamento de pacientes com vários tipos ou estágios de mieloma múltiplo fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 com dexametasona, ácido zoledrônico, palmitronato, GM-CSF, biaxina, vinblastina, melfalan, busulfano, ciclofosfamida, IFN, prednisona, bisfosfonato, celecoxibe, trióxido de arsênico, PEG INTRON-A, vincristina, becenun, bortezomibe, carfilzomibe, doxorubicina, panobinostat, lenalidomida, pomalidomida, talidomida, mozobil, carmustina, daratumumabe, elotuzumabe, citrato de ixazomib, plerixafor ou uma combinação dos mesmos.

[0603] Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida

neste documento é administrada a pacientes com vários tipos ou fases de mieloma múltiplo em combinação com células T de receptor de antígeno quimérico (CAR). Em certas modalidades, a célula T CAR na combinação tem como alvo o antígeno de maturação das células B (BCMA) e, em modalidades mais específicas, a célula T CAR é bb2121 ou bb21217. Em algumas modalidades, a célula T CAR é JCARH125.

[0604] Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com mieloma múltiplo em recidiva ou refratário em combinação com doxorrubicina (Doxil[®]), vincristina e/ou dexametassona (Decadron[®]).

[0605] Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com vários tipos ou estágios de câncer de ovário, como carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, câncer de ovário refratário ou câncer de ovário recorrente, em combinação com taxol, carboplatina, doxorrubicina, gemcitabina, cisplatina, xeloda, paclitaxel, dexametasona, avastina, ciclofosfamida, topotecano, olaparibe, tiotepa, melfalano, tosilato de niraparibe monohidratado, rubraca ou uma combinação dos mesmos.

[0606] Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com vários tipos ou fases do câncer de próstata, em combinação com xeloda, 5 FU/LV, gemcitabina, irinotecano mais gemcitabina, ciclofosfamida, vincristina, dexametasona, GM-CSF, celecoxib, taxotere, ganciclovir, paclitaxel, adriamicina, docetaxel, estramustina, Emcyt, denderon, zytiga, bicalutamida, cabazitaxel, degarrelis, enzalutamida, zoladex, acetato de leuprolide, cloridrato de mitoxantrona, prednisona, sipuleucel-T, dicloreto de rádio 223 ou uma combinação dos mesmos.

[0607] Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com vários tipos ou estágios de câncer de células renais, em combinação com capecitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, Celebrex[®], flutamida, acetato de goserelina, nilutamida ou uma combinação dos mesmos.

[0608] Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com vários tipos ou estágios de câncer ginecológico, do útero ou de sarcoma de tecidos moles em combinação com IFN, dactinomicina, doxorubicina, mesilato de imatinibe, pazopanibe, cloridrato, trabectedina, eribulina mesilato, olaratumabe, um inibidor de COX-2, como celecoxibe, e/ou sulindac.

[0609] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com vários tipos ou estágios de tumores sólidos em combinação com celecoxibe, etoposídeo, ciclofosfamida, docetaxel, apicitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, ou uma combinação dos mesmos.

[0610] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com esclerodermia ou vasculite cutânea em combinação com celebrex, etoposídeo, ciclofosfamida, docetaxel, apicitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF ou uma combinação dos mesmos.

[0611] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de uma formulação do Composto 1 a pacientes com MDS em combinação com azacitidina, citarabina, daunorrubicina, decitabina, idarubicina, lenalidomida, enasidenibe ou uma combinação dos mesmos.

[0612] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento

compreendem a administração de Composto 1 a pacientes com câncer hematológico em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossomas, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK. Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem administrar uma formulação do Composto 1 a pacientes com câncer hematológico em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK.

[0613] Em uma aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem administrar uma formulação do Composto a paciente com leucemia 1 em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossoma, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com leucemia em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossomas, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK.

[0614] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de Composto 1 a pacientes com AML em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de

inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossomas, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um ou mais segundos agentes selecionados a partir de inibidores de JAK, inibidores de FLT3, inibidores de mTOR, inibidores de spliceossomas, inibidores de BET, inibidores de SMG1, inibidores de ERK, inibidores de LSD1, miméticos de BH3, inibidores da topoisomerase e inibidores de RTK.

[0615] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de mTOR. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de mTOR. Em certas modalidades, o inibidor de mTOR é selecionado a partir de everolimo, MLN-0128 e AZD8055. Em algumas modalidades, o inibidor de mTOR é um inibidor de mTOR quinase. Em certas modalidades, o inibidor de mTOR cinase é selecionado a partir de 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223) e 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115). Em certas modalidades, o composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223). Em certas modalidades, o composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115). Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com

everolimo. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com MLN-0128. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com AZD8055.

[0616] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com AML em combinação com um inibidor de mTOR. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um inibidor de mTOR. Em certas modalidades, o inibidor de mTOR é selecionado a partir de everolimo, MLN-0128 e AZD8055. Em algumas modalidades, o inibidor de mTOR é um inibidor de mTOR quinase. Em certas modalidades, o inibidor de mTOR cinase é selecionado a partir de 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223) e 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115). Em certas modalidades, o composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com everolimo. Em certas modalidades, o everolimo é administrado a pacientes com AML antes da administração do Composto 1. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com MLN-0128. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com AZD8055.

[0617] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com MPN em combinação com um inibidor de JAK. Em certas modalidades, uma formulação

do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com MPN em combinação com um inibidor de JAK. Em um aspecto, o inibidor de JAK é selecionado a partir de um inibidor de JAK1, um inibidor de JAK2 e um inibidor de JAK3. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com tofacitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com momelotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com filgotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com decernotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com barcitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com ruxolitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com fedratinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com NS-018. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com MPN em combinação com pacritinibe. Em certas modalidades, o MPN é independente de IL-3. Em certas modalidades, o MPN é caracterizado por uma mutação de JAK 2, por exemplo, uma mutação de JAK2^{V617F}.

[0618] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com mielofibrose em combinação com um inibidor de JAK. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com

mielofibrose em combinação com um inibidor de JAK. Em um aspecto, o inibidor de JAK é selecionado a partir de um inibidor de JAK1, um inibidor de JAK2 e um inibidor de JAK3. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com mielofibrose em combinação com tofacitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com mielofibrose em combinação com momelotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com mielofibrose em combinação com ruxolitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com mielofibrose em combinação com fedratinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com mielofibrose em combinação com NS-018. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com mielofibrose em combinação com pacritinibe. Em certas modalidades, a mielofibrose é caracterizada por uma mutação de JAK 2, por exemplo, uma mutação JAK2V617F. Em algumas modalidades, a mielofibrose é mielofibrose primária. Em outras modalidades, a mielofibrose é mielofibrose secundária. Em algumas dessas modalidades, a mielofibrose secundária é pós-policitemia vera mielofibrose. Em outras modalidades, a mielofibrose secundária é mielofibrose pós-trombocitemia essencial.

[0619] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de JAK. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de JAK. Em um aspecto, o inibidor de JAK é selecionado a partir de um inibidor de JAK1, um inibidor de JAK2 e um inibidor de JAK3. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir

de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir de momelotinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com tofacitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com momelotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com filgotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com decernotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com barcitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com ruxolitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com fedratinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com NS-018. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com pacritinibe. Em certas modalidades, a MPN é caracterizada por uma mutação de JAK 2, por exemplo, uma mutação JAK2V617F.

[0620] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com AML em combinação com um inibidor de JAK. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um inibidor de JAK. Em um aspecto, o inibidor de JAK é selecionado a partir de um inibidor de JAK1, um inibidor de JAK2 e um inibidor de JAK3. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe,

fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o inibidor de JAK é selecionado a partir de momelotinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com tofacitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com momelotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com filgotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com decernotinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com barcitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com ruxolitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com fedratinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com NS-018. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com pacritinibe. Em certas modalidades, a MPN é caracterizada por uma mutação de JAK 2, por exemplo, uma mutação JAK2V617F.

[0621] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de FLT3 quinase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de FLT3 quinase. Em certas modalidades, o inibidor da FLT3 quinase é selecionado a partir de quizartinibe, sunitinibe, malit sunitinibe, midostaurina, pexidartinibe, lestaurtinibe, tandutinibe e crenolanibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com quizartinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em

combinação com sunitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com midostaurina. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com pexidartinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com lestaurtinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com tandutinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com crenolanibe. Em certas modalidades, o paciente carrega uma mutação FLT3-ITD.

[0622] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com AML em combinação com um inibidor de FLT3 quinase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um inibidor de FLT3 quinase. Em certas modalidades, o inibidor da FLT3 quinase é selecionado a partir de quizartinibe, sunitinibe, malit sunitinibe, midostaurina, pexidartinibe, lestaurtinibe, tandutinibe, quizartinibe e crenolanibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com quizartinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com sunitinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com midostaurina. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com pexidartinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com lestaurtinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com tandutinibe. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com crenolanibe. Em certas

modalidades, o paciente carrega uma mutação FLT3-ITD.

[0623] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de spliceossoma. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com um inibidor de spliceossoma. Em certas modalidades, o inibidor de spliceossoma é pladienólídeo B, 6-desoxipladienólídeo D ou H3B-8800.

[0624] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de SMG1 quinase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de SMG1 quinase. Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com AML em combinação com um inibidor de SMG1 quinase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um inibidor de SMG1 quinase. Em certas modalidades, o inibidor de SMG1 é 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona, cloro-N,N-dietil-5-((4-(2-(4-(3-metilureído)fenil)piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzenossulfonamida (composto li) ou um composto divulgado em A. Gopalsamy *et al.*, *Bioorg. Med Chem Lett.* 2012, 22: 6636-66412 (por exemplo, cloro-N,N-dietil-5-((4-(2-(4-(3-metilureído)fenil)piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzenossulfonamida.

[0625] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de BCL2. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com

leucemia em combinação com um inibidor de BCL2. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com um inibidor de BCL2. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um inibidor de BCL2, por exemplo, venetoclax ou navitoclax. Em certas modalidades, o inibidor de BCL2 é venetoclax.

[0626] Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método para o tratamento de AML que é resistente ao tratamento com um inibidor de BCL2, compreendendo a administração do Composto 1. Numa modalidade, é fornecido neste documento um método para o tratamento de AML que adquiriu resistência ao tratamento com venetoclax, compreendendo a administração do Composto 1. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método para o tratamento da AML que adquiriu resistência ao tratamento com venetoclax, compreendendo a administração de uma combinação do Composto 1 e um inibidor de BCL2. Numa modalidade, é fornecido neste documento um método para o tratamento de AML que adquiriu resistência ao tratamento com venetoclax, compreendendo a administração de uma combinação de Composto 1 e venetoclax.

[0627] Num aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de topoisomerase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de topoisomerase. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com um inibidor de topoisomerase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com AML em combinação com um inibidor de topoisomerase, por

exemplo, irinotecano, topotecano, camptotecina, lamelarina D, etoposídeo, teniposídeo, doxorubicina, daunorrubicina, mitoxantrona, amsacrina, elipticinas, ácido aurintricarboxílico ou HU-331. Em certas modalidades, o inibidor da topoisomerase é o topotecano.

[0628] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de BET. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com um inibidor de BET. Em certas modalidades, o inibidor de BET é selecionado a partir de GSK525762A, OTX015, BMS-986158, TEN-010, CPI-0610, INCB54329, BAY1238097, FT-1101, C90010, ABBV-075, BI 894999, GS-5829, GSK1210151A (I-BET-151), CPI-203, RVX 208, XD46, MS436, PFI-1, RVX2135, ZEN3365, XD14, ARV-771, MZ-1, PLX5117, 4-[2-(ciclopropilmetoxi)-5-(metanossulfonil)fenil]-2-metilisoquinolin-1(2H)-ona (Composto A), EP11313 e EP11336.

[0629] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com leucemia em combinação com um inibidor de LSD1. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com AML em combinação com um inibidor de LSD1. Em certas modalidades, o inibidor de LSD1 é selecionado a partir de ORY-1001, ORY-2001, INCB-59872, IMG-7289, TAK 418, GSK-2879552 e 4-[2-(4-amino-piperidin-1-il)-5-(3-fluoro-4-metoxi-fenil)-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropirimidin-4-il]-2-flúor-benzonitrila ou um seu sal (por exemplo, sal besilato, composto B)

[0630] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com leucemia em combinação com triptolídeo, retaspimicina, alvespimicina, 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223), 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115),

rapamicina, MLN-0128, everolimo, AZD8055, pladienolídeo B, topotecano, tioguanina, mitoxantrona, etoposídeo, decitabina, daunorrubicina, clofarabina, cladribina, 6-mercaptopurina, cloro-N,N-dietil-5-((4-(2-(4-(3-metilureído)fenil)piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzenossulfonamida (composto li), fedratinibe, sunitinibe, pexidartinibe, midostaurina, lestaurtinibe, momelotinibe, quizartinibe e crenolanibe.

[0631] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do composto 1 a pacientes com AML em combinação com triptolida, retaspimicina, alvespimicina, 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223), 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115), rapamicina, MLN-0128, everolimo, AZD8055, pladienolídeo B, topotecano, tioguanina, mitoxantrona, etoposídeo, decitabina, daunorrubicina, clofarabina, cladribina, 6-mercaptopurina, cloro-N,N-dietil-5-((4-(2-(4-(3-metilureído)fenil)piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzenossulfonamida (composto li), fedratinibe, sunitinibe, pexidartinibe, midostaurina, lestaurtinibe, momelotinibe, quizartinibe e crenolanibe.

[0632] Em um aspecto, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração do Composto 1 a pacientes com câncer em combinação com um inibidor de mTOR, em que o câncer é selecionado a partir de câncer de mama, câncer de rim, câncer de pâncreas, câncer gastrointestinal, câncer de pulmão, tumor neuroendócrino (NET), e carcinoma de células renais (CCR). Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer em combinação com um inibidor de topoisomerase. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer

em combinação com um inibidor de mTOR, em que o câncer é selecionado a partir de câncer de mama, câncer de rim, câncer de pâncreas, câncer gastrointestinal, câncer de pulmão, tumor neuroendócrino (NET), e carcinoma de células renais. Em certas modalidades, o inibidor de mTOR é selecionado a partir de everolimo, MLN-0128 e AZD8055. Em algumas modalidades, o inibidor de mTOR é um inibidor de mTOR quinase. Em certas modalidades, o inibidor de mTOR cinase é selecionado a partir de 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223) e 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-dihidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115). Em uma modalidade, o inibidor de mTOR quinase é 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino [2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223). Em uma modalidade, o inibidor de mTOR cinase é 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115). Numa modalidade, o inibidor de mTOR é o everolimo. Numa modalidade, o inibidor de mTOR é o tensirolimo. Numa modalidade, o inibidor de mTOR é MLN-0128. Numa modalidade, o inibidor de mTOR é AZD8055.

[0633] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com câncer de mama em combinação com everolimo. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer de mama em combinação com everolimo.

[0634] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com câncer de rim em combinação com everolimo. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer de rim em combinação com everolimo.

[0635] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com câncer pancreático em combinação com everolimo. Em certas modalidades,

uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer pancreático em combinação com everolimo.

[0636] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com câncer gastrointestinal em combinação com everolimo. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer gastrointestinal em combinação com everolimo.

[0637] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com câncer de pulmão em combinação com everolimo. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com câncer de pulmão em combinação com everolimo.

[0638] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com tumor neuroendócrino em combinação com everolimo. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com tumor neuroendócrino em combinação com everolimo.

[0639] Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado a pacientes com carcinoma de célula renal em combinação com everolimo. Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a pacientes com carcinoma de célula renal em combinação com everolimo.

[0640] Também é abrangido neste documento um método para aumentar a dosagem de um fármaco ou agente anticancerígeno que pode ser administrado de forma segura e eficaz a um paciente, que compreende administrar ao paciente (*por exemplo*, um humano) o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em combinação com o segundo fármaco anticâncer. Os pacientes que podem se beneficiar deste

método são aqueles propensos a sofrer de um efeito adverso associado com fármacos anti-câncer para o tratamento de um câncer específico da pele, tecido subcutâneo, nódulos linfáticos, cérebro, pulmão, fígado, osso, intestino, cólon, coração, pâncreas, suprarrenal, rim, próstata, mama, colorretal ou suas combinações. A administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento alivia ou reduz os efeitos adversos que são de tal gravidade que poderiam limitar a quantidade de fármaco anticancerígeno.

[0641] Também é abrangido neste documento um método para diminuir a dosagem de um fármaco ou agente anticancerígeno que pode ser administrado de forma segura e eficaz a um paciente, que compreende administrar ao paciente (*por exemplo*, um humano) o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em combinação com o segundo fármaco anticâncer. Os pacientes que podem se beneficiar deste método são aqueles propensos a sofrer de um efeito adverso associado com fármacos anticâncer para o tratamento de um câncer específico da pele, tecido subcutâneo, nódulos linfáticos, cérebro, pulmão, fígado, osso, intestino, cólon, coração, pâncreas, suprarrenal, rim, próstata, mama, colorretal ou suas combinações. A administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, potencializa a atividade do fármaco anticâncer, o que permite uma redução na dose do fármaco anticâncer, mantendo a eficácia, que por sua vez pode aliviar ou reduzir os efeitos adversos de tal gravidade que limitem a quantidade de fármaco anticâncer.

[0642] Numa modalidade, o Composto 1 é administrado por via oral e diária numa quantidade que varia de cerca de 0,1 a cerca de 20 mg, de cerca de 1 a cerca de 15 mg, de cerca de 1 a cerca de 10 mg, ou de cerca de 1 a cerca de 15 mg, antes, durante ou após a ocorrência do efeito adverso associado à

administração de um fármaco anticâncer a um paciente. Em certas modalidades, o Composto 1 é administrado em combinação com agentes específicos tais como heparina, aspirina, coumadina ou G-CSF para evitar efeitos adversos que estão associados com fármacos anticâncer, tais como, mas não limitado a neutropenia ou trombocitopenia.

[0643] Em uma modalidade, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado a pacientes com doenças e distúrbios associados ou caracterizados por angiogênese indesejada em combinação com ingredientes ativos adicionais, incluindo, sem limitação, fármacos anticâncer, anti-inflamatórios, anti-histamínicos, antibióticos e esteroides.

[0644] Em outra modalidade, é abrangido neste documento um método de tratamento, prevenção e/ou controle de um câncer, que compreende a administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento, em conjunto com (*por exemplo*, antes da, durante ou após) pelo menos uma terapia anticâncer, incluindo, sem limitação, cirurgia, imunoterapia, terapia biológica, radioterapia ou outra terapia não farmacológica presentemente usada para tratar, prevenir e/ou controlar o câncer. A utilização combinada do composto fornecido neste documento e outra terapia anticâncer podem proporcionar um regime de tratamento único que é inesperadamente eficaz em certos pacientes. Sem ser limitado pela teoria, acredita-se que o Composto 1 possa fornecer efeitos aditivos ou sinérgicos quando administrado simultaneamente com pelo menos uma terapia anticâncer.

[0645] Como discutido ao longo deste documento, abrange-se neste documento um método para reduzir, tratar e/ou prevenir os efeitos adversos ou indesejados associados a outra terapia anticâncer, incluindo, sem limitação, cirurgia, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia biológica e

imunoterapia. O Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento e outro ingrediente ativo pode ser administrado a um paciente antes, durante ou após a ocorrência do efeito adverso associado a outra terapia anticâncer.

[0646] Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de um ou mais suplementos de cálcio, calcitriol ou vitamina D com o Composto 1. Em certas formas de realização, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D antes do tratamento com Composto 1. Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D antes da administração da primeira dose do Composto 1 em cada ciclo. Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D pelo menos até 3 dias antes do tratamento com o Composto 1. Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D antes da administração da primeira dose do Composto 1 em cada ciclo. Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D pelo menos 3 dias antes da administração da primeira dose do Composto 1 em cada ciclo. Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D antes da administração da primeira dose do Composto 1 em cada ciclo e continua após a administração da última dose do Composto 1 em cada ciclo. Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D pelo menos até 3 dias antes da administração da primeira

dose do Composto 1 em cada ciclo e continua até pelo menos até 3 dias após a administração do última dose do composto 1 em cada ciclo (*por exemplo*, pelo menos até o dia 8 quando o composto 1 é administrado nos dias 1 a 5). Em uma modalidade, os métodos fornecidos neste documento compreendem a administração de suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D pelo menos até 3 dias antes da administração do dia 1 de cada ciclo e continuam até ≥ 3 dias após a última dose do composto 1 em cada ciclo (por exemplo, \geq Dia 8 quando o Composto 1 é administrado nos Dias 1-5, \geq Dia 13 quando o Composto 1 é administrado nos Dias 1-3 e 8-10).

[0647] Em certas modalidades, a suplementação de cálcio é administrada para administrar pelo menos 1200 mg de cálcio elementar por dia, administrados em doses divididas. Em certas modalidades, a suplementação de cálcio é administrada como carbonato de cálcio em uma dose de 500 mg, administrada três vezes por dia por via oral (PO).

[0648] Em certas modalidades, a suplementação de calcitriol é administrada para fornecer 0,25 μg de calcitriol (PO) uma vez ao dia.

[0649] Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 500 IU a cerca de 50.000 IU de vitamina D uma vez por dia. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 1000 UI de vitamina D uma vez por dia. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 50.000 UI de vitamina D semanalmente. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 1000 UI de vitamina D2 ou D3 uma vez por dia. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 500 UI de vitamina D uma vez por dia. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 50.000 UI de vitamina D

semanalmente. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 20.000 UI de vitamina D semanalmente. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 1000 UI de vitamina D2 ou D3 uma vez por dia. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 50.000 UI de vitamina D2 ou D3 semanalmente. Em certas modalidades, a suplementação de vitamina D é administrada para fornecer cerca de 20.000 UI de vitamina D2 ou D3 semanalmente.

[0650] Em certas modalidades, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento e o doxetaxol são administrados a pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas que foram previamente tratados com carbo/VP 16 e radioterapia.

Uso com terapia de transplante

[0651] O composto 1, por exemplo, uma formulação do composto 1 fornecida neste documento, pode ser usado para reduzir o risco de doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD). Portanto, é abrangido neste documento um método de tratamento, prevenção e/ou controle de câncer, que compreende a administrar Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento juntamente com uma terapia de transplante.

[0652] Como sabem aqueles versados na técnica, o tratamento de câncer geralmente é baseado em fases e no mecanismo da doença. Por exemplo, à medida em que a transformação leucêmica se desenvolve em determinadas fases do câncer, o transplante de células-tronco do sangue periférico e a preparação de células-tronco hematopoiéticas ou da medula óssea podem ser necessárias. A utilização combinada do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, e a terapia de

transplante fornece um sinergismo único e inesperado. Em particular, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento apresenta uma atividade imunomoduladora que pode proporcionar efeitos aditivos ou sinérgicos quando administrados concomitantemente com a terapia de transplante em pacientes com câncer.

[0653] O composto 1, por exemplo, uma formulação do composto 1 fornecida neste documento, pode funcionar em combinação com a terapia de transplante, reduzindo as complicações associadas ao procedimento invasivo de transplante e o risco de GVHD. É abrangido neste documento um método de tratamento, prevenção e/ou controle de um câncer que compreende a administração a um paciente (*por exemplo*, um humano) de uma formulação liofilizada do Composto 1 fornecida neste documento antes, durante ou após o transplante de sangue do cordão umbilical, sangue da placenta, células-tronco do sangue periférico, preparação de células-tronco hematopoiéticas ou medula óssea. Alguns exemplos das células-tronco adequadas para utilização nos métodos fornecidos neste documento são divulgados na patente US Nº 7.498.171, cuja divulgação é incorporada neste documento por referência na sua totalidade.

[0654] Numa modalidade, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado a pacientes com leucemia mieloide aguda antes, durante ou após o transplante.

[0655] Em uma modalidade, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado a pacientes com mieloma múltiplo antes, durante ou após o transplante de células progenitoras de sangue periférico autólogo.

[0656] Em uma modalidade, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado a pacientes com NHL

(*por exemplo*, DLBCL) antes, durante ou após o transplante de células progenitoras de sangue periférico autólogo.

Terapia de ciclos

[0657] Em certas modalidades, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado ciclicamente a um paciente independente do câncer tratado. A terapia de ciclos envolve a administração de um agente ativo durante um período de tempo, seguido por um repouso durante um período de tempo e repetindo esta administração sequencial. Terapia de ciclismo pode reduzir o desenvolvimento de resistência a uma ou mais das terapias, evitar ou reduzir os efeitos secundários de uma das terapias e/ou melhorar a eficácia do tratamento.

[0658] Em certas modalidades, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado diariamente em uma dose única ou dividida em um ciclo de quatro a seis semanas com um período de descanso de cerca de uma semana ou duas semanas. Em certas modalidades, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado diariamente em doses únicas ou divididas por um a dez dias consecutivos de um ciclo de 28 dias, depois um período de descanso sem administração durante o restante do Ciclo de 28 dias. Com o método de ciclos, também é possível que a frequência, o número e o comprimento dos ciclos de dosagem sejam aumentados. Assim, abrangida neste documento em certas modalidades está a administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, por mais ciclos do que o normal quando é administrada sozinha. Em certas modalidades, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada por um maior número de ciclos que normalmente levariam a uma toxicidade limitante da dose em um paciente a

quem um segundo ingrediente ativo também não está sendo administrado.

[0659] Em uma modalidade, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrada diariamente e continuamente por três ou quatro semanas para administrar uma dose do Composto 1 de cerca de 0,1 a cerca de 20 mg/d, seguida por uma pausa de um ou duas semanas.

[0660] Em outra modalidade, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrada por via intravenosa e um segundo ingrediente ativo é administrado por via oral, com a administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, ocorrendo 30 a 60 minutos antes de um segundo ingrediente ativo, durante um ciclo de quatro a seis semanas. Em certas modalidades, a combinação do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, e um segundo ingrediente ativo é administrada por infusão intravenosa durante cerca de 90 minutos a cada ciclo. Em certas modalidades, um ciclo compreende a administração de cerca de 0,1 a cerca de 150 mg/dia do composto 1, por exemplo, uma formulação do composto 1 fornecida neste documento e de cerca de 50 a cerca de 200 mg /m²/dia de um segundo ingrediente ativo diariamente por três a quatro semanas e depois uma ou duas semanas de descanso. Em certas modalidades, o número de ciclos durante os quais o tratamento combinatório é administrado a um paciente varia de cerca de um a cerca de 24 ciclos, de cerca de dois a cerca de 16 ciclos ou de cerca de quatro a cerca de três ciclos.

[0661] Em uma modalidade, uma terapia de ciclagem fornecida neste documento compreende a administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, em um ciclo de tratamento que inclui um período de administração de até 5 dias seguido por

um período de descanso. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui um período de administração de 5 dias seguido por um período de descanso. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui um período de administração de até 10 dias seguido por um período de descanso. Numa modalidade, o período de descanso é de cerca de 10 dias a cerca de 40 dias. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui um período de administração de até 10 dias, seguido de um período de descanso de cerca de 10 dias a cerca de 40 dias. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui um período de administração de até 10 dias, seguido de um período de descanso de cerca de 23 dias a cerca de 37 dias. Numa modalidade, o período de descanso é de cerca de 23 dias a cerca de 37 dias. Numa modalidade, o período de descanso é de 23 dias. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui um período de administração de até 10 dias seguido por um período de descanso de 23 dias. Numa modalidade, o período de descanso é de 37 dias. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui um período de administração de até 10 dias seguido por um período de descanso de 37 dias.

[0662] Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em outra modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, nos dias 1 a 10 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração nos dias 1 a 5 de um ciclo de 42 dias. Noutra modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração nos dias 1-10 de um ciclo de 42 dias. Noutra modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração nos dias 1 - 5 e 15 - 19 de um ciclo de 28 dias. Noutra modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração nos dias 1 - 3 e 8 - 10 de um ciclo de 28 dias.

[0663] Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração do Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, nos dias 1 a 21 de um ciclo de 28 dias. Noutra modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração nos dias 1 a 5 de um ciclo de 7 dias. Noutra modalidade, o ciclo de tratamento inclui uma administração nos dias 1 a 7 de um ciclo de 7 dias.

[0664] Qualquer ciclo de tratamento descrito neste documento pode ser repetido por pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ou mais ciclos. Em certos casos, o ciclo de tratamento como descrito neste documento inclui de 1 a cerca de 24 ciclos, de cerca de 2 a cerca de 16 ciclos ou de cerca de 2 a cerca de 4 ciclos. Em certos casos, um ciclo de tratamento como descrito neste documento inclui de 1 a cerca de 4 ciclos. Em certas modalidades, o ciclo 1 a 4 são todos os ciclos de 28 dias. Em certas modalidades, o ciclo 1 é um ciclo de 42 dias e os ciclos 2 a 4 são ciclos de 28 dias. Em algumas modalidades, o Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento, é administrado por 1 a 13 ciclos de 28 dias (por exemplo, cerca de 1 ano). Em certos casos, a terapia de ciclo não se limita ao número de ciclos e a terapia é continuada até a progressão da doença. Os ciclos podem, em certos casos, incluir a variação da duração dos períodos de administração e/ou dos períodos de descanso descritos neste documento.

[0665] Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui a administração do Composto 1 em uma quantidade de dosagem de cerca de 0,3 mg/dia, 0,6 mg/dia, 1,2 mg/dia, 1,8 mg/dia, 2,4 mg/dia, 3,6 mg/dia, 5,4 mg/dia, 7,2 mg/dia, 8,1 mg/dia, 9,0 mg/dia, 10,0 mg/dia, 10,8 mg/dia ou 12,2 mg/dia administrada uma vez por dia. Em uma modalidade, o ciclo de tratamento inclui a administração do Composto 1 em uma quantidade de dosagem de cerca de 0,3 mg/dia, 0,6 mg/dia, 1,2 mg/dia, 1,8 mg/dia, 2,4 mg/dia, 3,6 mg/dia, 5,4 mg/dia, 7,2 mg/dia, 8,1

mg/dia, 9,0 mg/dia, 10,0 mg/dia, 10,8 mg/dia, 12,2 mg/dia ou 20 mg/dia administrada uma vez por dia. Numa modalidade, o ciclo de tratamento inclui a administração do Composto 1 em uma quantidade de dosagem de cerca de 0,6 mg/dia, 1,2 mg/dia, 1,8 mg/dia, 2,4 mg/dia ou 3,6 mg/dia, administrada uma vez por dia. Em algumas dessas modalidades, o ciclo de tratamento inclui a administração do Composto 1 em uma quantidade de dosagem de cerca de 0,6 mg, 1,2 mg, 1,8 mg, 2,4 mg ou 3,6 mg nos dias 1 a 3 de um ciclo de 28 dias. Em outras modalidades, o ciclo de tratamento inclui a administração do Composto 1 em uma quantidade de dosagem de cerca de 0,6 mg, 1,2 mg, 1,8 mg, 2,4 mg ou 3,6 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Em outras modalidades, o ciclo de tratamento inclui a administração do Composto 1 em uma quantidade de dosagem de cerca de 0,6 mg, 1,2 mg, 1,8 mg, 2,4 mg, 3,6 mg, 5,4 mg/dia, 7,2 mg/dia, 8,1 mg/dia, 9,0 mg/dia, ou 10,0 mg/dia, nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias.

[0666] O Composto 1, por exemplo, uma formulação do Composto 1 fornecido neste documento, pode ser administrado na mesma quantidade para todos os períodos de administração em um ciclo de tratamento. Alternativamente, em uma modalidade, o composto é administrado em doses diferentes nos períodos de administração.

[0667] Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a um indivíduo em um ciclo, em que o ciclo compreende administrar a formulação por pelo menos 5 dias em um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a um indivíduo em um ciclo, em que o ciclo compreende administrar a formulação nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, a formulação é administrada para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28

dias. Numa modalidade, a formulação é administrada para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, a formulação é administrada para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 10 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento é administrada a um indivíduo em um ciclo, em que o ciclo compreende administrar a formulação nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, a formulação é administrada para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, a formulação é administrada para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Numa modalidade, a formulação é administrada para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 10 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias.

[0668] Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg por pelo menos 5 dias em um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo

compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em outra modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de AML por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias.

[0669] Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em

uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg por pelo menos 5 dias em um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em outra modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 de um ciclo de 28 dias. Em outra modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 20 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias. Em uma modalidade, é fornecido neste documento um método de

tratamento de MDS por administração a um indivíduo de uma formulação do Composto 1 fornecida neste documento em um ciclo, em que o ciclo compreende a administração da formulação para fornecer o Composto 1 em uma dose de cerca de 0,5 mg a cerca de 5 mg nos dias 1 a 5 e 15 a 19 de um ciclo de 28 dias.

População de Pacientes

[0670] Em certas modalidades dos métodos fornecidos neste documento, o indivíduo é um animal, preferencialmente um mamífero, mais preferencialmente um primata não humano. Em modalidades específicas, o indivíduo é um ser humano. O indivíduo pode ser um indivíduo do sexo masculino ou do sexo feminino.

[0671] Indivíduos particularmente úteis para os métodos fornecidos neste documento incluem os pacientes com câncer humano, por exemplo, aqueles que foram diagnosticados com leucemia, incluindo a leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide crônica e leucemia mieloide crônica. Em certas modalidades, o indivíduo não foi diagnosticado com leucemia promielocítica aguda.

[0672] Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão superior à normal. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão de pelo menos 10%. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão entre 10 e 15%. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão de pelo menos 15%. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão de entre 15 e 20%. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão de pelo menos 20%. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão de cerca de 10-15%, cerca de 15-20% ou cerca de 20-25%. Em outras modalidades, o indivíduo tem uma população de explosão inferior a 10%. No

contexto dos processos descritos neste documento, os indivíduos úteis com uma população explosão de menos do que 10% incluem aqueles indivíduos que, por qualquer motivo, de acordo com o julgamento do praticante versado na técnica, estão em necessidade de tratamento com um composto fornecido neste documento, isoladamente ou em combinação com um segundo agente ativo.

[0673] Em algumas modalidades, o indivíduo é tratado com base na pontuação de status de desempenho do Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) do indivíduo quanto a leucemia. O status de desempenho do ECOG pode ser pontuado em uma escala de 0 a 5, sendo 0 assintomático; 1 denotando sintomático mas completamente ambulante; 2 denotando sintomático e <50 % na cama durante o dia; 3 denotando sintomático e > 50% de cama, mas não de cama; 4 denotando de cama; e 5 denotando morte. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma pontuação de desempenho de ECOG de 0 ou 1. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma pontuação de desempenho de ECOG de 0. Em algumas modalidades, o indivíduo tem uma pontuação de desempenho de ECOG de 1. Em outras modalidades, o indivíduo tem uma pontuação de desempenho de ECOG de 2.

[0674] Em certas modalidades, os métodos fornecidos neste documento abrangem o tratamento de indivíduos que não tenham sido previamente tratados para leucemia. Em algumas modalidades, o indivíduo não foi submetido a transplante de medula óssea alogênica. Em algumas modalidades, o indivíduo não foi submetido a um transplante de células-tronco. Em algumas modalidades, o indivíduo ainda não recebeu tratamento hidroxureia. Em algumas modalidades, o indivíduo não foi tratado com nenhum produto experimental para leucemia. Em algumas modalidades, o indivíduo não foi tratado com glicocorticoides sistêmicos.

[0675] Em outras modalidades, os métodos abrangem o tratamento de

indivíduos que tenham sido previamente tratados ou que estão sendo tratados para leucemia. Por exemplo, o indivíduo pode ter sido previamente tratado ou estar sendo tratado com um regime de tratamento padrão para leucemia. O indivíduo pode ter sido tratado com um regime de tratamento de leucemia padrão conhecido pelos médicos versados na técnica. Em certas modalidades, o indivíduo foi previamente tratado com pelo menos uma indução/reindução ou regime de consolidação de AML. Em algumas modalidades, o indivíduo foi submetido a transplante de medula óssea autólogo, ou transplante de células-tronco, como parte de um regime de consolidação. Em algumas modalidades, a medula óssea ou transplante de células-tronco ocorreu pelo menos 3 meses antes do tratamento de acordo com os métodos fornecidos neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo foi submetido ao tratamento de hidroxiureia. Em algumas modalidades, o tratamento de hidroxiureia ocorreu no prazo de 24 horas antes do tratamento de acordo com os métodos fornecidos neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo foi submetido a uma indução prévia ou a uma terapia de consolidação com citarabina (Ara-C). Em algumas modalidades, o indivíduo foi submetido a um tratamento com glicocorticosteroides sistêmicos. Em algumas modalidades, o tratamento com glicocorticosteroides ocorreu no prazo de 24 horas depois do tratamento, de acordo com os métodos descritos neste documento. Em outras modalidades, os métodos englobam o tratamento de indivíduos que tenham sido previamente tratados para o câncer, mas não respondem às terapias convencionais.

[0676] Também são abrangidos os métodos de tratamento de indivíduos tendo recaída ou leucemia refratária. Em algumas modalidades, o indivíduo foi diagnosticado com um subtipo de AML recidivo ou refratário, tal como definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). A doença recidiva ou refratária pode ser AML de novo ou AML secundária, *por exemplo*, AML relacionada com a

terapia (t-AML).

[0677] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento são usados para tratar leucemia, caracterizada pela presença de um alelo mutante de IDH2. Numa modalidade, o alelo mutante de IDH2 é IDH2 R140Q ou R172K.

[0678] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento são usados para tratar a AML, caracterizada pela presença de um alelo mutante do IDH2. Numa modalidade, o alelo mutante de IDH2 é IDH2 R140Q ou R172K.

[0679] Assim, o tratamento com um composto fornecido neste documento pode proporcionar uma alternativa aos pacientes que não respondem a outros métodos de tratamento. Em algumas modalidades, quaisquer outros métodos de tratamento compreendem o tratamento com Gleevec® (mesilato de imatinib). Em algumas modalidades, são fornecidos neste documento métodos de tratamento da leucemia mieloide crônica positiva do cromossoma Filadélfia (Ph + LMC). Em algumas modalidades, são fornecidos neste documento métodos de tratamento de leucemia mieloide crônica positiva do cromossomo Filadélfia (Ph + CML) resistente a Gleevec® (mesilato de imatinib).

[0680] Em algumas modalidades, os métodos fornecidos neste documento são utilizados para tratar leucemias resistentes a fármacos, como a LMC. Assim, o tratamento com um composto fornecido neste documento pode proporcionar uma alternativa aos pacientes que não respondem a outros métodos de tratamento. Em algumas modalidades, quaisquer outros métodos de tratamento compreendem o tratamento com Gleevec® (mesilato de imatinib). Em algumas modalidades, são fornecidos neste documento métodos de tratamento de Ph + CML. Em algumas modalidades, são fornecidos neste documento métodos de tratamento de CML Ph + resistente a Gleevec® (mesilato de imatinibe).

[0681] Também estão abrangidos métodos de tratamento de um indivíduo,

independentemente da idade do indivíduo, embora algumas doenças ou distúrbios sejam mais comuns em determinados grupos etários. Em algumas modalidades, o indivíduo tem pelo menos 18 anos de idade. Em algumas modalidades, o indivíduo tem mais do que 18, 25, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 ou 70 anos de idade. Em outras modalidades, o indivíduo tem menos do que 65 anos de idade. Em algumas modalidades, o indivíduo tem menos de 18 anos de idade. Em algumas modalidades, o indivíduo tem menos de 18, 15, 12, 10, 9, 8 ou 7 anos de idade.

[0682] Em algumas modalidades, os métodos podem encontrar utilização em indivíduos de pelo menos 50 anos de idade, embora indivíduos mais jovens também possam se beneficiar do método. Em outras modalidades, os indivíduos têm pelo menos 55, pelo menos 60, pelo menos 65 e pelo menos 70 anos de idade. Em outra modalidade, o indivíduo tem um câncer com citogenética adversa. "Citogenética adversa" é definida como qualquer cariótipo não diploide ou com mais do que ou exatamente 3 anomalias cromossômicas. Em outra modalidade, os indivíduos têm pelo menos 60 anos de idade e têm um câncer com citogenética adversa. Em outra modalidade, os indivíduos têm 60-65 anos de idade e têm um câncer com citogenética adversa. Em outra modalidade, os indivíduos têm 65-70 anos de idade e têm um câncer com citogenética adversa.

[0683] Em certas modalidades, o indivíduo tratado não tem histórico de enfarte do miocárdio no prazo de três meses de tratamento, de acordo com os métodos fornecidos neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo não tem um histórico de acidente vascular cerebral ou acidente isquêmico transitório no prazo de três meses de tratamento, de acordo com os métodos fornecidos neste documento. Em algumas modalidades, o indivíduo não sofreu nenhum evento tromboembólico, incluindo trombose venosa profunda ou êmbolo pulmonar, no prazo de 28 dias de tratamento, de acordo com os

métodos fornecidos neste documento. Em outras modalidades, o indivíduo não experimentou ou não está experimentando coagulação intravascular disseminada descontrolada.

[0684] Visto que os indivíduos com câncer têm manifestações clínicas heterogêneas e resultados clínicos diferentes, o tratamento dado a um paciente pode variar, dependendo de sua/seu prognóstico. O médico experimentado será capaz de determinar prontamente, sem experimentação indevida os agentes específicos secundários, os tipos de cirurgia e os tipos de terapia padrão não baseados em fármacos que podem ser eficazmente usados para o tratamento de um indivíduo específico com câncer.

[0685] Será apreciado que todas as combinações adequadas dos compostos fornecidas neste documento com um ou mais dos compostos supramencionados e opcionalmente uma ou mais substâncias farmacologicamente ativas serão contempladas neste documento.

Avaliação da atividade

[0686] Os procedimentos fisiológicos, farmacológicos e bioquímicos padronizados estão disponíveis para testar os compostos para identificar aqueles que possuem a atividade desejada.

[0687] Tais ensaios incluem, por exemplo, ensaios baseados em células, incluindo o ensaio descrito na seção Exemplo.

[0688] As modalidades fornecidas neste documento podem ser mais completamente compreendidas por referência aos exemplos a seguir. Estes exemplos destinam-se a ser ilustrativos quanto a composições farmacêuticas e formas de dosagem fornecidas neste documento, mas de forma alguma são limitativos.

EXEMPLOS

[0689] Os seguintes Exemplos são apresentados a título ilustrativo, não

limitativo. As abreviaturas a seguir são usadas em descrições e exemplos.

SWFI - Água Esterilizada para Injeção

WFI - Água para injeção

D5W - Dextrose a 5% em Água

HPCD β ou HPBCD - Hidroxipropil-beta-ciclodextrina

SBE β CD - Sal sódico de sulfobutiléter- β -ciclodextrina

CD - ciclodextrina

DMSO - dimetilsulfóxido

FDM - Microscópio de liofilização

SEM - Microscópio eletrônico de varredura

LT-DSC - Calorimetria de varredura diferencial de baixa temperatura

DSC - Calorimetria diferencial de varredura

DVS - Sorção dinâmica de vapor

TGA - Análise termogravimétrica

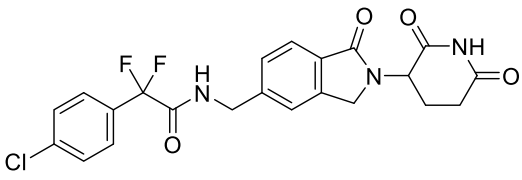
GC - Cromatografia gasosa

KF - Karl Fisher

[0690] "Composto 1, Forma C", "Forma C" ou "API", nos Exemplos neste documento, referem-se ao polimorfo Forma C de 2-(4-Clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

"Composto 1, Forma A" ou "Forma A" nos Exemplos neste documento refere-se à forma polimórfica A de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. As propriedades físicas e químicas de 2-(4-Clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxo-2-isoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida encontram-se resumidas na Tabela 1.

Tabela 1: Resumo das propriedades físicas e químicas de 2-(4-Clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

Estrutura	
Fórmula Molecular	C ₂₂ H ₁₈ ClF ₂ N ₃ O ₄
Peso Molecular	461,85
Log D	cLogP = 2,18 (Log D não medido devido à solubilidade)
pKa	cpKa = 10,66 (não medido devido à baixa estabilidade acima de pH 7)
Ponto de fusão	234°C (Forma C)
Aparência	Pó branco
Solubilidade	Praticamente insolúvel em água ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$ na faixa de pH de 1-8)
Estabilidade em estado sólido	O DS é fisicamente estável sob todas as condições de armazenamento.
Estabilidade da Solução	DS não é estável em solução a um pH igual ou superior a 5,0. A hidrólise é a principal via de degradação.
Higroscopicidade	Não higroscópico
Forma farmacêutica	Cristalino; Anidro; cinco formas polimórficas

Exemplo 1: Seleção de solvente

[0691] Foi realizada uma triagem de solvente para identificar solventes de Classe 3 adequados listados na Orientação Q3C da ICH (Conferência Internacional sobre Harmonização), pois os solventes de Classe 3 têm um nível de exposição diária permitida (PDE) mais alto de 50 mg/dia. Um bom candidato a solvente foi considerado como tendo 1) boa miscibilidade com água e 2) ponto de ebulição suficientemente baixo para que possa ser facilmente removido durante o processo de liofilização. A solubilidade do Composto 1 foi testada em

uma série de misturas de solventes com tampão citrato a 20 mM, pH 4,2; os resultados são mostrados na tabela 2.

Tabela 2: Solubilidade do composto 1 em misturas de solventes e tampões

Veículo	t = solubilidade de 24 horas (mg/mL)
20% de acetona: 80% de tampão citrato	0,015
40% de acetona: 60% de tampão citrato	0,19
60% de acetona: 40% de tampão citrato	1,48
80% de acetona: 20% de tampão citrato	4,82
100% de acetona	1,69
20% de ácido acético: 80% de tampão citrato	0,020
40% de ácido acético: 60% de tampão citrato	0,25
60% de ácido acético: 40% de tampão citrato	1,67
80% de ácido acético: 20% de tampão citrato	6,13
100% de ácido acético	4,09
20% de 2-propanol: 80% de tampão citrato	0,018
40% de 2-propanol: 60% de tampão citrato	0,25
60% de 2-propanol: 40% de tampão citrato	0,61
80% de 2-propanol: 20% de tampão citrato	0,79
2-propanol a 100%	0,13
20% de 1-propanol: 80% de tampão citrato	0,016
40% de 1-propanol: 60% de tampão citrato	0,24
60% de 1-propanol: 40% de tampão citrato	0,61
80% de 1-propanol: 20% de tampão citrato	0,82
100% de 1-propanol	0,13
20% de ácido fórmico: 80% de tampão citrato	0,024
40% de ácido fórmico: 60% de tampão citrato	0,22
60% de ácido fórmico: 40% de tampão citrato	2,10
80% de ácido fórmico: 20% de tampão citrato	19,18
100% de Ácido fórmico	165
100% de DMSO	330

[0692] Verificou-se que a solubilidade do fármaco na maioria dos sistemas de solventes testados é inferior a 10 mg/mL, exceto no ácido fórmico a 100% ou DMSO a 100%, que fornecem uma solubilidade do fármaco acima de 100 mg/mL. O objetivo era alcançar uma alta solubilidade no solvente, de modo que uma pequena quantidade de solvente fosse usada durante o processamento (e, portanto, é necessária uma remoção limitada do solvente). Portanto, o ácido fórmico e o DMSO foram identificados como dois solventes de chumbo para posterior desenvolvimento da formulação.

[0693] Um teste de solubilidade subsequente foi realizado nas misturas de ácido fórmico/DMSO de diferentes razões para avaliar se havia alguma sinergia através do uso de dois solventes.

Tabela 3: Solubilidade do composto 1 em misturas de ácido fórmico e DMSO

Veículo	t = solubilidade de 1 hora (mg/mL)	t = solubilidade de 1 dia (mg/mL)	t = solubilidade de 2 dias (mg/mL)
100% FA	143,5	158,6	156,3
80:20 FA:DMSO	48,6	39,4	43,9
60:40 FA:DMSO	26,1	14,5	14,2
40:60 FA:DMSO	21,6	11,6	10,8
20:80 FA:DMSO	92,8	75,6	71,2
100% DMSO	330,0	330,0	330,0

[0694] Como mostrado na Tabela 3, as solubilidades de todas as misturas de ácido fórmico/DMSO eram muito mais baixas do que as do solvente isoladamente. Portanto, foi decidido que a pré-mistura API deveria ser preparada apenas com ácido fórmico ou DMSO.

Exemplo 2: Seleção do solubilizante

[0695] As ciclodextrinas (CD) são os agentes complexantes mais comumente usados para aumentar a solubilidade aquosa de compostos de fármaco pouco solúveis em água. Entre todos os derivados da ciclodextrina,

apenas hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) e éter sulfobutil-beta-ciclodextrina (SBE β CD) foram utilizados em produtos parenterais aprovados. Conseqüentemente, apenas esses dois tipos de ciclodextrina foram avaliados neste estudo.

[0696] Como primeiro passo, a solubilidade do fármaco em soluções aquosas em função da concentração de HP β CD (Kleptose® da Roquette) ou SBE β CD (Dexolve® da Cyclolab) foi medida à temperatura ambiente pelo período de 1, 2 e 6 dias. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Solubilidade do Composto 1 em solução aquosa contendo Dexolve ou Kleptose

CD Conc. (% p/p)	t = solubilidade de 1 dia ($\mu\text{g/ml}$)		t = solubilidade de 2 dias ($\mu\text{g/ml}$)		t = solubilidade de 6 dias ($\mu\text{g/ml}$)	
	Dexolve	Kleptose	Dexolve	Kleptose	Dexolve	Kleptose
1.0	2,0	3,6	1,8	2,0	0,6	0,9
2.5	7,7	9,6	7,8	7,6	3,8	5,3
5.0	17,6	28,5	17,2	17,1	11,9	11,9
10.0	43,0	46,6	41,2	40,6	33,9	32,9
20.0	90,0	102,1	87,9	96,4	91,6	110,0
40.0	283,0	324,1	327,2	351,0	303,7	362,5
60.0	397,0	418,5	401,9	448,7	526,1	719,8

[0697] Em geral, a solubilidade do Composto 1 em ambos os tipos de CDs foi comparável. A solubilidade do Composto 1 aumentou à medida que a concentração de CD aumentou. Quando a concentração de CD de 40% ou mais foi usada, a solução tornou-se muito viscosa, o que provavelmente impediu a solubilidade cinética do fármaco na solução. Geralmente é difícil liofilizar uma solução contendo > 25% de CD. Portanto, os estudos de solubilidade subsequentes foram conduzidos em quatro níveis de concentração de CD: 3, 9, 15 e 25% p/p. Além de Kleptose® e Dexolve®, foram avaliadas duas outras

marcas de CD disponíveis comercialmente, a Captisol® da Ligand (SBE β CD) e uma versão genérica de HP® CD fornecida pela Acros Organics. O impacto do tipo e nível de solvente na solubilidade do fármaco também foi avaliado neste estudo. Adicionou-se ácido fórmico ou DMSO em várias razões molares de solvente para CD à solução (0,4: 1, 1: 1, 2,5: 1, 5: 1 e 10: 1). Os dados de solubilidade às 24 e 48 horas foram coletados; períodos mais longos não foram considerados devido ao risco de estabilidade química do fármaco. Por conseguinte, apenas dados de 48 horas são apresentados aqui. A FIG. 30 mostra a solubilidade do composto 1 com diferentes marcas e concentrações de ciclodextrina, diferentes tipos de solvente e razões variadas de solvente para ciclodextrina. Verificou-se que a solubilidade do Composto 1 é afetada predominantemente pela concentração de CD na solução, enquanto o tipo e a marca de CD tiveram um impacto mínimo na solubilidade. No que diz respeito ao tipo de solvente, o Composto 1 mostrou uma solubilidade ligeiramente superior quando ácido fórmico, em vez de DMSO, foi adicionado à solução de ciclodextrina. Tanto para o ácido fórmico quanto para o DMSO, houve um ligeiro aumento na solubilidade do fármaco com o aumento da razão solvente/ciclodextrina. O efeito do solvente na solubilidade do fármaco foi mínimo em oposição ao efeito da concentração de CD.

Exemplo 3: Seleção de Tampão

[0698] O pH da solução do fármaco após a administração por via IV é geralmente preferido entre 4 e 7 e entre 5 e 7. Uma variedade de sistemas de tampão farmacologicamente aceitáveis, incluindo acetato, benzoato, citrato, lactato e tartarato, foram ainda considerados em relação à sua capacidade tampão e seu impacto na solubilidade do fármaco. Como os tampões de acetato podem ser sublimados durante o processo de liofilização e resultar em uma mudança de pH, esse tampão foi subsequentemente removido da avaliação.

[0699] Para avaliar tampões alternativos, uma série de soluções de fármacos foi preparada com Kleptose a 3% ou 20%. Adicionou-se ácido fórmico ou DMSO à solução a aproximadamente 0,1% p/p correspondente à sua concentração de pré-mistura API. Como uma força tampão superior a 50 mM pode causar irritação ao paciente, o benzoato, citrato, lactato e tartarato foram avaliados em várias forças tampão que variam de 2 a 20 mM. Também foram adicionados à solução 20 mM de citrato, tartarato, benzoato ou tampão de lactato com um pH inicial de 4,2 ou 4,7. O pH final e a solubilidade de cada solução foram medidos posteriormente. Os resultados são mostrados na Tabela 5 e Tabela 6.

Tabela 5: Valores de pH de soluções contendo Kleptose, solvente e diferentes tampões

Força (mM)	Tampão	pH	Kleptose a 3%, FA	Kleptose a 3%, DMSO	Kleptose a 20%, FA	Kleptose a 20%, DMSO
20	Citrato	4,2	3,6	4,3	3,7	4,5
20	Citrato	4,7	4,0	4,8	4,1	5,0
10	Tartarato	4,2	3,8	4,1	3,9	4,3
20	Benzoato	4,2	3,9	4,6	3,8	5,4
20	Benzoato	4,7	4,0	5,5	3,9	5,9
20	Lactato	4,2	3,5	4,2	3,6	4,4
20	Lactato	4,7	3,6	4,8	3,8	4,9
Água			2,7	7,4	2,8	7,3

Tabela 6: Solubilidade do Composto 1 em soluções contendo Kleptose, solvente e diferentes tampões

Força (mM)	Tampão	pH	Kleptose a 3%, FA (µg/mL)	Kleptose a 3%, DMSO (µg/mL)	Kleptose a 20%, FA (µg/mL)	Kleptose a 20%, DMSO (µg/mL)
20	Citrato	4,2	8,4	8,9	84,9	83,4
20	Citrato	4,7	9,5	9,1	77,0	90,0

10	Tartarato	4,2	10,9	9,7	79,8	82,5
20	Benzoato	4,2	2,1	2,6	58,9	62,0
20	Benzoato	4,7	3,8	6,7	72,2	67,4
20	Lactato	4,2	9,6	9,8	75,9	89,9
20	Lactato	4,7	9,7	10,0	87,3	88,1
Água			10,8	8,5	99,0	76,6

[0700] Observou-se que no mesmo nível de Kleptose, independentemente do tipo de solvente, todas as soluções tamponadas tinham solubilidade comparável, exceto a solução de benzoato que exibia uma solubilidade muito menor. Além disso, na presença de ácido fórmico, a solubilidade do fármaco nas soluções tamponadas era ligeiramente menor que a da solução não tamponada. Por outro lado, a solubilidade das soluções tamponadas na presença de DMSO era ligeiramente superior à das não tamponadas. Isto implica que diferentes tipos de sal tampão podem ter interações moleculares diferentes com as moléculas de solvente, o que pode conseqüentemente impactar a complexação de fármaco nas cavidades de CD. As soluções contendo DMSO exibiram um pH bem mantido em 4,2 ou 4,7 com todos os tampões testados, exceto o benzoato. No entanto, todas as soluções testadas contendo ácido fórmico apresentaram pH abaixo de 4, independentemente do tipo de tampão e pH inicial. A fim de manter o pH final da solução padrão acima de 4 na presença de ácido fórmico, é provável que seja necessário um pH de tampão superior a 4,7 para suportar a alteração no pH. Como um tampão oferece a melhor capacidade de tampão quando o pH é próximo ou igual ao seu pKa e, como o benzoato, o lactato e o tartarato têm pKas de 4,2, 3,86 e 4,4, respectivamente, estes foram considerados muito improváveis de suportar pHs maiores que 4. Como resultado, os tampões benzoato, lactato e tartarato foram tirados de consideração. O citrato possui três pKas, 3,13, 4,76 e 6,39, produzindo uma boa capacidade de tamponamento com altos valores de pH. Portanto, o tampão

citrato foi selecionado no desenvolvimento adicional da formulação.

[0701] No estudo subsequente, o Dexolve a 10% foi dissolvido em tampões de citrato de vários pHs e potências, juntamente com uma quantidade de ácido fórmico equivalente a uma concentração de pré-mistura API de 150 mg/mL. A FIG. 31 mostra o pH da solução final em função da força do tampão citrato variando de 2 a 20 mM e do pH do tampão inicial variando de 4,2 a 5,3. O pH da solução aumentou com o pH da solução tamponada e a força conforme o esperado. Quando foi utilizado um tampão citrato a 20 mM a pH 5,3, o pH da solução foi capaz de manter um pH final de 4,3 após a adição do ácido fórmico. Como resultado, quando o ácido fórmico foi usado como solvente, foi recomendado adicionar à formulação um tampão citrato a 20 mM a pH 5,3 para manter o pH da solução reconstituída acima de 4.

Exemplo 4: Análise Térmica de Formulações de Liofilização

[0702] Neste estudo, uma série de análises térmicas foi conduzida com o microscópio de liofilização (FDM) e a calorimetria de varredura diferencial de baixa temperatura (LT-DSC) para determinar a temperatura de colapso e o Tg' das várias formulações de solução padrão contendo diferentes tipos de CD, concentrações de CD, tipos de solvente, concentrações de solvente e forças de tampão. Em geral, o tempo do ciclo de liofilização é reduzido e uma boa estabilidade do bolo durante a liofilização é obtida à medida que Tg' e a temperatura de colapso do sistema de formulação aumenta.

[0703] A Tabela 7 resume os resultados da caracterização térmica obtidos como parte deste estudo, juntamente com formulações exemplares divulgadas na Publicação US Nº 2017-0196847.

Tabela 7: Temperatura de colapso de formulações à base de ciclodextrina

Tipo de CD	% de CD	Tipo de Solvente	% De solvente (V/V)	Força do tampão citrato (mM)	PH alvo do tampão	Temp de colapso (°C)	Tg' (°C)	Concentração de pré-mistura API
Kleptose	25		0	2	4,2	-8,4	-8,9	
Kleptose	15		0	2	4,2	-8,6	-9	
Kleptose	9		0	2	4,2	-10,2	-10,6	
Kleptose	3		0	2	4,2	-14,7	-15,2	
Kleptose	10		0	2	4,2	-7,7	-8,2	
Kleptose	10		0	5	4,2	-8,7	-9,4	
Kleptose	10		0	10	4,2	-9,6	-10,1	
Kleptose	10		0	20	4,2	-10,7	-11,5	
Kleptose	10	DMSO	0,06	20	4,2	-10,7	-12,1	220 mg/mL
Kleptose	10	DMSO	0,07	20	4,2	-8,4	-9	170 mg/mL
Dexolve	10	DMSO	0,06	20	4,2	-23,2	-24,1	220 mg/mL
Kleptose	10	Ácido Fórmico	0,08	20	4,7	-8,2	-8,9	150 mg/mL
Kleptose	10	Ácido Fórmico	0,125	20	4,7	-11,1	-12,2	100 mg/mL
Dexolve	10	Ácido Fórmico	0,08	20	4,7	-22,9	-23,4	150 mg/mL
Captisol	3	DMA	0,17	20	4,2	-30	-36,6	75 mg/mL
Kleptose	3	DMA	0,1	20	4,2	-18	-20,4	120 mg/mL
Captisol	3		0	0		-26,5	-25,5	
Kleptose	3		0	0		-6,6	-9,6	

[0704] As últimas quatro formulações divulgadas na Tabela 7 estão descritas na Publicação US N° US 2017-0196847.

[0705] Como mostrado na Tabela 7, Tg's de todas as formulações testadas medidas por LT-DSC estavam muito próximas de suas temperaturas de colapso determinadas por FDM. Em geral, as Tg's foram de 1-2°C mais baixas do que as correspondentes temperaturas de colapso. A temperatura de colapso aumentou de -14,7°C para -8,6°C com o aumento da concentração de Kleptose de 3% para 15% e depois permaneceu inalterada quando a concentração de Kleptose aumentou de 15% para 25%. No mesmo nível de Kleptose de 10%, a temperatura de colapso diminuiu de -7,7°C para -10,7°C com o aumento da força do tampão de 2 mM para 20 mM. O tipo de solvente e o nível de solvente mostraram um

impacto mínimo na temperatura de colapso, sem tendências óbvias observadas. O tipo de ciclodextrina acabou sendo a variável que teve o impacto mais significativo na temperatura de colapso, com as β formulações SBECD (Captisol[®] ou Dexolve[®]) exibindo as temperaturas de colapso mais baixas do que suas contrapartes de HP β CD (Kleptose[®]). Em comparação com a formulação divulgada na publicação US 2017-0196847, que tem uma temperatura de colapso de -18°C, as formulações divulgadas neste documento, que continham 10% de Kleptose, apresentaram uma temperatura de colapso mais alta de -8,2°C a -11,1°C. Isto indicou que o ciclo de liofilização que tem uma temperatura de prateleira de secagem primária de -16°C é muito conservador para as formulações divulgadas neste documento. No entanto, o mesmo ciclo de liofilização foi usado como ponto de partida para minimizar os riscos relacionados ao processamento, com a opção de modificá-lo ainda mais, conforme necessário.

Exemplo 5: Formulação e Avaliação de Processo da Formulação Ia

[0706] Um lote em escala de laboratório foi preparado com tamanho de lote de 3 kg, com a composição da formulação mostrada na Tabela 8.

Tabela 8: Composição da formulação do lote experimental de 3 kg

Material	Composição (mg/mL)	Composição (mg/frasco) ^b
Composto 1	0,125	1,05
Kleptose HPB	30	252,00
Ácido Cítrico Anidro	2,21	18,56
Citrato de Sódio anidro	2,19	18,40
DMSO	1,02 ^a	8,56 ^a
Água Purificada	qs a 1000	Removido na secagem
Comentário	Equivalente a 220 mg/mL de pré-mistura API	

a: removido após secagem; b: com transbordamento de 5% (volume de

enchimento de 8,4 mL/frasco)

[0707] O composto 1 foi preparado primeiro na pré-mistura de DMSO a 220 mg/mL e depois adicionado gota a gota à solução de Kleptose tamponada. Após a conclusão da composição, a solução foi filtrada através de um filtro PVDF de 0,22 µm e enchida em frascos de vidro Tipo I de 20 cc com um peso de enchimento de 8,4 g/frasco e, em seguida, carregada no liofilizador sob os parâmetros do ciclo do ciclo de liofilização mostrados na Tabela 9.

[0708] As amostras foram retiradas após a secagem primária e durante a secagem secundária para entender o nível de solvente em função do tempo de secagem. Os resultados analíticos do fármaco pronto são mostrados na Tabela 10. O nível residual de DMSO foi de cerca de 6 mg/frasco após 24 horas de secagem secundária a 67°C, totalizando aproximadamente 29% de remoção (nível inicial: ~ 8,6 mg/mL). Observou-se que a maior parte da remoção do solvente ocorreu durante a secagem primária, com uma redução mínima no nível do solvente durante a secagem secundária. A aparência dos bolos liofilizados e as soluções reconstituídas foram observadas e consideradas aceitáveis.

Tabela 9: Parâmetros do ciclo de liofilização

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/ congelamento do produto	5	2		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-50	3		
			30	
Secagem primária	-16	70		140 micrones
			30	140 micrones

Secagem secundária	67	24		140 micrones
Vedação	25			14,7 PSIA

Tabela 10: Caracterização dos medicamentos do lote experimental

Ensaio (% de LC)	Impurezas Relacionadas	DMSO residual	Conteúdo de umidade	Tempo de Recon	Aparência de Recon	pH
96,6	ND	6,36 mg/frasco (após a conclusão de PD); 6,44 mg/frasco (após 6 horas de SD); 6,05 mg/frasco (após 24 horas de SD)	0,15%	<1 min (com 2 mL de WFI)	Solução clara e incolor	4,1

Nota: PD = secagem primária; SD = secagem secundária

[0709] Observou-se que o ensaio do bolo liofilizado estava na extremidade inferior, com o valor real de ensaio de 91,9%, levando em consideração o excesso de 5%. Com um solvente residual de ~ 6 mg/mL, esta formulação pode potencialmente suportar uma dose de até 8 mg/dia (como descrito anteriormente, o nível de PDE para DMSO é de 50 mg/dia).

[0710] Com base nos resultados do estudo acima, alguns lotes experimentais adicionais da mesma formulação foram preparados em escala de laboratório de 1 kg para composição apenas para avaliar os riscos potenciais de precipitação de fármaco. As informações da formulação e os resultados do ensaio são mostrados na Tabela 11. Os três primeiros lotes experimentais não foram bem-sucedidos com o ensaio baixo no início e o ensaio decrescente ao longo do tempo dentro de 8 horas após o armazenamento em condições ambientais. As partículas precipitadas do fármaco foram observadas

visualmente no fundo do recipiente após 4 horas de armazenamento. Nos três lotes experimentais subsequentes, o processo de composição foi modificado com a quantidade reduzida de carga inicial de água, o volume de distribuição reduzido da pré-mistura API e a mistura moderada durante a adição da pré-mistura API. Como resultado, os ensaios iniciais dos três últimos lotes foram bastante aprimorados. No entanto, foi observada uma queda significativa no ensaio após 19 horas de armazenamento em condições ambientais para os três lotes. Coletivamente, os dados indicaram que a formulação não é fisicamente estável e o risco de precipitação de fármaco é bastante alto. Portanto, a formulação de "troca de solvente" usando nível de CD de 3% não foi considerada para avaliação posterior.

Tabela 11: Avaliação da estabilidade da solução padrão da formulação 'swap de solvente' (CD a 3% e API de 135 mg/mL em DMSO)

Amostra	Processo de composição	Ensaio t = 0 (% do alvo)	Ensaio t = 4 h (% do alvo)	Ensaio t = 8 h (% do alvo)
1-A	96% de carga inicial de água; Adição de 50 µL de pré-mistura API; Mistura de 500 rpm	84,3	78,4	68,6
2-A1	96% de carga inicial de água; Adição de 25 µL de pré-mistura API; Mistura de 900 rpm	Topo: 88,3 Fundo: 89,7	Topo: 81,6 Fundo: 84,7	Topo: 72,3 Fundo: 73,9

Amostra	Processo de composição	Ensaio t = 0 (% do alvo)	Ensaio t = 4 h (% do alvo)	Ensaio t = 8 h (% do alvo)
2-A2	96% de carga inicial de água; Adição de 25 µL de pré-mistura API; Mistura de 900 rpm	Topo: 89,2 Fundo: 89,8	Topo: 85,0 Fundo: 82,3	Topo: 75,2 Fundo: 71,0
3-A1	50% de carga inicial de água; Adição de 25 µL de pré-mistura API; Mistura de 500 rpm	Topo: 98,6 Fundo: 98,9	Não Testado	Topo*: 70,8 Fundo*: 72,5
3-A2	80% de carga inicial de água; Adição de 25 µL de pré-mistura API; Mistura de 750 rpm	Topo: 99,8 Fundo: 99,9	Não Testado	Topo*: 75,0 Fundo*: 64,7
3-A3	96% de carga inicial de água; Adição de 25 µL de pré-mistura API; Mistura de 600 rpm	Topo: 99,4 Fundo: 98,3	Não Testado	Topo*: 64,0 Fundo*: 73,6

*: os dados foram recebidos para T = ponto de tempo de 19 horas

[0711] Os três lotes experimentais de 1 kg a seguir (1-B, 1-C e 1-D) aumentaram o nível de Kleptose para 10-20% com base no estudo de solubilidade anterior. As composições de formulação de cada solução padrão são descritas na Tabela 12. Com a concentração de fármaco e as composições de

tampão sendo constantes, as únicas variáveis das três formulações foram o nível de Kleptose e a carga inicial de DMSO correspondente à concentração de pré-mistura API. Os parâmetros do ciclo de liofilização são mostrados na Tabela 13; foi utilizada uma temperatura de secagem secundária mais baixa de 50°C.

Tabela 12: Composições de formulação de lotes experimentais de 1 kg

Lote Nº	1-B (mg/frasco) ^a	1-C (mg/frasco) ^a	1-D (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,05	1,05	1,05
Kleptose HPB	840	840	1680
Ácido Cítrico Anidro	18,56	18,56	18,56
Citrato de Sódio anidro	18,40	18,40	18,40
DMSO	6,80 mg/frasco ^b	5,25 mg/frasco ^b	5,25 mg/frasco ^b
Água Purificada	Removido na secagem	Removido na secagem	Removido na secagem
Comentário	Equivalente a 170 mg/mL de pré-mistura	Equivalente a 220 mg/mL de pré-mistura	Equivalente a 220 mg/mL de pré-mistura

a: enchimento excessivo de 5%; b: Removido após a secagem. Os números na tabela representam o teor inicial do solvente.

Tabela 13: Parâmetros do ciclo de liofilização do lote experimental de 1 kg

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/c ongelamento do produto	5	2		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-50	4		
			30	
Secagem primária	-16	70		140 micrones
			30	140 micrones
Secagem secundária	50*	12		140 micrones
Vedação	25			14,7 PSIA

*50°C foi usado em lotes de LTI; 60°C foi usado em lotes BSP

[0712] As soluções padrão pós-filtração dos três lotes foram armazenadas em condições ambientais por até 8 horas. O ensaio de cada lote foi medido em t = 0, 4 e 8 horas. Os resultados são mostrados na Tabela 14. As soluções padrão dos três lotes parecia estar claras após inspeção visual e o ensaio permaneceu

estável durante 8 horas. Os bolos liofilizados dos três lotes foram analisados e os resultados são mostrados na Tabela 15. Os ensaios dos três lotes foram todos ~ 100% e os degradantes/impurezas individuais em cada formulação foram todos inferiores a 0,1%. O nível residual de DMSO desses três lotes caiu para cerca de 4 mg/frasco, mostrando ~ 25 a 40% de remoção de solvente.

Tabela 14: Avaliação da estabilidade da solução padrão do lote experimental

Lote Nº	Ensaio (% do alvo)		
	t=0	t=4 horas	t=8 horas
1-B	97,8	97,5	97,8
1-C	99,0	98,7	99,2
1-D	104,3	103,9	104,5

Tabela 15: Caracterização das formulações baseadas em DMSO

Teste	1-B	1-C	1-D
Aparência	bolo	Bolo	bolo
Cor	branco	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar	adaptar
Tempo de Recon	59 segundos	73 segundos	Não pode ser reconstituído
Aparência de Recon	Solução Límpida	Solução Límpida	Solução turva
Ensaio (% de LC)	100,5	106,2	110,0
Impurezas Relacionadas (%)	TRS 0,46 <0,05	TRS 0,46 <0,05	TRS 0,46 <0,05
	TRS 0,47 <0,05	TRS 0,47 <0,05	TRS 0,47 <0,05
	RRT1.28: 0,06	RRT1.28: 0,05	RRT1.28: 0,09
DMSO residual	4,0 mg/frasco	3,8 mg/frasco	3,9 mg/frasco
pH	4,4	4,4	N/A

[0713] Além dos lotes acima, dois lotes experimentais replicados com tamanho de lote de 1 kg, 3-B1 e 3-B2, também foram preparados com a mesma formulação do lote 1-B (10% de Kleptose, pré-mistura DMSO de 170 mg/mL)

para composição apenas para avaliar o tempo de manutenção das soluções padrão. As soluções padrão pós-filtração foram armazenadas em condições ambientais durante 19 horas. A solução permaneceu límpida, sem partículas não dissolvidas visíveis e o ensaio permaneceu estável, como mostrado na Tabela 16. Da mesma forma, dois outros lotes experimentais replicados no tamanho de lote de 1 kg, 4-C1 e 4-C2, foram preparados com a mesma formulação que o Lote 1-C (Kleptose a 10%, pré-mistura DMSO a 220 mg/mL) para composição apenas para avaliar o tempo de manutenção das soluções padrão. As soluções padrão pós-filtração foram armazenadas em condições ambientais durante 8 horas. A solução permaneceu límpida, sem partículas não dissolvidas visíveis e o ensaio permaneceu estável, como mostrado na Tabela 17. Os estudos de composição confirmaram que as soluções padrão com 10% de Kleptose na formulação podem fornecer estabilidade suficiente durante o período de fabricação. Conseqüentemente, o 1-C foi selecionado como a formulação final, com 10% de CD.

Tabela 16: Avaliação da estabilidade da solução padrão do lote experimental

	Ensaio (% do alvo)	
	t=0	t=19 horas
Topo de 3-B1	100,1	104,0
Fundo de 3-B1	100,8	104,3
Topo de 3-B2	101,3	104,7
Fundo de 3-B2	101,7	104,8

Tabela 17: Avaliação da estabilidade da solução padrão do lote experimental

	Ensaio (% do alvo)		
	t=0	t=4 horas	t=8 horas
Topo de 4-C1	102,0	102,2	102,2
Fundo de 4-C1	101,9	102,2	102,2
Topo de 4-C2	102,5	102,9	102,9
Fundo de 4-C2	103,1	102,9	102,9

[0714] Com os resultados acima sobre a estabilidade da solução e os níveis de solvente residual, foram feitos mais esforços para reduzir ainda mais o nível de DMSO residual, diminuindo a quantidade inicial de DMSO na formulação e usando diferentes tipos de ciclodextrina. Dois lotes experimentais de 10 L foram preparados com a concentração aumentada de pré-mistura API-DMSO de 220 mg/mL a 270 mg/mL (com 1 mL de enxágue usando DMSO). Ambos os lotes tinham as mesmas composições de formulação (CD a 10% e tampão citrato a pH 5,3 m 20 mM), mas usavam tipos diferentes de ciclodextrina, como mostrado na Tabela 18. Os parâmetros do ciclo de liofilização e as propriedades do medicamento liofilizado são exibidos na Tabela 19 e Tabela 20, respectivamente. Independentemente do tipo de CD, ambos os lotes obtiveram o mesmo nível residual de DMSO de 4,6 mg/frasco, correspondendo a 11% de remoção da carga inicial de DMSO de 5,2 mg/frasco. Como nenhuma grande melhoria na redução de solvente residual foi alcançada nessas duas tentativas em comparação com as anteriores, essa abordagem não foi mais adotada e a concentração de pré-mistura API-DMSO foi fixada em 220 mg/mL no trabalho de desenvolvimento de processo posterior.

Tabela 18: Composições de formulação de lotes experimentais baseados em DMSO

Ingrediente	5-F1 (mg/frasco) ^a	6-F1 (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,05	1,05
Ácido Cítrico	9,41	9,41
Citrato de sódio	30,74	30,74
Captisol	840	/
Kleptose	/	840
DMSO	5,20 ^b	5,20 ^b
WFI	Removido na secagem	Removido na secagem
Comentários	Pré-mistura API preparada a 270 mg/mL de DMSO	Pré-mistura API preparada a 270 mg/mL de DMSO

a: com enchimento excessivo de 5% (volume de enchimento de 8,4

mL/frasco); b: parcialmente removido após a secagem. Os números na tabela representam o teor inicial do solvente.

Tabela 19: Parâmetros do ciclo de liofilização de lotes experimentais

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/ congelamento do produto	5	2		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-50	4		
			30	
Secagem primária	-16	70		140 micrones
			30	140 micrones
Secagem secundária	60	12		140 micrones
Vedação	25			14,7 PSIA

Tabela 20: Caracterização dos lotes experimentais liofilizados baseados em

DMSO

Teste	5-F1	6-F1
Aparência	bolo	bolo
Cor	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar
Ensaio (% de LC)	100,5	Não Testado
Impurezas Relacionadas	<0,05%	Não Testado
DMSO residual (mg/frasco)	4,6	4,6
pH de Solução de Recon	5,2	5,2

[0715] Um lote experimental adicional, 7-Dex1, foi feito com 10% de Dexolve e pré-mistura DMSO de 220 mg/mL na escala de laboratório de 500 mL, usando a mesma formulação (exceto CD) e processo que o Lote 1-C. A solução padrão foi armazenada em condições ambientais por até 24 horas e nenhuma precipitação de fármaco foi observada por inspeção visual. O resultado do teste do fármaco pronto foi incluído na Tabela 21 para fornecer uma comparação frente a frente com a do Lote 1-C. As características comparáveis dos fármacos entre os dois lotes sugeriram que o atual ciclo de liofilização também pode ser

aplicável à formulação baseada em SBE β CD, embora a liofilia baseada em SBE β CD tenha uma temperatura de colapso muito mais baixa do que sua contraparte baseada em Kleptose. Embora tenham sido obtidos resultados comparáveis para as formulações à base de Dexolve e Kleptose, a Kleptose foi selecionada como a ciclodextrina de escolha devido à maior experiência com esse tipo de formulação e ao melhor perfil de temperatura de colapso do que Dexolve.

Tabela 21: Caracterização da formulação à base de Dexolve e DMSO

Teste	7-Dex1
Aparência	bolo
Cor	branco
Matéria Estranha	adaptar
Tempo de Recon	82 segundos
Aparência de Recon	Solução Límpida
Ensaio (% de LC)	112,4
Impurezas Relacionadas (%)	Impurezas totais <0,07
DMSO residual (mg/frasco)	4,7
pH	4,0

Exemplo 6: Esquema de Reconstituição da Formulação Ia

[0716] Como a composição da formulação Ia baseada em DMSO foi finalizada, o esquema de reconstituição foi avaliado para garantir que a solução reconstituída apresentasse pH e osmolalidade aceitáveis para administração IV. De preferência, o pH deve permanecer na faixa de 4-7 e a osmolalidade deve ficar o mais próximo possível da osmolalidade plasmática humana de 285-295 mOsm/kg. Foram avaliados três fluidos IV disponíveis comercialmente mais comumente usados, incluindo água para injeção (WFI), soro fisiológico (NS) e Dextrose a 5% (D5W). Os valores de osmolalidade e pH das soluções

reconstituídas com esquemas de reconstituição variados são mostrados na Tabela 22. Verificou-se que NS ou D5W isoladamente com um volume de 5-15 mL forneceu um valor de osmolalidade superior a 370 mOsm/kg. Entre todos os veículos testados, apenas 4 mL de WFI, ou uma mistura de 4 mL de WFI com o mesmo volume de NS ou D5W, foi capaz de fornecer uma solução reconstituída com um valor de osmolalidade de 260-280 mOsm/kg. Os pHs de todas as soluções reconstituídas estavam na faixa de 4,2-4,5. Para tornar o esquema de reconstituição o mais simples possível, 4 mL de WFI foi considerado a opção mais favorável. No final, o volume do veículo de reconstituição foi ajustado para 3,8 mL, de modo que a concentração da solução reconstituída atinja um número redondo de 0,25 mg/mL, com a carga real do fármaco de 1,05 mg/frasco (com 5% de enchimento excessivo) e o final volume de solução reconstituída de 4,2 mL/frasco.

Tabela 22: Medição da osmolalidade e pH de soluções reconstituídas da formulação Ia

Diluyente 1	Diluyente 1 Vol (mL)	Diluyente 2	Diluyente 2 Vol (mL)	Osmolalidad e (mOsm/kg)	pH
WFI	3	/	/	357	4,4
WFI	4	/	/	260	4,4
WFI	5	/	/	205	4,4
D5W	5	/	/	530	4,5
D5W	15	/	/	369	4,3
NS	5	/	/	512	NT
NS	10	/	/	404	NT
NS	15	/	/	367	4,0
WFI	3	NS	3	327	4,3
WFI	4	NS	4	282	4,2
WFI	5	NS	5	252	4,2

Diluyente 1	Diluyente 1 Vol (mL)	Diluyente 2	Diluyente 2 Vol (mL)	Osmolalidade (mOsm/kg)	pH
WFI	4	D5W	4	281	4,4
WFI	5	D5W	5	246	4,4

Exemplo 7: Escalonamento do processo da formulação Ia

[0717] Uma vez demonstrada a viabilidade da formulação Ia nos ensaios de laboratório, um lote de engenharia foi fabricado na escala de 8,5 L (Lote A). O mesmo ciclo de liofilização, como exibido na Tabela 13, foi usado. Para garantir uma grande escala bem-sucedida da Formulação Ia, foi realizada uma avaliação de risco completa sobre procedimentos operacionais críticos do processo divulgado na Publicação US Nº 2017-0196847. Os riscos identificados e as melhorias de processo implementadas estão resumidos na Tabela 23 abaixo.

Tabela 23: Melhorias de processo implementadas nos lotes de escala expandida da formulação Ia

	Processo divulgado em US 2017-0196847	Riscos	Mudanças/Plano de Mitigação
Preparação de pré-mistura API	Velocidade de mistura não especificada	Variabilidade de lote para lote	Velocidade de mistura ajustada em 300±25 rpm
	Tempo de mistura NLT 5 min	Mistura insuficiente	Tempo de mistura NLT 20 min
Adição de pré- mistura API	Conta-gotas manual, gota a gota	Erros/variabilidade do operador	Pipeta eletrônica, 50 µL por adição, para o centro do vórtice
	Sem enxágue após a adição da pré-mistura	Perda potencial de fármaco devido a resíduos de API	Enxaguar o recipiente da pré- mistura com 1 mL de DMSO após a adição da pré-mistura
Etapa QS	Etapa QS (~ 1440g de adição de água sem mistura)	Instabilidade local => Cristalização de fármaco	Aumentar a carga inicial de água para minimizar o QS; QS esperado <50g
Após o QS	Velocidade de mistura não especificada	Variabilidade de lote para lote	Velocidade de mistura ajustada em 250-320 rpm

	Processo divulgado em US 2017-0196847	Riscos	Mudanças/Plano de Mitigação
	Amostragem para verificação final do pH	Tempo extra gasto antes da filtração	Etapa de verificação de pH removida
Filtragem	Filtro Millipak 100 de 0,45 µm usado em pré-filtração	Perda potencial de fármaco devido à absorção do filtro	Filtro Millipak 40, 0,45 µm usado em pré-filtração
Enchimento	Purgar um frasco se o enchimento for interrompido por um longo período de tempo	Potencial precipitação de medicamentos na agulha de enchimento	Purgar um frasco se o enchimento for interrompido por 5 minutos ou mais e no início de cada bandeja
Liofilização	Tempo de espera por congelamento 3 horas	Congelamento incompleto	Tempo de espera por congelamento 4 horas
	Termopar inserido durante o ciclo de liofilização	Potencial problema de esterilidade	Termopar removido durante o ciclo de liofilização
	Pico atípico do condensador durante o congelamento	Congelamento ruim	Verificação de manutenção e mapeamento temporário com antecedência
Amostragem e rotulagem	Início (Bandeja 1), Meio (Bandeja 2), Fim (Bandeja 4), nenhuma amostra retirada da Bandeja 3	Informações incompletas do produto em vários locais da bandeja	Amostragem e rotulagem de cada uma das quatro bandejas

[0718] Os resultados dos testes de liberação do lote são mostrados na Tabela 24.

Tabela 24: Resultados da análise de lote da formulação Ia de lotes de escala expandida

Teste	Formulação Ia lotes de escala expandida
Tanque de preparação do ensaio em processo (% de alvo)	100,5
Tanque de recebimento de ensaios em processo (% de alvo)	101,1
Aparência	bolo
Cor	branco
Matéria Estranha	adaptar

Teste	Formulação la lotes de escala expandida
Teor de Água	0,04%
Tempo de Recon	32 seg
Matéria em Partículas	2 partículas por frasco \geq 10 micron, 0 partículas por frasco \geq 25 micrones
Ensaio (% de LC)	104,2
Impurezas Relacionadas	Individual: 0,06% Total: 0,06%
Uniformidade de conteúdo	Sim (AV = 1,2)
Osmolalidade	294 mOsm/kg
Endotoxina bacteriana	aprovado
Esterilidade	aprovado
Solventes residuais	5,6 mg/frasco
pH	4,4

[0719] As seguintes melhorias de processo resumidas na Tabela 25 abaixo foram implementadas em outros lotes de escala expandida:

Tabela 25: Melhorias de processo implementadas nos lotes de escala expandida da formulação la

	Lote A	Riscos	Alterações propostas/plano de mitigação
Composição	Usar uma barra de agitação de 6 cm para misturar	Mistura insuficiente	Usar uma barra de agitação de 12 cm para misturar
	Usar um recipiente de vidro revestido de pescoço estreito de 15 L	O fluido de calor dificultou a verificação visual da limpidez da solução; Pescoço estreito dificultou a adição da pré-mistura API	Usar um recipiente de vidro sem revestimento de 20 L de pescoço largo
Adição de pré-mistura API	Pipeta eletrônica, volume de distribuição de 100 μ L, para o centro do vórtice	Precipitação de fármaco	Pipeta eletrônica, volume de distribuição de 50 μ L, para o centro do vórtice
	Sem enxágue após a adição da pré-mistura	Perda potencial de fármaco devido a resíduos de API	Enxaguar o recipiente da pré-mistura com 1 mL de

	Lote A	Riscos	Alterações propostas/plano de mitigação
		altamente concentrados	DMSO após a adição da pré-mistura
Etapa QS	Etapa QS (~ 1440g de adição de água sem mistura)	Instabilidade local => Cristalização de fármaco	Aumentar a carga inicial de água para minimizar o QS; QS esperado <50g
Filtragem	Três filtros Millipak 100 de 0,22 µm usados na pré-filtração	Perda potencial de fármaco devido à absorção do filtro	Um filtro Millipak 40, 0,45 µm e dois filtros Millipak 20, 0,22 µm
Liofilização	Tempo de espera por congelamento 3 horas	Congelamento incompleto	Tempo de espera por congelamento 4 horas
	Secagem secundária a 50°C por 12 horas	Solvente residual mais alto	Secagem secundária a 60°C por 12 horas

[0720] Os resultados da análise de lotes de lotes exemplares são mostrados na Tabela 26.

Tabela 26: Resultados da análise em lote da formulação Ia

Teste	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Tanque de preparação do ensaio em processo (% de alvo)	98,6	99,6 (topo); 99,8 (fundo)	100,1 (topo); 100,2 (fundo)
Tanque de recebimento de ensaios em processo (% de alvo)	98,8	99,8 (topo); 99,8 (fundo)	99,4 (topo); 99,8 (fundo)
Aparência	Bolo e pó (bolo quebrado)	Bolo e pó (bolo quebrado)	Bolo e pó (bolo quebrado)
Cor	branco	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar	adaptar
Teor de Água	0,1%	NT	0,1%
Tempo de Recon	29 seg	36 s	58 seg

Teste	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Assunto particular	14 partículas por frasco ≥ 10 micron, 1 partículas por frasco ≥ 25 micrones	NT	0 partículas por frasco ≥ 10 micron, 0 partículas por frasco ≥ 25 micrones
Ensaio	105,5	NT	104,2
Impurezas Relacionadas	Individual: $<0,05\%$ Total: $<0,05\%$	NT	Individual: $<0,05\%$; Total: $0,05\%$
Uniformidade de conteúdo	Sim (AV = 4,8)	NT	Sim (AV = 0,8)
Osmolalidade	303 mOsm/Kg	NT	274 mOsm/kg
Endotoxina bacteriana	NT	NT	aprovado
Esterilidade	NT	NT	aprovado
Solventes residuais	6,7 mg/frasco	NT	5,7 mg/frasco
pH	4,4	4,3	4,4

NT = não testado

Exemplo 8: Formulação e Avaliação de Processo da Formulação Ib

[0721] Dois lotes de teste, 1-Dex2 e 1-Dex3, foram preparados em uma escala de laboratório de 500 mL em formulações contendo ácido fórmico como cossolvente e 10% Dexolve como ciclodextrina. O Dexolve foi utilizado em ambos os lotes, pois havia demonstrado desempenho comparável da formulação com Kleptose nos ensaios anteriores. Como a solubilidade do fármaco em ácido fórmico é de cerca de 170 mg/mL, a pré-mistura API em ácido fórmico foi preparada a uma concentração de 150 mg/mL (equivalente a 8,54 mg/frasco) e 100 mg/mL (equivalente a 12,81 mg/frasco) respectivamente nos dois lotes. O pH do tampão citrato foi aumentado de 4,2 para 5,3, a fim de tornar a solução reconstituída com um pH acima de 4,0. O ciclo de liofilização permaneceu o mesmo que o usado na formulação divulgada na Publicação US Nº 2017-

0196847. A composição da formulação dos dois lotes é mostrada na Tabela 27. Os resultados analíticos dos produtos farmacêuticos acabados são mostrados na Tabela 28.

Tabela 27: Composições de formulação dos lotes de ensaio à base de ácido fórmico em escala laboratorial

Ingrediente	1-Dex2 (mg/frasco) ^a	1-Dex3 (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,05	1,05
Dexolve-7	840	840
Ácido Cítrico Anidro	9,41	9,41
Citrato de Sódio anidro	30,74	30,74
Ácido Fórmico	8,54 ^b	12,81 ^b
Água Purificada	Removido na secagem	Removido na secagem
Comentário	Equivalente a 150 mg/mL de pré-mistura	Equivalente a 100 mg/mL de pré-mistura

a: transbordamento de 5%

b: parcialmente removido após a secagem. Os números na tabela representam o teor inicial do solvente, incluindo 1 mL de enxágue

Tabela 28: Caracterização dos produtos farmacêuticos liofilizados de lotes de ensaio à base de ácido fórmico

Teste	1-Dex2	1-Dex3
Aparência	bolo	Bolo
Cor	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar
Tempo de Recon	85 segundos	96 segundos
Aparência de Recon	Solução Límpida	Solução Límpida
Ensaio	109,4	107,4
Impurezas Relacionadas (%)	0,05%	0,09%
Ácido Fórmico Residual	5,6 mg/frasco (remoção de 34%)	7,9 mg/frasco (remoção de 38%)

Teste	1-Dex2	1-Dex3
pH	4,5	4,4

[0722] Como o ácido fórmico tem um ponto de ebulição de 100,8°C, muito mais baixo que o de DMA (165°C) ou DMSO (189°C), era suposto ser mais facilmente removido durante a liofilização. Verificou-se que a taxa de redução de ácido fórmico é de apenas aproximadamente 35%. Uma análise adicional indicou que isso provavelmente ocorreu devido à formação de formato de sódio. Visto que o ácido fórmico tem um pKa de 3,75, próximo ao pH da solução em massa, o ácido fórmico pode se desassociar em sua forma iônica. Agora, na presença de tampões, esses íons podem reagir com os íons de metal livres para formar um produto mais estável. Nesse caso, o citrato de sódio é usado como parte do sistema de tampão e, portanto, pode levar à formação de formato de sódio. Uma vez que o formato de sódio é formado, pode ser muito difícil remover por sublimação, visto que o mesmo possui um ponto de fusão muito alto (253°C). A fim de remover o ácido fórmico com eficiência, a solução é evitar a formação de formato de sódio e ter ácido fórmico em sua forma nativa. Isso pode ser alcançado ao manter o pH da solução em massa baixo (pelo menos 1 a 2 unidades abaixo de seu pKa) ou, em vez disso, evitar uma presença de contraíons tal como sódio no sistema (por exemplo, ao remover os tampões do sistema). Após considerar ambas as opções, decidiu-se avaliar primeiro a remoção dos buffers do sistema.

[0723] Os estudos de viabilidade subsequentes foram conduzidos para investigar o efeito do pH da solução na remoção do solvente. No primeiro lote de ensaio 1-F2, 10% de Captisol foi usado e o tampão foi removido da formulação. O segundo lote de ensaio 2-F2 tinha as mesmas composições de formulação que o Lote 1-F2, exceto que 10% de Captisol foi substituído por 10% de Kleptose. As composições da formulação são mostradas na Tabela 29. A

composição do solvente foi calculada com a adição de 1 mL de enxágue com solvente por lote de 10 L. O ciclo de liofilização é mostrado na Tabela 19. Os resultados analíticos dos produtos farmacêuticos acabados são mostrados na Tabela 30. Observou-se que a ausência de tampão no Lote 1-F2, que resultou em uma solução em massa com pH abaixo de 3, reduziu significativamente o nível de ácido fórmico residual dos 5,6 mg/frasco anteriores para 2,3 mg/frasco. Um resultado ainda mais encorajador foi observado na formulação 2-F2, que mostrou um nível de ácido fórmico residual tão baixo quanto 0,4 mg/frasco ou redução de 95% do solvente.

[0724] Sem desejar estar vinculado a nenhuma teoria, a diferença no nível de ácido fórmico residual entre os dois ensaios foi atribuída às diferenças de estrutura química entre Captisol e Kleptose. O Captisol é uma mistura de derivados da beta ciclodextrina de um sal sulfonato de sódio aglutinado à cavidade lipofílica por um grupo éter butílico. A presença de íons de sódio nas moléculas de Captisol pode levar à formação de formato de sódio até certo ponto, mesmo em condições de baixo pH. Em contraste, a Kleptose é um éter poli-hidroxi-propílico parcialmente substituído de beta-ciclodextrina, sem associação com quaisquer íons de sódio. Com base no resultado do solvente residual do segundo lote de ensaio, a formulação 2-F2 foi selecionada como a formulação final Ib.

Tabela 29: Composições de formulação de 10 kg de ensaios com base em ácido fórmico

Ingrediente	1-F2 (mg/frasco) ^a	2-F2 (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,0	1,0
Captisol	100	/
Kleptose	/	100
Ácido fórmico	9,12 ^b	9,12 ^b
WFI	Removido na secagem	Removido na secagem

Comentários	Pré-mistura API preparada a 150 mg/mL de ácido fórmico	Pré-mistura API preparada a 150 mg/mL de ácido fórmico
-------------	--	--

a: sem transbordamento de 5% (volume de enchimento de 8,0 mL por frasco)

b: parcialmente removido após a secagem. Os números na tabela representam o teor inicial do solvente.

Tabela 30: Caracterização dos produtos farmacêuticos liofilizados de lotes de ensaio à base de ácido fórmico

Teste	1-F2	2-F2
Aparência	bolo	bolo
Cor	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar
Ensaio (% de LC)	101,6	99,4
Impurezas Relacionadas	<0,02%	<0,05%
Ácido Fórmico Residual	2,3 mg/frasco	0,4 mg/frasco
pH de Solução de Recon	3,0	3,4

[0725] As soluções em massa de ambos os lotes de ensaio foram armazenadas em condições ambientais por um período de sete dias e suas estabilidades físicas e químicas foram avaliadas. A Tabela 31 mostra os resultados do ensaio e da impureza de cada formulação no ponto de tempo inicial e após vários dias. Ambas as formulações permaneceram física e quimicamente estáveis por um período mínimo de 7 dias na condição ambiente.

Tabela 31: Avaliação da estabilidade da solução em massa dos lotes de ensaio

	1-F2	2-F2
t=0 Ensaio de pré-filtração (%)	100,8	99,2
t=0 Ensaio de pós-filtração (%)	100,8	99,2
t=7 dias de Ensaio pós-filtração (%)	100,0	100,0
t=7 dias de Hidrólise 1 (%)	0,13%	0,13%

t=7 dias de Hidrólise 2 (%)	0,04%	0,04%
-----------------------------	-------	-------

[0726] Além da formulação à base de ácido fórmico, a viabilidade de uma formulação de 'solventes duplos' também foi avaliada durante o desenvolvimento. Aqui, a suposição era de que cada solvente é permitido para um nível de PDE de 50 mg/dia. Quatro formulações de 'solvente duplo' foram preparadas em escala de 10 L, com metade da API dissolvida em solução de DMSO de 270 mg/mL e a outra metade dissolvida em solução de ácido fórmico de 150 mg/mL. As duas soluções de pré-mistura API foram adicionadas à solução em massa em sequência. A Tabela 32 mostra as composições das quatro formulações. Os lotes 1-F3 e 1-F4 usaram 10% de Captisol. A única diferença entre eles foi que F3 foi tamponado a pH 5,3 enquanto F4 não foi tamponado. Os lotes 2-F3 e 2-F4 usaram 10% de Kleptose, com F3 tamponado a pH 5,3 e F4 não tamponado.

Tabela 32: Composições de formulações de 'solventes duplos'

Ingrediente	1-F3 (mg/frasco) ^a	1-F4 (mg/frasco) ^a	2-F3 (mg/frasco) ^a	2-F4 (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,0	1,0	1,0	1,0
Ácido Cítrico	8,96	/	8,96	/
Citrato de sódio	29,28	/	29,28	/
Captisol	800	800	/	/
Kleptose	/	/	800	800
DMSO	3,06 ^b	3,06 ^b	3,06 ^b	3,06 ^b
Ácido fórmico	4,27 ^b	4,27 ^b	4,27 ^b	4,27 ^b
WFI	Removido na secagem	Removido na secagem	Removido na secagem	Removido na secagem
Comentários	50% de API em 270 mg/mL de DMSO; 50% de API em 150	50% de API em 270 mg/mL de DMSO; 50% de API em 150	50% de API em 270 mg/mL de DMSO; 50% de API em 150	50% de API em 270 mg/mL de DMSO; 50% de API em 150

Ingrediente	1-F3 (mg/frasco) ^a	1-F4 (mg/frasco) ^a	2-F3 (mg/frasco) ^a	2-F4 (mg/frasco) ^a
	mg/mL de ácido fórmico	mg/mL de ácido fórmico	mg/mL de ácido fórmico	mg/mL de ácido fórmico

a: sem transbordamento de 5% (volume de enchimento de 8,0 mL por frasco)

b: parcialmente removido após a secagem. Os números na tabela representam o teor inicial do solvente.

[0727] As propriedades liofilizadas do produto farmacêutico de quatro formulações são mostradas na Tabela 33. Embora a quantidade inicial de DMSO ou ácido fórmico tenha sido reduzida em oposição às formulações usando apenas o único solvente, os níveis residuais de DMSO em todas as quatro formulações eram de cerca de 2,5 mg/frasco, enquanto o nível residual de ácido fórmico estava muito próximo àquele da formulação Ib. Com base nesse resultado, as formulações de 'solventes duplos' não foram levadas em consideração porque não ofereciam nenhuma vantagem sobre a formulação Ib.

