



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

(21) BR 112021007153-9 A2



(22) Data do Depósito: 17/10/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 20/07/2021

(54) **Título:** 2,3,5-TRIMETIL-6-NONILCICLOEXA-2,5-DIENO-1,4-DIONA PARA A SUPRESSÃO E TRATAMENTO DE A-SINUCLEINOPATIAS, TAUOPATIAS E OUTROS DISTÚRBIOS

(51) **Int. Cl.:** A61K 31/05; A61K 31/122; A61P 25/28.

(30) **Prioridade Unionista:** 17/10/2018 US 62/747,080; 26/11/2018 US 62/771,570.

(71) **Depositante(es):** PTC THERAPEUTICS, INC..

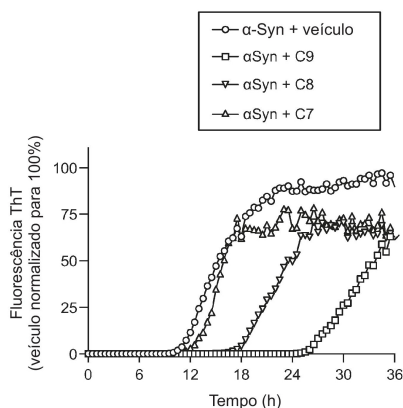
(72) **Inventor(es):** ANDREW W. HINMAN; CHARLES R. HOLST; ANGELA MINELLA; PAUL MOLLARD; SEAN PINTCHOVSKI; JEFFREY K. TRIMMER; ERIC TORREY.

(86) **Pedido PCT:** PCT US2019056836 de 17/10/2019

(87) **Publicação PCT:** WO 2020/081879 de 23/04/2020

(85) **Data da Fase Nacional:** 15/04/2021

(57) **Resumo:** 2,3,5-TRIMETIL-6-NONILCICLOEXA-2,5-DIENO-1,4-DIONA PARA A SUPRESSÃO E TRATAMENTO DE aSINUCLEINOPATIAS, TAUOPATIAS E OUTROS DISTÚRBIOS. A presente invenção refere-se a métodos de tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em a-sinucleinopatias, tauopatias, ALS, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas à reperfusão isquêmica.ury, compreendendo a administração a um indivíduo com sua necessidade de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da fórmula: ou a sua forma de hidroquinona; ou um solvato ou hidrato do mesmo.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"2,3,5-TRIMETIL-6-NONILCICLO-HEXA-2,5-DIENO-1,4-DIONA PARA A SUPRESSÃO E TRATAMENTO DE α -SINUCLINOPATIAS, TAUOPATIAS E OUTROS DISTÚRBIOS"**.

[0001] Este pedido reivindica a prioridade e o benefício do Pedido de Patente Provisório U.S. No. 62/747.080, depositado em 17 de outubro de 2018, intitulado 2,3,5-TRIMETHYL-6-NONYLCYCLOHEXA-2,5-DIENE-1,4-DIONE FOR SUPPRESSING AND TREATING ALZHEIMER'S DISEASE AND OTHER DISORDERS, e Pedido de Patente Provisório dos EUA No. 62/771.570, depositado em 26 de novembro de 2018, intitulado 2,3,5-TRIMETHYL-6-NONYLCYCLOHEXA-2,5-DIENE-1,4-DIONE FOR SUPPRESSING AND TREATING ALZHEIMER'S DISEASE AND OTHER DISORDERS, cujos conteúdos são aqui incorporados por referência na sua totalidade para todas as finalidades.

ANTECEDENTES

[0002] A Publicação U.S. No. 2007/0072943 descreve certos compostos de quinona e métodos de tratamento de certos distúrbios mitocondriais. A Publicação U.S. No. 2010/0063161 descreve o composto 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona e métodos para o tratamento de transtornos invasivos do desenvolvimento e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (ADHD).

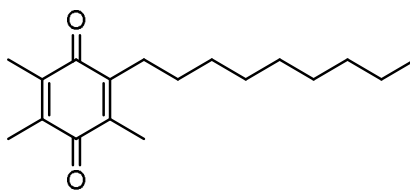
[0003] O que é necessário são métodos melhorados para tratar ou suprimir certos distúrbios, incluindo α -sinucleinopatias, tauopatias, ALS, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas à reperfusão isquêmica. O que ainda é necessário são os compostos tendo penetração cerebral superior e/ou divisão preferencial no cérebro em relação a outras áreas do corpo (tais como o plasma).