Tabela 33: Caracterização das formulações liofilizadas de 'solventes duplos'

Teste	1-F3	1-F4	2-F3	2-F4
Aparência	bolo	bolo	bolo	bolo
Cor	branco	branco	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar	adaptar	adaptar
Ensaio	102,6	100,6	NT	NT
Impurezas Relacionadas (%)	<0,02%	<0,02%	NT	NT
DMSO residual	2,6	2,6	2,4	2,4

Teste	1-F3	1-F4	2-F3	2-F4
(mg/frasco)				
Ácido fórmico residual (mg/frasco)	2,9	1,1	3,8	0,3
Tempo de recon (seg)	25	26	26	26
pH de solução de recon	4,6	3,2	4,8	3,5

Exemplo 9: Esquema de Reconstituição da Formulação Ib

[0728] Um estudo de reconstituição foi realizado usando fluidos IV disponíveis comercialmente, incluindo WFI, NS, D5W e Ringers de Lactato (LR). A osmolalidade das soluções reconstituídas com e sem diluição de NS foi medida. Os resultados são mostrados na Tabela 34. WFI de 3 mL ou mais forneceu uma osmolalidade abaixo de 220 mOsm/kg, enquanto D5W ou LR de 4-20 mL forneceu uma osmolalidade acima de 400 mOsm/kg. NS sozinho com um volume menor que 13 mL também deu uma osmolalidade acima de 300 mOsm/kg. Quando 13-19 mL de NS foram usados para reconstituição, a osmolalidade foi próxima de 290 mOsm/kg. No entanto, isso resultaria em um volume de dosagem total próximo a 400 mL para uma dose de até 20 mg, o que exigiria um longo tempo de infusão. Como era desejado um volume de reconstituição menor, outro fluido IV disponível comercialmente, ½ soro fisiológico (cloreto de sódio de 0,45%), também foi avaliado. Verificou-se que 4-5 mL de ½ soro fisiológico foi capaz de atingir uma osmolalidade de 290 mOsm/kg. O esquema final de reconstituição para a Formulação Ib foi determinado como 4,5 mL de ½ soro fisiológico para fornecer uma solução reconstituída na concentração exata de 0,2 mg/mL, dado o volume final de solução de 5,0 mL no frasco após reconstituição e carga de fármaco de 1,0 mg/frasco (sem transbordamento).

Tabela 34: Medição da osmolalidade e pH de soluções reconstituídas da formulação Ib

Diluyente	Volume (mL)	pH	Sem diluição (mOsm/kg)	Diluído 2x com NS (mOsm/kg)	Diluído 4x com NS (mOsm/kg)
Água	2	Não determinado	Não foi possível congelar		
Água	3	Não determinado	218	262	276
Água	4	3,39	157	234	262
NS	4	3,32	465	Não determinado	Não determinado
NS	8	Não determinado	376	Não determinado	Não determinado
NS	9,7	Não determinado	356	Não determinado	Não determinado
NS	13,4	Não determinado	291	Não determinado	Não determinado
NS	17,1	Não determinado	293	290	289
Ringer de lactato	4	Não determinado	735	Não determinado	Não determinado
Ringer de lactato	15	Não determinado	582	Não determinado	Não determinado
Ringer de lactato	19,7	Não determinado	567	Não determinado	Não determinado
D5W	4	Não determinado	DNF	Não determinado	Não determinado
D5W	8,7	Não determinado	479	Não determinado	Não determinado
D5W	15	Não determinado	443	Não determinado	Não determinado
D5W	19,7	Não determinado	429	Não determinado	Não determinado
½ NS	9,6	Não determinado	215	254	266
½ NS	4,8	Não determinado	294	290	290
½ NS	4,6	Não determinado	289	Não determinado	Não determinado
½ NS	5,6	Não determinado	263	Não determinado	Não determinado
½ NS	4,6	Não determinado	289	292	287
½ NS	4,4	Não determinado	294	294	293
½ NS	4,4	3,37	295	294	292

[0729] Observou-se que o pH da solução reconstituída da Formulação Ib

estava em um lado inferior (<3,6), mas isso foi considerado aceitável.

Exemplo 10: Escalonamento do processo da Formulação Ib

[0730] Três execuções de liofilização de desenvolvimento, com múltiplos lotes em cada lote de liofilização, foram fabricadas para aumentar o tamanho de lote de 10 L para o tamanho de lote clínico de 30 L.

1º Lote de Escala:

[0731] No primeiro lote de escala, foram preparados um lote de composição de 30 L e dois de 10 L. As composições da formulação são mostradas na Tabela 35. O lote 3-F2-1 foi preparado com a pré-mistura API de 150 mg/mL em ácido fórmico em um tamanho de lote de 30 L. A pré-mistura foi adicionada ao recipiente de composição através de uma bomba peristáltica e uma tubulação de silicone de 0,6 mm, a uma taxa de 50 µL por adição a cada 10 segundos. O lote 3-F2-2 e 3-F2-3 foram ambos preparados com pré-mistura API de 100 mg/mL em ácido fórmico no tamanho de lote de 10 L. A única diferença entre F2-2 e F2-3 foi o método de adição de pré-mistura API. No F2-2, a adição de pré-mistura API foi muito rápida (a pré-mistura foi vertida instantaneamente diretamente no recipiente de composição para testar como um cenário de pior caso), enquanto F2-3 seguiu o mesmo procedimento de adição de pré-mistura API do lote F2-1. Todos os três lotes foram liofilizados em um liofilizador de laboratório usando o mesmo ciclo de liofilização, conforme mostrado na Tabela 19. Para o lote de escala F2-1, as amostras de solução em massa foram coletadas do recipiente de composição, bem como do início, meio e final do recipiente de recebimento para teste de ensaio em processo. Os ensaios de solução em massa de pré e pós-filtração do lote F2-2 e F2-3 também foram testados. As soluções em massa filtradas de F2-1 e F2-2 foram armazenadas no recipiente de recebimento em condições ambientais por sete dias. A estabilidade física e química de ambos os lotes foram inspecionadas.

Tabela 35: Composições de formulação da 1ª execução de escala

Ingrediente	3-F2-1 (mg/frasco) ^a	3-F2-2 (mg/frasco) ^a	3-F2-3 (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,0	1,0	1,0
Kleptose	800	800	800
Ácido fórmico	9,1 ^b	13,2 ^b	13,2 ^b
WFI	Removido na secagem	Removido na secagem	Removido na secagem
Comentários	Pré-mistura API preparada a 150 mg/mL de ácido fórmico. Tamanho de lote de 30 L. Pré-mistura API adicionada a 50 µL por 10 seg.	Pré-mistura API preparada a 100 mg/mL de ácido fórmico. Tamanho de lote de 10 L. Pré-mistura de API vertida em um tempo.	Pré-mistura API preparada a 100 mg/mL de ácido fórmico. Tamanho de lote de 10 L. Pré-mistura API adicionada a 50 µL por 10 seg.

a: sem transbordamento de 5% (volume de enchimento de 8,0 mL por frasco)

b: parcialmente removido após a secagem. O número na tabela corresponde ao teor inicial de solvente.

[0732] A Tabela 36 e a Tabela 37 apresentam os resultados de estabilidade em massa e de produtos farmacêuticos acabados, respectivamente. Em geral, todos os três lotes exibiram atributos de qualidade aceitáveis. O lote F2-2, apesar de sua taxa extrema de adição de pré-mistura API, obteve um bom ensaio em processo e a estabilidade da solução em massa comparável aos outros dois lotes. Isso indica que o processo de composição é robusto e não é sensível à taxa de adição de pré-mistura API. Todos os três lotes apresentaram nível de ácido fórmico residual <2,5 mg/frasco conforme direcionado, independentemente da quantidade inicial de carga de ácido fórmico. Especulou-se que a cinética de remoção de ácido fórmico residual possa ter atingido uma estabilização determinada pela condição do processo de liofilização, em vez do nível inicial de solvente. Além disso, a escala para um tamanho de lote de composição de 30 L foi realizada com sucesso (3-F2-1).

[0733] Observou-se que o nível de ácido fórmico residual desses lotes era

superior ao observado para o lote de desenvolvimento da formulação, 2-F2. Houve pequenas diferenças entre esses lotes de escala e o lote de desenvolvimento da formulação, no entanto, o 3-F2-3 e o 2-F2 tiveram a mesma formulação e o mesmo processo, mas os níveis de solvente residual foram muito diferentes (1,4 mg/frasco vs. 0,4 mg/frasco). Como parte de encontrar uma causa potencial disso, o perfil de dados de liofilização, conforme ilustrado na FIG. 32 foi avaliado. O perfil mostrou que a pressão pirani não estava completamente convergida com a pressão da câmara (medida pelo manômetro de capacitância) ao final da secagem primária, implicando que a sublimação não estava completa. Portanto, no próximo lote de escala, foram feitos mais esforços para entender a variabilidade do solvente residual.

Tabela 36: Estabilidade da solução em massa do 1º lote de escala

	3-F2-1	3-F2-2	3-F2-3
t=0 Ensaio de pré-filtração (%)	98,4	100,0	99,2
t=0 Ensaio de pós-filtração (%)	98,4 (início); 98,4 (meio); 98,4 (final)	99,2	98,4
t=7 dias Ensaio de pós-filtração (%)	99,7 (início); 99,7 (meio); 99,7 (final)	99,7	Não Testado
t=7 dias de Hidrólise 1 (%)	0,06 (início) 0,05 (meio) 0,05 (final)	0,05	Não Testado
t=7 dias de Hidrólise 2 (%)	0,14 (início) 0,14 (meio) 0,13 (final)	0,14	Não Testado

Tabela 37: Caracterização de produto farmacêutico do 1º lote de escala

Teste	3-F2-1	3-F2-2	3-F2-3
Aparência	bolo	bolo	bolo
Cor	branco	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar	adaptar
Ensaio	98,5	99,5	99,9
Impurezas	Total <0,05	Total <0,05	Total <0,05

Relacionadas (%)			
Teor de Água	0,10%	0,10%	0,06%
Solvente Residual	1,3 mg/frasco	1,5 mg/frasco	1,4 mg/frasco
Tempo de recon (seg)	34	31	35
pH de solução de recon	3,0	3,0	3,0

2º Lote de Escala:

[0734] A concentração do composto 1 de 100 mg/mL e 50 mg/mL foi avaliada com dois lotes de composição, 4-F1 e 4-F2. As composições de formulação desses dois lotes são mostradas na Tabela 38.

Tabela 38: Composições de formulação da 2ª execução de escala

Ingrediente	4-F1 (mg/frasco) ^a	4-F2 (mg/frasco) ^a
Composto 1	1,0	1,0
Kleptose	800	800
Ácido fórmico	13,2 ^b	25,4 ^b
WFI	Removido na secagem	Removido na secagem
Comentários	Pré-mistura do composto 1 preparada a 100 mg/mL de ácido fórmico. Tamanho de lote de 30 L.	Pré-mistura do composto 1 preparada a 50 mg/mL de ácido fórmico. Tamanho de lote de 30 L.

a: sem transbordamento de 5% (volume de enchimento de 8,0 mL por frasco)

b: parcialmente removido após a secagem. O número na tabela corresponde ao teor inicial de solvente.

[0735] Um ciclo de liofilização mais conservativo foi avaliado (para minimizar o risco de processamento e, assim, permitir a fabricação direta de um lote clínico na suíte GMP). Conforme mostrado na Tabela 40, três grandes alterações foram feitas no processo de liofilização: 1) o tempo de espera de congelamento foi estendido de 4 horas para 6 horas; 2) o tempo de espera de

secagem primária foi estendido de 70 horas para 90 horas; 3) o tempo de secagem secundária foi prolongado de 12 horas para 18 horas.

Tabela 39: Parâmetros do ciclo de liofilização do 2º lote de ensaio

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/ congelamento do produto	5	2		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-50	6		
			30	
Secagem primária	-16	90		140 microns
			30	140 microns
Secagem secundária	60	18		140 microns
Vedação	25			14,7 PSIA

[0736] As amostras foram retiradas de vários locais e pontos no tempo da câmara de liofilizador. Mais especificamente, três frascos foram retirados da borda frontal da plataforma do meio por um ladrão às 65 horas, 75 horas e 90 horas de espera de secagem primária, e em cada ponto de 6 horas, 12 horas e 18 horas de espera de secagem secundária.

[0737] O lote foi preparado em uma condição de biocarga controlada para permitir o desenvolvimento do método de biocarga.

[0738] O lote foi processado com sucesso. Os resultados dos produtos farmacêuticos acabados são mostrados na Tabela 40. Todos os atributos de qualidade foram considerados aceitáveis. Observou-se que os dois lotes de composição tinham o mesmo nível de solvente residual de 0,6 mg/frasco, apesar dos diferentes níveis iniciais de solvente. Verificou-se também que o nível de solvente residual era menor que o 1º lote de escala, provavelmente devido a 6

horas adicionais de tempo de secagem secundária. Conforme descrito acima, este lote também investigou alterações no nível de solvente residual com o tempo; os resultados são mostrados na FIG. 33.

Tabela 40: Caracterização de produto farmacêutico do 2º lote de escala

Teste	4-F1	4-F2
Aparência	bolo	bolo
Cor	branco	branco
Matéria Estranha	adaptar	adaptar
Ensaio	100,5	101,6
Impurezas Relacionadas (%)	Total <0,05%	Total <0,05%
Teor de Água	0,07%	0,07%
Solvente Residual	0,6 mg/frasco	0,6 mg/frasco
Tempo de recon (seg)	36	39
pH de solução de recon	3,2	3,2

[0739] Com o nível inicial de solvente de 13,2 mg/frasco, o solvente residual nos frascos liofilizados foi reduzido para 4,5 mg/frasco após 65 horas de espera de secagem primária, com alteração mínima após a secagem primária. Com a secagem secundária subsequente, o solvente residual diminuiu continuamente, atingindo ~ 0,6 mg/frasco após 18 horas de secagem. Essa constatação sustenta que aumentar o tempo de espera de secagem secundária para 18 horas pode ser útil na redução do nível de solvente residual. O perfil de dados de liofilização, conforme ilustrado na FIG. 34 mostrou que a pressão pirani foi concluída convergida com a pressão da câmara, conforme medida por um manômetro de capacitância no final da secagem primária, indicando uma sublimação completa. Portanto, foi recomendado um tempo de espera de secagem primária de 90 horas para que o lote clínico estivesse em um lado conservativo (conforme mencionado anteriormente, o liofilizador para o lote clínico é ~ 3X do lote de desenvolvimento).

[0740] Neste lote, também foi investigado o nível de solvente residual de diferentes localizações de tabuleiro (centro vs. borda) e diferentes localizações de plataforma (apenas a plataforma do meio e inferior, as três plataformas superiores foram reduzidas devido ao posicionamento do ladrão). Os frascos centrais continham um nível de solvente residual ligeiramente mais alto do que os frascos de borda, porque os frascos de borda geralmente recebem mais radiação de calor da porta e das paredes do liofilizador. No geral, o nível de solvente residual não variou muito com as localizações de frasco na câmara de liofilização. Isso mostrou que a localização de amostragem não era a causa provável de níveis variáveis de solvente residual observados para os lotes anteriores.

3º Lote de Escala:

[0741] A terceira e a última execução de escala foi um lote de confirmação na escala do lote de 30 L com as mesmas composições de formulação e parâmetros de processo que o Lote 4-F1. O lote foi produzido em condições controladas de biocarga e foi usado posteriormente para apoiar o estudo de estabilidade da ICH. Os resultados dos testes de liberação em lote são mostrados na Tabela 41.

Tabela 41: Caracterização de produto farmacêutico do lote de escala

Teste	B-3
Aparência	bolo
Cor	branco
Matéria Estranha	adaptar
Ensaio (% de LC)	101,3
Impurezas Relacionadas	Total <0,05%
Teor de Água	0,08%
Solvente Residual	0,9 mg/frasco
Tempo de Recon	39 seg

pH de solução de recon	3,1
Osmolalidade	297 mOsm/kg
Matéria em Partículas	11 partículas por frasco $\geq 10 \mu\text{m}$; 0 partículas por frasco $\geq 25 \mu\text{m}$

[0742] As formulações adicionais foram submetidas a uma triagem variando a carga do fármaco, o tamanho do frasco, a concentração do fármaco e a concentração de Kleptose em várias execuções de ensaio de liofilização. Todas as formulações testadas mostraram atributos de qualidade de produto aceitáveis, conforme mostrado na Tabela 42.

Tabela 42

Força de dosagem e recipiente		Composição da Formulação de Liofilizador			Resultados do Teste	
Carga de Fármaco (mg/frasco)	Tamanho do frasco (mL)	Composto 1 (% em p/p)	Kleptose (% em p/p)	Ácido Fórmico Residual (% em p/p)	Ensaio (%)	Quantidade de ácido fórmico residual (mg/frasco)
2	30	0,12	99,68	0,20	97,65	2,92
2	50	0,04	99,77	0,19	98,25	9,45
4	100	0,05	99,76	0,19	101,01	15,42
5	100	0,05	99,75	0,20	100,29	21,15
1	30	0,12	99,75	0,13	99,96	0,98
1,5	30	0,12	99,72	0,16	100,00	1,76
1,5	50	0,12	99,75	0,13	99,89	1,61
1,5	100	0,12	99,74	0,14	100,00	1,59
3	50	0,12	99,74	0,13	99,93	3,56
3	100	0,12	99,74	0,13	99,69	3,56
5	100	0,12	99,72	0,16	99,90	6,48
6,25	100	0,12	99,66	0,21	99,86	10,23
1,8	50	0,05	99,79	0,16	99,49	5,50

1,8	100	0,05	99,82	0,13	99,48	5,08
3	100	0,05	99,81	0,14	99,87	8,26

Exemplo 11: Avaliação da Estabilidade da Formulação

[0743] As formulações selecionadas (Ia e Ib) são fornecidas na Tabela 43 abaixo:

Tabela 43: Composições das formulações Ia e Ib

	Formulação Ia*	Formulação Ib
Composto 1	1,05 mg/frasco	1,0 mg/frasco
Ácido Cítrico Anidro, USP	18,6 mg/frasco	-
Citrato de sódio anidro, USP	18,4 mg/frasco	-
Kleptose® HPB (HP-β-CD), grau parenteral	840 mg/frasco	800 mg/frasco
Dimetilsulfóxido (auxiliar de processamento)	Parcialmente removido após a secagem	-
Ácido fórmico (auxiliar de processamento)	-	Parcialmente removido após a secagem
Água para injeção (auxiliar de processamento)	Removido na secagem	Removido na secagem

* com transbordamento de 5%

[0744] As formulações Ia e Ib foram avaliadas adicionalmente quanto a 1) estabilidade física e química de produtos farmacêuticos acabados, 2) estabilidade em uso do produto farmacêutico após a reconstituição e 3) estudos de compatibilidade de material durante a administração. Aqui, o objetivo era ter um prazo de validade mínimo de 12 meses para o produto farmacêutico. Para a solução do fármaco após a reconstituição, foi desejada uma estabilidade mínima de 8 horas para permitir que os médicos tivessem tempo de preparação suficiente antes da administração aos pacientes. Além disso, espera-se que esta solução reconstituída após diluição (se necessário) tenha estabilidade química e

física aceitável com material de contato, tal como seringas, tubulação IV, bolsas de infusão, heparina, filtros em linha etc. durante o período de desenvolvimento de administração.

Estabilidade de produtos acabados

[0745] A estabilidade do produto farmacêutico da formulação Ia foi avaliada e os resultados de estabilidade de 1 e 3 meses são mostrados na Tabela 44. Os produtos farmacêuticos permaneceram estáveis, sem grandes alterações na aparência, ensaio e impurezas e reconstituição após 3 meses de armazenamento em condições de 40°C/75%RH aceleradas. Considera-se que este resultado sustenta uma vida útil de até 12 meses em condições ambientais para a formulação Ia.

Tabela 44: Estabilidade do produto farmacêutico da formulação Ia

Teste	Critérios de Aceitação	t=0	t=1 mês 40°C/75%RH	t=3 meses 40°C/75%RH
Aparência	Bolo	Bolo	Nenhuma mudança do Inicial	Nenhuma mudança do Inicial
Cor	Branco a esbranquiçado	Branco	Branco	Branco
Teor de Água	Relatar resultados	0,04%	0,20%	0,20%
Ensaio (% de LC)	90-110	104,2	104,3	104,5
Impurezas Relacionadas	Impurezas totais <3% Impurezas individuais <1%	Individual: 0,06% Total: 0,06%	<QL	<QL
Tempo de Recon	Relatar resultados	32	29	31
pH	Relatar resultados	4,4	4,4	4,4

[0746] Da mesma forma, foi avaliada a estabilidade do produto farmacêutico da Formulação Ib. Conforme mostrado na Tabela 45, não foram

observadas grandes alterações na aparência, ensaio e impurezas e reconstituição após um mês de armazenamento em condições de 40°C/75%RH aceleradas.

Tabela 45: Estabilidade do produto farmacêutico da Formulação Ib

Teste	Critério de Aceitação	t=0	t=1 mês 40°C/75%RH
Aparência	Bolo ou pó	Bolo	Bolo
Cor	Branco a esbranquiçado	Branco	Branco
Teor de Água	Relatar resultados	0,05%	0,21%
Tempo de Recon ¹	Relatar resultados	28 seg	30 seg
Ensaio (% de LC)	90-110	99,4	100,5
Impurezas Relacionadas	Individual: NMT 1,0% Total: NMT 3,0%	Total <0,05	Total <0,05
pH	Relatar resultados	3,4	3,3

[0747] Como a estabilidade do produto farmacêutico da formulação Ia foi estabelecida antes da formulação Ib, um Programa de Avaliação de Estabilidade Acelerada (ASAP) foi estabelecido para comparar a formulação Ib com a formulação Ia. O estudo foi executado intencionalmente em frascos abertos em várias condições de alta temperatura/baixa umidade por um curto período de tempo, a fim de prever o potencial de degradação e a sensibilidade à temperatura/umidade de cada formulação. Os resultados do ensaio e da impureza são mostrados na Tabela 46. A porcentagem de impurezas aumentou com o aumento da temperatura, umidade e tempo de armazenamento, conforme previsto. No geral, as formulações Ia e Ib mostraram um perfil de degradação muito semelhante para todas as condições testadas. Somente na condição mais estressante de 80°C/21%RH, a formulação Ib apresentou degradação ligeiramente mais alta (5%) do que a formulação Ia (3%) no período

de 7 dias. Posteriormente, foi confirmado pelo Espectrômetro de Massa que todos os degradantes foram resultantes da degradação por hidrólise e que nenhum mecanismo de degradação desconhecido estava envolvido. Com base no resultado do ASAP, concluiu-se que a formulação Ib apresentava estabilidade de produto farmacêutico comparável com a formulação Ia. Portanto, espera-se que a formulação Ib tenha o mesmo prazo de validade e as mesmas condições de armazenamento que a formulação Ia.

Tabela 46: Resultados da estabilidade do ASAP das formulações Ia e Ib

Amostra	Condição	Tempo de Tração (dia)	% de Ensaio	% de Impureza Total
Ia	Inicial	0	104,2	<0,05%
Ib		0	99,4	<0,05%
Ia	50°C / 11% RH	3	105,0	ND
		7	105,2	0,11
Ib		3	99,6	ND
		7	99,7	0,09
Ia	50°C / 21% RH	3	105,4	ND
		7	105,2	0,20
Ib		3	99,5	ND
		7	100,2	0,15
Ia	80°C / 11% RH	3	104,9	1,40
		7	103,5	2,80
Ib		3	99,4	1,20
		7	100,5	2,80
Ia	80°C / 21% RH	3	103,7	1,30
		7	102,1	3,00
Ib		3	98,2	0,80
		7	92,5	5,00

ND = Não Detectado

Estabilidade em uso de soluções reconstituídas

[0748] As estabilidades em uso das soluções reconstituídas em frascos de produtos, bem como em seringas, linhas IV e bolsas IV foram avaliadas extensivamente. Para ambas as formulações Ia e Ib, verificou-se que a solução reconstituída é física e quimicamente estável em frascos de produtos injetáveis por até 8 horas na condição ambiental e a 5°C. Além disso, a solução reconstituída demonstrou estabilidade química e física aceitável em seringas, tubulação IV e bolsas de infusão sem problemas de compatibilidade com heparina, diluente ou filtros em linha durante o período de desenvolvimento de administração da dose simulada.

[0749] Foi conduzido um estudo de estabilidade adicional sobre a solução reconstituída em frascos de produtos para as ambas as formulações Ia e Ib para entender o risco de estabilidade física da solução. Os frascos de ambas as formulações foram armazenados a 5°C e as impurezas relacionadas ao ensaio foram testadas em diferentes pontos no tempo. Os dados de 3 meses não mostram grandes alterações no ensaio para todas as amostras testadas (Tabela 47). A degradação total permaneceu abaixo de 1% para ambas as formulações Ia e Ib após 55 dias de armazenamento das soluções refrigeradas. Com os dois degradantes de hidrólise crescendo ao longo do tempo, a formulação Ia mostrou a impureza total > 1% após 62 dias, enquanto a formulação Ib, devido ao baixo pH de sua solução reconstituída, ainda manteve sua impureza total abaixo de 1% por até 96 dias. Estes resultados mostram um baixo risco de precipitação do fármaco nas soluções reconstituídas das formulações Ia e Ib com base nos dados.

Tabela 47: Estabilidade da solução reconstituída em frascos a 5°C (formulações Ia e Ib)

Dia	Formulação	Ensaio %	Impurezas Relacionadas (RRT)				
			1,668	1,829	Composto 1	7,619	Total
					3,825		
0	la	104,2	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
	lb	99,4	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
23	la	106,4	0,17	0,23	99,55	0,05	0,45
	lb	98,2	0,13	0,00	99,87	0,00	0,13
27	la	104,8	0,19	0,25	99,46	0,10	0,54
	lb	98,3	0,23	0,23	99,48	0,06	0,52
55	la	106,6	0,28	0,09	99,63	0,00	0,37
	lb	101,2	0,38	0,49	99,13	0,00	0,87
62	la	105,9	0,42	0,55	98,71	0,00	1,28
	lb	101,6	0,33	0,10	99,51	0,00	0,49
96	la	103,6	0,66	0,86	98,48	0,00	1,52
	lb	100,2	0,50	0,15	99,35	0,00	0,65

Exemplo 12: Procedimentos de processo das formulações la e lb

[0750] Uma descrição detalhada do procedimento de processo da formulação la é a seguinte:

[0751] Composição: O ácido cítrico, o citrato de sódio e a hidroxipropil-beta-ciclodextrina (Kleptose[®]) são dissolvidos em Água para Injeção (WFI) em um recipiente de tamanho apropriado (Recipiente 1). O composto 1 é dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) em um recipiente separado (Recipiente 2). Esta solução de pré-mistura do Composto 1-DMSO é então adicionada ao Recipiente 1 através de uma pipeta eletrônica ou uma bomba peristáltica a uma taxa constante (~ 50 µL por adição a cada 10 segundos) enquanto a solução no Recipiente 1 está sendo misturada com bom vórtice. A solução é inspecionada visualmente para garantir que não haja partículas não dissolvidas no Recipiente 1. Após a mistura, o peso do lote é ajustado ao peso alvo com a WFI.

[0752] Filtragem: A solução em massa é então filtrada usando dois filtros

estéreis de 0,2 µm em série. Antes desta etapa, a solução em massa pode ser opcionalmente pré-filtrada usando um filtro estéril de 0,45 µm ou 0,2 µm.

[0753] Enchimento asséptico, liofilização e fechamento do frasco: O enchimento asséptico é realizado em um frasco de 20 ml com um volume alvo de enchimento de 8,40 mL (com transbordamento de 5%). As tampas de liofilização são então parcialmente colocadas (até o primeiro entalhe) em cada frasco cheio. O liofilizador é então carregado e o ciclo de liofilização (Tabela 13) é executado. Após a liofilização, os frascos são tampados sob pressão reduzida em uma atmosfera de nitrogênio e vedados.

[0754] O diagrama de fluxo de processo da Formulação Ia é ilustrado na FIG. 35 e os parâmetros do processo de liofilização da formulação Ia são mostrados na Tabela 48.

Tabela 48: Parâmetros do ciclo de liofilização da formulação Ia

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/congelamento do produto	5	2		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-50	4		140 microns
			30	
Secagem primária	-16	70		140 microns
			30	140 microns
Secagem secundária	50*	12		140 microns
Vedação	25			14,7 PSIA

*: 50°C foi usado em lotes de LTI; 60°C foi usado em lotes BSP

[0755] Uma descrição detalhada dos procedimentos de processo da

formulação Ib é a seguinte:

[0756] Composição: A hidroxipropil-beta-ciclodextrina (Kleptose®) é dissolvida em Água para Injeção (WFI) em um recipiente de tamanho apropriado (Recipiente 1). O composto 1 é dissolvido em ácido fórmico (FA) em um recipiente separado (Recipiente 2). Esta solução de pré-mistura do Composto 1-FA é então adicionada ao Recipiente 1 através de uma pipeta eletrônica ou uma bomba peristáltica a uma taxa constante (~ 50 µL por adição a cada 10 segundos) enquanto a solução no Recipiente 1 está sendo misturada com bom vórtice. A solução é inspecionada visualmente para garantir que não haja partículas não dissolvidas no Recipiente 1. Após a mistura, o peso do lote é ajustado ao peso alvo com a WFI.

[0757] Filtragem: A solução em massa é então filtrada usando dois filtros estéreis de 0,2 µm em série. Antes desta etapa, a solução em massa pode ser opcionalmente pré-filtrada usando um filtro estéril de 0,45 µm ou 0,2 µm.

[0758] Enchimento asséptico, liofilização e fechamento do frasco: O enchimento asséptico é realizado em um frasco de 20 ml com um peso alvo de enchimento de 8,0 mL (sem transbordamento). As tampas de liofilização são então parcialmente colocadas (até o primeiro entalhe) em cada frasco cheio. O liofilizador é então carregado e o ciclo de liofilização é executado. Após a liofilização, os frascos são tampados sob pressão reduzida em uma atmosfera de nitrogênio e vedados.

[0759] O diagrama de fluxo de processo da Formulação Ib é ilustrado na FIG. 36 e os parâmetros do processo de liofilização da formulação Ib são mostrados na Tabela 49.

Tabela 49: Parâmetros do ciclo de liofilização da formulação Ib

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/congelamento do produto	5	2		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-50	6		140 microns
			30	
Secagem primária	-16	90		140 microns
			30	140 microns
Secagem secundária	60	18		140 microns
Vedação	25			14,7 PSIA

Exemplo 13: Avaliação de Risco de Supersaturação da Formulação Ib

[0760] Na formulação Ib descrita no Exemplo 11, a solução em massa e a solução reconstituída são cerca de 2 vezes supersaturadas acima da sua solubilidade de equilíbrio. Dois estudos foram realizados para avaliar os riscos de supersaturação de formulações à base de Kleptose. O objetivo do primeiro estudo é determinar a solubilidade de equilíbrio do Composto 1 em soluções de Kleptose de diferentes concentrações usando as abordagens 'de cima para baixo' e 'de baixo para cima'. O segundo estudo pretende avaliar a cinética da precipitação de fármacos na Formulação Ib.

Determinação da Solubilidade de Equilíbrio do Composto 1 em soluções de Kleptose

[0761] Uma abordagem 'de baixo para cima' foi empregada para medir a solubilidade de equilíbrio do Composto 1 em soluções de Kleptose. Neste experimento, dez soluções foram preparadas dissolvendo Kleptose e ácido fórmico em WFI. A concentração de Kleptose em todas as dez soluções variou de

30 mg/mL a 250 mg/mL, enquanto a concentração de ácido fórmico foi mantida constante em 1,65 mg/mL, conforme usado na solução em massa da formulação Ib. O Composto 1 em excesso de aproximadamente 25 mg foi adicionado a cada uma das soluções de 100 mL preparadas e misturado por 48 ou 72 horas a 25°C. Em seguida, a amostra de cada solução foi coletada e centrifugada para o teste do ensaio. A solubilidade do Composto 1 em cada veículo está listada na Tabela 50.

Tabela 50: Solubilidade do Composto 1 em soluções de Kleptose

Kleptose (mg/mL)	Ácido fórmico (mg/mL)	Solubilidade de 48 horas a 25°C (mg/mL)
30	1,65	0,021
60		0,037
70		0,047
80		0,050
90		0,059
100		0,065
130		0,086 ^a
170		0,115 ^a
200		0,131 ^a
250		0,171 ^a

^a: solubilidade medida após 72 horas a 25°C

[0762] Verificou-se que a solubilidade do Composto 1 aumentou linearmente com a concentração de Kleptose, conforme mostrado na FIG. 37.

[0763] Outro experimento de solubilidade foi realizado usando uma abordagem 'de cima para baixo', ou seja, adicionando o Composto 1 cristalino a uma solução supersaturada para induzir a precipitação do Composto 1 até a solução atingir a solubilidade de equilíbrio. Na experiência, seis formulações de solução foram preparadas adicionando o Composto 1 de 100 mg/mL em pré-mistura de ácido fórmico a uma solução de Kleptose para fazer a concentração

final do fármaco a aproximadamente 125 µg/mL. A concentração de Kleptose variou de 30 a 100 mg/mL. Em seguida, 1 mL de pasta do Composto 1 em água contendo 6,25 mg de Composto 1 (responsável por cerca de 10% do Composto 1 total em solução) foi adicionado a 500 mL de solução de Composto 1/Kleptose e misturado continuamente por 9 dias a 25°C. O ensaio da solução foi testado no final de 9 dias e os resultados são mostrados na Tabela 51. Em contraste, o ensaio da mesma solução sem adição da pasta do Composto 1 também foi monitorado por até 4 semanas a 25°C. Os resultados do ensaio no final de 4 semanas são mostrados na Tabela 51.

Tabela 51 Solubilidade do Composto 1 na abordagem 'de cima para baixo'

Kleptose (mg/mL)	Ácido fórmico (mg/mL)	Ensaio em t=0 (mg/mL)	Ensaio em t=9 dias com cristal de Composto 1 a 25°C (mg/mL)	Ensaio em t=4 semanas sem cristal de Composto 1 a 25°C (mg/mL)
30	1,65	0,114	0,036	0,036
60		0,115	0,065	0,114
70		0,115	0,077	0,114
80		0,116	0,103	0,114
90		0,116	0,114	0,115
100		0,117	0,117	0,115

[0764] Os resultados mostraram que todas as seis soluções, exceto a com 30 mg/mL de Kleptose, permaneceram relativamente estáveis a 25°C, sem alteração do ensaio após 4 semanas, sem a adição de cristais de Composto 1 nas soluções. Quando o material do Composto 1 cristalino foi adicionado à solução, as soluções com 30-80 mg/mL de Kleptose foram observadas com precipitação óbvia do fármaco. Quanto menor a concentração de Kleptose na solução, maior a redução do ensaio após 9 dias de mistura. Não houve alteração do ensaio nas soluções com 90-100 mg/mL de Kleptose, mesmo na presença de cristais de

Composto 1. O Composto 1 precipitado foi confirmado como sendo a Forma B em vez da Forma C do material inicial por XRPD (dados não mostrados). Isso sugere que a solubilidade medida a partir da abordagem 'de cima para baixo' era a da Forma B. Portanto, os valores eram mais altos que a solubilidade da Forma C obtida a partir da abordagem 'de baixo para cima'. Isso pode exigir mais tempo para que a abordagem 'de cima para baixo' atinja a solubilidade de equilíbrio da forma de Composto 1 mais estável termodinamicamente (Forma C).

Cinética da precipitação de fármacos em soluções de Kleptose supersaturadas

[0765] No primeiro estudo de precipitação, quatro formulações de solução foram preparadas a uma concentração de Kleptose de 100 mg/mL. A concentração do fármaco do Composto 1 variou de 50 µg/mL a 480 µg/mL em cada formulação. A mesma quantidade de material do Composto 1 cristalino foi adicionada a cada formulação (1,25 mg do Composto 1 a 500 g de solução) após a conclusão da composição. Em seguida, as soluções foram armazenadas em três condições: (1) em condições ambientais com mistura suave; (2) em condições ambientais sem mistura; (3) a 2-8°C sem mistura. O ensaio de cada solução em t=48 horas foi testado. Os resultados são mostrados na Tabela 52.

Tabela 52: Precipitação de fármaco do Composto 1 em soluções de Kleptose de 100 mg/mL

	F1	F2	F3	F4
Ensaio t=0 (µg/mL)	57,9	152,5	303,4	482,0
Cristal API adicionado/API total na solução	5%	2,5%	1,25%	0,6%
t=ensaio de 48 horas (µg/mL), sem mistura à temperatura ambiente	57,9	149,6	278,7	357,1
t=ensaio de 48 horas (µg/mL), mistura suave à temperatura ambiente	57,9	149,8	234,7	135,6
t=ensaio de 48 horas (µg/mL), sem mistura a	57,9	148,4	NT	NT

5°C				
Alteração do ensaio de t=0				
48 horas sem mistura à temperatura ambiente	0,0%	-1,9%	-8,1%	-25,9%
48 horas de mistura à temperatura ambiente	0,0%	-1,8%	-22,7%	-71,9%
48 horas sem mistura a 5°C	0,0%	-2,7%	NT	NT

[0766] A formulação F1 permaneceu estável em todas as três condições de armazenamento, sem alteração do ensaio dentro de 48 horas. A formulação F2 terminou com uma concentração de cerca de 148 µg/mL, com redução do ensaio de 2-3% de t=0 após 48 horas de armazenamento para todas as três condições de armazenamento. A formulação F3 e F4, apesar de uma razão mais baixa de sementeira do Composto 1, mostrou redução significativa do ensaio desde a inicial. A mistura acelerou a cinética de precipitação de fármacos em ambas as formulações. Concluiu-se que os riscos de precipitação de fármacos em soluções de Kleptose de 100 mg/mL aumentaram a uma razão de supersaturação mais alta e quando a mistura foi aplicada à solução.

[0767] No segundo estudo de precipitação, três formulações de solução foram preparadas com a concentração de Kleptose de 10%, 15% e 20% em cada formulação, respectivamente. A concentração de fármaco correspondente de cada formulação foi de 300, 400 e 500 µg/mL, de modo que a razão de supersaturação seja de cerca de 5x para todas as três formulações. Após a adição de 2% das sementes de cristal do Composto 1, cada formulação da solução foi armazenada em duas condições diferentes: (1) na condição ambiental com mistura suave; (2) a 2-8°C sem mistura. O ensaio de todas as soluções foi monitorado por até 34 dias. No estudo, os mesmos experimentos foram repetidos duas vezes para avaliar a reprodutibilidade dos resultados. Os resultados do ensaio são mostrados na FIG. 38 e na FIG. 39.

[0768] Conforme mostrado na FIG. 38, a precipitação de fármacos tornou-se mais lenta com o aumento da concentração de Kleptose. Para a Formulação

F1 com Kleptose de 10%, a concentração do fármaco atingiu a estabilização a aproximadamente 98 µg/mL após 7 dias à temperatura ambiente. A Formulação F2 com Kleptose de 15% pareceu atingir uma concentração de estabilização de 184 µg/mL após 34 dias, enquanto a concentração da Formulação F3 com Kleptose de 20% caiu para 290 µg/mL e ainda estava em tendência de declínio. Quando a solução supersaturada foi armazenada a 2-8°C sem mistura, a taxa de precipitação de fármacos foi ainda mais lenta, conforme mostrado na FIG. 39. Os valores do ensaio das três formulações após 34 dias tornaram-se 97 µg/mL, 133 µg/mL e 385 µg/mL, respectivamente.

[0769] Com base nesses dois estudos de precipitação mais o realizado no estudo de solubilidade 'de cima para baixo', a solubilidade aparente do Composto 1 em uma solução de Kleptose de 10% à temperatura ambiente foi de 135 µg/mL após 2 dias, 115 µg/mL após 9 dias e 98 µg/mL após 34 dias. Isso sugeriu que a formulação Ib, que consiste em Kleptose de 10% e uma concentração de fármaco de 125 µg/mL, embora em estado supersaturado, pode sofrer uma cinética de precipitação muito lenta para atingir sua solubilidade de equilíbrio em dias ou semanas, devido ao efeito de estabilização de Kleptose como um agente complexante.

Estabilidade física da solução em massa da Formulação Ib e da solução reconstituída

[0770] Neste estudo, a solução em massa (Kleptose de 10%, Composto 1 de 125 µg/mL) e a solução reconstituída (Kleptose de 16%, Composto 1 de 200 µg/mL) para a Formulação Ib foram preparadas e depois expostas à 0,5% de sementes de Composto 1. Ambas as soluções foram armazenadas à temperatura ambiente com mistura contínua por 48 horas. Os ensaios das soluções foram monitorados em diferentes pontos no tempo. Subsequentemente, o experimento foi repetido com 2,5% de sementes de Composto 1. Os resultados

dos dois experimentos são mostrados na Tabela 53.

Tabela 53: Ensaio da solução em massa e da solução reconstituída para a Formulação Ib com sementes de Composto 1

	Ponto de Tempo (h)	Temperatura Ambiente, misturando com 0,5% de sementes de Composto 1		Temperatura Ambiente, misturando com 2% de sementes de Composto 1	
		Concentração (µg/mL)	Alteração do ensaio de T0	Concentração (µg/mL)	Alteração do ensaio de T0
F1 (10% de CD, 125 µg/mL)	0	133,6	0,0%	128,3	0,0
	1	137,9	3,2%	126,7	-1,2
	2	129,3	-3,2%	128,2	-0,1
	4	138,1	3,3%	127,1	-0,9
	24	134,6	0,7%	128,5	0,1
	48	134,4	0,6%	127,8	-0,4
F2 (16% de CD, 200 µg/mL)	0	204,2	0,0%	206,6	0,0
	1	203,8	-0,2%	202,3	-2,1
	2	200,3	-1,9%	203,7	-1,4
	4	200,8	-1,7%	201,7	-2,4
	24	205,4	0,6%	204,4	-1,1
	48	202,2	-1,0%	203,2	-1,6

[0771] Foi demonstrado que, mesmo na presença de sementes de Composto 1, a solução em massa e a solução reconstituída permaneceram relativamente estáveis à temperatura ambiente em 48 horas, sem tendência óbvia de redução do ensaio ao longo do tempo, independentemente da quantidade de sementes de Composto 1 (0,5% ou 2,5%) adicionada à formulação. A alteração do teste de T0 é de 3% ou menos, bem dentro da especificação de teste de 90-110%. Isso implicou que os riscos de precipitação de fármacos da formulação Ib durante a fabricação e a administração em uso do paciente eram bastante baixos, especialmente quando as soluções estavam

essencialmente livres de corpos estranhos em uma condição asséptica bem controlada.

Exemplo 14: Desenvolvimento de Formulação da Formulação Ic

Definição do espaço de projeto da formulação

[0772] Existem duas restrições principais no projeto da formulação ICP: (1) a razão de supersaturação da formulação, que afeta a estabilidade do produto farmacêutico; (2) a quantidade total de ingestão de Kleptose na dose final, que afeta o perfil de segurança do produto farmacêutico. A razão de supersaturação e a quantidade total de ingestão de Kleptose podem ser expressas em função da concentração do fármaco, da concentração de Kleptose e da dose total do medicamento nas seguintes equações:

$$\text{Razão de Supersaturação} = \frac{\text{Concentração de Fármaco}}{\text{Solubilidade de Equilíbrio}}$$

Ingestão Total de Kleptose

$$= \frac{\text{Dose Total de Fármaco}}{\text{Concentração de Fármaco}} \times \text{Concentração de Kleptose}$$

[0773] Com base nos dados de solubilidade mostrados na FIG. 40, a solubilidade de equilíbrio está linearmente correlacionada com a concentração de Kleptose e pode ser calculada por:

$$\begin{aligned} \text{Solubilidade de Equilíbrio} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) \\ = 0,0007 \times \text{Concentração de Kleptose} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) + 0,0014 \end{aligned}$$

[0774] Desde que o volume máximo de preenchimento seja de 50 mL em um frasco de 100cc e um máximo de 2 frascos possa ser dosado para um paciente, a interdependência entre a razão de supersaturação, a ingestão total de Kleptose e a dose máxima a ser transmitida foi plotada na FIG. 40.

[0775] Preferencialmente, a razão de supersaturação da formulação deve estar abaixo de 1 (ou seja, não supersaturada). A ingestão de Kleptose deve ser

menor que o limite permitido de exposição diária (PDE) de 300 mg/kg/dia. Uma avaliação toxicológica baseada no produto farmacêutico IV comercial sugeriu uma dose diária de Kleptose abaixo de 8 g/dia. A dose máxima que pode ser transmitida dentro do espaço de projeto de formulação era menor do que 6 mg. Como a dose superior da formulação do produto comercial pretendido (ICP) foi estabelecida em 3,6 mg/dia, uma formulação à base de Kleptose pode ser identificada dentro do espaço de projeto para equilibrar entre o nível de supersaturação e a ingestão total de Kleptose.

Avaliação de Formulações de Protótipos

[0776] Uma série de lotes de viabilidade foi fabricada em escala laboratorial (3-15 L) com concentração variada de fármacos, concentração de Kleptose, volume de enchimento e tamanho do frasco. O mesmo ciclo de liofilização usado na formulação Ib foi adotado para todos os lotes de viabilidade. O estudo tem dois objetivos: (1) demonstrar a viabilidade de transmitir uma dose que varia de 1 mg a 6 mg em uma formulação à base de Kleptose; (2) avaliar o impacto da apresentação da formulação (volume de enchimento e tamanho do frasco) nos atributos de qualidade críticos do produto farmacêutico, tal como aparência do bolo, tempo de reconstituição e nível de ácido fórmico residual. As composições da formulação são mostradas na Tabela 54.

Tabela 54: Formulações de protótipos avaliadas nos lotes de viabilidade

	Kleptose conc. (mg/mL)	Carga de Fármaco (mg/frasco)	Conc. de fármaco (mg/mL)	Volume de enchimento (mL/frasco)	Tamanho do frasco (mL)
1	100	2	0,075	26,7	50
2		1	0,125	8	30
3		1	0,125	8	20
4		1,5	0,125	12	30
5		1,5	0,125	12	50

6		1,5	0,125	12	100
7		2	0,125	16	30
8		2	0,125	16	30
9		2	0,125	16	30
10		3	0,125	24	50
11		3	0,125	24	100
12		5	0,125	40	100
13		6,25	0,125	50	100
14	150	1,8	0,075	24	50
15		1,8	0,075	24	100
16		3	0,075	40	100
17		2	0,08	25	50
18		1	0,125	8	20
19		2	0,125	16	30
20	200	2	0,08	25	50
21		2	0,08	25	50
22		4	0,1	40	100
23		4	0,1	40	100
24		5	0,1	50	100
25		5	0,1	50	100

[0777] As amostras liofilizadas de cada formulação foram testadas na aparência do bolo, no ensaio e nas impurezas, no solvente residual e no tempo de reconstituição. Os resultados do teste estão resumidos na Tabela 55. Como os componentes da formulação e o processo de fabricação dessas formulações de protótipo são muito semelhantes aos da formulação Ib, esperava-se que os perfis de estabilidade dos produtos farmacêuticos liofilizados fossem comparáveis aos da formulação Ib. Portanto, a avaliação da estabilidade não foi realizada nesses lotes de viabilidade.

Tabela 55 Resultados dos testes de formulações de protótipos nos lotes de viabilidade

	FP Ensaio ^a (% LC)	Total de Impurezas (%)	FA residual ^a (mg/frasco)	Volume de Recon (mL)	Tempo de Recon ^b (seg)
1	100	1,47	5,99	16,6	31,5
2	102	0,04	0,98	5	42,5
3	100	0,88	1,23	4,5	50,5
4	99,3	ND	1,76	7,5	40
5	100,7	0,11	1,61	7,5	45
6	100,7	ND	1,59	7,5	42
7	100,73	NT	3,17	9	135
8	98	ND	2,92	9	36,5
9	100	0,65	3,54	10	40
10	99,7	0,13	3,56	15	48,5
11	100	0,2	3,57	15	51,5
12	97,4	0,04	6,48	25	44
13	96	0,07	10,23	31,25	53,5
14	98,3	0,51	5,5	22,5	74
15	98,9	0,5	5,08	22,5	91,5
16	99	0,09	8,26	37,5	85
17	100	1,64	7,54	23,4	73,5
18	100	1,24	2,13	7,5	60
19	100	1,06	6,38	15	63
20	92,00	NT	9,74	25	237
21	99	ND	9,45	25	120
22	94	NT	16,93	40	310
23	101	ND	15,42	40	133
24	94	NT	22,96	50	261
25	100,3	ND	21,15	50	120

[0778] As vinte e cinco formulações de protótipos cobriram um amplo intervalo de carga de fármacos de 1-6,25 mg/frasco. A concentração de Kleptose variou de 10% a 20%, a concentração do fármaco variou de 0,075 mg/mL a 0,125 mg/mL, e o volume de enchimento variou de 8 mL a 50 mL em diferentes tamanhos de frasco. Todos os frascos liofilizados mostraram aparência de bolo elegante e valores aceitáveis de ensaio/impureza. O tempo de reconstituição foi menor do que 5 minutos para todas as formulações de protótipos. As formulações com 20% de Kleptose tendem a ter um tempo de reconstituição mais longo do que aquelas com 10% ou 15% de Kleptose, o que pode ser atribuído ao aumento da viscosidade da solução reconstituída em uma

concentração mais alta de Kleptose. No geral, a formulação à base de Kleptose demonstrou sua robustez, apesar das diferenças na concentração de Kleptose, concentração de fármaco, volume de enchimento e tamanho do frasco.

[0779] O nível de ácido fórmico residual variou em um amplo intervalo nas diferentes formulações de protótipos. Verificou-se que a eficiência da remoção do ácido fórmico residual estava negativamente correlacionada com a quantidade total de Kleptose no frasco. Conforme mostrado na FIG. 41, a porcentagem de ácido fórmico removido pelo mesmo ciclo de liofilização diminuiu com o aumento da quantidade de Kleptose. Isso pode ser explicado pela propensão do solvente de retenção da Kleptose em sua cavidade complexa.

[0780] O impacto da espessura do bolo no nível de ácido fórmico residual também foi investigado. Conforme mostrado na FIG. 42, o nível de ácido fórmico residual era independente da altura de enchimento, dada a mesma quantidade de Kleptose no frasco. Isso sugere que o aumento da resistência à transferência de massa em um bolo liofilizado mais espesso pode ter um impacto mínimo no nível de ácido fórmico residual. Pelo contrário, o nível de ácido fórmico residual aumentou com o aumento da quantidade de Kleptose, o que é consistente com a tendência observada na FIG. 41.

[0781] Sabe-se que o nível de ácido fórmico residual na formulação Ib é de cerca de 0,9 mg/frasco para uma dose de 1 mg na apresentação do frasco de 20cc e a especificação de liberação de ácido fórmico residual é NMT 2,5 mg por mg de API, de modo que a ingestão diária total de ácido fórmico possa ser mantida abaixo do limite ICH de 50 mg/dia para uma dose máxima de 20 mg. Como uma comparação com a formulação Ib, o ácido fórmico residual por mg de Composto 1 de todas as 25 formulações de protótipo é plotado em função da concentração de Kleptose na FIG. 43. Tendo em conta as várias cargas de fármacos e apresentações de tamanho de frascos, o nível de ácido fórmico

residual é de 1,0-1,8 mg/mg de Composto 1 a uma concentração de Kleptose de 100 mg/ml (igual à formulação Ib), 2,1-3,8 mg/mg de Composto 1 a uma concentração de Kleptose de 150 mg/ml e 3,9-4,9 mg/mg de Composto 1 a uma concentração Kleptose de 200 mg/ml. Portanto, o ácido fórmico residual de todas as formulações de protótipos, independentemente da concentração de Kleptose, deve estar bem abaixo do limiar de ICH para uma dose máxima de 3,6 mg.

Seleção de formulação final

[0782] Como todas as formulações de protótipo foram consideradas viáveis com ensaio e impureza aceitáveis, nível de solvente residual e tempo de reconstituição, a equipe DPD selecionou uma formulação na qual 0,08 mg/mL de Composto 1 foi dissolvido em 150 mg/mL de Kleptose com o auxílio de ácido fórmico. Com concentração reduzida de fármaco e concentração aumentada de Kleptose, essa nova formulação produziu a solução em massa insaturada e a solução reconstituída. Como resultado, isso elimina os riscos potenciais de precipitação de fármacos apresentados na formulação Ib. A formulação é referida como formulação Ic. Alternativamente, uma formulação na qual 0,08 mg/mL de API foi dissolvido em 100 mg/mL de Kleptose com o auxílio do ácido fórmico também pode ser considerada. Esta formulação é referida como formulação lbm, reduziu a razão de supersaturação da formulação Ib de 2x para 1x, aliviando assim os riscos potenciais de precipitação do fármaco. As composições da formulação Ic estão listadas na Tabela 56 em comparação com a formulação lbm.

Tabela 56: Composição da formulação Ic em comparação com a formulação lbm

	Formulação lbm	Formulação Ic
Composto 1	1,0 mg/frasco	1,0 mg/frasco

Kleptose® HPB (HP-β-CD), grau parenteral	1275 mg/frasco	1875 mg/frasco
Ácido fórmico (no solvente do processo)	Parcialmente removido após a secagem	Parcialmente removido após a secagem
Água para injeção (no meio do processo)	Removido na secagem	Removido na secagem

Exemplo 15: Avaliação da Estabilidade da Formulação

[0783] A avaliação da estabilidade da formulação contém três partes: (1) a estabilidade física e química da solução em massa, que determina o tempo máximo de espera no processo de fabricação; (2) o teste de estabilidade ICH do bolo liofilizado, que determina o prazo de validade do produto farmacêutico acabado; (3) a estabilidade física e química da solução reconstituída de fármaco no frasco e na bolsa IV, que determina o tempo de uso da administração do fármaco a um paciente.

Estabilidade de Soluções em Massa

[0784] A solução em massa da formulação Ic consistia em 150 mg/ml de Kleptose, 0,08 mg/ml do Composto 1 e 0,98 mg/ml de ácido fórmico. A solução em massa tinha o pH de 2,8 e a concentração do fármaco da solução em massa estava abaixo da sua solubilidade de equilíbrio, de modo que os riscos de supersaturação incorporados na formulação Ib fossem eliminados na formulação Ic. Portanto, esperava-se que a estabilidade física e química da solução em massa Ic fosse superior à da formulação Ib. O estudo de "tempo de espera" da solução em massa foi realizado posteriormente no lote de manipulação e confirmou uma estabilidade da solução em até 24 horas em condições ambientais.

Estabilidade de produtos acabados

[0785] A estabilidade do produto farmacêutico da formulação Ic foi avaliada usando os frascos de um lote de desenvolvimento. Os resultados de

estabilidade são mostrados na Tabela 57. Os produtos farmacêuticos permaneceram estáveis, sem grandes alterações na aparência, ensaio e impurezas e tempo de reconstituição após 6 meses de armazenamento em ambas as condições de 25°C/60%RH e 40°C/75%RH. Este resultado é usado para sustentar uma vida útil de até 18 meses em condições ambientais para a formulação Ic.

Tabela 57: Estabilidade do produto farmacêutico da formulação Ic

Teste	Critério de Aceitação	t=0	25°C/60%RH	40°C/75%RH		
			6 Meses	1 Mês	3 Meses	6 Meses
Aparência	Bolo ou pó	Bolo	Bolo	Bolo	Bolo	Bolo
Cor	Branco a esbranquiçado	Branco	Branco	Branco	Branco	Branco
Teor de Água	Relatar resultados	0,06%	0,08%	0,09%	0,11%	0,17%
Tempo de Recon ¹	Relatar resultados	118 segundos	106 segundos	116 segundos	101 segundos	150 segundos
pH de Recon	NLT 2,7	3,2	3,2	3,1	3,2	3,2
Ensaio	90,0 a 110,0% de LC	100,0%	98,6%	100,0%	98,9%	98,6%
Impurezas Relacionadas	Individual: NMT 1,0% Total: NMT	Individual: 0,08% Total:	Individual: <0,05% Total	Individual: <0,05% Total <0,0	Individual: <0,05% Total	Individual: <0,05% Total

Exemplo 16: Otimização do processo de liofilização da Formulação Ic

I. Caracterização Térmica da Formulação Ic

[0786] A análise térmica foi realizada com o microscópio de liofilização (FDM) e a calorimetria de varredura diferencial de baixa temperatura (LT-DSC) nas formulações Ib e Ic. A formulação Ic tinha uma concentração de fármaco de

0,125 mg/ml. Um resumo dos resultados é mostrado na Tabela 58. A Formulação Ic exibiu uma temperatura de colapso semelhante e Tg' como a Formulação Ib. Com base neste resultado, a temperatura recomendada do produto durante a secagem primária do processo de liofilização é de -11°C a -12°C, 2-3 graus abaixo da temperatura de colapso.

Tabela 58: Temperatura de colapso e Tg' das Formulações Ib e Ic:

	Formulação Ib	Formulação Ic
Tg' (DSC)	-11,4°C	-11,0°
Temperatura de Início de Colapso (FDM)	-9,3°C	-9,0°

II. Modelagem de liofilização

[0787] Em vez de executar experimentos de liofilização por tentativa e erro, um modelo de liofilização desenvolvido pelo Professor Michael Pikal foi utilizado em primeiro lugar para prever os perfis de temperatura do produto em diferentes condições de secagem. Os dados existentes do termopar coletados de três lotes de desenvolvimento da Formulação Ib foram usados como a entrada do modelo para calcular o coeficiente de resistência à transferência de massa (R_p) em função da espessura da camada seca (L_{dry}), bem como o coeficiente de transferência de calor (k_v). Em seguida, os coeficientes R_0 , A_1 e A_2 foram derivados do ajuste da curva com base na equação abaixo. Os parâmetros calculados são mostrados na Tabela 59.

$$R_p = R_0 + \frac{A_1 \times L_{dry}}{1 + (A_2 \times L_{dry})}$$

Tabela 59: Coeficiente de transferência de calor calculado e resistência do produto

Lote#	Termopar #	Resistência do produto (R_p)			Coeficiente de transferência de calor (K_v)
		R0	A1	A2	
A	TP1	0	64,32	2,9	4,49E-04
	TP2	0	61,69	3,7	4,04E-04
	TP3	1,72	100	3,4	7,60E-04
	TP4	0	54,19	2,5	4,78E-04
B	TP1	0	60,5	2,3	5,45E-04
	TP2	0	58,8	3,6	5,26E-04
	TP3	0	74,6	3,0	5,58E-04
C	TP1	1,68	100	4,0	9,49E-04
	TP2	0	56,5	3,1	5,50E-04
	TP3	0	87,8	3,6	5,43E-04
	TP4	0	75,4	2,9	4,84E-04
Mediana		0	64,32	3,1	N/A

[0788] Devido à T_g' semelhante e à temperatura de colapso entre as Formulações Ib e Ic, os valores calculados de R_p e K_v da Tabela 59 foram aplicados na previsão do modelo da formulação Gen2c, juntamente com outros parâmetros conhecidos, conforme listado na Tabela 60.

[0789] Como os frascos centrais têm K_v menor que os frascos de borda ($4,04 \times 10^{-4}$ vs. $9,49 \times 10^{-4}$), os frascos centrais exigem um tempo de secagem mais longo que os frascos de borda, enquanto os frascos de borda tendem a ter uma temperatura de produto mais alta que os frascos centrais, resultando em uma maior risco de colapso do bolo. Portanto, K_v de frascos centrais foram usados para estimar o tempo de secagem e K_v de frascos de borda para estimar a temperatura do produto em diferentes condições de temperatura de plataforma (T_s) como o pior caso de cenário na modelagem. Conforme mostrado na Tabela 61, a uma temperatura de plataforma de 10°C , a temperatura prevista do produto é de aproximadamente -12°C , próximo à temperatura recomendada do

produto do estudo FDM acima. Na mesma condição de plataforma, o tempo de secagem primária previsto é de aproximadamente 20 horas para a dose de 1,0 mg em frasco de 20cc, em oposição a 70 horas no ciclo de liofilização da formulação Ib.

Tabela 60: Parâmetros de entrada principais usados na modelagem de liofilização

Parâmetro modelo	Valor	Comentários
R0	0,1	Do modelo construído; evite o valor de 'R0 = 0' que resulta em erro computacional
A1	64,32	
A2	3,1	
Kv, $10^{4} \text{ cal.s}^{-1}.\text{cm}^{-2}.\text{K}^{-1}$	4,04 (centro) 9,49 (borda)	Do modelo construído –
Volume de enchimento, mL	8	Apresentação do produto
Teor de sólidos, g/g	0,0972	Parâmetro de formulação
CSA interno (Ap), cm ²	5,87	Dimensões de frasco
CSA externo/CSA interno (Av/Ap)	1,18	
Temp da Plataforma (Ts), °C	-16 °C	Condições de operação
Pressão da câmara, mtorr	140	

Tabela 61: Tempo previsto de secagem primária e temperatura do produto

Formulação Ic	Tempo de secagem primária previsto (Fracos centrais)			
	Ts=-5°C	Ts=0°C	Ts=5°C	Ts=10°C
Frasco de 20cc (dose de 1 mg, enchimento de 12,5 mL)	34,8 h	28,3 h	23,7 h	20,4 h
Frasco de 50cc (dose de 2 mg, enchimento de	68,9 h	56,0 h	47,0 h	40,3 h

Formulação Ic		Tempo de secagem primária previsto (Frascos centrais)		
25 mL)				
		Temperatura Prevista do Produto (frascos de borda)		
	T _s =-5°C	T _s =0°C	T _s =5°C	T _s =10°C
Frasco de 20cc (dose de 1 mg, enchimento de 12,5 mL)	-16,8°C	-14,9°C	-13,2°C	-11,6°C
Frasco de 50cc (dose de 2 mg, enchimento de 25 mL)	-16,9°C	-15,0°C	-13,3°C	-11,8°C

Exemplo 17: Desenvolvimento do ciclo de liofilização para lote de 3 L

[0790] Com base nos resultados da modelagem, um lote de 3 L de liofilização da Formulação Ic foi fabricado usando um liofilizador em escala de laboratório (Modelo SP Virtis Genesis 25 EL). Os produtos farmacêuticos foram 2 mg/frasco de carga de fármaco ou 25 ml de enchimento em um frasco de 50cc. Os parâmetros do ciclo de liofilização são mostrados na Tabela 62. A temperatura da plataforma e a pressão da câmara no estágio de secagem primária foram estabelecidas a 10°C e 250 microns, respectivamente.

Tabela 62: Parâmetros do ciclo de liofilização para o lote 1 de escala de laboratório

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/congelamento	25	0,5		Evac. A 12

do produto			30	psia para garantir que a câmara esteja hermética
Congelamento	-40	6		
			30	
Secagem primária	10	90		250 microns
			30	250 microns
Secagem secundária	60	18		250 microns
Vedação	25			14,7 PSIA

[0791] Quatro termopares foram colocados em dois frascos centrais e dois frascos de borda, respectivamente. O perfil de temperatura do produto para o lote 1 de escala de laboratório é mostrado na FIG. 45. Os dois frascos de borda exibiram uma temperatura do produto de $\sim -11^{\circ}\text{C}$ em oposição a $\sim -14^{\circ}\text{C}$ dos dois frascos centrais durante a secagem primária. O 'ponto de interrupção', ou o ponto de tempo em que a temperatura do produto começou a se aproximar da temperatura da plataforma, foi de 24 horas para frascos de borda e 35 horas para frascos centrais. Não foi observado colapso do bolo no final do ciclo de liofilização. Este resultado experimental estava de acordo com os resultados da modelagem preditiva mostrados na Tabela 61.

[0792] Subsequentemente, para entender melhor a alteração de temperatura do produto em função da temperatura da plataforma, os mesmos frascos preenchidos foram submetidos a outro ciclo de liofilização, no qual a temperatura da plataforma da secagem primária foi aumentada gradualmente de 5°C a 14°C . O tempo de espera de cada etapa foi de 2 a 6 horas e a temperatura aumentou 3°C em cada etapa. Então a temperatura da plataforma foi reduzida a 10°C e mantida por 30 horas. Os parâmetros do ciclo de liofilização são mostrados na Tabela 63.

Tabela 63: Parâmetros do ciclo de liofilização lote 2 da escala de laboratório

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de absorção (horas)	Velocidade da rampa (°C/hora)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/congelamento do produto	25	0,5		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			30	
Congelamento	-40	6		
			30	
Secagem primária	5	6	30	250 microns
	8	3	30	250 microns
	11	3	30	250 microns
	14	2	30	
	10	30	30	250 microns
Secagem secundária	60	18		250 microns
Vedação	25			14,7 PSIA

[0793] Três termopares foram colocados em um frasco de borda, um frasco central e um frasco entre a borda e o centro, respectivamente. O perfil de temperatura do produto para o lote 2 de escala de laboratório é mostrado na FIG. 46. As temperaturas do produto medidas por cada termopar sob cada condição de temperatura da plataforma foram resumidas na Tabela 64 **Erro! Fonte de referência não encontrada.** Verificou-se que a temperatura do produto aumentou 1°C para cada aumento incremental de 3°C na temperatura da plataforma. Quando a temperatura da plataforma atingiu 11°C, os frascos no meio e no centro ainda apresentavam uma temperatura do produto abaixo de -11°C, enquanto o frasco de borda mostrava uma temperatura do produto de -9,6°C, excedendo a temperatura de colapso. No entanto, nenhum sinal de colapso do bolo foi observado em nenhum dos frascos liofilizados, incluindo os

frascos de borda. Quando a temperatura da plataforma foi aumentada para 14°C, a temperatura do produto já havia passado do 'ponto de interrupção', o que implica que a secagem primária está quase completa. Portanto, a temperatura elevada não causou nenhum colapso do bolo.

Tabela 64: Parâmetros do ciclo de liofilização, lote 2 da escala de laboratório

Temperatura da Plataforma (°C)	Temperatura do Produto (°C)		
	TC #5 (frasco de borda)	Tc #7 (frasco na linha do meio)	TC #8 (frasco central)
5	-12,1	-13,7	-15,3
8	-10,7	-12,3	-13,6
11	-9,6	-11,3	-12,5

[0794] Combinando os resultados das duas execuções de liofilização, a temperatura de plataforma recomendada e a pressão da câmara de secagem primária foram determinadas como 10°C e 250 microns, respectivamente.

Exemplo 18: Desenvolvimento do ciclo de liofilização para lotes de escala

[0795] Após as duas execuções de ensaios, três lotes de 15 L (Ic-1, Ic-2 e Ic-3) da formulação Ic foram fabricados usando um liofilizador de laboratório (Modelo: Millrock Magnum®). Cada lote incluiu dois sublotes, um para a dose de 1 mg/frasco e o outro para a dose de 4 mg/frasco. Os lotes Ic-1 e Ic-2 usaram o frasco de 20cc para a dose de 1,0 mg e o frasco de 100cc para a dose de 4 mg. Como uma pequena porcentagem de ruptura do frasco em sublote de dose de 1,0 mg foi observada em ambos os lotes e foi atribuída ao volume de enchimento relativamente alto no frasco de 20cc, um tamanho maior de frasco de 50cc foi usado para a dose de 1,0 mg no Lote Ic-3. A composição da formulação e a apresentação de cada sublote são mostradas na Tabela 65.

Tabela 65: Apresentações de formulação de lotes de desenvolvimento

Lote Nº	Carga de Fármaco (mg/frasco)	Kleptose (mg/frasco)	Volume de enchimento (mL/frasco)	Tamanho do frasco (mL)
lc-1-F1	1	1875	12,5	20
lc-1-F2	4	7500	50	100
lc-2-F1	1	1875	12,5	20
lc-2-F2	4	7500	50	100
lc-3-F1	1	1875	12,5	50
lc-3-F2	4	7500	50	100

[0796] As principais variáveis avaliadas nos três lotes de desenvolvimento são: temperatura da plataforma e pressão da câmara da secagem primária, bem como temperatura da plataforma e tempo de espera da secagem secundária. As condições do ciclo de liofilização de cada lote estão resumidas na Tabela 66.

Tabela 66: Parâmetros do ciclo de liofilização de lotes de desenvolvimento

	lc-1-F1	lc-2-F1	lc-3-F1
Temp de carregamento (°C)	20		
Temp de congelamento (°C)	-50		
Taxa de congelamento (°C/min)	0,5		
Tempo de espera por congelamento (minutos)	360		
Taxa de rampa de secagem (°C/min)	0,5		
Temperatura da plataforma PD (°C)	14	8	10
Pressão da câmara PD (mícrons)	275	225	250
Tempo de espera PD (minutos)	6060	7840	3300
Temperatura da plataforma SD (°C)	60	40	60
Pressão da câmara SD (mícrons)	275	225	250

	lc-1-F1	lc-2-F1	lc-3-F1
Tempo de espera SD (minutos)	1080	1080	2160
Temp da vedação (°C)	20		

I. Impacto da secagem primária na temperatura do produto e no tempo do ciclo

[0797] Os perfis de temperatura do produto dos três lotes de desenvolvimento são mostrados na FIG. 47 - FIG. 49. As características principais, incluindo a temperatura do produto durante a secagem primária e o tempo para atingir o ponto final da secagem primária, estão resumidas na Tabela 67. A temperatura do produto era de -10°C, -11°C e -13°C, respectivamente, em correspondência com uma temperatura de plataforma de 14°C, 10°C e 8°C, que era consistente com as verificações dos lotes anteriores descritos no Exemplo 37. Não foi observado colapso do bolo em nenhum dos três lotes, incluindo aquele com uma temperatura de plataforma de 14°C que tem uma temperatura de produto correspondente de -10°C. Esta é uma evidência que mostra a robustez do processo da formulação lc.

Tabela 67 Caracterização dos lotes de desenvolvimento de liofilização

Lote Nº	Temp do Produto PD (°C)	Tempo para atingir a temperatura de cruzamento (horas)	Tempo para o calibrador de pirani convergir com CM (horas)
lc-1-F1	-10	27	83
lc-1-F2		45	
lc-2-F1	-13	38	83
lc-2-F2		54	
lc-3-F1	-11	17	NA
lc-3-F2		53	

[0798] Existem diferentes abordagens para determinar o ponto final da secagem primária. A maneira mais conservativa é observar o ponto no tempo em que a curva de pressão do calibrador de pirani está totalmente convergida com a curva de pressão do manômetro de capacitância, o que indica que

nenhum vapor de água é sublimado do bolo seco. Uma maneira alternativa é observar o ponto no tempo em que a temperatura do produto está passando pela temperatura da plataforma, o que também indica a conclusão da sublimação. As únicas advertências dessa última abordagem são que o termopar deve ser colocado no fundo do frasco e os frascos com o termopar tendem a ter uma temperatura do produto ligeiramente mais alta do que os frascos sem termopar. Portanto, sempre são adicionados 10 a 30% adicionais de tempo de secagem após a temperatura de cruzamento ser atingida como uma almofada no final da secagem primária. Neste estudo, como cada lote continha dois sublotes com volume de enchimento e tamanho de frasco diferentes, a primeira abordagem não conseguiu refletir o ponto final da secagem primária para cada sublote, a segunda abordagem foi empregada para determinar o tempo de secagem primária de cada sublote individual. Conforme mostrado na Tabela 67, nos dois primeiros lotes, os sublotes Ic-1-F2 e Ic-2-F2 (dose de 4 mg) exigiram aproximadamente 1,5 vezes o tempo de secagem dos sublotes Ic-1-F1 e Ic-2-F1 (dose de 1,0 mg) devido ao aumento da espessura do bolo. O lote Ic-2 mostrou um tempo de secagem adicional de 20-40% do que o lote Ic-1 devido a uma temperatura mais baixa na plataforma. No Lote Ic-3, o tempo de secagem do sublote Ic-3-F1 foi reduzido para 17 horas, em oposição a 27 horas no Lote Ic-1-F1, apesar de uma temperatura de plataforma mais baixa a 10°C, principalmente por causa da espessura reduzida do bolo de 10 mm em um frasco maior de 50cc, em oposição a uma espessura do bolo de 18 mm em um frasco de 20cc. Com base neste resultado, a condição de secagem primária recomendada é uma temperatura de plataforma a 10°C, uma pressão na câmara a 250 microns e um tempo de espera de 20 horas para uma dose de 1,0 mg preenchida em um frasco de 50cc.

II. Impacto da condição do ciclo na água residual

[0799] Dois atributos críticos de qualidade do produto farmacêutico liofilizado final são o teor de água e o nível de solvente residual. Para avaliar a taxa de remoção de água e ácido fórmico durante a liofilização, os frascos das amostras foram puxados em diferentes pontos no tempo da etapa de secagem no Lote Ic-1 e Ic-2. O teor de água residual de cada amostra foi medido pelo método de Karl Fisher e os resultados são mostrados na FIG. 50. As quatro primeiras amostras foram puxadas na etapa de secagem primária entre o ponto no tempo em que a temperatura de cruzamento foi atingida e o ponto no tempo em que a secagem primária terminou. As últimas duas ou três amostras foram puxadas na etapa de secagem secundária entre o momento em que a secagem secundária durou de quatro a seis horas e o final da secagem secundária. Os dados mostraram que no momento em que a temperatura de cruzamento foi atingida, a umidade residual no bolo liofilizado já estava abaixo de 0,2%. O tempo adicional de secagem primária permitiu reduzir a umidade residual para 0,06%. Isto sugeriu que a maior parte da remoção de água ocorreu durante a etapa de secagem primária. Na etapa de secagem secundária, o nível de umidade residual foi reduzido adicionalmente para 0,04% nas primeiras quatro a seis horas e depois se estabilizou. A umidade residual dos produtos farmacêuticos acabados de ambos os lotes acabou no mesmo nível de 0,04%, independentemente do tamanho do bolo ou da diferença de temperatura de secagem. Da mesma forma, no Lote Ic-3, o nível de umidade residual dos produtos farmacêuticos acabados foi de 0,03% para ambos os sublotes, apesar de um tempo prolongado de secagem secundária de 36 horas. Em conclusão, um tempo de secagem secundária de 18 horas e uma temperatura de secagem de 40°C a 60°C foram suficientes para a remoção de umidade residual da formulação Ic.

III. Impacto da condição do ciclo no ácido fórmico residual

[0800] A alteração do ácido fórmico residual com o tempo de secagem também foi avaliada puxando os frascos das amostras em diferentes pontos no tempo, desde o final da secagem primária até o final da secagem secundária. Os resultados são mostrados na FIG. 51. O lote Ic-1 e Ic-2 tiveram um tempo de secagem secundária de 18 horas. No entanto, o Lote Ic-1 tinha uma temperatura de secagem secundária mais alta de 60°C do que 40°C do Lote Ic-2. Como resultado, o Lote Ic-1 exibiu uma taxa de remoção de ácido fórmico residual mais rápida que o Lote Ic-2. O ácido fórmico residual final em Ic-1 foi de apenas 60% do que no Lote Ic-2 para ambos os sublotes. Portanto, a temperatura de secagem secundária foi um parâmetro crítico do processo, com impacto significativo no nível de solvente residual do produto farmacêutico acabado. O nível de ácido fórmico residual também variou entre os dois sublotes no mesmo lote de liofilização. Em ambos os lotes, o sublote F1 (dose de 1,0 mg) mostrou apenas 80% do nível de ácido fórmico residual como no sublote F2 (dose de 4 mg). Não foi surpreendente, pois verificou-se que o nível residual de ácido fórmico aumentava com o aumento da quantidade de Kleptose no frasco de liofilização.

[0801] Também foi observado nos dois primeiros lotes que o nível de ácido fórmico residual não atingiu uma estabilização ao final da secagem secundária de 18 horas. Portanto, a secagem secundária foi estendida para 36 horas a 60°C no Lote Ic-3. Conforme mostrado na FIG. 51, o nível de ácido fórmico residual foi reduzido de 0,15% para 0,08% no sublote F1 quando o tempo de secagem foi dobrado para 36 horas. O sublote F2 seguiu a mesma tendência. Depois que os frascos foram descarregados do liofilizador após a conclusão do ciclo de liofilização, alguns frascos F1 e F2 foram colocados no forno a vácuo a 60°C por mais 24 horas. O ácido fórmico residual começou a mostrar uma estabilização no ponto no tempo de 16 horas no forno a vácuo e atingiu o nível mais baixo em 0,01% e 0,03% para os sublotes F1 e F2, respectivamente no final da secagem

em forno de 24 horas.

[0802] De acordo com as orientações de ICH Q3, o PDE do ácido fórmico é de 50 mg/dia como um solvente de Classe 3. Dada uma dose máxima de 4 mg/dia, o nível máximo permitido de ácido fórmico residual é de 12,5 mg/mg de API, ou 0,6%p/p do peso do bolo. Com base nos dados mostrados na FIG. 51, o nível de ácido fórmico residual era menor do que 0,2% após 18 horas de secagem secundária, muito abaixo do limiar de ICH. O dobro do tempo de secagem para 36 horas fornece apenas uma redução residual de ácido fórmico residual de 0,2% a aproximadamente 0,1%. Portanto, a equipe recomendou um tempo de secagem secundária de 18-24 horas a 60°C para a formulação Ic de diferentes apresentações de frascos para manter o nível de ácido fórmico residual abaixo de 0,4%p/p. Este nível de ácido fórmico residual da formulação Ic foi comparável à especificação de liberação de NMT 0,3%p/p na formulação Ib.

IV. Impacto da taxa de congelamento no tempo de ciclo e no ácido fórmico residual

[0803] Foi relatado em algumas literaturas que a taxa de congelamento pode ter impacto na eficiência de secagem primária e/ou secundária devido às alterações nas morfologias dos cristais de gelo. Portanto, foi realizado um estudo para avaliar o efeito da taxa de congelamento no tempo de secagem e no nível de solvente residual dos produtos farmacêuticos acabados. Dois lotes de liofilização de 10 L da formulação Ic foram fabricados. Cada lote de liofilização continha três sublotes, a saber 1,0 mg no frasco de 50cc, 2 mg no frasco de 50cc e 4 mg no frasco de 100cc. As taxas de congelamento usadas nos dois lotes de liofilização foram de 0,1°C/min e 1,0°C/min, respectivamente, em oposição à taxa de congelamento de 0,5°C/min usada em lotes de liofilização anteriores. Os parâmetros do ciclo de liofilização dos dois lotes estão descritos na Tabela 68.

Tabela 68: Parâmetros do ciclo de liofilização

	Lote C1	Lote C2
Temp de carregamento (°C)	20	
Temp de congelamento (°C)	-50	
Taxa de congelamento (°C/min)	0,1	1,0*
Tempo de espera por congelamento (minutos)	360	
Taxa de rampa de secagem (°C/min)	0,5	
Temperatura da plataforma PD (°C)	10	
Pressão da câmara PD (mícrons)	250	
Tempo de espera PD (minutos)	4170	4068
Temperatura da plataforma SD (°C)	60	
Pressão da câmara SD (mícrons)	250	
Tempo de espera SD (minutos)	1080	
Temp da vedação (°C)	25	

*: a taxa de congelamento real alcançada é de 0,85°C/min.

[0804] Conforme mostrado na FIG. 52 e FIG. 53, os perfis de temperatura do produto dos dois lotes eram comparáveis entre si, apesar da diferença na taxa de congelamento. As temperaturas do produto e o tempo de secagem primária de todos os sublotes no ponto de 'interrupção' estão resumidos na Tabela 69. As temperaturas do produto de 'interrupção' foram semelhantes em diferentes sublotes. Conforme esperado, o tempo de 'interrupção' aumentou com o aumento da dose ou do tamanho do bolo, e os frascos centrais exibiram um tempo de sublimação mais longo do que os frascos de borda nos dois lotes. O Lote C1, com uma taxa de congelamento mais alta, mostrou um tempo de secagem primária ligeiramente menor que o Lote C2.

Tabela 69: Temperatura do produto de 'ponto de interrupção' e tempo de secagem

Localização do termopar	Lote C1		Lote C2	
	Temperatura de Interrupção (°C)	Tempo de Interrupção	Temperatura de Interrupção (°C)	Tempo de Interrupção

		(horas)		(horas)
1 mg Centro	-19,0	9,6	-16,8	7,2
1 mg Frente mais Próxima	-18,4	8,5	-16,3	6,8
1 mg à Frente	-17,3	8,8	-12,9	7,3
2 mg Centro	-16,7	25,3	-16,1	25,5
2 mg Frente mais Próxima	-15,2	19,8	-16,6	16,6
2 mg à Frente	-16,2	22,4	-16,4	17,3
4 mg Centro	-17,6	40,2	-16,5	20,8
4 mg Centro	-16,8	40,8	-16,6	37,3
4 mg Frente mais Próxima	-17,8	33,3	-16,4	26,1
4 mg à Frente	-18,6	28,8	-16,6	25,4

[0805] Os frascos de liofilização acabados dos dois lotes mostraram aparência de bolo semelhante, conforme mostrado na FIG. 54. O ácido fórmico residual, a umidade residual e o tempo de reconstituição dos frascos de liofilização acabados dos dois lotes também foram testados. Os resultados do teste são mostrados na Tabela 70. O tempo de reconstituição foi comparável entre os dois lotes. Os níveis residuais de ácido fórmico de cada sublote no Lote C2 foram ligeiramente mais baixos do que seus equivalentes do Lote C1. Curiosamente, os níveis de umidade residual demonstraram uma tendência oposta, mostrando um nível mais alto no Lote C2. Sabe-se que uma taxa de congelamento mais rápida leva a cristais de gelo menores devido ao menor tempo de nucleação. Como resultado, a resistência de transferência de massa durante a secagem primária pode ser aumentada devido aos tamanhos de poros menores do bolo seco. Por outro lado, a eficiência de dessorção da secagem secundária pode ser aumentada devido à área de superfície aumentada do bolo seco. Especula-se que a remoção de água se baseie principalmente na secagem

primária e a remoção de ácido fórmico se baseie mais na secagem secundária. Isso pode explicar as diferenças nos níveis de ácido fórmico residual e umidade residual entre os dois lotes. No entanto, a diferença entre os dois lotes foi considerada não substancial, sugerindo que a taxa de congelamento não teve impacto significativo nos atributos críticos de qualidade do produto farmacêutico acabado. Como resultado, a equipe decidiu manter a taxa de congelamento a 0,5°C/min para lotes futuros

Tabela 70: Teste de produto farmacêutico acabado dos Lotes C1 e C2

Nome da amostra	Local	Lote C1			Lote C2		
		FA residual (mg/frasco)	Umidade (%)	Tempo de Recon (seg)	FA residual (mg/frasco)	Umidade (%)	Tempo de Recon (seg)
Dose de 1,0 mg	Borda frontal	2,31	0,05	57	1,53	0,15	68
	Borda	2,13	0,04		1,72	0,16	
	Centro	2,05	/		1,26	/	
	Média	2,16	0,04		1,50	0,15	
Dose de 2,0 mg	Borda frontal	4,78	0,04	48	4,27	0,11	48
	Borda	4,70	0,03		3,65	0,09	
	Centro	3,83	/		3,52	/	
	Média	4,44	0,04		3,81	0,10	
Dose de 4,0 mg	Borda frontal	11,04	0,04	51	9,37	0,08	71
	Borda	8,85	0,03		9,42	0,09	
	Centro	8,58	/		7,38	/	
	Borda Posterior	10,72	/		9,82	/	
	Média	9,80	0,04		9,00	0,09	

Exemplo 19: Processo final para a formulação Ic

[0806] Uma descrição detalhada dos procedimentos de processo da formulação Ic é a seguinte:

[0807] Composição: A Kleptose® é dissolvida em Água para Injeção (WFI) em um recipiente de tamanho apropriado (Recipiente 1). O composto 1 é dissolvido em ácido fórmico (FA) em um recipiente separado (Recipiente 2). Esta solução de pré-mistura do Composto 1-FA é então adicionada ao Recipiente 1 através de uma pipeta eletrônica ou uma bomba peristáltica a uma taxa constante (~ 50 µL por adição a cada 10 segundos) enquanto a solução no Recipiente 1 está sendo misturada com bom vórtice. A solução é inspecionada visualmente para garantir que não haja partículas não dissolvidas no Recipiente 1. Após a mistura, o peso do lote é ajustado ao peso alvo com a WFI.

[0808] Filtragem: A solução em massa é então filtrada usando dois filtros estéreis de 0,2 µm em série. Antes desta etapa, a solução em massa será pré-filtrada usando um filtro estéril de 0,45 µm ou 0,2 µm.

[0809] Enchimento asséptico, liofilização e fechamento do frasco: O enchimento asséptico é realizado em um frasco de 50cc com um peso alvo de enchimento de 12,5 mL para uma força de dosagem de 1,0 mg. As tampas de liofilização são então parcialmente colocadas (até o primeiro entalhe) em cada frasco cheio. O liofilizador é então carregado e o ciclo de liofilização é executado. Após a liofilização, os frascos são tampados sob pressão reduzida em uma atmosfera de nitrogênio e vedados.

[0810] Os parâmetros do processo de liofilização da formulação Ic (força de dose de 1,0 mg) são mostrados na Tabela 71. O tempo total do ciclo de liofilização da formulação Ic (força de dose de 1,0 mg) é de cerca de 2,6 dias, apenas metade do tempo do ciclo de liofilização da formulação Ib.

Tabela 71: Parâmetros do ciclo de liofilização da formulação Ic

Etapa	Temperatura da prateleira Ponto de ajuste (°C)	Tempo de Molho (minutos)	Tempo de Rampa (minutos)	Ponto de ajuste de pressão
Carregamento/congelamento do produto	20	60		Evac. A 12 psia para garantir que a câmara esteja hermética
			140	
Congelamento	-50	360		250 microns
			120	
Secagem primária	10	1500		250 microns
			100	250 microns
Secagem secundária	60	1440		250 microns
Vedação	25			14,7 PSIA

[0811] Os fluxogramas de processo da formulação 1c são ilustrados na FIG. 55.

Exemplo 20: Osmolalidade de formulações reconstituídas com soro fisiológico

[0812] A formulação 1b (1mg/frasco) foi usada no estudo. Cada frasco foi reconstituído com 4,5 mL de soro fisiológico (NS) para proporcionar uma solução de fármaco com uma concentração de 0,2 mg/mL (o volume final da solução após a reconstituição foi de 5 mL). A osmolalidade da solução reconstituída no frasco foi medida por um osmômetro (Advanced[®] Model 3250, Advanced Instruments Inc.) e foi obtido um valor de osmolalidade de 440 mOsm/kg. Em seguida, foram retirados 12 mL de solução reconstituída de três frascos e diluídos com 38 mL de soro fisiológico até um volume final de 50 mL para obter uma solução de dosagem representativa da dose clínica de 2,4 mg. A osmolalidade da solução de dosagem diluída foi medida em 317 mOsm/kg. Subsequentemente, 30 mL de solução reconstituída foram retirados de seis

frascos e diluídos com 20 mL de soro fisiológico até um volume final de 50 mL para obter uma solução de dosagem representativa da dose clínica de 6,0 mg. A osmolalidade da solução de dosagem diluída foi medida em 371 mOsm/kg. Os resultados da medição de osmolalidade estão resumidos na Tabela 72 abaixo.

[0813] Além disso, o frasco do produto farmacêutico foi reconstituído com 10 mL de soro fisiológico. A osmolalidade da solução reconstituída foi medida em 352 mOsm/kg (Amostra 4 na Tabela 72). Isso resultou em aproximadamente 50 mL da solução reconstituída para uma dose de 4,8 mg.

Tabela 72: Osmolalidade das soluções reconstituídas da formulação Ib

Amostra No.	Dose	Volume de diluição com NS	Osmolalidade da solução de dosagem final (mOsm/kg)
1	1,0 mg	4,5 mL de NS recon, sem diluição	440
2	2,4 mg	12 mL de NS recon + 38 mL de diluição de NS	318
3	6,0 mg	30 mL de NS recon + 20 mL de diluição de NS	371
4	1,0 mg	10 mL de NS recon, sem diluição	352

[0814] A osmolalidade da soro fisiológico pura foi medida em 285 mOsm/kg. Verificou-se que a osmolalidade da solução reconstituída estava linearmente correlacionada com a concentração de Kleptose na solução, conforme mostrado na FIG. 44.

[0815] Assim, a formulação Ib, quando reconstituída com 4,5 mL de soro fisiológico, proporciona uma solução reconstituída de 440 mOsm/kg. Para um intervalo de doses de 2,4-6 mg, a solução de dosagem final na bolsa de soro

fisiológico de 50 mL tem um intervalo de osmolalidade de 318-371 mOsm/kg. Quando o volume de NS reconstituído ou de NS diluído é alterado para uma dose específica, a osmolalidade da solução resultante pode ser interpolada a partir da FIG. 44 com base na concentração calculada de HPBCD.

[0816] Com base nesses dados, desde que a concentração do fármaco tenha pouca contribuição para a osmolalidade, a osmolalidade da solução reconstituída da Formulação Ic em soro fisiológico pode ser calculada. Para a formulação Ic, cada frasco contém 1 mg de fármaco e 1875 mg de Kleptose. Quando um frasco é reconstituído com 12,5 ml de soro fisiológico, a solução reconstituída apresenta uma osmolalidade de cerca de 416 mOsm/kg com 150 mg/ml de Kleptose no frasco do produto. Quando a solução reconstituída de 45 ml de 3,6 mg de fármaco foi diluída com soro fisiológico para 50 ml, a solução de dosagem na bolsa IV apresenta uma osmolalidade de cerca de 383 mOsm/kg com 112,5 mg/ml de Kleptose. Esse intervalo de osmolalidade, embora superior à osmolalidade plasmática, foi considerado aceitável para infusão IV.

[0817] A solução reconstituída da formulação Ic consistia em 0,08 mg/ml de Composto 1 e 150 mg/ml de Kleptose. Comparando com a solução reconstituída para a formulação Ib, a mesma possui pH de solução semelhante e maior razão de Kleptose: fármaco. Em certas modalidades, a solução reconstituída para a formulação Ic tem perfil de estabilidade química comparável e estabilidade física melhorada do que a solução reconstituída da formulação Ib.

Exemplo 21: Combinação isenta solvente

[0818] Dois lotes de ensaio de 1 kg de formulações de Composto 1 isentas de solvente foram preparados, conforme mostrado nas Tabelas 73 e 74. O Lote B-1 foi preparado com 10%p/p de Kleptose a uma concentração de fármaco alvo de 40 µg/mL. O Lote B-2 foi preparado com 20%p/p de Kleptose a uma

concentração alvo de fármaco de 80 µg/mL. As concentrações alvo do fármaco de ambos os lotes são ~60% da sua solubilidade de saturação à temperatura ambiente. O tampão citrato foi usado na formulação para ajustar o pH da solução para 4,2, uma vez que o Composto 1 é quimicamente instável na solução acima de pH 5.

Tabela 73: Composições de Formulação de Lotes de Viabilidade Isentos de Solvente

Lote Nº	B-1	B-2
Composto 1 (mg/g)	0,040	0,080
Kleptose (mg/g)	10	20
Ácido cítrico anidro (mg/g)	2,21	2,19
Citrato de sódio anidro (mg/g)	2,21	2,19
WFI	qs a 1000 mg/g	qs a 1000 mg/g

[0819] No processo de composição isenta de solvente, a Kleptose foi dissolvida em água primeiro. Em seguida, o pó do Composto 1 foi adicionado diretamente à solução de Kleptose e misturado com um homogeneizador de topo de bancada (POLYTRON PT 3100, Kinematica AG, Suíça) a 6800 rpm. Um recipiente de composição revestido foi usado para manter a temperatura da solução entre 20-25°C durante o processo de mistura. Para o Lote B-1, a mistura continuou por 24 horas. Em seguida, a solução foi mantida à temperatura ambiente sem misturar por mais 24 horas. Para o Lote B-2, a mistura continuou por 48 horas. As amostras da solução foram coletadas em t=4, 24 e 48 horas para o teste do ensaio em processo. Os resultados do ensaio são mostrados na Tabela 74.

Tabela 74: Resultados do Ensaio em Processo de Lotes de Viabilidade Isentos de Solvente

Lote Nº		t=4 horas	t=24 horas	t=48 horas

B-1	Concentração (mg/mL)	0,016	0,022	0,024 ^c
	Ensaio (% da concentração alvo ^a)	39%	53%	58% ^c
B-2	Concentração (mg/mL)	0,052	0,062	0,069
	Ensaio (% da concentração alvo ^b)	61%	72%	81%

a: concentração alvo = 0,040 mg/g ou 0,041 mg/mL, com uma densidade de solução de 1,033 g/mL

b: concentração alvo = 0,080 mg/g ou 0,086 mg/mL, com uma densidade de solução de 1,069 g/mL

c: a mistura parou em t=24 horas.

Exemplo 22: Estudos de combinação *in vitro*

[0820] Os estudos de combinação *in vitro* para avaliar a atividade do Composto 1 foram conduzidos nas seguintes linhagens celulares de AML e tumor sólido:

Linhagens celulares de AML: MOLM-13, MV-4-11, OCI-AML-2, F-36-P, OCT-AML-3, NOMO-1, ML-2, KG-1, HNT-34 e HL-60.

Linhagens celulares de câncer de mama: AU565, ZR-75-30, SK-BR-3, MCF-7 (E545K), BT-474 (K111N) E CAL-51 (E542K).

Linhagens celulares de tumor neuroendócrino (NET): COLO320DM, NCI-H727 e QGP-1; e

Linhagens celulares de carcinoma de células renais (RCC): 786-O, A-498, ACHN e CAKI-1.

[0821] As células foram semeadas em placas de cultura de tecidos de 384

poços com densidades de semeadura otimizadas (50 microlitros por poço). As células foram cultivadas a 37°C com 5% de CO₂ por 1 dia, depois tratadas com compostos adicionando 5 microlitros de soluções de compostos concentrados a cada poço e incubando a 37°C com 5% de dióxido de carbono por 3 dias. A viabilidade celular foi então medida adicionando o reagente CellTitre-Glo[®] Luminescent Cell Viability às células tratadas com composto (20 microlitros por poço), incubando à temperatura ambiente por pelo menos 20 minutos e quantificando o sinal luminescente com um luminômetro.

[0822] Para a análise preliminar de sinergia, o Índice de Combinação de Independência Bliss foi usado para calcular a sinergia para cada tratamento de combinação do Composto 1 usando a seguinte equação (Foucquier, *Pharma Res Per*, 3(3), 2015):

$$CI = \frac{E_A + E_B - E_A E_B}{E_{AB}}$$

em que E_A e E_B representam o efeito de cada agente único e E_{AB} representa o efeito da combinação em uma determinada dose.

[0823] A análise de sinergia subsequente foi realizada usando os modelos de aditividade Loewe, independência Bliss, agente único mais alto (HSA) e sinergia de efeito cooperativo (CES), conforme descrito anteriormente (Veroli G., *Bioinformatics*, 32(18), 2016; Geary N., *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012).

[0824] Todos os dados foram analisados usando a equação de CES:

$$CES = E_{AB} - \max(E_A, E_B)$$

[0825] Nos casos em que a resposta à dose de agente único se encaixa em uma inclinação de Hill, a análise de CES foi comparada aos modelos Loewe, Bliss e HSA.

[0826] A FIG. 56A fornece o efeito de combinações do Composto 1 com 1) everolimus, 2) fedratinib, 3) midostaurina e 4) pladienólídeo B. Conforme visto

na FIG. 56A, as curvas de resposta à dose mostram desvios de EC_{50} com os compostos testados. Por exemplo, em todos os níveis de dose testados, as combinações com everolimus apresentaram EC_{50} menor que o Composto 1 do agente único.

[0827] A FIG. 56B fornece o efeito de combinações do Composto 1 com pladienólídeo B em linhagens celulares AML.

[0828] A FIG. 56C fornece o efeito de combinações do Composto 1 com o Composto A em linhagens celulares AML.

[0829] A FIG. 56D fornece o efeito de combinações do Composto 1 com o Composto B em linhagens celulares AML.

[0830] A Tabela 75 fornece um resumo da análise de sinergia para combinações do Composto 1 com segundos agentes exemplificativos, incluindo mTOR, JAK2, FLT3, spliceossoma, BET e inibidores de LSD-1 em linhagens celulares AML.

Tabela 75: Análise de sinergia para combinações com o Composto 1

Composto	Linhagens celulares										
	MOLM-13	MV-4-11	OCI-AML-2	F-36-P	OCI-AML-3	NOMO-1	ML-2	KG-1	HNT-34	HL-60	
Triptolídeo	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Tapsigargina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Tanespimicina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Silvestrol	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Salubrinol	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Retaspimicina	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Alvespimicina	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
CC-223	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	
CC-115	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	
Rapamicina	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não	
MLN-0128	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Everolimus	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não	
AZD8055	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	
STAT5i	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Pladienolida B	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	
Topotecano	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Tioguanina	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Mitoxantrona	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	

Composto	Linhagens celulares										
	MOLM-13	MV-4-11	OCI-AML-2	F-36-P	OCI-AML-3	NOMO-1	ML-2	KG-1	HNT-34	HL-60	
Metotrexato	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Idarubicina HCl	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Hidroxiureia	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Fludarabina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Etoposídeo	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Dexametasona	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	N°	N°	N°	Não	
Decitabina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Daunorrubicina	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Citarabina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Clofarabina	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Cladribina	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Azacitidina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
6-Mercaptopurina	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Composto li	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	N°	N°	N°	Não	
Omacetaxina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
NPI-0052	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Ixazomib	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
CEP-18770	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	

Composto	Linhagens celulares										
	MOLM-13	MV-4-11	OCI-AML-2	F-36-P	OCI-AML-3	NOMO-1	ML-2	KG-1	HNT-34	HL-60	
Carfilzomib	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Bortezomib	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
YO-01027	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Fedratinib	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	
Metformina	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Sunitinib	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Sorafenib	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Pexidartinib	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Midostaurina	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	
Lestaurtinib	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Crenolanib	Sim	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	
Venetoclax	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	
Composto A	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	N°	Não	Não	
Composto B	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	

[0831] A Tabela 76 fornece uma lista de inibidores de FLT3 e JAK que foram testados em combinação com o Composto 1 nas linhagens celulares MOLM-13 e NOMO-1.

Tabela 76

Composto	Sinergia
Sorafenib	Não
Sunitinib	Sim
Midostaurina	Sim
Pexidartinib	Sim
Lestaurtinib	Sim
Tandutinib	Sim
Quizartinib	Sim
Crenolanib	Sim
Filgotinib	Sim
Decernotinib	Sim
Baricitinib	Sim
Ruxolitinib	Sim
Fedratinib	Sim
NS-018	Sim
pacritinib	Sim
Momelotinib	Sim

[0832] Conforme visto acima, a maioria das combinações testadas demonstrou sinergia nas linhagens celulares AML MOLM-13 e NOMO-1. A FIG. 57 ilustra a sinergia para combinações de Compostos 1 com midostaurina (inibidor de FLT3) e ruxolitinib (inibidor de JAK) em linhagens celulares ativadas por FLT3, tais como linhagens celulares portadoras de uma mutação de duplicação em tandem interna (ITD) de FLT3.

[0833] Os tratamentos combinados dos inibidores do Composto 1 e TOR, everolimus, temsirolimus, 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-115) e 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona (CC-223) mostraram sinergia em linhagens celulares BrCa (5/6), RCC (4/4) e NET (2/3), conforme ilustrado nas FIGs. 58 e 59.

Exemplo 23: Estudos *in vitro* em células BON

[0834] Os estudos *in vitro* para avaliar a atividade do Composto 1 na sinalização e proliferação de linhagens celulares BON, administradas como um agente único e em combinação com everolimus (referido como RAD nas FIGs. 60-74), foram conduzidos usando um ensaio CellTiter-Glo®.

[0835] O efeito do Composto 1 sozinho e em combinação com o everolimus na sinalização e proliferação foi estudado 24 horas após o tratamento em placas 2D, 120 horas após o tratamento em placas 2D, 120 horas após o tratamento em placas 3D e 96 horas após o tratamento em Placas 2D.

[0836] A FIG. 60 fornece valores de unidades de luminescência relativa (RLU) para o Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus em 2 nM, 20 nM e 200 nM.

[0837] A FIG. 61 fornece valores de unidades de luminescência relativa (RLU) para o Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus em 2 nM, 20 nM e 200 nM.

[0838] A FIG. 62 fornece valores de unidades de luminescência relativa (RLU) para o Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus em 2 nM, 20 nM e 200 nM.

[0839] A FIG. 63 fornece valores de unidades de luminescência relativa (RLU) para o Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus em 2 nM, 20 nM e 200 nM.

[0840] As FIGs. 64A e 64B fornecem plotagens para duas execuções que retratam valores de unidades de luminescência relativa (RLU) para o Composto 1 sozinho e em combinações com everolimus em 2 nM, 20 nM e 200 nM.

[0841] Os dados demonstram que o Composto 1 não possui atividade autônoma em BON1. O tratamento de combinação do Composto 1 com everolimus resulta em sinergia na inibição do crescimento, conforme observado pela parada do crescimento até o nível pré-fármaco, sem apoptose.

Exemplo 24: Efeito do Composto 1 e everolimus em um ensaio de modelo GA0087 PDX –*Ex vivo*

[0842] O efeito de combinação do Composto 1 e everolimus na viabilidade celular do modelo GA0087 PDX foi investigado, usando um ensaio 3D *ex vivo*. Determinou-se a concentração de inibição de 50% (IC₅₀) dos dois compostos usando um ensaio 3D de metilcelulose *ex vivo*, seguida pela determinação do efeito de sinergia na combinação de matrizes usando o Índice de Combinação.

[0843] Projeto do estudo: Cada linhagem celular foi semeada e tratada com o Composto 1 sozinho, combinação de matrizes com o Composto 1 e everolimus, e um composto de controle de referência nas doses necessárias.

[0844] Materiais e Métodos: A linhagem celular de câncer de estômago GA0087 foi usada neste estudo. O meio de crescimento contendo DMEM/F12 + 10% de FBS + Pen/Strep + fatores de crescimento suplementares foi usado para cultivar as células à temperatura de 37°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade. Os meios de cultura foram adquiridos na GIBCO ou Sigma, EUA.

[0845] Os seguintes materiais e reagentes foram usados:

- Ensaio de Viabilidade Celular Luminescente CellTiter-Glo® (Cat. Nº: G7572, Promega. Armazenamento a - 20°C)
- Microplacas de poliestireno de 96 poços (Cat# 655096, Greiner bio-one)
- Tampa para microplacas (Cat# 656171, Greiner bio-one)
- Metilcelulose (Cat# M0512, Sigma)
- Vedação inferior adesiva preta de vedação posterior (Cat# 6005189, Perkin Elmer)
- Colagenases (Cat#: 17100-017, Invitrogen)
- Filtro de célula Falcon (Cat# 352340, BD Falcon)

[0846] O Composto 1 foi reconstituído em DMSO para produzir uma solução de 5 mM, para uma alíquota de 15µl por uso. Everolimus foi obtido na

Selleck. A cisplatina foi usada como medicamento de referência e foi obtida na Hospira Australia Pty Ltd.

Métodos:

[0847] A preparação de metilcelulose a 1%: 1 g de metilcelulose em um recipiente de vidro com tampa foi medido. O recipiente foi autoclavado em condições padrão de esterilização. O recipiente foi resfriado e 100 mL de meio de cultura de células apropriado foram adicionados. Qualquer metilcelulose remanescente foi removida do fundo com um raspador de células estéril e o conteúdo foi misturado vigorosamente. O recipiente foi armazenado em uma plataforma agitadora a 4°C para completar a dissolução por até 48 horas, para alcançar a dissolução completa. A solução de metilcelulose foi armazenada a 4°C.

1. Isolamento de célula única

[0848] 1. Os modelos de tumor PDX foram mantidos na instalação animal Crownbio HuPrime. O crescimento do tumor foi monitorado semanalmente. Os volumes do tumor foram medidos em duas dimensões usando um paquímetro, e o volume foi expresso em mm^3 usando a fórmula: $V = 0,5 a \times b^2$ onde a e b são os diâmetros longo e curto do tumor, respectivamente.

[0849] 2. Os xenotransplantes de camundongo com volume de tumor de cerca de 800 mm^3 foram alojados com instrumentos cirúrgicos estéreis e o tecido do tumor foi picado em pedaços pequenos com tesoura em pequena quantidade de PBS em uma nova placa de cultura de tecidos.

[0850] 3. A suspensão de células foi filtrada através do filtro de células Falcon. A malha de nylon foi lavada 3-5 vezes com PBS.

[0851] 4. A suspensão de células foi centrifugada a 1000 rpm por 5 minutos e o pélete foi lavado com PBS e centrifugado novamente.

[0852] 5. Os glóbulos vermelhos foram removidos usando o tampão de lise de glóbulos vermelhos.

[0853] 6. A suspensão de células foi centrifugada a 1000 rpm por 5 minutos e o pélete foi lavado com PBS e centrifugado novamente.

[0854] 7. O pélete de células foi ressuspensão com meio de cultura de células apropriado para diferentes células.

[0855] 8. As células foram contadas com Countstar por exclusão de azul de tripano.

2. Ensaio de viabilidade celular CellTiter-Glo[®] (formato 3D de metilcelulose)

Dia -1: Plaqueamento celular

[0856] 1. As células foram colhidas durante o período de crescimento logarítmico. As células colhidas foram cultivadas com meio celular apropriado e centrifugadas a 1000 rpm por 3 minutos. As células foram ressuspensas e contadas usando CountStar (a viabilidade celular deve atender ao padrão de > 90% por ensaio de exclusão de azul de tripano.).

[0857] 2. As concentrações de células foram ajustadas para 2×10^5 células/ml com o respectivo meio. (A concentração de células foi ajustada de acordo com a base de dados ou o ensaio de otimização da densidade).

[0858] 3. 3,5 mL de suspensão de células foi misturado com 6,5 mL de 1% de metilcelulose. Esta etapa rendeu 10 ml de suspensão de células em solução de 0,65% de metilcelulose.

[0859] 4. 90 μ L de suspensões de células foram adicionadas a placas de 96 poços, de acordo com o mapa de placas com a densidade celular final. Duas placas duplicadas foram configuradas: uma para a leitura do dia 0 (T0) e a outra foi cultivada em incubadora para leitura no ponto final.

[0860] As placas foram incubadas durante a noite em incubadora umidificada a 37°C com 5% de CO₂.

Dia 0: leitura da placa T0 e tratamento composto

[0861] 5. 10 μ L de meio de cultura foram adicionados à placa T0 em cada

poço para leitura de T0.

[0862] 6. 100 µl de CellTiter-Glo® Reagent foram adicionados a cada poço.

[0863] 7.O conteúdo foi misturado por 2 minutos em um agitador orbital para facilitar a lise celular.

[0864] 8.As placas foram deixadas para incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilizar o sinal luminescente.

[0865] 9. Um adesivo preto de vedação posterior foi colocado no fundo de cada placa.

[0866] 10. A luminescência foi lida usando o EnVision Multi Label Reader.

[0867] 11. O Composto 1, o everolímus e as soluções de fármaco de referência foram diluídos na concentração indicada abaixo.

[0868] O Composto 1 e o everolimus foram dissolvidos em DMSO para produzir 10 mM de soluções e alíquotas. As soluções foram armazenadas a -20 °C. Nove concentrações de Composto 1 (em diluição de 3x) foram combinadas com 6 concentrações de everolímus. A pontuação de resposta foi calculada normalizando para o controle de DMSO. O índice de combinação (IC) foi calculado usando o método de Chou e Talalay, em que um IC menor do que 1 indica sinergia. A cisplatina foi usada como controle na resposta à dose de composto único, mas não foi incluída no teste de combinação.

Dia 7: Leitura em placa do tratamento de composto de 7 dias.

[0869] 12. Após a incubação do fármaco, foram tiradas fotos para poços representativos usando um microscópio de contraste de fase.

[0870] 13. 100 µL de CellTiter-Glo® Reagent foram adicionados a cada poço.

[0871] 14. O conteúdo foi misturado por 2 minutos em um agitador orbital para facilitar a lise celular.

[0872] 15. As placas foram deixadas para incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilizar o sinal luminescente.

[0873] 16. Um adesivo preto de vedação posterior foi colocado no fundo de cada placa.

[0874] 17. A luminescência foi gravada usando o EnVision Multi Label Reader.

Análise de dados

[0875] Os dados foram exibidos graficamente usando o GraphPad Prism 5.0. Para calcular o IC₅₀, uma curva dose-resposta foi ajustada usando o modelo de regressão não linear com uma resposta de dose sigmoide. A fórmula da taxa de sobrevivência é mostrada abaixo e o IC₅₀ foi produzido automaticamente pelo GraphPad Prism 5.0.

A taxa de sobrevivência (%) = $(\text{Lum}_{\text{artigo de teste}} - \text{Lum}_{\text{controle de meio}}) / (\text{Lum}_{\text{nenhum tratado}} - \text{Lum}_{\text{controle de meio}}) \times 100\%$.

Determinação de Sinergismo

[0876] As interações dos compostos foram calculadas por análise de efeito de múltiplos fármacos e foram realizadas pelo princípio da equação mediana de acordo com a metodologia descrita por Chou e Talalay. Fa é a fração afetada pela dose. O índice de combinação (CI) foi calculado pela equação de Chou *et al.* que leva em consideração a potência (D_m ou IC₅₀) e a forma da curva dose-efeito (o valor m).

[0877] A equação geral para o CI dos dois compostos é determinada por:

$$CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2} + \frac{(D)_1(D)_2}{(D_x)_1(D_x)_2}$$

[0878] Em que: $(D_x)_1$ e $(D_x)_2$ nos denominadores são as doses (ou concentrações) apenas para o Composto 1 e o Composto 2 que demonstram x% de inibição. Enquanto $(D)_1$ e $(D)_2$ nos numeradores são doses de ambos os compostos (1 e 2) em combinação que também inibem x% (isofetivo). $CI < 1$, $= 1$, e > 1 indicam sinergismo, efeito aditivo e antagonismo, respectivamente.

[0879] O $(D_x)_1$ e $(D_x)_2$ podem ser calculados a partir da equação de efeito mediano de Chou *et al.*:

$$D_x = D_m \left(\frac{f_a}{1-f_a} \right)^{1/m}$$

[0880] Em que: D_m é a dose de efeito mediano obtida a partir do anti-log da interceptação x do gráfico de efeito mediano, $x = \log(D)$ versus $y = \log\{f_a/(1-f_a)\}$, ou $D_m = 10^{-(\text{interceptação } y)/m}$; e m é a inclinação do gráfico de efeito mediano e f_a é a fração de células afetadas pelo tratamento.

[0881] Cada CI foi calculado com o software CalcuSyn a partir da fração média afetada em cada concentração da razão de fármacos. Para a combinação de razão fixa de 2 compostos em 7 concentrações, foram obtidos 7 valores de CI.

Tabela 77

<i>Intervalo de CI</i>	<i>Descrição</i>
<i>0,1</i>	<i>Sinergismo muito forte</i>
<i>0,1–0,3</i>	<i>Forte sinergismo</i>
<i>0,3–0,7</i>	<i>Sinergismo</i>
<i>0,7–0,85</i>	<i>Sinergismo moderado</i>
<i>0,85–0,90</i>	<i>Leve sinergismo</i>
<i>0,90–1,10</i>	<i>Quase aditivo</i>
<i>1,10–1,20</i>	<i>Antagonismo leve</i>
<i>1,20–1,45</i>	<i>Antagonismo moderado</i>
<i>1,45–3,3</i>	<i>Antagonismo</i>
<i>3,3–10</i>	<i>Antagonismo forte</i>
<i>>10</i>	<i>Antagonismo muito forte</i>

[0882] O DRI é uma medida de quantas vezes a dose de cada fármaco em uma combinação sinérgica pode ser reduzida em um determinado nível de efeito em comparação com as doses de cada fármaco isoladamente. Para combinações

de dois fármacos

$$CI = \frac{(D)_1}{(D_x)_1} + \frac{(D)_2}{(D_x)_2} = \frac{1}{(DRI)_1} + \frac{1}{(DRI)_2} \quad \text{e para combinações de n-fármacos}$$

$$CI = \sum_{j=1}^n \frac{(D)_j}{(D_x)_j} = \sum_{j=1}^n \frac{1}{(DRI)_j}$$

Portanto, $(DRI)_1 = \frac{(D_x)_1}{(D)_1}$, $(DRI)_2 = \frac{(D_x)_2}{(D)_2}$..., etc ou $(DRI)_1 = \frac{(D_m)_1 [f_a / (1 - f_a)]^{1/m_1}}{(D)_1}$, $(DRI)_2$

Cada DRI foi calculado com o software CalcuSyn a partir da fração média afetada em cada concentração da *razão* de fármacos de cada fármaco. Para a combinação de razão fixa de 2 fármacos em 7 concentrações, foram obtidos os valores $7 \times 2 = 14$ DRI.

[0883] Resultados: A Tabela 78 abaixo fornece um resumo de IC₅₀ e inibição máxima para o modelo GA0087.

Tabela 78

Modelo	Composto 1			Everolimus		
	IC ₅₀ relativo (μM)	IC ₅₀ absoluto (μM)	Inibição Máxima (%)	IC ₅₀ relativo (μM)	IC ₅₀ absoluto (μM)	Inibição Máxima (%)
GA0087-1 st	0,0163	0,0203	90,71%	NA	0,0061	73,15%
GA0087-2 nd	0,0152	0,0164	92,41%	NA	0,0075	72,80%

Tabela 79

Modelo	Cisplatina		
	IC ₅₀ relativo (μM)	IC ₅₀ absoluto (μM)	Inibição Máxima (%)
GA0087-1 st	3,1730	3,3498	98,73%
GA0087-2 nd	3,2990	3,5251	98,48%

[0884] As FIGs. 65A e 65B fornecem curvas de dose-resposta (ensaio clonogênico 3D *ex vivo*) representando a inibição máxima do Composto 1 e everolimus no modelo GA0087 para 2 experimentos. A FIG. 66 fornece IC₅₀ e

inibição máxima do composto de referência no modelo GA0087, em duplicado.

[0885] As FIGs. 67A e 67B fornecem efeito de inibição do ensaio de combinação de matriz para os dois experimentos, e as FIGs. 68A e 68B fornecem o índice de combinação para os dois experimentos.

[0886] Conforme visto a partir dos dados, o Composto 1 mostra atividade no modelo GA0087 e mostra sinergia com everolimus na maioria das concentrações testadas. Em particular, o Composto 1 mostra sinergia com o everolimus em múltiplas concentrações de doses intermediárias do Composto 1 (0,5 -111,1 nM).

Exemplo 25: Efeito do Composto 1 e everolimus no ensaio de modelo GA0087 PDX– *In vivo*

[0887] O tratamento combinado do Composto 1 e everolimus foi testado em um modelo de xenoenxerto de câncer gástrico HuPrime[®] GA-0087 (um tumor neuroendócrino) em camundongos nus BALB/c fêmeas. Os fragmentos de tumor de camundongos foram colhidos e usados para inoculação em camundongos. Cada camundongo foi inoculado por via subcutânea no flanco direito com o fragmento de tumor GA0087 de xenoenxerto de tumor humano primário (P7,2-3 mm de diâmetro) para o desenvolvimento do tumor. Para o estudo de eficácia, quando o volume médio do tumor atingiu aproximadamente 196 mm³, os camundongos foram alocados aleatoriamente em 9 grupos (10 camundongos em cada grupo, 1 grupo de controle de veículo, grupos de tratamento de agente único com 2 everolímus e 3 Composto 1 e 3 grupos de tratamento combinado) com base no volume do tumor e peso corporal, com a dosagem iniciada no mesmo dia (Dia de Estudo 0). A Dosagem e esquemas são mostrados na FIG. 69. Após a inoculação do tumor, os animais foram verificados diariamente quanto à morbidade e mortalidade. No momento do monitoramento de rotina, os animais foram verificados quanto a quaisquer efeitos do crescimento e tratamentos do

tumor no comportamento normal, tal como mobilidade, consumo de alimentos e água, ganho/perda de peso corporal, fosqueamento de olhos/cabelos e qualquer outro efeito anormal. A morte de um camundongo eutanasiado foi registrada. Todos os grupos foram finalizados no dia 40. Foram coletados três tumores em cada grupo, com volume tumoral próximo da mediana de cada grupo. O plasma dos mesmos camundongos foi coletado. Para comparação entre três ou mais grupos, foi realizada ANOVA unidirecional, seguida de múltiplos procedimentos de comparação. Todos os dados foram analisados usando o SPSS 18.0. Os valores $P < 0,05$ são considerados estatisticamente significativos.

[0888] A FIG. 69 fornece o volume médio do tumor para o Composto 1 e everolimus, sozinho e em combinação. Como visto a partir dos dados, o composto 1 mostrou inibição do crescimento tumoral. Uma combinação do Composto 1 com 1,25 mg/kg de everolimus aumentou significativamente a inibição do crescimento tumoral em comparação com qualquer agente sozinho. Foi conseguida uma regressão transitória do tumor com 5 mg/kg de Composto 1 e 1,25 mg/kg de everolimus de combinação.

[0889] Em resumo, os tratamentos de agente único com everolimus (1,25 mg/kg e 5 mg/kg) e o Composto 1 (1,25 mg/kg e 2,5 mg/kg) produziram atividade antitumoral moderada, enquanto o tratamento com agente único com o Composto 1 (5 mg/kg) e com os tratamentos combinados (everolimus, 1,25 mg/kg e Composto 1, 1,25 mg/kg, 2,5 mg/kg e 5 mg/kg) produziram atividade antitumoral proeminente contra o xenoinxerto de câncer gástrico HuPrime[®] modelo GA0087.

Exemplo 26: Efeito do composto 1 em progenitores de mielofibrose

[0890] O efeito do Composto 1 foi estudado em um ensaio de formação de colônias usando amostras de pacientes com mielofibrose. As células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) de pacientes com mielofibrose

foram semeadas em meio metocultivo com e sem o Composto 1 por 14 dias, após o qual foi determinado o número de células formadoras de colônias.

[0891] As seguintes amostras foram usadas:

MF13: MF de novo, caracterizando-se por JAK2wt, FLT3wt, NPM1 wt, CEBPA wt

MF14: MF de novo, caracterizando-se por JAK2wt, CALR exon9 mut, ASXL1 wt, MPL wt

[0892] Os dados fornecidos na FIG. 70 demonstram que o número de células formadoras de colônias foi reduzido pelo Composto 1 de uma maneira dependente da dose em amostras de pacientes com mielofibrose. IC₅₀ atingido nestas amostras foram inferiores a IC₅₀ observado em amostras de voluntários saudáveis, sugerindo o potencial do Composto 1 como um tratamento para mielofibrose.

Exemplo 27: Estudos de combinação em neoplasias mieloproliferativas

[0893] Estudos de combinação *in vitro* para avaliar a atividade do Composto 1 em combinação com os seguintes inibidores de JAK2 foram realizados em células BaF3 manipuladas para expressar de maneira estável proteínas exógenas. Foram utilizadas as seguintes linhas celulares: hCRBN é uma linha celular BaF3 que expressa CRBN humano; EF1a-GFP-P2A-Nluc-P2A-JAK2 é uma hCRBN, e linha celular BaF3 que expressa JAK2 wt; EF1a-GFP-P2A-Nluc-P2A-JAK2-V617F dependente de IL3 recentemente transduzido, é um hCRBN e JAK2V617F mutante que ainda depende da linha celular BaF3 que expressa IL3; e EF1a-GFP-P2A-Nluc-P2A-JAK2-V617F; O clone independente de IL3 é um hCRBN e o JAK2V617F mutante que foi adaptado para se tornar independente da linha celular IL3 BaF3. Os inibidores de JAK2 utilizados no ensaio foram NS-018, INCB018424 (Ruxolitinibe; Jakafi), CYT387 (Momelotinibe), TG101348 (Fedratinibe) e pacritinibe.

[0894] As células foram tratadas com compostos adicionando uma diluição em série do Composto 1 (começando em 50 nM) em combinação com uma diluição em série de inibidores de JAK2 (concentração inicial de 10 μ M para todos os inibidores de JAK2). Everolimus foi incluído como controle. A viabilidade celular foi, então, medida por CellTitre-Glo[®] após 3 dias.

[0895] Como demonstrado pelos dados nas FIGs. 71-77, não foi observada diferença no inibidor do Composto 1 ou JAK2 quando utilizado como agentes únicos nas linhas BaF3 dependentes de IL3. As células V617F JAK2 independentes de IL3 foram mais sensíveis à maioria dos inibidores de JAK2, Composto 1 e everolímus.

[0896] Como demonstrado na FIG. 78, uma combinação do Composto 1 e NS-018 mostrou uma alteração de EC₅₀ nas células parentais, JAK2 wt e JAK2V617F. Não foi observada diferença aparente nos perfis de sinergia entre as linhas recém-transduzidas hCRBN, wt e JAK2 V617F. As células JAK2 V617F independentes de IL3 foram mais sensíveis ao agente único NS-018 em comparação às três linhas dependentes de IL3. Foi observada sinergia em C_{max} clínico para NS-018 (2,57 μ M, conforme descrito em um estudo multicêntrico de fase I, aberto, com aumento de dose, NS-018 inibidor de JAK2 em pacientes com mielofibrose, *Leukemia* (2017) 31, 393 - 402).

[0897] Como mostrado na FIG. 79, a menos de 100 nM de NS-018, não foi observado nenhum desvio aparente de EC₅₀ para todas as quatro linhas celulares.

[0898] Como demonstrado na FIG. 80, uma combinação do Composto 1 e ruxolitinibe mostrou uma forte mudança de EC₅₀ nas células parentais, JAK2 wt e JAK2V617F. Não foi observada diferença aparente nos perfis de sinergia entre as linhas recém-transduzidas hCRBN, wt e JAK2 V617F. As células JAK2 V617F independentes de IL3 foram mais sensíveis ao agente único ruxolitinibe em

comparação às três linhas dependentes de IL3. Foi observada sinergia em C_{max} clínico para o ruxolitinibe ($\sim 0,5-1 \mu\text{M}$, conforme descrito em *Blood* (2011) 118: 5162).

[0899] Como mostrado na FIG. 81, a menos de 100 nM de ruxolitiniba, não foi observado nenhum desvio aparente de EC_{50} para todas as quatro linhas celulares.

[0900] Como demonstrado na FIG. 82, uma combinação do Composto 1 e momelotinibe mostrou uma forte mudança de EC_{50} nas células parentais, JAK2 wt e JAK2V617F. Não foi observada diferença aparente nos perfis de sinergia entre as linhas recém-transduzidas hCRBN, wt e JAK2 V617F. As células JAK2 V617F independentes de IL3 foram mais sensíveis ao agente único momelotinibe em comparação às três linhas dependentes de IL3.

[0901] Como demonstrado na FIG. 83, uma combinação do Composto 1 e momelotinibe mostrou uma forte mudança de EC_{50} nas células parentais, JAK2 wt e JAK2V617F. Não foi observada diferença aparente nos perfis de sinergia entre as linhas recém-transduzidas hCRBN, wt e JAK2 V617F.

[0902] Como demonstrado na FIG. 84, uma combinação do Composto 1 e fedratinibe mostrou uma forte mudança de EC_{50} nas células parentais, JAK2 wt e JAK2V617F. Não foi observada diferença aparente nos perfis de sinergia entre as linhas recém-transduzidas hCRBN, wt e JAK2 V617F.

[0903] Como demonstrado na FIG. 85, uma combinação do Composto 1 e momelotinibe mostrou uma leve mudança de EC_{50} nas células parentais, JAK2 wt e JAK2V617F. Foi observada uma mudança de EC_{50} mais forte nas células JAK2 V617F independentes de IL3. A extensão do deslocamento de EC_{50} com o everolimus foi mais fraca do que as combinações com inibidores de JAK2 em todas as linhas de BaF3, sugerindo que a atividade de mTOR não seja o principal mecanismo a jusante responsável pela sinergia entre os inibidores de JAK2 e o

Composto 1.

[0904] Conclusão: Esses dados demonstram sinergia entre os inibidores JAK2 e Composto 1 em células BaF3 manipuladas para expressar hCRBN com ou WT JAK2 ou JAK2V617F. Uma vez que a combinação com o inibidor de mTOR everolimus mostrou sinergia reduzida em comparação com a combinação com os inibidores de JAK2, esses resultados sugerem que a sinergia mediada por JAK2 com o Composto 1 é provável através de outros mecanismos além ou em adição a atividade de mTOR.

Exemplo 28: Estudos de combinação com inibidores de JAK2 e Composto 1 em linhas celulares AML

[0905] Estudos de combinação *in vitro* para avaliar a atividade do Composto 1 em combinação com os seguintes NS-018 inibidores de JAK2, INCB018424 (Ruxolitinibe; Jakafi), CYT387 (Momelotinibe), TG101348 (Fedratinibe) e pacritinibe foram realizados em 12 linhas celulares AML.

[0906] As seguintes linhas celulares AML foram usadas:

JAK2V617F: HEL, SET-2, MUTZ-8

Tipo selvagem JAK (WT): HL-60, HNT-34, KG-1, ML-2, NOMO-1, MOLM-13, MV4-11, F36P, OCI-AML2

[0907] A viabilidade celular foi medida por CellTitre-Glo® após 3 dias, conforme descrito neste documento em outra parte.

[0908] Como demonstrado pelos dados na FIG. 86, NS-018 e ruxolitinibe inibem a viabilidade celular de linhas celulares JAK2V617F AML como agentes únicos.

[0909] Como demonstrado na FIG. 87, uma combinação do Composto 1 e NS-018 mostrou sinergia na inibição da viabilidade de JAK2 V617F nas linhas celulares HEL, SET-2 e MUTZ-8.

[0910] Como demonstrado na FIG. 88, uma combinação do Composto 1 e

ruxolitinibe mostrou sinergia na inibição da viabilidade de JAK2 V617F nas linhas celulares HEL, SET-2 e MUTZ-8. A sinergia foi mais aparente nas linhas celulares (HEL) que eram menos sensíveis ao agente único do Composto 1.

[0911] Como demonstrado na FIG. 89, uma combinação do Composto 1 e everolimus mostrou sinergia na inibição da viabilidade das células HEL, mas não foi observado nenhum desvio aparente de IC_{50} nas células SET-2 ou MUTZ-8.

[0912] Como demonstrado na FIG. 90, todos os cinco inibidores de JAK2 mostraram sinergia com o Composto 1 na inibição da viabilidade das células JAK2 V617F.

[0913] Conclusão: Foi demonstrada uma forte sinergia com o Composto 1 com todos os 5 inibidores de JAK2 do estágio clínico.

Exemplo 29: Estudos de combinação com inibidores do Composto 1 e IDH2

[0914] Estudos de combinação *in vitro* para avaliar a atividade do Composto 1 em combinação com o enasidenibe de inibidor de IDH2 (AG-221) foram realizados na linha celular mutante IDH2 TF1-R140Q.

[0915] As células foram plaqueadas a uma densidade de $0,2 \times 10^6$ células/ml de 2 ml de cultura em placas de 6 poços. O enasidenibe foi testado nas concentrações de 0, 200 nM e 1000 nM, enquanto o Composto 1 foi testado nas concentrações de 0, 10 nM, 30 nM, 100 nM.

[0916] A FIG. 91 fornece os esquemas de dosagem utilizados neste estudo.

[0917] As células TF1 foram cultivadas nos seguintes meios: RPMI contendo HEPES e L-glutamina, 10% de FBS, Pen/Strep, G418 (conc final 500 μ g/ml) e GM-CSF (conc final 5 ng/ml). As células foram cultivadas durante 7 dias, com ou sem tratamento composto, como descrito na FIG. 91.

[0918] Para o ensaio de hemoglobinização, as células TF1 foram lavadas três vezes com PBS para remover o GM-CSF residual e depois plaqueadas a (100.000 células/ml). As células foram, então, induzidas a diferenciar usando

EPO (2 unidades/ml). A indução continuou por 7 dias com a troca de mídia no 4º dia e a adição de mídia com novo EPO. Os péletes de células foram coletados e fotografados para determinar o teor de hemoglobinação (como substituto da diferenciação na linhagem sanguínea). As células foram peletizadas, lavadas, coradas com um painel de anticorpos e analisadas por citometria de fluxo, utilizando os seguintes anticorpos:

Anticorpo	Clone	Fluoróforo
CD34	8G12	PE-Cy7
CD38	HIT2	BV421
CD235a	GA-R2 (HIR2)	BV711
Vimentina	RV202	FITC
cCaspase 3	C92-605	PE
GSPT1		AF647 (APC)

[0919] No ensaio de hemoglobinação, enasidenibe e Composto 2 produziram o efeito esperado de aumento na expressão de hemoglobina, como visto na FIG. 92. Além disso, o tratamento combinado com o Composto 1 e enasidenibe mostrou hemoglobinação aumentada e diferenciação celular, como mostrado por HSC reduzida (CD34+/CD38-) e células progenitoras CD34+/CD38+ e aumento de células eritroblásticas CD34-/CD38- e CD34-/CD235a+ mostradas nas FIGS. 93-97.

[0920] Os resultados do ensaio de diferenciação induzido por EPO fornecido nas FIGs. 93-94 demonstram o efeito aprimorado do composto 1 e enasidenibe na redução de células progenitoras de TF-1: IDH2R140Q (CD34+/CD38+) e células-tronco hematopoiéticas (HSC) (CD34+/CD38-) e no aumento de células CD34-/CD38- diferenciadas e eritroblastos. A FIG. 95 mostra o aumento de CD235a+ (glicoforinas A), um marcador para a população de eritrócitos. O aprimoramento foi predominante nos esquemas A e C.

[0921] FIGs. 96 e 97 mostram a degradação preferencial de GSPT1 em

células CD34+ sobre células diferenciadas no ensaio TF1. O esquema A (Composto 1 adicionado 24 horas antes do enasidenibe) resultou na menor contagem absoluta de CD34+ devido ao aumento da diferenciação (também vista no esquema C) e ao efeito duradouro da eliminação preferencial das células CD34+.

[0922] FIG. 98 demonstra a inibição da proliferação da contagem total de células e contagem de HSC (CD34+/CD38-) e contagem de progenitores (CD34+/CD38+) pelo Composto 1. Como visto, o cronograma A tem uma forte e duradoura inibição na proliferação celular, e o cronograma A resulta no menor número de células CD34+ não diferenciadas. FIG. 98 mostra que o enasidenibe tem um leve efeito de promoção de crescimento, mas a combinação com o Composto 1 resultou em uma clara redução da contagem de células para os grupos total (esquerda) e estaminal e progenitor (dois painéis da direita).

[0923] Conclusão: Os dados demonstram que a combinação de enasidenibe e Composto 1 resultou em níveis inferiores de GSPT1 em células estaminais e progenitoras em comparação com o subconjunto mais diferenciado de CD34-/CD38- e eritroblastos. Adicionalmente, mostra-se que o enasidenibe tem um leve efeito promotor de crescimento, mas a combinação com o Composto 1 resultou em uma redução da contagem de células para os grupos total e estaminais e progenitor. A perda líquida de contagens de células estaminais e progenitores pode ser devida à óbito dessas células ou à diferenciação de células CD34+ em células CD34-.

Exemplo 30: Efeito do Composto 1 em linhas celulares de tumor sólido

[0924] O composto 1 foi testado quanto à sua atividade em 563 linhas de células tumorais sólidas por um ensaio Luminex. Os valores de AUC fornecidos na Tabela 80 abaixo foram calculados com base nos valores da Intensidade Fluorescente Média, a leitura primária do ensaio Luminex em PRISM. Os

seguintes parâmetros foram utilizados neste ensaio:

- Dose de 8 pontos foi usada em triplicado
- concentração máxima de 10 μ M foi usada com diluições em série de 4 vezes (baixa de \sim 1 nM)
- 563 linhas celulares aderentes em 23 pools.
- a duração do tratamento foi de 5 dias.

Tabela 80:

Linhagem Celular	AUC
A101D_SKIN	0,821
A172_CENTRAL_NERVOUS_SY STEM	0,314
A204_SOFT_TISSUE	0,156
A2058_SKIN	0,818
A253_SALIVARY_GLAND	0,864
A2780_OVARY	0,485
A375_SKIN	0,795
A498_KIDNEY	0,845
A549_LUNG	0,857
A673_BONE	0,885
A673STAG2NT23_ENGINEERE D	NA
A704_KIDNEY	0,823
ABC1_LUNG	0,591
ACCMESO1_PLEURA	0,631
ACHN_KIDNEY	0,912
AGS_STOMACH	0,865
AM38_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,543
AN3CA_ENDOMETRIUM	0,861
ASPC1_PANCREAS	NA
BC3C_URINARY_TRACT	NA
BCPAP_THYROID	0,782
BECKER_CENTRAL_NERVOUS_ SYSTEM	0,874
BEN_LUNG	0,826
BFTC909_KIDNEY	0,843
BHT101_THYROID	0,858
BHY_UPPER_AERODIGESTIVE_	0,405

Linhagem Celular	AUC
TRACT	
BICR16_UPPER_AERODIGESTI VE_TRACT	0,585
BICR18_UPPER_AERODIGESTI VE_TRACT	0,845
BICR22_UPPER_AERODIGESTI VE_TRACT	NA
BICR31_UPPER_AERODIGESTI VE_TRACT	NA
BICR56_UPPER_AERODIGESTI VE_TRACT	0,984
BICR6_UPPER_AERODIGESTIV E_TRACT	0,801
BT474_BREAST	0,801
BT549_BREAST	0,242
BXPC3_PANCREAS	0,916
C32_SKIN	0,881
CADOES1_BONE	0,566
CAKI1_KIDNEY	NA
CAKI2_KIDNEY	0,867
CAL120_BREAST	0,812
CAL12T_LUNG	0,366
CAL27_UPPER_AERODIGESTIV E_TRACT	0,812
CAL29_URINARY_TRACT	0,831
CAL51_BREAST	0,589
CAL54_KIDNEY	0,679
CAL62_THYROID	0,083
CAL78_BONE	0,798
CALU6_LUNG	0,794

Linhagem Celular	AUC
CAMA1_BREAST	0,589
CAOV3_OVARY	NA
CAPAN2_PANCREAS	0,835
CAS1_CENTRAL_NERVOUS_SY STEM	NA
CBAGPN_BONE	0,236
CCFSTTG1_CENTRAL_NERVOU S_SYSTEM	NA
CCK81_LARGE_INTESTINE	0,021
CFPAC1_PANCREAS	0,872
CHL1_SKIN	0,330
CHLA10_BONE	0,933
CJM_SKIN	0,215
CL11_LARGE_INTESTINE	0,849
CL34_LARGE_INTESTINE	0,604
COLO678_LARGE_INTESTINE	0,811
COLO679_SKIN	0,830
COLO680N_OESOPHAGUS	0,863
COLO741_SKIN	0,411
COLO783_SKIN	NA
COLO792_SKIN	0,629
COLO800_SKIN	0,810
COLO829_SKIN	0,748
CORL105_LUNG	0,824
CORL23_LUNG	0,879
COV318_OVARY	0,883
COV362_OVARY	0,824
COV644_OVARY	0,994
CW2_LARGE_INTESTINE	NA
DANG_PANCREAS	0,793

Linhagem Celular	AUC
DAOY_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,928
DBTRG05MG_CENTRAL_NERV OUS_SYSTEM	0,795
DETROIT562_UPPER_AERODI GESTIVE_TRACT	0,855
DKMG_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	NA
DMS273_LUNG	0,771
DMS53_LUNG	0,903
DU145_PROSTATE	0,878
DV90_LUNG	0,174
EBC1_LUNG	0,960
ECGI10_OESOPHAGUS	0,877
EFE184_ENDOMETRIUM	0,679
EFM19_BREAST	0,917
EFM192A_BREAST	0,766
EFO21_OVARY	0,843
EFO27_OVARY	0,534
EKVX_LUNG	0,837
EN_ENDOMETRIUM	0,831
ES2_OVARY	0,801
ESS1_ENDOMETRIUM	0,512
EW8_BONE	0,985
EWS502_BONE	0,875
FADU_UPPER_AERODIGESTIV E_TRACT	0,859
FTC133_THYROID	0,833
FTC238_THYROID	0,8423 63862

Linhagem Celular	AUC
G292CLONEA141B1_BONE	0,2745 97509
G402_SOFT_TISSUE	0,8296 84634
GAMG_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,3650 29338
GB1_CENTRAL_NERVOUS_SYS TEM	0,8358 64779
GCIY_STOMACH	0,8662 32166
GI1_CENTRAL_NERVOUS_SYS TEM	0,5874 05141
GMS10_CENTRAL_NERVOUS_ SYSTEM	0,4047 94442
GOS3_CENTRAL_NERVOUS_SY STEM	0,5046 50731
GP2D_LARGE_INTESTINE	0,796
HARA_LUNG	0,7963 71228
HCC1143_BREAST	0,8133 08373
HCC1195_LUNG	0,9003 9631
HCC1359_LUNG	0,8750 25083
HCC1395_BREAST	0,9507 88588
HCC1419_BREAST	0,8486 71829
HCC1428_BREAST	0,9167

Linhagem Celular	AUC
	22078
HCC1438_LUNG	0,9700 81471
HCC15_LUNG	0,9582 8541
HCC1806_BREAST	0,8774 71248
HCC1937_BREAST	0,5790 49524
HCC1954_BREAST	0,8106 54202
HCC366_LUNG	0,3183 10589
HCC38_BREAST	0,4872 50949
HCC4006_LUNG	0,8402 92379
HCC44_LUNG	0,906
HCC56_LARGE_INTESTINE	0,849
HCC78_LUNG	0,793
HCC827_LUNG	0,516
HCT116_LARGE_INTESTINE	0,826
HCT15_LARGE_INTESTINE	0,554
HDQP1_BREAST	0,825
HEC108_ENDOMETRIUM	0,812
HEC151_ENDOMETRIUM	0,903
HEC1A_ENDOMETRIUM	0,832
HEC1B_ENDOMETRIUM	NA
HEC251_ENDOMETRIUM	0,698
HEC265_ENDOMETRIUM	0,831

Linhagem Celular	AUC
HEC59_ENDOMETRIUM	0,794
HEC6_ENDOMETRIUM	0,858
HEP3B217_LIVER	0,596
HEPG2_LIVER	0,511
HGC27_STOMACH	0,846
HLF_LIVER	0,952
HMC18_BREAST	0,847
HOS_BONE	0,854
HS294T_SKIN	0,883
HS729_SOFT_TISSUE	0,598
HS746T_STOMACH	0,428
HS766T_PANCREAS	0,830
HS852T_SKIN	0,710
HS939T_SKIN	0,836
HS944T_SKIN	0,719
HSC2_UPPER_AERODIGESTIVE _TRACT	0,597
HSC3_UPPER_AERODIGESTIVE _TRACT	0,834
HT115_LARGE_INTESTINE	NA
HT1376_URINARY_TRACT	0,900
HT144_SKIN	0,641
HT29_LARGE_INTESTINE	0,546
HT55_LARGE_INTESTINE	0,571
HUCCT1_BILIARY_TRACT	0,533
HUH1_LIVER	0,508
HUH28_BILIARY_TRACT	0,267
HUH6_LIVER	0,867
HUPT3_PANCREAS	0,876
HUPT4_PANCREAS	0,5948

Linhagem Celular	AUC
	20709
IALM_LUNG	0,2480 6342
IGR1_SKIN	NA
IGR37_SKIN	0,8495 36662
IGROV1_OVARY	0,6978 42767
IM95_STOMACH	0,1109 72619
IPC298_SKIN	0,8940 32519
ISHIKAWAHERAKLIO02ER_EN DOMETRIUM	0,8401 71102
ISTMES1_PLEURA	0,1381 48777
ISTMES2_PLEURA	0,8192 31515
J82_URINARY_TRACT	0,8263 40546
JHH1_LIVER	0,469
JHH4_LIVER	0,680
JHH5_LIVER	0,806
JHH6_LIVER	0,449
JHH7_LIVER	0,778
JHOC5_OVARY	0,865
JHOM1_OVARY	0,833
JHOS2_OVARY	0,566
JHUEM2_ENDOMETRIUM	0,761
JIMT1_BREAST	0,816

Linhagem Celular	AUC
JL1_PLEURA	0,591
JMSU1_URINARY_TRACT	0,842
K029AX_SKIN	0,834
KALS1_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,838
KE39_STOMACH	0,521
KELLY_AUTONOMIC_GANGLIA	0,591
KMBC2_URINARY_TRACT	0,913
KMRC1_KIDNEY	0,842
KMRC20_KIDNEY	0,951
KMRC3_KIDNEY	0,990
KNS42_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,826
KNS60_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,795
KNS62_LUNG	0,842
KNS81_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,808
KP2_PANCREAS	0,767
KP3_PANCREAS	0,592
KP4_PANCREAS	0,447
KPL1_BREAST	0,890
KPNYN_AUTONOMIC_GANGLI A	0,648
KU1919_URINARY_TRACT	0,926
KURAMOCHI_OVARY	0,857
KYSE140_OESOPHAGUS	0,883
KYSE150_OESOPHAGUS	0,863
KYSE180_OESOPHAGUS	0,865
KYSE270_OESOPHAGUS	0,835

Linhagem Celular	AUC
KYSE510_OESOPHAGUS	0,870
KYSE520_OESOPHAGUS	0,887
KYSE70_OESOPHAGUS	0,788
LC1SQSF_LUNG	0,936
LCLC103H_LUNG	NA
LI7_LIVER	0,811
LK2_LUNG	0,768
LN229_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,758
LNCAPCLONEFGC_PROSTATE	0,672
LOVO_LARGE_INTESTINE	NA
LOXIMVI_SKIN	0,905
LS1034_LARGE_INTESTINE	0,223
LS180_LARGE_INTESTINE	0,142
LS411N_LARGE_INTESTINE	0,811
LS513_LARGE_INTESTINE	0,235
LU99_LUNG	0,421
LUDLU1_LUNG	NA
LXF289_LUNG	0,858
MALME3M_SKIN	0,180
MCAS_OVARY	0,845
MCF7_BREAST	0,831
MDAMB175VII_BREAST	0,524
MDAMB231_BREAST	0,278
MDAMB361_BREAST	NA
MDAMB435S_SKIN	0,845
MDAMB436_BREAST	NA
MELHO_SKIN	0,907
MELJUSO_SKIN	0,845
MESSA_SOFT_TISSUE	NA

Linhagem Celular	AUC
MEWO_SKIN	0,267
MFE280_ENDOMETRIUM	0,881
MFE296_ENDOMETRIUM	0,824
MFE319_ENDOMETRIUM	0,751
MG63_BONE	0,968
MHHES1_BONE	0,984
MIAPACA2_PANCREAS	0,866
MKN1_STOMACH	0,871
MKN45_STOMACH	0,338
MKN7_STOMACH	0,841
MKN74_STOMACH	0,883
MON_SOFT_TISSUE	0,789
MPP89_PLEURA	0,822
MSTO211H_PLEURA	NA
NB1_AUTONOMIC_GANGLIA	0,096
NCIH1048_LUNG	0,116
NCIH1299_LUNG	0,806
NCIH1339_LUNG	0,815
NCIH1355_LUNG	0,878
NCIH1373_LUNG	0,959
NCIH1435_LUNG	0,862
NCIH1437_LUNG	0,882
NCIH1563_LUNG	0,140
NCIH1568_LUNG	0,790
NCIH1573_LUNG	0,995
NCIH1581_LUNG	0,552
NCIH1623_LUNG	0,997
NCIH1648_LUNG	0,828
NCIH1650_LUNG	0,835
NCIH1651_LUNG	NA

Linhagem Celular	AUC
NCIH1693_LUNG	0,949
NCIH1703_LUNG	0,879
NCIH1792_LUNG	NA
NCIH1793_LUNG	0,290
NCIH1838_LUNG	NA
NCIH1915_LUNG	0,876
NCIH1944_LUNG	0,911
NCIH1975_LUNG	0,866
NCIH2009_LUNG	0,760
NCIH2023_LUNG	NA
NCIH2030_LUNG	0,839
NCIH2052_PLEURA	NA
NCIH2073_LUNG	0,878
NCIH2077_LUNG	0,855
NCIH2087_LUNG	0,866
NCIH2110_LUNG	0,837
NCIH2126_LUNG	0,820
NCIH2170_LUNG	0,887
NCIH2172_LUNG	0,794
NCIH2196_LUNG	0,870
NCIH2228_LUNG	0,851
NCIH226_LUNG	0,637
NCIH23_LUNG	0,951
NCIH2347_LUNG	0,324
NCIH2444_LUNG	0,620
NCIH2452_PLEURA	0,843
NCIH28_PLEURA	0,936
NCIH292_LUNG	NA
NCIH322_LUNG	0,714
NCIH358_LUNG	NA

Linhagem Celular	AUC
NCIH441_LUNG	0,755
NCIH446_LUNG	0,820
NCIH460_LUNG	0,917
NCIH520_LUNG	0,562
NCIH522_LUNG	0,974
NCIH596_LUNG	0,893
NCIH647_LUNG	0,957
NCIH650_LUNG	0,854
NCIH661_LUNG	0,819
NCIH727_LUNG	NA
NCIH747_LARGE_INTESTINE	0,836
NCIH838_LUNG	0,834
NCIH841_LUNG	0,848
NCIN87_STOMACH	0,881
NIHOVCAR3_OVARY	NA
NMCG1_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	NA
NUGC3_STOMACH	0,261
NUGC4_STOMACH	0,839
OAW28_OVARY	0,814
OAW42_OVARY	NA
OC314_OVARY	0,915
OC316_OVARY	0,872
OE19_OESOPHAGUS	0,808
OE21_OESOPHAGUS	0,893
OE33_OESOPHAGUS	0,847
ONCODG1_OVARY	NA
ONS76_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	0,811
OSRC2_KIDNEY	0,842

Linhagem Celular	AUC
OV56_OVARY	0,874
OV7_OVARY	0,597
OV90_OVARY	0,939
OVCAR8_OVARY	0,844
OVISE_OVARY	0,630
OVKATE_OVARY	0,851
OVSAGO_OVARY	0,617
OVTOKO_OVARY	0,907
PANC0203_PANCREAS	0,927
PANC0327_PANCREAS	0,813
PANC0403_PANCREAS	0,877
PANC0504_PANCREAS	0,245
PANC0813_PANCREAS	NA
PANC1_PANCREAS	0,781
PANC1005_PANCREAS	0,540
PATU8902_PANCREAS	0,145
PATU8988S_PANCREAS	NA
PATU8988T_PANCREAS	0,075
PC14_LUNG	0,500
PC3_PROSTATE	0,735
PECAPJ15_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	0,877
PECAPJ41CLONED2_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	0,719
PECAPJ49_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	0,843
PEDS005TADH_KIDNEY	0,448
PEDS015T_SOFT_TISSUE	0,814
PK1_PANCREAS	0,859
PK45H_PANCREAS	0,843

Linhagem Celular	AUC
PK59_PANCREAS	0,778
PLCPRF5_LIVER	0,833
PSN1_PANCREAS	0,820
QGP1_PANCREAS	0,976
RCC10RGB_KIDNEY	0,801
RCM1_LARGE_INTESTINE	NA
RD_SOFT_TISSUE	0,769
RDES_BONE	0,571
RERFLCAD1_LUNG	0,782
RERFLCAD2_LUNG	0,874
RERFLCAI_LUNG	0,859
RERFLCKJ_LUNG	0,824
RKN_SOFT_TISSUE	0,988
RKO_LARGE_INTESTINE	0,847
RL952_ENDOMETRIUM	0,403
RMGI_OVARY	NA
RMUGS_OVARY	0,857
RPMI7951_SKIN	0,786
RT112_URINARY_TRACT	0,766
RT4_URINARY_TRACT	NA
RVH421_SKIN	0,839
S117_SOFT_TISSUE	0,866
SBC5_LUNG	0,948
SCC25_UPPER_AERODIGESTIV E_TRACT	0,782
SF126_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,862
SF295_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,917
SF539_CENTRAL_NERVOUS_S	0,888

Linhagem Celular	AUC
YSTEM	
SH10TC_STOMACH	0,886
SH4_SKIN	0,537
SIMA_AUTONOMIC_GANGLIA	0,764
SJSA1_BONE	0,808
SKES1_BONE	0,984
SKHEP1_LIVER	0,817
SKLU1_LUNG	0,644
SKMEL2_SKIN	0,910
SKMEL24_SKIN	0,862
SKMEL3_SKIN	0,848
SKMEL30_SKIN	0,795
SKMEL5_SKIN	0,831
SKMES1_LUNG	0,902
SKNAS_AUTONOMIC_GANGLI A	0,832
SKNBE2_AUTONOMIC_GANGL IA	0,879
SKNEP1_BONE	0,523
SKNFI_AUTONOMIC_GANGLIA	0,852
SKOV3_OVARY	0,850
SKPNDW_BONE	0,861
SKUT1_SOFT_TISSUE	0,845
SNB75_CENTRAL_NERVOUS_S YSTEM	0,768
SNGM_ENDOMETRIUM	0,794
SNU1041_UPPER_AERODIGES TIVE_TRACT	0,806
SNU1066_UPPER_AERODIGES TIVE_TRACT	0,860

Linhagem Celular	AUC
SNU1076_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	NA
SNU1077_ENDOMETRIUM	0,759
SNU1079_BILIARY_TRACT	NA
SNU1105_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	0,620
SNU1196_BILIARY_TRACT	0,653
SNU1214_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	0,826
SNU182_LIVER	0,179
SNU213_PANCREAS	NA
SNU216_STOMACH	0,521
SNU245_BILIARY_TRACT	0,853
SNU308_BILIARY_TRACT	0,873
SNU398_LIVER	0,951
SNU407_LARGE_INTESTINE	0,284
SNU410_PANCREAS	0,994
SNU423_LIVER	0,697
SNU449_LIVER	0,971
SNU46_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	0,925
SNU601_STOMACH	NA
SNU61_LARGE_INTESTINE	0,881
SNU668_STOMACH	0,423
SNU685_ENDOMETRIUM	0,812
SNU719_STOMACH	0,869
SNU738_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	0,826
SNU761_LIVER	NA
SNU8_OVARY	NA

Linhagem Celular	AUC
SNU81_LARGE_INTESTINE	0,400
SNU840_OVARY	0,848
SNU869_BILIARY_TRACT	0,782
SNU878_LIVER	0,890
SNU886_LIVER	0,656
SNU899_UPPER_AERODIGESTIVE_TRACT	NA
SNUC2A_LARGE_INTESTINE	0,608
SNUC4_LARGE_INTESTINE	0,290
SNUC5_LARGE_INTESTINE	NA
SQ1_LUNG	0,838
SU8686_PANCREAS	0,848
SUIT2_PANCREAS	0,856
SW1088_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	0,835
SW1116_LARGE_INTESTINE	0,879
SW1271_LUNG	0,718
SW1573_LUNG	0,894
SW1710_URINARY_TRACT	0,835
SW1783_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	NA
SW1990_PANCREAS	0,874
SW780_URINARY_TRACT	0,986
SW837_LARGE_INTESTINE	0,995
SW948_LARGE_INTESTINE	0,766
T24_URINARY_TRACT	0,906
T3M10_LUNG	0,951
T47D_BREAST	0,698
T98G_CENTRAL_NERVOUS_SYSTEM	0,830

Linhagem Celular	AUC
TC32_BONE	0,681
TCCPAN2_PANCREAS	0,905
TCCSUP_URINARY_TRACT	NA
TE1_OESOPHAGUS	0,875
TE10_OESOPHAGUS	0,872
TE11_OESOPHAGUS	0,870
TE14_OESOPHAGUS	0,898
TE4_OESOPHAGUS	NA
TE5_OESOPHAGUS	0,797
TE6_OESOPHAGUS	0,864
TE8_OESOPHAGUS	0,802
TE9_OESOPHAGUS	0,911
TEN_ENDOMETRIUM	0,815
TM31_CENTRAL_NERVOUS_S SYSTEM	0,424
TOV112D_OVARY	0,871
TOV21G_OVARY	0,864
TT_OESOPHAGUS	0,859
TT_THYROID	0,179
TT2609C02_THYROID	0,251
TTC549_SOFT_TISSUE	NA
TTC709_SOFT_TISSUE	0,520
TUHR4TKB_KIDNEY	0,265
U118MG_CENTRAL_NERVOUS _SYSTEM	0,871
U251MG_CENTRAL_NERVOUS _SYSTEM	0,806
U2OS_BONE	0,862
U87MG_CENTRAL_NERVOUS_ SYSTEM	0,724

Linhagem Celular	AUC
UACC257_SKIN	0,863
UACC62_SKIN	0,837
UBLC1_URINARY_TRACT	0,875
UO31_KIDNEY	0,710
VMRCRCW_KIDNEY	0,345
VMRCRCZ_KIDNEY	0,969
WM1799_SKIN	0,101
WM2664_SKIN	0,578
WM793_SKIN	0,866
WM88_SKIN	0,802
WM983B_SKIN	0,861
X2313287_STOMACH	0,254
X253J_URINARY_TRACT	0,905
X253JBV_URINARY_TRACT	0,966
X42MGBA_CENTRAL_NERVOU S_SYSTEM	0,845
X5637_URINARY_TRACT	0,624
X639V_URINARY_TRACT	NA
X647V_URINARY_TRACT	0,284
X769P_KIDNEY	0,463
X786O_KIDNEY	0,853
X8305C_THYROID	0,849
X8505C_THYROID	0,558
X8MGBA_CENTRAL_NERVOUS _SYSTEM	0,805
YAPC_PANCREAS	0,719
YD10B_UPPER_AERODIGESTIV E_TRACT	0,903
YD15_SALIVARY_GLAND	NA
YD38_UPPER_AERODIGESTIVE	0,877

Linhagem Celular	AUC
_TRACT	
YD8_UPPER_AERODIGESTIVE_ TRACT	0,501
YKG1_CENTRAL_NERVOUS_SY STEM	0,936
ZR751_BREAST	0,853

[0925] Conclusão: Esses dados demonstraram a atividade do Composto 1 em linhas celulares de tumores sólidos, com maior atividade nas linhas celulares de pulmão, intestino, estômago, fígado, pâncreas e rim.

Exemplo 31: Efeito do Composto 1 e everolimus no modelo QGP1 - ensaio in vivo

[0926] O tratamento combinado do Composto 1 e everolimus foi testado em xenoenxertos de somatostatina pancreática humano QGP1 em camundongos fêmeas NOD/SCID. O tratamento começou no dia 1 em nove grupos de camundongos (n = 10) com tumores QGP1 subcutâneos estabelecidos. O everolimus foi administrado a 3 ou 10 mg/kg, por via intraperitoneal (i.p.), diariamente, durante 21 dias (qd x 21). O veículo (5% de NMP/45% de PEG400/50% de salina) e o Composto 1 (2,5, 5 ou 10 mg/kg) foram doseados por via intraperitoneal (i.p.) duas vezes por dia (bid x 21), com três horas de intervalo. Grupo 1 recebeu veículo; Os grupos 2 e 3 receberam 3 e 10 mg/kg de everolimus, respectivamente; Os grupos 4, 5 e 6 receberam 2,5, 5 e 10 mg/kg de Composto 1, respectivamente; Os grupos 7, 8 e 9 receberam 3 mg/kg de everolimus mais 2,5, 5 e 10 mg/kg de Composto 1, respectivamente. Os tumores foram medidos usando pinças duas vezes por semana até o final do estudo no dia 52. Três tumores em ou próximo critério de avaliação do volume de tumor mediano de grupo de 2000 mm³ foram amostrados a partir de cada grupo.

[0927] A eficácia de tratamento foi baseada na inibição de crescimento tumoral (TGI), definida como a diferença entre os volumes de tumor medianos (MTVs) finais (dia 52) dos camundongos tratados e controle. Os resultados foram analisados utilizando o teste U de Mann-Whitney e foram considerados estatisticamente significantes em P≤0,05. A tolerabilidade à fármaco foi avaliada por medidas de peso corporal e por observação frequente de animais tratados.

[0928] O volume de tumor mediano no dia 52 (MTV) dos camundongos de

controle tratados com veículo do Grupo 1 foi de 2181 mm³, com volumes individuais de tumor variando de 650 a 5000 mm³. Grupos 2 e 3 de monoterapia com everolimus resultaram na inibição do crescimento tumoral de 41 e 39%, respectivamente. Além disso, o Grupo 2 foi mais eficaz que os Grupos 4, 5 e 6 de monoterapia do Composto 1 ($P \leq 0,01$ vs. Grupos 4 e 5, $P \leq 0,001$), embora os Grupos 2 e 3 não tenham atingido significância estatística em comparação com os controles. O único regime de tratamento que alcançou eficácia estatisticamente significativa foi o Grupo 9 (3 mg/kg de everolimus e 10 mg/kg de Composto 1), que alcançou duas regressões parciais do tumor (PR) e inibição do crescimento do tumor (TGI) de 70% em comparação com os controles, com um dia 52 MTV de 650 mm³ e volumes individuais de tumor variando de 446 a 1688 mm³. Todos os regimes foram bem tolerados com perda de peso moderada (1,6 a 6,8%) entre os dias 14 e 17 em todos os grupos que receberam o composto 1.

[0929] Conclusão: nas condições deste estudo, os grupos dosados com everolimus demonstraram alguma inibição do crescimento tumoral que não foi estatisticamente significativa. Além disso, a combinação de everolimus (3 mg/kg) e Composto 1 (10 mg/kg) atrasou significativamente o crescimento de xenoenxertos de somatostatina pancreática humano QGP1 em NOD/SCID feminino durante as monoterapias correspondentes.

Exemplo 32: Redução dos níveis de GSPT1 em células BON após tratamento com combinações de Composto 1 e Everolimus

[0930] Métodos: As células BON foram cultivadas em meio DMEM: F12K contendo 10% de soro bovino fetal e antibióticos penicilina/estreptomicina. As células foram revestidas em células 3e6 em uma placa de 10 cm e tratadas diariamente com veículo, RAD (everolimus) e/ou concentrações crescentes do composto 1 isoladamente durante 120 h. As células foram colhidas e sondadas

com anticorpos para Western Blots e fotografadas usando um sistema de imageamento Li-Cor Odyssey. Todos os anticorpos totais e fosforilados foram obtidos da Cell Signaling Technology.

[0931] Resultados: O composto 1 causou degradação de GSPT1 dependente da dose e não tem efeito direto nos efetores de mTORC1, como a fosforilação da proteína ribossômica S6 mediada por p4EBP1 ou S6K1. Em contraste, o RAD diminuiu drasticamente a fosforilação de S6 e a fosforilação de 4EBP1 através da inibição de mTORC1 e aumentou o pAKT através de feedback negativo FIG. 99. Comparado apenas ao composto único, uma combinação de RAD e Composto 1 aumentou significativamente a degradação de GSPT1, aumento da inibição do crescimento celular (pS6) e tradução dependente de cap (diminuição de p4EBP1, p-eIF2, pAKT, eIFG1 e ciclina D1) e trajetória de AMPK ativada via (aumento do pAMPK).

[0932] Conclusão: O tratamento de células tumorais neuroendócrinas pancreáticas com uma combinação de RAD e Composto 1 resultou em maior degradação de GSPT1 em comparação ao tratamento com RAD ou Composto 1 sozinho, o que pode levar a um efeito aumentado de RAD no crescimento celular, tradução dependente de tampa e metabolismo atividade.

Exemplo 33: Efeito nas células AML do tratamento combinado com inibidores de everolimus ou quinase e Composto 1

[0933] Para avaliar se a inibição de mTOR, FLT3, JAK2 ou JAK3 poderia melhorar a resposta das células AML ao composto 1, as células U937 AML foram tratadas com o composto 1 sozinho ou em combinação com um painel de inibidores de quinase. As células foram tratadas com controle de veículo DMSO ou Composto 1 na presença ou ausência de vários inibidores em concentrações especificadas (ver FIGs. 101A-101E) por 5 dias. A proliferação celular foi medida por Cell-Titer Glo, e a porcentagem de proliferação celular foi normalizada para

células parentais tratadas com controle DMSO.

[0934] Adicionalmente, as células U937 AML foram tratadas com 100 nM de Composto 1 isoladamente ou em combinação com everolimus, quizartinibe, ruxolitinibe, AZD1480 e tofacitinibe em concentrações especificadas (ver FIG. 102) por 16 horas. Os extratos de células inteiras foram coletados e submetidos a análise por imunotransferência.

[0935] Resultados: Os inibidores da 5 cinase e o everolimus aumentaram o efeito antiproliferativo do Composto 1, como mostrado por um desvio para a esquerda do valor de IC_{50} da proliferação (FIG. 100A a FIG. 100E). O efeito inibidor do crescimento do Composto 1 foi aumentado pelo tratamento combinado com everolimus, ruxolitinibe, AZD1480 e tofacitinibe e foi associado a depleção aumentada de GSPT1 e clivagem de Caspase-3 (FIG. 101).

[0936] Conclusão: O tratamento de células AML com uma combinação de inibidores do Composto 1 e mTOR, FLT3, JAK2 ou JAK3 resultou em aumento da degradação do GSPT1 e aumento do apoptose em comparação ao tratamento com o Composto 1 ou os inibidores isolados.

Exemplo 34: Tratamento de linhas celulares AML com o Composto 1 como agente único ou em combinação com Venetoclax.

[0937] Métodos: *Célula TitreGlo*: 5000 células foram revestidas em 50 μ l por poço em placas de 384 poços contendo combinações de compostos nas concentrações indicadas. Após 48 h de tratamento, os níveis relativos de ATP foram medidos adicionando reagente Cell TitreGlo, incubando no escuro por 30 min e medindo a luminescência em um leitor de placas Envision.

[0938] Resultados: Foi demonstrada a sinergia para o tratamento combinado de múltiplas linhas celulares AML com o Composto 1 e Venetoclax.

[0939] Conclusão: O tratamento com células Venetoclax sensibilizou AML ao tratamento Composto 1. Esse efeito sinérgico foi demonstrado pelo desvio

para a esquerda das curvas de resposta à dose do Composto 1 na presença de doses sub-letais de Venetoclax. As figs. 102A-102G mostram o efeito na proliferação de linha celular AML quando incubadas por 48 h com concentrações aumentadas de Composto 1 com e sem Venetoclax nas concentrações indicadas.

Exemplo 35: Tratamento combinado de células AML com Composto 1 e Venetoclax.

[0940] Métodos: *Célula TitreGlo*: as células KG-1 foram semeadas (200.000 células por ml, 0,05 mL por poço) em placas de cultura de tecidos de 384 poços (Corning, 3764) e depois cultivadas por 1 dia a 37 °C, 5% de CO₂. As células foram, então, tratadas com concentrações indicadas de Venetoclax e/ou Composto 1 durante 3 dias a 37 °C, 5% de CO₂. Após o tratamento, os níveis relativos de ATP foram medidos adicionando reagente Cell TitreGlo (0,025 mL por poço), incubando no escuro por 20 min e medindo a luminescência em um leitor de placas Envision.

[0941] *Western Blots*: as células KG-1 foram semeadas em placas de cultura de tecidos de 6 poços a 500.000 células por mL, 4 mL por poço. As células foram tratadas com doses indicadas de Venetoclax e/ou Composto 1 durante 16 horas a 37 °C, 5% de CO₂. As células foram, então, lavadas duas vezes com PBS frio e lisadas com tampão de lise M-PER (Thermo) suplementado com 150 mM de NaCl e protease Halt e coquetel inibidor de fosfatase (Thermo) em gelo por 30 min. Os lisados brutos foram clarificados por centrifugação (14000 rpm, 10 min, 4 °C) e a proteína total quantificada pelo ensaio BCA. Os níveis de GSPT1 (Abcam, ab49878), Mcl-1 (CST, 4572), Bcl-2 (CST, 4223), caspase clivada 3 (CST, 9664) e GAPDH (Santa Cruz, sc-47724) foram sondados por western e imageados em um imageador infravermelho LiCor.

[0942] *Análise de células vivas Caspase 3/7 e Confluência*: as células KG-1 foram semeadas (200.000 células por ml, 0,05 mL por poço) em placas de cultura

de tecidos de 384 poços (Corning, 3764) previamente revestidas com fibronectina (Sigma, F1141) e cresceu durante 1 dia a 37 °C, 5% de CO₂. As células foram, então, tratadas com concentrações indicadas de Venetoclax e/ou Composto 1 e Caspase-3/7 Green Apoptosis Assay Reagent (Incucyte, 4440). As células foram fotografadas a cada 4 horas com um IncuCyte Live Cell Analysis Imaging System ao longo de 3 dias enquanto incubadas a 37 °C, 5% de CO₂. A FIG. 103 mostra os níveis relativos de ATP como uma medida de viabilidade em resposta a várias combinações de doses do Composto 1 e Venetoclax. A FIG. 104 mostra análise de western blot medindo os níveis de proteína GSPT1, Mcl-1, Bcl-2, caspase 3 clivada e GAPDH em células KG-1 16 horas após o tratamento com um conjunto de doses do Composto 1, Venetoclax ou combinação de Composto 1 e Venetoclax. As FIGS. 105A e 105B mostram as análises de células vivas da confluência de KG-1 (FIG. 106A) e contagem de eventos apoptóticos (FIG. 106B) mostrando que o tratamento combinado Composto 1 e Venetoclax melhora a apoptose em comparação ao tratamento com agente único.

[0943] Resultados: Foi demonstrada sinergia para o tratamento combinado da linha celular FLT3-ITD AML (KG-1) com o Composto 1 e Venetoclax. Mostrou-se que o composto 1 sozinho e em combinação com Venetoclax reduz os níveis de Mcl-1 nas células KG-1. Além disso, o tratamento combinado de células KG-1 com o composto 1 e Venetoclax melhorou a apoptose em comparação ao tratamento com os agentes únicos.

[0944] Conclusão: O tratamento de células AML com o Composto 1 diminuiu os níveis de MCL-1. O tratamento combinado com Venetoclax e Composto 1 foi sinérgico e resultou em apoptose aumentada, em comparação ao tratamento com Venetoclax ou Composto 1 sozinho.

Exemplo 36: Efeito do tratamento combinado com everolimus e Composto 1 nas linhas celulares AML

[0945] Para determinar se a inibição do mTOR poderia promover a depleção de GSPT1 induzida por composto 1 e induzir apoptose, as células AML foram tratadas com o composto 1 sozinho, everolímus sozinho ou com a combinação de everolímus e composto 1. Os extratos de células inteiras foram coletados e submetidos a análise por imunotransferência.

[0946] Resultados: Embora o tratamento com everolimus tenha bloqueado significativamente a ativação da via mTOR, demonstrada pelos níveis reduzidos de fosforilação de S6K1 e 4E-BP1, teve um efeito mínimo na expressão de GPST1 e na clivagem de Caspase-3 (ver FIG. 106). Contudo, o everolimus aumentou drasticamente o efeito do Composto 1 na degradação de GSPT1, perda de Mcl-1 e indução de apoptose, em comparação ao tratamento apenas com o Composto 1.

[0947] A sensibilização ao Composto 1 conferida pelo everolimus foi observada em múltiplas linhas celulares AML (MOLM-13, MV-4-11, NB-4, U937, UT-7, OCI-AML2 e F-36P). Nas linhas celulares AML HNT-34 e KG1, o tratamento com o composto 1 foi suficiente para induzir uma degradação robusta do GSPT1, clivagem da Caspase-3 e perda de Mcl-1.

[0948] Conclusão: O tratamento de células AML com uma combinação de Composto 1 e everolimus resultou em maior degradação de GSPT1, apoptose aumentada e perda de Mcl-1, em comparação com o tratamento apenas com o Composto 1.

Exemplo 37: Efeito do composto 1 em células de pacientes com MDS

[0949] Métodos. As células mononucleares da medula óssea (BMMCs) de pacientes com MDS ou células CD34⁺ correspondentes isoladas de BMMCs das mesmas amostras de pacientes foram cultivadas ex vivo para avaliar sua sensibilidade ao Composto 1. As BMMCs foram semeadas em meio completo (meio CellGenix suplementado com LDL, FLT3L, IL-6, IL-3 e TPO) a 10⁶ células/mL

e as células CD34⁺ foram semeadas em meio estaminal completo (meio Serum Free StemSpan suplementado com coquetel de citocinas CC100) a 5×10^5 células/mL. Todas as culturas foram expostas ao Composto 1 a 0, 37 e 111 nM durante até 10 dias e as células foram coletadas duas vezes por semana para substituição do meio celular e avaliação da contagem de células.

[0950] Resultados. Como mostrado na FIG. 107, a exposição ao Composto 1 reduziu o número de células no total de BMMCs, mas também nas células blásticas CD34⁺ em amostras de 2 pacientes com MDS diferentes. A cinética e as concentrações necessárias foram diferentes entre os pacientes e os tipos de células.

[0951] Conclusão. O composto 1 produziu uma diminuição no número de células em amostras de MDS mostrando um espectro diferente de sensibilidade entre BMMCs em massa e células blásticas CD34⁺ isoladas

Exemplo 38: Efeito do tratamento com o Composto 1 e everolimus em células de pacientes com MDS

[0952] Métodos. BMMCs de pacientes com MDS foram cultivadas ex vivo para avaliar sua sensibilidade ao tratamento com o Composto 1 em combinação com o everolimus. Para avaliar o efeito em massa nas células da medula óssea MDS, as BMMCs totais foram semeadas em meio completo (meio CellGenix suplementado com meio LDL, FLT3L, IL-6, IL-3 e TPO) a 10^6 células/mL e expostas ao Composto 1 (0, 37, 111 e 333 nM) isoladamente ou em combinação com everolimus a uma concentração fixa de 111 nM. As culturas foram mantidas por 1 semana e os números de células foram medidos por contagem viável de células nos dias 1, 3 e 7 de cultura. O efeito na apoptose e degradação de GSPT1 foi medido por citometria de fluxo 24 horas após a exposição.

[0953] Para definir melhor o efeito do composto 1 em progenitores da MDS/células-tronco, essas BMMCs foram semeadas em meio Methocult e

expostas ao composto 1 (0, 37, 111, 333 e 1000 nM) isoladamente ou em combinação com everolímus a 111 nM para avaliar sua clonogênese potencial. Os números de colônias foram pontuados após 14 dias de cultura usando StemVision.

[0954] Resultados. A FIG. 108A mostra o efeito do tratamento com o Composto 1 em BMNCs de uma amostra de paciente com MDS. O tratamento com 37 nM de Composto 1 reduziu o número de células em ~70% após 3 dias de cultura e esse efeito foi aumentado para até 95% de diminuição do número de células em concentrações mais altas. Não foi observado efeito de agente único a 37 nM. Curiosamente, quando combinado com everolímus, esse efeito foi aumentado significativamente e o tratamento com essa dose baixa de 37 nM de Composto 1 combinado com everolímus alcançou efeitos inibitórios semelhantes aos observados para o tratamento com 111 nM de único agente de Composto 1. A FIG. 108B mostra as mesmas tendências em células progenitoras/células-tronco MDS. O GSPT1 foi degradado após 24 horas de exposição ao Composto 1 e esse efeito foi ligeiramente aumentado em doses mais baixas por tratamento combinado com everolímus (FIG. 109). A caspase 3 foi ativada após a exposição ao Composto 1 e esse efeito foi aumentado por combinação com everolímus.

[0955] Conclusão. Em resumo, o tratamento combinado com everolímus aumentou a sensibilidade a doses baixas de Composto 1 em amostras de pacientes com MDS e pode melhorar o índice terapêutico. Esse efeito foi mediado pela indução de apoptose como consequência da degradação de GSPT1.

Exemplo 39: Um Estudo de Fase 1, de Rótulo Aberto, para Determinação de Dose do Composto 1, Um Novo Medicamento Modulador da Ligase de Cereblon E3, Em Indivíduos com Leucemia Mielóide Aguda Recidivada ou Refratária

[0956] Objetivos Principais: Determinar a segurança e tolerabilidade do Composto 1. Para definir a dose não tolerada (NTD), a dose máxima tolerada (MTD) e/ou a dose recomendada da Fase 2 (RP2D) do Composto 1.

[0957] Objetivos secundários: Fornecer informações sobre a eficácia preliminar do Composto 1. Caracterizar a farmacocinética (PK) do Composto 1.

[0958] Projeto de Estudo: Esse estudo é um estudo clínico de fase aberta, de fase 1, de escalonamento e expansão de dose, primeiro em humanos do Composto 1 em indivíduos com AML recidivante ou refratária. A parte do escalonamento de dose (Parte A) do estudo avaliará a segurança e a tolerabilidade das doses crescentes do Composto 1, administradas por via intravenosa e determinarão a MTD do Composto 1. Na parte A, duas formulações serão testadas. A parte de expansão (Parte B) avaliará ainda a segurança e a eficácia do Composto 1 administrado em ou abaixo de MTD em coortes de expansão selecionados de até aproximadamente 20 indivíduos avaliáveis, cada um, a fim de determinar o RP2D. Um ou mais regimes de dosagem podem ser selecionados para expansão da coorte. As partes A e B consistem em 3 períodos: Triagem, Tratamento e Acompanhamento. A resposta à leucemia será determinada pelo investigador. A avaliação da doença será baseada em International Working Group Response Criteria in AML (Cheson, *et al*, *J Clin Oncol* 2003; 21(24):4642-9).

[0959] Período de Triagem: O Período de Tiragem começa 28 dias antes da primeira dose do Composto 1. O documento de consentimento informado deve ser assinado e datado pelo sujeito e pela equipe administradora antes do início de qualquer outro procedimento de estudo. Todos os testes e procedimentos de triagem devem ser concluídos nos 28 dias anteriores à primeira dose do Composto 1.

[0960] Período de Tratamento: No Período de Tratamento, o Composto 1

será administrado por via intravenosa nos Dias 1 a 5 de cada ciclo de 28 dias por até 4 ciclos na ausência de progressão da doença, recidiva, toxicidade inaceitável ou decisão do indivíduo/médico de se retirar. (A progressão da doença é definida como: um aumento de >50% na porcentagem da contagem de blastos da medula óssea a partir da contagem inicial de blastos de medula óssea que persiste por pelo menos 2 avaliações da medula óssea separadas por pelo menos 1 mês, a menos que a explosão da medula óssea seja a contagem é >70%; nesse caso, uma descoberta de >70% dos blastos que persiste por 2 avaliações da medula óssea pós-linha de base separadas por pelo menos 1 mês seria considerada progressão ou uma duplicação da contagem absoluta de blastos sanguíneos periféricos da linha de base que persiste por ≥ 7 dias e a contagem final absoluta de blastos sanguíneos periféricos é $>10 \times 10^9/L$) Durante a Parte A, 2 ciclos adicionais de tratamento além do Ciclo 4 podem ser permitidos se o sujeito estiver demonstrando benefício clínico (SD ou PR) e tolerando o medicamento do estudo sem toxicidade inaceitável. Os esquemas de dosagem modificados (por exemplo, aumentando de 5 dias para 10 dias da dosagem ou aumentando o comprimento da infusão) podem ser avaliados em coortes adicionais, se necessário, com base na toxicidade, perfis de farmacocinética e achados da DP. Todos os indivíduos deverão iniciar a suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D pelo menos 3 dias antes do dia 1 de cada ciclo e continuar até ≥ 3 dias após a última dose do composto 1 em cada ciclo (por exemplo, \geq dia 8 quando o composto 1 for administrado nos dias 1 a 5).

[0961] No Ciclo 1, uma avaliação da medula óssea será realizada no dia 28 (± 3 dias). Com base na avaliação da medula óssea do dia 28, indivíduos com medula óssea hipoplásica, sem evidência de leucemia persistente e com neutropenia de Grau ≥ 3 serão seguidos por mais 2 semanas para monitoramento de segurança no Ciclo 1 (duração total de 42 dias). Uma

avaliação adicional da medula óssea será realizada no momento da recuperação hematológica ou no dia 42 (± 3 dias). Assim, na Parte A, a janela para avaliação da toxicidade limitante da dose (DLT) durante o Ciclo 1 será de até 42 dias (28 ou 42 dias). Ciclos ≥ 2 terão 28 dias de duração. Os ciclos subsequentes devem começar ≤ 7 dias após o último dia do ciclo anterior.

[0962] Período de acompanhamento: No período de acompanhamento, todos os indivíduos serão acompanhados por 28 dias (± 3 dias) após a última dose do composto 1 por segurança. Os indivíduos sem progressão documentada da doença (ou recidiva) terão avaliações de eficácia de hemogramas completos e esfregaços de sangue periférico realizados a cada 8 semanas subsequentes (± 1 semana) no 1º ano e a cada 12 semanas (± 2 semanas) no 2º ano ou até a progressão da doença (ou recaída), início de uma nova terapia anticâncer, retirada do consentimento do estudo, óbito ou o fim do teste, o que ocorrer primeiro. Uma avaliação da medula óssea será concluída no final do 1º ano e conforme indicado clinicamente durante o período de acompanhamento.

[0963] Todos os indivíduos serão acompanhados para acompanhamento da sobrevivência, de acordo com o esquema para o acompanhamento a longo prazo de eficácia por até 2 anos ou até óbito, perda no acompanhamento ou Fim do Teste, o que ocorrer primeiro. O acompanhamento da sobrevivência pode ser conduzido por revisão de registros (incluindo registros públicos) e/ou contato telefônico com o sujeito, a família ou o médico responsável pelo assunto.

[0964] Parte A - Escalonamento da dose. Durante a fase de escalonamento (Parte A), um projeto de titulação acelerada modificado (Simon et al, J Natl Cancer Inst 1997; 89(15):1138-47) será usado para estabelecer a toxicidade inicial. As coortes de um ou mais indivíduos serão administradas, cada uma, ao Composto 1 em doses que aumentarão em incrementos de 100% por coorte até que ≥ 2 indivíduos experimentem um evento adverso de Grau ≥ 2 relacionado ao

Composto 1 na janela DLT (podem ser coortes diferentes), ou ≥ 1 sujeito experimenta uma DLT dentro da janela DLT. Naquele momento, a coorte atual e todas as coortes subseqüentes serão expandidas, matriculando 3 a 6 indivíduos. Um cronograma de escalonamento de doses com incrementos de doses não superiores a 50% será iniciado simultaneamente para estabelecer NTD e MTD. A dose inicial será de 0,3 mg. No início do estudo, será utilizada uma formulação inicial do Composto 1 (Formulação A) e, durante o escalonamento de dose, uma segunda formulação do Composto 1 (Formulação Ib descrita na Tabela 43) será introduzida para substituir a Formulação A. A Formulação A tem a seguinte composição (*consulte* a publicação US 2017/0196847-A1).

	Formulação A
Composto 1	1,05 mg/frasco
Ácido Cítrico Anidro, USP	18,6 mg/frasco
Citrato de sódio anidro, USP	18,4 mg/frasco
Kleptose [®] HPB (HP- β -CD), grau parenteral	840 mg/frasco
Dimetilsulfóxido (no meio do processo)	Parcialmente removido após a secagem
Ácido fórmico	-
Água para injeção (no meio do processo)	Removido na secagem

[0965] O solvente residual DMA na Formulação A não deve exceder os limites de exposição diária permitida (PDE) estabelecidos nos ICH *Q3C Impurities: Residual Solvents*, a fim de prosseguir com as coortes de escalada de dose acima de uma dose diária de Composto 1 de 2,4 mg. O nível de solvente residual (ácido fórmico) na Formulação Ib permite doses diárias de Composto 1 de até 20 mg sem exceder seu PDE definido nas orientações ICH Q3C.

[0966] A Formulação Ib será introduzida em uma nova coorte de doses (de acordo com as diretrizes de escalonamento de doses do estudo) após a revisão das toxicidades observadas nos níveis de doses iniciais da Formulação A.

[0967] Pode ser decidido avaliar uma coorte de doses mais alta, indivíduos

adicionais dentro de uma coorte de doses, coortes de doses intermediárias, incrementos de doses menores, esquemas alternativos de dosagem (por exemplo, aumento de 5 a 10 dias da administração do Composto 1 ou tempos de infusão mais longos), e/ou declarar uma MTD com base em sua revisão dos dados de segurança clínica e laboratorial disponíveis, perfis de farmacocinética e descobertas de DP. No caso de um esquema de dosagem alternativo ser avaliado, a dose inicial e o esquema não excederão a intensidade da dose de uma coorte de dose que atendeu previamente aos critérios de escalonamento de dose.

[0968] Após a administração da primeira dose em qualquer coorte durante a escalada da dose, os indivíduos em cada coorte são observados por pelo menos 28 dias e até 42 dias (Ciclo 1, janela DLT) antes que a próxima coorte de dose mais alta possa começar. Não mais de um indivíduo por dia será inscrito em uma determinada coorte de escalonamento de dose. Um sujeito avaliável para DLT é definido como aquele que: recebeu pelo menos 80% da dose total planejada do Ciclo 1 (por exemplo, 4 doses completas de Composto 1 para um esquema de doses de 5 dias; no caso de uma dose perdida, ≥ 4 doses a ser completado no ou antes do Dia 7) do Composto 1 durante o Ciclo 1 sem experimentar DLT, ou experimentou DLT após receber pelo menos uma dose (ou fração do mesmo) do Composto 1.

[0969] No caso de um esquema de doses alternativas (por exemplo, aumentar de 5 dias para 10 dias da dosagem) ser avaliado na Parte A, serão aplicados os mesmos critérios para determinar os indivíduos avaliados por DLT. Os indivíduos não avaliáveis para DLT serão substituídos.

[0970] Uma dose será considerada intolerável se $> 33\%$ dos indivíduos avaliados em uma coorte de doses experimentarem DLT durante o Ciclo 1. A MTD será definida como a última dose abaixo da NTD, na qual $\leq 33\%$ dos

indivíduos avaliados experimentaram DLT durante o Ciclo 1. Se 2 ou mais dos 6 indivíduos avaliados experimentarem DLTs na primeira coorte de dose, uma coorte de dose mais baixa pode ser explorada (isto é, 0,1 mg de Composto 1). Uma dose intermediária do Composto 1 (uma entre a NTD e o último nível de dose antes da NTD) pode ser avaliada para determinar com precisão a MTD.

[0971] A escalação de dose intra-sujeito não será permitida durante o período de avaliação da DLT; no entanto, nos ciclos ≥ 2 , indivíduos sem evidência de progressão da doença que tolerem a dose designada do composto 1 podem subir para o nível de dose mais alto que se mostra ser adequadamente tolerado por pelo menos uma coorte de indivíduos neste estudo (isto é, $\leq 33\%$ de indivíduos avaliados que tiveram DLT nesse nível de dose). Se o nível de dose tolerado mais alto for a Formulação Ib, um indivíduo atualmente inscrito na Formulação A poderá mudar para a formulação mais recente.

[0972] Parte B - Expansão da Coorte: Após a conclusão da escalada da dose (Parte A), outros sujeitos podem ser inscritos em uma fase de expansão (Parte B) com até aproximadamente 20 indivíduos avaliáveis em cada coorte. A expansão pode ocorrer na MTD e no esquema estabelecido na fase de escalonamento da dose e/ou em uma dose e um esquema alternativo tolerável, com base na revisão dos dados de segurança, PK e PD da Parte A. Um ou mais esquemas de dosagem (dose, esquemas) podem ser selecionados para expansão de coorte.

[0973] População do estudo: Homens e mulheres, com 18 anos ou mais, com AML recidivante ou refratária, conforme definido pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS), que não são adequados para outras terapias estabelecidas, serão incluídos no estudo.

[0974] Duração do Estudo. A inscrição deve levar aproximadamente 18 a 24 meses para ser concluída (12 a 15 meses para o aumento da dose e 6 a 9 meses

para a expansão). A conclusão do tratamento ativo e o acompanhamento pós-tratamento devem levar de 6 a 24 meses adicionais. Espera-se que todo o estudo dure aproximadamente 3 a 4 anos. O Fim do Ensaio é definido como a data da última visita do último sujeito para completar o acompanhamento pós-tratamento ou a data de recebimento do último ponto de dados do último sujeito que é necessário para as análises primária, secundária e/ou exploratória, como pré-especificado no protocolo, aquele que for mais recente.

[0975] Tratamentos de Estudo. O produto experimental, Composto 1 para injeção IV, rotulado adequadamente para uso em investigação, de acordo com os regulamentos da autoridade sanitária do país, será fornecido. O medicamento do estudo será administrado conforme descrito na seção Período de Tratamento acima.

[0976] O tratamento do estudo pode ser descontinuado se houver evidência de progressão da doença clinicamente significativa (ou recidiva), toxicidade inaceitável ou decisão do indivíduo/médico de se retirar. Os indivíduos podem continuar recebendo os medicamentos do estudo além da progressão da doença, a critério do Investigador, em consulta com o Celgene Medical Monitor.

[0977] Visão Geral das Avaliações de Eficácia Chave. A variável de eficácia primária é a taxa de resposta à leucemia. Todos os indivíduos tratados serão incluídos nas análises de eficácia. A resposta à leucemia será determinada pelo investigador. A avaliação será baseada em International Working Group Response Criteria in AML (Cheson, et al, J Clin Oncol 2003; 21(24):4642-9).

[0978] Uma análise descritiva das evidências da atividade antileucêmica será fornecida pelo Investigador, com base em avaliações clínicas, laboratoriais, moleculares e citogenéticas, que inclui avaliação da porcentagem de explosão da medula óssea, citogenética da medula óssea, estudos genéticos moleculares

para avaliar respostas moleculares, citometria de fluxo da medula óssea, contagem de plaquetas e contagem absoluta de neutrófilos. Os critérios de resposta serão resumidos pelas melhores categorias gerais de resposta: taxa de remissão completa (CRR) e taxa de resposta objetiva (ORR). A ORR inclui todas as respostas de remissão completa (CR) (isto é, estado livre de leucemia morfológica, CR de morfológica, CR de citogenética, CR de molecular e CR de morfológica com recuperação incompleta de sangue) e remissão parcial.

[0979] A variável de eficácia do foco será ORR e CRR. Outras medidas da atividade clínica, incluindo sobrevida global (OS), sobrevida livre de recidiva (RFS), sobrevida livre de progressão (PFS), sobrevida livre de eventos, duração da remissão, duração da resposta e tempo para remissão/resposta serão resumidas.

[0980] Visão geral das principais avaliações de segurança. As variáveis de segurança para este estudo incluem eventos adversos, variáveis do laboratório clínico de segurança, eletrocardiogramas de 12 derivações, Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental, avaliações da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, exames físicos, sinais vitais, exposição ao tratamento do estudo, avaliação de medicamentos concomitantes e teste de gravidez para mulheres com potencial para engravidar.

[0981] Visão geral das principais avaliações farmacocinéticas. Os parâmetros de PK plasmática determinados para o Composto 1 serão a concentração plasmática máxima observada (C_{max}), área sob a curva de concentração plasmática-tempo do tempo de 0 a 24 horas após a dose (AUC_{24}), meia-vida de eliminação da fase terminal ($t_{1/2}$), depuração plasmática total (CL), tempo até o pico (máximo) de concentração plasmática (t_{max}), volume de distribuição no estado estacionário (V_{ss}). Os parâmetros PK selecionados (por exemplo, C_{max} , AUC_{24} , $t_{1/2}$) serão estimados para os enantiómeros R e S do

Composto 1, conforme apropriado.

[0982] Métodos Estatísticos. As análises estatísticas serão realizadas por nível de dose (Parte A) e coorte (Parte B) conforme necessário ou aplicável. Todas as análises serão de natureza descritiva. Todos os resumos dos dados de segurança serão conduzidos usando indivíduos que recebem qualquer composto 1 (a População Tratada).

[0983] As variáveis de eficácia de interesse primário são a ORR e a CRR. Outras variáveis preliminares de eficácia, incluindo OS, RFS, PFS, sobrevivência livre de eventos, duração da remissão, duração da resposta e tempo para remissão/resposta serão resumidas. A análise de eficácia será repetida para a População Tratada e a População Avaliada de Eficácia (recebeu uma avaliação de avaliação de leucemia de linha de base, pelo menos um ciclo de tratamento em estudo ou pelo menos 80% das doses programadas no Ciclo 1 e uma avaliação de avaliação de leucemia em estudo), com o resultado usando a população tratada considerada primária.

[0984] Todas as apresentações de dados relacionadas a biomarcadores serão baseadas em sujeitos tratados com pelo menos uma avaliação de biomarcador, a menos que especificado de outra forma. As estatísticas descritivas serão apresentadas para a linha de base e a alteração da linha de base dos pontos finais de biomarcadores contínuos, por regimes de dosagem e/ou subconjuntos de doenças, e no geral.

[0985] O estudo será conduzido em conformidade com o Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)/Good Clinical Practice e os requisitos regulatórios aplicáveis.

[0986] Critério de Inclusão. Os indivíduos devem atender aos critérios abaixo para se inscrever na escalada de dose (Parte A) ou na expansão de dose (Parte B) deste estudo.

[0987] 1. Homens e mulheres com idade igual ou superior a ≥ 18 anos, no momento da assinatura do documento de consentimento informado (ICD).

[0988] 2. O sujeito deve compreender e assinar voluntariamente um ICD antes de realizar quaisquer avaliações/procedimentos relacionados ao estudo.

[0989] 3. O indivíduo deve estar disposto e capaz de cumprir com o esquema de visita do estudo e outros requisitos protocolares.

[0990] 4. AML recidivante ou refratária, conforme definido pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS), que não são adequados para outras terapias estabelecidas.

[0991] 5. Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) de 0 a 2.

[0992] 6. Pelo menos 4 semanas (da primeira dose) decorreram da infusão de linfócitos do doador (DLI) sem condicionamento.

[0993] 7. Os indivíduos devem ter os seguintes valores de laboratório de triagem:

- Ca sérico corrigido ou Ca sérico livre (ionizado) dentro dos limites normais (WNL).
 - $\text{Ca corrigido (mg/dL)} = \text{Ca total (mg/dL)} - 0,8 (\text{albumina [g/dL]} - 4)$
- Contagem Total de Glóbulos Brancos (WBC) $< 25 \times 10^9/\text{L}$ antes da primeira infusão. É permitido tratamento prévio ou concorrente com hidroxiureia para atingir esse nível.
- Potássio e magnésio dentro dos limites normais ou corrigíveis com suplementos.
- Aspartato aminotransferase/transaminase oxaloacética glutâmica sérica (AST/SGOT) ou alanina aminotransferase/glutamato transaminase pirúvica sérica (ALT/SGPT) $\leq 2,5 \times$ Limite Superior do Normal (ULN).
- Ácido úrico $\leq 7,5 \text{ mg/dL}$ ($446 \mu\text{mol/L}$). É permitido o tratamento prévio

e/ou concorrente com agentes hipouricêmicos (por exemplo, alopurinol, rasburicase).

- Bilirrubina sérica $\leq 1,5$ x ULN.

- Depuração estimada de creatinina sérica de ≥ 60 mL/min usando a equação de Cockcroft-Gault.

- INR $< 1,5$ x ULN e PTT $< 1,5$ x ULN.

[0994] 8. De acordo com o Plano de Prevenção de Gravidez (PPP) do Composto 1:

- As mulheres com potencial para engravidar (FCBP) devem ser submetidas a testes de gravidez com base na frequência descrita em PPP e os resultados da gravidez devem ser negativos.

- A menos que pratique a abstinência completa da relação heterossexual, a FCBP sexualmente ativa deve concordar em usar métodos contraceptivos adequados, conforme especificado em PPP.

- A FCBP deve concordar em usar duas formas confiáveis de contracepção simultaneamente (ou praticar abstinência completa), sem interrupção, por 28 dias antes do início do Composto 1, durante toda a duração do tratamento do Composto 1, durante interrupções de dose e por pelo menos 28 dias após a última dose do Composto 1.

- A abstinência completa só é aceitável nos casos em que esse é o estilo de vida preferido e usual do indivíduo.

- Abstinência periódica (ovulação de calendário, métodos sintotérmicos, pós-ovulação) e abstinência não são aceitáveis.

- A menos que pratique a abstinência completa da relação heterossexual, homens sexualmente ativos (incluindo aqueles que fizeram vasectomia) devem usar contracepção de barreira (preservativos) ao praticar atividades sexuais com a FCBP, conforme especificado em PPP.

○ A abstinência completa só é aceitável nos casos em que esse é o estilo de vida preferido e usual do indivíduo.

• As mulheres devem concordar em abster-se de amamentar ou fornecer leite materno pela duração especificada em PPP.

• Os homens devem concordar em não doar sêmen ou espermatozoide pela duração especificada em PPP.

• Todos os indivíduos devem:

○ Entender que o composto 1 pode ter um risco teratogênico potencial.

○ Concorde em se abster de doar sangue pela duração especificada em PPP.

○ Seja avisado sobre as precauções de gravidez e os riscos de exposição fetal (consulte PPP).

[0995] Critérios de Exclusão. A presença de qualquer um dos seguintes itens excluirá o sujeito da inscrição:

[0996] 1. Indivíduos com leucemia promielocítica aguda (APL)

[0997] 2. Indivíduos com sintomas clínicos que sugerem leucemia ativa do sistema nervoso central (CNS) ou leucemia conhecida do CNS. A avaliação do líquido cefalorraquidiano é necessária apenas se houver suspeita clínica de envolvimento do CNS por leucemia durante a triagem.

[0998] 3. Indivíduos com complicações graves de leucemia com risco de vida imediato, como infecção disseminada/não controlada, sangramento não controlado e/ou coagulação intravascular disseminada não controlada.

[0999] 4. Distúrbios ou condições que interrompem a homeostase normal do cálcio ou impedem a suplementação de cálcio, incluindo:

• Qualquer condição conhecida que interrompa a absorção de cálcio.

• Evidência clínica de hipo ou hiperparatireoidismo.

• Terapia com bisfosfonato ou denosumab nas últimas 4 semanas antes do início do Composto 1.

- Pedras nos rins ativas ou recentes (≤ 1 ano antes do início do Composto 1).

- Nível sérico de 25-hidroxivitamina D <12 ng/mL (30 nmol/L).

[01000] 5. Função cardíaca prejudicada ou doenças cardíacas clinicamente significativas, incluindo uma das seguintes situações:

- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (LVEF) $<45\%$, conforme determinado por angiografia sincronizada multinuclear (MUGA) ou ecocardiograma (ECHO).

- Ramo completo do feixe esquerdo ou bloqueio bifascicular.

- Síndrome QT longa congênita.

- Arritmias ventriculares persistentes ou clinicamente significativas.

- QTcF ≥ 470 ms no eletrocardiograma de triagem (ECG) (média de registros em triplicado realizados ≥ 72 horas antes do dia 1).

- Angina de peito instável ou infarto do miocárdio ≤ 3 meses antes do início do Composto 1.

[01001] 6. Os pacientes com transplante de células-tronco hematopoiéticas autólogas anteriores que, no julgamento do investigador, não se recuperaram totalmente dos efeitos do último transplante (por exemplo, efeitos colaterais relacionados ao transplante).

[01002] 7. O transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênicas anteriores (HSCT) com condicionamento padrão ou com intensidade reduzida ≤ 6 meses antes do início do Composto 1.

[01003] 8. Indivíduos em terapia imunossupressora sistêmica pós-HSCT no momento da triagem ou com doença clinicamente significativa do enxerto contra o hospedeiro (GVHD). É permitido o uso de esteroides tópicos para GVHD ocular ou cutânea em andamento.

[01004] 9. Tratamentos sistêmicos anteriores direcionados ao câncer ou

modalidades de investigação \leq 5 meia-vidas ou 4 semanas antes do início do Composto 1, o que for menor. A hidroxiureia é autorizada a controlar as ondas de leucemia periférica.

[01005] 10. Leucaférese \leq 2 semanas antes do início do Composto 1.

[01006] 11. Cirurgia de grande porte \leq 2 semanas antes do início do Composto 1. Os indivíduos devem ter se recuperado de quaisquer efeitos clinicamente significativos de uma cirurgia recente.

[01007] 12. Mulheres grávidas ou amamentando.

[01008] 13. Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) conhecida.

[01009] 14. Infecção crônica ativa pela hepatite B ou C (HBV/HCV).

[01010] 15. Tratamento em andamento com dosagem terapêutica crônica de anticoagulantes (por exemplo, varfarina, heparina de baixo peso molecular, inibidores do Fator Xa).

[01011] 16. História de segundos cânceres simultâneos que requerem tratamento sistêmico ativo e contínuo.

[01012] 17. O indivíduo tem uma alergia/hipersensibilidade conhecida ao cálcio, calcitriol e/ou suplementos de vitamina D ou a qualquer um de seus ingredientes.

[01013] 17. O sujeito tem qualquer condição médica significativa, anormalidade laboratorial ou doença psiquiátrica que impeça o sujeito de participar do estudo.

[01014] 19. O indivíduo tem qualquer condição, incluindo a presença de anormalidades laboratoriais, que coloque o sujeito em risco inaceitável se participasse do estudo.

[01015] 20. O sujeito tem qualquer condição que confunda a capacidade de interpretar dados do estudo.