[0004] Além disso, o que é necessário é um polimorfo estável de

2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona e suas partículas que podem ser utilizadas em composições farmacêuticas; na fabricação de composições farmacêuticas; e nos métodos para tratar ou suprimir distúrbios, incluindo para tratar ou suprimir α -sinucleinopatias, tauopatias, ALS, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas à reperfusão isquêmica.

SUMÁRIO

[0005] Em um aspecto da invenção está um método de tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em uma α -sinucleinopatia, uma tauopatia, esclerose lateral amiotrófica (ALS), lesão cerebral traumática e lesão relacionada à reperfusão isquêmica, compreendendo a administração a um indivíduo com sua necessidade de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um



composto da fórmula:

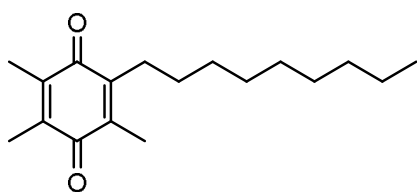
ou a forma de

hidroquinona do mesmo; ou um solvato ou hidrato do mesmo. Em algumas modalidades, o composto não é um solvato ou hidrato. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto está na forma de quinona. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto está na forma de hidroquinona. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir uma α -sinucleinopatia. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a α -sinucleinopatia é selecionada do grupo que consiste em: Doença de Parkinson, Doença de Parkinson com demência (PDD), atrofia multissistêmica (MSA), Demência Frontotemporal, Demência com Corpos de Lewy (DLB), doença de Gaucher (GD), neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro (NBIA) e distrofias neuroaxonais

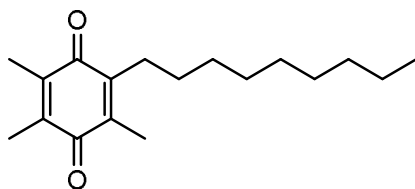
(neurodegeneração associada a PLA2G6). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a Doença de Parkinson é genética. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a Doença de Parkinson é idiopática. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson é aquele em que o paciente possui uma mutação em um ou mais dos seguintes genes: MAPT (proteína tau associada ao microtúbulo), PRKN (parkin), PINK1 (PINK1), LRRK2 (cinase 2 de repetição rica em leucina), GBA (glucocerebrosidase), SNCA (alfa sinucleína), PARK7 (DJ-1) e/ou UCHL1 (esterase terminal de ubiquitina carboxila L1). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir uma tauopatia. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a tauopatia é selecionada a partir do grupo que consiste em: doença de Alzheimer, demência pugilística, Esclerose lateral amiotrófica-Parkinsonismo-Demência de Guam (Guam ALS/PD), doença de Pick, Doença com grãos argirofílicos, Nieman-Pick tipo C, panencefalite esclerosante subaguda (SSPE), paralisia supranuclear progressiva (PSP), atrofia multissistêmica (MSA), degeneração corticobasogangliônica, demência frontotemporal com parkinsonismo-17 (FTDP-17), Parkinsonismo pós-encefálico (PEP) e Parkinsonismo recessivo autossômico. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir a doença de Alzheimer. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir a doença de Parkinson. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir lesão cerebral traumática. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou

suprimir lesão relacionada à reperfusão isquêmica. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir o acidente vascular cerebral. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para tratar ou suprimir a esclerose lateral amiotrófica (ALS). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para o tratamento do distúrbio. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é para a supressão do distúrbio. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por via oral. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por via intravenosa.

[0006] Em outro aspecto está um método de tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas à reperfusão isquêmica, compreendendo a administração a um indivíduo com sua necessidade de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da fórmula:



ou a forma de hidroquinona do mesmo; ou um solvato ou hidrato do mesmo. Em algumas modalidades, o



composto é: ; ou a forma de hidroquinona.

Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto está na forma de quinona. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o

composto está na forma de hidroquinona. Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar a doença de Alzheimer. Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar a doença de Parkinson. Em algumas modalidades, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson inclui o tratamento ou a supressão da doença de Parkinson idiopática. Em algumas modalidades, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson inclui o tratamento ou a supressão da doença de Parkinson familiar (isto é, genética). Em algumas modalidades, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson é aquele em que o paciente possui uma mutação em um ou mais dos seguintes genes: MAPT (proteína tau associada ao microtúbulo), PRKN (parkin), PINK1 (PINK1), LRRK2 (cinase 2 de repetição rica em leucina), GBA (glucocerebrosidase), SNCA (alfa sinucleína), PARK7 (DJ-1) e/ou UCHL1 (esterase terminal de ubiquitina carboxila L1). Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar lesão cerebral traumática. Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar uma lesão relacionada à reperfusão isquêmica. Em algumas modalidades, a lesão relacionada à reperfusão isquêmica é um acidente vascular cerebral. Em algumas modalidades, a lesão relacionada à reperfusão isquêmica é uma lesão retiniana relacionada à reperfusão isquêmica. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por via oral. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por injeção. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por via intravenosa. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é um método de supressão do distúrbio. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é um método de tratamento do

distúrbio.

[0007] Em outro aspecto está um polimorfo de um anidrato de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona, em que um padrão de difração de raios X em pó para o polimorfo compreende os picos característicos pelo menos nas seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 12,12 e 16,14. Em algumas modalidades, os dados são obtidos com uma fonte Cu K α 1, um comprimento de onda de 1,540598 Å e uma temperatura de 23 a 25 °C. Em algumas modalidades, o polimorfo compreende picos característicos pelo menos nas seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12 e 16,14. Em algumas modalidades, o polimorfo compreende picos característicos pelo menos nas seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12, 16,14 e 22,41. Em algumas ou quaisquer modalidades, um padrão de difração de raios X em pó para o polimorfo compreende picos característicos em pelo menos uma das seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12, 16,14 e 22,41. Em algumas ou quaisquer modalidades, um padrão de difração de raios X em pó para o polimorfo compreende picos característicos em pelo menos duas das seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12, 16,14 e 22,41. Em algumas ou quaisquer modalidades, um padrão de difração de raios X em pó para o polimorfo compreende picos característicos em pelo menos duas das seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12 e 16,14. Em algumas ou quaisquer modalidades, um padrão de difração de raios X em pó para o polimorfo compreende picos característicos em pelo menos duas das seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10,

12,12 e 16,14. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, as posições angulares podem variar em $\pm 0,1$. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, as posições angulares podem variar em $\pm 0,05$. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo possui um padrão de difração de raios X em pó substancialmente como mostrado em qualquer uma das Figuras 5, 11, 14 e 16. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo possui um termograma de calorimetria diferencial de varredura (DSC) substancialmente como mostrado na Figura 7. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, um termograma de DSC possui um único pico endotérmico de cerca de 47 °C a cerca de 53 °C. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, um termograma de DSC possui um único pico endotérmico de cerca de 49 °C a cerca de 53 °C. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, um termograma de DSC possui um único pico endotérmico de cerca de 50 °C a cerca de 52 °C. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, um termograma de DSC possui um único pico endotérmico ao redor de 50,5 °C. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo possui um termograma de análise termogravimétrica (TGA) substancialmente como mostrado na Figura 8. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo possui um espectro de ^1H RMN substancialmente como mostrado na Figura 6. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, pelo menos ao redor de 95% em mol da 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona é o polimorfo, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes. Em algumas

modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, pelo menos ao redor de 99% em mol da 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona é o polimorfo, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, pelo menos ao redor de 95% a/a conforme medido por HPLC da composição é a 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, pelo menos ao redor de 99% a/a conforme medido por HPLC da composição é o 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona, exclusivo de quaisquer solventes, veículo ou excipientes. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a potência da 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona é de pelo menos cerca de 95%. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a potência da 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona é de pelo menos cerca de 99%. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo está presente como uma pluralidade de partículas, em que as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 11:1. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo está presente como uma pluralidade de partículas, em que as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 7:1. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo foi recristalizado por um solvente que compreende cerca de 75 a 85% de IPA/água. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o polimorfo foi recristalizado por um solvente compreendendo cerca de 80 a 85% de IPA/água. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o

polimorfo foi recristalizado por um solvente compreendendo cerca de 85% de IPA/água.

[0008] Em outro aspecto da invenção está uma composição farmacêutica que compreende o polimorfo como aqui descrito, ou uma composição como aqui descrita, e um solvente, veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável ou uma composição farmacêutica preparada com o polimorfo como aqui descrito, ou uma composição como aqui descrita, e um solvente, veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável.