Exemplo 40: Um Estudo de Fase 1, de Rótulo Aberto, para Determinação de Dose do Composto 1, Um Novo Medicamento Modulador da Ligase de Cereblon E3, Em Indivíduos com Leucemia Mieloide Aguda Recidivada ou Refratária Síndromes Mielodisplásicas de Alto Risco Recidivadas ou Refratárias

[01016] Objetivos Principais: Determinar a segurança e tolerabilidade do Composto 1. Para definir a dose não tolerada (NTD), a dose máxima tolerada (MTD) e/ou a dose recomendada da Fase 2 (RP2D) do Composto 1.

[01017] Objetivos secundários: Fornecer informações sobre a eficácia preliminar do Composto 1 em R/R AML e R/R HR-MDS. Caracterizar a farmacocinética (PK) do Composto 1 no plasma e na urina.

[01018] Projeto de Estudo: Esse estudo é um estudo clínico de fase aberta, de fase 1, de escalonamento e expansão de dose, primeiro no estudo clínico em humanos do Composto 1 em indivíduos com AML recidivante ou refratária ou em indivíduos com MDS de alto risco recidivante ou refratária. A parte da escalada de dose (Parte A) do estudo avaliará a segurança e a tolerabilidade das doses crescentes do Composto 1, administradas por via intravenosa e determinarão o MTD do Composto 1. Na parte A, duas formulações serão testadas. A parte de expansão (Parte B) avaliará ainda a segurança e a eficácia do Composto 1 administrado em ou abaixo de MTD em coortes de expansão selecionados de até aproximadamente 20 indivíduos avaliáveis, cada um, a fim de determinar o RP2D. Um ou mais esquemas de dosagem podem ser selecionados para expansão da coorte (no mínimo, um em R/R AML e um em R/R HR-MDS). Os indivíduos com MDS serão inscritos apenas durante a parte B. As partes A e B serão compostas por três períodos: Triagem, tratamento e acompanhamento. A resposta à leucemia será determinada pelo investigador. A avaliação da doença será baseada em International Working Group (IWG) Response Criteria in AML (Cheson, *et al*, *J Clin Oncol* 2003; 21(24):4642-9). A

resposta MDS será baseada em IWG Response Criteria for Myelodysplasia (Cheson BD, *et al.*, *Blood*. 2006;108(2):419-25).

[01019] Período de Triagem: O Período de Tiragem começa 28 dias antes da primeira dose do Composto 1. O documento de consentimento informado deve ser assinado e datado pelo sujeito e pela equipe administradora antes do início de qualquer outro procedimento de estudo. Todos os testes e procedimentos de triagem devem ser concluídos nos 28 dias anteriores à primeira dose do Composto 1. Para a parte B do estudo, os sujeitos serão designados para a coorte R/R AML ou R/R HR-MDS com base na confirmação do diagnóstico do laboratório central.

[01020] Período de Tratamento: No Período de Tratamento, o Composto 1 será administrado por via intravenosa nos Dias 1 a 5 de cada ciclo de 28 dias por até 4 ciclos na ausência de progressão da doença, recidiva, toxicidade inaceitável ou decisão do indivíduo/médico de se retirar. (A progressão da doença é definida como: um aumento de >50% na porcentagem da contagem de blastos da medula óssea a partir da contagem inicial de blastos de medula óssea que persiste por pelo menos 2 avaliações da medula óssea separadas por pelo menos 1 mês, a menos que a explosão da medula óssea seja a contagem é >70%; nesse caso, uma descoberta de >70% dos blastos que persiste por 2 avaliações da medula óssea pós-linha de base separadas por pelo menos 1 mês seria considerada progressão ou uma duplicação da contagem absoluta de blastos sanguíneos periféricos da linha de base que persiste por ≥ 7 dias e a contagem final absoluta de blastos sanguíneos periféricos é $>10 \times 10^9/L$.) Os esquemas de dosagem modificados (por exemplo, aumentando de 5 dias para 10 dias da dosagem ou aumentando o comprimento da infusão) podem ser avaliados em coortes adicionais, se necessário, com base na toxicidade, perfis de farmacocinética e achados da DP. Pode ser explorada um esquema adicional do Composto 1

administrada uma vez por dia nos dias 1-3 e 8-10 dias de cada ciclo de 28 dias. Aqueles que demonstram benefício do tratamento sem toxicidade inaceitável (remissão completa [RC], remissão parcial [PR] ou doença estável com discussão com o Monitor Médico) podem continuar o tratamento além do Ciclo 4 até a perda desse benefício, toxicidade inaceitável ou decisão de sujeito/médico de retirar. Todos os indivíduos deverão iniciar a suplementação de cálcio, calcitriol e vitamina D pelo menos 3 dias antes do dia 1 de cada ciclo e continuar até ≥ 3 dias após a última dose do Composto 1 em cada ciclo (por exemplo, \geq dia 8 quando o composto 1 for administrado nos dias 1 a 5), \geq Dia 13, quando o Composto 1 for administrado nos Dias 1-3/Dias 8-10).

[01021] No Ciclo 1 da Parte A, uma avaliação da medula óssea será realizada no dia 28 (± 3 dias). Com base na avaliação da medula óssea do dia 28, indivíduos com medula óssea hipoplásica, sem evidência de leucemia persistente e com neutropenia de Grau ≥ 3 serão seguidos por mais 2 semanas para monitoramento de segurança no Ciclo 1 (duração total de 42 dias). Uma avaliação adicional da medula óssea será realizada no momento da recuperação hematológica ou no dia 42 (± 3 dias). Assim, na Parte A, a janela para avaliação da toxicidade limitante da dose (DLT) durante o Ciclo 1 será de até 42 dias (28 ou 42 dias). Na parte B, o ciclo 1 terá 28 dias de duração. Ciclos ≥ 2 terão 28 dias de duração. Os ciclos subsequentes devem começar ≤ 7 dias após o último dia do ciclo anterior.

[01022] Período de acompanhamento: No período de acompanhamento, todos os indivíduos serão acompanhados por 28 dias (± 3 dias) após a última dose do composto 1 por segurança. Os indivíduos sem progressão documentada da doença (ou recidiva) terão avaliações de eficácia de hemogramas completos e esfregaços de sangue periférico realizados a cada 8 semanas subsequentes (± 1 semana) no 1º ano e a cada 12 semanas (± 2 semanas) no 2º ano ou até a

progressão da doença (ou recaída), início de uma nova terapia anticâncer, retirada do consentimento do estudo, óbito ou o fim do teste, o que ocorrer primeiro. Uma avaliação da medula óssea será concluída no final do 1º ano e conforme indicado clinicamente durante o período de acompanhamento.

[01023] Todos os indivíduos serão acompanhados para acompanhamento da sobrevivência, de acordo com o esquema para o acompanhamento a longo prazo de eficácia por até 2 anos ou até óbito, perda no acompanhamento ou Fim do Teste, o que ocorrer primeiro. O acompanhamento da sobrevivência pode ser conduzido por revisão de registros (incluindo registros públicos) e/ou contato telefônico com o sujeito, a família ou o médico responsável pelo assunto.

[01024] Parte A - Escalonamento da dose. Durante a fase de escalonamento (Parte A), um projeto de titulação acelerada modificado (Simon *et al*, *J Natl Cancer Inst* 1997; 89(15):1138-47) será usado para estabelecer a toxicidade inicial. As coortes de um ou mais indivíduos serão administradas, cada uma, ao Composto 1 em doses que aumentarão em incrementos de 100% por coorte até que ≥ 2 indivíduos experimentem um evento adverso de Grau ≥ 2 relacionado ao Composto 1 na janela DLT (podem ser coortes diferentes), ou ≥ 1 sujeito experimenta um DLT dentro da janela DLT. Naquele momento, a coorte atual e todas as coortes subsequentes serão expandidas, matriculando 3 a 6 indivíduos. Um cronograma de escalonamento de doses com incrementos de doses não superiores a 50% será iniciado simultaneamente para estabelecer NTD e MTD. A dose inicial será de 0,3 mg. No início do estudo, será utilizada uma formulação inicial (Formulação A) e, durante o escalonamento de dose, uma segunda formulação (Formulação Ib descrita na Tabela 43) será introduzida para substituir a Formulação A.

A Formulação A tem a seguinte composição (*consulte* a publicação US 2017/0196847-A1).

	Formulação A
Composto 1	1,05 mg/frasco
Ácido Cítrico Anidro, USP	18,6 mg/frasco
Citrato de Sódio anidro, USP	18,4 mg/frasco
Kleptose® HPB (HP-β-CD), grau parenteral	840 mg/frasco
Dimetilsulfóxido (no meio do processo)	Parcialmente removido após a secagem
Ácido fórmico	-
Água para injeção (no meio do processo)	Removido na secagem

[01025] O solvente residual DMA na Formulação A não deve exceder os limites de exposição diária permitida (PDE) estabelecidos nos ICH Q3C *Impurities: Residual Solvents*, a fim de prosseguir com as coortes de escalada de dose acima de uma dose diária de Composto 1 de 2,4 mg. O nível de solvente residual (ácido fórmico) na Formulação Ib permite doses diárias de Composto 1 de até 20 mg sem exceder seu PDE definido nas orientações ICH Q3C.

[01026] A Formulação Ib será introduzida em uma nova coorte de doses (de acordo com as diretrizes de escalonamento de doses do estudo) após a revisão das toxicidades observadas nos níveis de doses iniciais da Formulação A.

[01027] Pode ser decidido avaliar uma coorte de doses mais alta, indivíduos adicionais dentro de uma coorte de doses, coortes de doses intermediárias, incrementos de doses menores, esquemas alternativos de dosagem (por exemplo, aumento de 5 a 10 dias da administração do Composto 1 ou tempos de infusão mais longos), e/ou declarar um MTD com base em sua revisão dos dados de segurança clínica e laboratorial disponíveis, perfis de farmacocinética e descobertas de DP. No caso de um esquema de dosagem alternativo ser avaliado, a dose inicial e o esquema não excederão a intensidade da dose de uma coorte de dose que atendeu previamente aos critérios de escalonamento de dose. Pode ser explorada um esquema adicional do Composto 1 administrada uma vez por dia nos dias 1-3 e 8-10 dias de cada esquema de 28 dias.

[01028] Após a administração da primeira dose em qualquer coorte durante a escalada da dose, os indivíduos em cada coorte são observados por pelo menos 28 dias e até 42 dias (Ciclo 1, janela DLT) antes que a próxima coorte de dose mais alta possa começar. Não mais de um indivíduo por dia será inscrito em uma determinada coorte de escalonamento de dose. Um sujeito avaliável para DLT é definido como aquele que: recebeu pelo menos 80% da dose total planejada do Ciclo 1 (por exemplo, ≥ 4 doses do Composto 1 para um esquema de doses de 5 dias; no caso de uma dose perdida, ≥ 4 doses a serem completadas no ou antes do dia 10 ou ≥ 5 doses no dia 14 para o esquema D1-3/D8-10) do Composto 1 durante o Ciclo 1 sem experimentar DLT, ou experimentou DLT após receber pelo menos uma dose (ou fração do mesmo) do Composto 1.

[01029] No caso de um esquema de doses alternativas (por exemplo, aumentar de 5 dias para 10 dias da dosagem) ser avaliado na Parte A, serão aplicados os mesmos critérios para determinar os indivíduos avaliados por DLT. Os indivíduos não avaliáveis para DLT serão substituídos.

[01030] Um nível de dose (dose/horário) será considerado intolerável se $> 33\%$ dos indivíduos avaliados em uma coorte de doses experimentarem DLT durante o Ciclo 1. A MTD será definida como a última dose abaixo da NTD, na qual $\leq 33\%$ dos indivíduos avaliados experimentaram DLT durante o Ciclo 1. Se 2 ou mais dos 6 indivíduos avaliados experimentarem DLTs na primeira coorte de dose, uma coorte de dose mais baixa pode ser explorada (isto é, 0,1 mg de Composto 1). Uma dose intermediária do Composto 1 (uma entre a NTD e o último nível de dose antes da NTD) pode ser avaliada para determinar com precisão a MTD.

[01031] A escalação de dose intra-sujeito não será permitida durante o período de avaliação da DLT; no entanto, nos ciclos ≥ 2 , indivíduos sem evidência de progressão da doença que tolerem a dose designada do composto 1 podem

subir para o nível de dose mais alto que se mostra ser adequadamente tolerado por pelo menos uma coorte de indivíduos neste estudo (isto é, $\leq 33\%$ de indivíduos avaliados que tiveram DLT nesse nível de dose). Se o nível de dose tolerado mais alto for a Formulação Ib, um indivíduo atualmente inscrito na Formulação A poderá mudar para a formulação mais recente.

[01032] Parte B - Expansão da Coorte: Após a conclusão da escalada da dose (Parte A), outros sujeitos podem ser inscritos em uma fase de expansão (Parte B) com até aproximadamente 20 indivíduos avaliáveis em cada coorte. A expansão pode ocorrer na MTD e no esquema estabelecido na fase de escalonamento da dose e/ou em uma dose e um esquema alternativo tolerável, com base na revisão dos dados de segurança, PK e PD da Parte A. Um ou mais esquemas de dosagem (dose, esquemas) podem ser selecionados para expansão de coorte.

[01033] População do estudo: Homens e mulheres, com 18 anos ou mais, com AML recidivante ou refratária ou MDS recidivante ou refratária de alto risco, conforme definido pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS), que não são adequados para outras terapias estabelecidas, serão incluídos no estudo.

[01034] Na parte A, apenas os sujeitos R/R AML serão inscritos. Na Parte B, pelo menos uma coorte incluirá indivíduos com R/R AML, incluindo indivíduos que recidivem após HSCT alogênico, que estão em segunda recidiva ou recidiva, refratários ao tratamento inicial de indução ou reindução, que são refratários ou recidivos após o agente hipometilante (falha do HMA definida como progressão primária ou falta de benefício clínico após um período mínimo de 6 ciclos ou incapaz de tolerar o HMA devido à toxicidade) ou que recaem dentro de 1 ano do tratamento inicial (excluindo aqueles com estado de risco favorável).

[01035] Na Parte B, pelo menos uma coorte de indivíduos com R/R HR-MDS

será tratada, incluindo indivíduos com pontuação > 3,5 pontos no Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica Revisada (IPSS-R) [por exemplo, risco intermediário IPSS-R (em combinação com mais de 10% de explosões na medula óssea ou risco citogenético IPSS-R baixo ou muito baixo), IPSS-R alto e IPSS-R muito alto] e não são adequados para outras terapias estabelecidas (por exemplo, transplante ou agente hipometilante).

[01036] Duração do Estudo. A inscrição deve levar aproximadamente 27 a 36 meses para ser concluída (18 a 24 meses para o aumento da dose e 9 a 12 meses para a expansão). A conclusão do tratamento ativo e o acompanhamento pós-tratamento devem levar de 6 a 24 meses adicionais. Espera-se que todo o estudo dure aproximadamente 3 a 5 anos. O Fim do Ensaio é definido como a data da última visita do último sujeito para completar o acompanhamento pós-tratamento ou a data de recebimento do último ponto de dados do último sujeito que é necessário para as análises primária, secundária e/ou exploratória, como pré-especificado no protocolo, aquele que for mais recente.

[01037] Tratamentos de Estudo. O produto experimental, Composto 1 para injeção IV, rotulado adequadamente para uso em investigação, de acordo com os regulamentos da autoridade sanitária do país, será fornecido. O medicamento do estudo será administrado conforme descrito na seção Período de Tratamento acima.

[01038] O tratamento do estudo pode ser descontinuado se houver evidência de progressão da doença clinicamente significativa (ou recidiva), toxicidade inaceitável ou decisão do indivíduo/médico de se retirar. Os indivíduos podem continuar recebendo os medicamentos do estudo além da progressão da doença, a critério do Investigador, em consulta com o Celgene Medical Monitor.

[01039] Visão Geral das Avaliações de Eficácia Chave. A variável de eficácia

primária é a taxa de resposta. Todos os indivíduos tratados serão incluídos nas análises de eficácia. A resposta à leucemia será determinada pelo investigador. A avaliação da doença será baseada em International Working Group (IWG) Response Criteria in AML (Cheson, *et al*, *J Clin Oncol* 2003; 21(24):4642-9). A resposta geral será determinada usando IWG Response Criteria for Myelodysplasia para a coorte HR-MDS (Cheson BD, *et al.*, *Blood*. 2006;108(2):419-25).

[01040] Uma análise descritiva das evidências da atividade antileucêmica será fornecida pelo Investigador, com base em avaliações clínicas, laboratoriais, moleculares e citogenéticas, que inclui avaliação da porcentagem de explosão da medula óssea, citogenética da medula óssea, estudos genéticos moleculares para avaliar respostas moleculares, citometria de fluxo da medula óssea, contagem de plaquetas e contagem absoluta de neutrófilos. Os critérios de resposta de AML serão resumidos pelas melhores categorias gerais de resposta: taxa de remissão completa (CRR) e taxa de resposta objetiva (ORR). A ORR inclui todas as respostas de remissão completa (CR) (isto é, estado livre de leucemia morfológica, CR de morfológica, CR de citogenética, CR de molecular e CR de morfológica com recuperação incompleta de sangue) e remissão parcial. Para MDS, a ORR inclui todas as respostas (RC, mCR de remissão completa da medula óssea e RP).

[01041] A variável de eficácia do foco será ORR e CRR. Outras medidas da atividade clínica, incluindo sobrevida global (OS), sobrevida livre de recidiva (RFS), sobrevida livre de progressão (PFS), sobrevida livre de eventos, duração da remissão, duração da resposta tempo para a transformação em AML (apenas indivíduos com HR-MDS) e tempo para remissão/resposta serão resumidas.

[01042] Visão geral das principais avaliações de segurança. As variáveis de segurança para este estudo incluem eventos adversos, variáveis do laboratório

clínico de segurança, eletrocardiogramas de 12 derivações, Status de Desempenho do Grupo de Oncologia Cooperativa Oriental, avaliações da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, exames físicos, sinais vitais, exposição ao tratamento do estudo, avaliação de medicamentos concomitantes e teste de gravidez para mulheres com potencial para engravidar.

[01043] Visão geral das principais avaliações farmacocinéticas. Os principais parâmetros de PK plasmática determinados para o Composto 1 incluem a concentração máxima observada (C_{max}), a área sob a curva de concentração-tempo no plasma, do tempo de 0 a 24 horas após a dose (AUC_{24}), a meia-vida de eliminação da fase terminal ($t_{1/2}$), depuração plasmática total (CL), tempo até pico (máximo) de concentração plasmática (t_{max}), volume de distribuição no estado estacionário (V_{ss}), porcentagem de dose excretada na urina na forma inalterada (F_e) e depuração renal (CLR). Os parâmetros PK selecionados (por exemplo, C_{max} , AUC_{24} , $t_{1/2}$) serão estimados para os enantiômeros R e S do Composto 1, conforme apropriado. Os principais parâmetros farmacocinéticos do plasma e da urina, conforme descrito acima, também serão estimados para HPBCD.

[01044] Métodos Estatísticos. As análises estatísticas serão realizadas por nível de dose (Parte A) e coorte (Parte B) conforme necessário ou aplicável. Todas as análises serão de natureza descritiva. Todos os resumos dos dados de segurança serão conduzidos usando indivíduos que recebem qualquer composto 1 (a População Tratada).

[01045] As variáveis de eficácia de interesse primário são a ORR e a CRR. Outras variáveis preliminares de eficácia, incluindo OS, RFS, PFS, sobrevivência livre de eventos, duração da remissão, duração da resposta e tempo para remissão/resposta serão resumidas. A análise de eficácia será repetida para a População Tratada e a População Avaliada de Eficácia (recebeu uma avaliação de

avaliação de leucemia de linha de base, pelo menos um ciclo de tratamento em estudo ou pelo menos 80% das doses programadas no Ciclo 1 e uma avaliação de avaliação de leucemia em estudo), com o resultado usando a população tratada considerada primária.

[01046] Todas as apresentações de dados relacionadas a biomarcadores serão baseadas em sujeitos tratados com pelo menos uma avaliação de biomarcador, a menos que especificado de outra forma. As estatísticas descritivas serão apresentadas para a linha de base e a alteração da linha de base dos pontos finais de biomarcadores contínuos, por regimes de dosagem e/ou subconjuntos de doenças, e no geral.

[01047] O estudo será conduzido em conformidade com o Conselho Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos para Produtos Farmacêuticos para Uso Humano (ICH)/Boas Práticas Clínicas e os requisitos regulatórios aplicáveis.

[01048] Critério de Inclusão. Os indivíduos devem atender aos critérios abaixo para se inscrever na escalada de dose (Parte A) ou na expansão de dose (Parte B) deste estudo.

[01049] 1. Homens e mulheres com idade igual ou superior a ≥ 18 anos, no momento da assinatura do ICD.

[01050] 2. O sujeito deve compreender e assinar voluntariamente um ICD antes de realizar quaisquer avaliações/procedimentos relacionados ao estudo.

[01051] 3. O indivíduo deve estar disposto e capaz de cumprir com o esquema de visita do estudo e outros requisitos protocolares.

[01052] 4. AML recidivante ou refratária (partes A e B) ou R/R HR-MDS (somente parte B), conforme definido pelos critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS), que não são adequados para outras terapias estabelecidas.

a. Na parte A, R/R AML

b. Na parte B, R/R AML incluindo

– Recaída após HSCT alogênico ou

– Na segunda ou mais recente recaída ou

– Refratário à indução inicial ou tratamento de re-indução ou

– Refratário ou recidiva após o tratamento com HMA (falha no HMA definida como progressão primária ou falta de benefício clínico após um período mínimo de 6 ciclos ou incapaz de tolerar o HMA devido à toxicidade) ou

– Recaída dentro de 1 ano após o tratamento inicial (excluindo aqueles com risco favorável baseado em citogenética)

c. Na parte B, R/R HR-MDS (IPSS-R > 3,5 pontos):

– Risco intermediário de IPSS-R (em combinação com mais de 10% de explosões de medula óssea ou risco citogenético de IPSS-R ruim ou muito ruim) ou

– IPSS-R alto ou

– IPSS-R risco muito alto.

[01053] 5. Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) de 0 a 2.

[01054] 6. Pelo menos 4 semanas (da primeira dose) decorreram da infusão de linfócitos do doador (DLI) sem condicionamento.

[01055] 7. Os indivíduos devem ter os seguintes valores de laboratório de triagem:

• Ca sérico corrigido ou Ca sérico livre (ionizado) dentro dos limites normais (WNL).

○ $\text{Ca corrigido (mg/dL)} = \text{Ca total (mg/dL)} - 0,8 (\text{albumina [g/dL]} - 4)$

• Contagem Total de Glóbulos Brancos (WBC) < $25 \times 10^9/\text{L}$ antes da primeira infusão. É permitido tratamento prévio ou concorrente com hidroxiureia para atingir esse nível.

- Potássio e magnésio dentro dos limites normais ou corrigíveis com suplementos.

- Aspartato aminotransferase/transaminase oxaloacética glutâmica sérica (AST/SGOT) ou alanina aminotransferase/glutamato transaminase pirúvica sérica (ALT/SGPT) $\leq 2,5 \times$ Limite Superior do Normal (ULN).

- Ácido úrico $\leq 7,5$ mg/dL (446 μ mol/L). É permitido o tratamento prévio e/ou concorrente com agentes hipouricêmicos (por exemplo, alopurinol, rasburicase).

- Bilirrubina sérica $\leq 1,5 \times$ ULN.

- Depuração estimada de creatinina sérica de ≥ 60 mL/min usando a equação de Cockcroft-Gault. A depuração medida da creatinina de uma coleta de urina de 24 horas é aceitável se clinicamente indicado.

- INR $< 1,5 \times$ ULN e PTT $< 1,5 \times$ ULN.

[01056] 8. De acordo com o Plano de Prevenção de Gravidez (PPP) do Composto 1:

- As mulheres com potencial para engravidar (FCBP) devem ser submetidas a testes de gravidez com base na frequência descrita em PPP e os resultados da gravidez devem ser negativos.

- A menos que pratique a abstinência completa da relação heterossexual, a FCBP sexualmente ativa deve concordar em usar métodos contraceptivos adequados, conforme especificado em PPP.

- A FCBP deve concordar em usar duas formas confiáveis de contracepção simultaneamente (ou praticar abstinência completa), sem interrupção, por 28 dias antes do início do Composto 1, durante toda a duração do tratamento do Composto 1, durante interrupções de dose e por pelo menos 28 dias após o última dose do composto 1.

- A abstinência completa só é aceitável nos casos em que esse é o estilo de

vida preferido e usual do indivíduo.

- Abstinência periódica (ovulação de calendário, métodos sintotérmicos, pós-ovulação) e abstinência não são aceitáveis.

- A menos que pratique a abstinência completa da relação heterossexual, homens sexualmente ativos (incluindo aqueles que fizeram vasectomia) devem usar contracepção de barreira (preservativos) ao praticar atividades sexuais com a FCBP, conforme especificado em PPP.

- A abstinência completa só é aceitável nos casos em que esse é o estilo de vida preferido e usual do indivíduo.

- Pacientes do sexo masculino devem informar seus parceiros, mulheres com potencial para engravidar, para usar dois métodos contraceptivos confiáveis durante toda a duração do tratamento, durante interrupções de dose e por pelo menos 90 dias após a última dose do Composto 1, conforme especificado em PPP.

- As mulheres devem concordar em abster-se de amamentar ou fornecer leite materno pela duração especificada em PPP.

- Os homens devem concordar em não doar sêmen ou esperma durante o recebimento do Composto 1, durante interrupções de dose ou por pelo menos 90 dias após a última dose do Composto 1, conforme especificado em PPP.

- Todos os indivíduos devem:

- Entender que o composto 1 pode ter um risco teratogênico potencial.
- Concorde em se abster de doar sangue pela duração especificada em PPP.
- Seja avisado sobre as precauções de gravidez e os riscos de exposição fetal (consulte PPP).

Critérios de Exclusão.

[01057] A presença de qualquer um dos seguintes itens excluirá o sujeito da inscrição:

[01058] 1. Indivíduos com leucemia promielocítica aguda (APL)

[01059] 2. Indivíduos com sintomas clínicos que sugerem leucemia ativa do sistema nervoso central (CNS) ou leucemia conhecida do CNS. A avaliação do líquido cefalorraquidiano é necessária apenas se houver suspeita clínica de envolvimento do CNS por leucemia durante a triagem.

[01060] 3. Indivíduos com complicações graves de leucemia com risco de vida imediato, como infecção disseminada/não controlada, sangramento não controlado e/ou coagulação intravascular disseminada não controlada.

[01061] 4. Distúrbios ou condições que interrompem a homeostase normal do cálcio ou impedem a suplementação de cálcio, incluindo:

- Qualquer condição conhecida que interrompa a absorção de cálcio.
- Evidência clínica de hipo ou hiperparatireoidismo.
- Terapia com bisfosfonato ou denosumab nas últimas 4 semanas antes do início do Composto 1.
- Pedras nos rins ativas ou recentes (≤ 1 ano antes do início do Composto 1).
- Nível sérico de 25-hidroxivitamina D <12 ng/mL (30 nmol/L).

[01062] 5. Função cardíaca prejudicada ou doenças cardíacas clinicamente significativas, incluindo uma das seguintes situações:

- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (LVEF) $<45\%$, conforme determinado por angiografia sincronizada multinuclear (MUGA) ou ecocardiograma (ECHO).
- Ramo completo do feixe esquerdo ou bloqueio bifascicular.
- Síndrome QT longa congênita.
- Arritmias ventriculares persistentes ou clinicamente significativas.
- QTcF ≥ 470 ms no eletrocardiograma de triagem (ECG) (média de registros em triplicado realizados ≥ 72 horas antes do dia 1).

- Angina de peito instável ou infarto do miocárdio \leq 3 meses antes do início do Composto 1.

[01063] 6. Os pacientes com transplante de células-tronco hematopoiéticas autólogas anteriores que, no julgamento do investigador, não se recuperaram totalmente dos efeitos do último transplante (por exemplo, efeitos colaterais relacionados ao transplante).

[01064] 7. O transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênicas anteriores (HSCT) com condicionamento padrão ou com intensidade reduzida \leq 6 meses antes do início do Composto 1.

[01065] 8. Indivíduos em terapia imunossupressora sistêmica pós-HSCT no momento da triagem ou com doença clinicamente significativa do enxerto contra o hospedeiro (GVHD). É permitido o uso de esteroides tópicos para GVHD ocular ou cutânea em andamento.

[01066] 9. Tratamentos sistêmicos anteriores direcionados ao câncer ou modalidades de investigação \leq 5 meia-vidas ou 4 semanas antes do início do Composto 1, o que for menor. A hidroxiureia é autorizada a controlar as ondas de leucemia periférica.

[01067] 10. Leucaférese \leq 2 semanas antes do início do Composto 1.

[01068] 11. Cirurgia de grande porte \leq 2 semanas antes do início do Composto 1. Os indivíduos devem ter se recuperado de quaisquer efeitos clinicamente significativos de uma cirurgia recente.

[01069] 12. Mulheres grávidas ou amamentando.

[01070] 13. Infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) conhecida.

[01071] 14. Infecção crônica ativa pela hepatite B ou C (HBV/HCV).

[01072] 15. Tratamento em andamento com dosagem terapêutica crônica de anticoagulantes (por exemplo, varfarina, heparina de baixo peso molecular,

inibidores do Fator Xa).

[01073] 16. História de segundos cânceres simultâneos que requerem tratamento sistêmico ativo e contínuo.

[01074] 17. O indivíduo tem uma alergia/hipersensibilidade conhecida ao cálcio, calcitriol e/ou suplementos de vitamina D ou a qualquer um de seus ingredientes.

[01075] 18. O sujeito tem qualquer condição médica significativa, anormalidade laboratorial ou doença psiquiátrica que impeça o sujeito de participar do estudo.

[01076] 19. O indivíduo tem qualquer condição, incluindo a presença de anormalidades laboratoriais, que coloque o sujeito em risco inaceitável se participasse do estudo.

[01077] 20. O sujeito tem qualquer condição que confunda a capacidade de interpretar dados do estudo.

[01078] As modalidades descritas acima pretendem ser meramente exemplares, e aqueles versados na técnica reconhecerão, ou serão capazes de determinar usando não mais do que experimentação de rotina, numerosos equivalentes de compostos específicos, materiais e procedimentos. Todos esses equivalentes são considerados como estando dentro do âmbito da invenção e estão englobados pelas reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Formulação, **caracterizada** pelo fato de que compreende: (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em uma quantidade de cerca de 0,01 a cerca de 0,15% e hidroxipropil β -ciclodextrina ou sulfobutil-éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1 a cerca de 99,99% com base no peso total da formulação.

2. Formulação de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo fato de que compreende: (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em uma quantidade de cerca de 0,08 a cerca de 0,15% e hidroxipropil β -ciclodextrina ou sulfobutil-éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,1 a cerca de 99,9% com base no peso total da formulação.

3. Formulação de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo na quantidade de cerca de 0,1 a cerca de 0,13% com base no peso total da formulação.

4. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um

estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo na quantidade de cerca de 0,12% com base no peso total da formulação.

5. Formulação de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo fato de que compreende: (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em uma quantidade de cerca de 0,01 a cerca de 0,08% e hidroxipropil β -ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 99,40 a cerca de 99,99% com base no peso total da formulação.

6. Formulação de acordo com a reivindicação 1 ou 5, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo na quantidade de cerca de 0,03 a cerca de 0,06% com base no peso total da formulação.

7. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 5 e 6, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo de cerca de 0,1 a cerca de 0,13% e hidroxipropil β -ciclodextrina de cerca de 99,1% a cerca de 99,9% e ácido fórmico de cerca de 0,05 a cerca de 0,1% com base no peso total da formulação.

8. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 e 5 a 7, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo de cerca de 0,01% a cerca de 0,08% e hidroxipropil- β -ciclodextrina de cerca de 99,40% a cerca de 99,99% e ácido fórmico de cerca de 0,1 a cerca de 0,3% com base no peso total da formulação.

9. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizada** pelo fato de que compreende ainda ácido fórmico em uma quantidade não superior a cerca de 0,5%.

10. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizada** pelo fato de que compreende uma forma sólida de (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida).

11. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizada** pelo fato de que compreende uma forma amorfa de (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida).

12. Formulação, **caracterizada** pelo fato de que compreende: (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em uma quantidade de cerca de 0,08 a cerca de 0,15%, um tampão citrato em uma quantidade de cerca de 3 a cerca de 6% e hidroxipropil β -ciclodextrina ou sulfobutil éter-beta-ciclodextrina em uma quantidade de cerca de 94 a cerca de 96% com base no peso total da

formulação.

13. Formulação de acordo com a reivindicação 12, **caracterizada** pelo fato de que compreende uma forma sólida de (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida).

14. Formulação de acordo com a reivindicação 12, **caracterizada** pelo fato de que compreende uma forma amorfa de (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida).

15. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 14, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo na quantidade de cerca de 0,1 a cerca de 0,13% com base no peso total da formulação.

16. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 15, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo na quantidade de cerca de 0,12% com base no peso total da formulação.

17. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 16, **caracterizada** pelo fato de que compreende tampão citrato na quantidade de cerca de 3% a cerca de 6% com base no peso total da formulação.

18. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 17, **caracterizada** pelo fato de que o tampão citrato compreende ácido cítrico anidro e citrato de sódio anidro.

19. Formulação de acordo com a reivindicação 18, **caracterizada** pelo fato de que compreende ácido cítrico anidro na quantidade de cerca de 2% a cerca de 2,5% com base no peso total da formulação.

20. Formulação de acordo com a reivindicação 18, **caracterizada** pelo fato de que compreende ácido cítrico anidro na quantidade de cerca de 2,1% com base no peso total da formulação.

21. Formulação de acordo com a reivindicação 18, **caracterizada** pelo fato de que compreende citrato de sódio anidro na quantidade de cerca de 2% a cerca de 2,5% com base no peso total da formulação.

22. Formulação de acordo com a reivindicação 21, **caracterizada** pelo fato de que compreende citrato de sódio anidro na quantidade de cerca de 2,08% com base no peso total da formulação.

23. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 22, **caracterizada** pelo fato de que compreende hidroxipropil β -ciclodextrina na quantidade de cerca de 94% a cerca de 97% com base no peso total da formulação.

24. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 23, **caracterizada** pelo fato de que compreende hidroxipropil β -ciclodextrina na quantidade de cerca de 95% com base no peso total da formulação.

25. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 24, **caracterizada** pelo fato de que compreende ainda dimetilsulfóxido em uma quantidade não superior a cerca de 1,5%.

26. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 12 a 25, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou

polimorfo do mesmo de cerca de 0,1 a cerca de 0,13%, ácido cítrico anidro de cerca de 2% a cerca de 2,5%, citrato de sódio anidro de cerca de 2% a cerca de 2,5%, hidroxipropil β -ciclodextrina de cerca de 94% a cerca de 96% e dimetilsulfóxido de cerca de 0,4 a cerca de 1,5% com base no peso total da formulação.

27. Formulação aquosa, **caracterizada** pelo fato de que compreende a formulação definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 26 e um diluente.

28. Formulação aquosa de acordo com a reivindicação 27, **caracterizada** pelo fato de que o diluente é água ou $\frac{1}{2}$ de soro fisiológico.

29. Formulação aquosa de acordo com a reivindicação 27, **caracterizada** pelo fato de que o diluente é soro fisiológico.

30. Formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 29, **caracterizada** pelo fato de que compreende (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmaceuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em uma quantidade de cerca de 0,1 a 0,3 mg/mL.

31. Formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 30, **caracterizada** pelo fato de que a solução aquosa tem um pH em um intervalo de cerca de 3,0 a cerca de 3,6.

32. Formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 30, **caracterizada** pelo fato de que a solução aquosa tem um pH em um intervalo de cerca de 4,2 a cerca de 4,4.

33. Formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 32, **caracterizada** pelo fato de que a solução aquosa tem uma osmolalidade de cerca de 260 a 280 mOsm/kg.

34. Formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações

27 a 32, **caracterizada** pelo fato de que a solução aquosa tem uma osmolalidade de cerca de 310 a 380 mOsm/kg.

35. Método para tratar um câncer em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar a formulação definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 26 ou a formulação aquosa definida em qualquer uma das reivindicações 27 a 34 ao mamífero.

36. Método de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar a formulação aquosa definida em qualquer uma das reivindicações 27 a 34 por via intravenosa.

37. Método de acordo com a reivindicação 35 ou 36, **caracterizado** pelo fato de que o câncer é leucemia.

38. Método de acordo com a reivindicação 37, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, leucemia linfoblástica aguda ou leucemia mieloide aguda.

39. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 35 a 38, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de outro segundo agente ativo ou uma terapia de suporte.

40. Método de acordo com a reivindicação 39, **caracterizado** pelo fato de que o outro segundo agente ativo é um anticorpo terapêutico que se liga especificamente a um antígeno de câncer, um fator de crescimento hematopoiético, uma citocina, agente anticâncer, um antibiótico, um inibidor de cox-2, um agente imunomodulador, um agente imunossupressor, um corticosteroide ou um mutante farmacologicamente ativo ou derivado dos mesmos.

41. Método para tratar uma leucemia em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-

dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêutico, neta aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em combinação com um segundo agente selecionado a partir de um inibidor de JAK, um inibidor de FLT3, um inibidor de mTOR, um inibidor de spliceossomo, um inibidor de ERK, um inibidor de LSD1, um inibidor de SMG1, um mimético de BH3 e um inibidor de topoisomerase ao mamífero.

42. Método de acordo com a reivindicação 41, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é selecionado a partir de pladienolide B, cloro-N,N-dietil-5-((4-(2-(4-(3-metilureído)fenil)piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzenossulfonamida (composto li), venetoclax, topotecano e everolimo.

43. Método de acordo com a reivindicação 41, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é um inibidor de JAK.

44. Método de acordo com a reivindicação 43, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe.

45. Método de acordo com a reivindicação 41, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é um inibidor de FLT3.

46. Método de acordo com a reivindicação 45, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de FLT3 é selecionado a partir de quizartinibe, sunitinibe, midostaurina, pexidartinibe, lestaurtinibe, tandutinibe e crenolanibe.

47. Método de acordo com a reivindicação 41, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é everolimo.

48. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 47, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é uma leucemia mieloide aguda.

49. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 48, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é recidiva, refratária ou resistente.

50. Método para tratar uma neoplasia mieloproliferativa em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em combinação com um inibidor de JAK ao mamífero.

51. Método de acordo com a reivindicação 50, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe.

52. Método para tratar um câncer selecionado a partir de câncer de mama, tumor neuroendócrino e carcinoma de células renais em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em combinação com um segundo agente selecionado a partir de everolimo, tensirolimo, 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona e 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclohexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona ao mamífero.

53. Método de acordo com a reivindicação 52, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é everolimo.

54. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 41 a 53,

caracterizado pelo fato de que compreende administrar a formulação definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 26 ou a formulação aquosa definida em qualquer uma das reivindicações 27 a 34 ao mamífero.

55. Método para tratar uma leucemia em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o método compreende administrar (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo em combinação com um inibidor de IDH2 ao mamífero, em que a leucemia tem como característica a presença de um alelo mutante de IDH2.

56. Método de acordo com a reivindicação 54, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de IDH2 é enasidenibe ou 6-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)-N²-(2-(trifluorometil)piridin-4-il)-1,3,5-triazina-2,4-diamina.

57. Método de acordo com a reivindicação 55 ou 56, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é uma leucemia mieloide aguda que tem como característica a presença de um alelo mutante de IDH2.

58. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 55 a 57, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é recidiva, refratária ou resistente.

59. Método para reduzir um nível de GSPT1 em um sujeito, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma combinação de (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo e um segundo agente ao sujeito.

60. Método para reduzir um nível de Mcl-1 em um sujeito, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar uma combinação de (2-(4-clorofenil)-

N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmaceuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo e um segundo agente ao sujeito.

61. Método de acordo com a reivindicação 59 ou 60, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é selecionado a partir de um inibidor de JAK, inibidor de FLT3, inibidor de mTOR, inibidor de spliceossomo, inibidor de BET, inibidor de SMG1, inibidor de ERK, inibidor de LSD1, mimético de BH3, inibidor de topoisomerase e inibidor de RTK.

62. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 26 ou formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 34, **caracterizada** pelo fato de ser para uso como um medicamento.

63. Formulação de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 26 ou formulação aquosa de acordo com qualquer uma das reivindicações 27 a 34, **caracterizada** pelo fato de ser para uso em um método para tratar um câncer em um mamífero.

64. Formulação aquosa para uso de acordo com a reivindicação 63, **caracterizada** pelo fato de que o método compreende administrar a formulação aquosa por via intravenosa.

65. Formulação para uso de acordo com a reivindicação 63 ou formulação aquosa para uso de acordo com a reivindicação 63 ou 64, **caracterizada** pelo fato de que o câncer é leucemia.

66. Formulação para uso de acordo com a reivindicação 65 ou formulação aquosa para uso de acordo com a reivindicação 65, **caracterizada** pelo fato de que a leucemia é leucemia linfocítica crônica, leucemia mielocítica crônica, leucemia linfoblástica aguda ou leucemia mieloide aguda.

67. Formulação para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações

62, 63 e 65 ou formulação aquosa para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 62 a 66, **caracterizada** pelo fato de que compreende ainda administrar uma quantidade terapêuticamente eficaz de outro segundo agente ativo ou uma terapia de suporte.

68. Formulação para uso de acordo com a reivindicação 67 ou formulação aquosa para uso de acordo com a reivindicação 67, **caracterizada** pelo fato de que o outro segundo agente ativo é um anticorpo terapêutico que se liga especificamente a um antígeno de câncer, fator de crescimento hematopoiético, citocina, agente anti-câncer, antibiótico, inibidor de cox-2, agente imunomodulador, agente imunossupressor, corticosteroide ou um mutante farmacologicamente ativo ou derivado dos mesmos.

69. Composto 1 para uso em um método para tratar uma leucemia em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o Composto 1 é (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo, em que o método compreende administrar o Composto 1 em combinação com um segundo agente selecionado a partir de um inibidor de JAK, um inibidor de FLT3, um inibidor de mTOR, um inibidor de spliceossomo, um inibidor de ERK, um inibidor de LSD1, um inibidor de SMG1, um mimético de BH3 e um inibidor de topoisomerase ao mamífero.

70. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é selecionado a partir de pladienolide B, cloro-N,N-dietil-5-((4-(2-(4-(3-metilureído)fenil)piridin-4-il)pirimidin-2-il)amino)benzenossulfonamida (composto li), venetoclax, topotecano e everolimo.

71. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado**

pelo fato de que o segundo agente é um inibidor de JAK.

72. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 71, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe.

73. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é um inibidor de FLT3.

74. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 73, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de FLT3 é selecionado a partir de quizartinibe, sunitinibe, midostaurina, pexidartinibe, lestaurtinibe, tandutinibe e crenolanibe.

75. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 69, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é everolimo.

76. Composto 1 para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 69 a 75, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é uma leucemia mieloide aguda.

77. Composto 1 para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 69 a 76, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é recidiva, refratária ou resistente.

78. Composto 1 para uso em um método para tratar uma neoplasia mieloproliferativa em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o Composto 1 é (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmacologicamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo, em que o método compreende administrar o Composto 1 em combinação com um inibidor de JAK ao mamífero.

79. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 78, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de JAK é selecionado a partir de tofacitinibe, momelotinibe, filgotinibe, decernotinibe, barcitinibe, ruxolitinibe, fedratinibe, NS-018 e pacritinibe.

80. Composto 1 para uso em um método para tratar um câncer selecionado a partir de câncer de mama, tumor neuroendócrino e carcinoma de células renais em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o Composto 1 é (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmaceuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou polimorfo do mesmo, em que o método compreende administrar o Composto 1 em combinação com um segundo agente selecionado a partir de everolimo, tensirolimo, 1-etil-7-(2-metil-6-(1H-1,2,4-triazol-3-il)piridin-3-il)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona e 7-(6-(2-hidroxiopropan-2-il)piridin-3-il)-1-((trans)-4-metoxiciclo-hexil)-3,4-di-hidropirazino[2,3-b]pirazin-2(1H)-ona ao mamífero.

81. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 80, **caracterizado** pelo fato de que o segundo agente é everolimo.

82. Composto 1 para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 69 a 81, **caracterizado** pelo fato de que compreende administrar a formulação definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 26 ou a formulação aquosa definida em qualquer uma das reivindicações 27 a 34 ao mamífero.

83. Composto 1 para uso em um método para tratar uma leucemia em um mamífero, **caracterizado** pelo fato de que o Composto 1 é (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) ou um estereoisômero ou mistura de estereoisômeros, sal farmaceuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato ou

polimorfo do mesmo, em que o método compreende administrar o Composto 1 em combinação com um inibidor de IDH2 ao mamífero e em que a leucemia tem como característica a presença de um alelo mutante de IDH2.

84. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 83, **caracterizado** pelo fato de que o inibidor de IDH2 é enasidenibe ou 6-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)-N²-(2-(trifluorometil)piridin-4-il)-1,3,5-triazina-2,4-diamina.

85. Composto 1 para uso de acordo com a reivindicação 83 ou 84, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é uma leucemia mieloide aguda que tem como característica a presença de um alelo mutante de IDH2.

86. Composto 1 para uso de acordo com qualquer uma das reivindicações 83 a 85, **caracterizado** pelo fato de que a leucemia é recidiva, refratária ou resistente.

87. Processo para preparar a formulação definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, **caracterizado** pelo fato de que compreende: dissolver (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) em ácido fórmico para obter uma pré-mistura, dissolver hidroxipropil β-ciclodextrina em água para obter uma solução, adicionar a pré-mistura à solução para obter uma solução de fármaco.

88. Processo de acordo com a reivindicação 87, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda liofilizar a solução para produzir uma formulação liofilizada.

89. Processo para preparar a formulação definida em qualquer uma das reivindicações 12 a 26, **caracterizado** pelo fato de que compreende: dissolver hidroxipropil β-ciclodextrina em um tampão citrato para obter uma solução tampão, dissolver (2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida) em DMSO para obter uma pré-

mistura, adicionar a pré-mistura à solução tampão para obter uma solução.

90. Processo de acordo com a reivindicação 89, **caracterizado** pelo fato de que compreende ainda liofilizar a solução para produzir uma formulação liofilizada.

Contagem

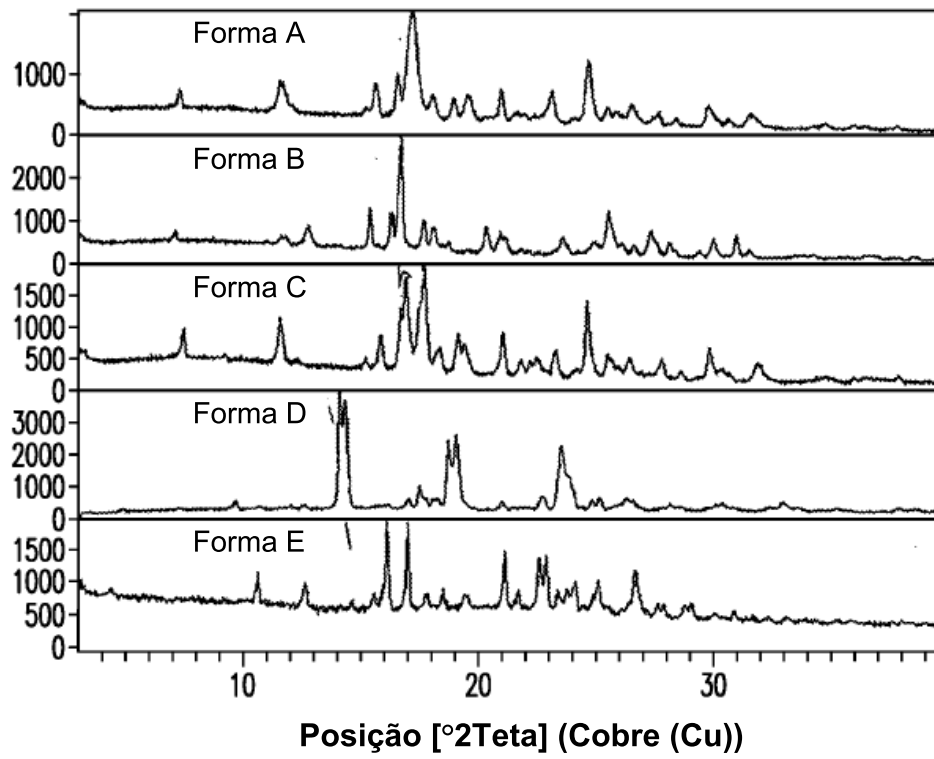


FIG. 1

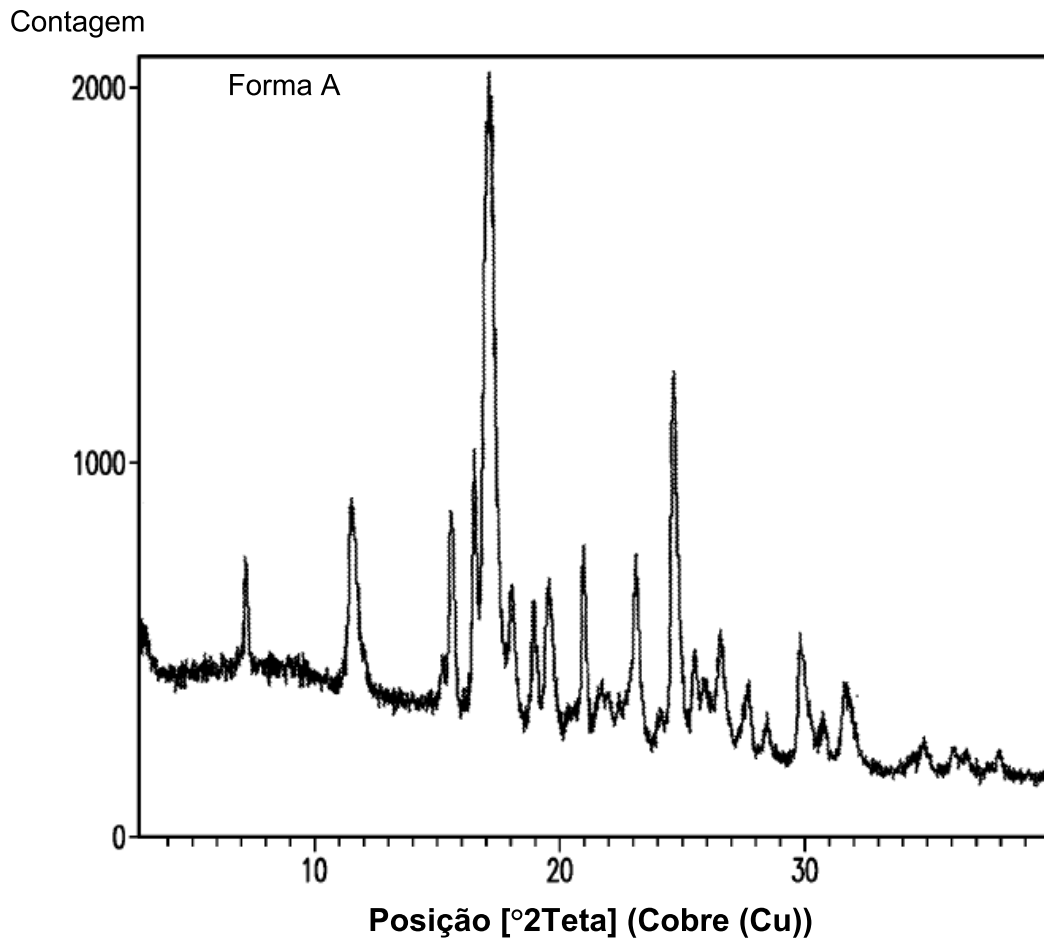
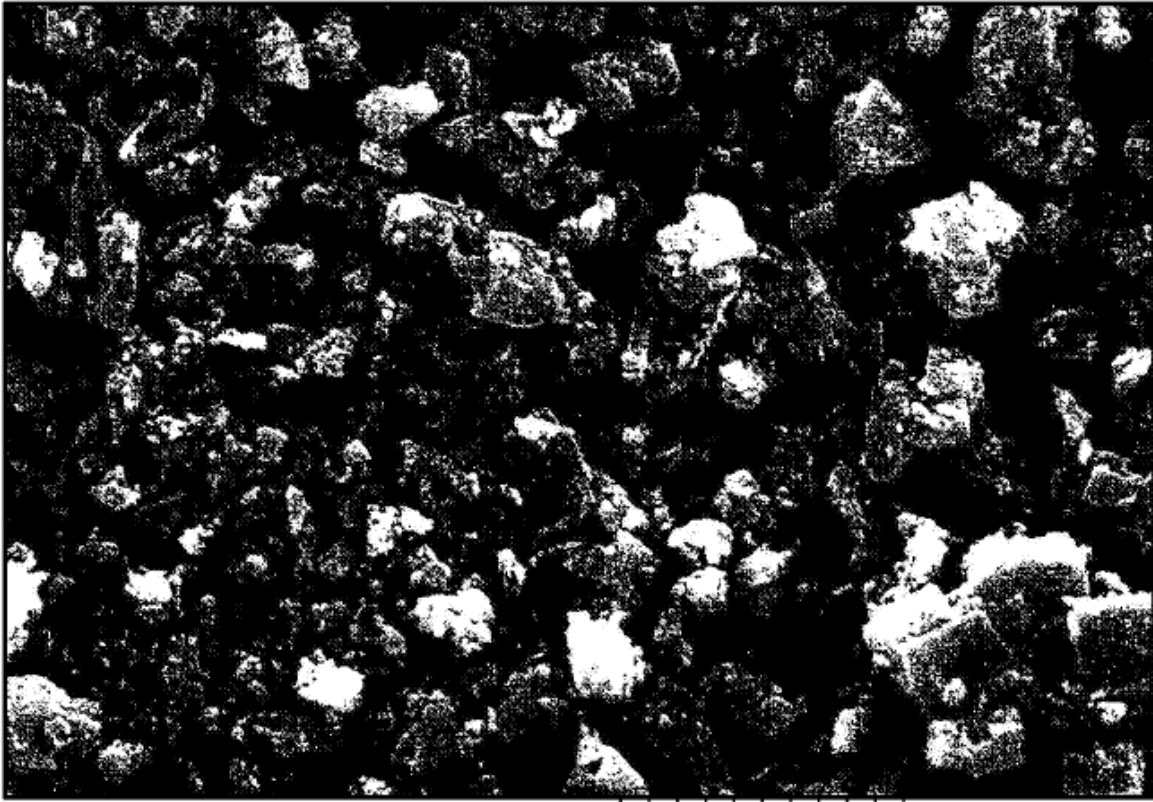


FIG. 2



CP-40

25 kV X1.0k

30 μ m

SED
Vac. alto

FIG. 3

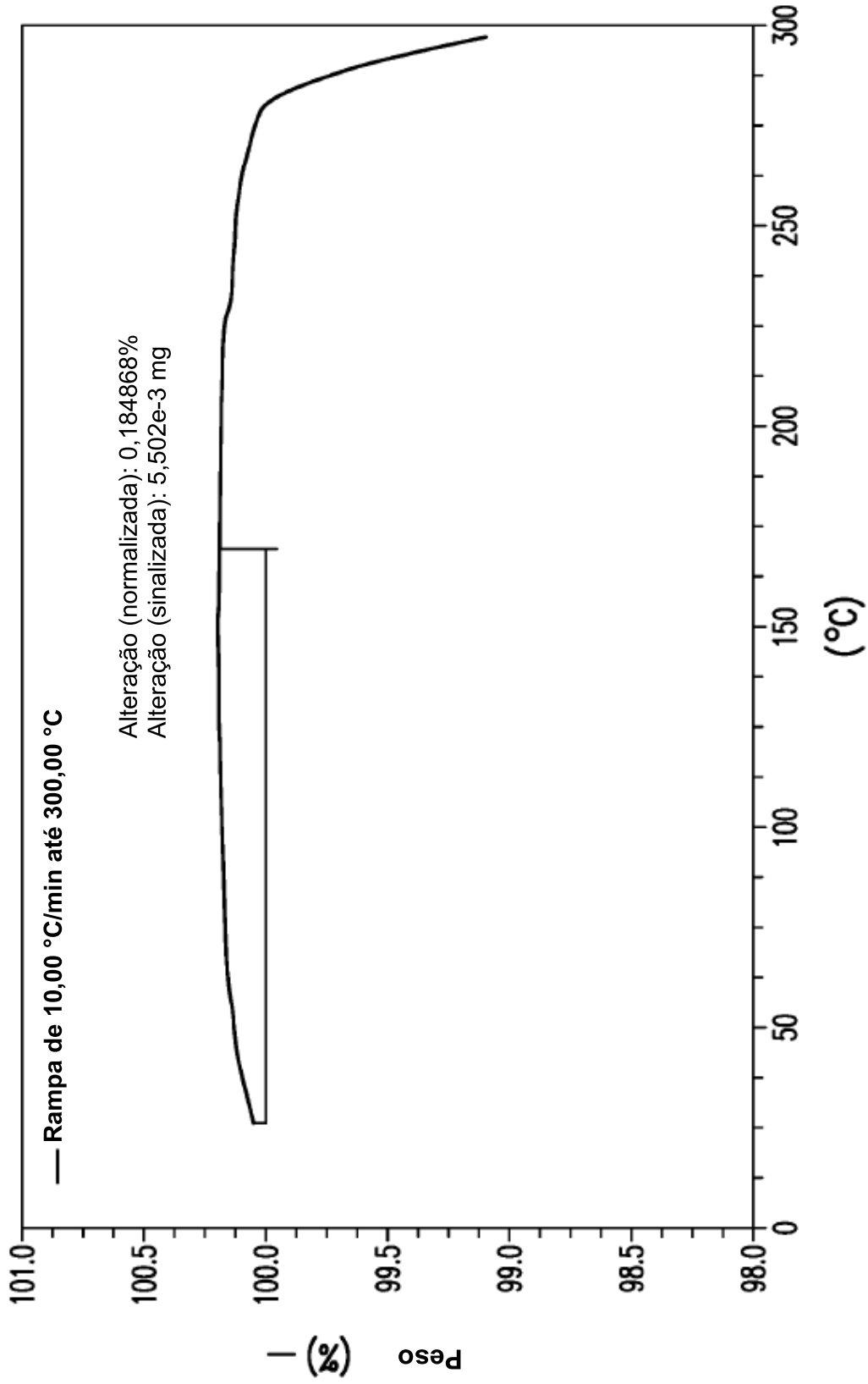


FIG. 4

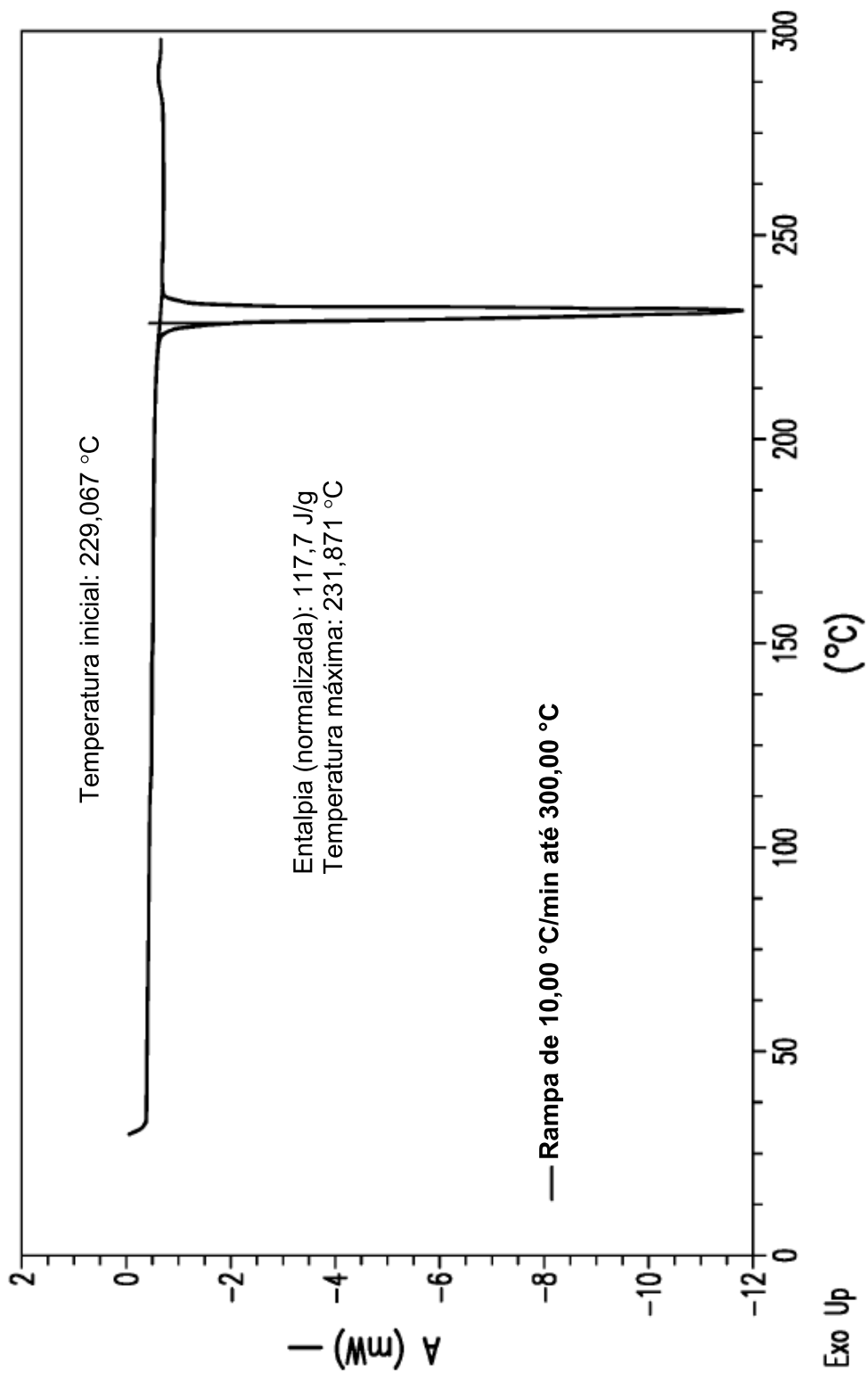
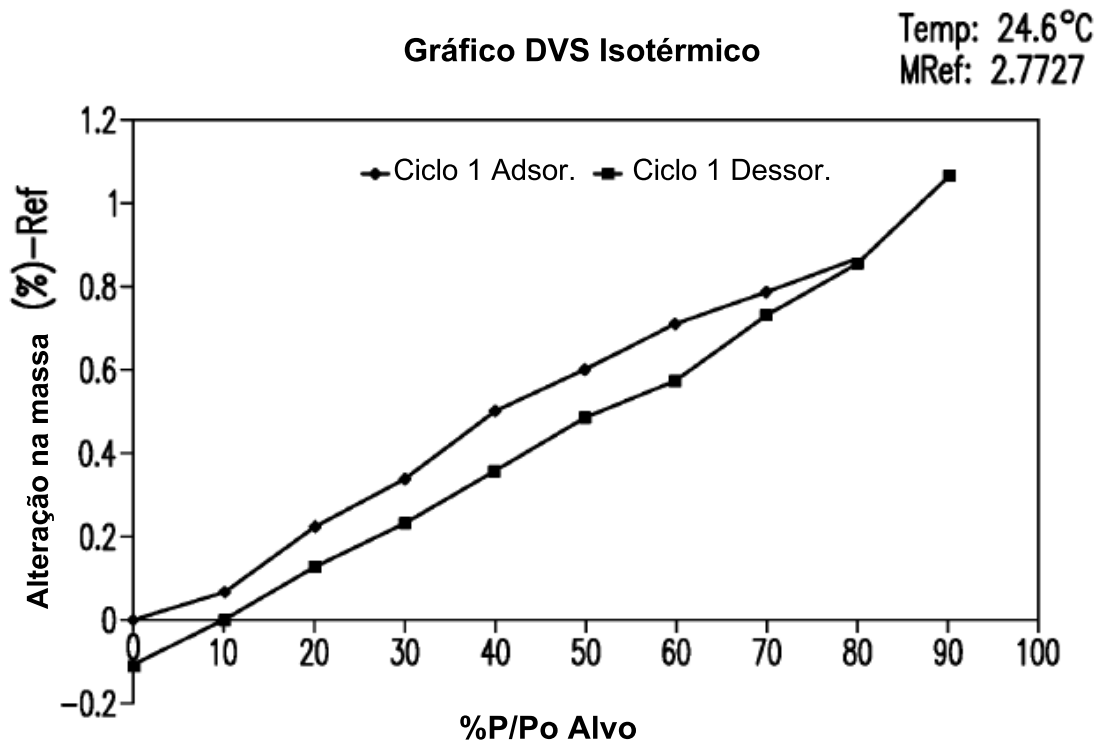


FIG. 5



	%P/Po Alvo	Alteração na massa (%) - ref		
		Adsorção	Dessorção	Histerese
Ciclo 1	0.0	-0.004	-0.111	
	10.0	0.063	-0.002	-0.066
	20.0	0.221	0.126	-0.094
	30.0	0.339	0.231	-0.108
	40.0	0.509	0.360	-0.149
	50.0	0.614	0.496	-0.118
	60.0	0.726	0.586	-0.139
	70.0	0.808	0.751	-0.057
	80.0	0.887	0.880	-0.007
	90.0	1.099	1.099	

FIG. 6

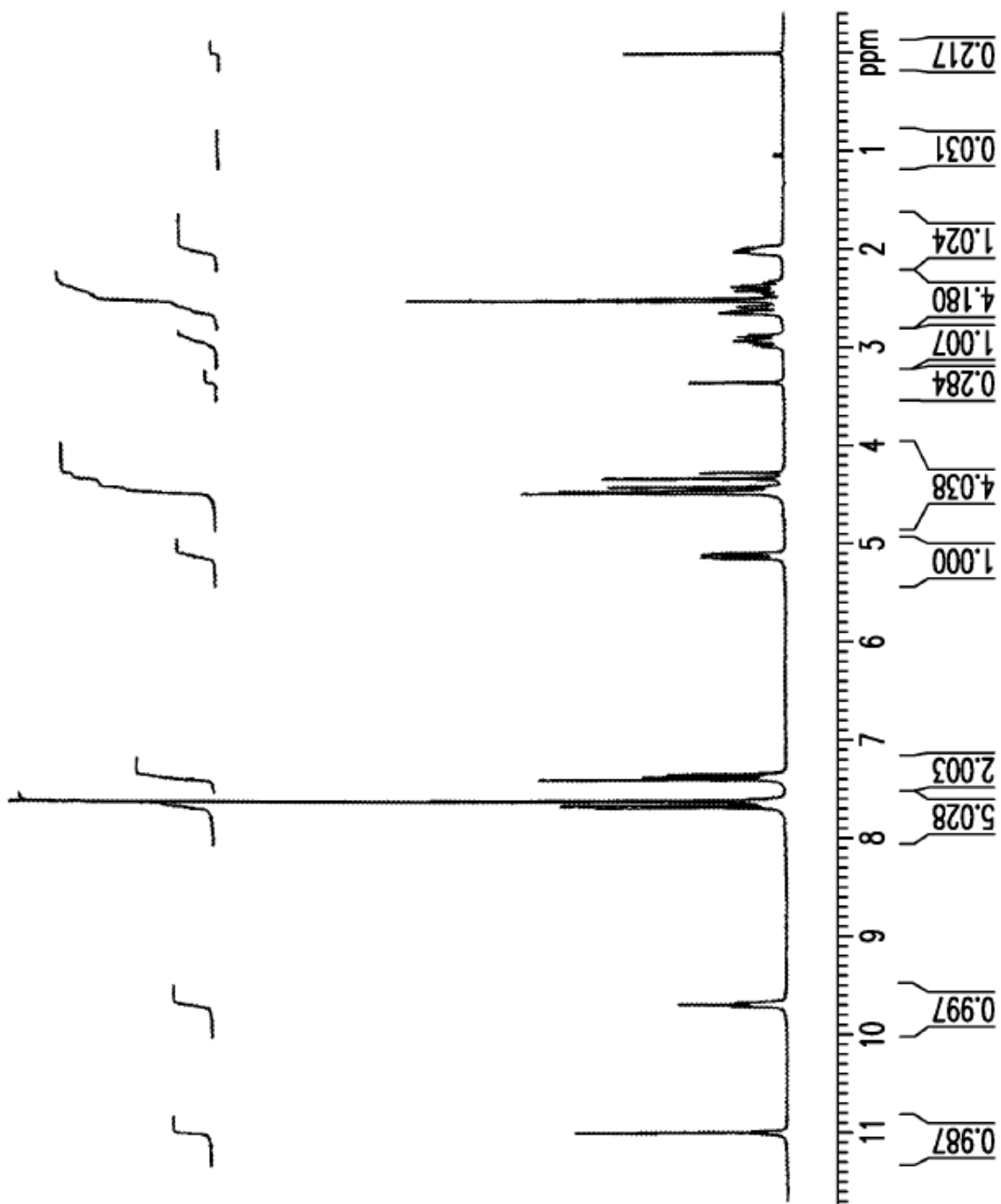


FIG. 7

Contagem

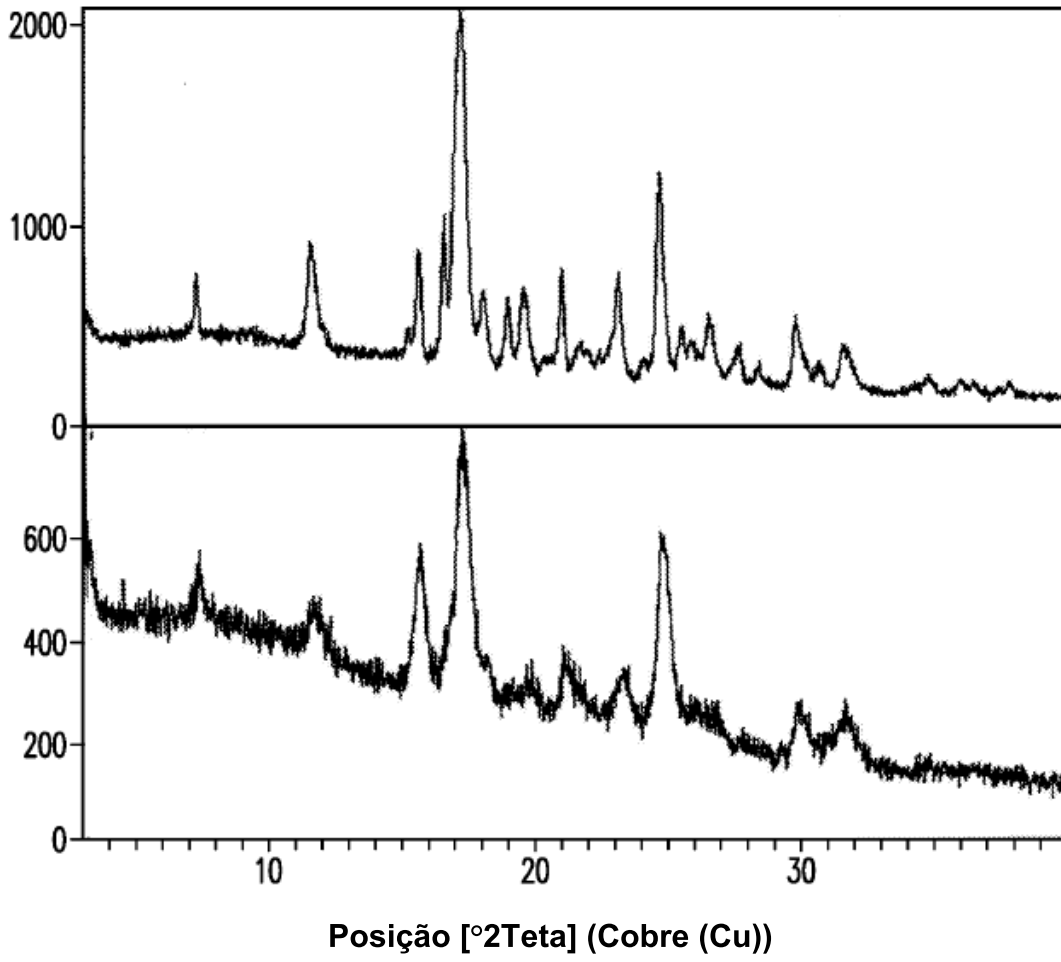


FIG. 8

Contagem

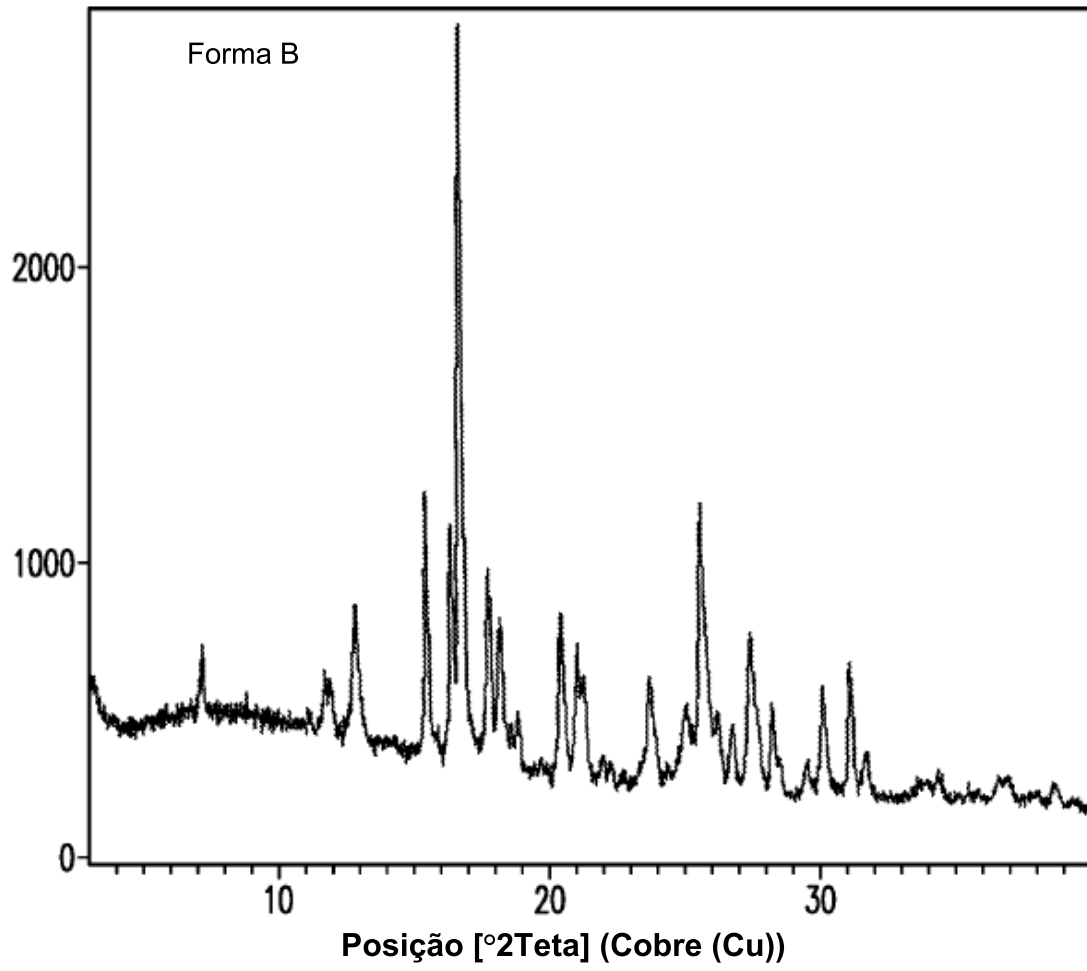


FIG. 9

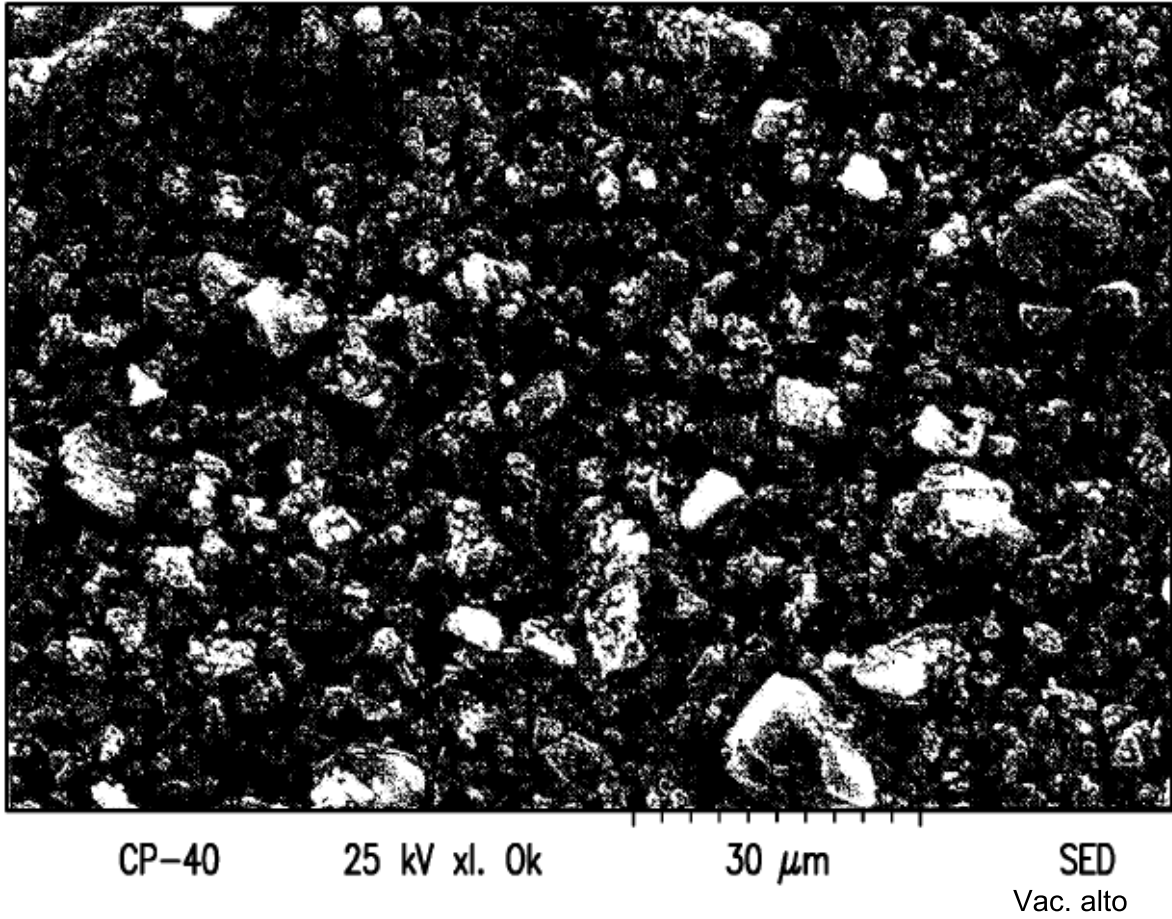


FIG. 10

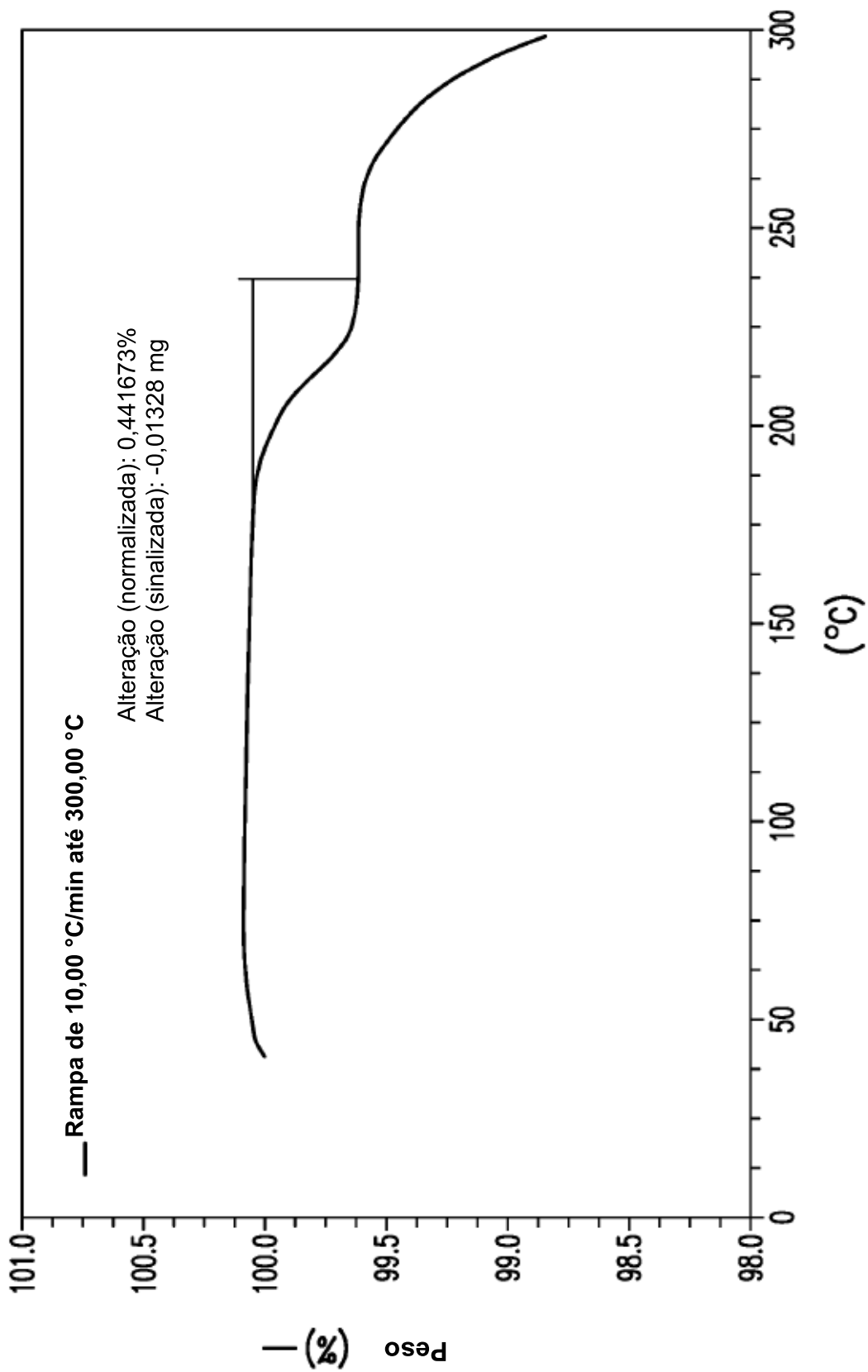


FIG. 11

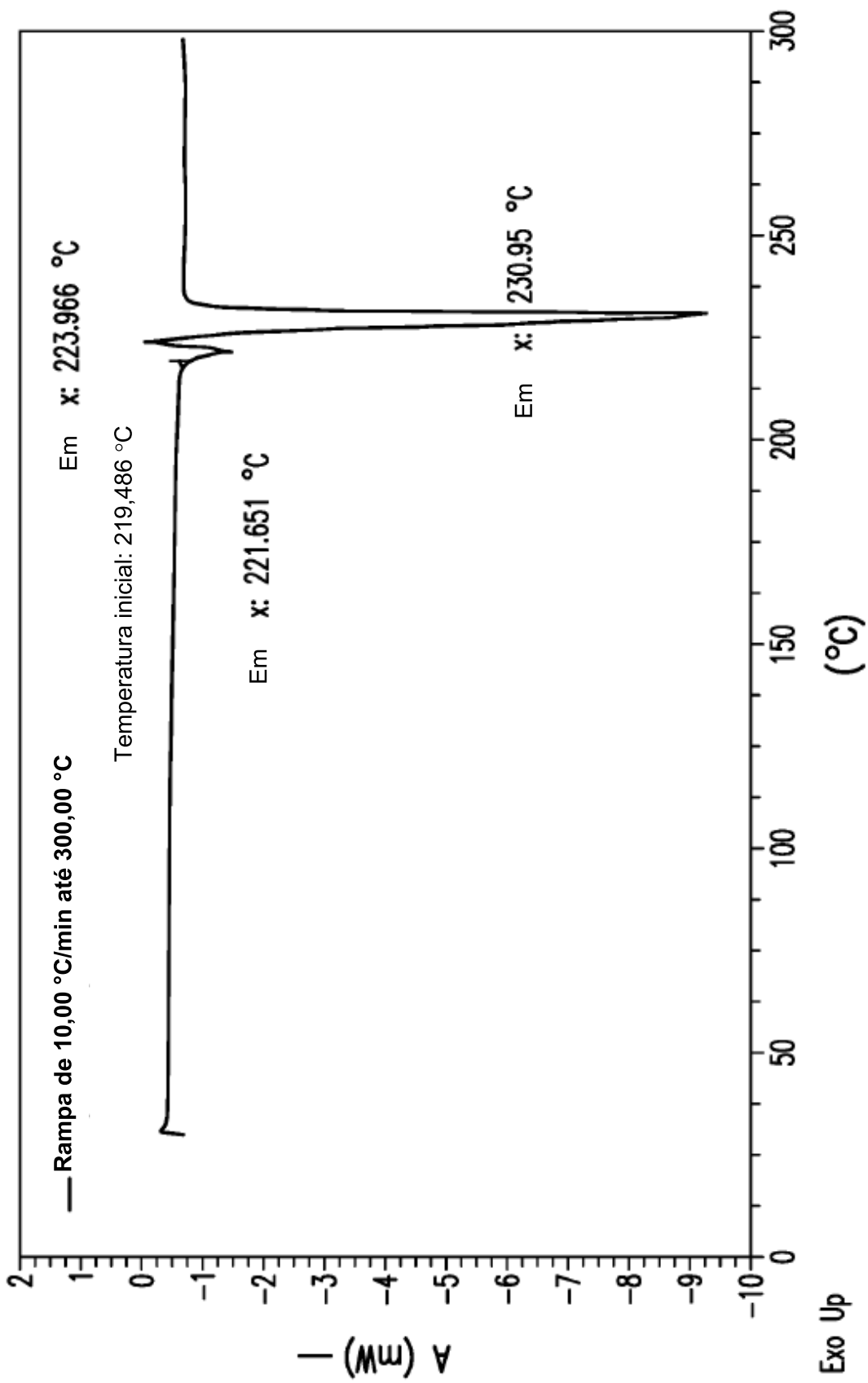
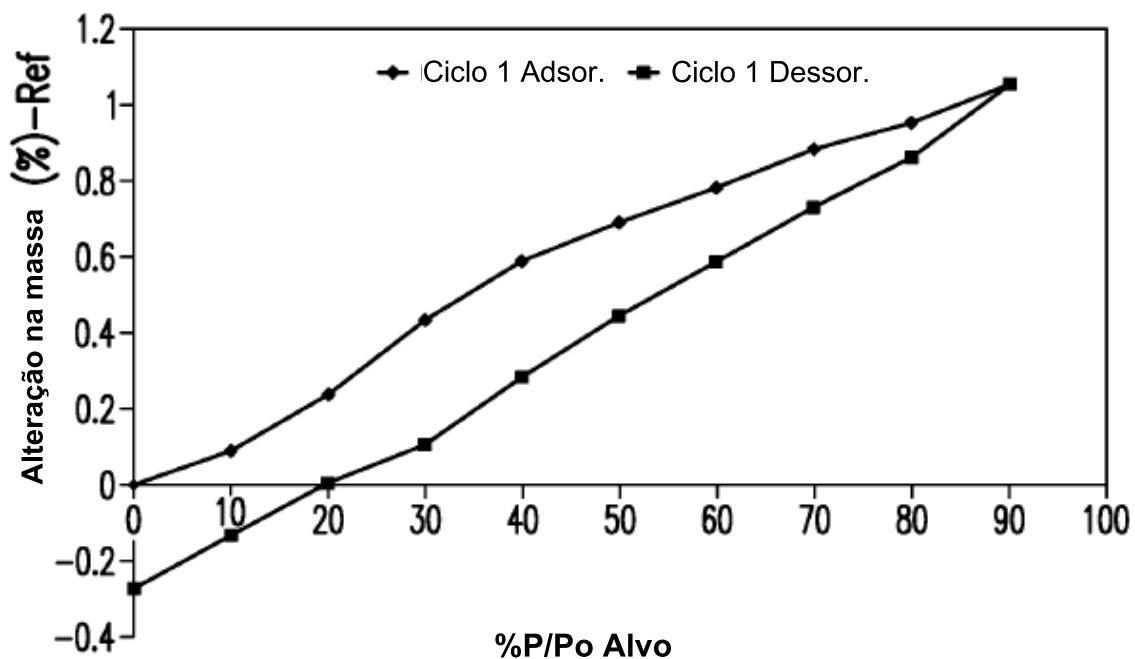


FIG. 12

Gráfico DVS Isotérmico

Temp: 25.0°C

MRef: 2.5895



	%P/Po Alvo	Alteração na massa (%) - ref		
		Adsorção	Dessorção	Histerese
Ciclo 1	0.0	0.000	-0.270	
	10.0	0.093	-0.120	-0.213
	20.0	0.241	0.009	-0.232
	30.0	0.439	0.112	-0.327
	40.0	0.595	0.292	-0.303
	50.0	0.700	0.456	-0.244
	60.0	0.798	0.599	-0.198
	70.0	0.903	0.748	-0.154
	80.0	0.977	0.886	-0.091
	90.0	1.085	1.085	

FIG. 13

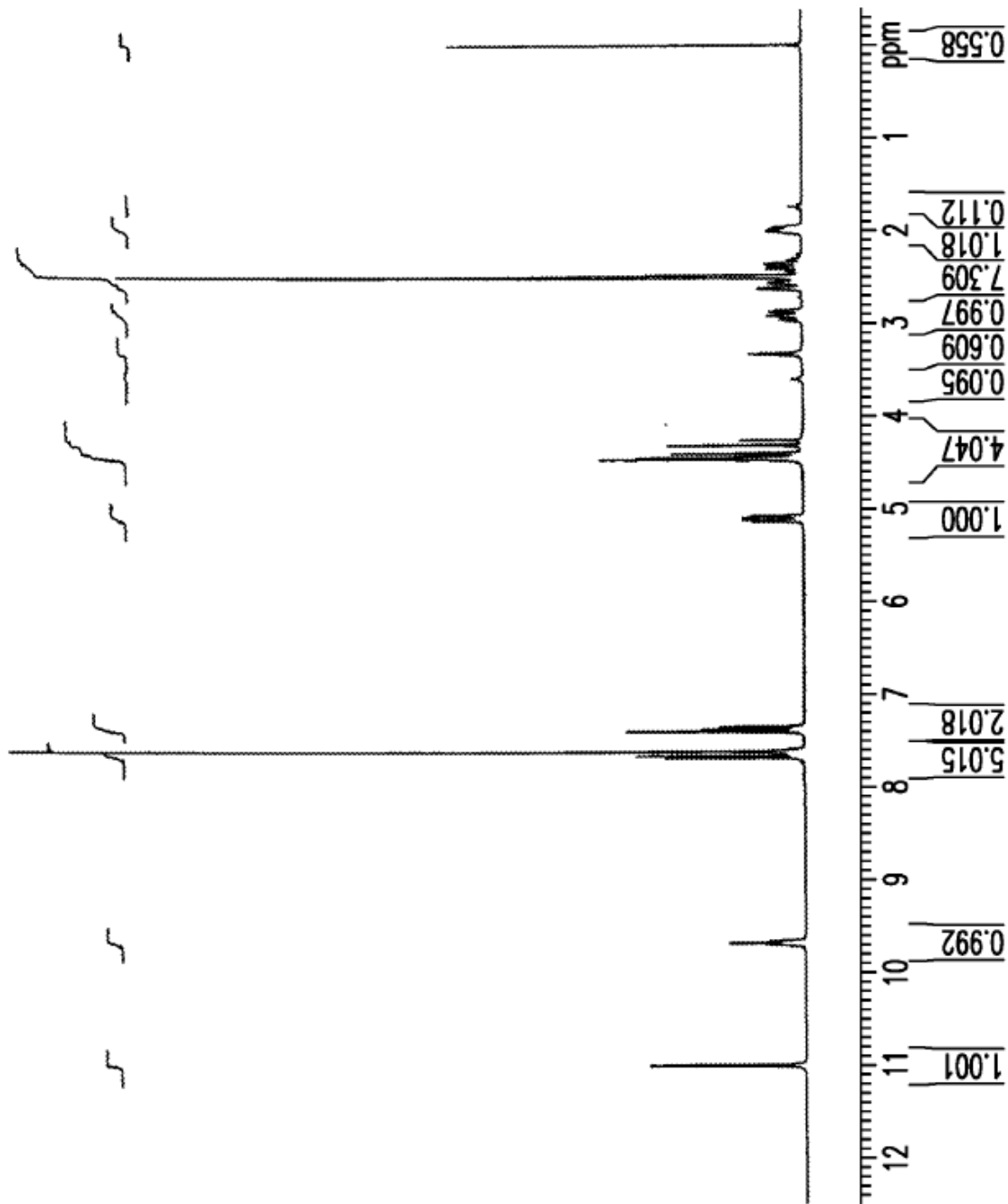


FIG. 14

Contagem

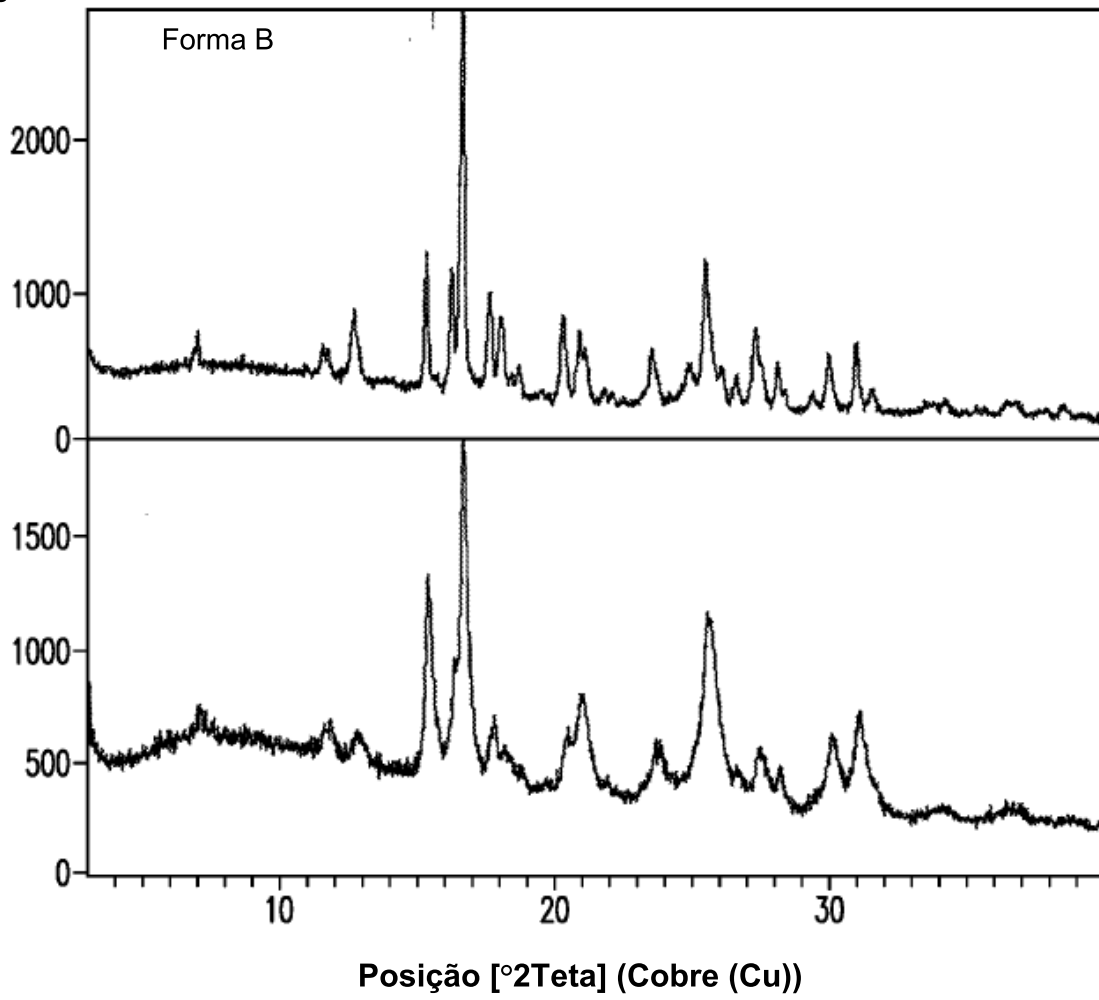


FIG. 15

Contagem

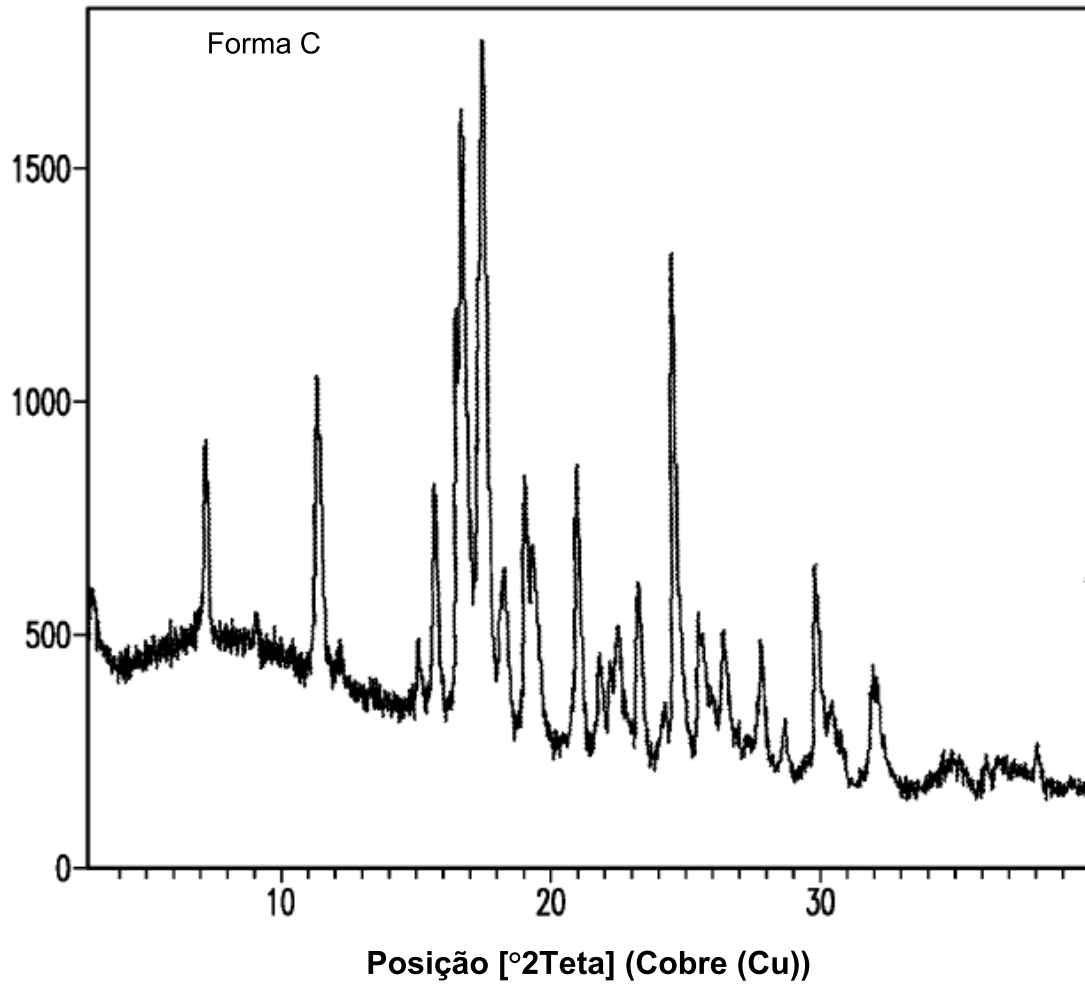
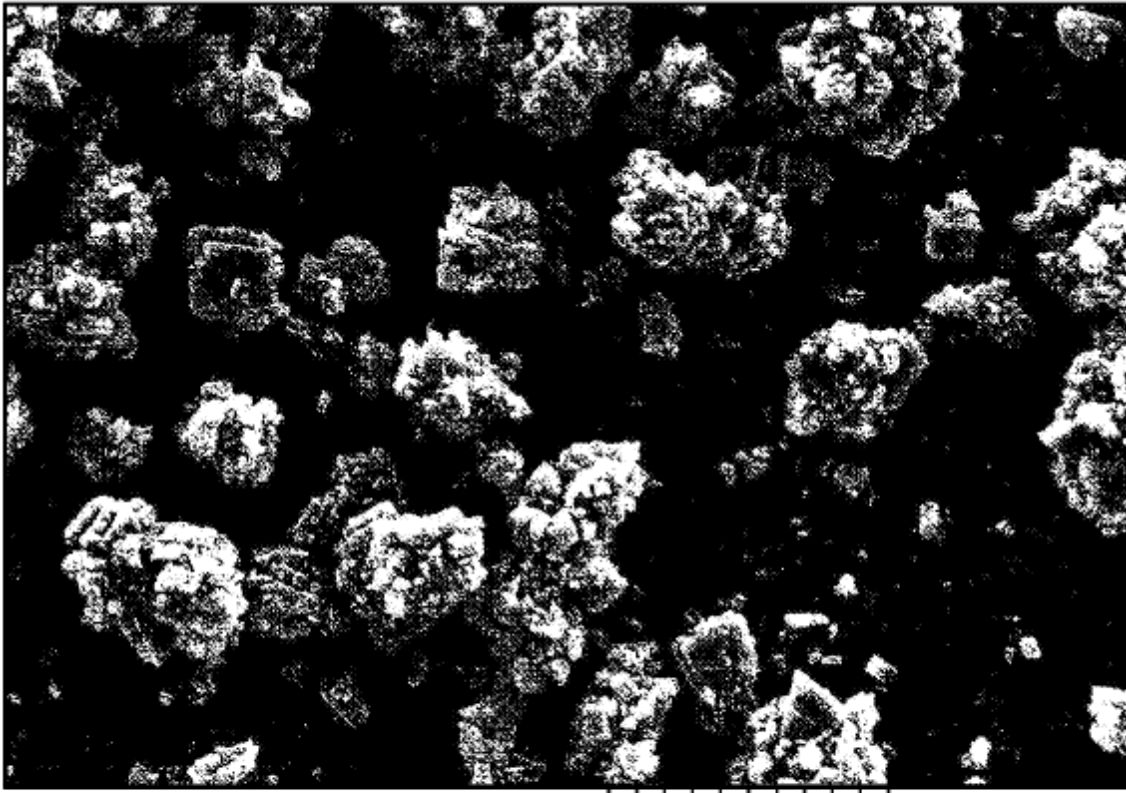


FIG. 16



CP-40

25 kV x300

100 μ m

SED
Vac. alto

FIG. 17

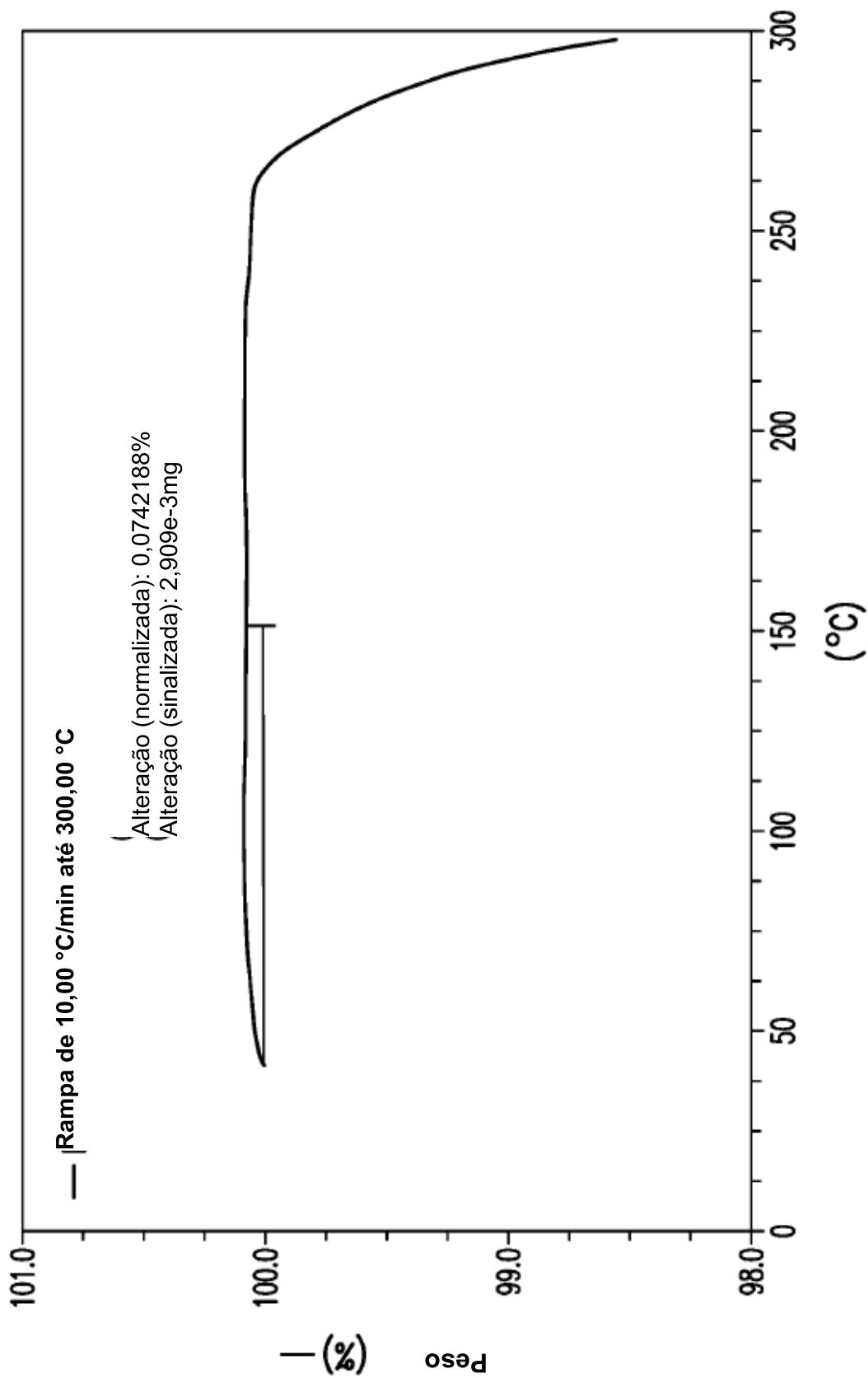


FIG. 18

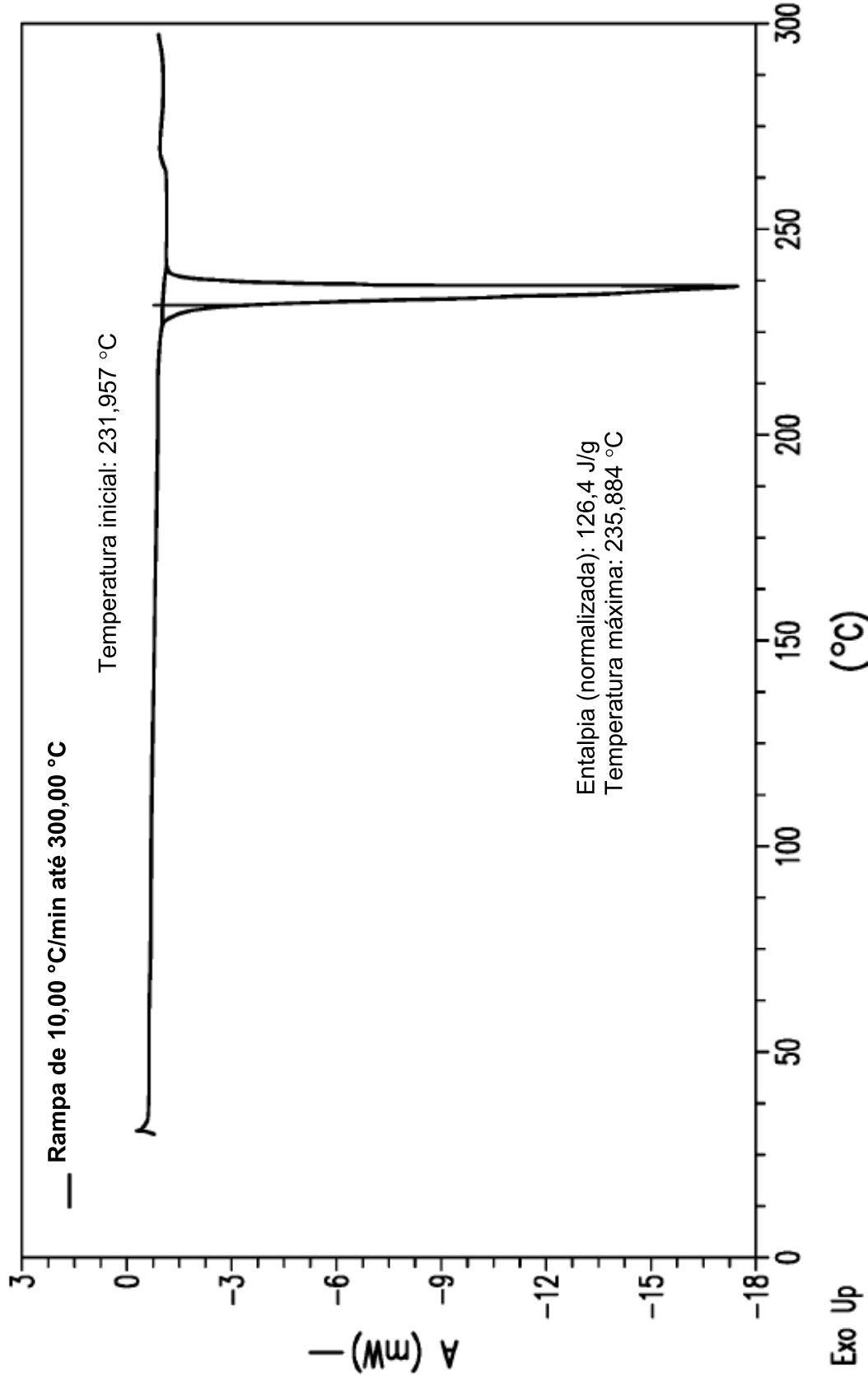
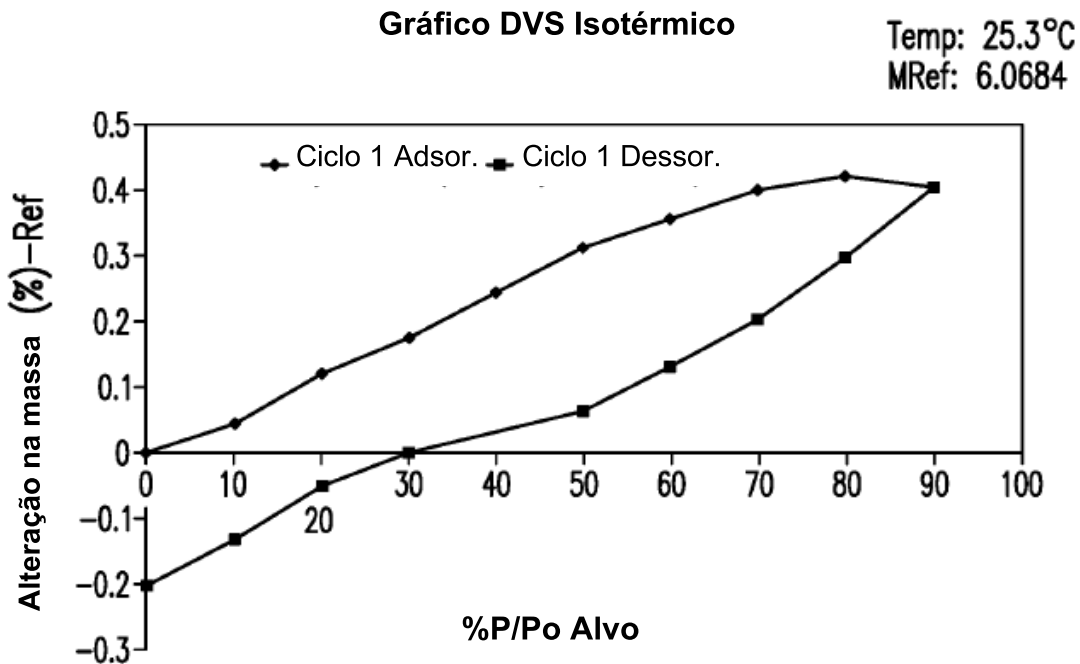


FIG. 19



	%P/Po Alvo	Alteração na massa (%) - ref		
		Adsorção	Dessorção	Histerese
Ciclo 1	0.0	-0.0020	-0.2070	
	10.0	0.0409	-0.1368	-0.1776
	20.0	0.1186	0.0547	-0.1734
	30.0	0.1730	0.0049	-0.1780
	40.0	0.2409	0.0395	-0.2805
	50.0	0.3114	0.0606	-0.2508
	60.0	0.3559	0.1305	-0.2254
	70.0	0.4014	0.2027	-0.1987
	80.0	0.4235	0.2983	-0.1252
	90.0	0.4087	0.4087	

FIG. 20

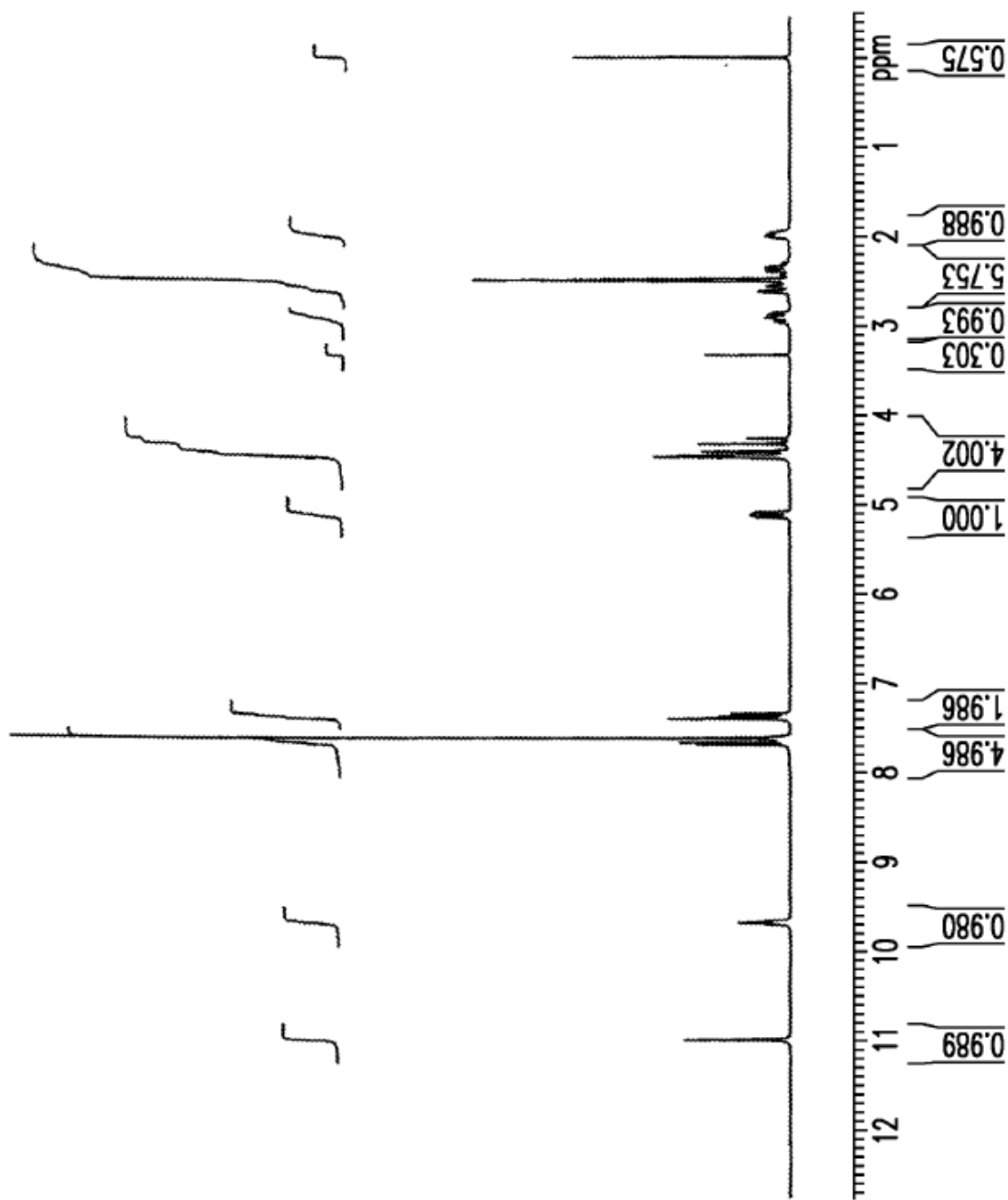


FIG. 21

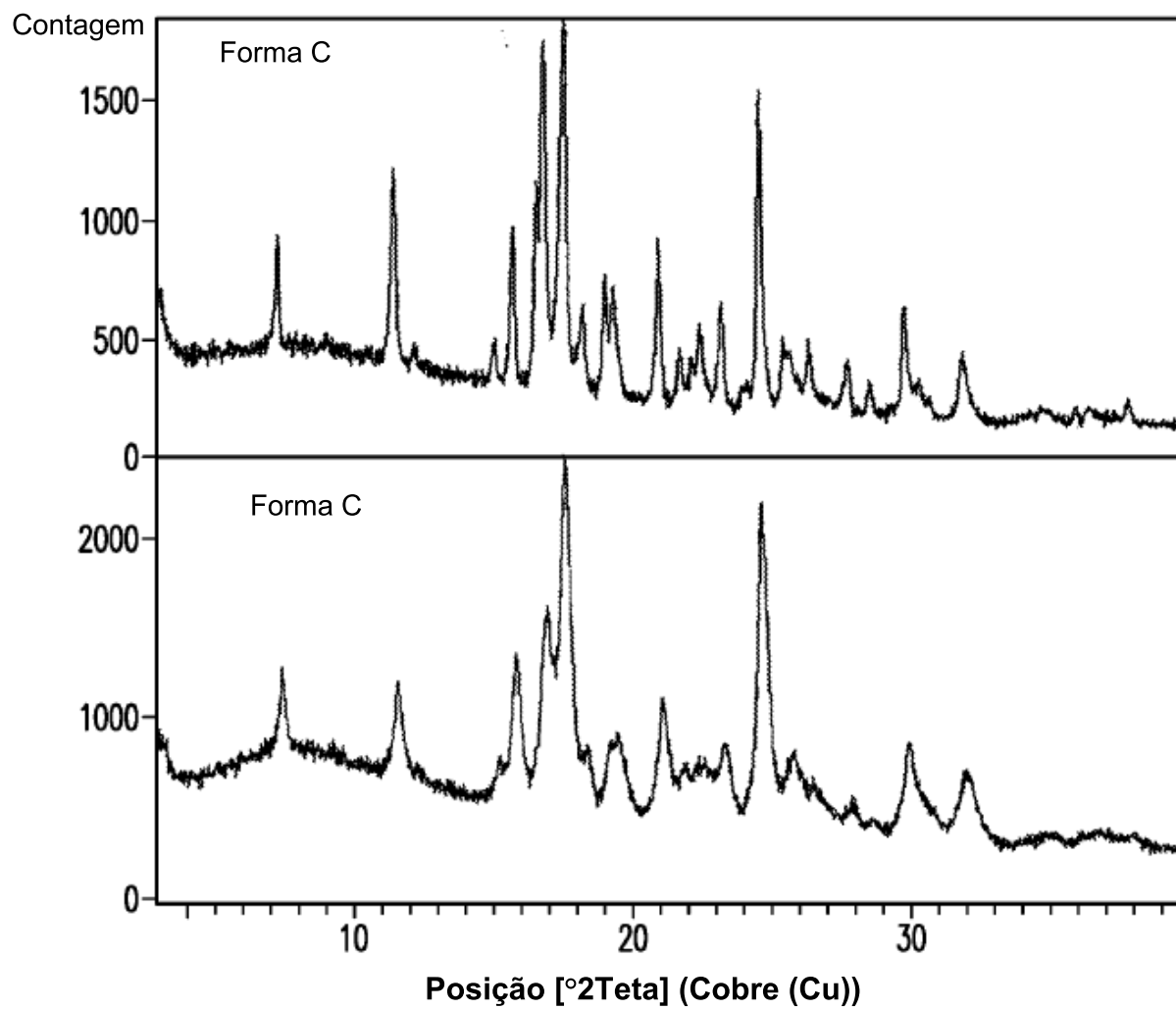


FIG. 22

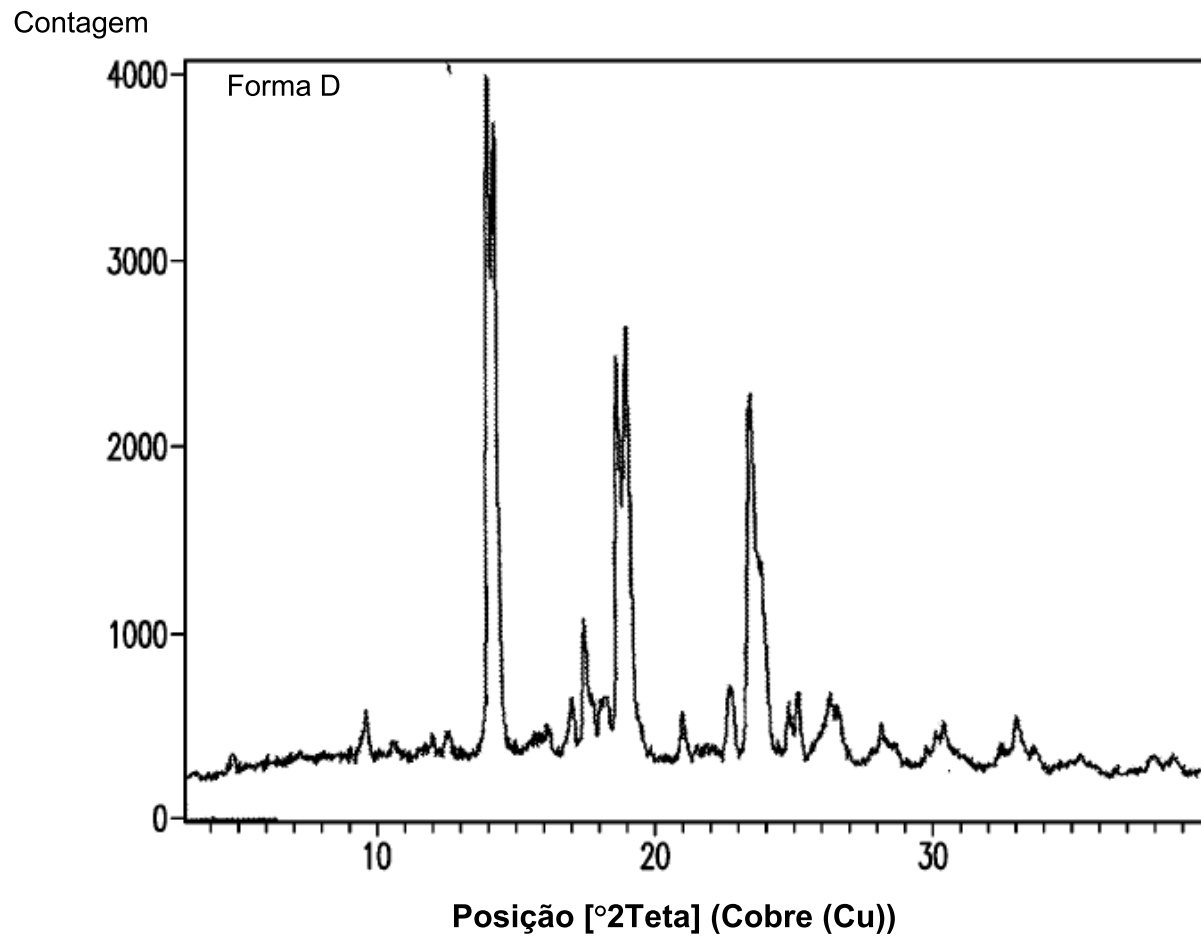


FIG. 23

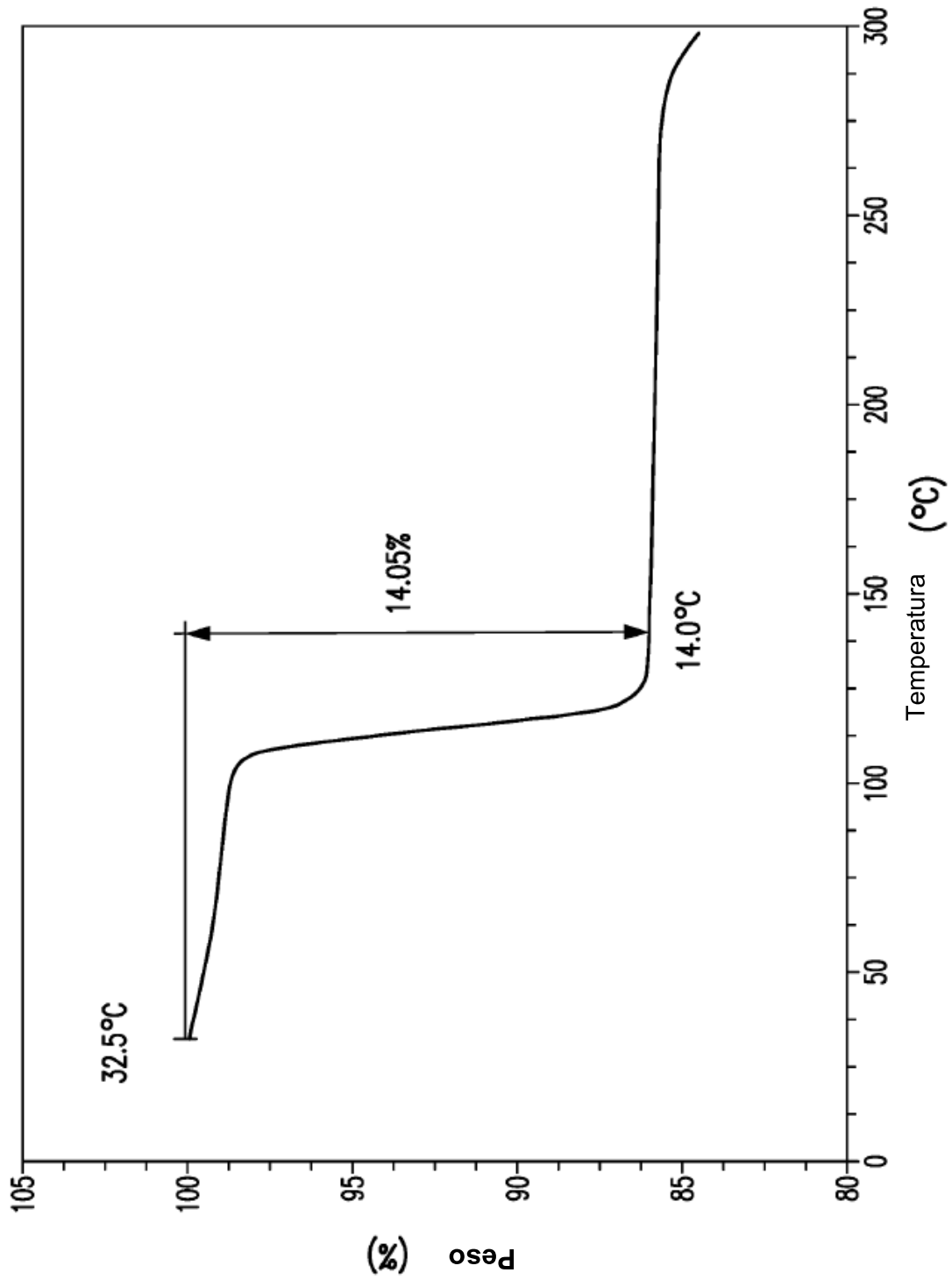


FIG. 24

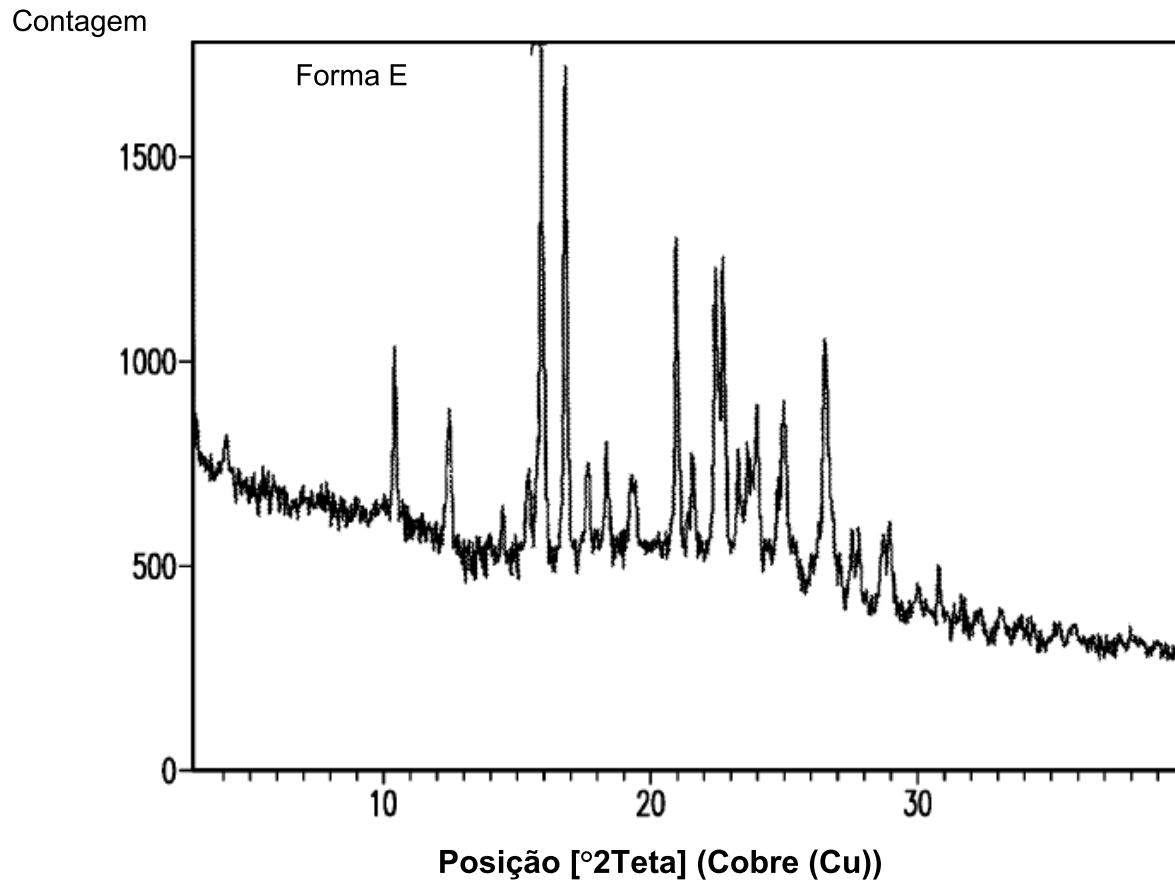


FIG. 25

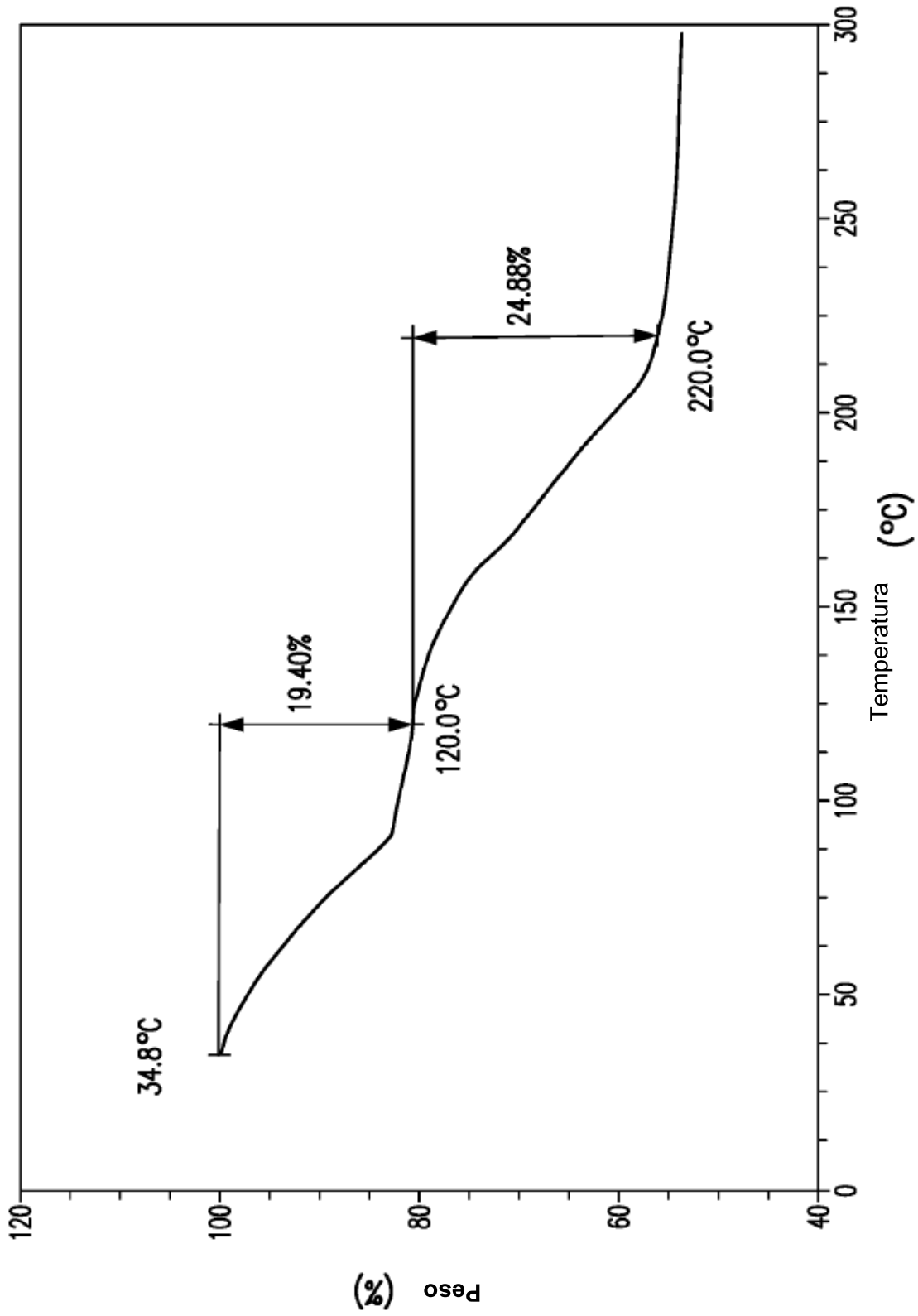
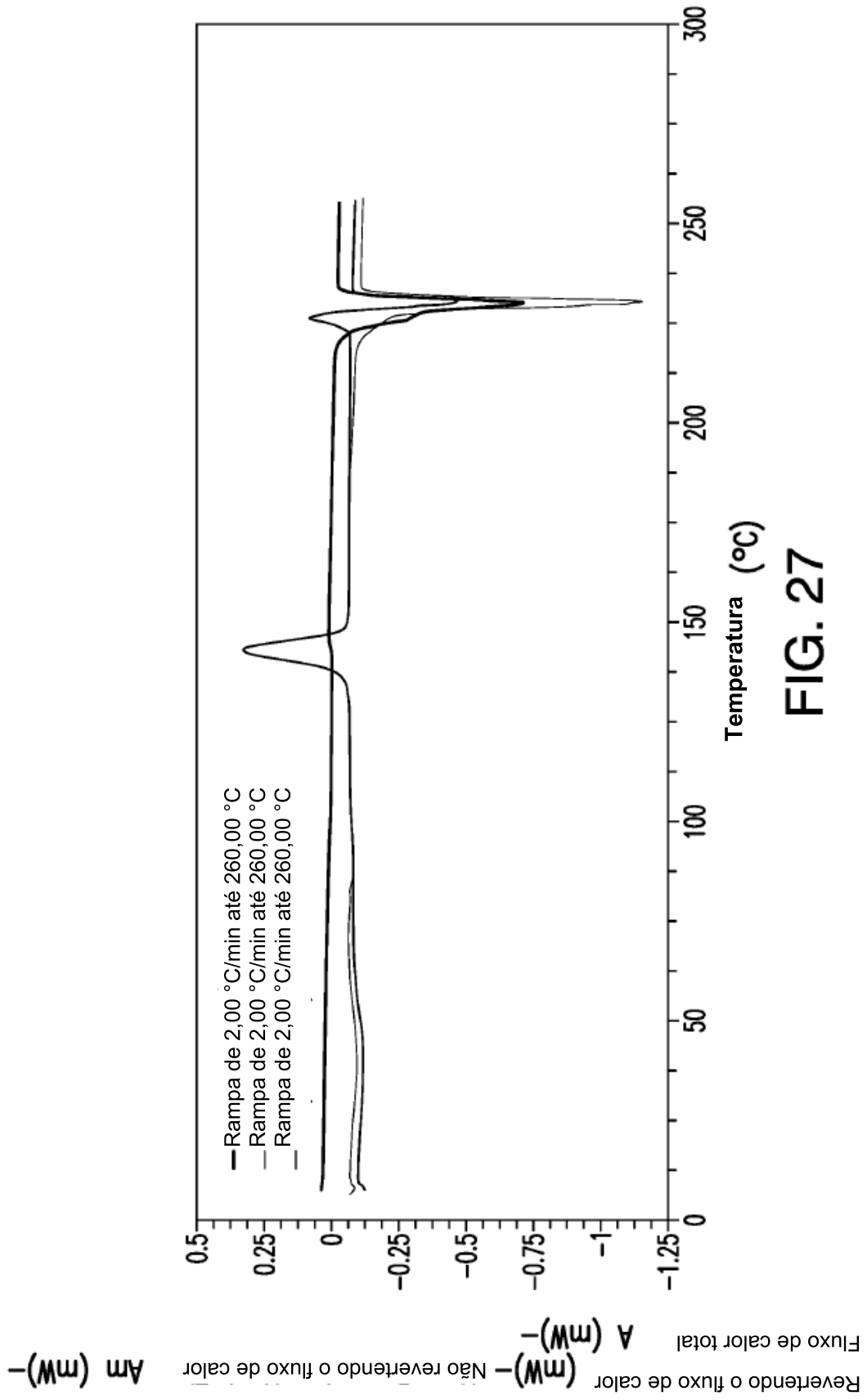


FIG. 26



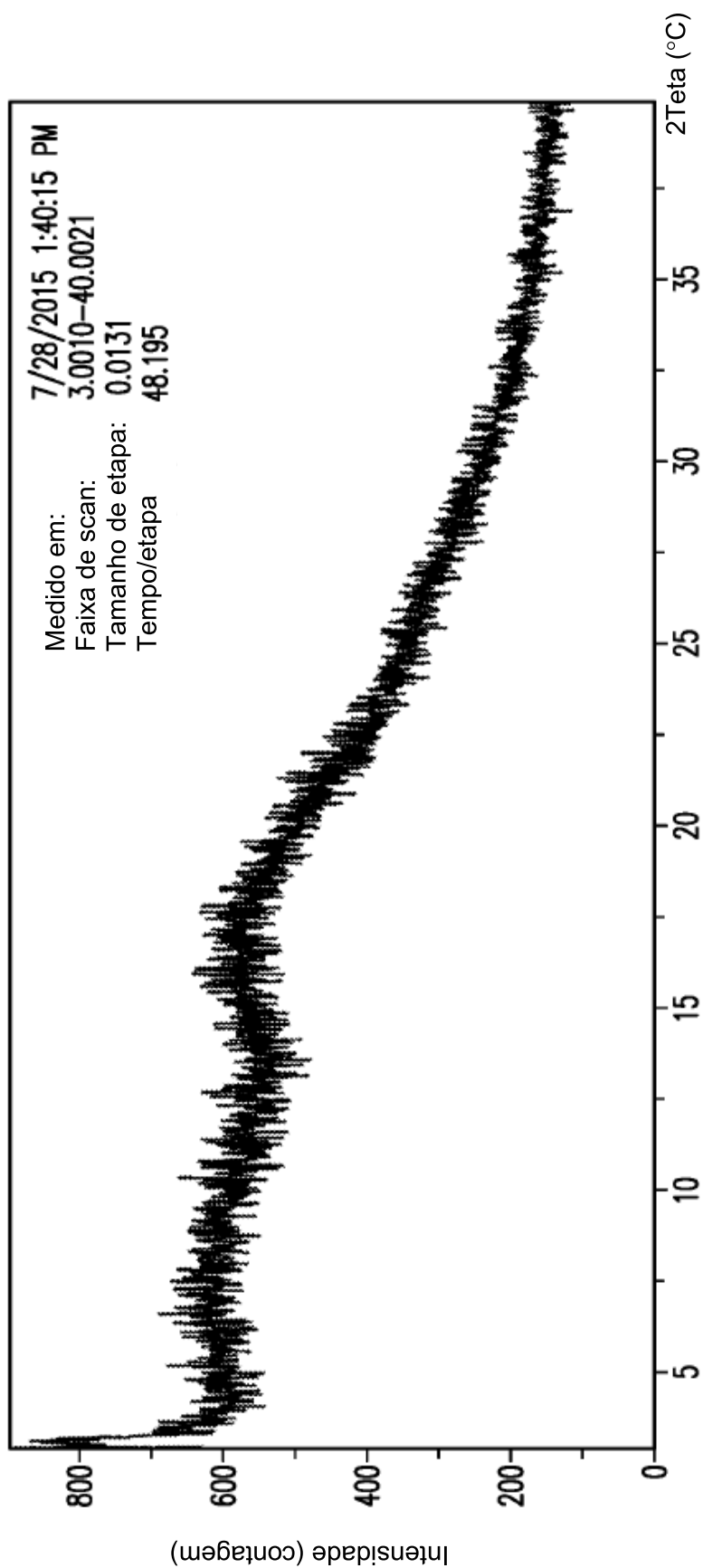


FIG. 28

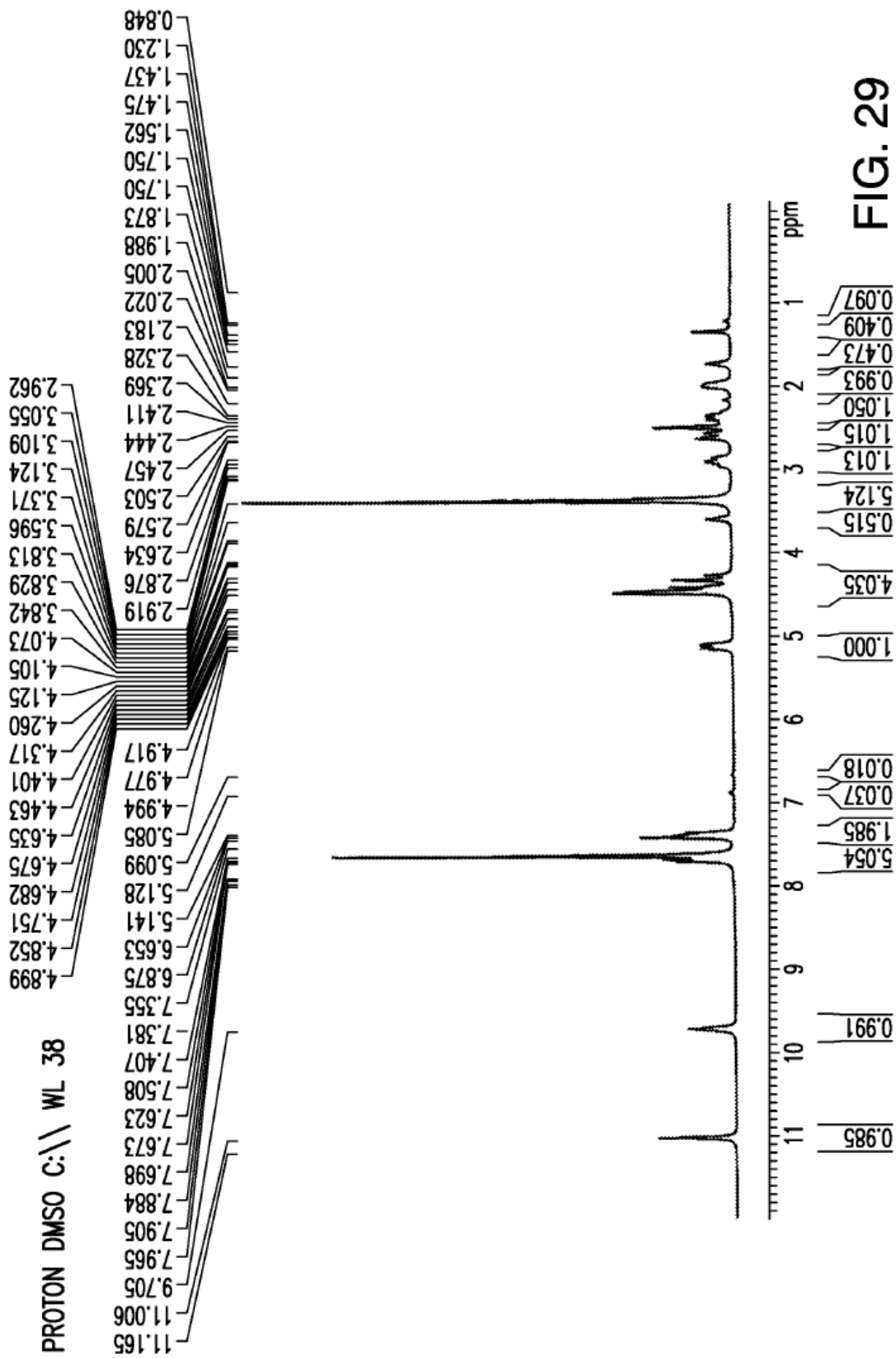


FIG. 29

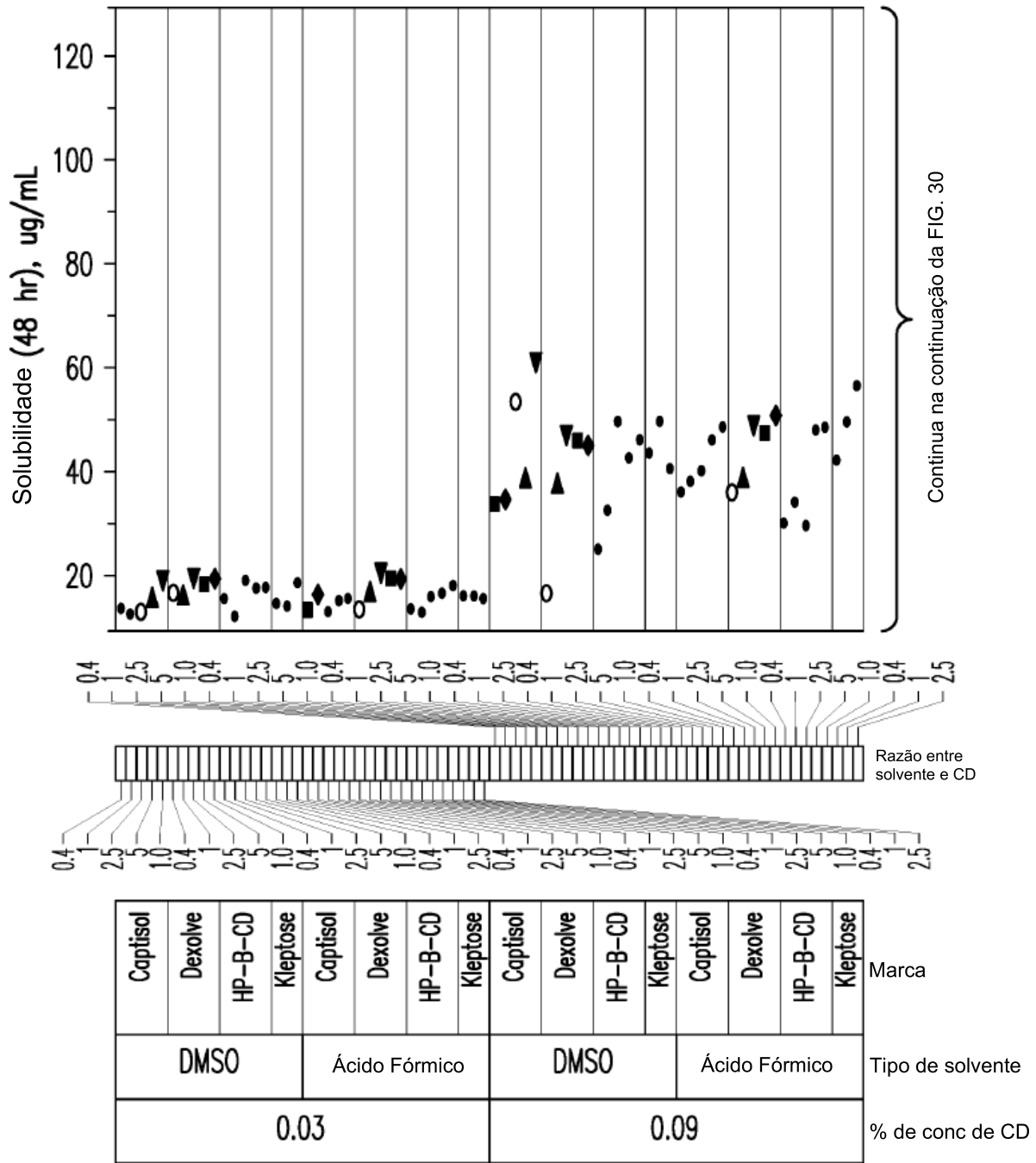
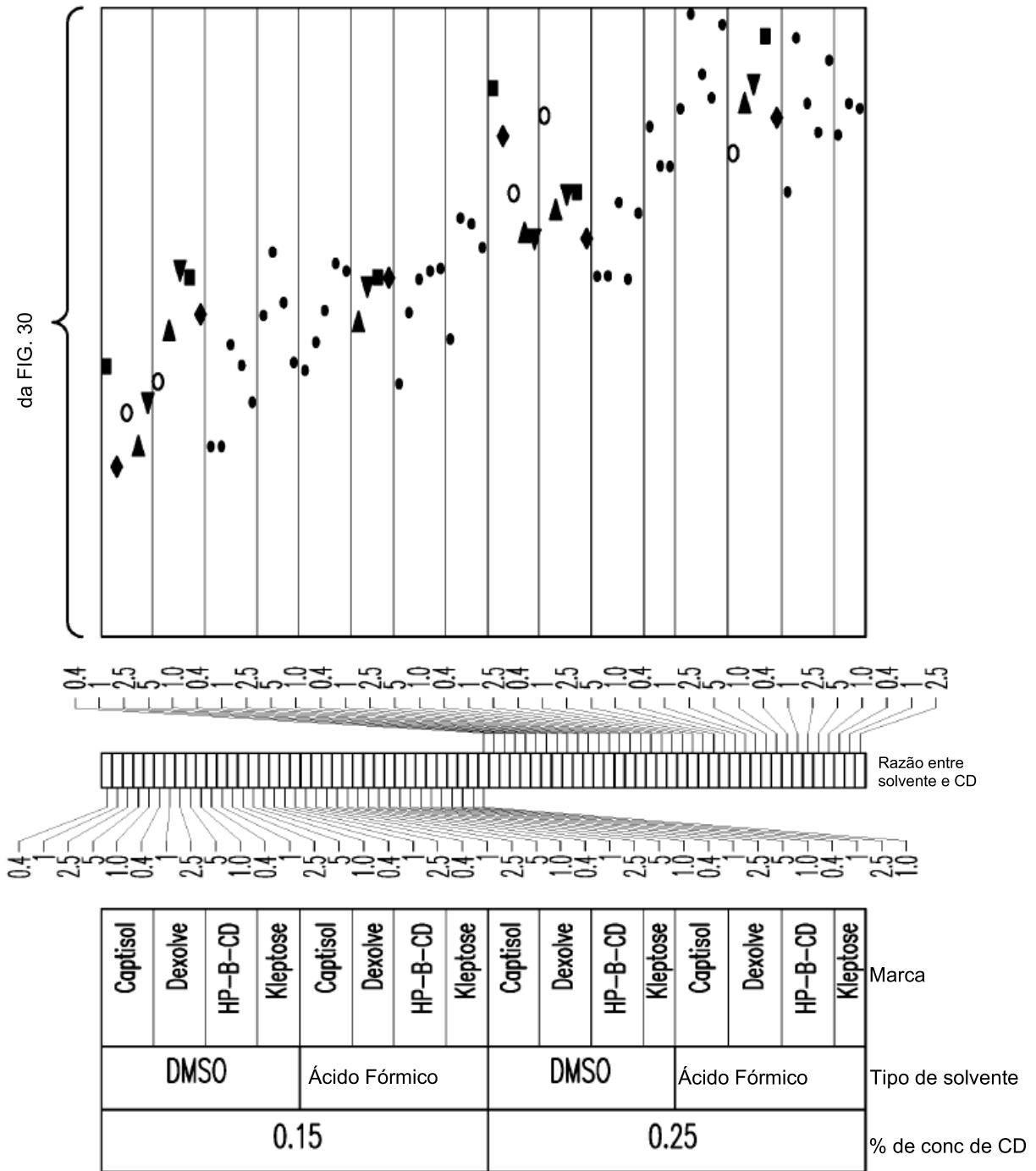


FIG. 30



Continuação da FIG. 30

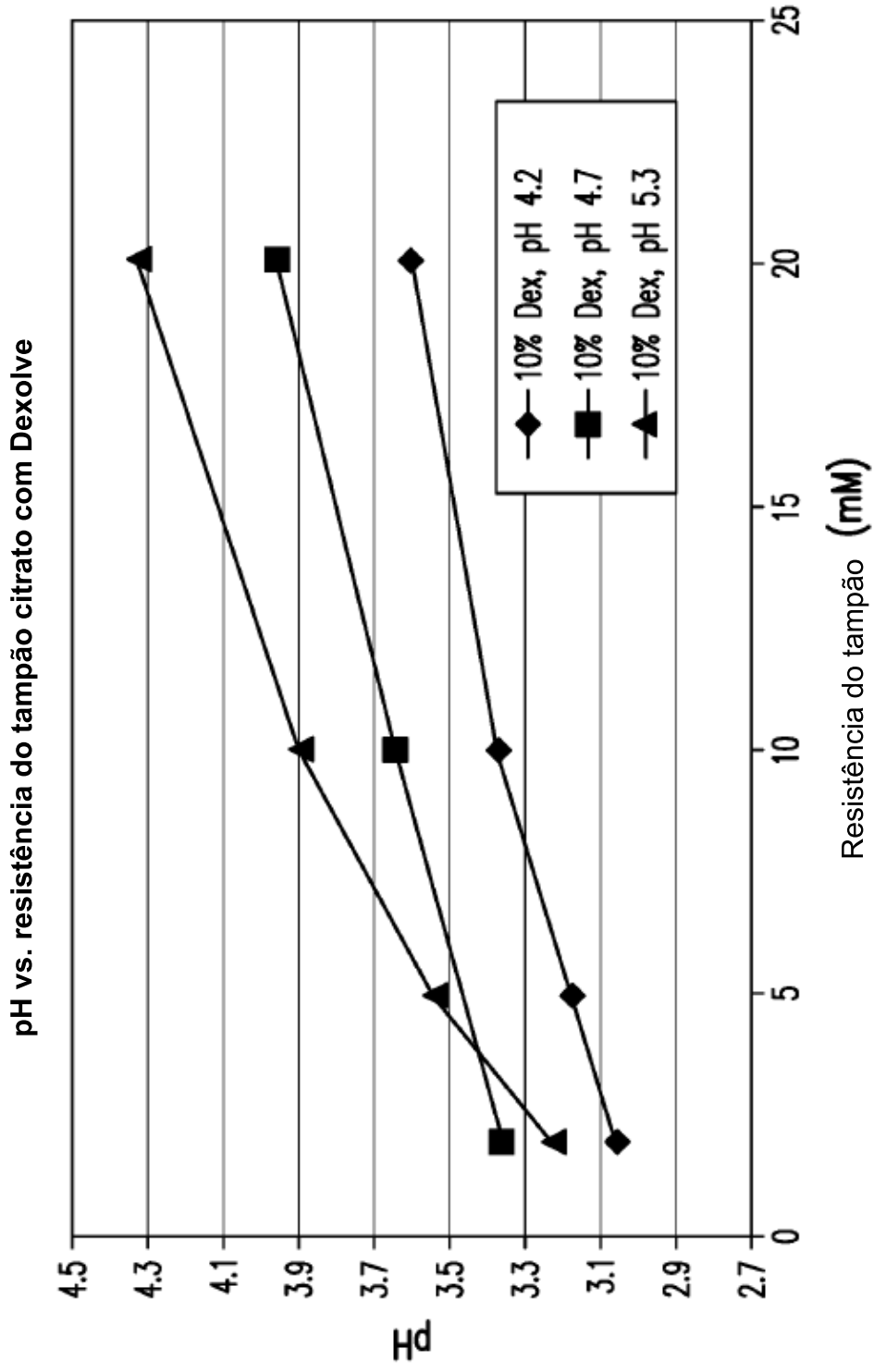


FIG. 31

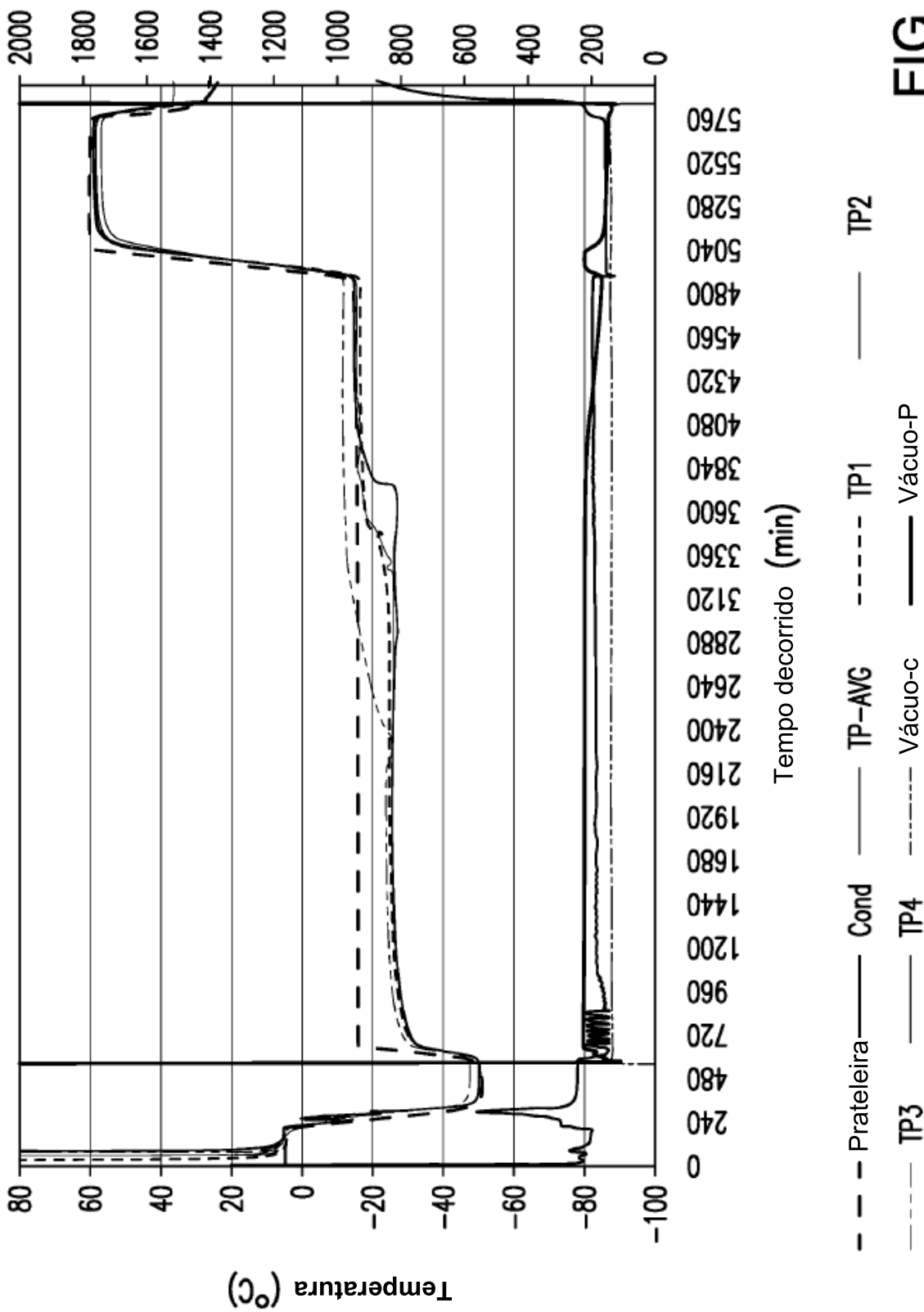
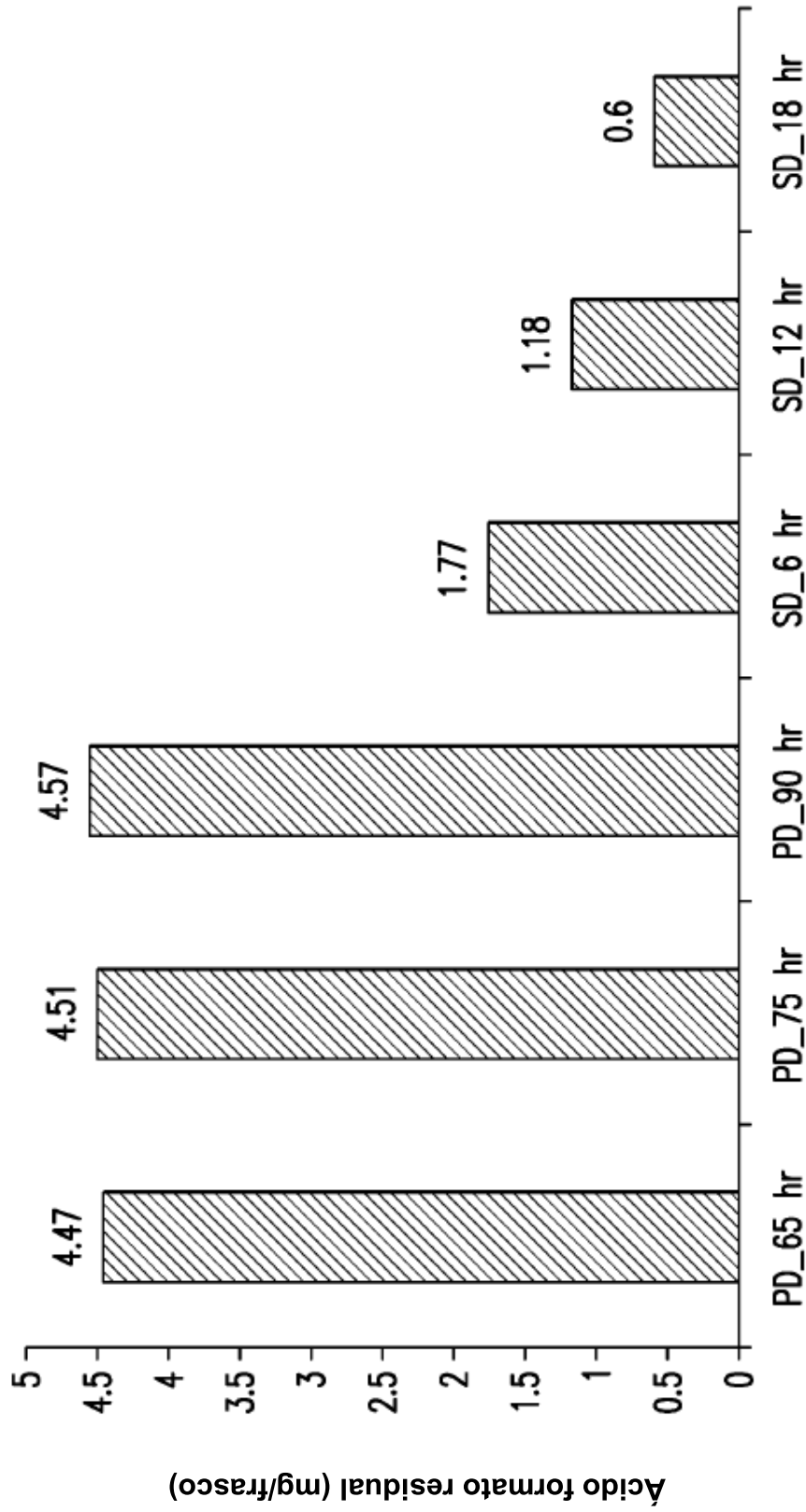


FIG. 32



Tempo de ciclo de Lyo

FIG. 33

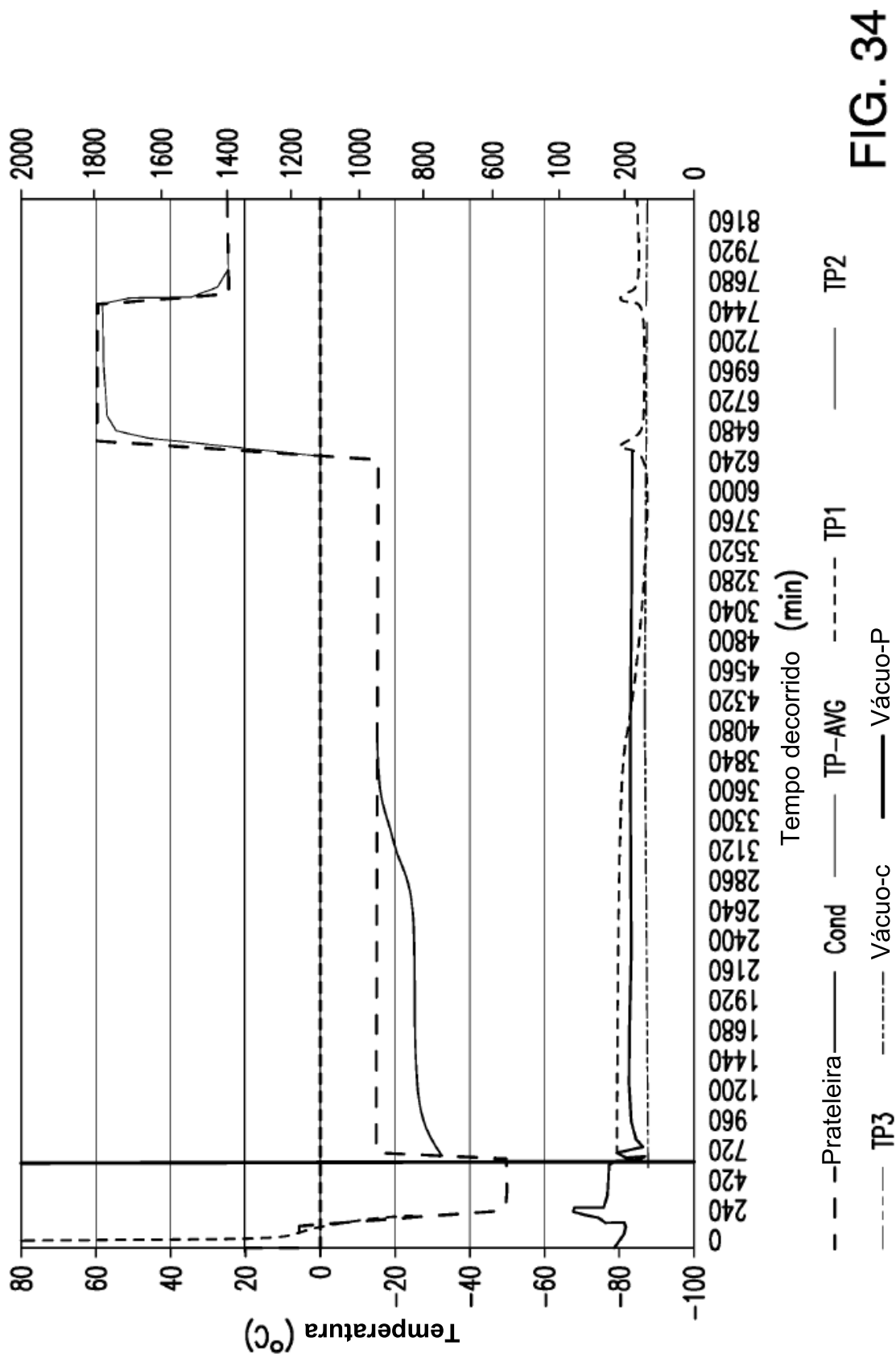


FIG. 34

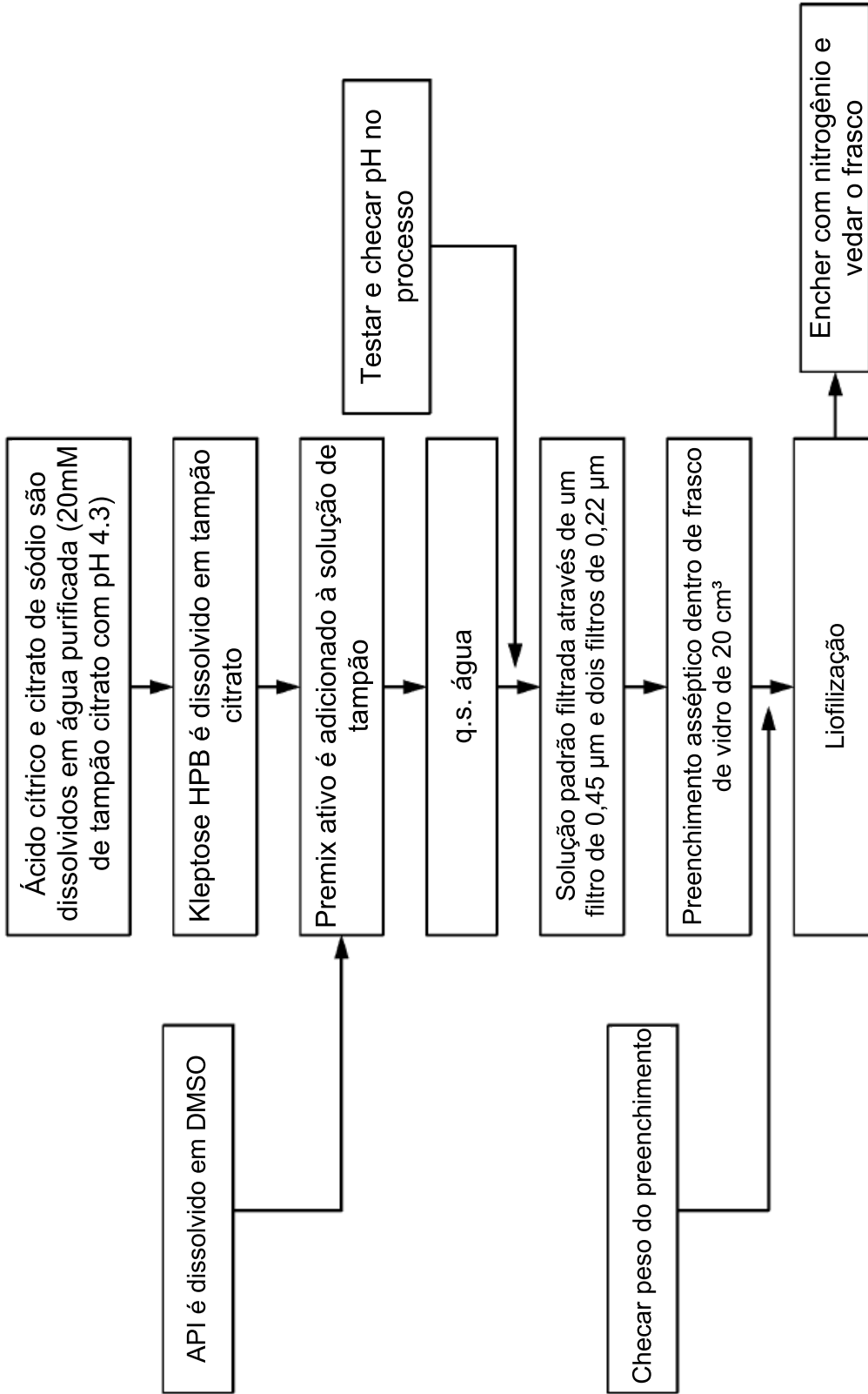


FIG. 35

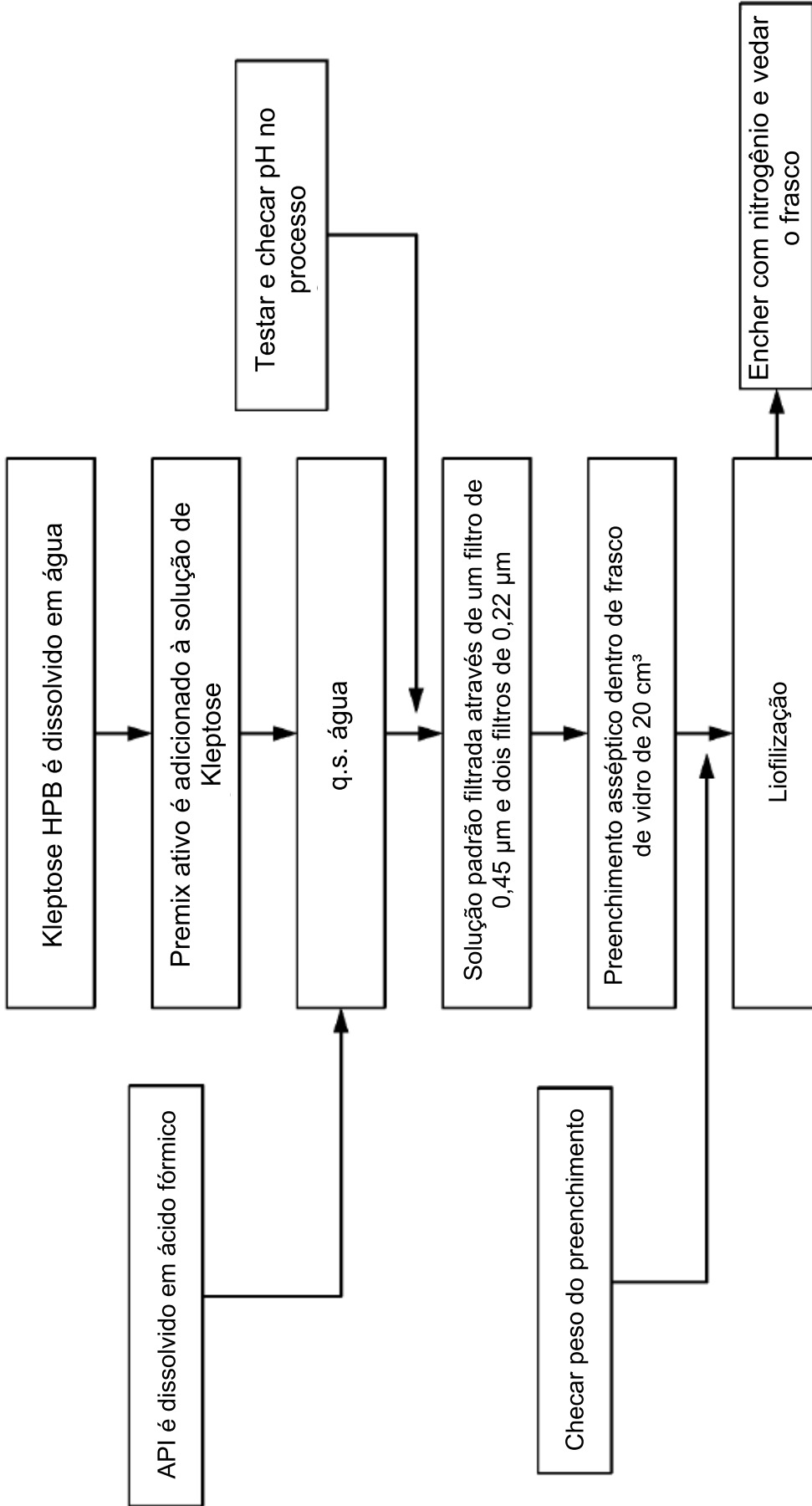


FIG. 36

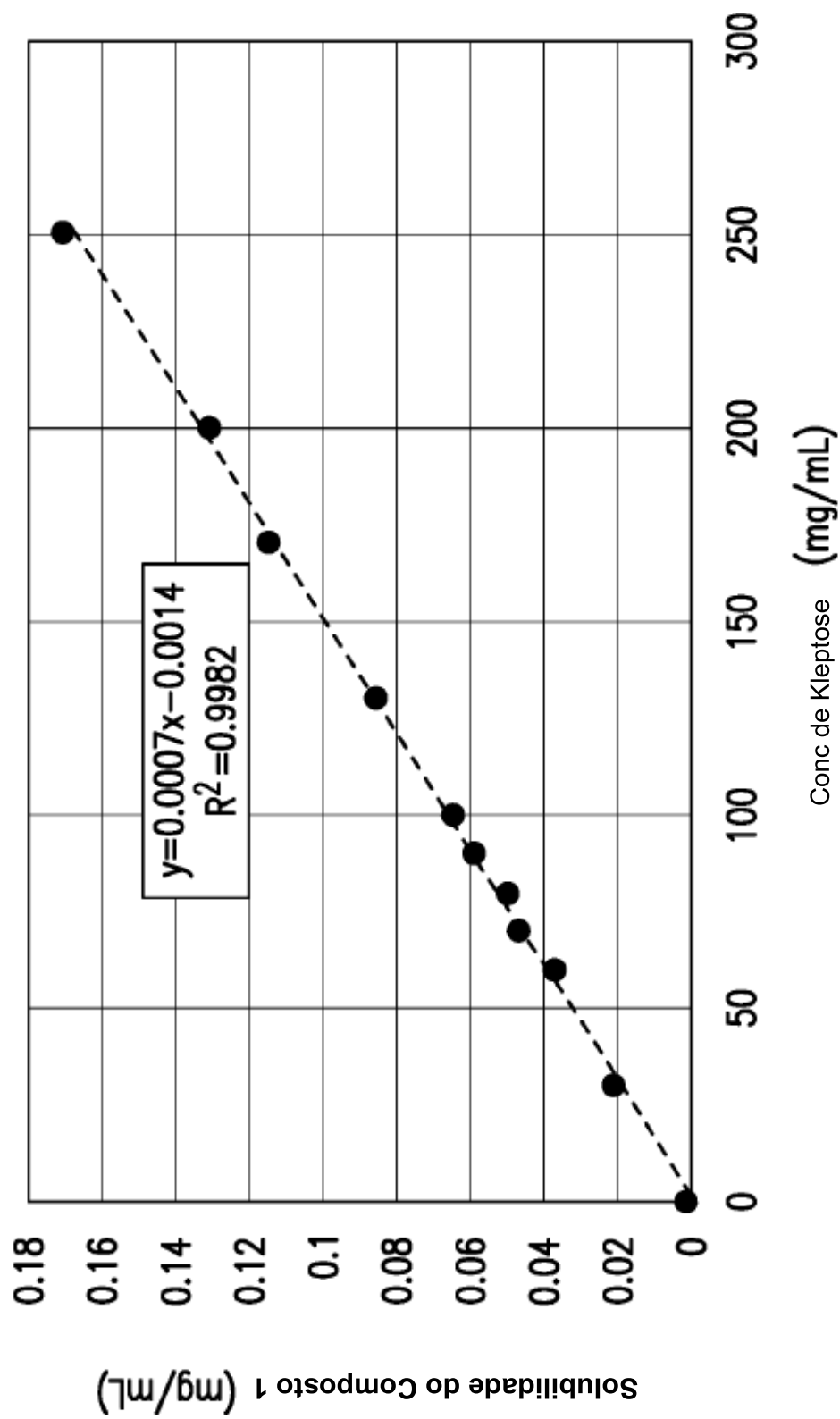


FIG. 37

Temperatura ambiente, mistura contínua, com 2% em peso de sementes de API

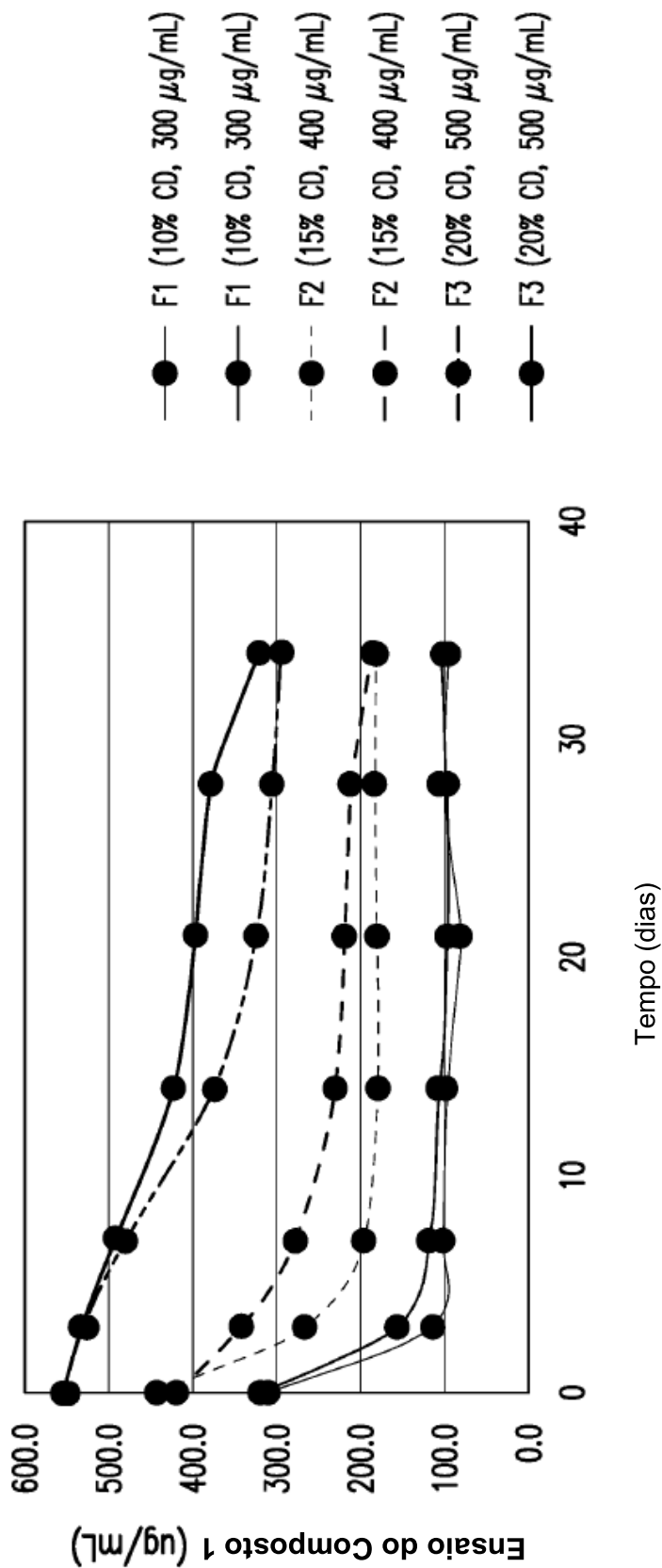


FIG. 38

2-8 °C, sem mistura, com 2% em peso de sementes de API

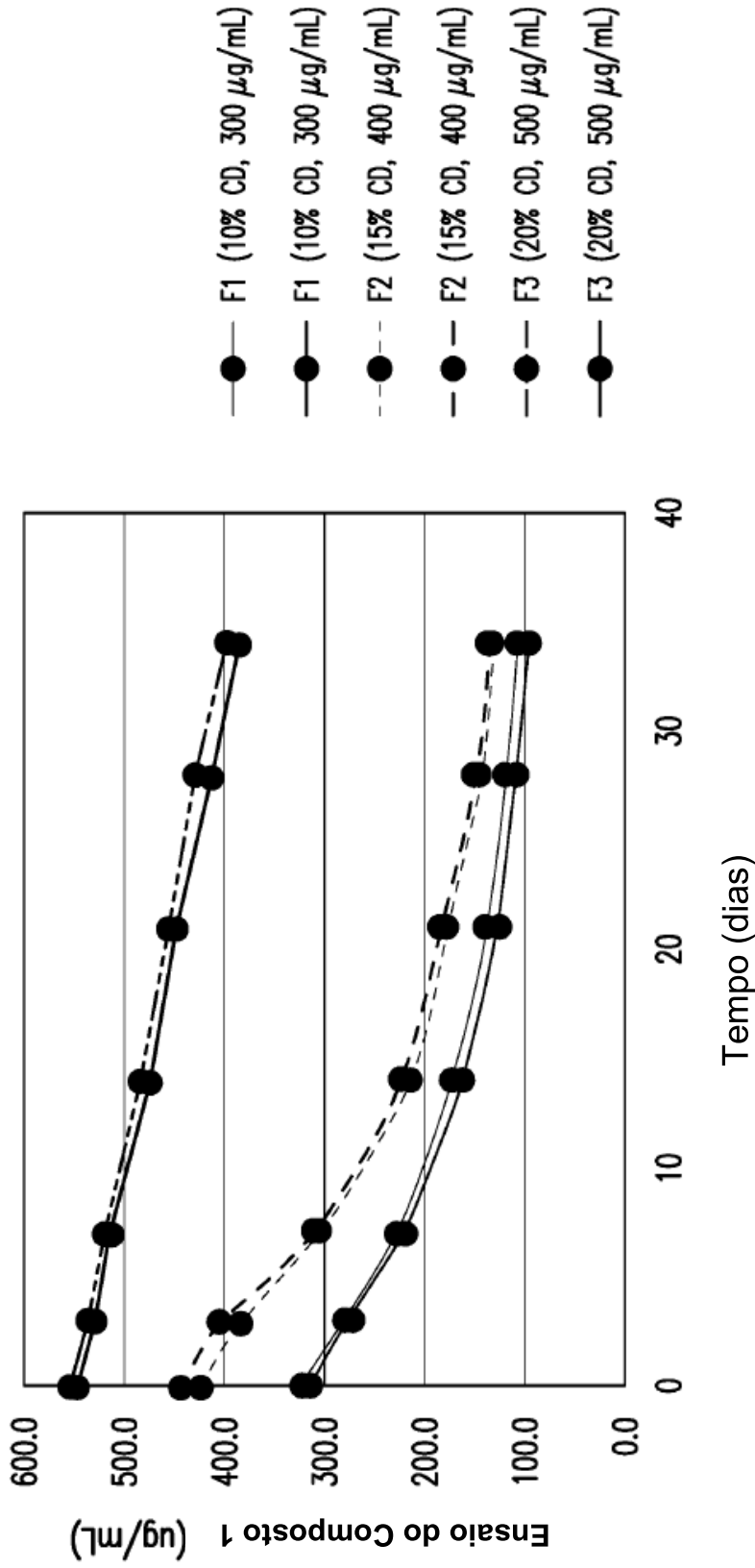


FIG. 39

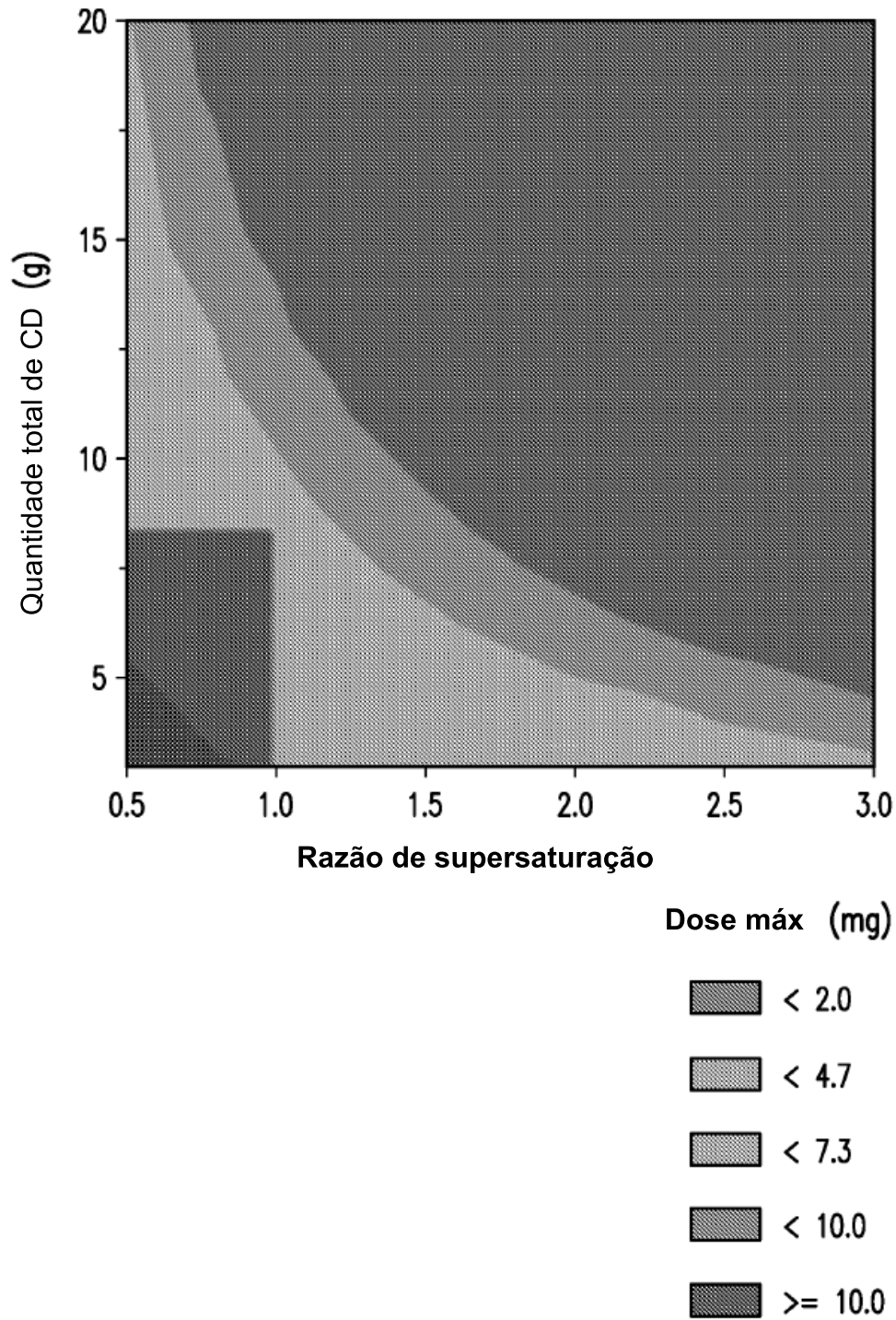


FIG. 40

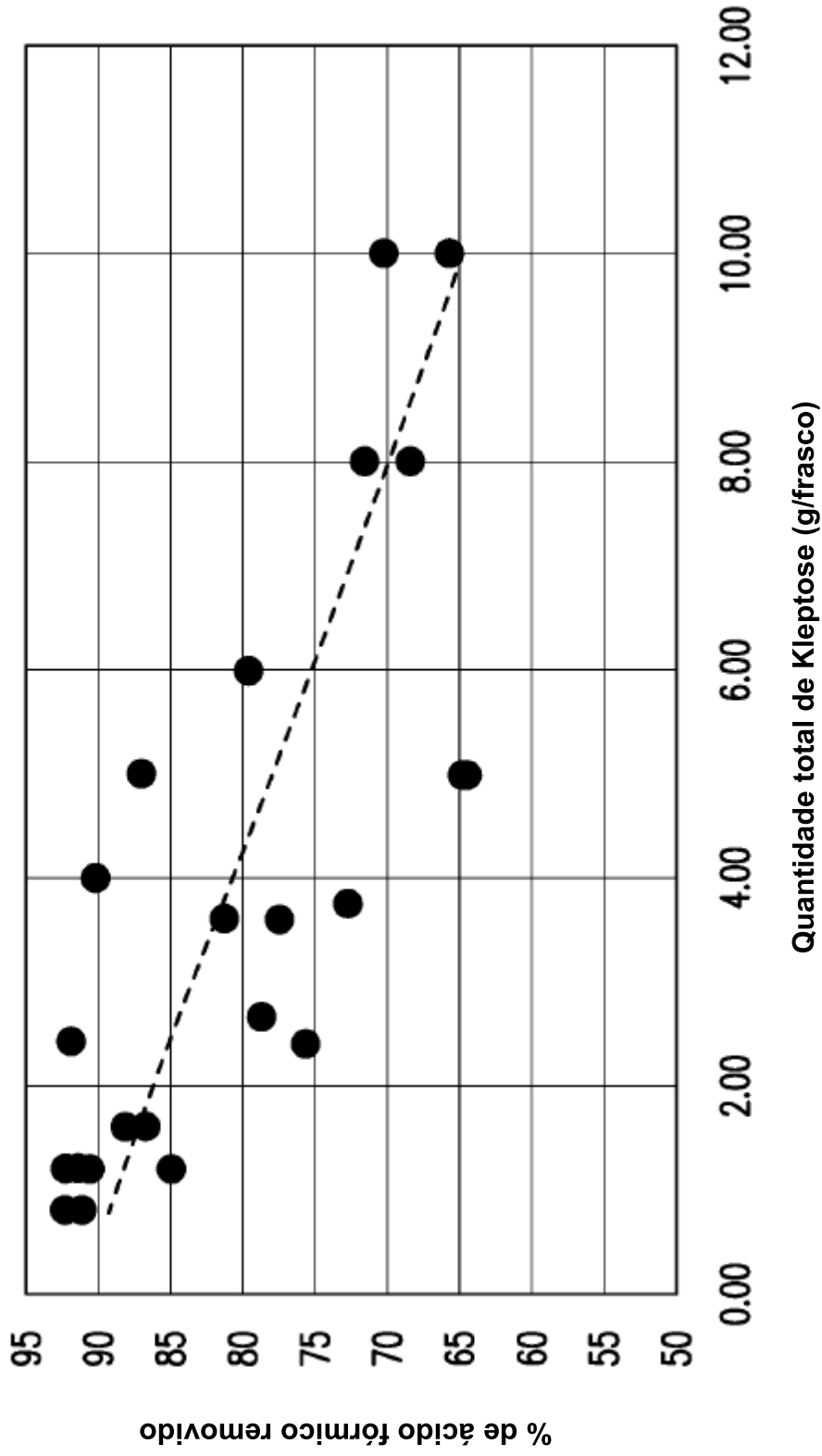


FIG. 41

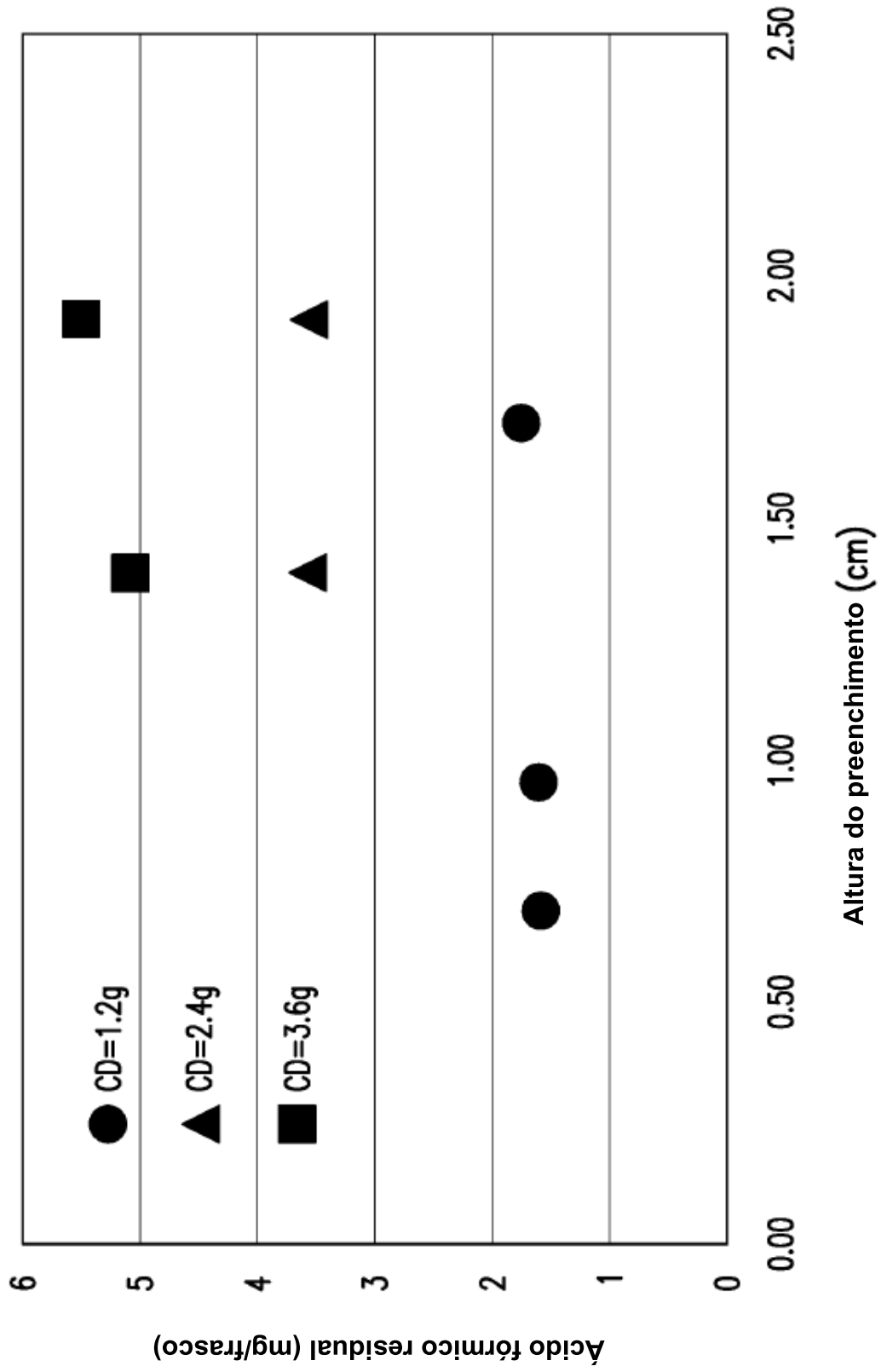


FIG. 42

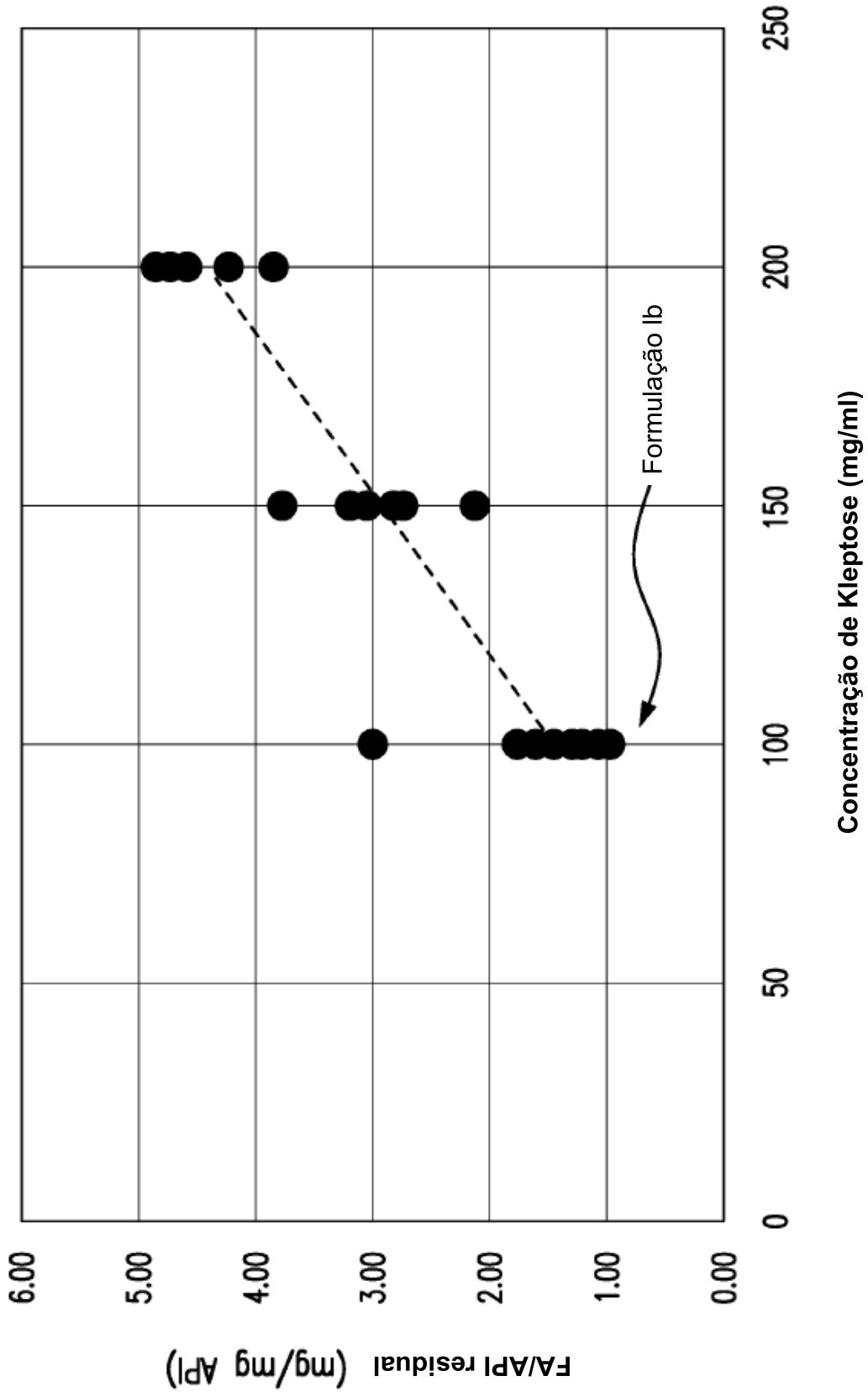


FIG. 43

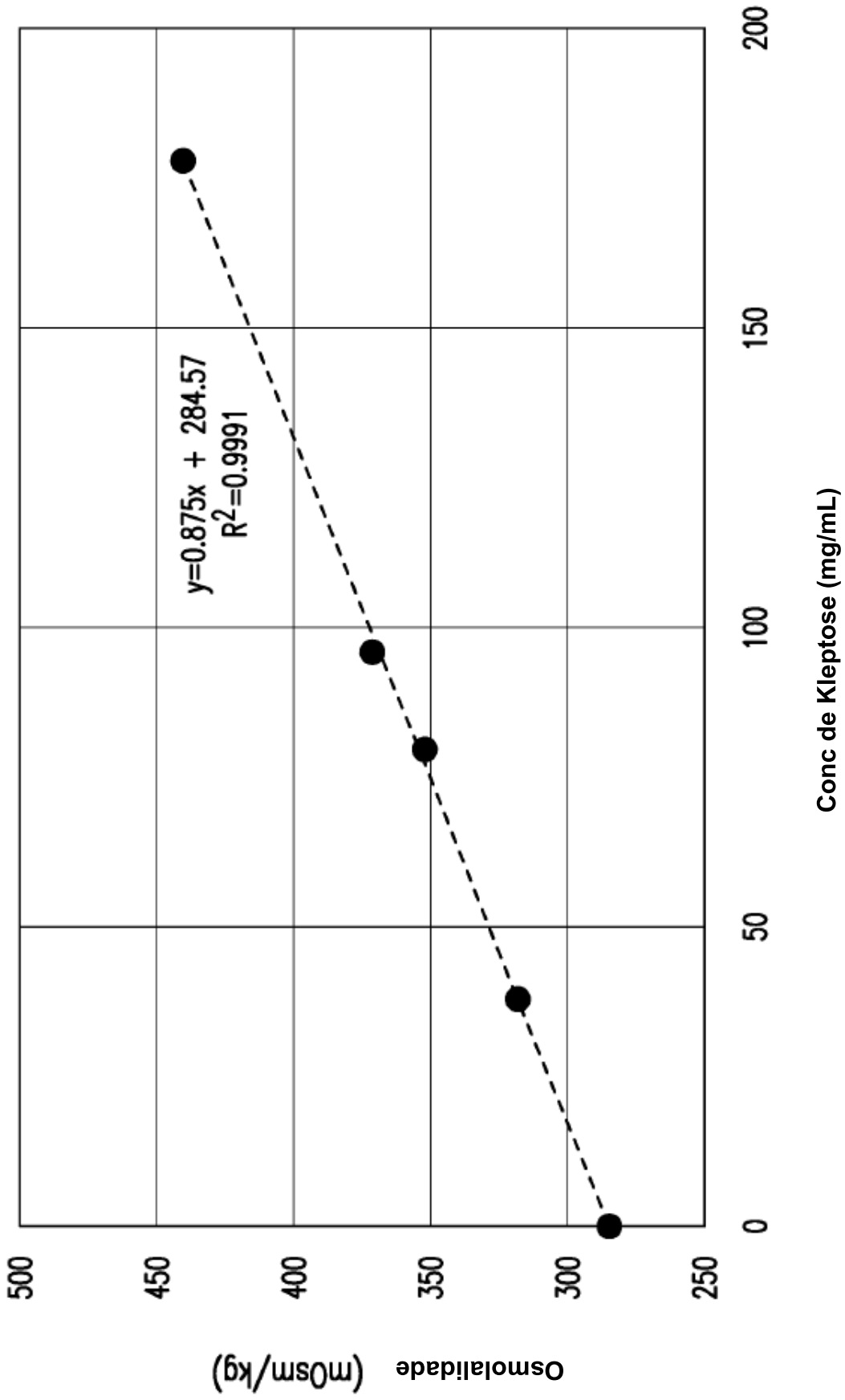


FIG. 44

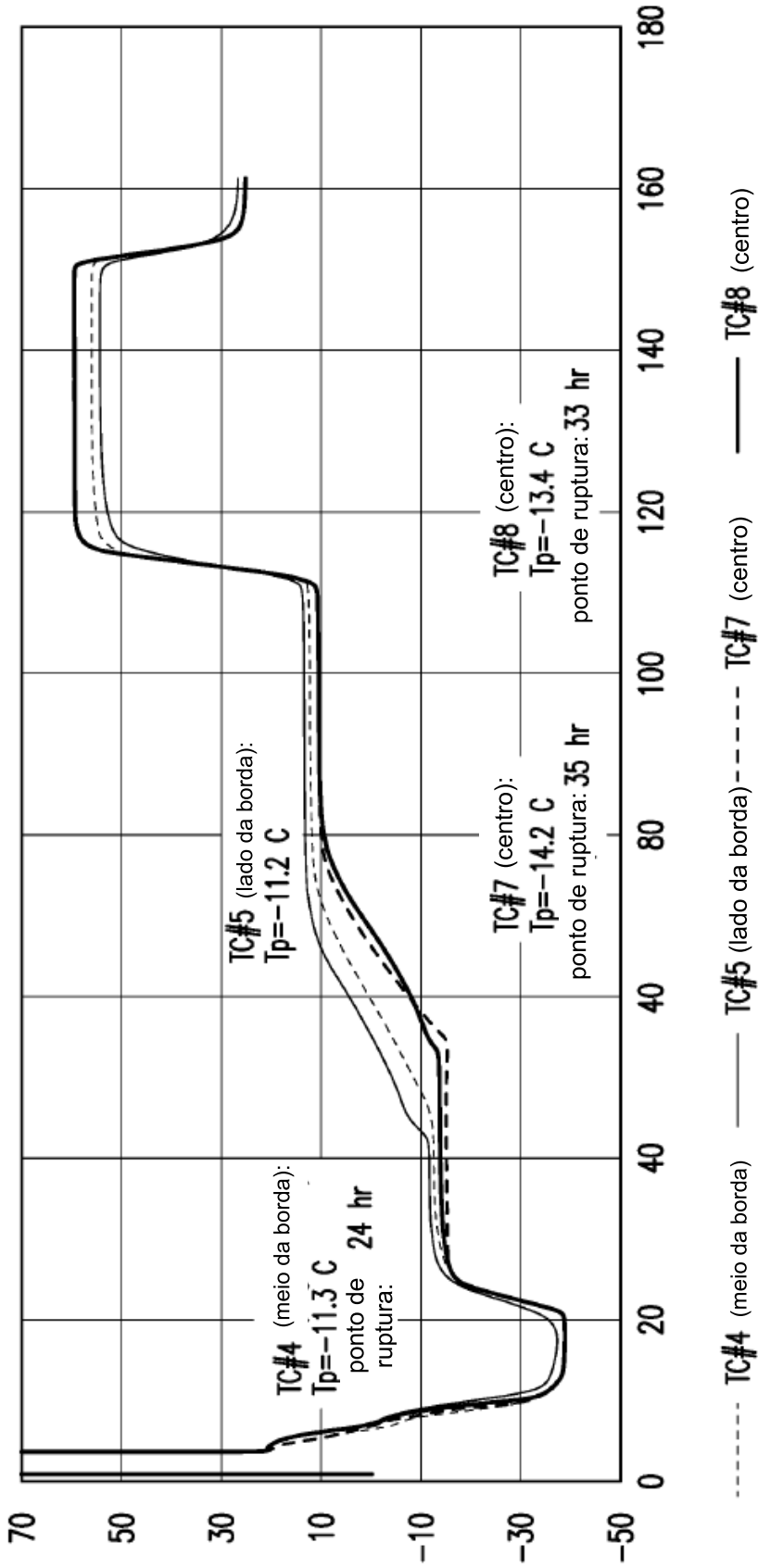


FIG. 45

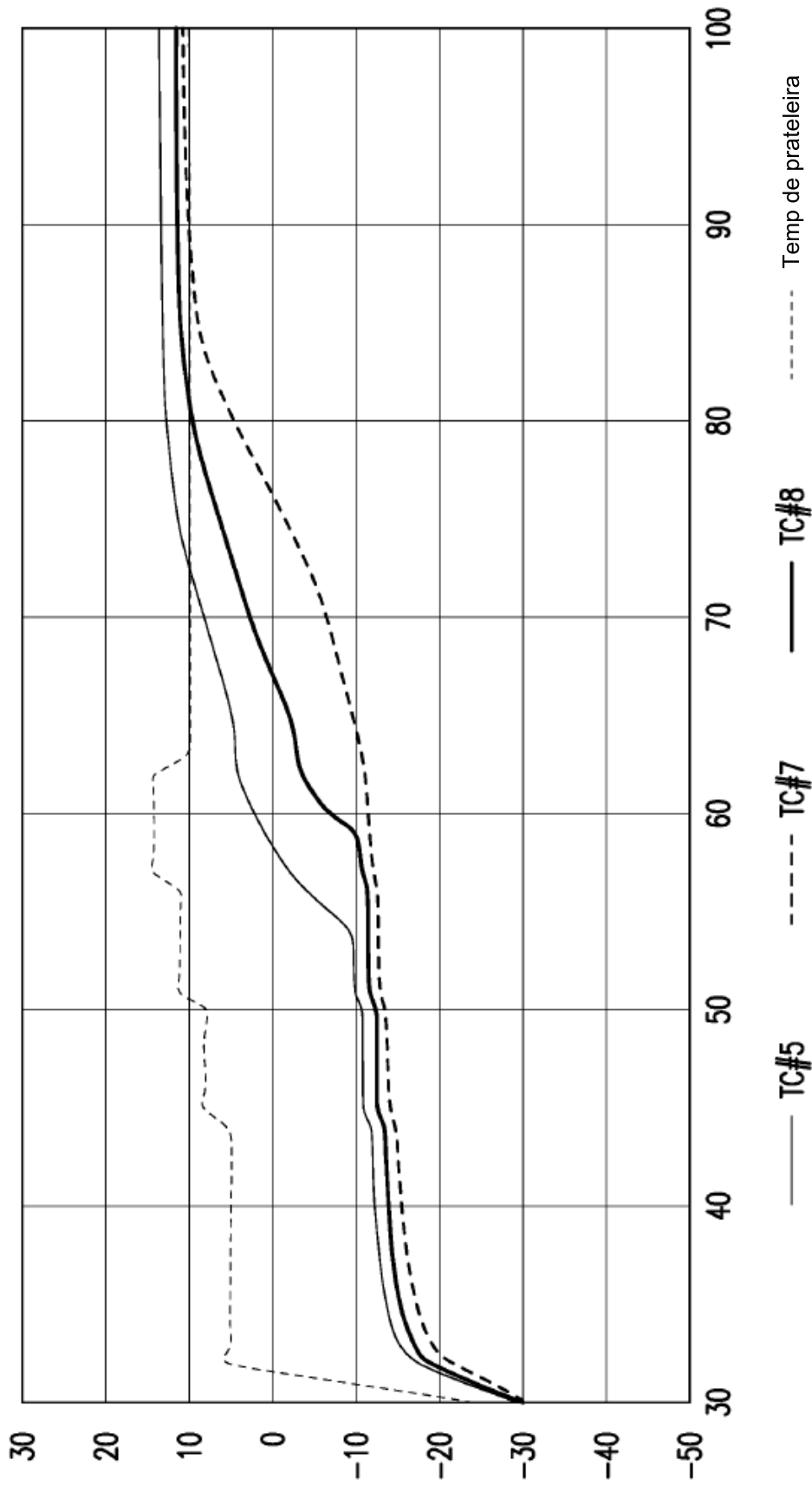


FIG. 46

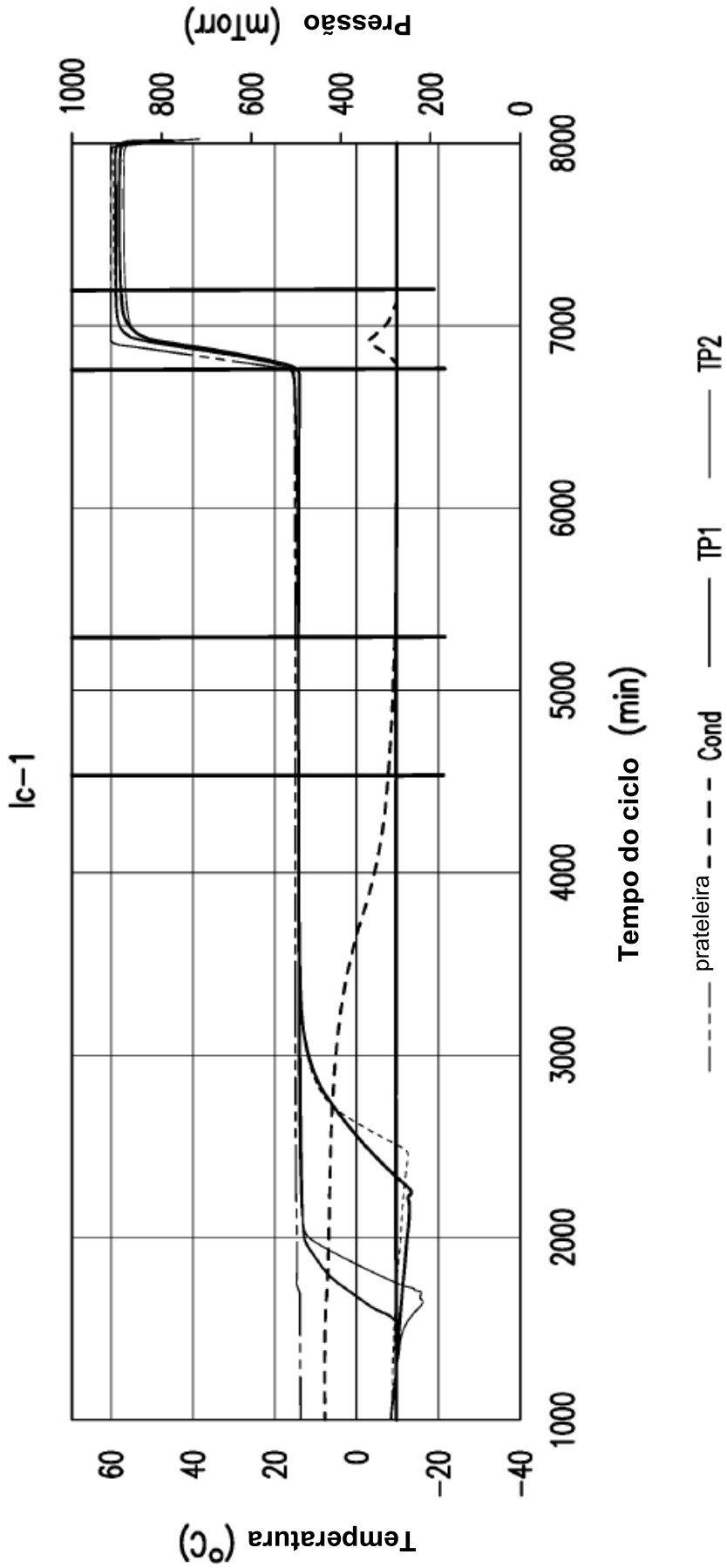


FIG. 47

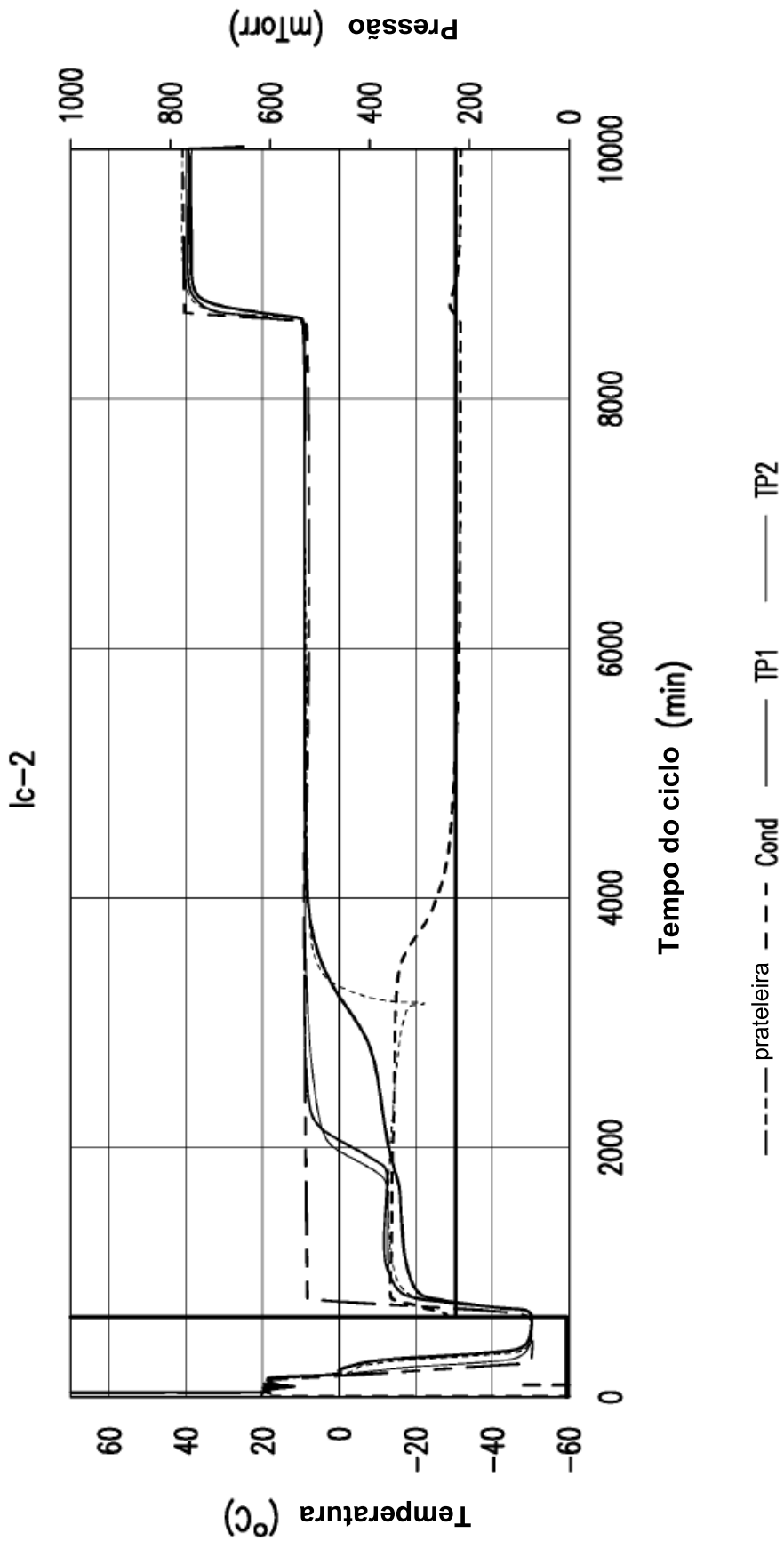


FIG. 48

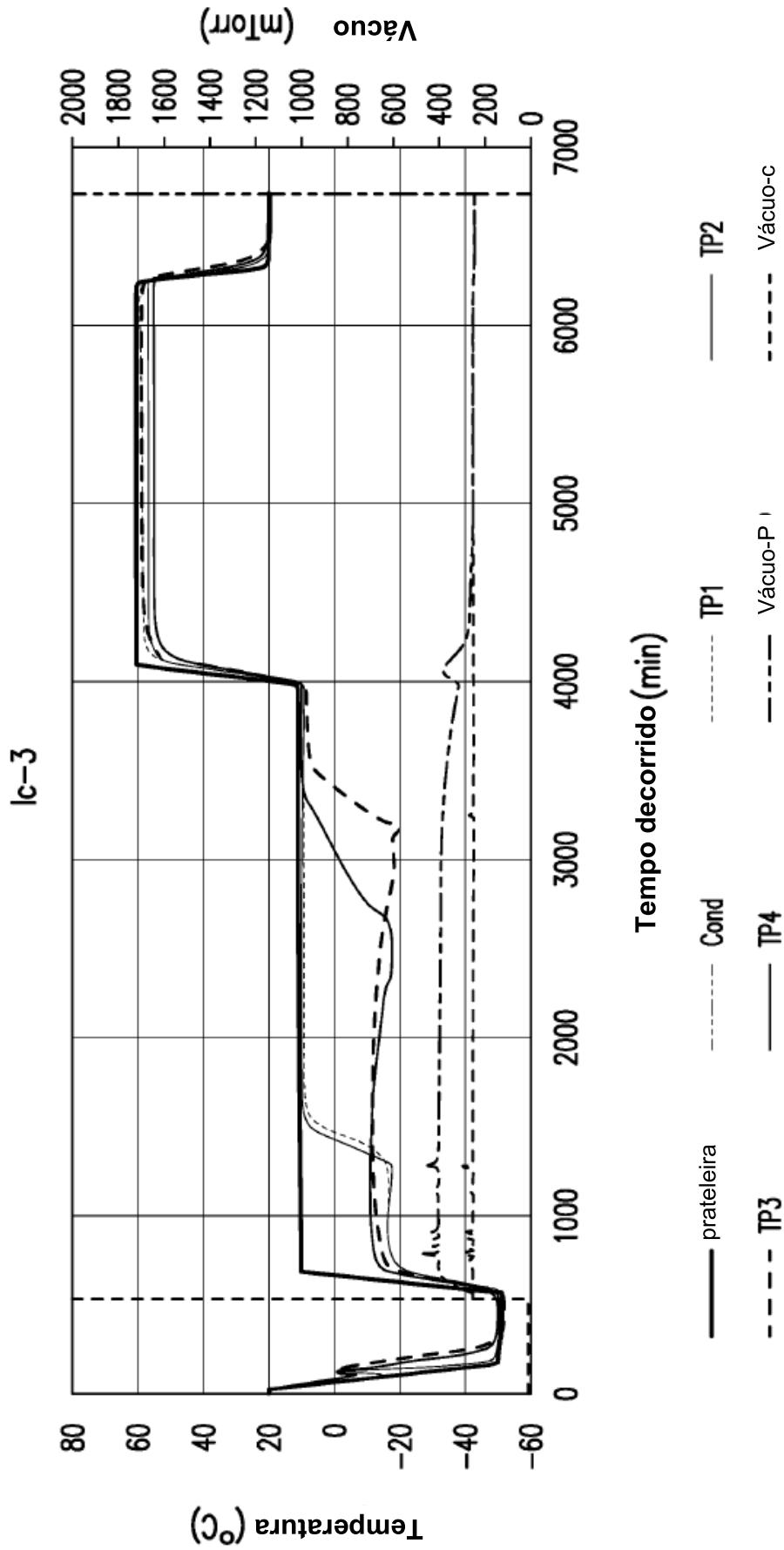


FIG. 49

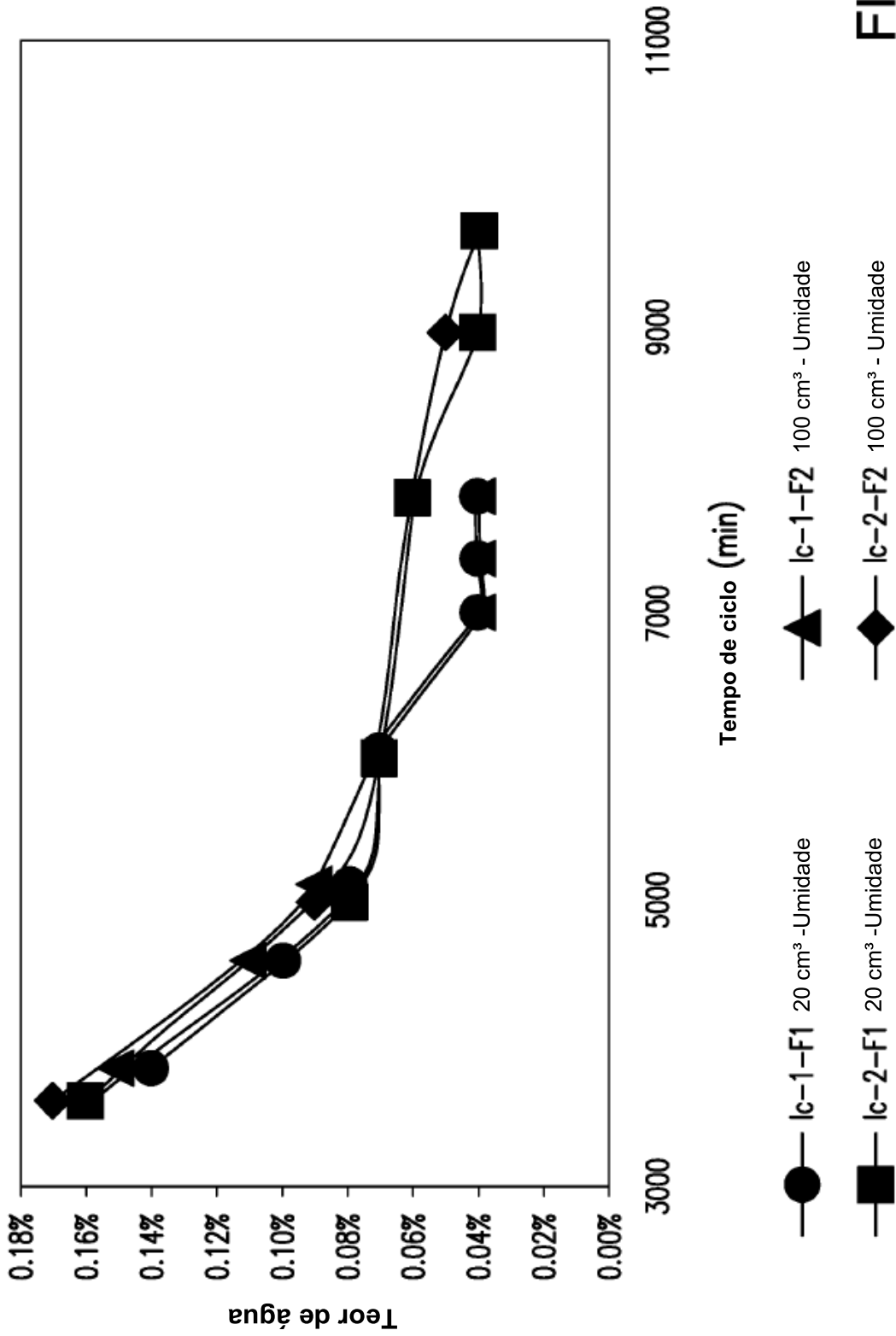


FIG. 50

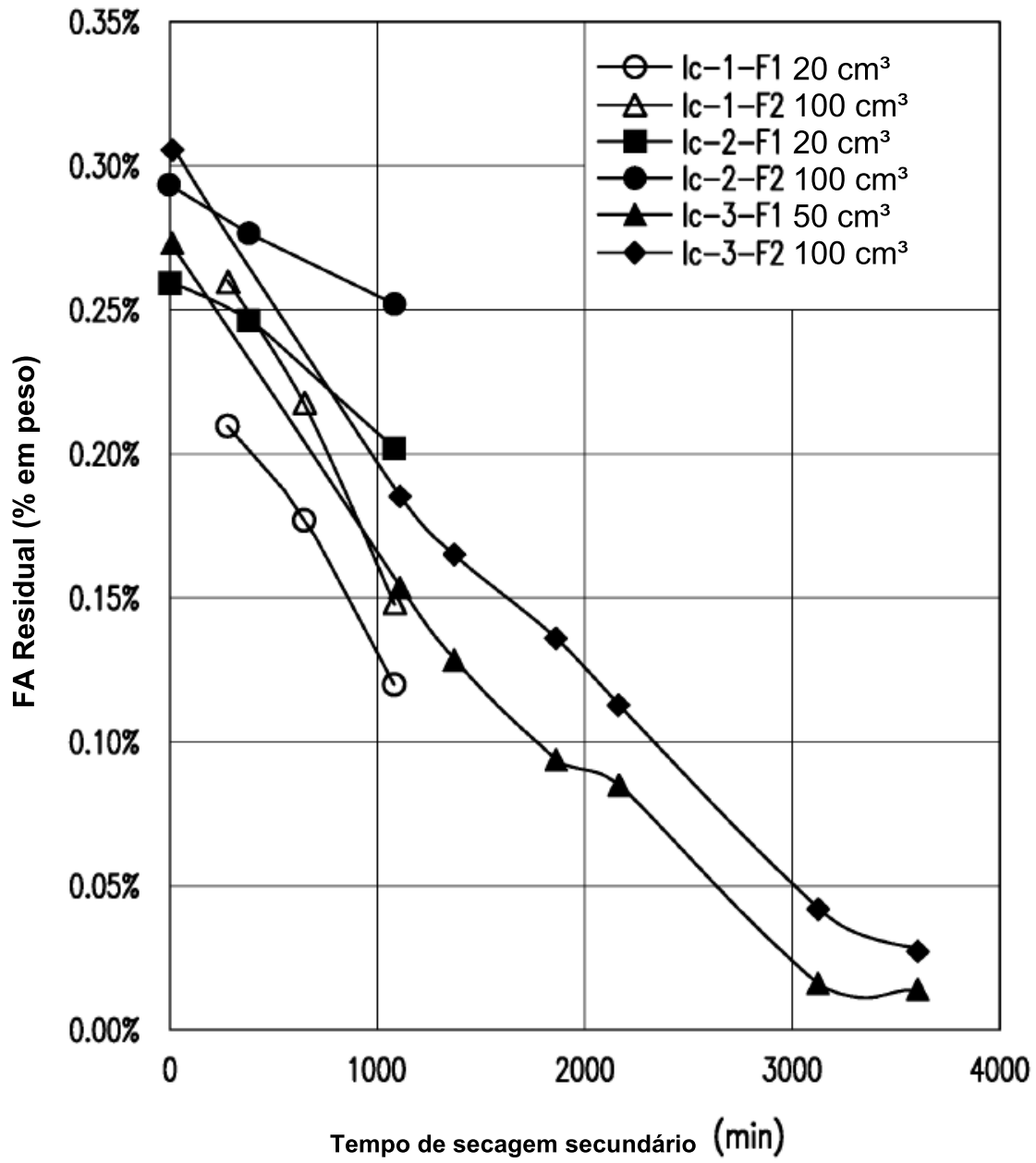


FIG. 51

Composto 1 (0,080 mg/mL) em Ácido Fórmico (0,1 °C/min em
rampa de congelamento)

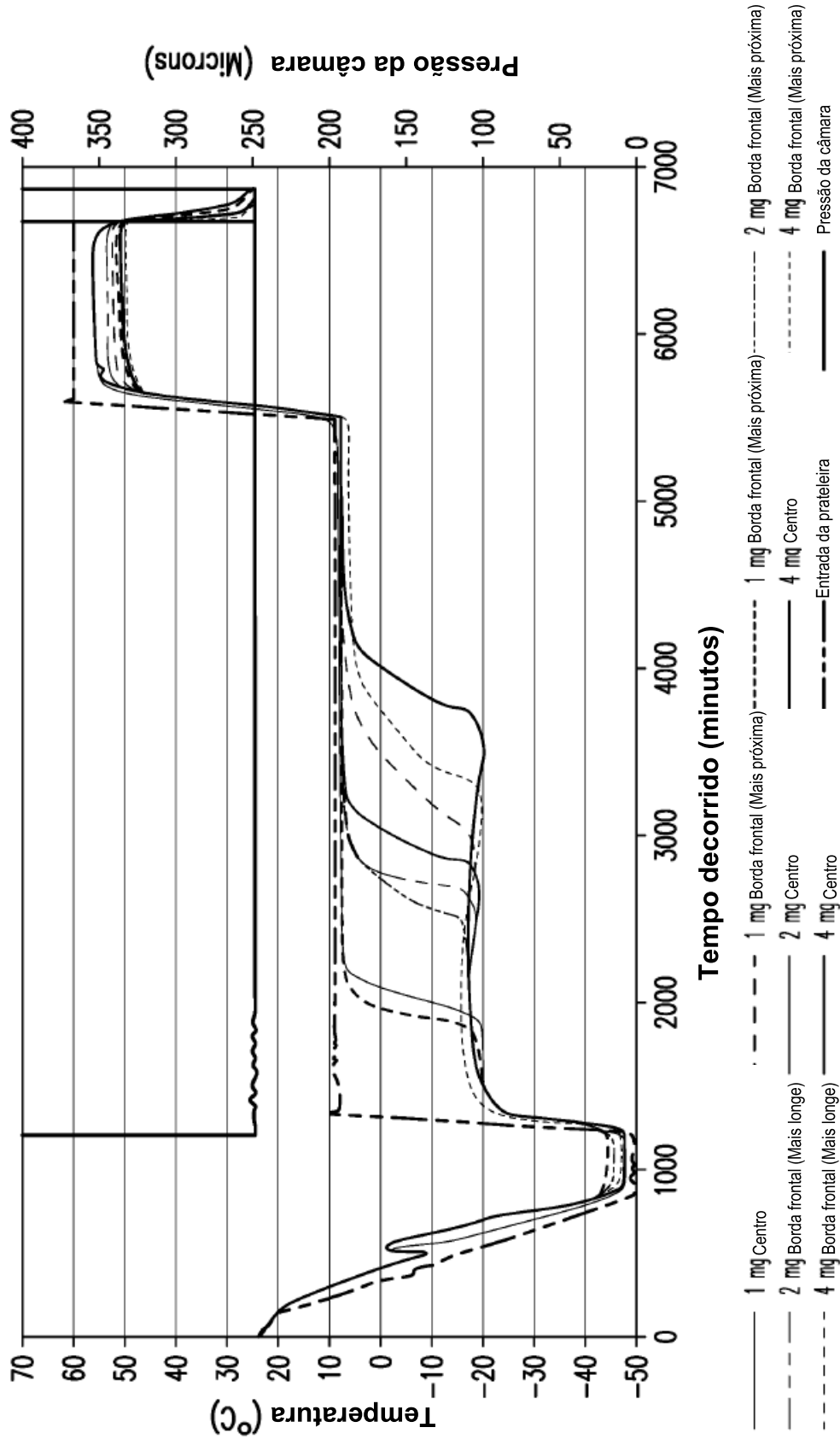


FIG. 52

Composto 1 (0,080 mg/mL) em Ácido Fórmico (0,1 °C/min em
rampa de congelamento)

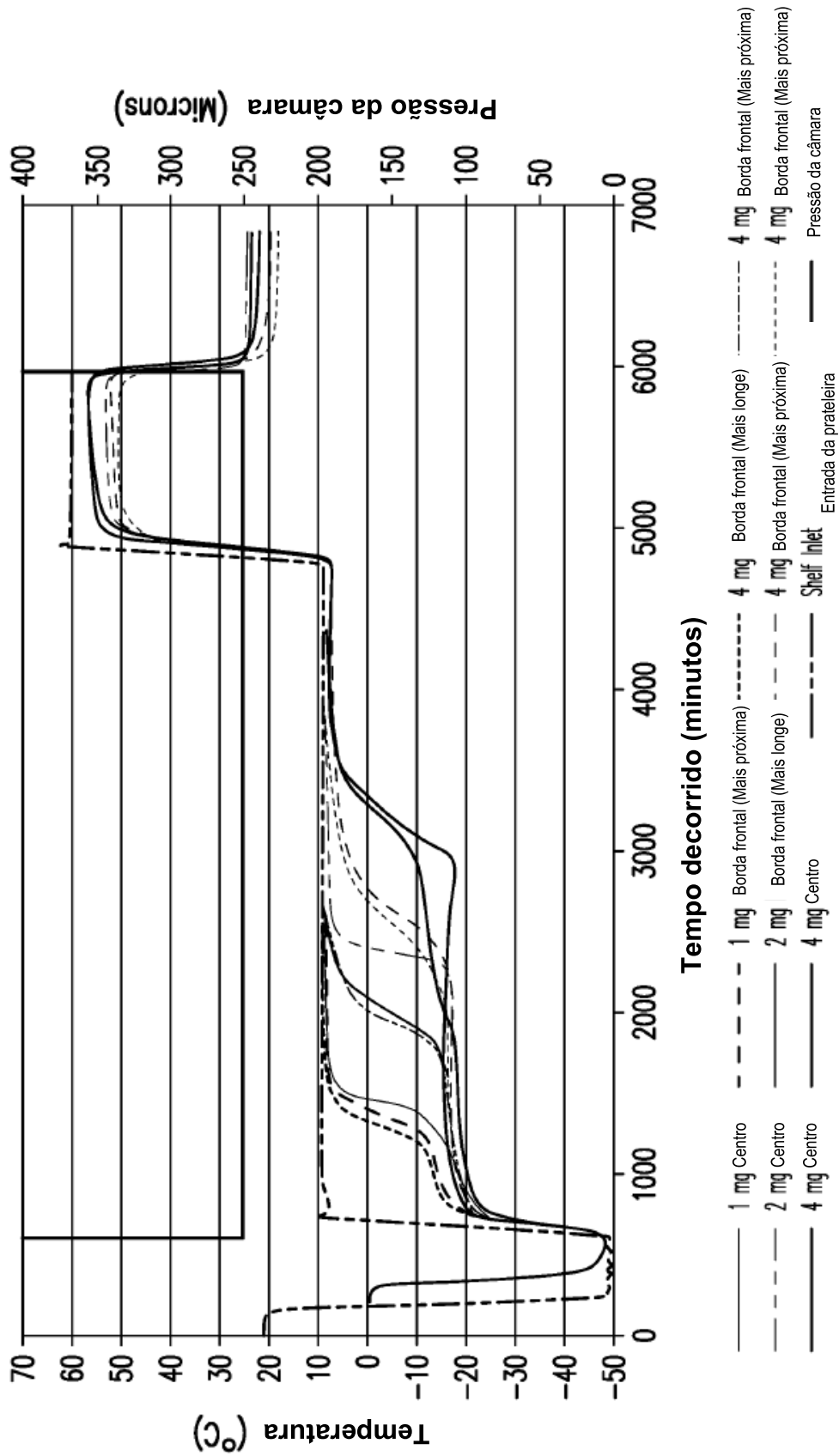


FIG. 53

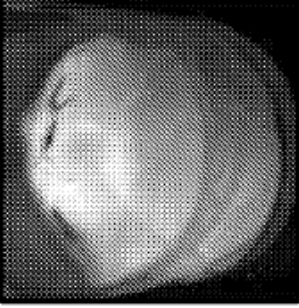
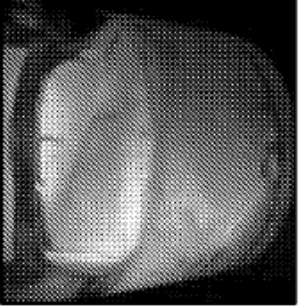
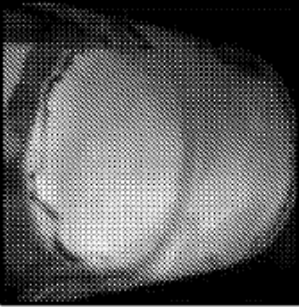
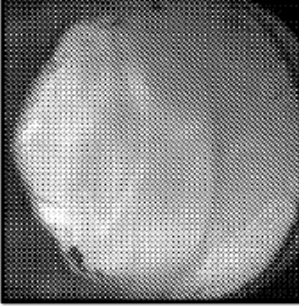
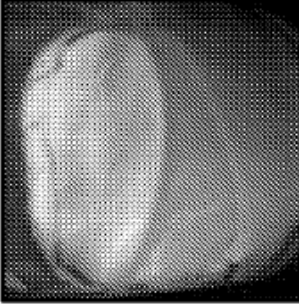
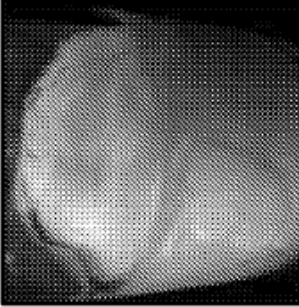
<p>Imagem (Lote C1)</p>	 <p>1 (mg/frasco)</p>	 <p>2 (mg/frasco)</p>	 <p>4 (mg/frasco)</p>
<p>Imagem (Lote C2)</p>	 <p>1 (mg/frasco)</p>	 <p>2 (mg/frasco)</p>	 <p>4 (mg/frasco)</p>

FIG. 54

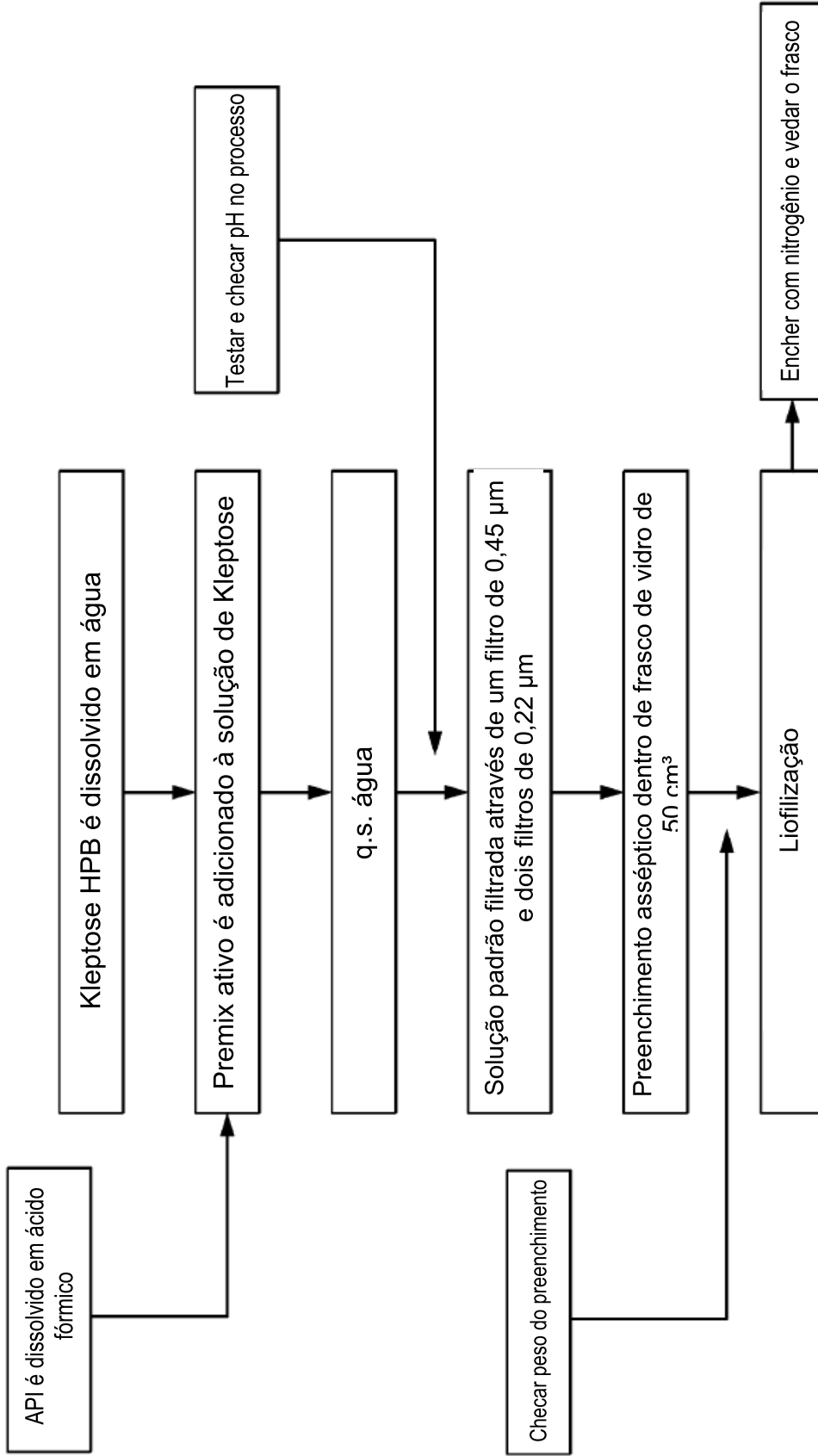


FIG. 55

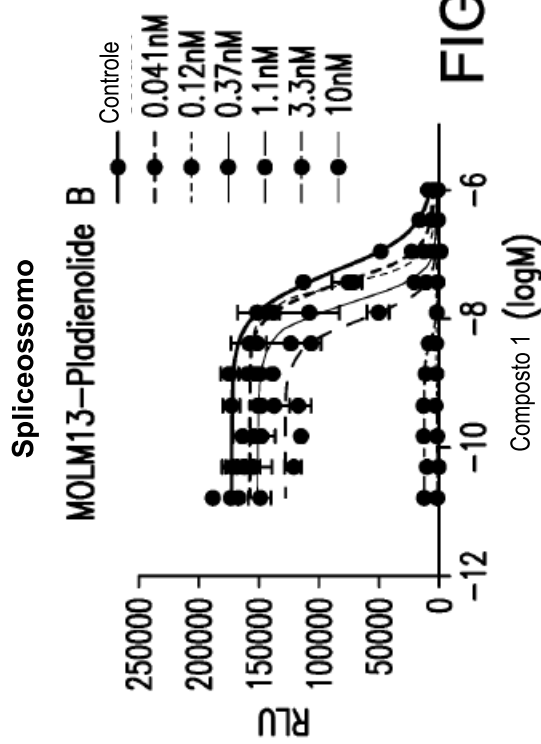
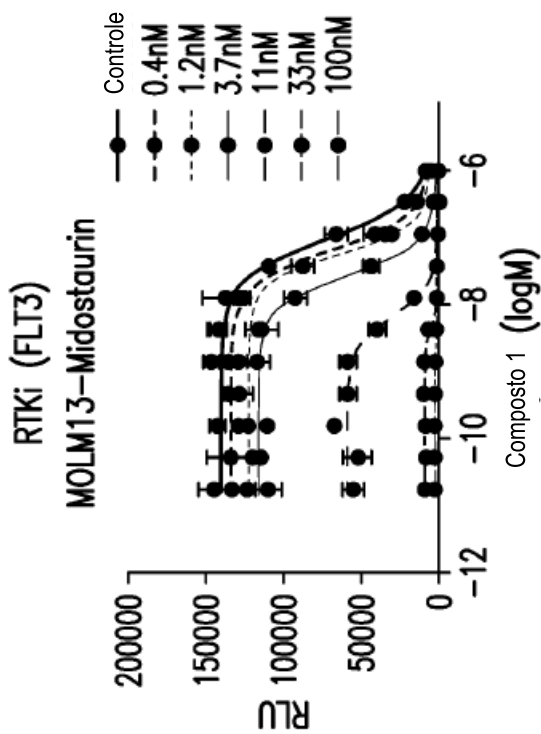
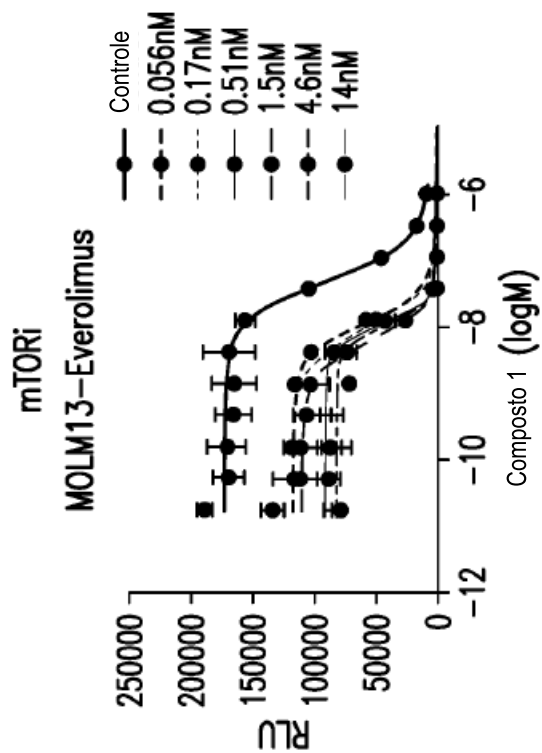
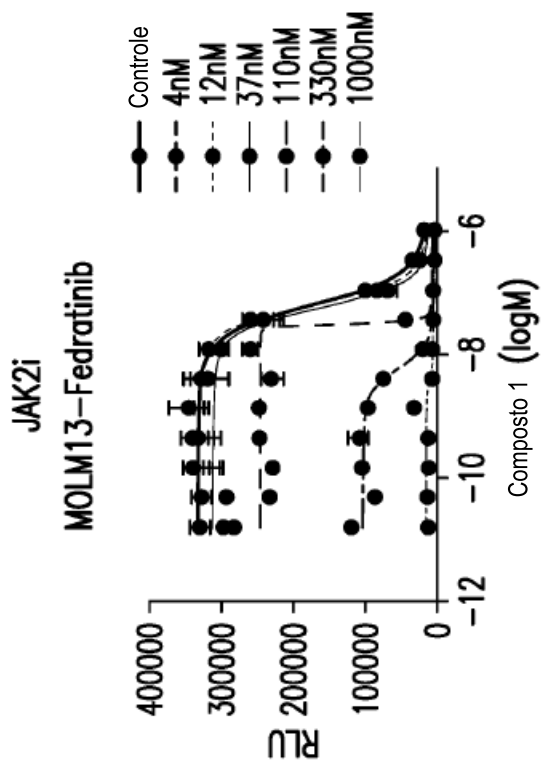


FIG. 56A

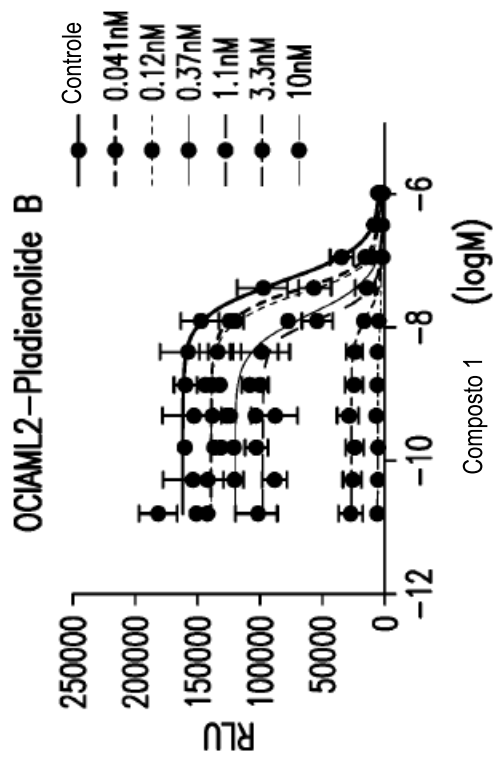
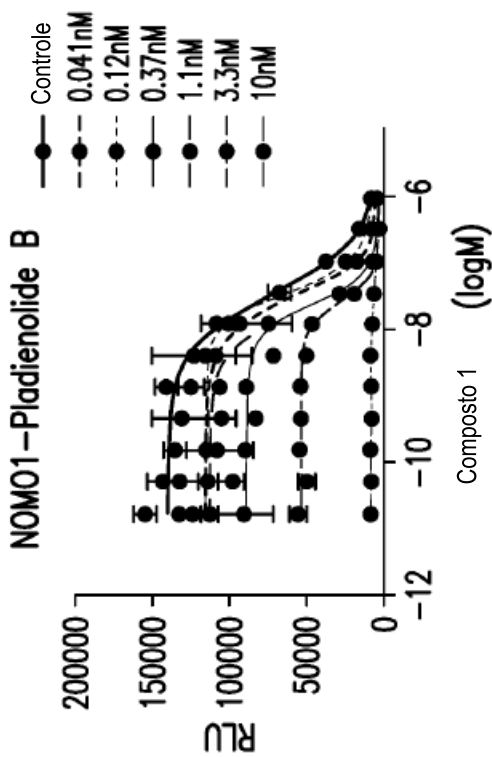
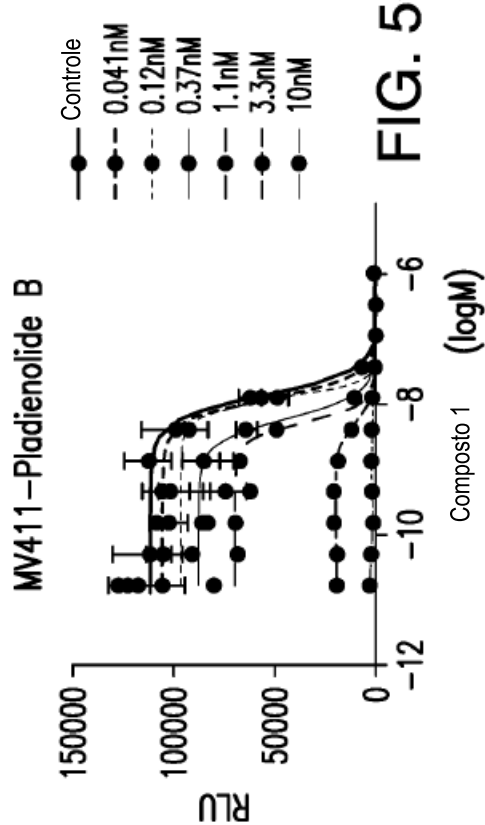
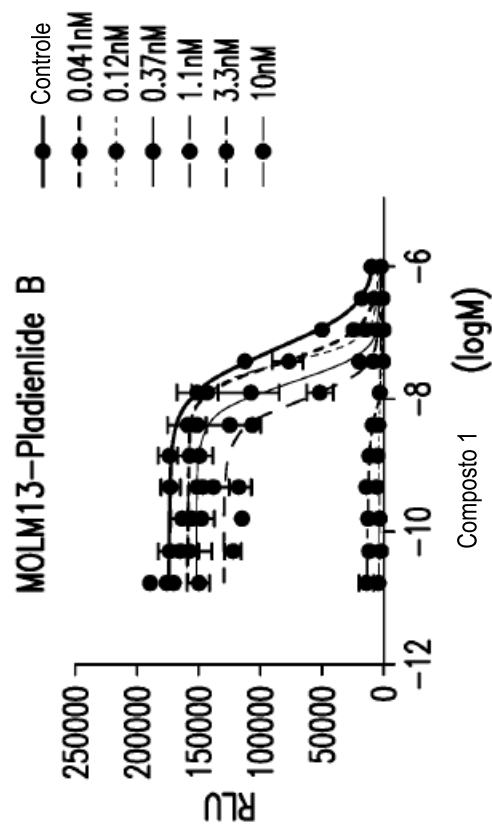


FIG. 56B

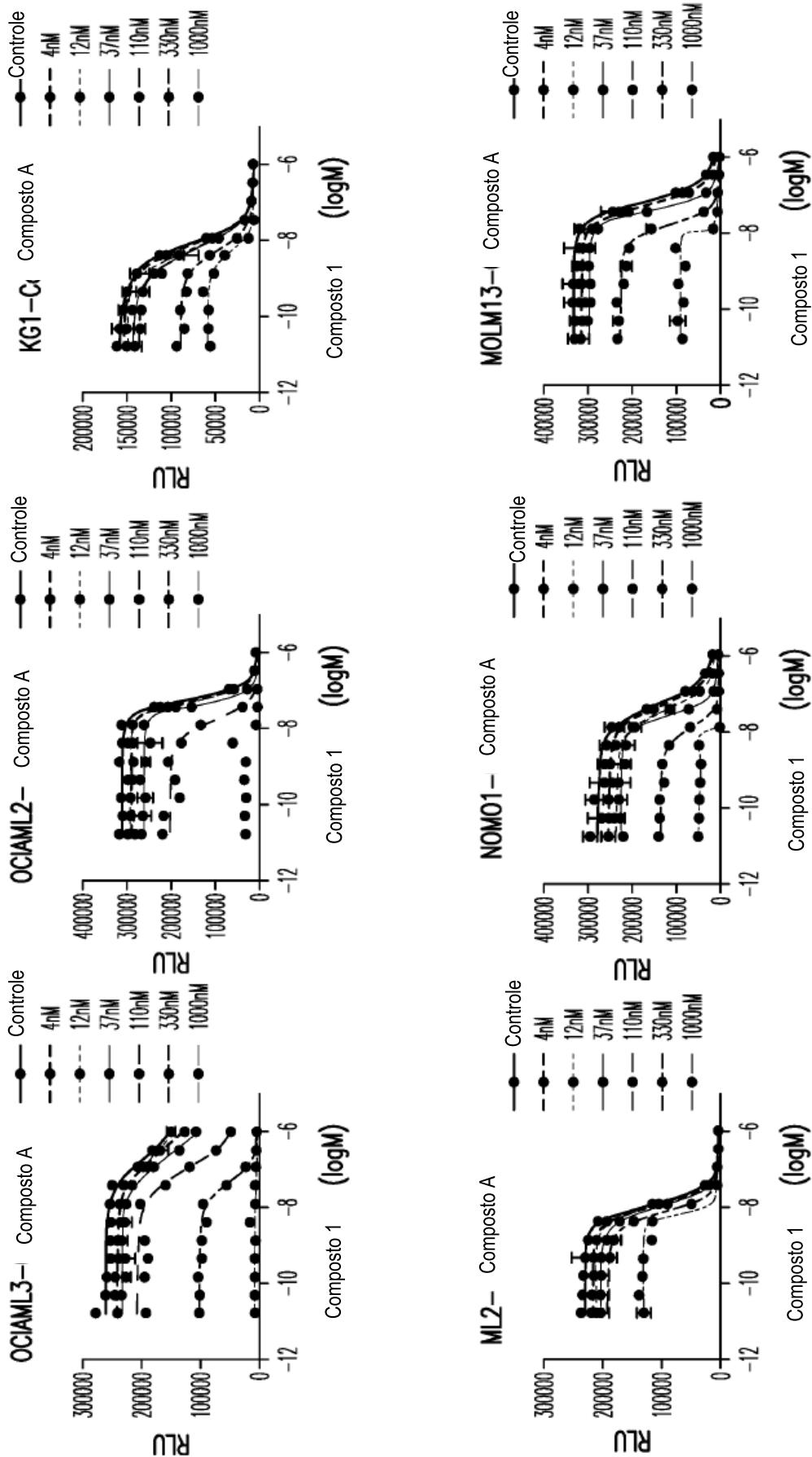
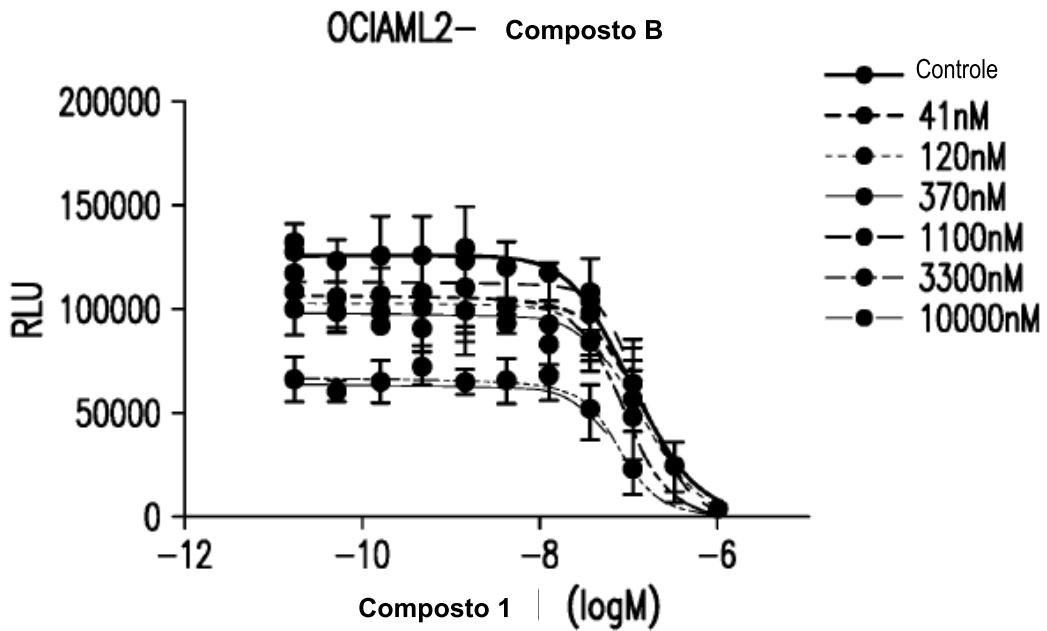
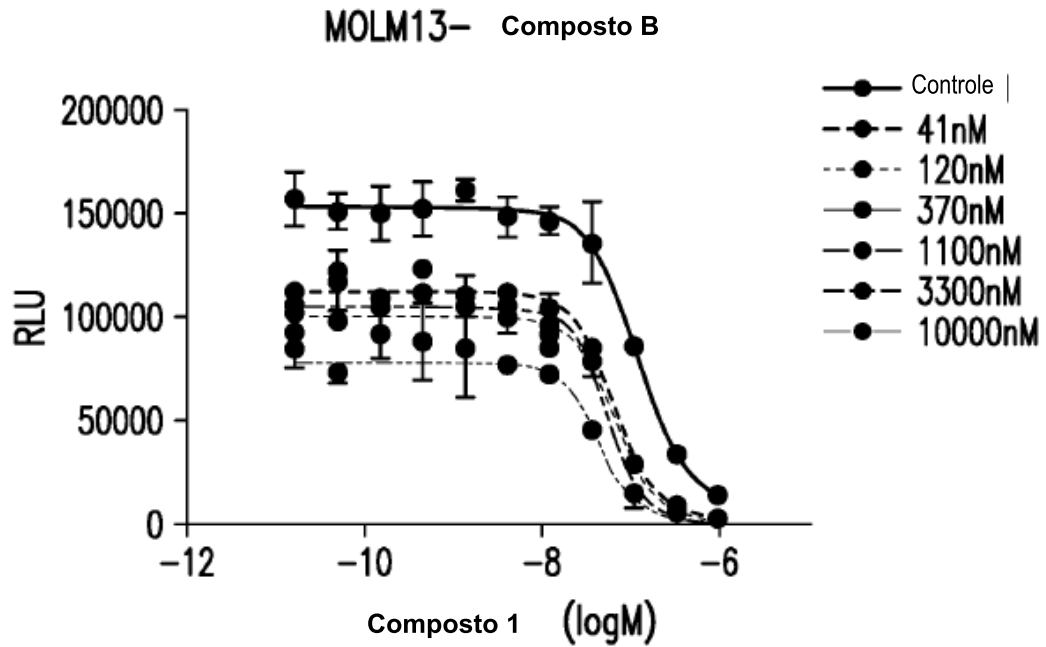


FIG. 56C

**FIG. 56D**

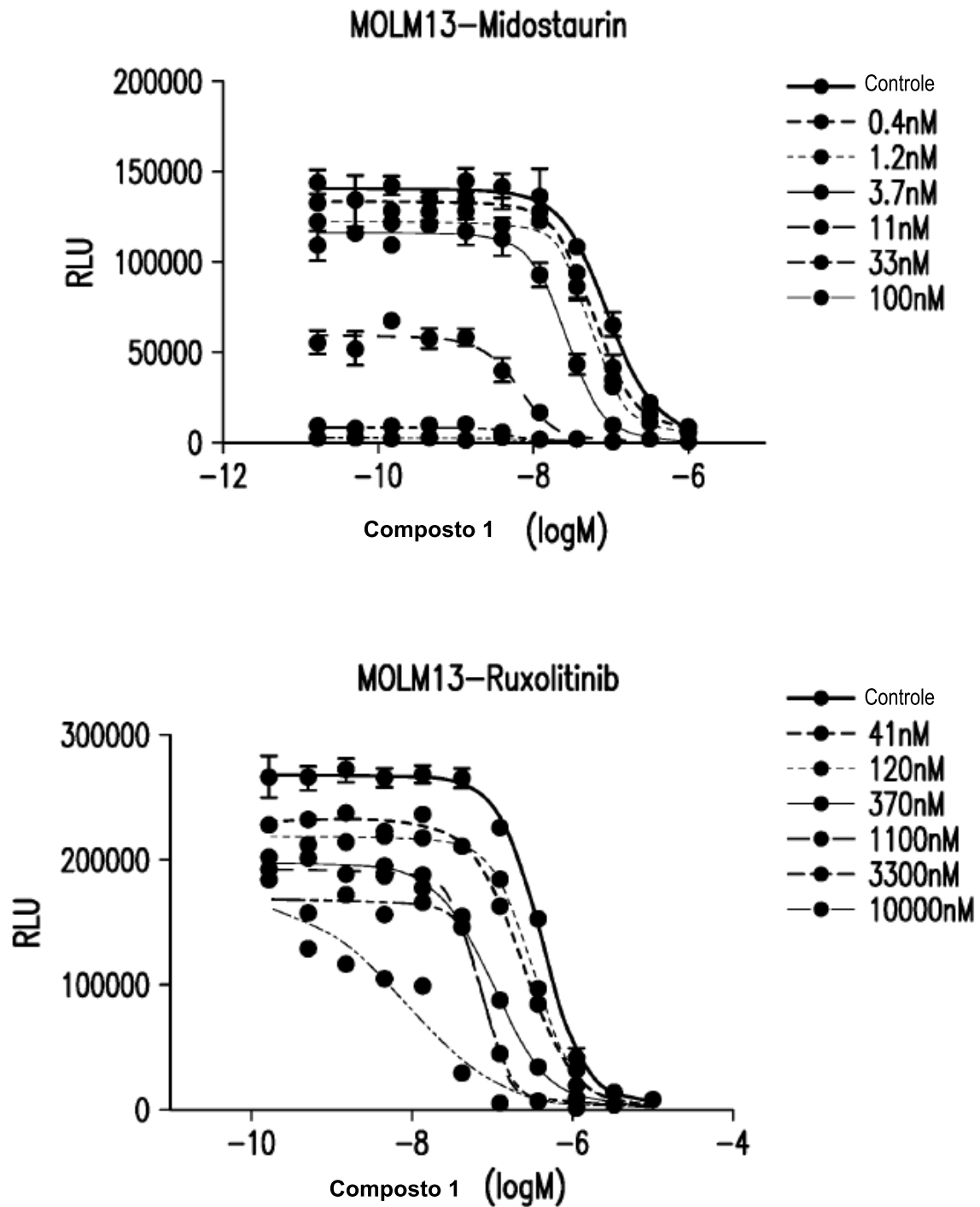


FIG. 57

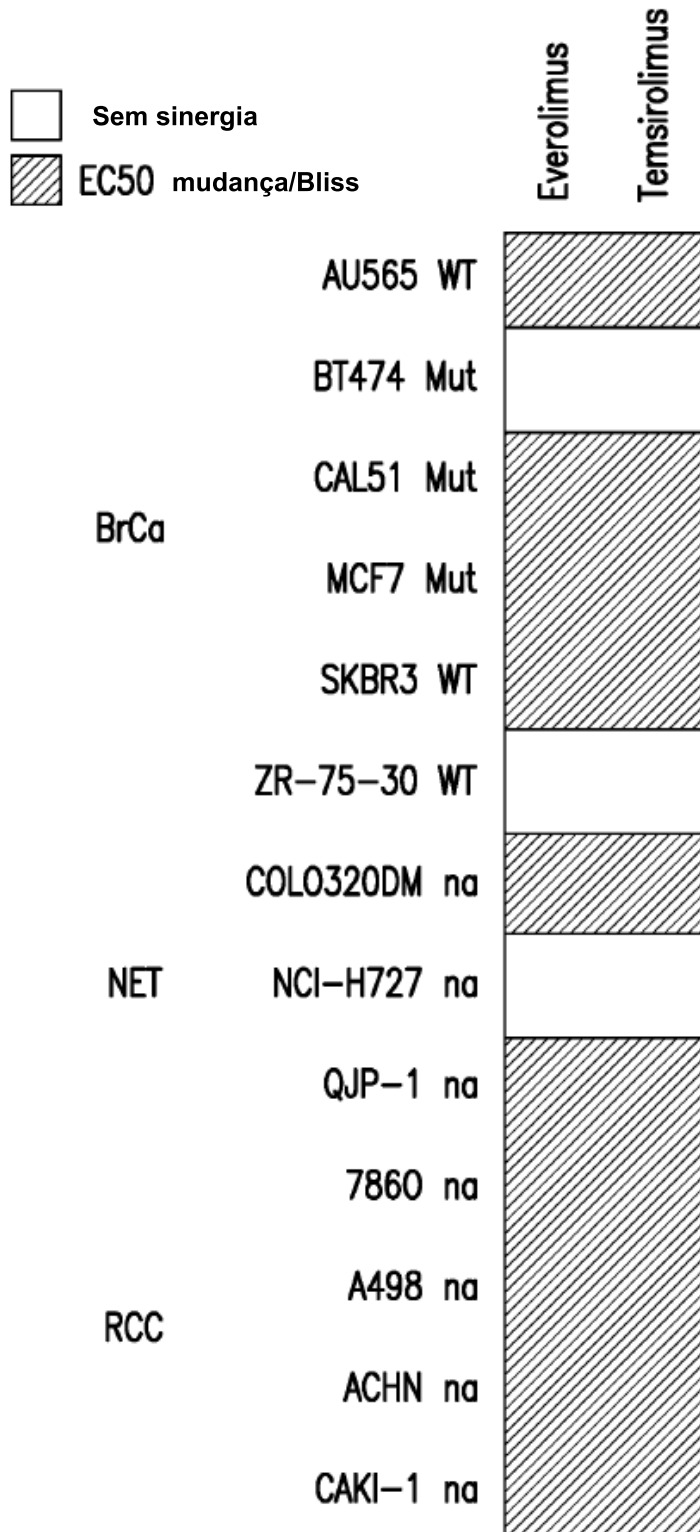


FIG. 58

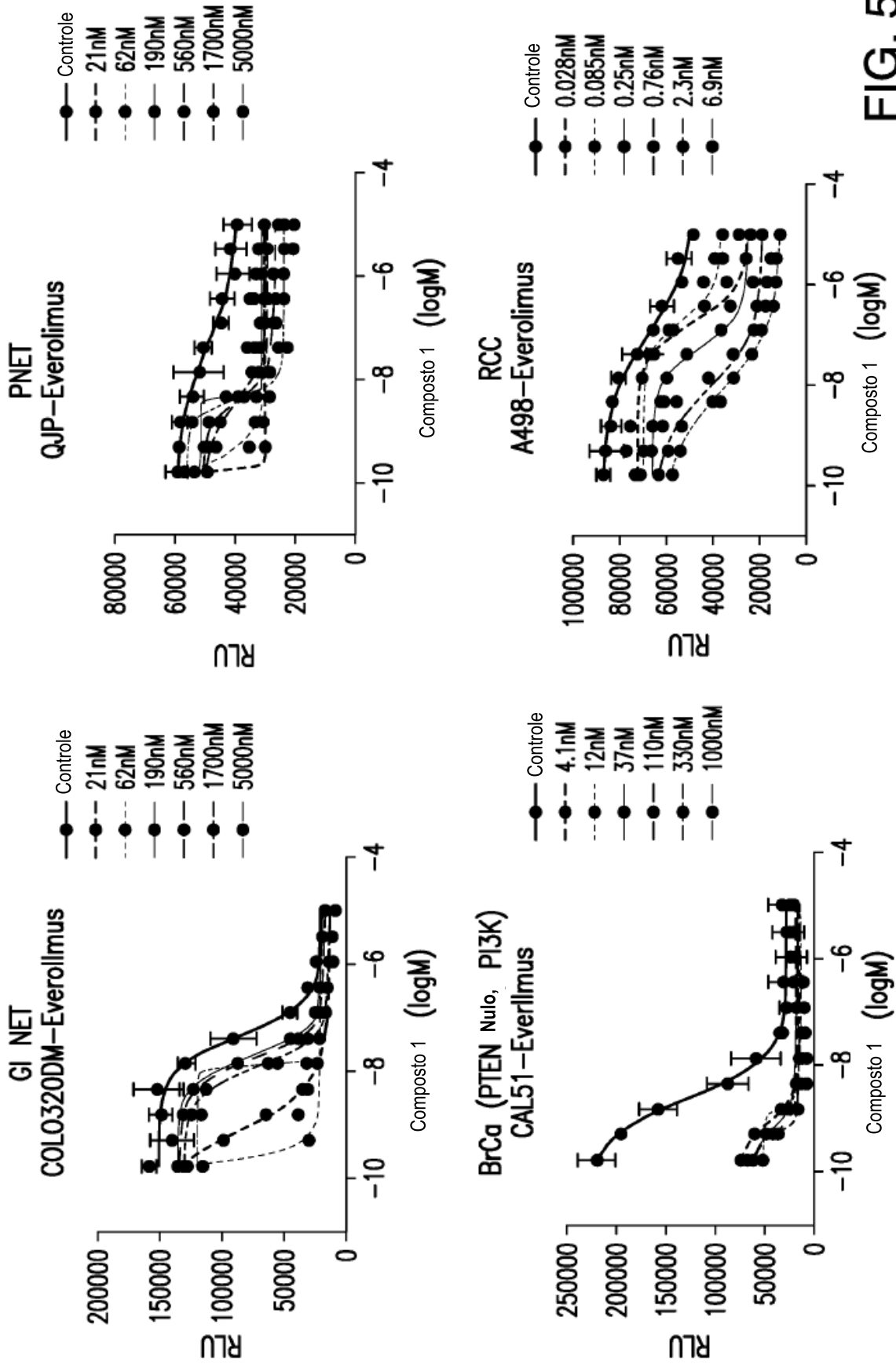


FIG. 59

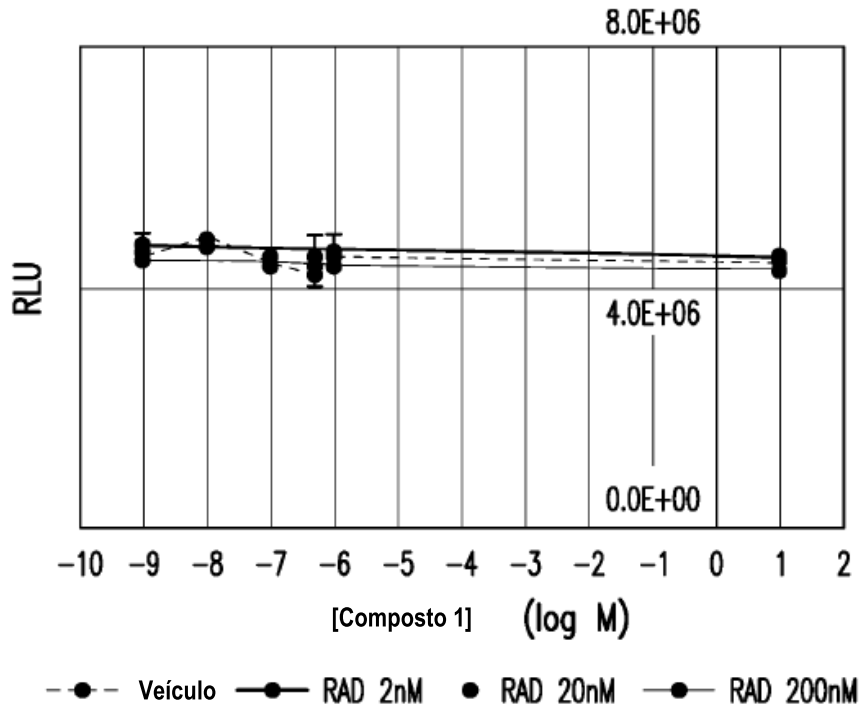


FIG. 60

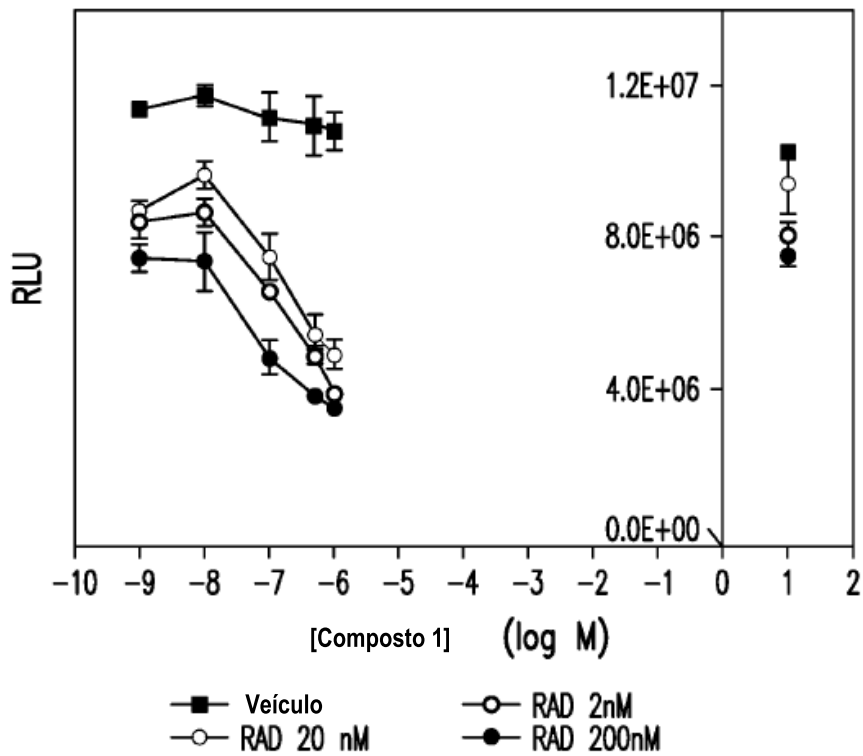


FIG. 61

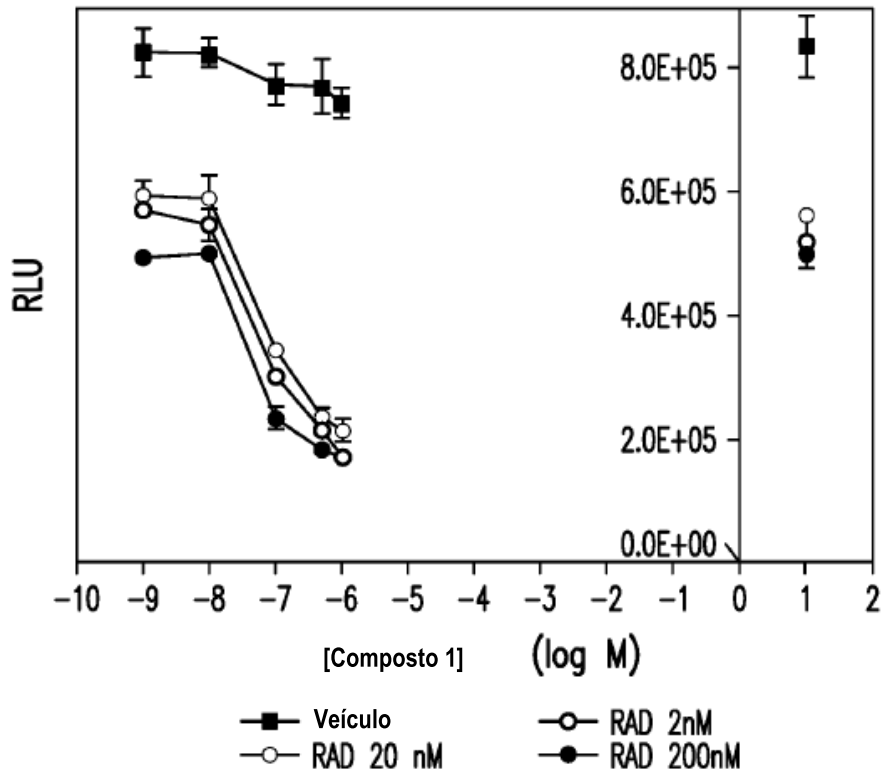


FIG. 62

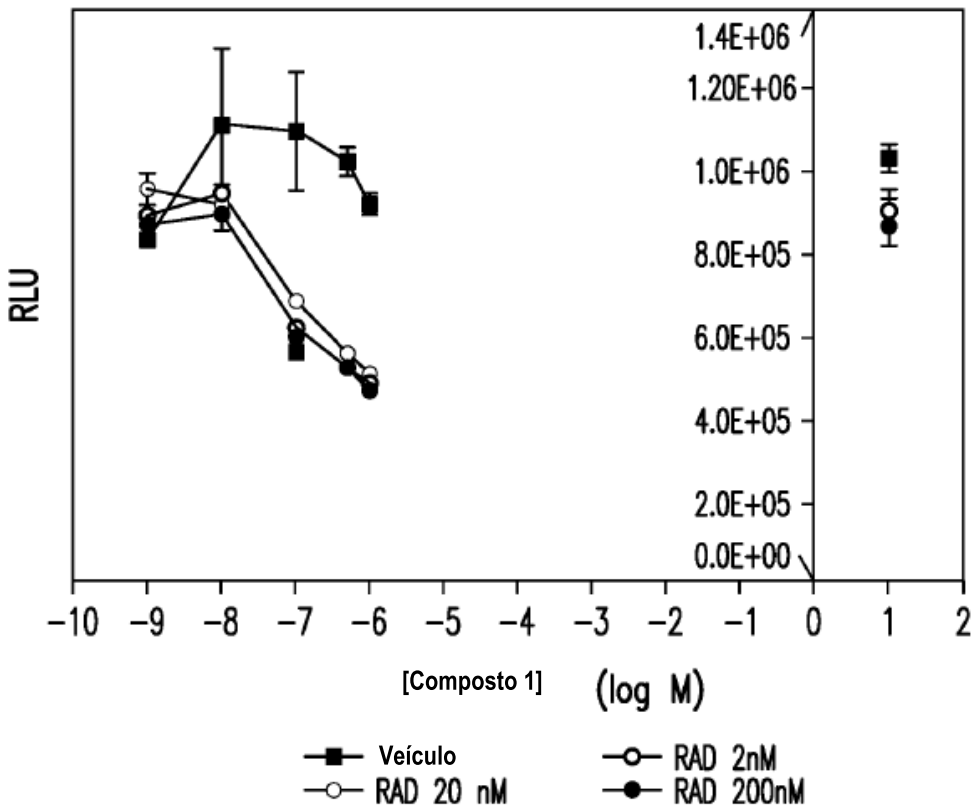


FIG. 63

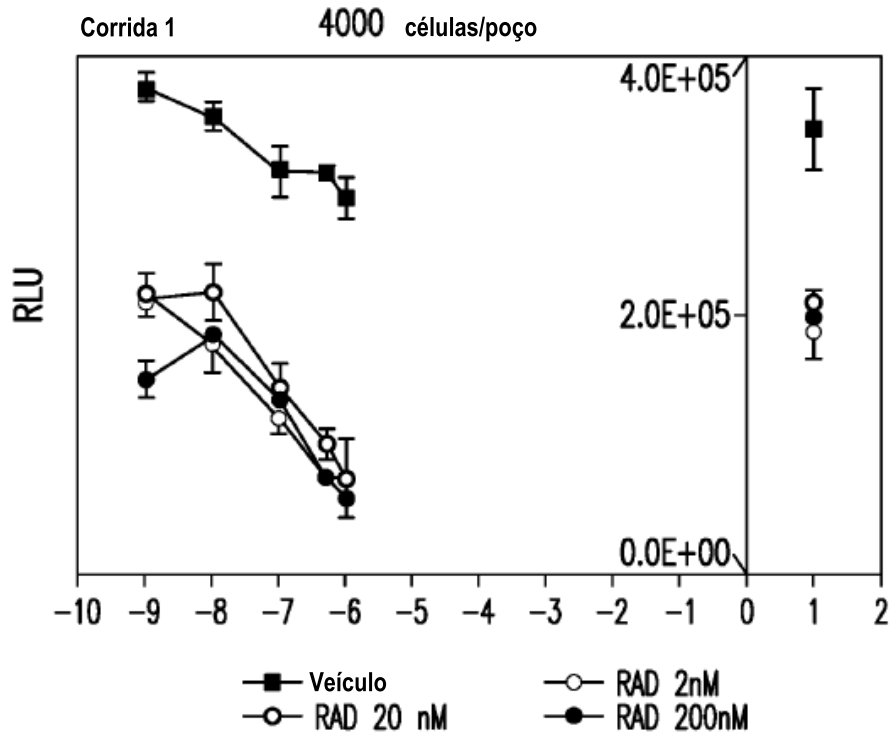


FIG. 64A

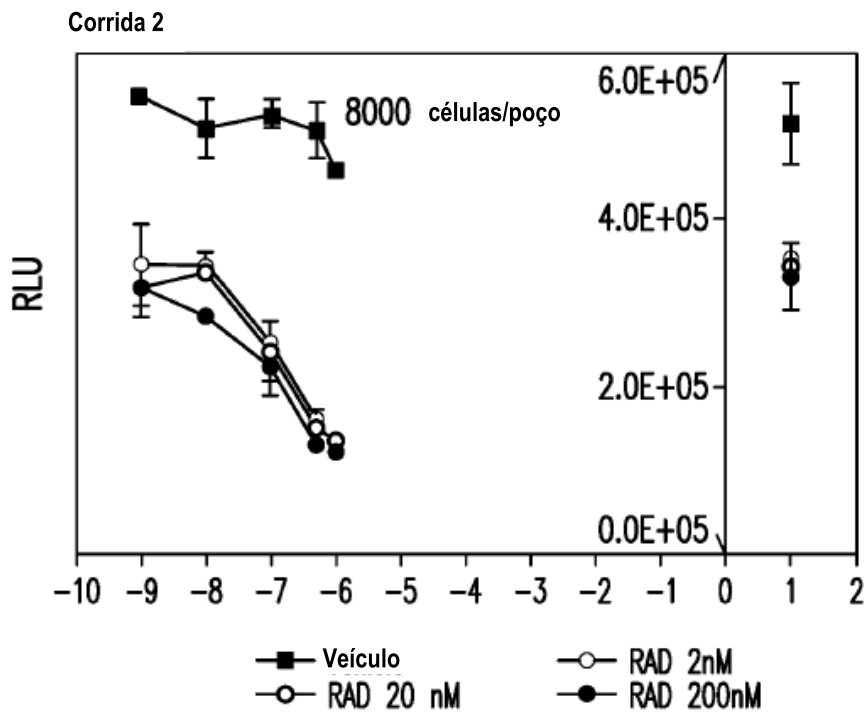


FIG. 64B

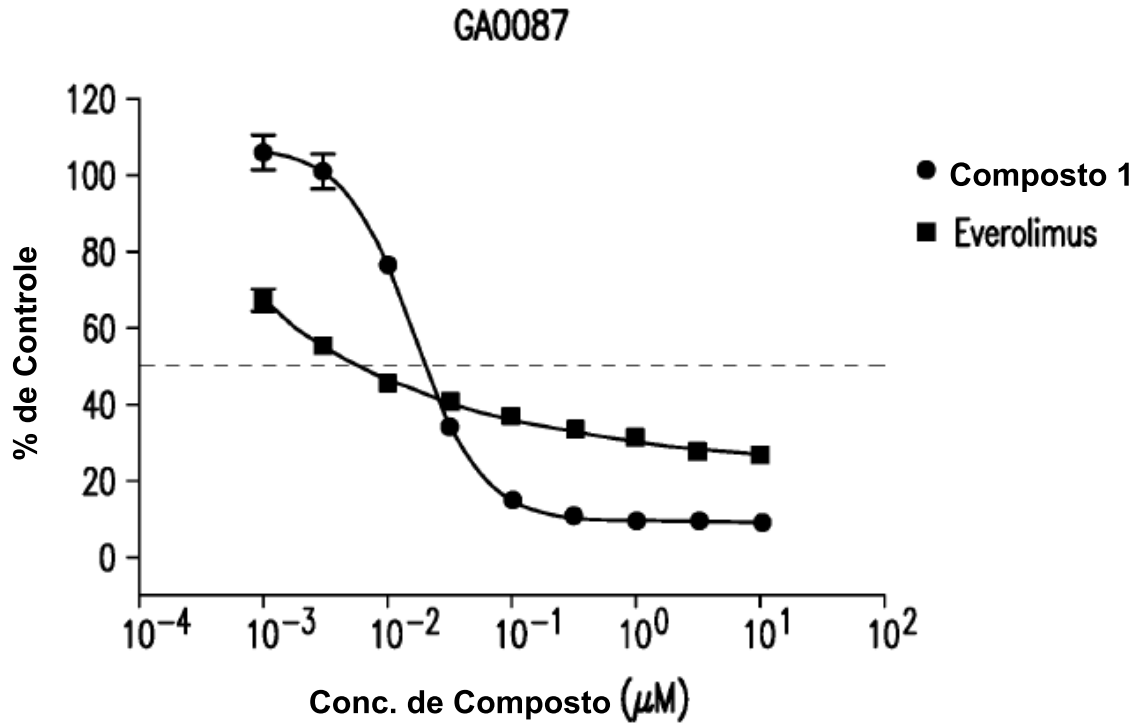


FIG. 65A

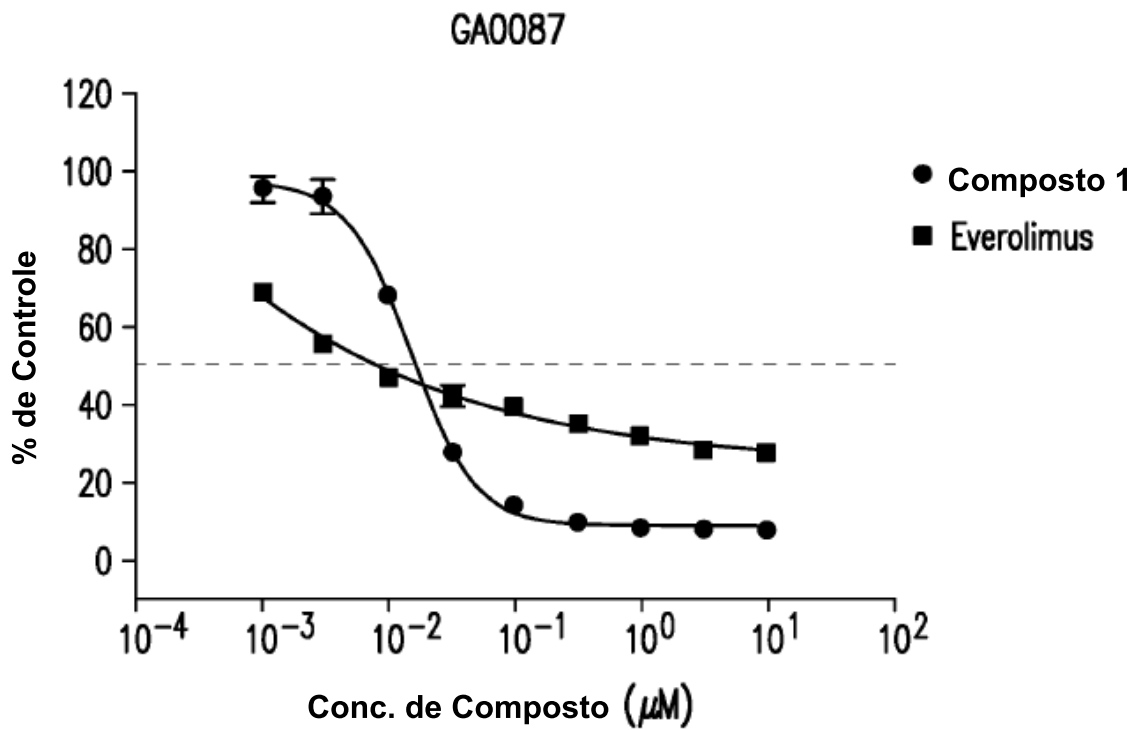


FIG. 65B

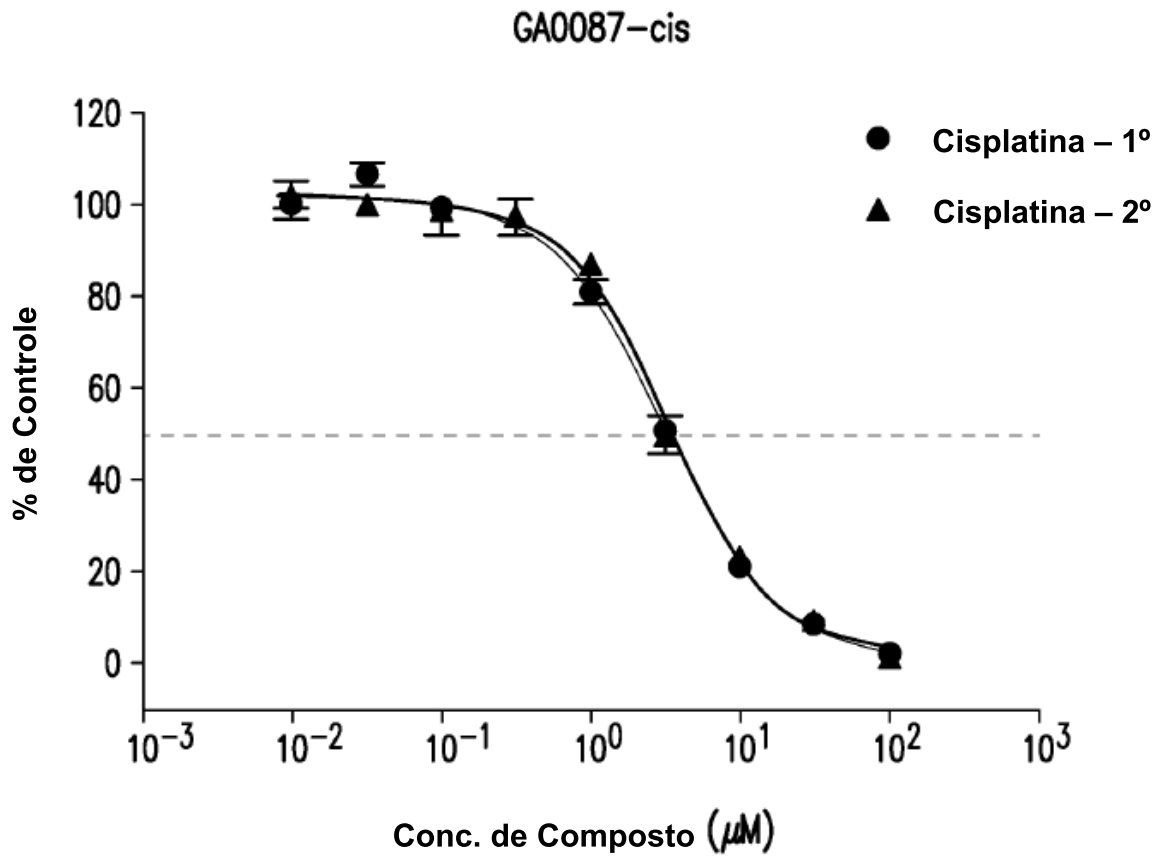


FIG. 66

Efeito de inibição do ensaio de
combinação da matriz

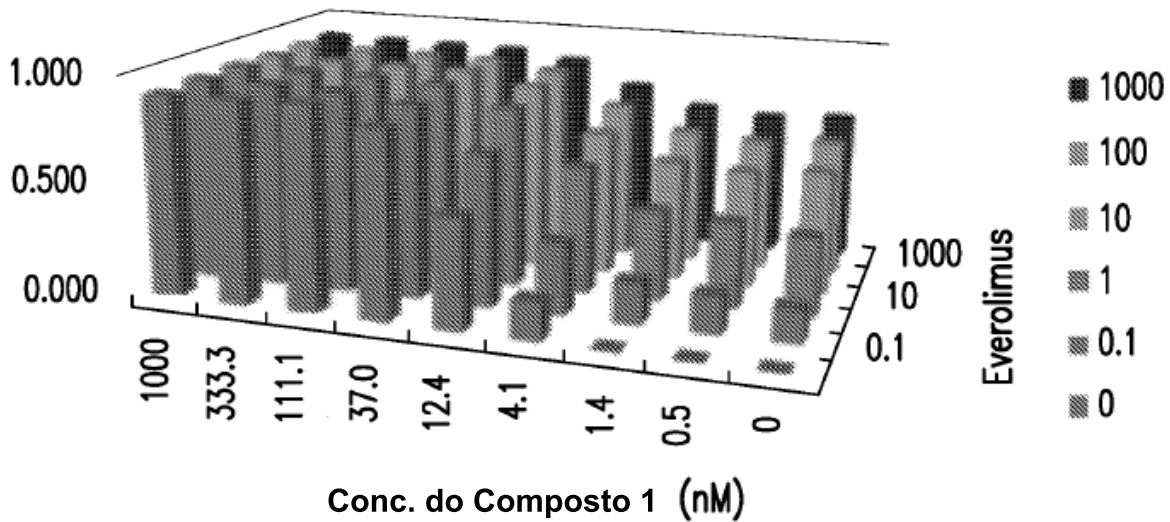


FIG. 67A

Efeito de inibição do ensaio de
combinação da matriz

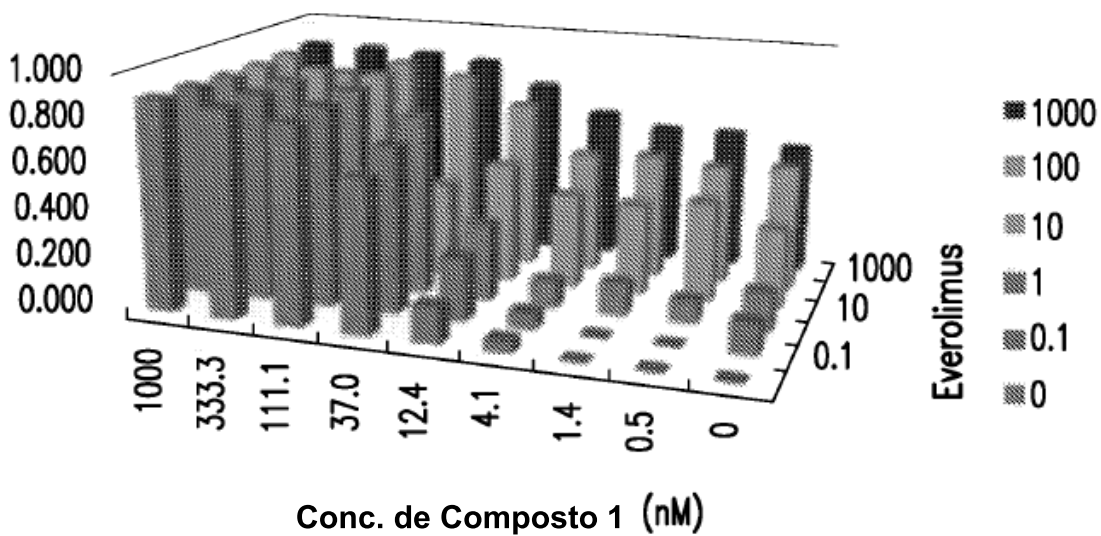


FIG. 67B

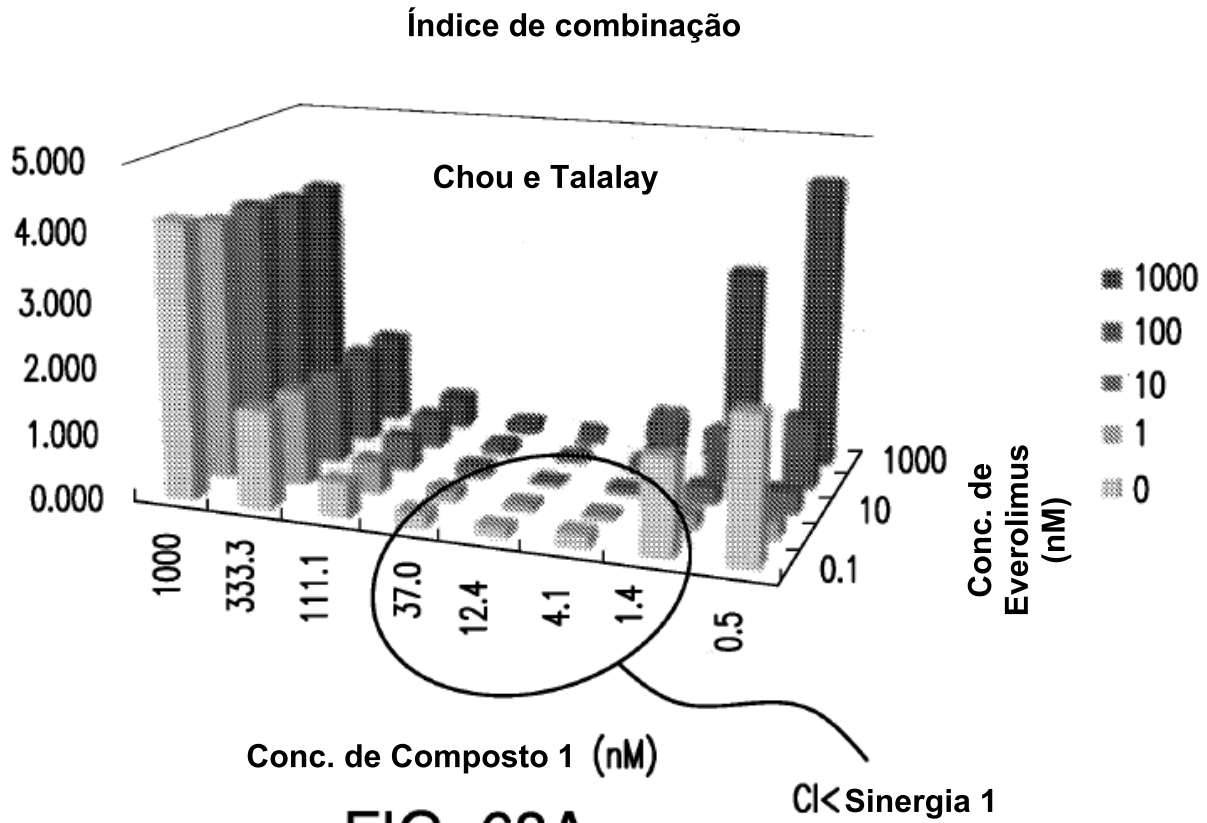


FIG. 68A

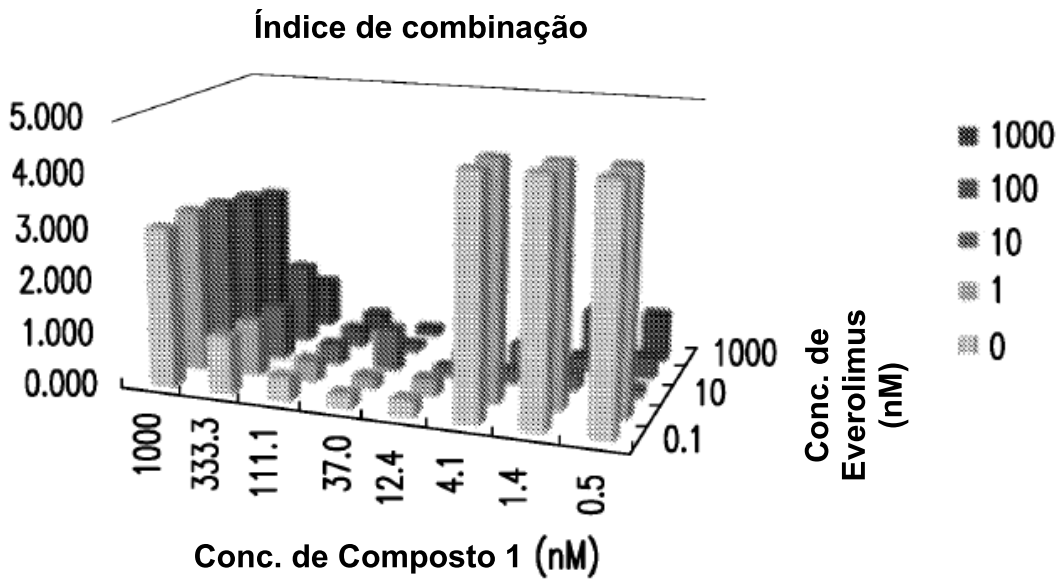
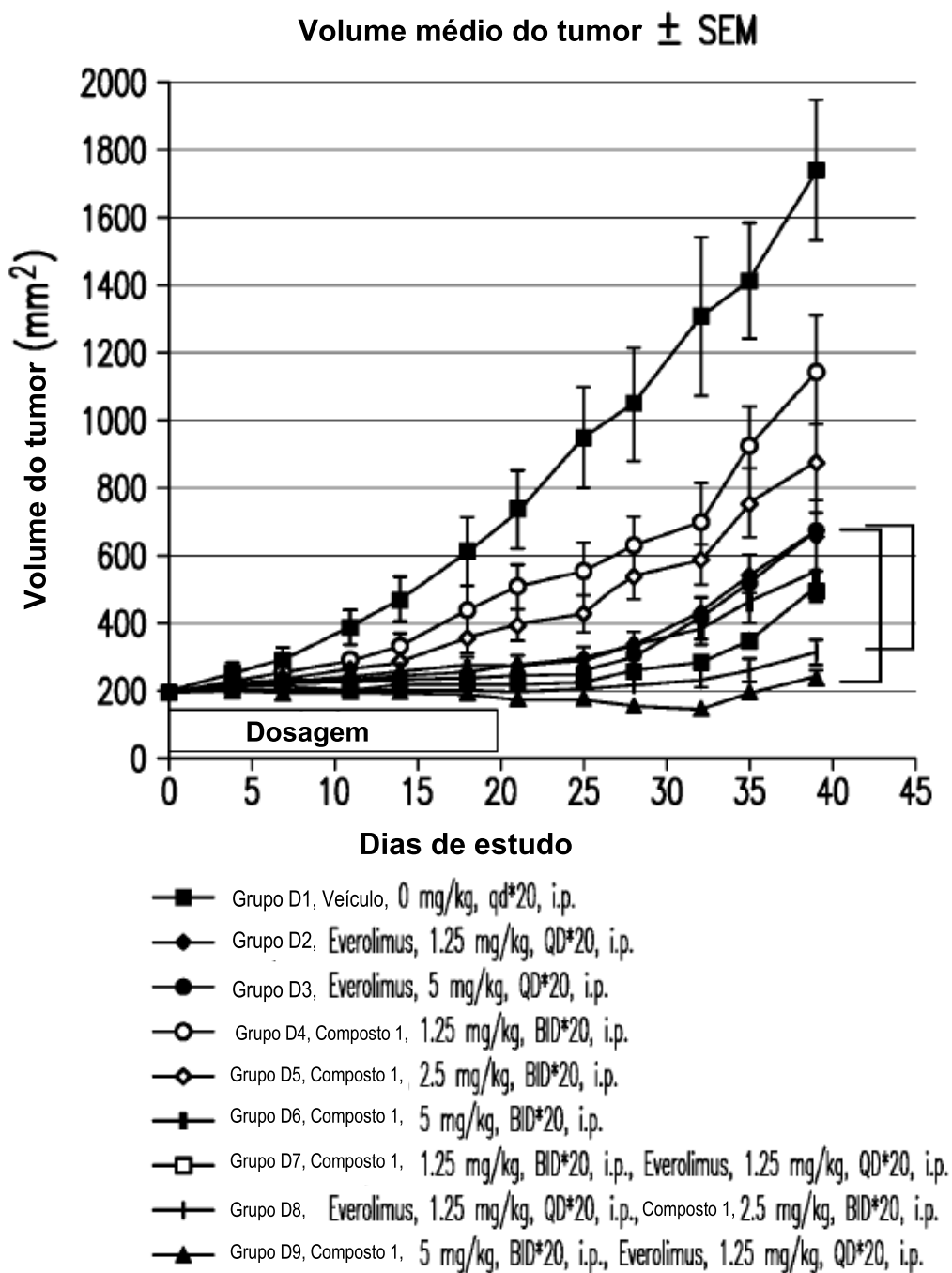


FIG. 68B



P=0.0006 (grupo 8 vs. grupo 2)

P=0.0007 (grupo 8 vs. grupo 5)

P=0.0001 (grupo 9 vs. grupo 2)

P=0.00056 (grupo 9 vs. grupo 6)

P=0.059 (grupo 7 vs. grupo 2)

Valor de P a partir de teste de T-Student bi-caudal

FIG. 69

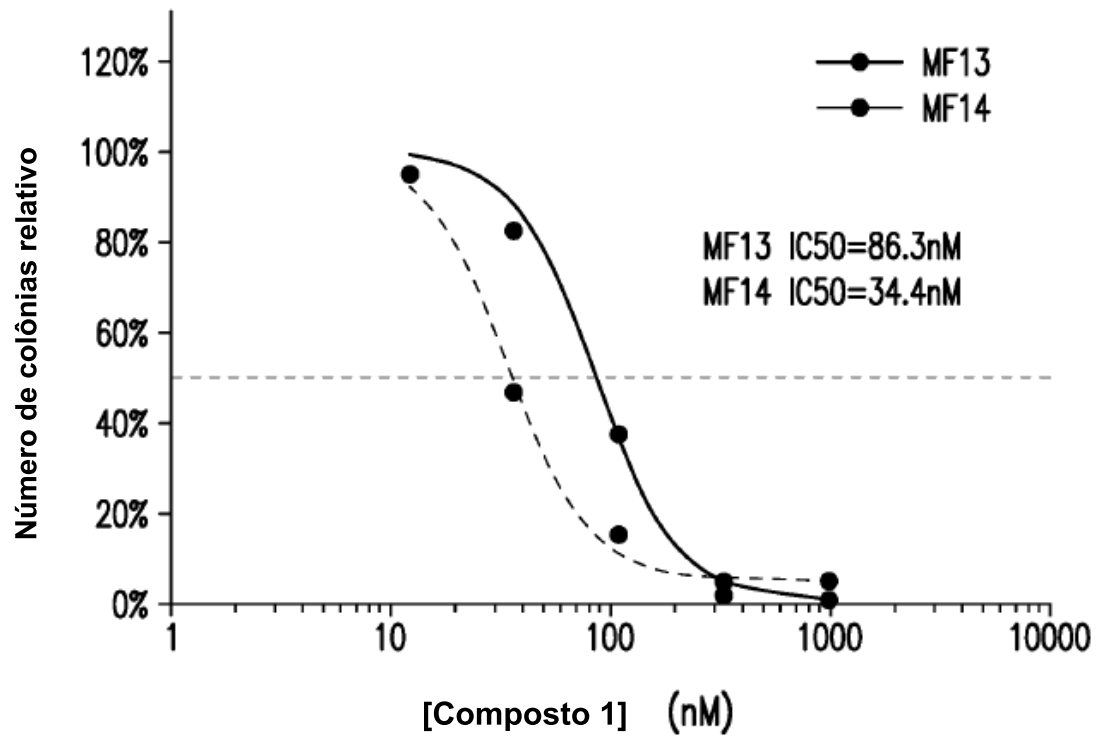
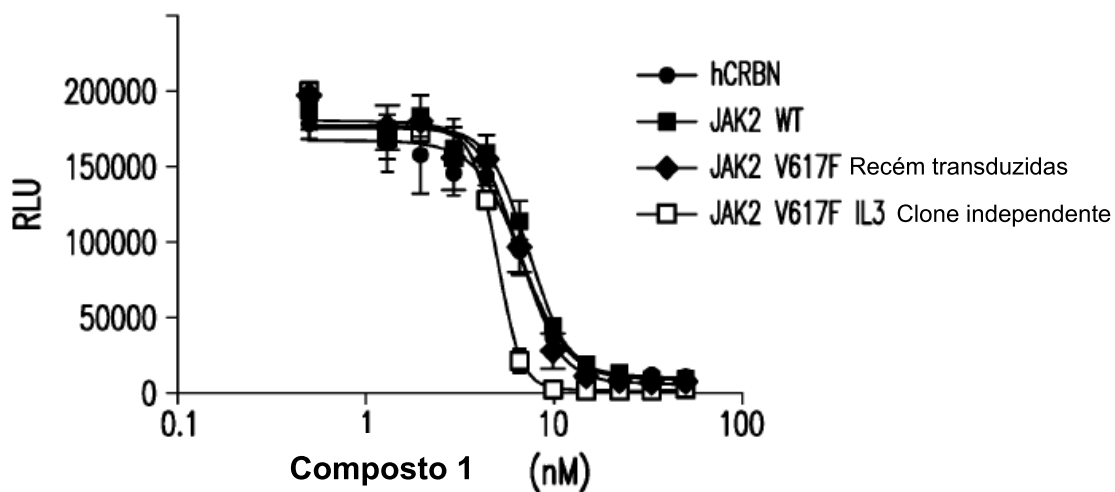
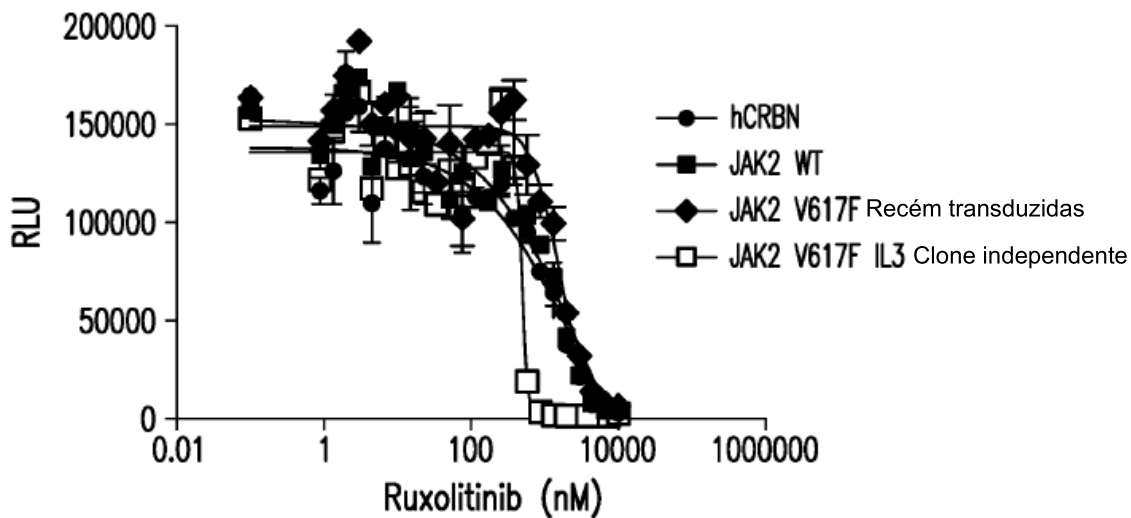


FIG. 70



	hCRBN	JAK2 WT	JAK2 V617F Recém transduzidas	JAK2 V617F IL3 Clone independente
HillSlope	-3.616	-4.08	-4.001	-6.716
IC50	6.724	7.312	6.553	4.992

FIG. 71



	hCRBN	JAK2 WT	JAK2 V617F Recém transduzidas	JAK2 V617F IL3 Clone independente
HillSlope	-0.691	-0.6379	-2.347	-11.79
IC50	2526	3469	1578	496.8

FIG. 72

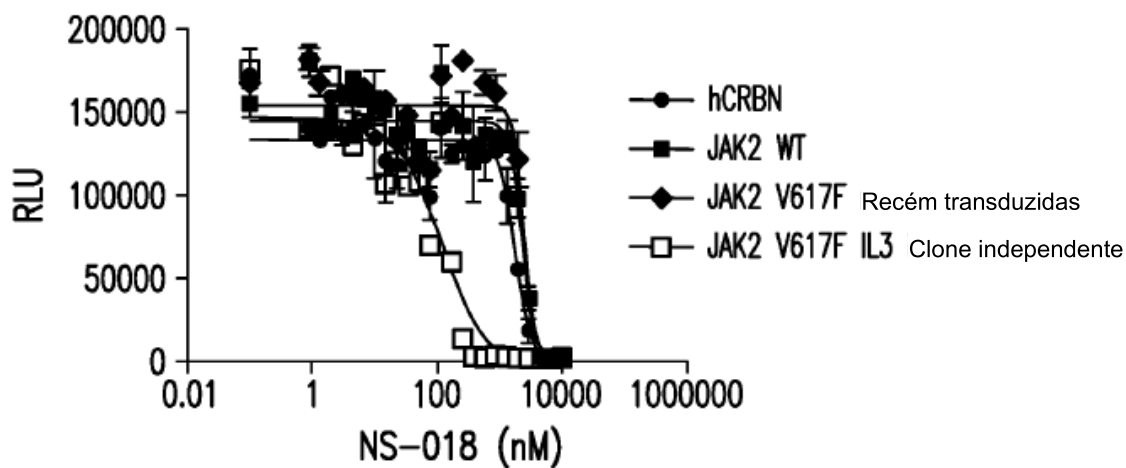


FIG. 73

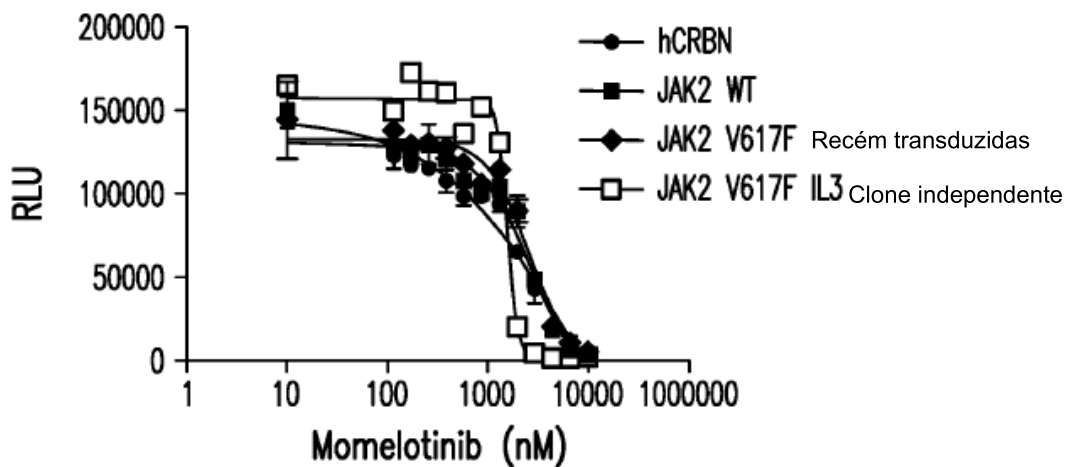
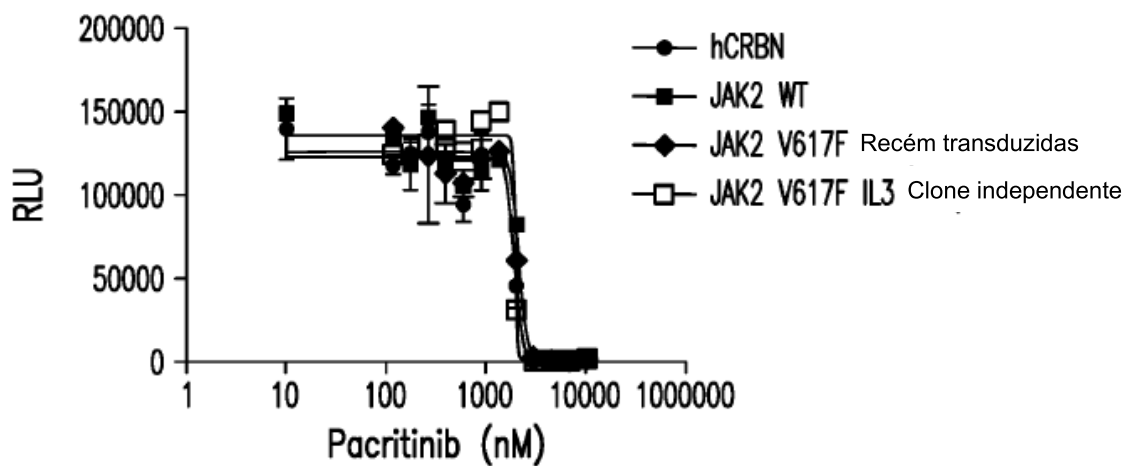
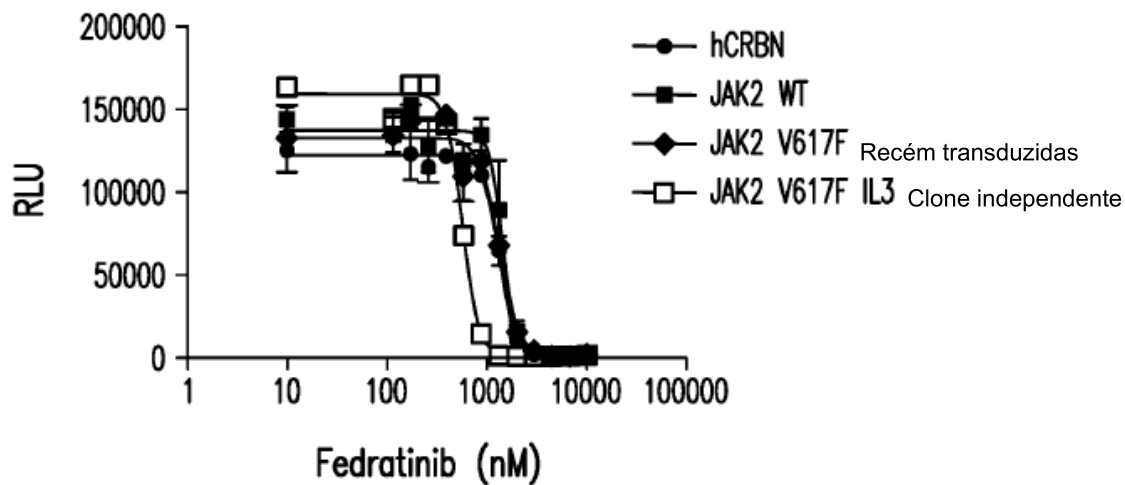


FIG. 74



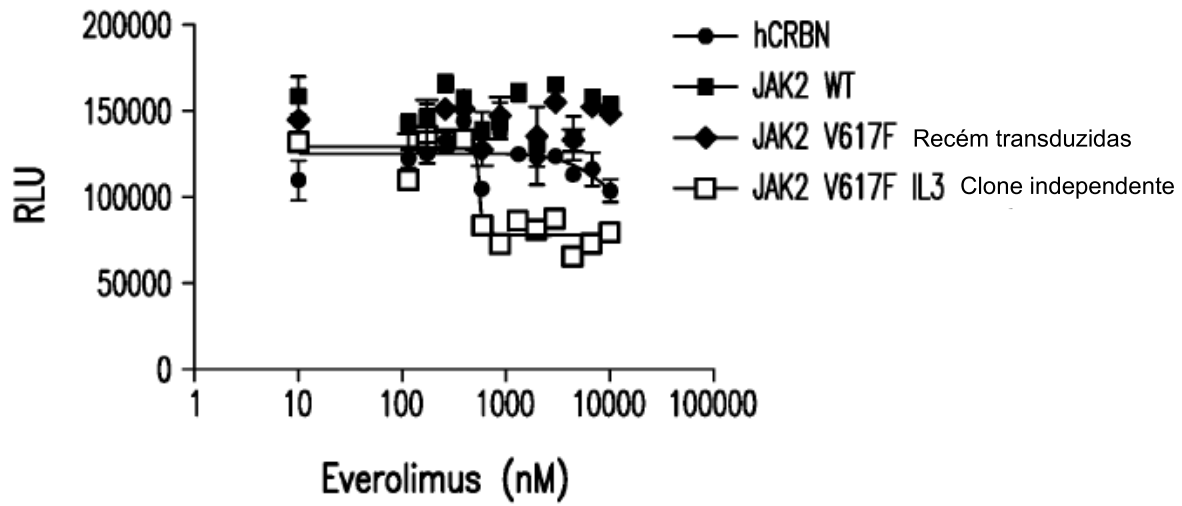
	hCRBN	JAK2 WT	JAK2 V617F Recém transduzidas	JAK2 V617F IL3 Clone independente
HillSlope	-11.27	-11.62	-14.02	~ -39.85
IC50	1882	2084	1961	~ 1914

FIG. 75



	hCRBN	JAK2 WT	JAK2 V617F Recém transduzidas	JAK2 V617F IL3 Clone independente
HillSlope	-5.401	-6.66	-4.52	-5.578
IC50	1330	1443	1313	567.9

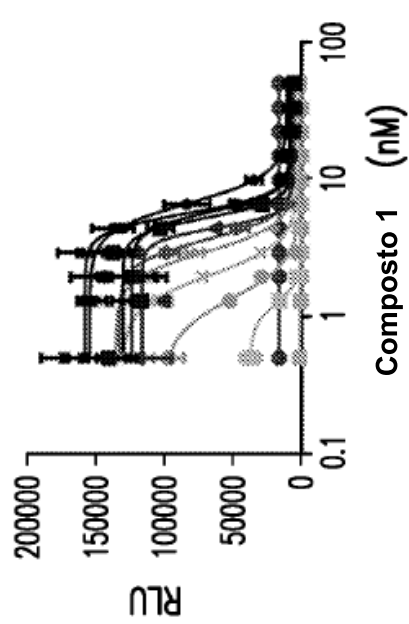
FIG. 76



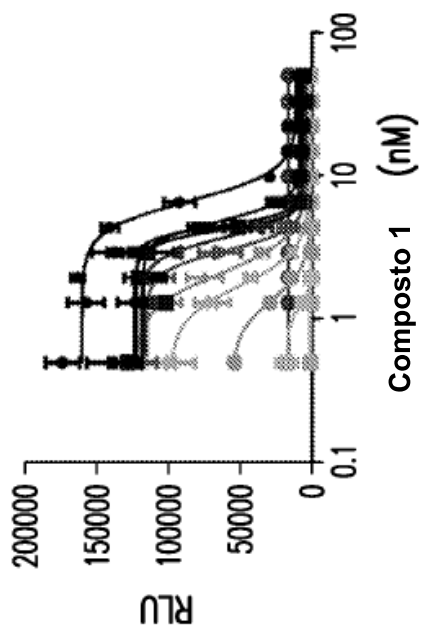
	hCRBN	JAK2 WT	JAK2 V617F Recém transduzidas	JAK2 V617F IL3 Clone independente
HillSlope	-1.959			~ -35.61
IC50	12190			~ 551.7

FIG. 77

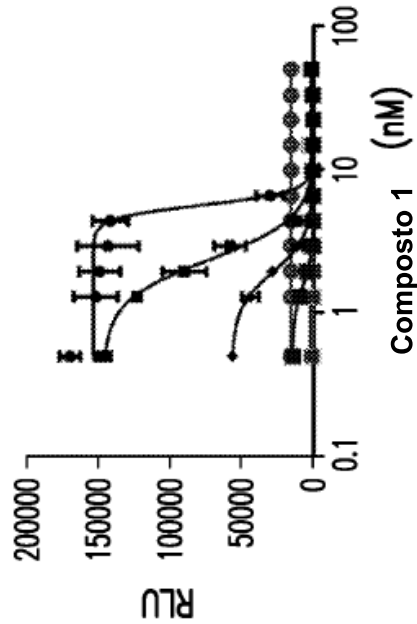
- DMSO
- 0.116 μ M
- 0.173 μ M
- 0.260 μ M
- 0.390 μ M
- 0.585 μ M
- 0.878 μ M
- 1.317 μ M
- 1.975 μ M
- 2.963 μ M
- 4.444 μ M
- 6.667 μ M
- 10 μ M
- Dia 0



- DMSO
- 0.116 μ M
- 0.173 μ M
- 0.260 μ M
- 0.390 μ M
- 0.585 μ M
- 0.878 μ M
- 1.317 μ M
- 1.975 μ M
- 2.963 μ M
- 4.444 μ M
- 6.667 μ M
- 10 μ M
- Dia 0



- DMSO
- 0.116 μ M
- 0.173 μ M
- 0.260 μ M
- 0.390 μ M
- 0.585 μ M
- 0.878 μ M
- 1.317 μ M
- 1.975 μ M
- 2.963 μ M
- 4.444 μ M
- 6.667 μ M
- 10 μ M
- Dia 0



- DMSO
- 0.116 μ M
- 0.173 μ M
- 0.260 μ M
- 0.390 μ M
- 0.585 μ M
- 0.878 μ M
- 1.317 μ M
- 1.975 μ M
- 2.963 μ M
- 4.444 μ M
- 6.667 μ M
- 10 μ M
- Dia 0

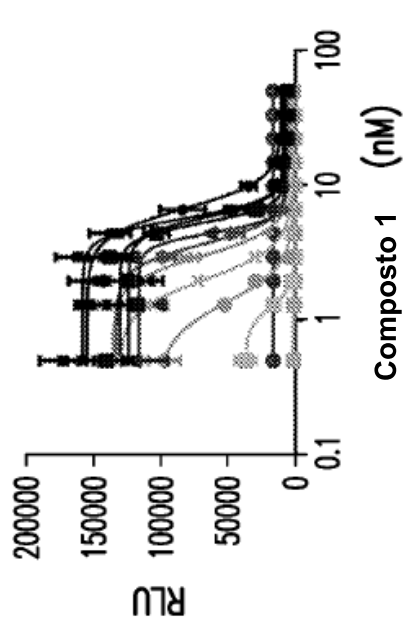


FIG. 78

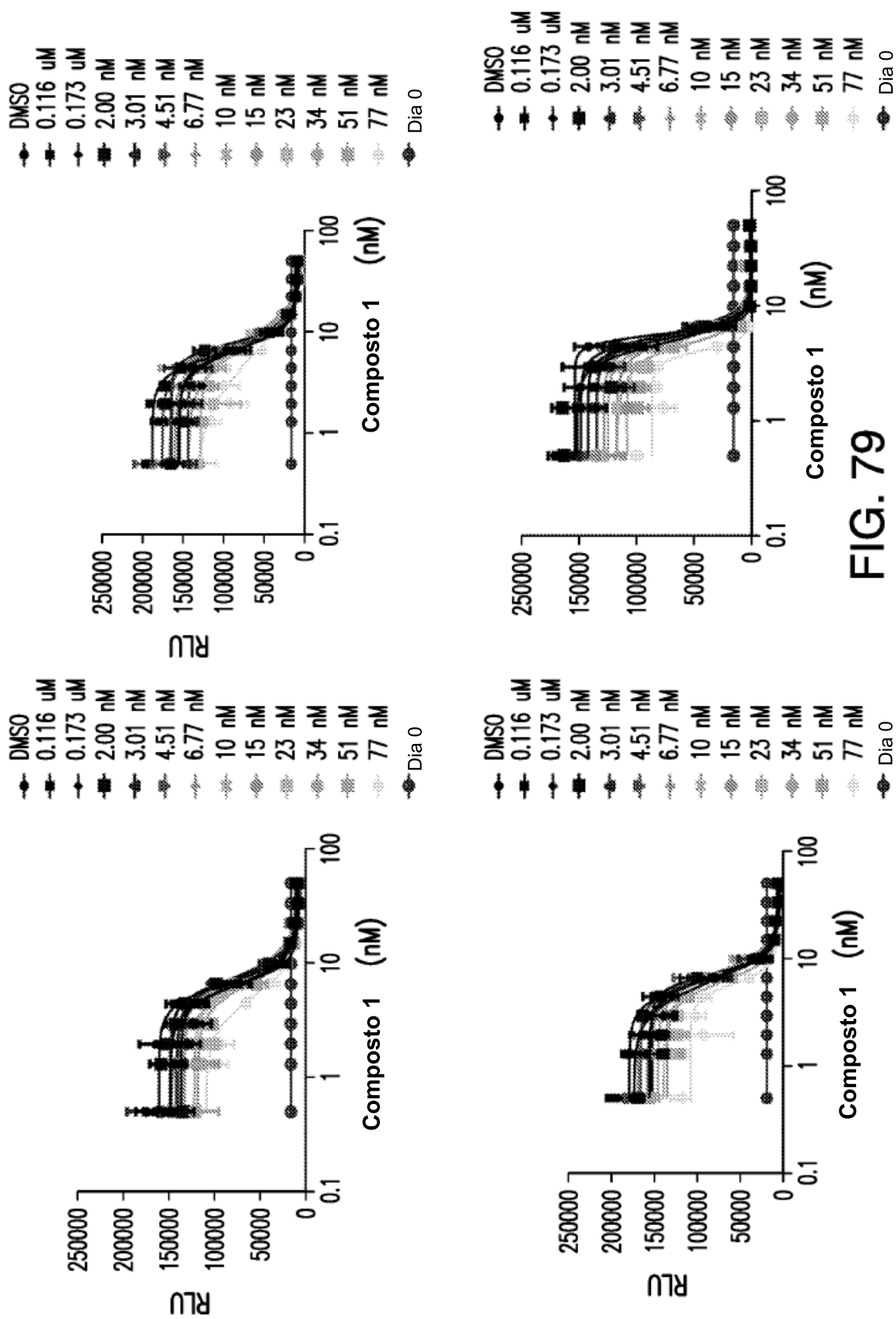


FIG. 79

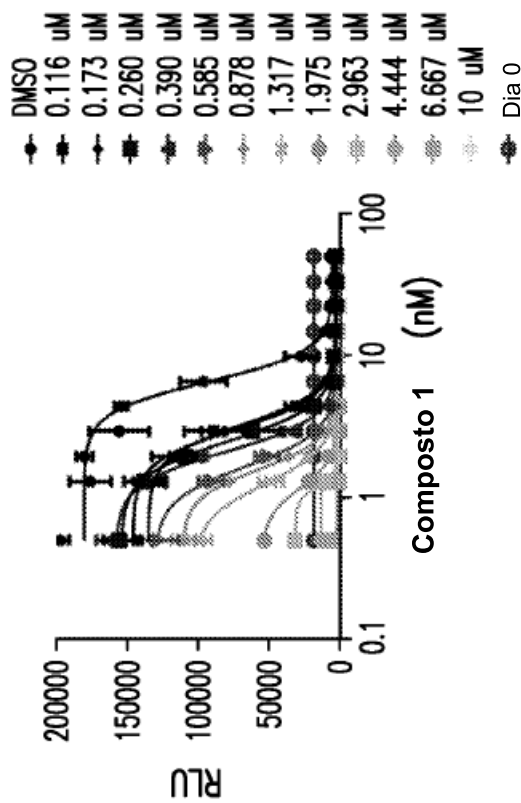
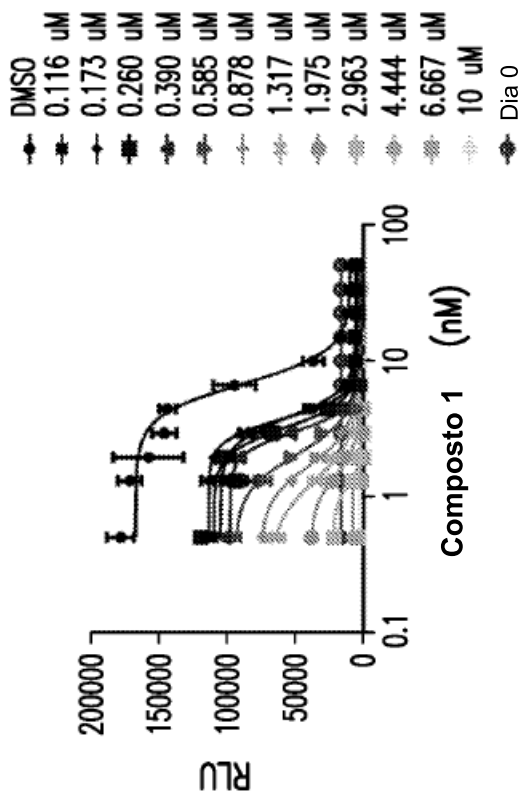
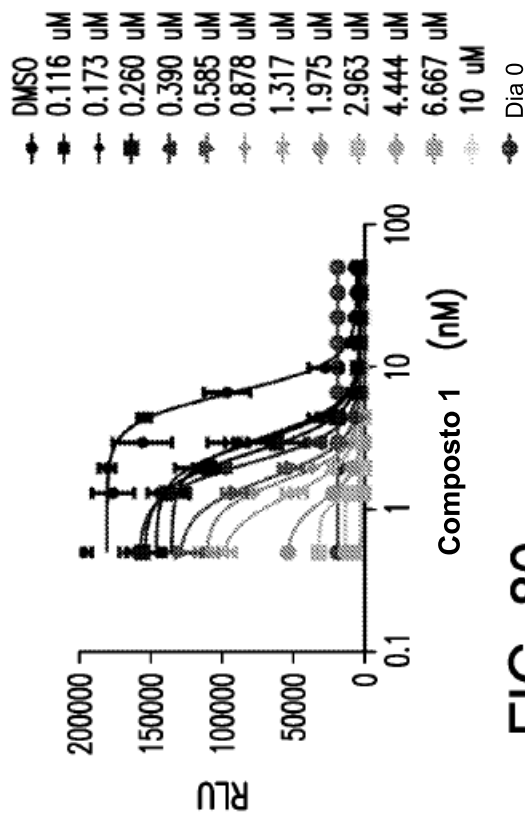
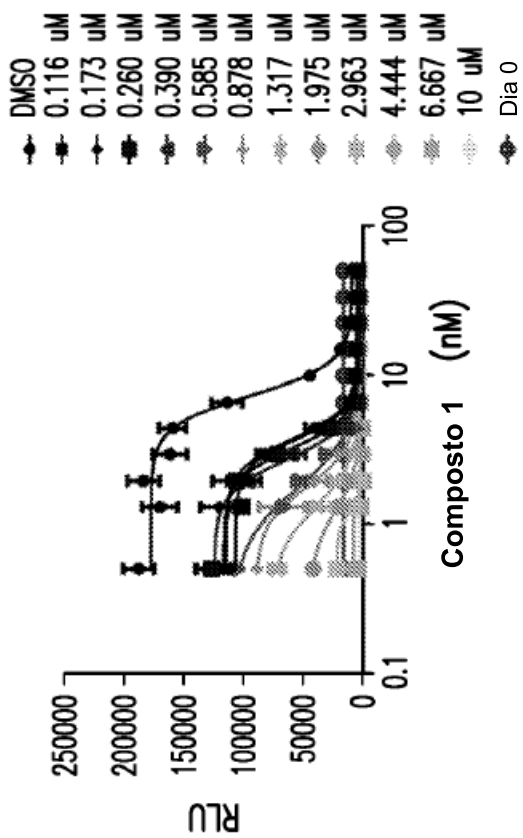


FIG. 80

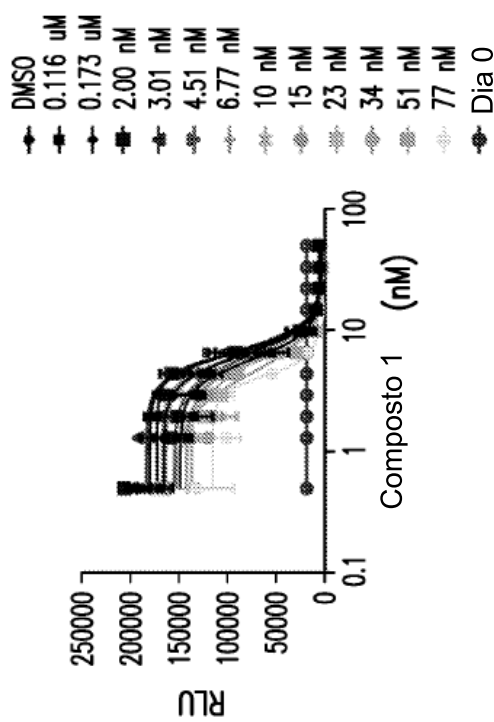
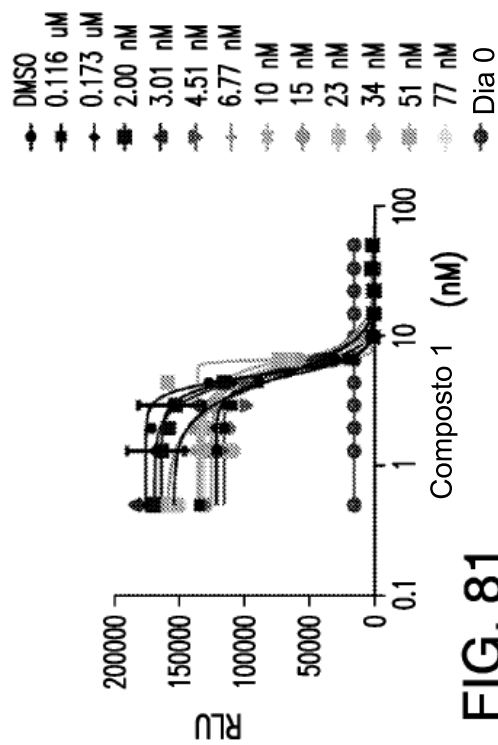
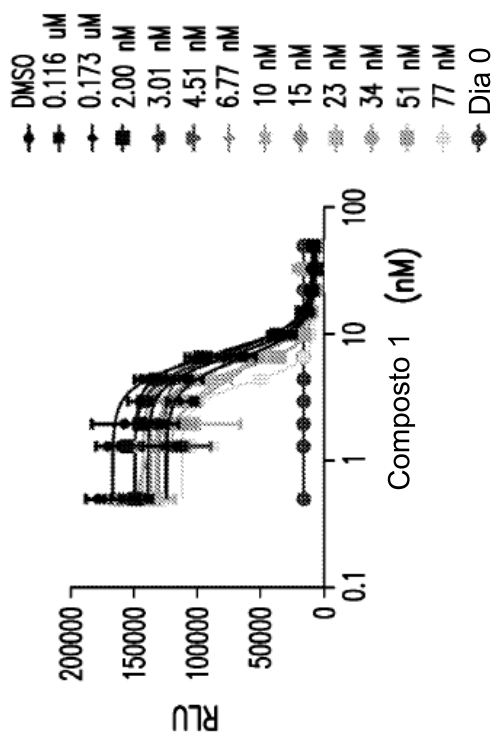
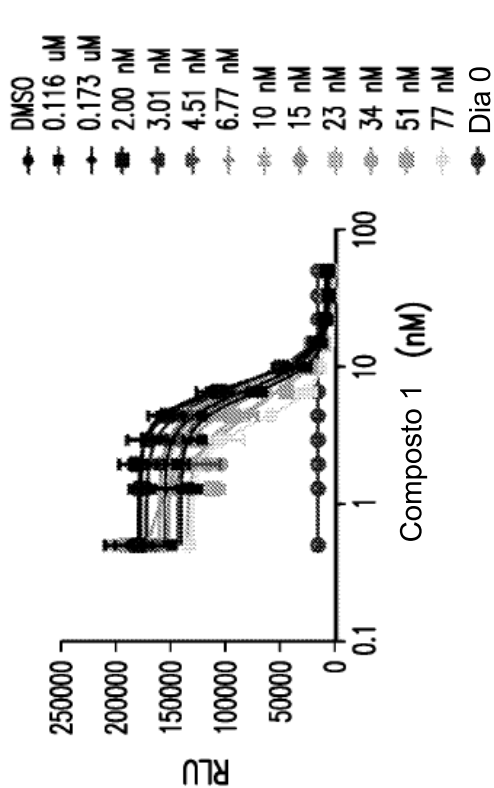


FIG. 81

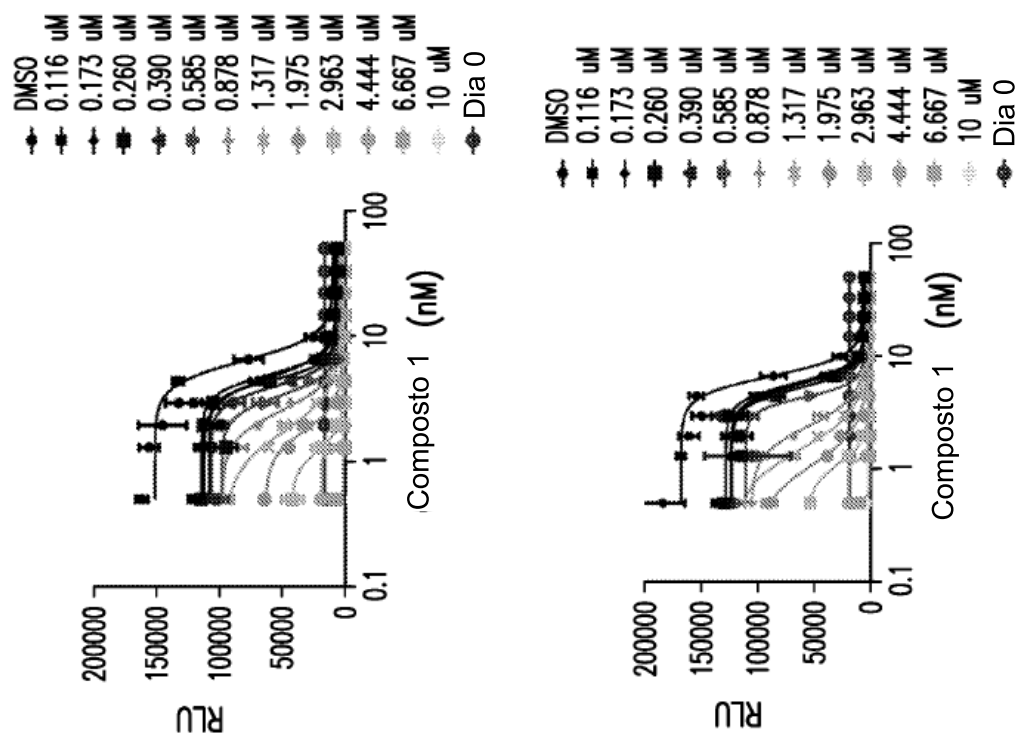
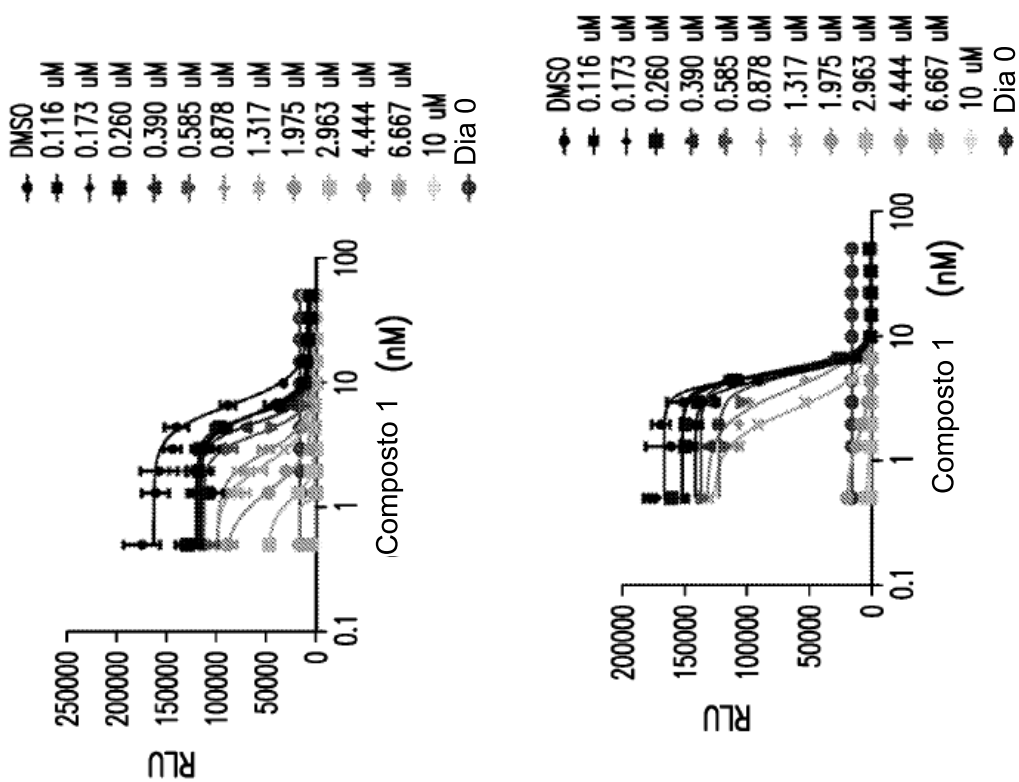


FIG. 82

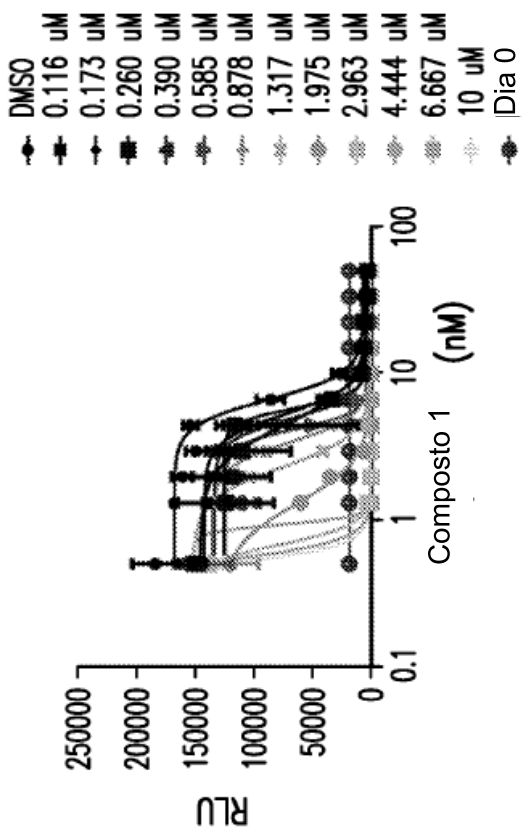
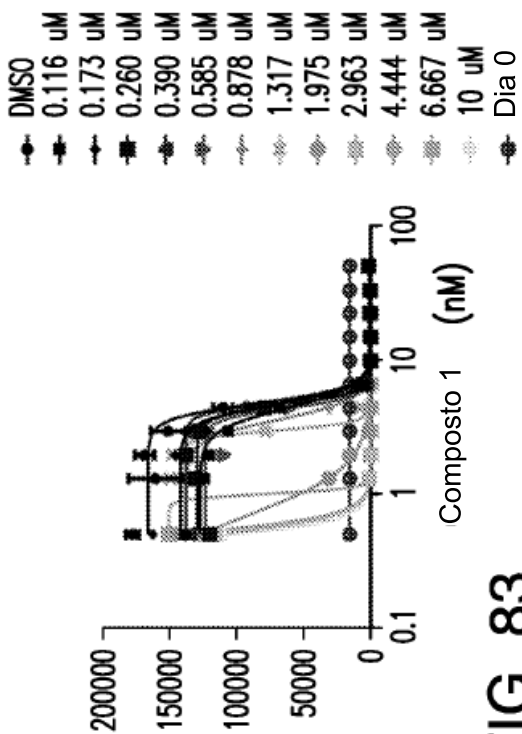
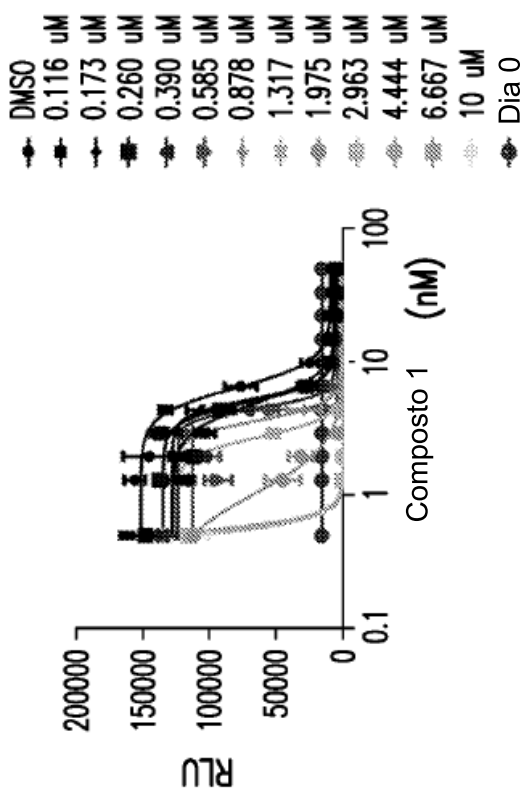
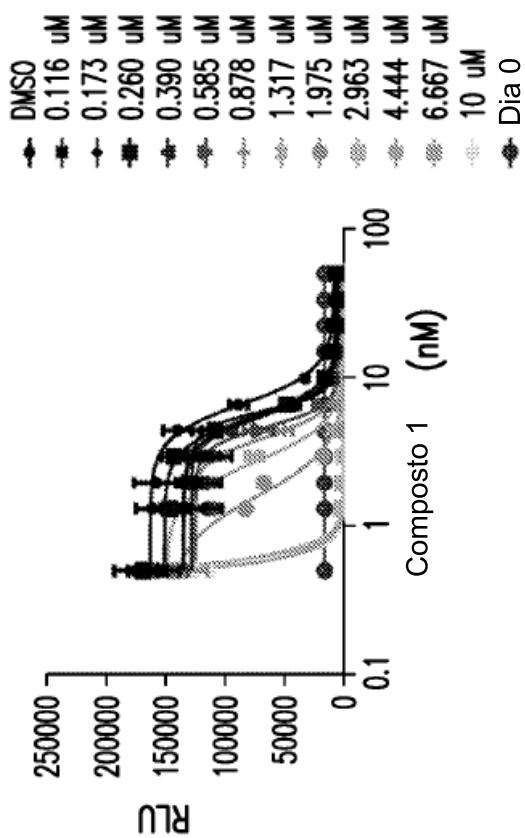


FIG. 83

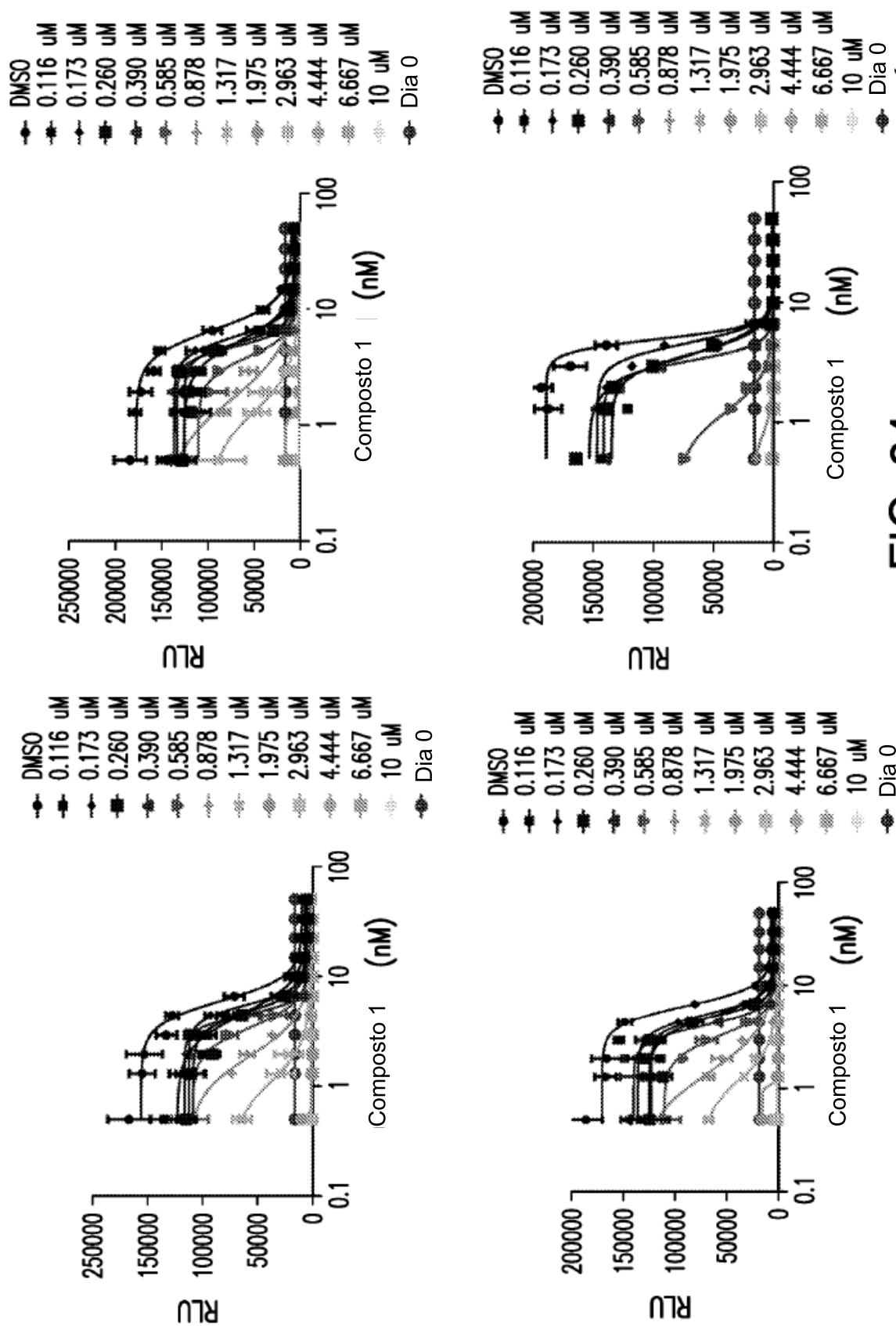


FIG. 84

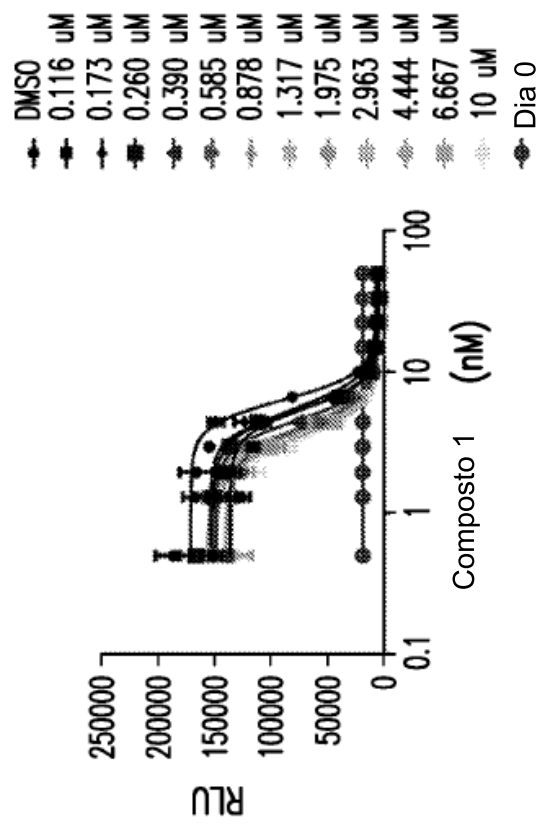
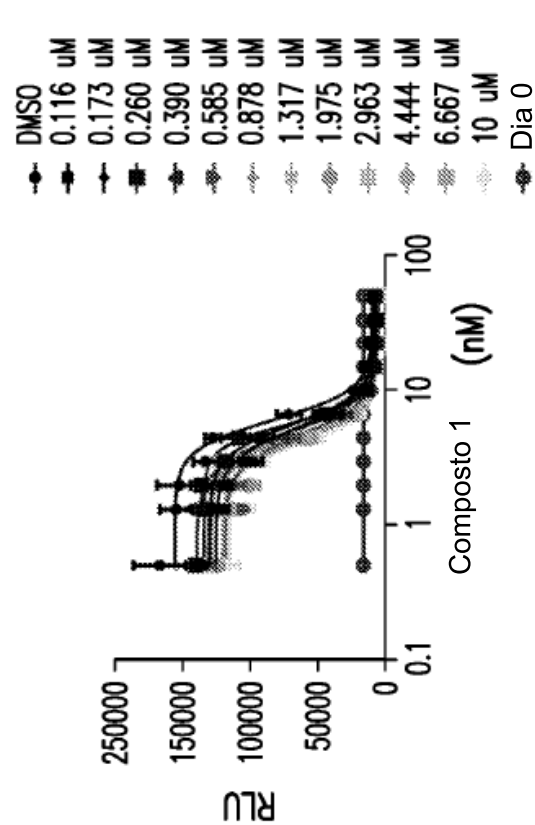
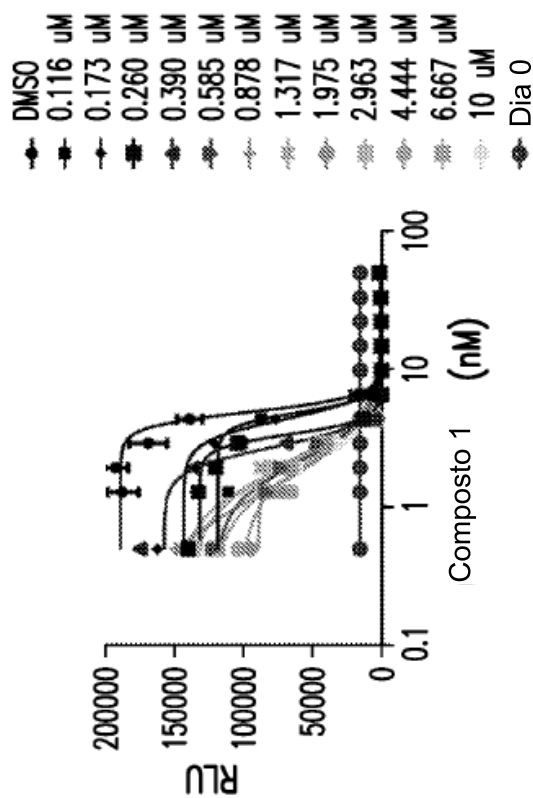
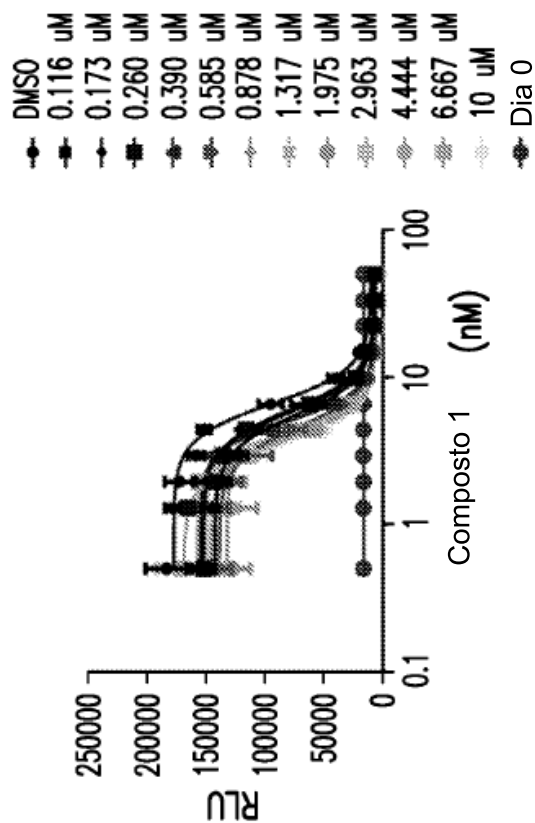


FIG. 85

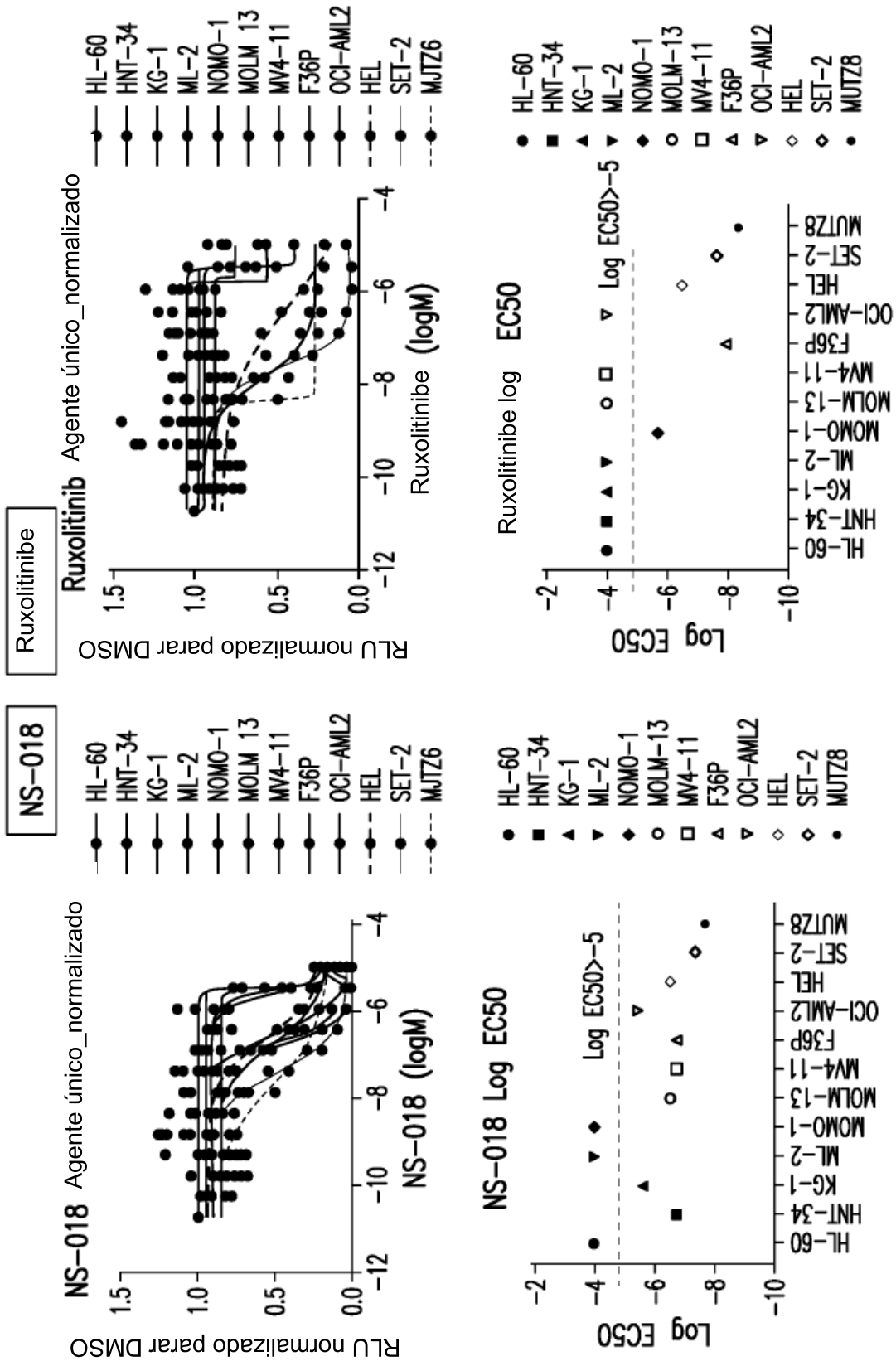


FIG. 86

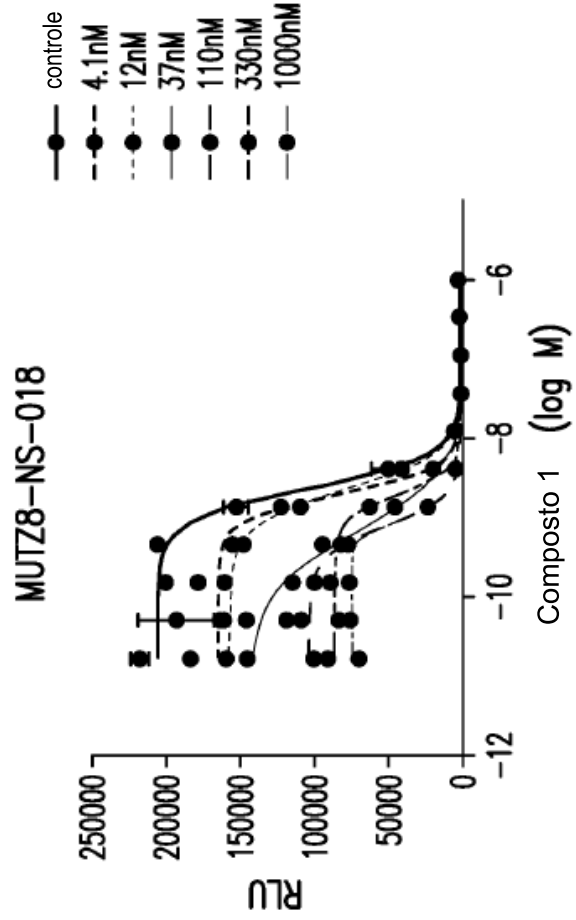
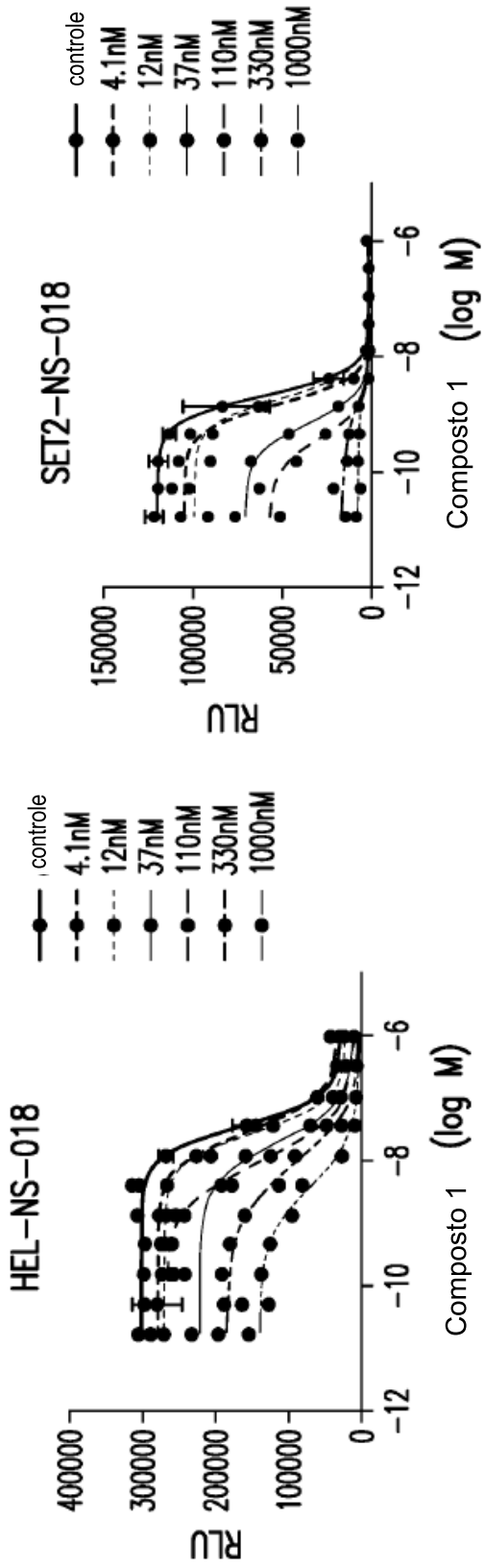


FIG. 87

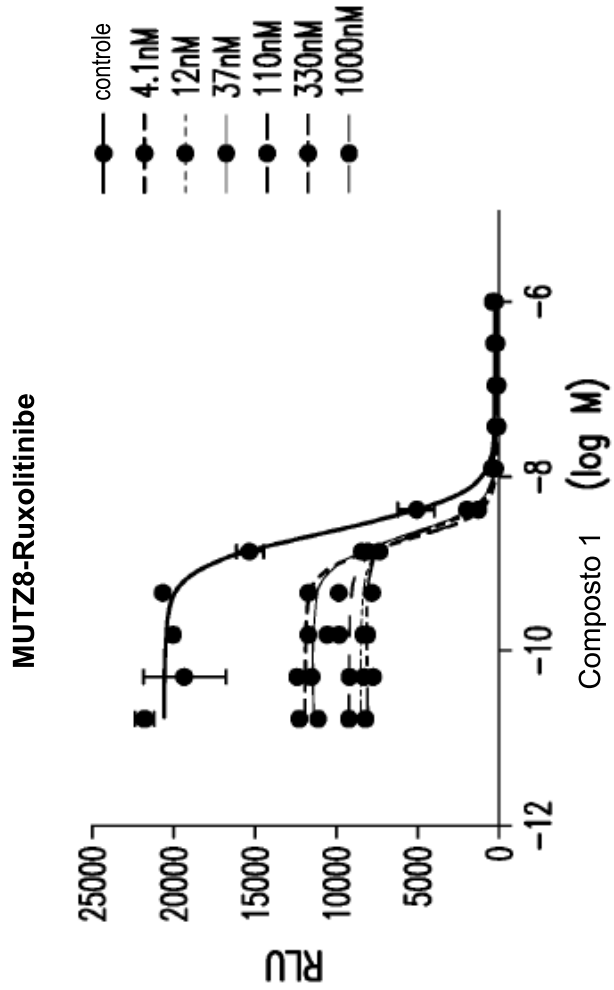
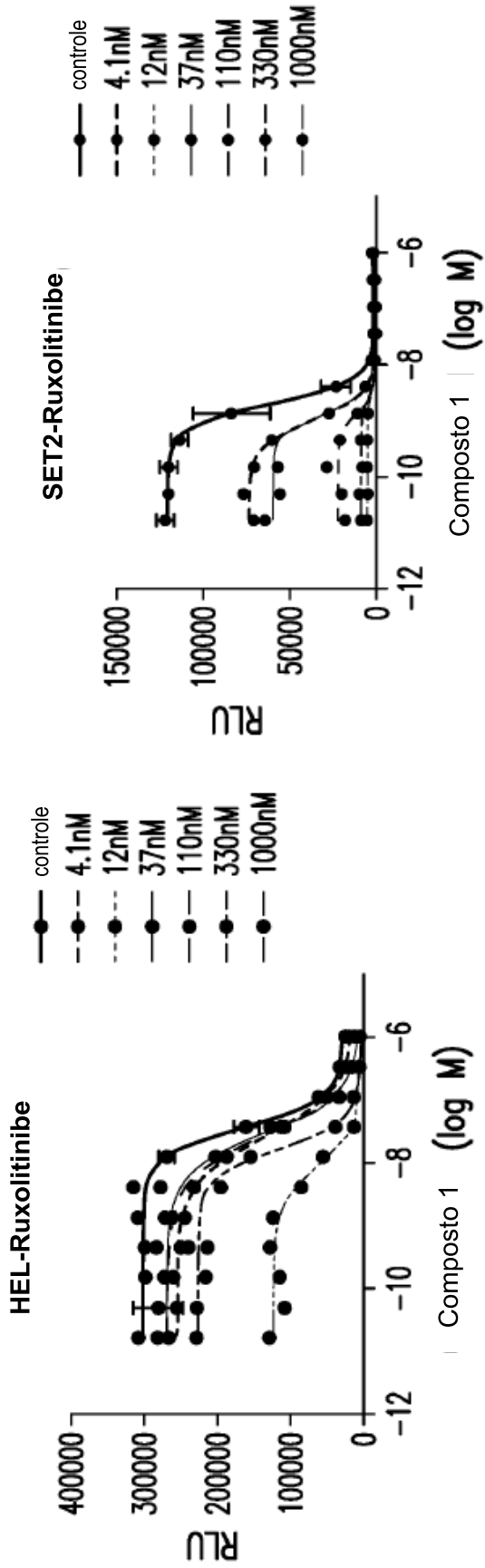


FIG. 88

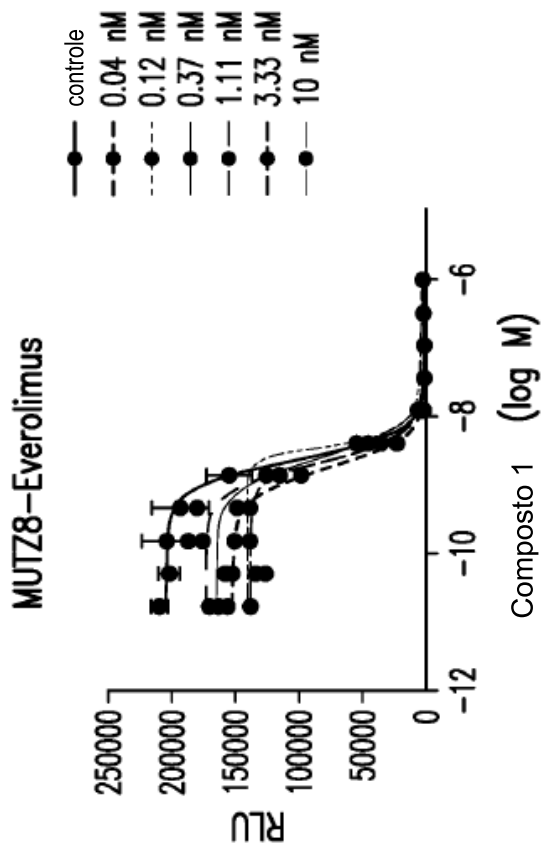
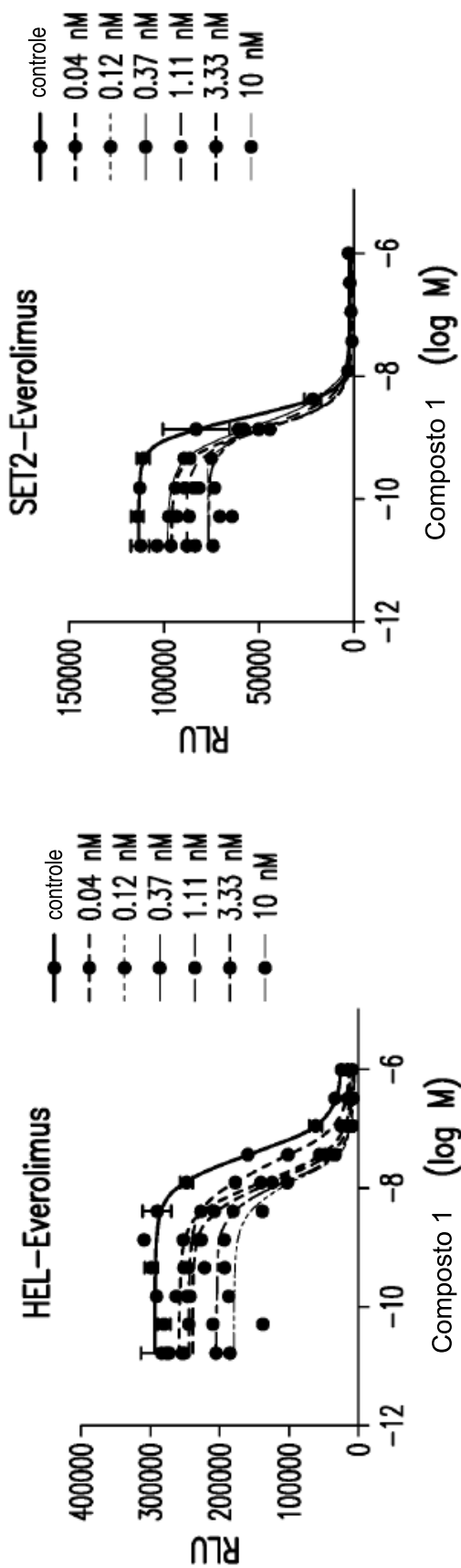


FIG. 89

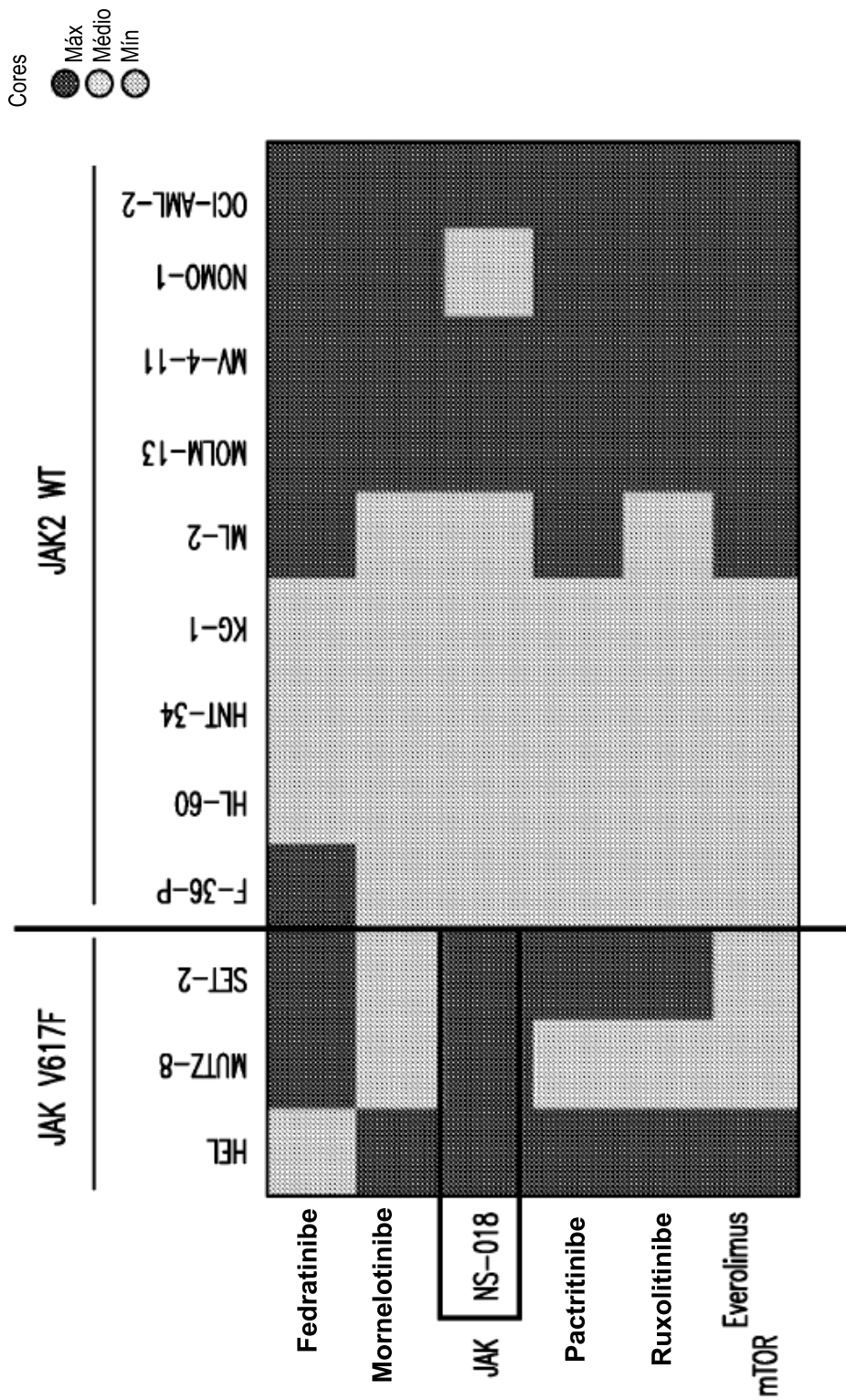


FIG. 90

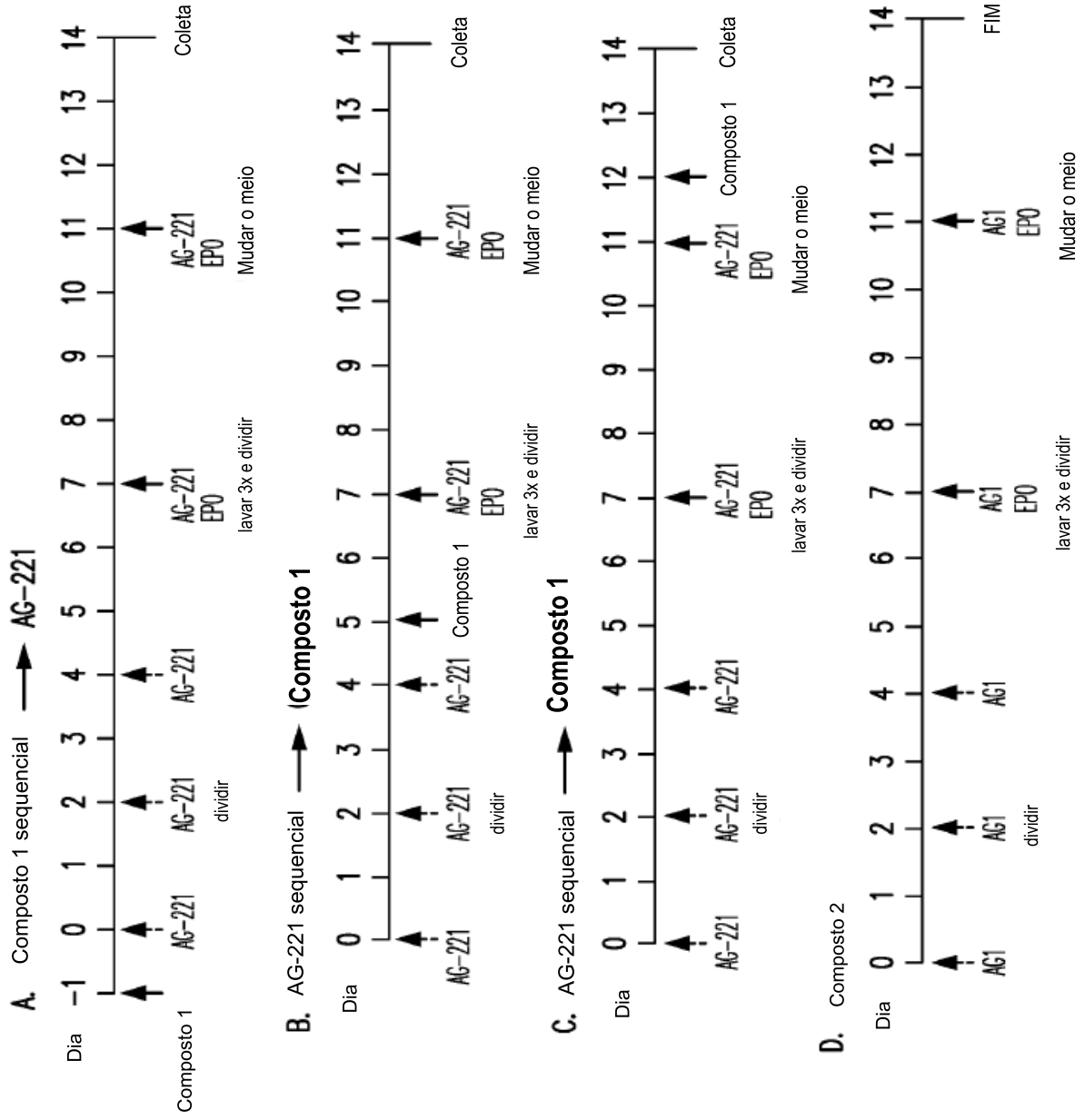


FIG. 91

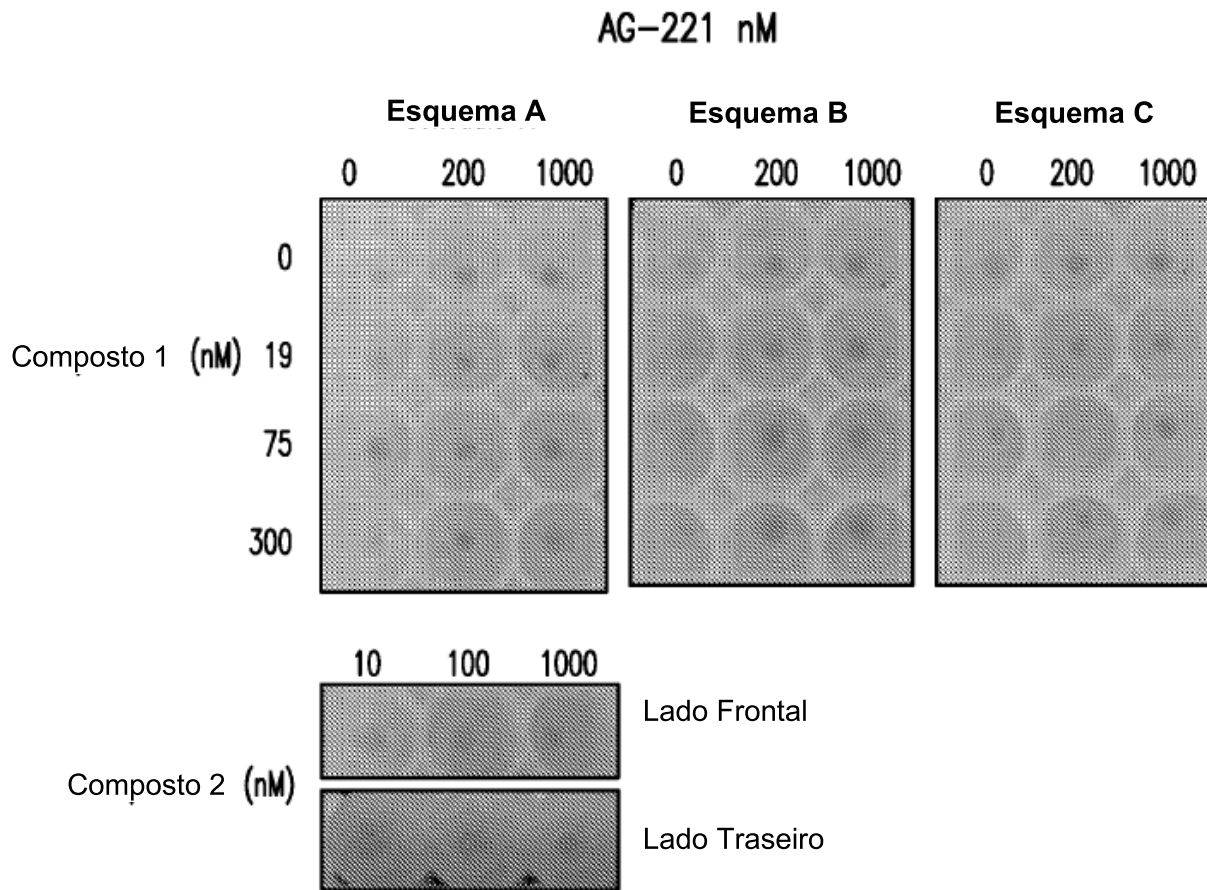


FIG. 92

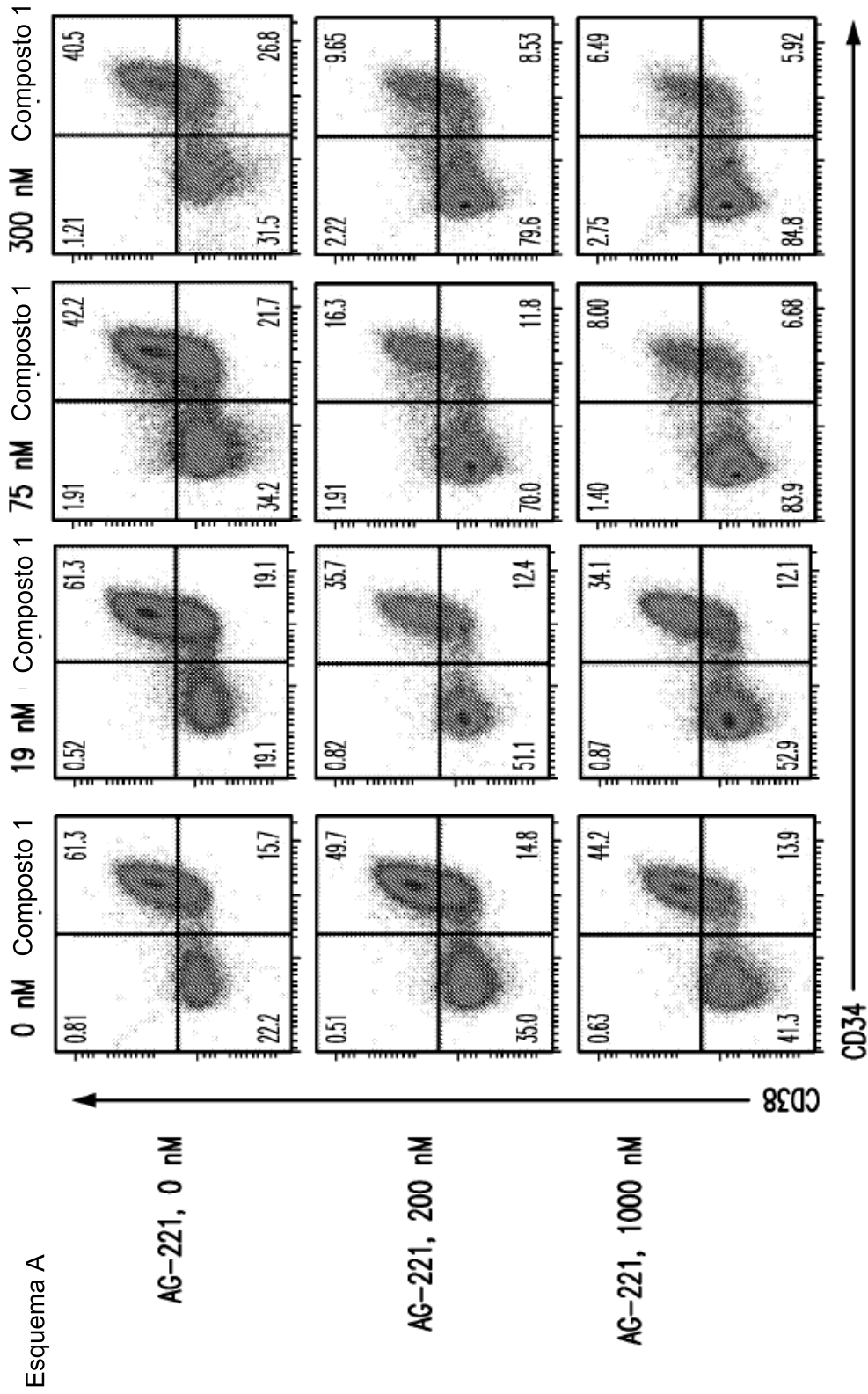


FIG. 93

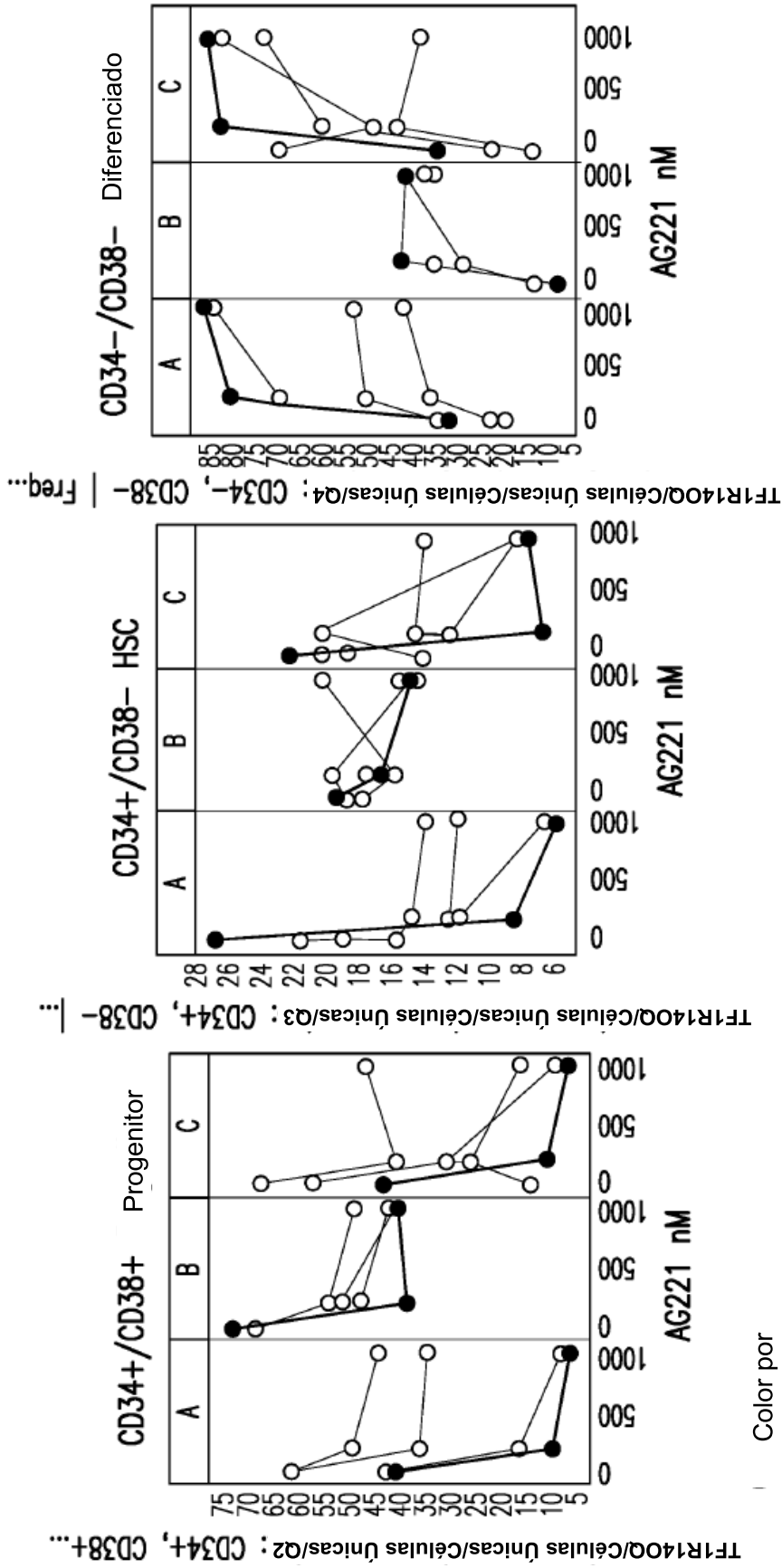


FIG. 94

Color por
Composto 1 nM
● Max (300.00)
○ Min (0.00)

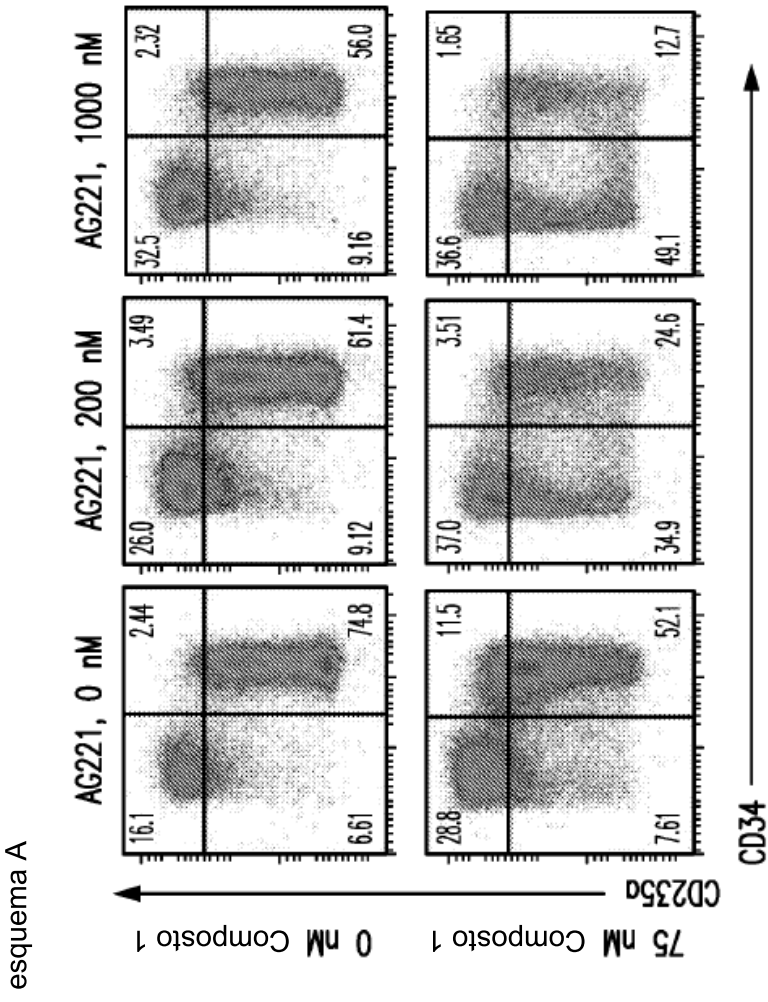
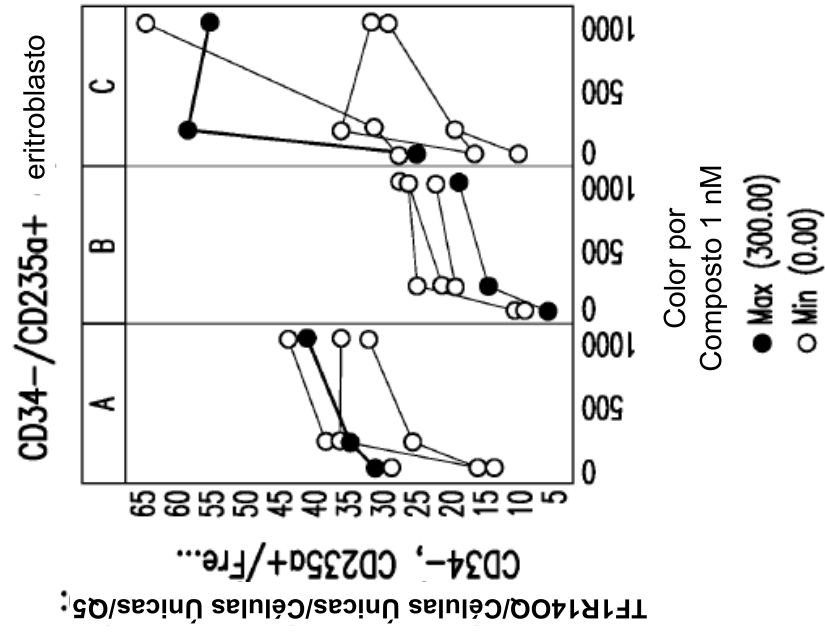


FIG. 95

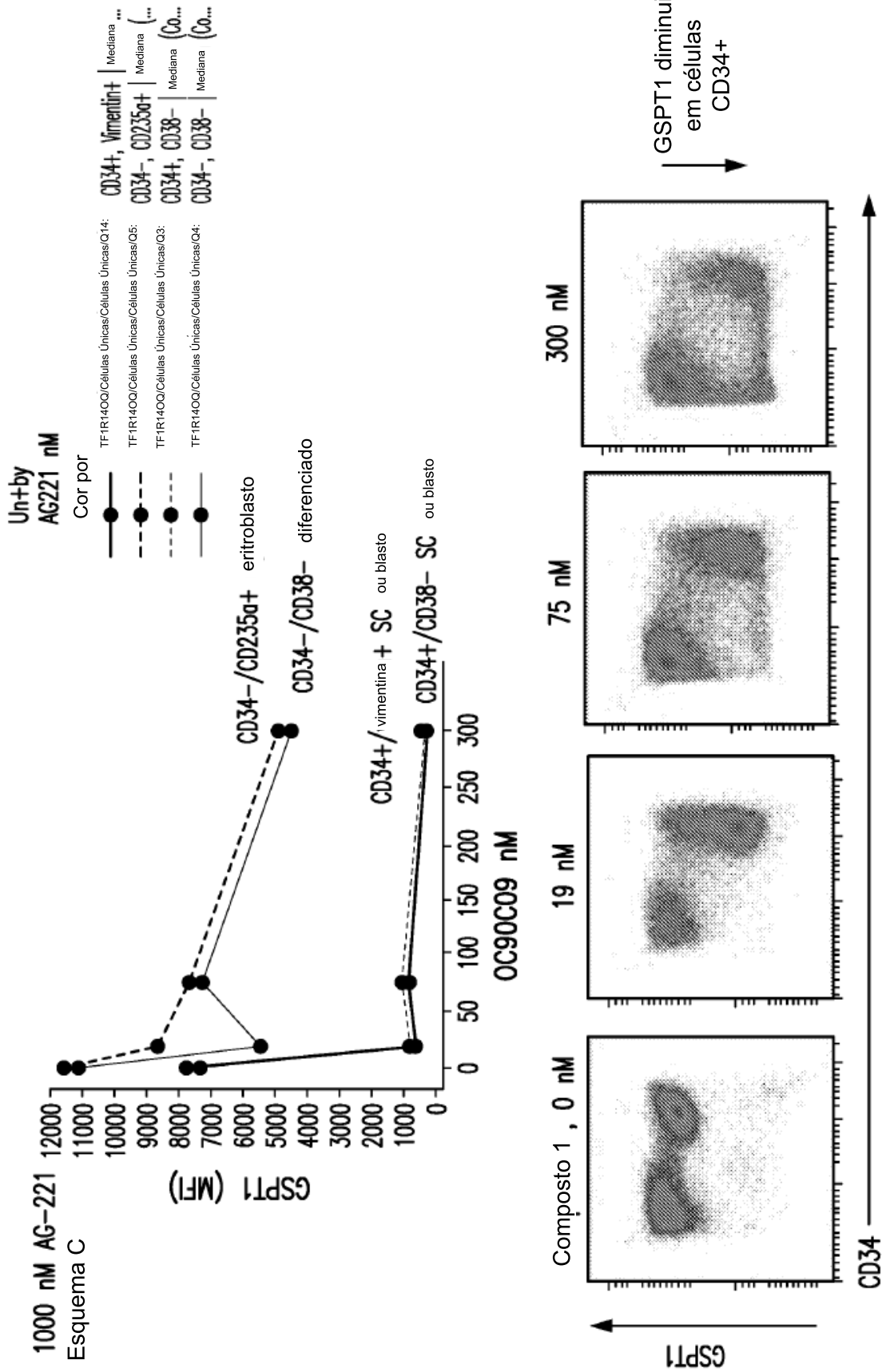


FIG. 96

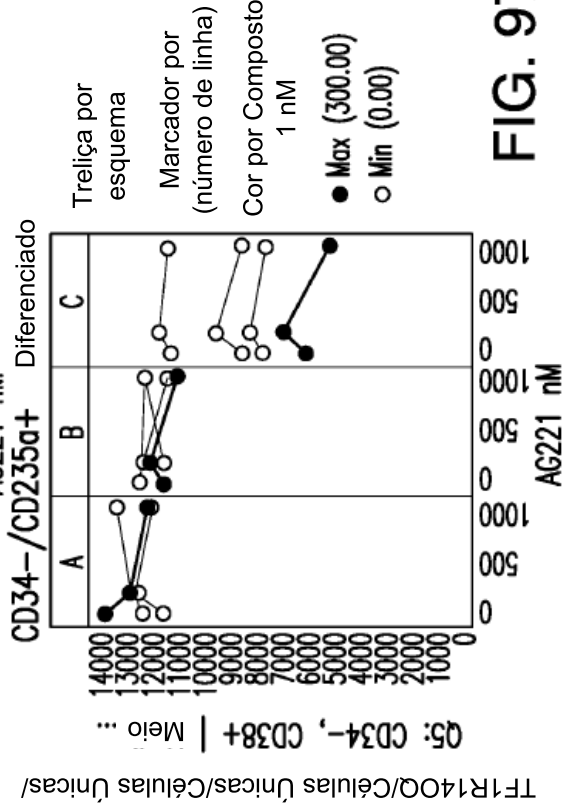
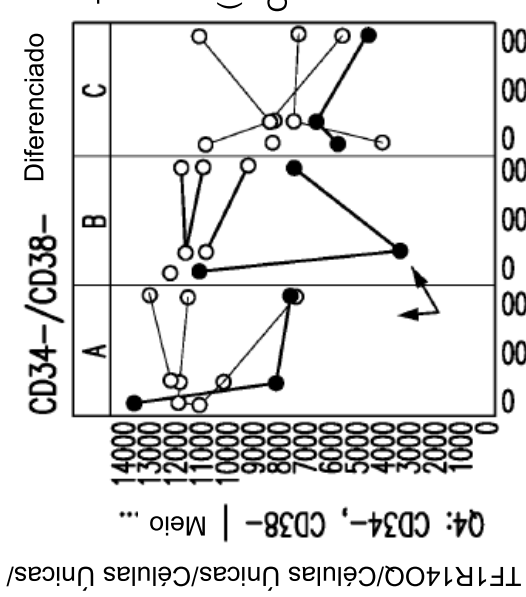
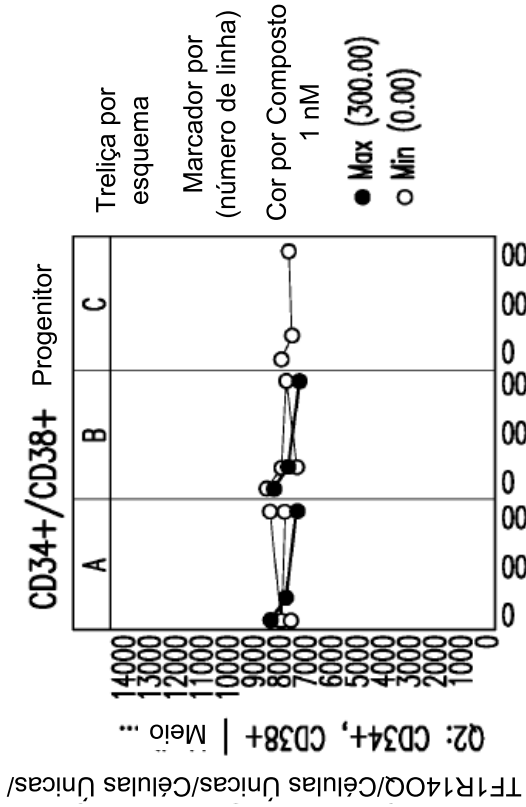
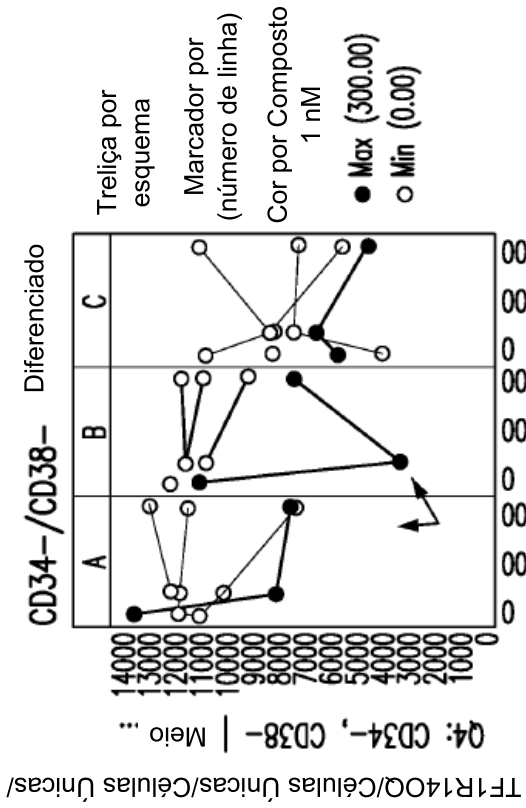


FIG. 97

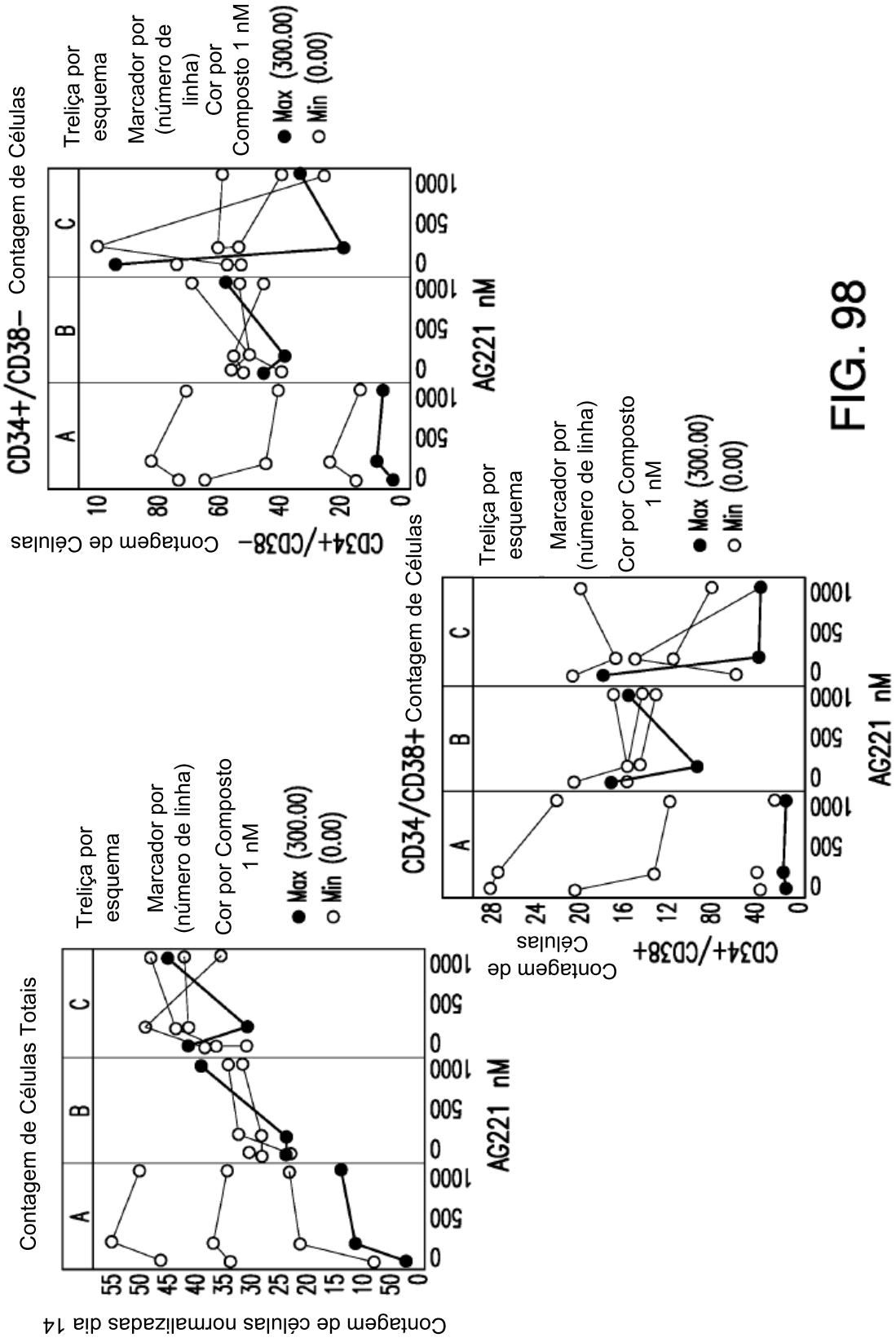


FIG. 98

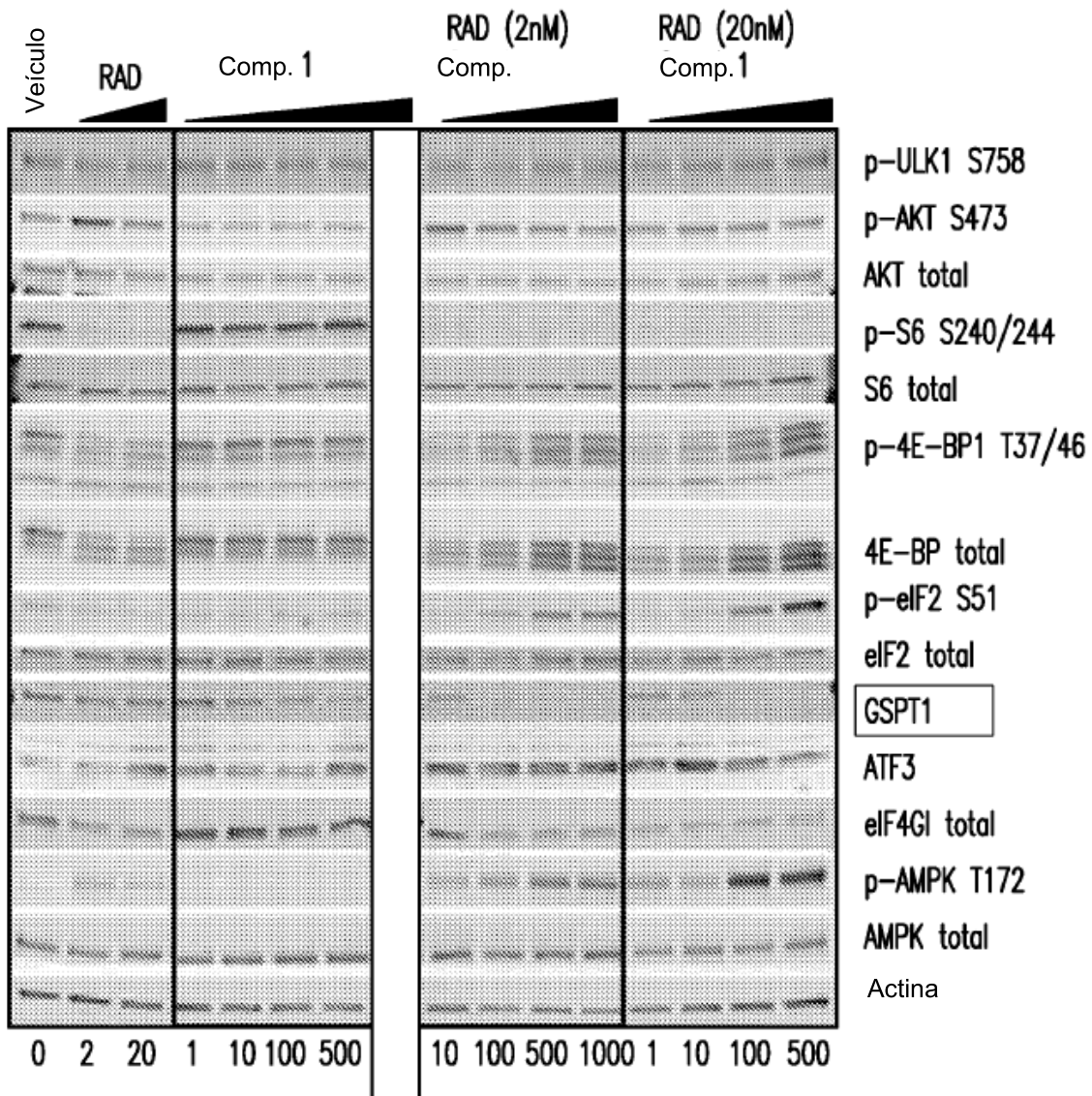


FIG. 99

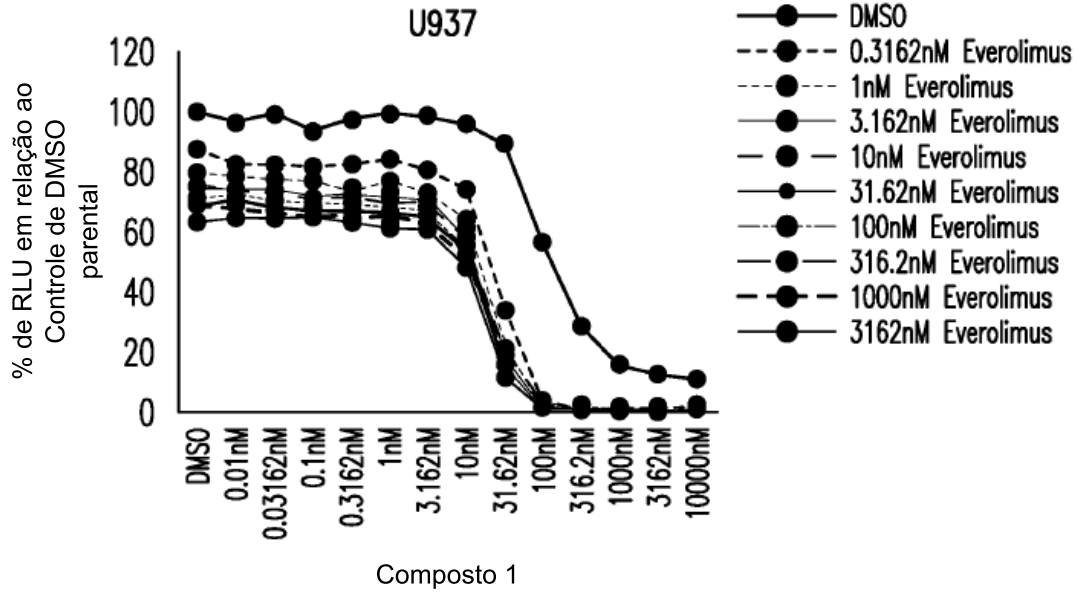


FIG. 100A

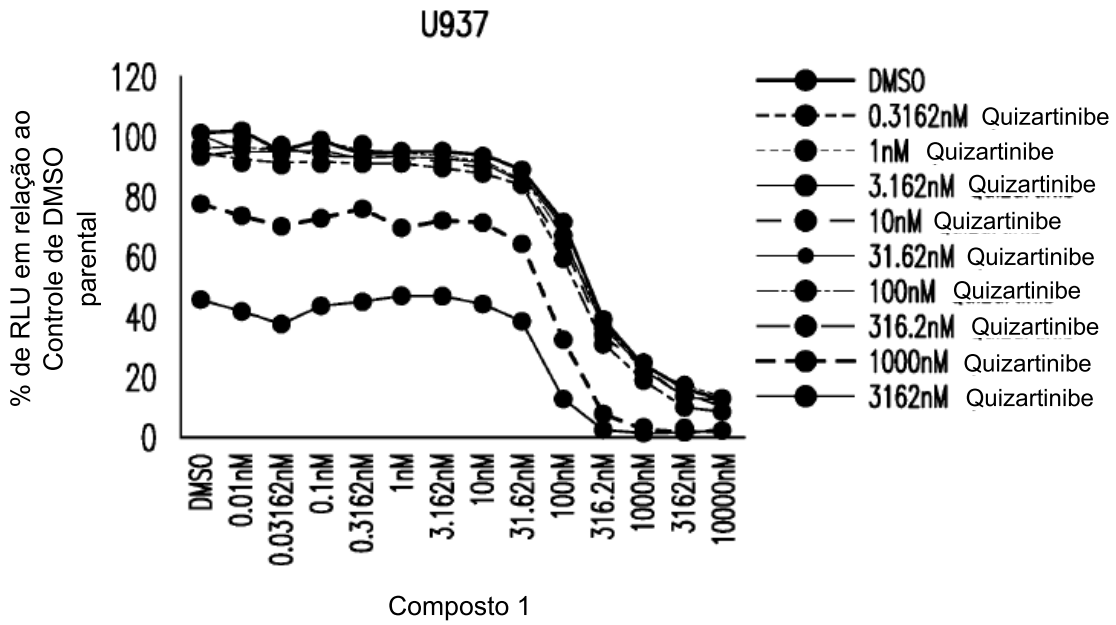
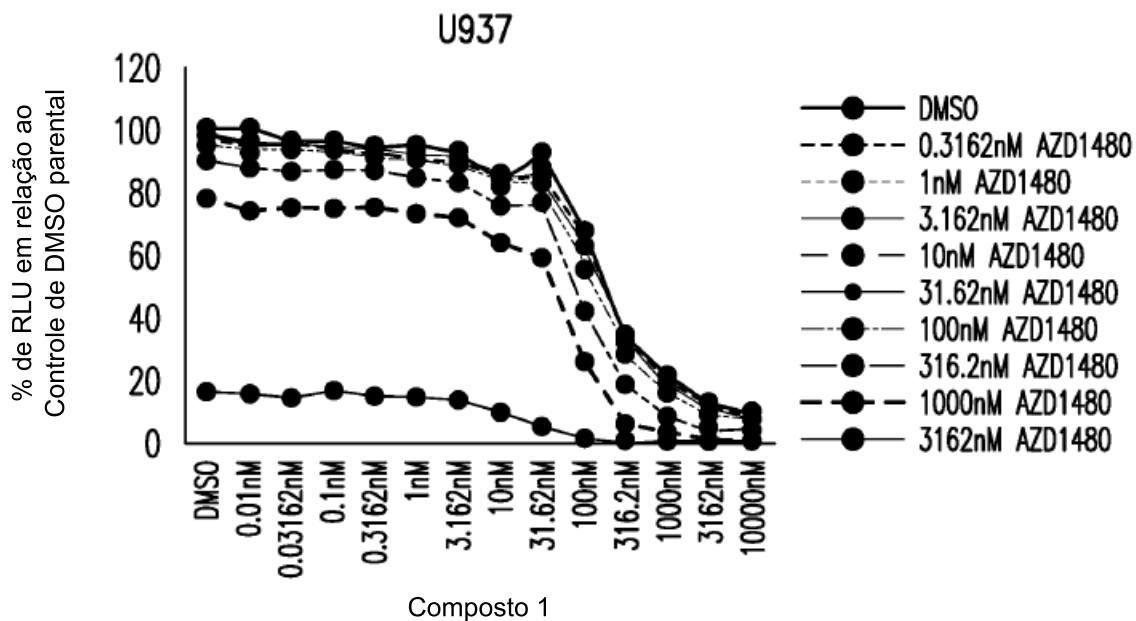
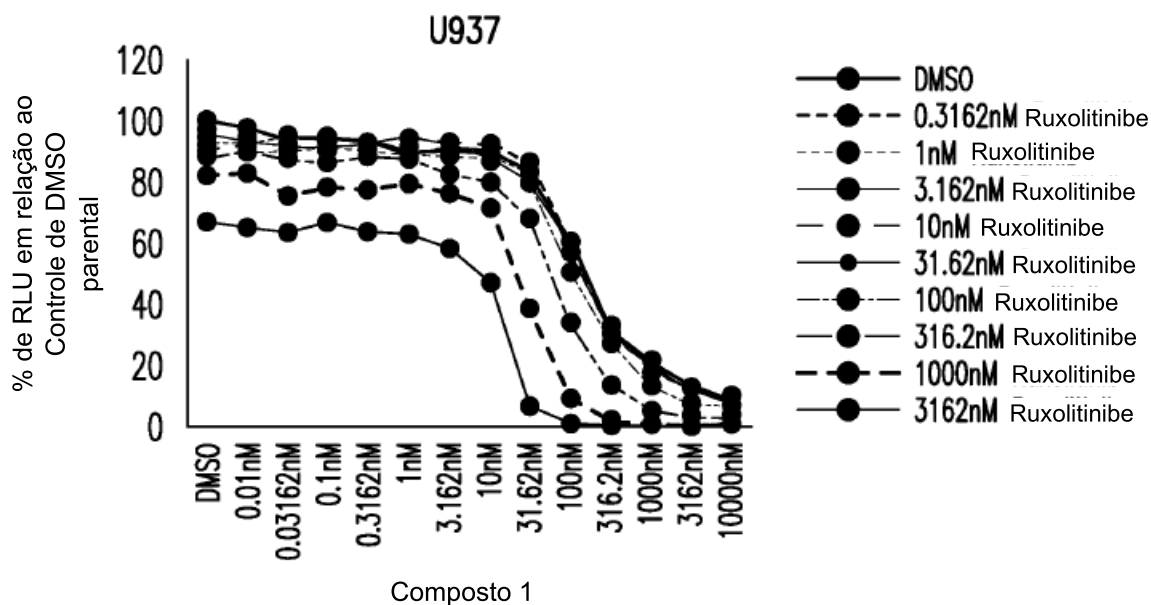
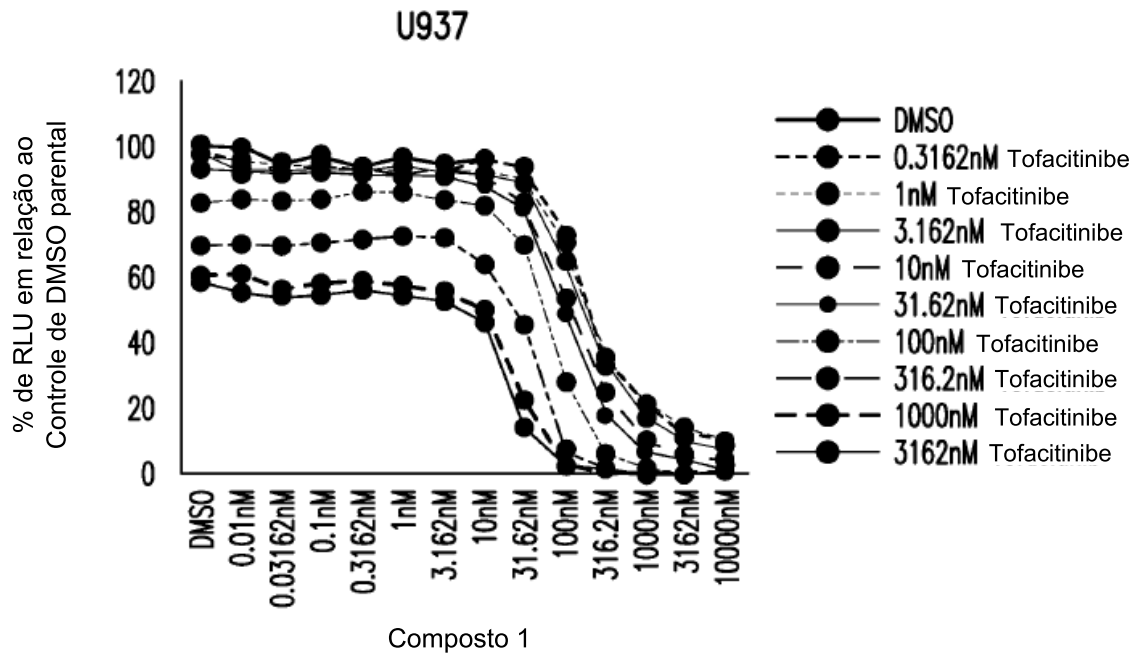


FIG. 100B



**FIG. 100E**

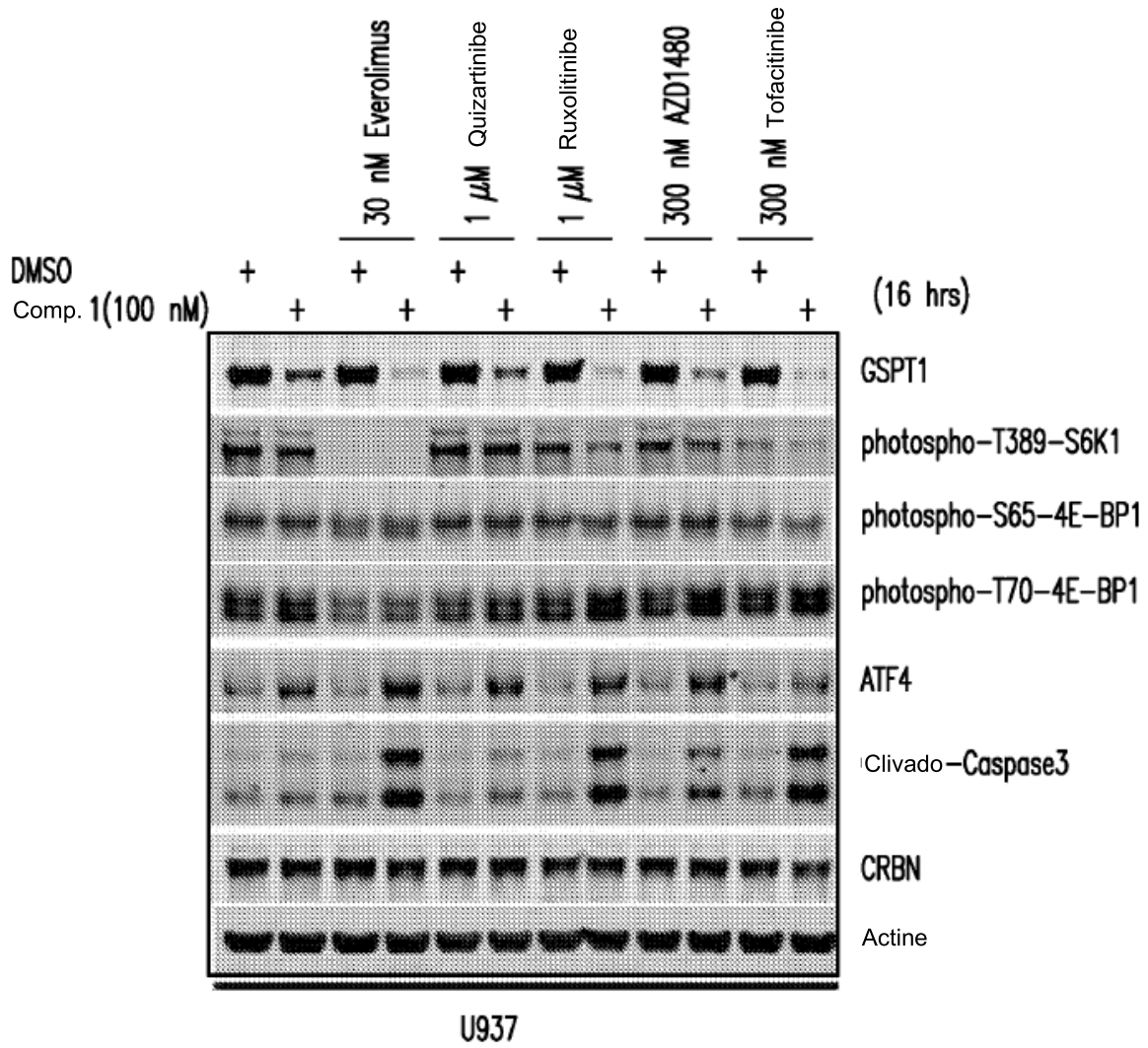


FIG. 101

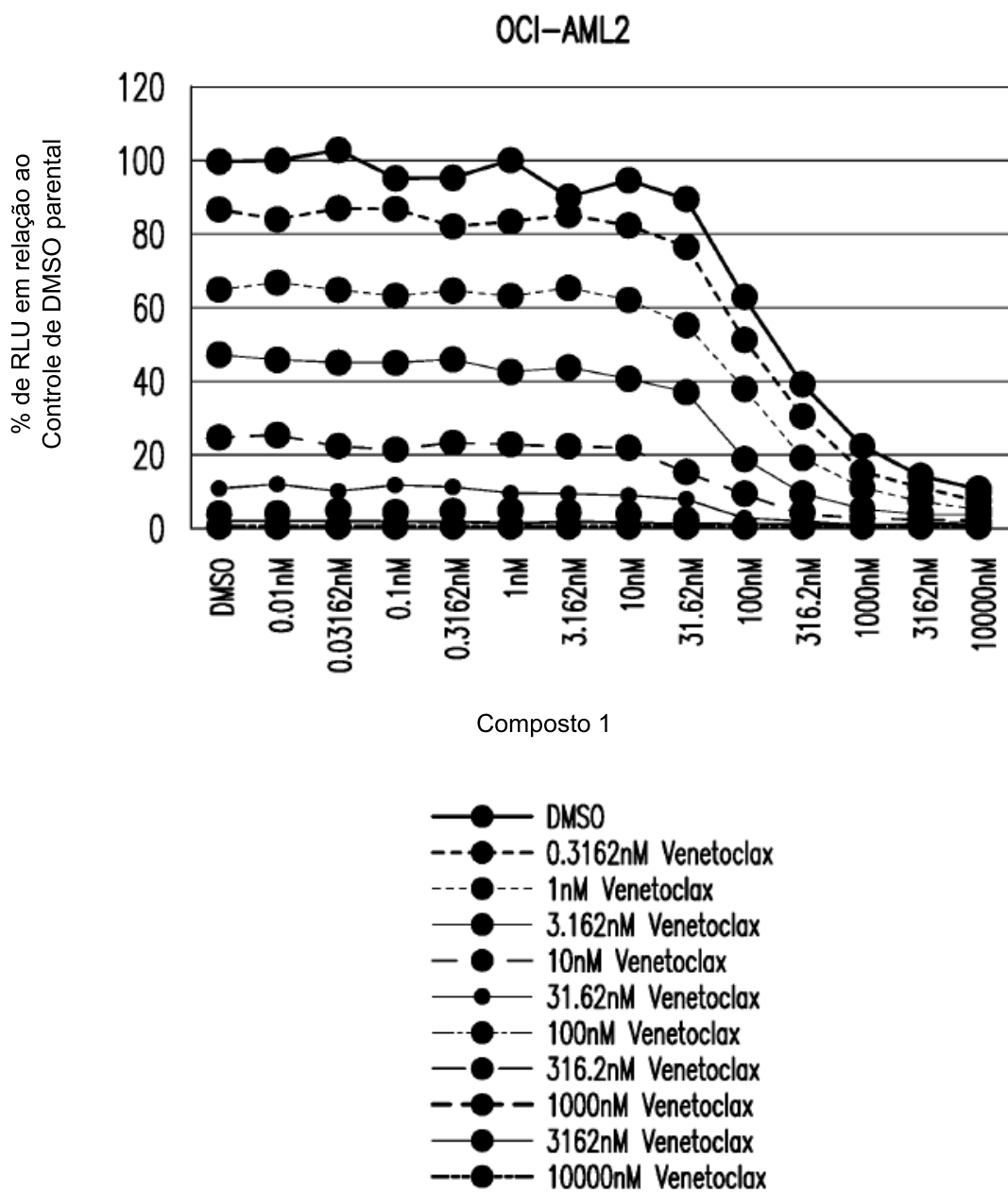


FIG. 102A

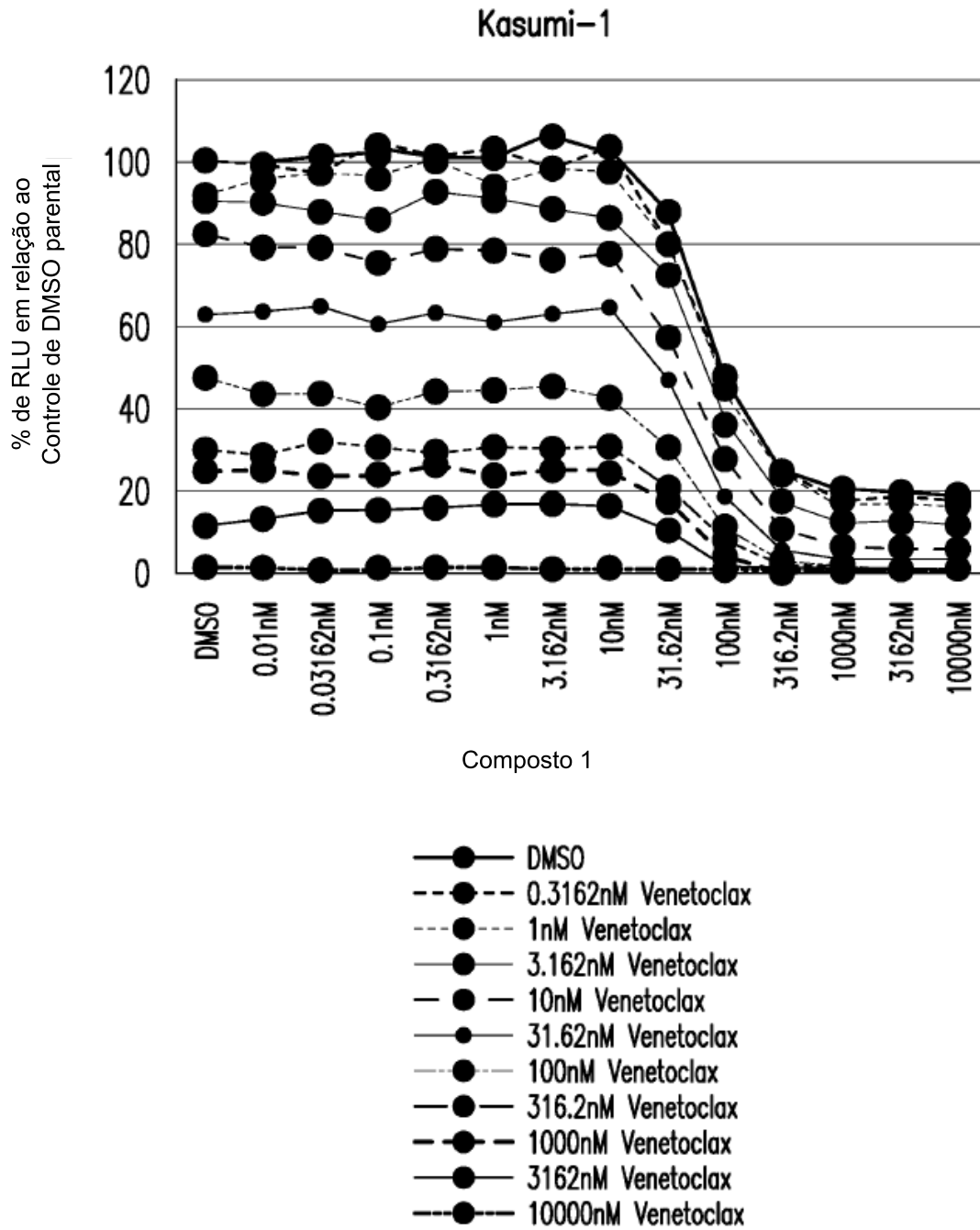


FIG. 102B

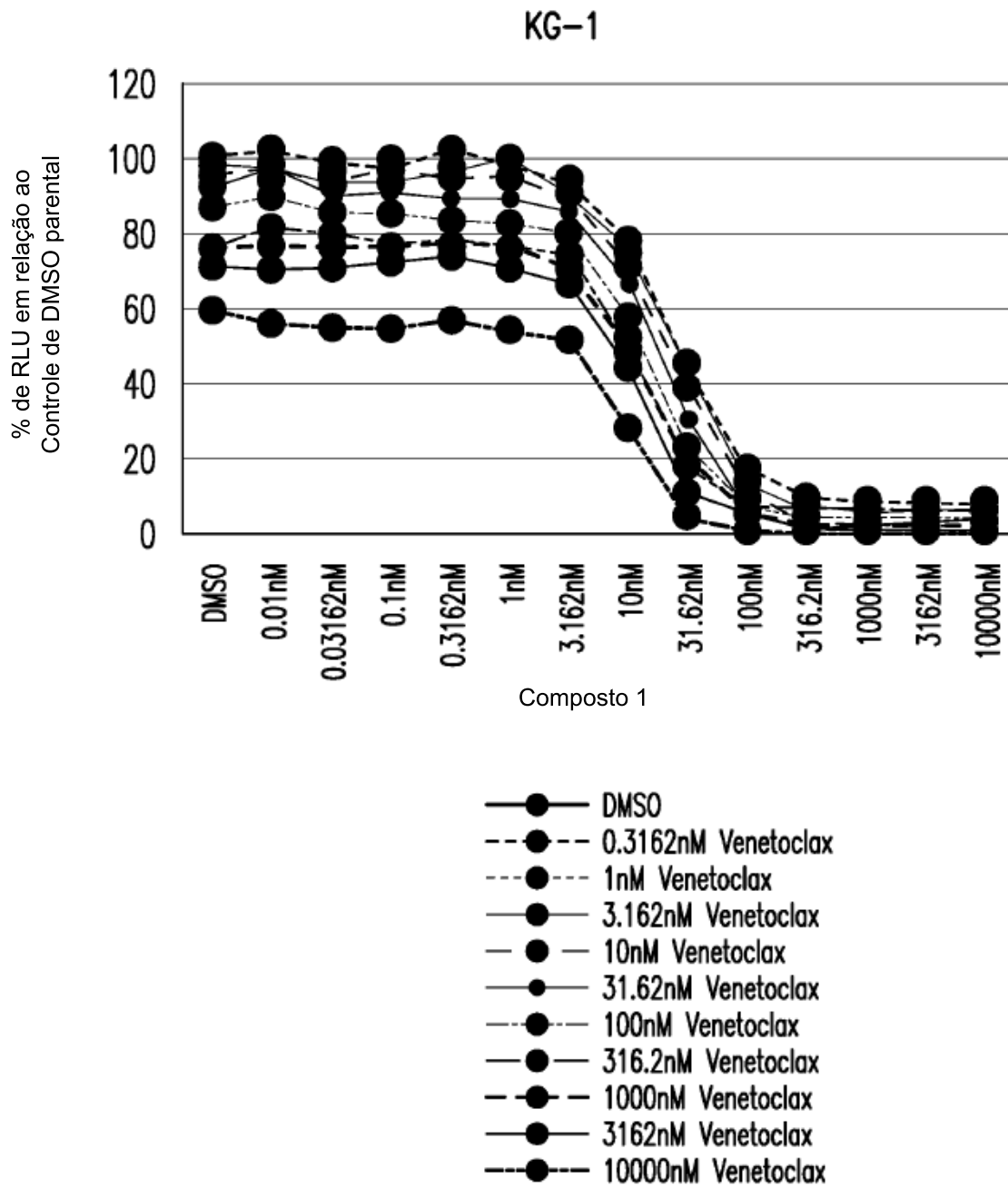


FIG. 102C

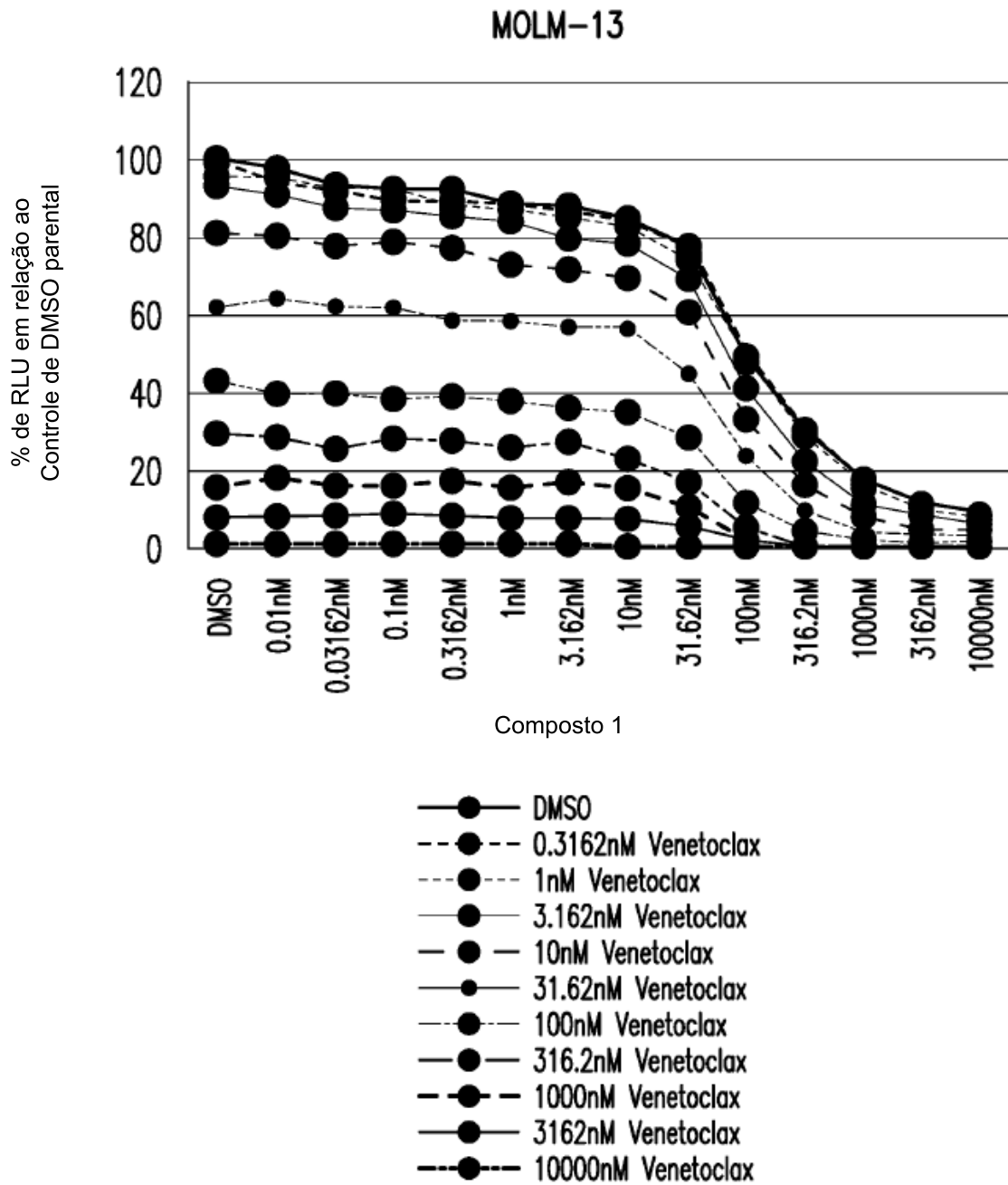


FIG. 102D

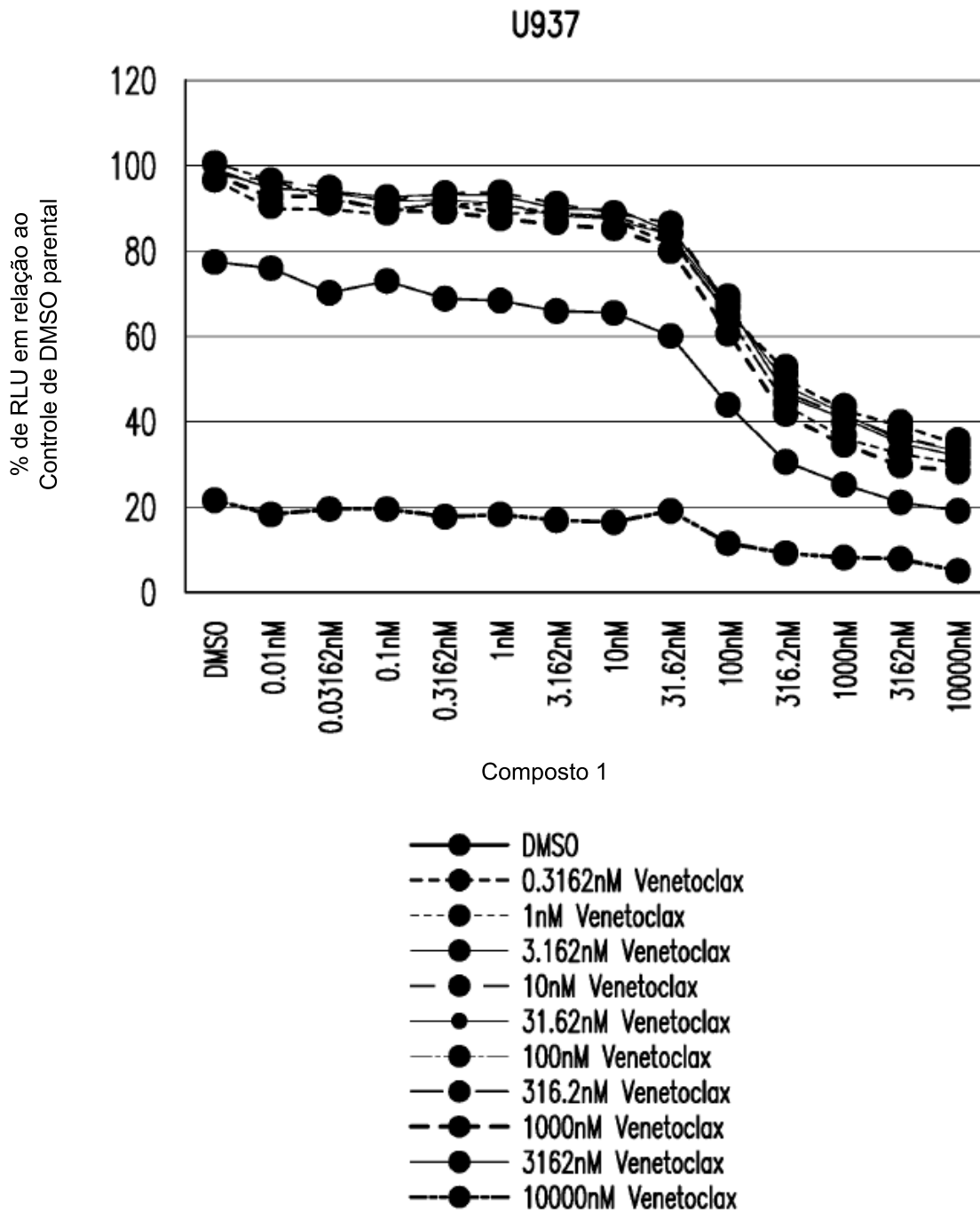


FIG. 102E

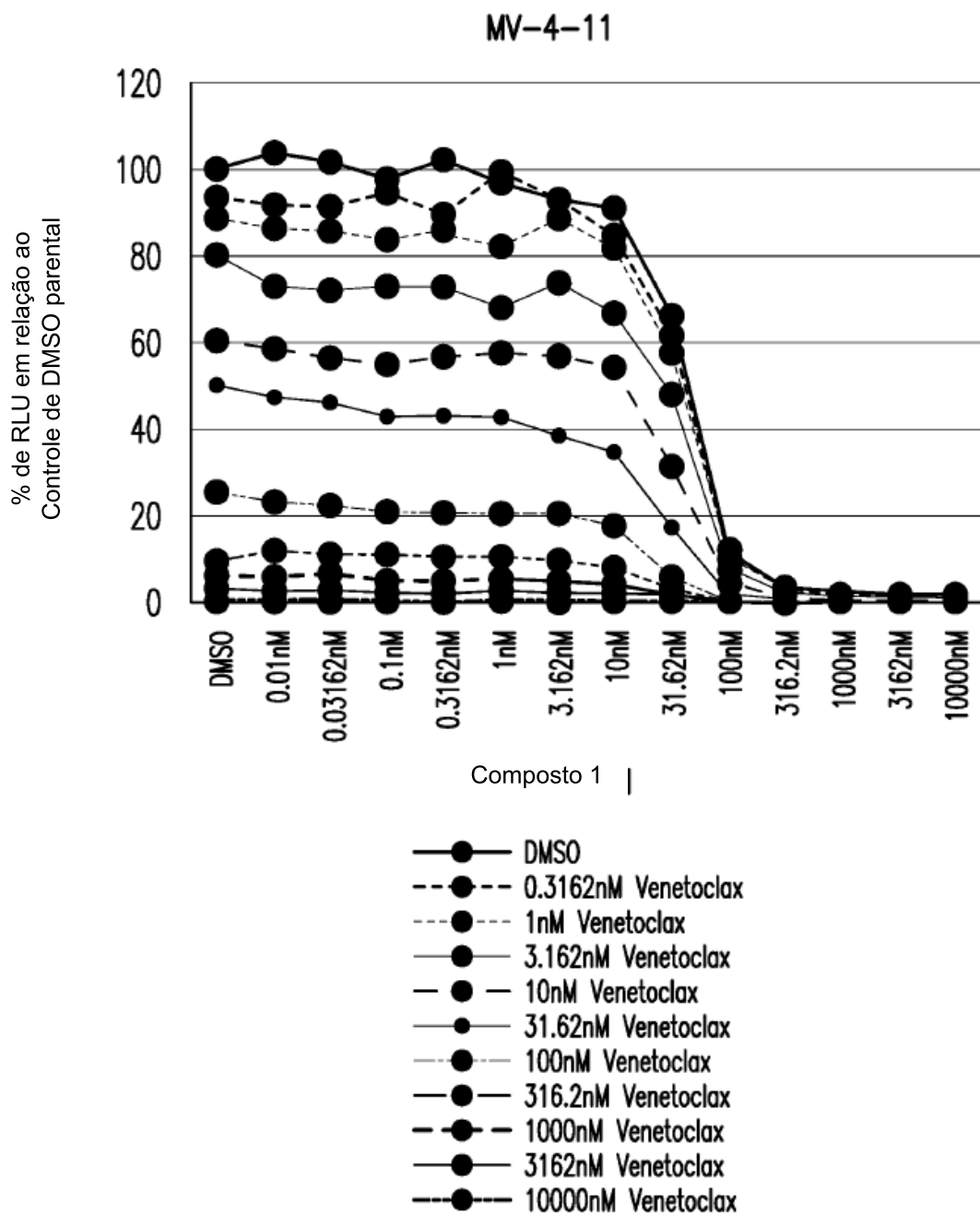


FIG. 102F

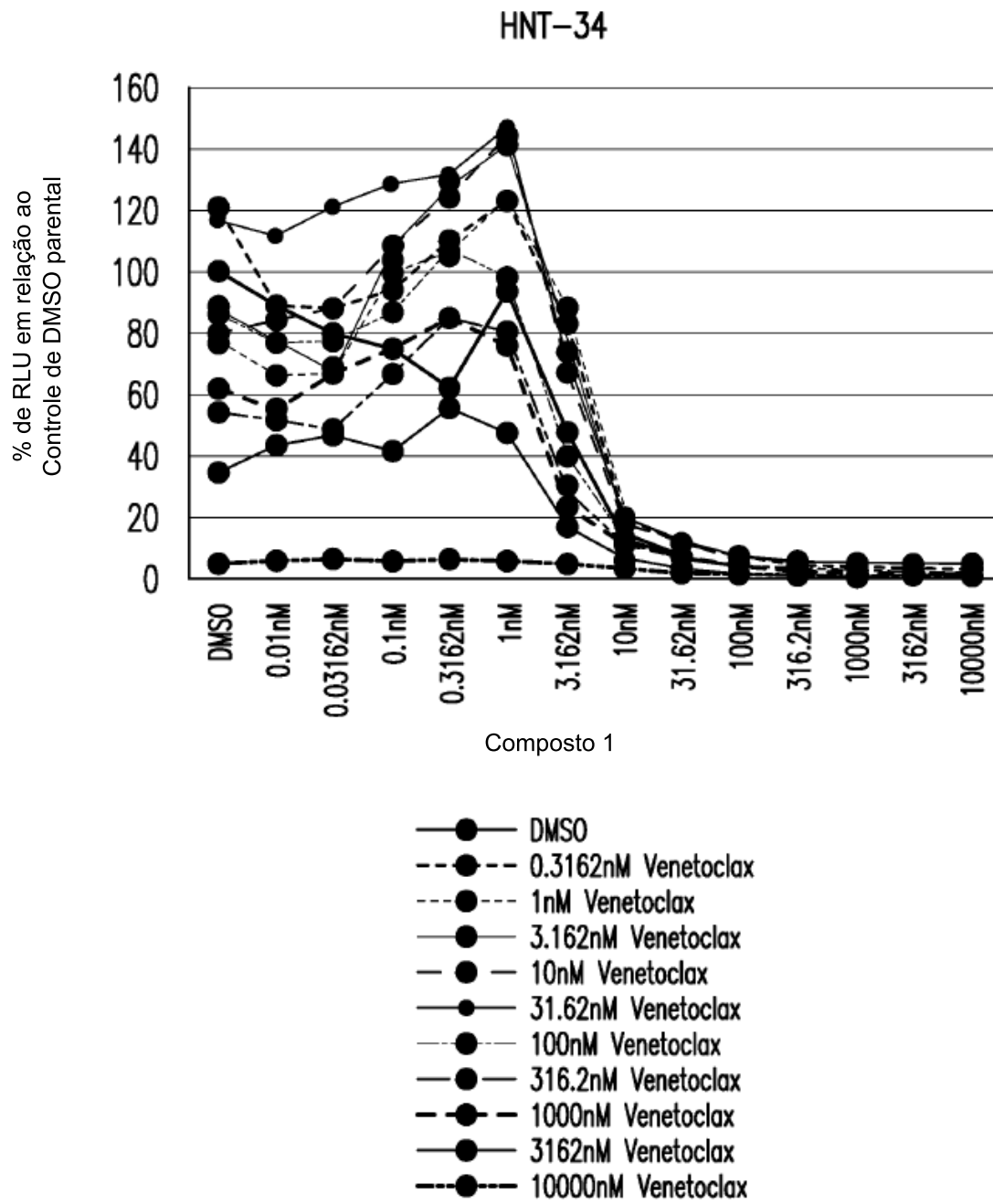


FIG. 102G

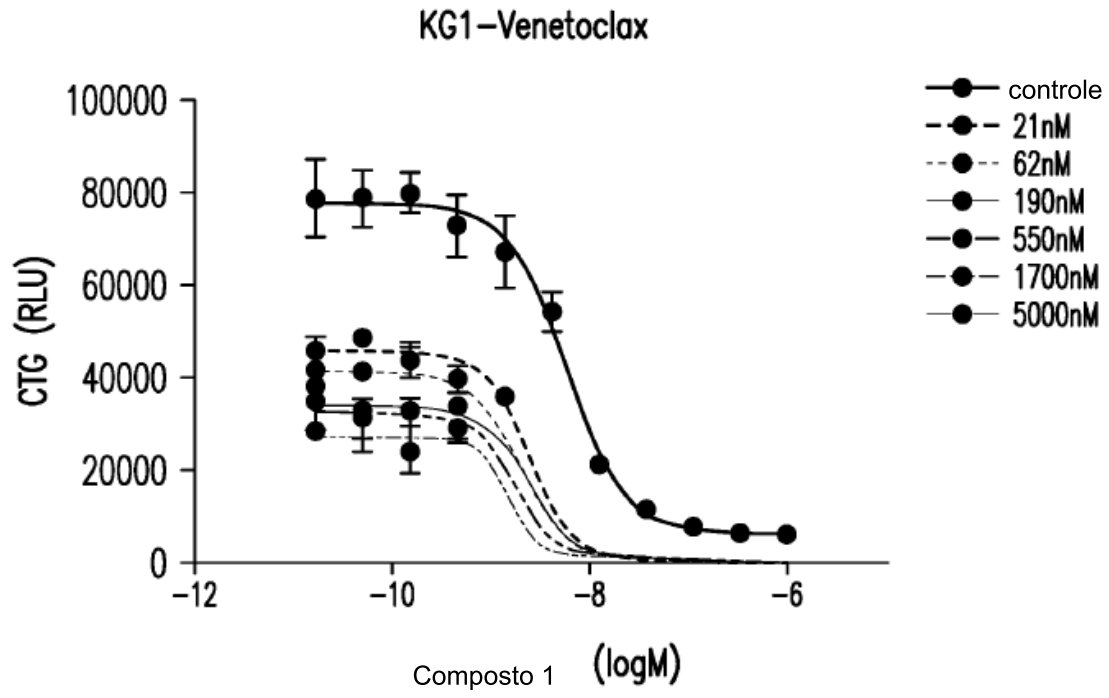


FIG. 103

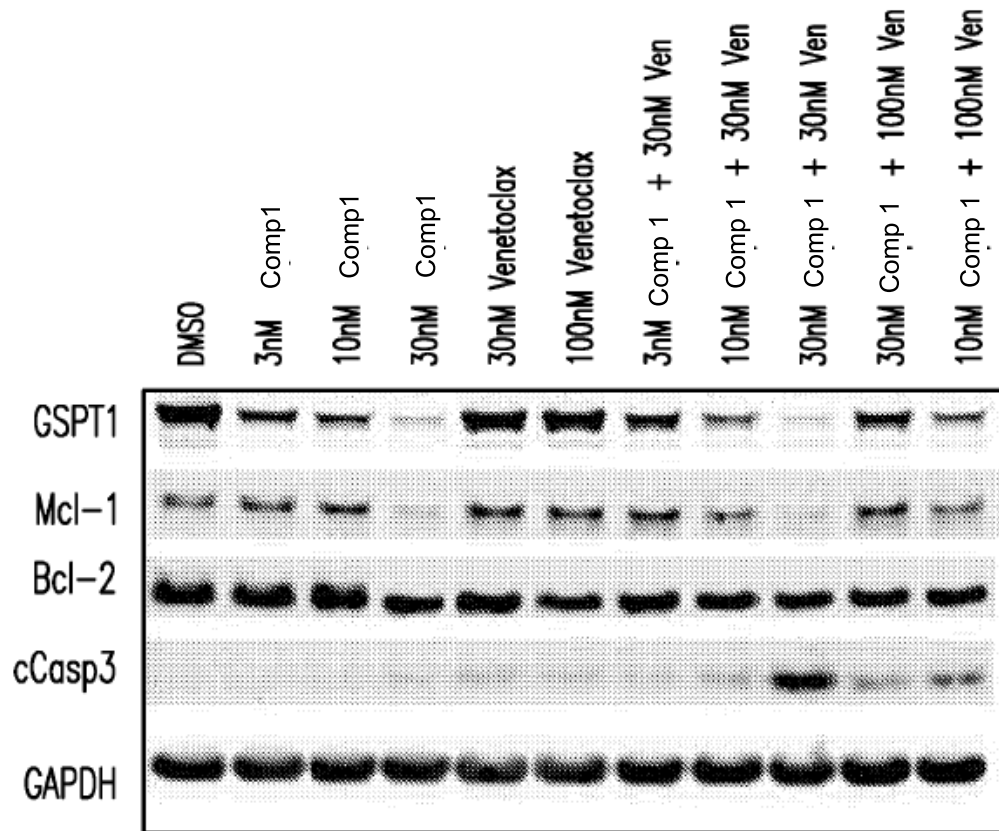


FIG. 104

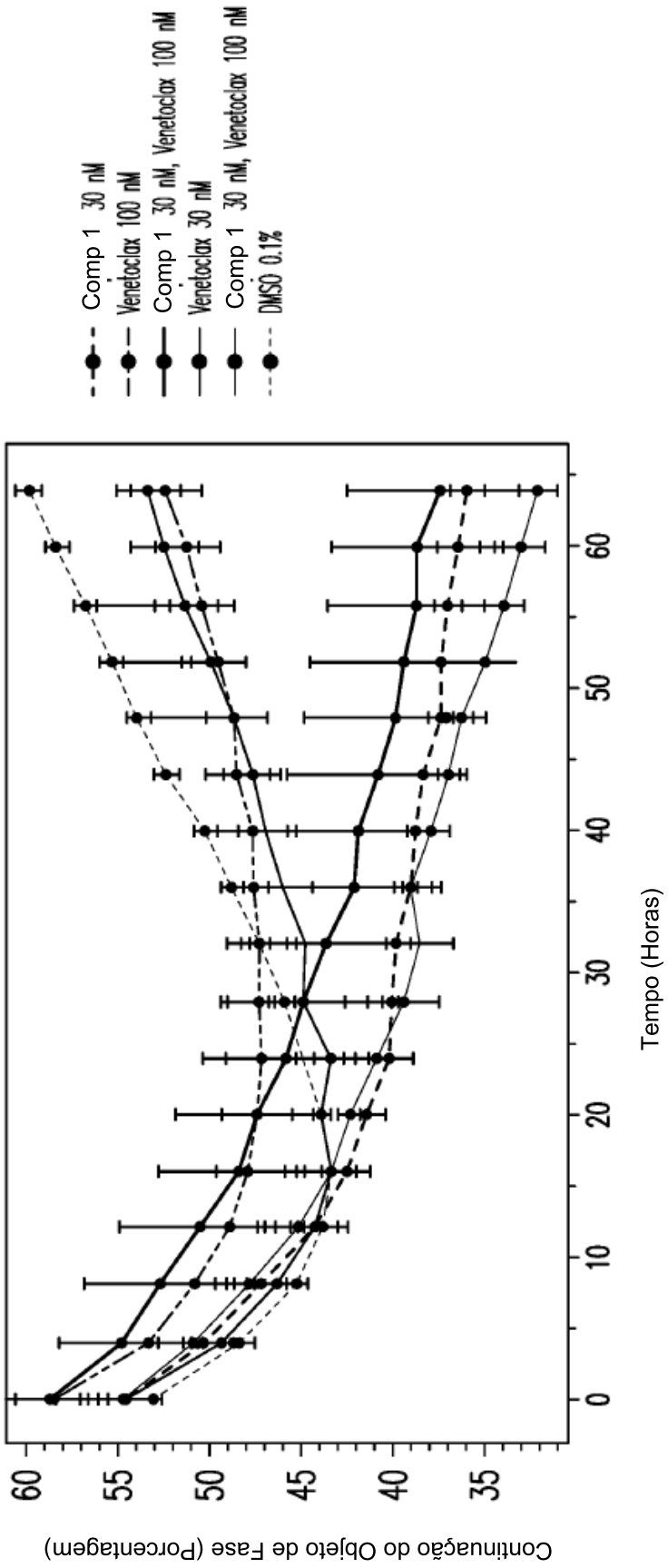


FIG. 105A

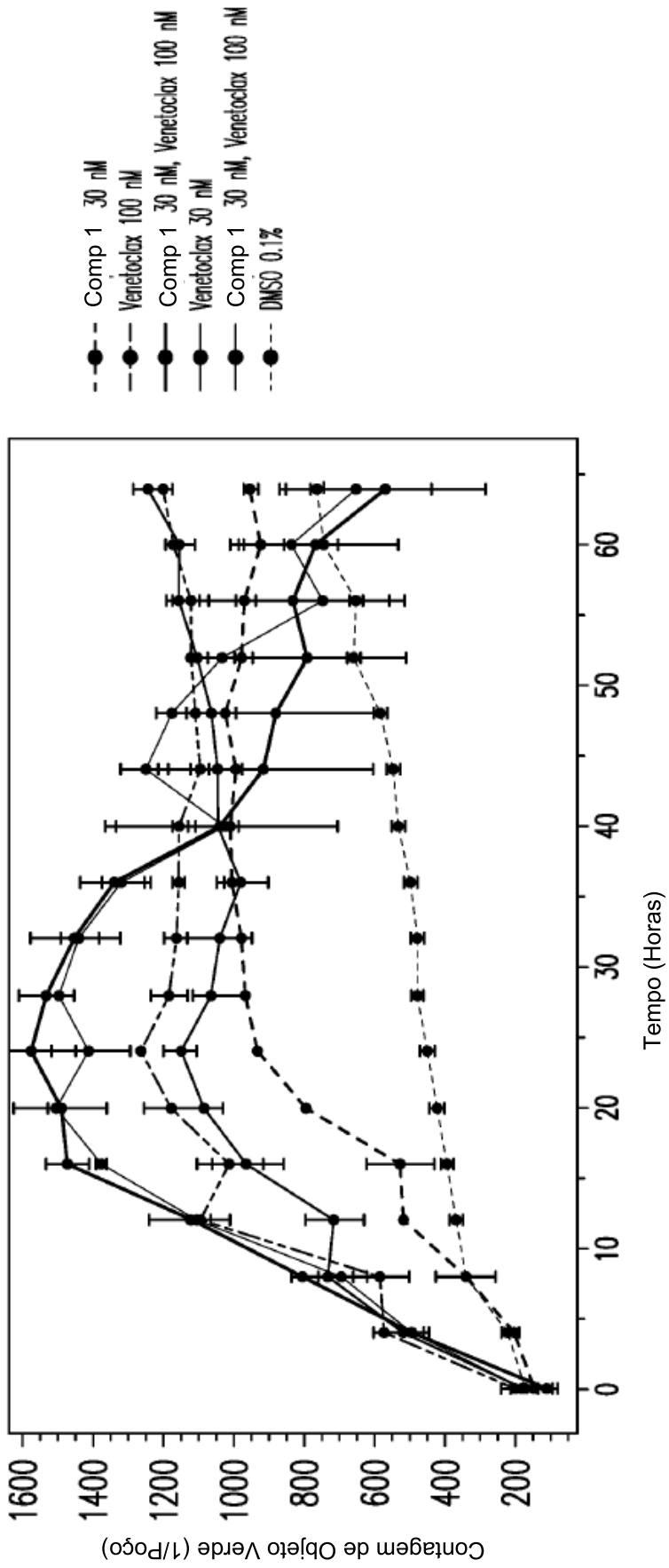


FIG. 105B

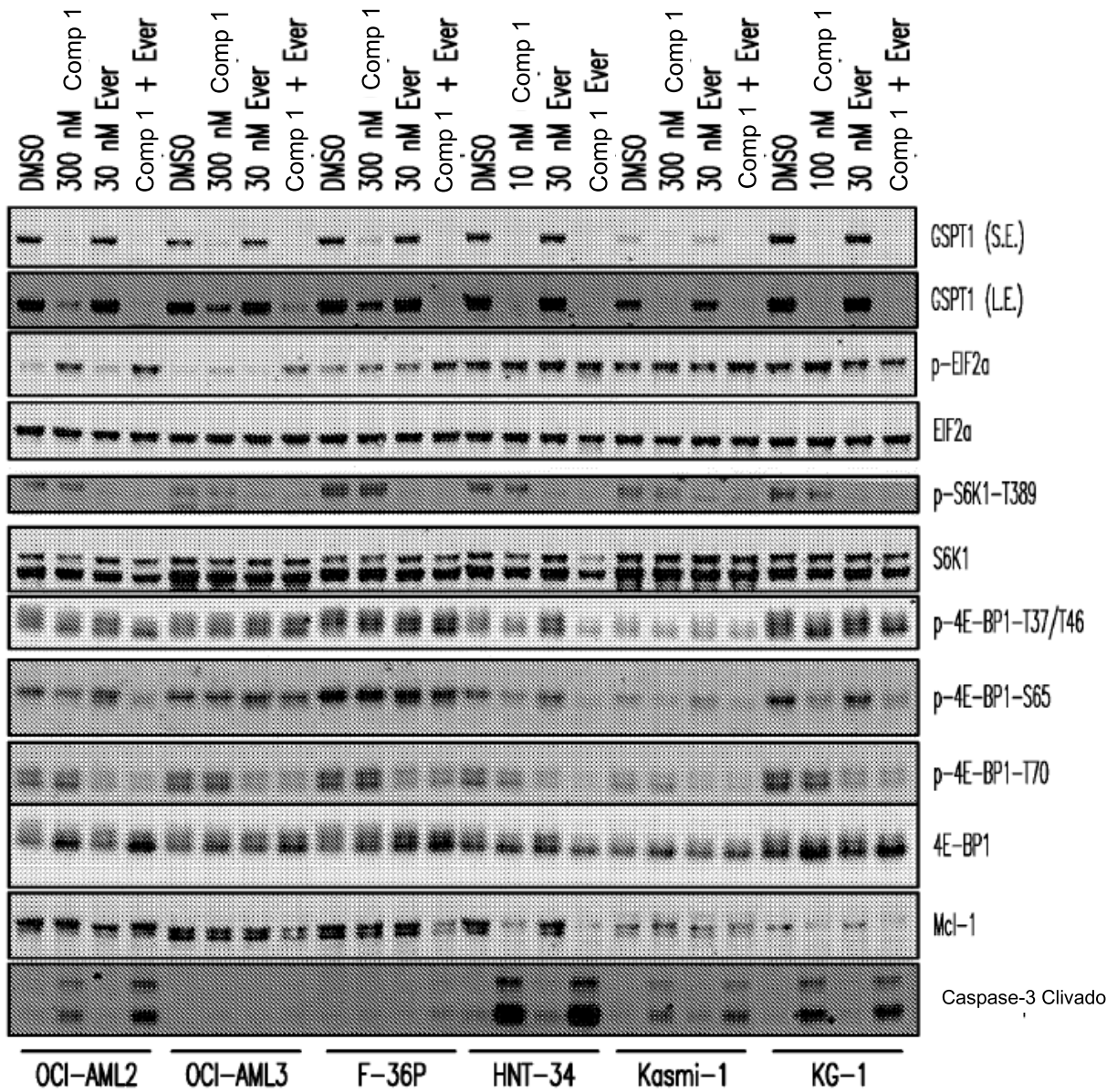


FIG. 106

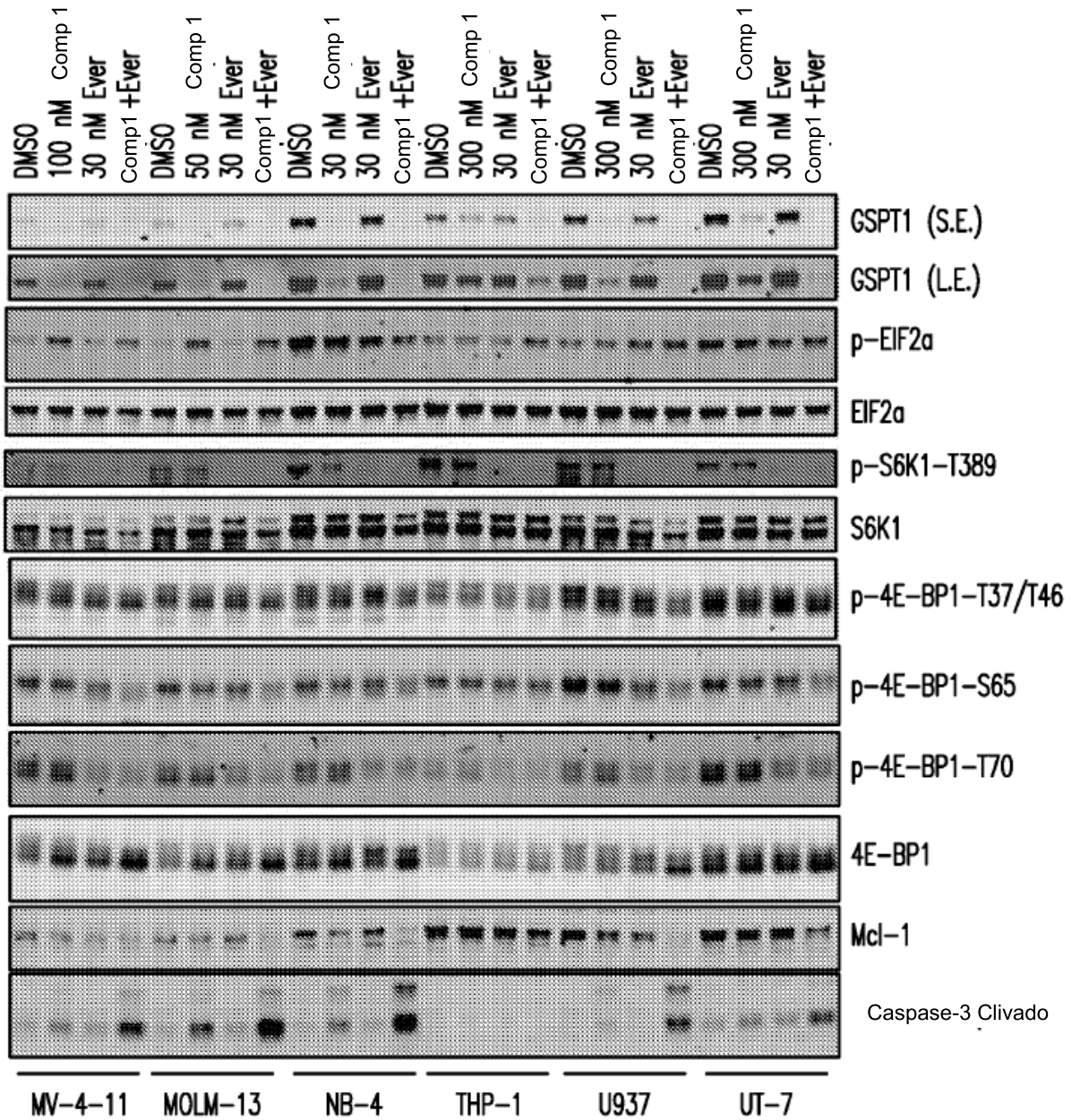


FIG. 106 (Continuado)

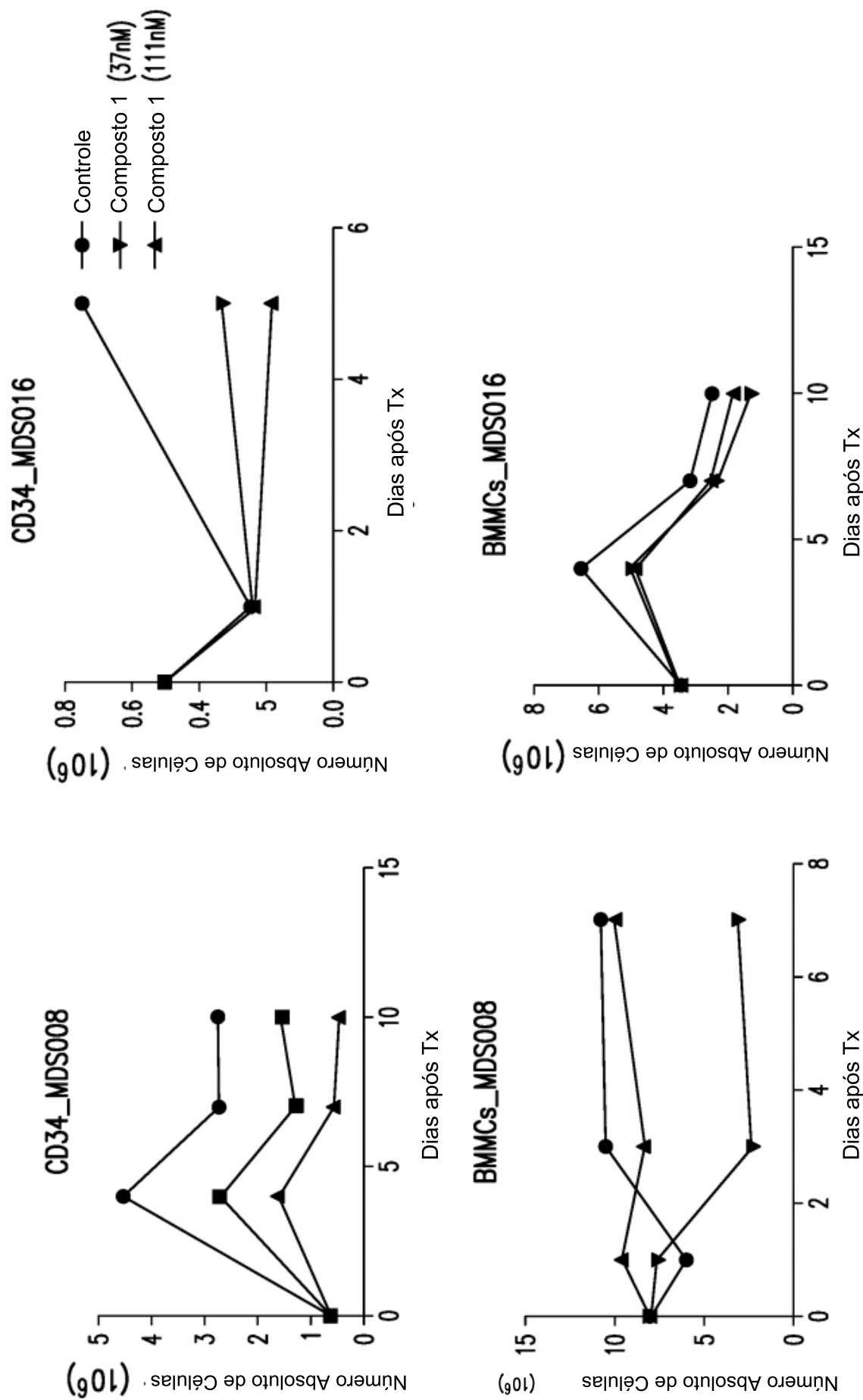


FIG. 107

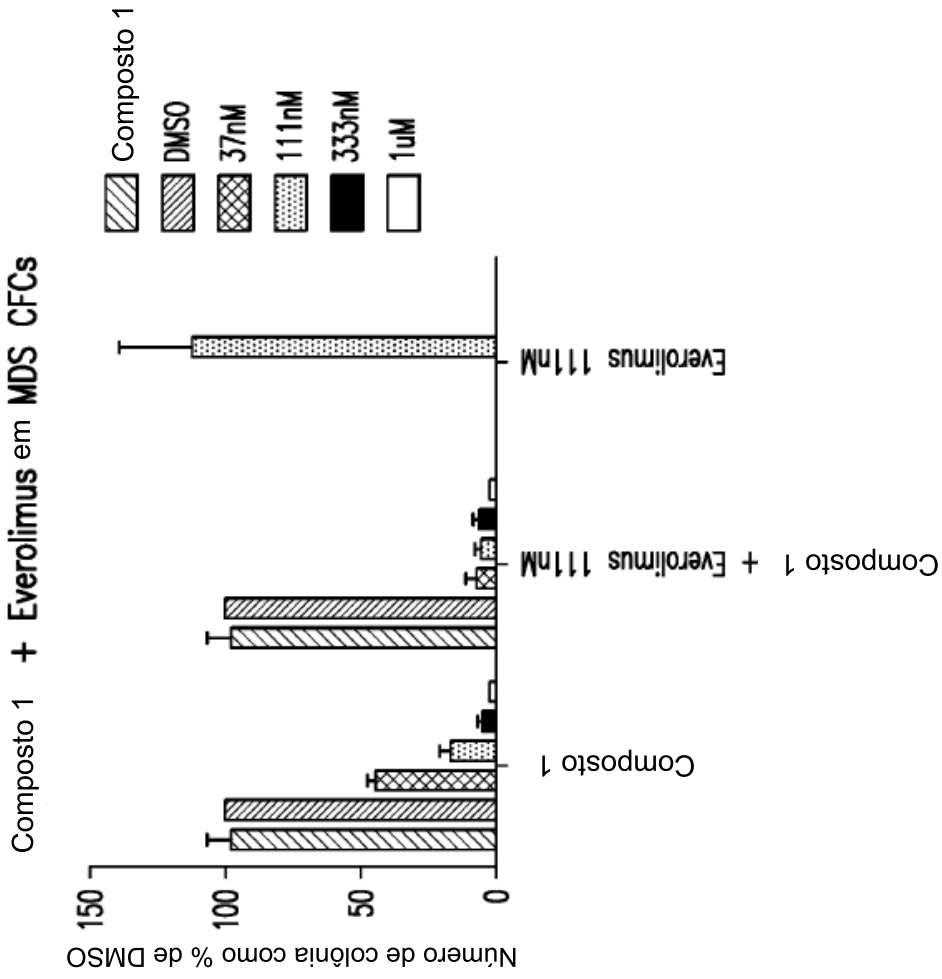


FIG. 108B

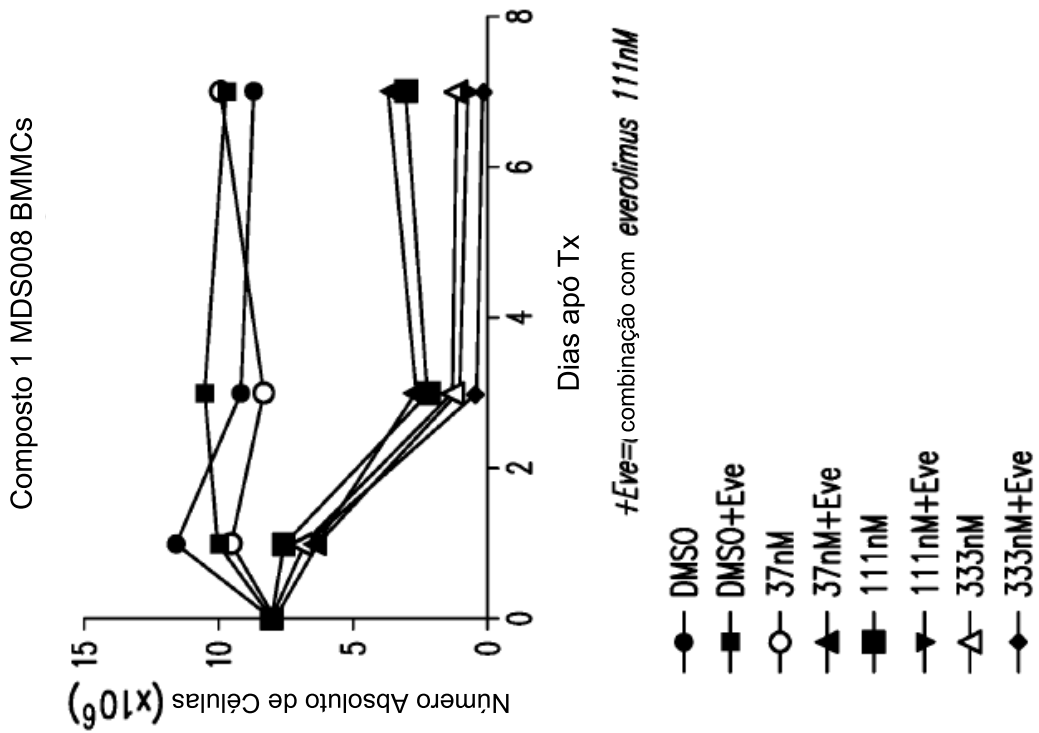


FIG. 108A

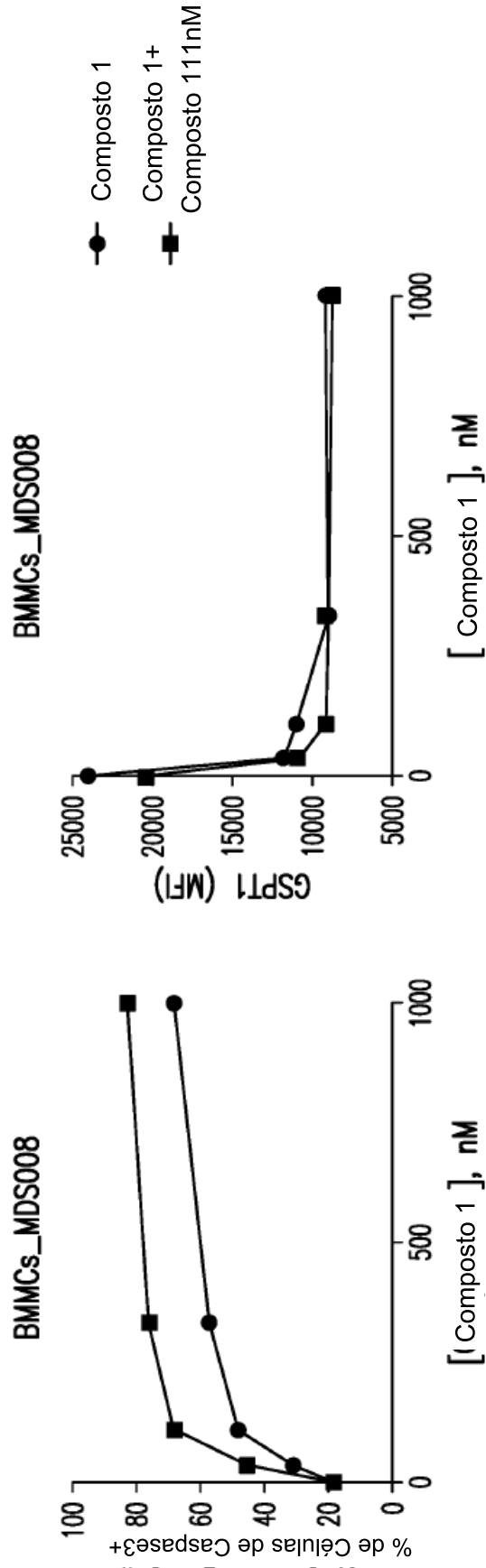


FIG. 109

RESUMO**COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA USO DE (2-(4-CLOROFENIL)-N-((2-(2,6-DIOXOPIPERIDIN-3-IL)-1-OXOISOINDOLIN-5-IL)METIL)-2,2-DIFLUOROACETAMIDA)**

São fornecidas neste documento formulações e métodos para uso de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida ou um estereoisômero ou uma mistura de estereoisômeros, sal farmacêuticamente aceitável, tautômero, pró-fármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato, ou polimorfo dos mesmos.