[0009] Em outro aspecto está um método de tratamento ou supressão de uma α -sinucleinopatia, uma tauopatia, esclerose lateral amiotrófica (ALS), lesão cerebral traumática ou lesão relacionada à reperfusão isquêmica, compreendendo a administração a um indivíduo com sua necessidade de um quantidade do polimorfo aqui descrito, ou uma composição como aqui descrita.

[0010] Em outro aspecto está um método de recristalização de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona a partir de uma composição, compreendendo: a) colocar em contato a composição com IPA e água de tal modo que a relação resultante de IPA para água seja de cerca de 75 a 87% de isopropanol (IPA)/25 a 13% de água (v:v), em uma temperatura de cerca de 40 a 45 °C; b) esfriar a mistura em cerca de 32 °C; e c) filtrar a 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona da mistura. Em algumas modalidades, a etapa (a) compreende: a1) colocar em contato a composição com IPA; a2) aquecer a mistura para cerca de 40 a 45 °C; e a3) adicionar água à mistura de tal modo que a relação de IPA para água seja de cerca de 75 a 85% de IPA:25 a 15% de água (v:v). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a etapa (a) compreende agitação para dissolver a composição. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a

relação de IPA:água é de cerca de 80 a 85% IPA:20 a 15% de água (v:v). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a relação de IPA:água é de cerca de 85% de IPA:15% de água (v:v). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a etapa (a3) compreende o retorno da temperatura da mistura para cerca de 40 a 45 °C. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método compreende a filtragem por polimento da mistura após a etapa (a). Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a etapa (b) compreende o esfriamento para cerca de 32 °C ao longo de cerca de 2 a 10 horas. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a etapa (b) compreende o esfriamento para cerca de 32 °C ao longo de cerca de 6 horas. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método compreende uma etapa (b1) após a etapa (b), que compreende manter a mistura ao redor de 32 °C durante cerca de 2 a 24 horas. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método compreende uma etapa (b1) após a etapa (b), compreendendo manter a mistura ao redor de 32 °C durante cerca de 6 horas. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método compreende uma etapa (b2) após a etapa (b) ou (b1), quando presente, compreendendo o esfriamento da mistura para cerca de 0°C. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a etapa (b2) compreende o esfriamento da mistura para cerca de 0 °C ao longo de cerca de 3 a 24 horas. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, a etapa (b2) ainda compreende manter a mistura ao redor de 0 °C durante cerca de uma hora.

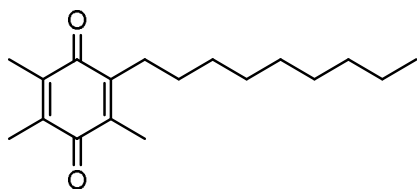
[0011] Em outro aspecto está uma composição que compreende

2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona como produzida de acordo com um método do parágrafo imediatamente precedente.

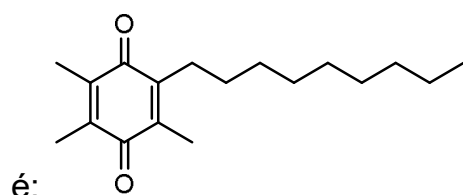
[0012] Em outro aspecto está um método de preparação de uma composição farmacêutica, compreendendo a conversão do polimorfo conforme descrito em qualquer um dos parágrafos precedentes, ou a composição de qualquer um dos parágrafos precedentes, em uma forma líquida ou de emulsão. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica é fornecida como uma solução oral, uma cápsula carregada com líquido ou uma solução injetável. São fornecidas composições farmacêuticas produzidas de acordo com esses métodos.

[0013] Em outro aspecto está uma forma amorfa fundida metaestável de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona, tendo um gráfico de XRPD substancialmente como mostrado na Figura 31.

[0014] Em um aspecto está um método de tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas à reperfusão isquêmica, compreendendo a administração a um indivíduo com sua necessidade de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto da fórmula:



ou a sua forma de hidroquinona; ou um solvato ou hidrato do mesmo. Em algumas modalidades, o composto



é: ; ou a forma de hidroquinona do mesmo.

Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades

anteriores, o composto está na forma de quinona. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto está na forma de hidroquinona. Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar a doença de Alzheimer. Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar a doença de Parkinson. Em algumas modalidades, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson inclui o tratamento ou a supressão da doença de Parkinson idiopática. Em algumas modalidades, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson inclui o tratamento ou a supressão da doença de Parkinson familiar (isto é, genética). Em algumas modalidades, o método para suprimir ou tratar a doença de Parkinson é aquele em que o paciente possui uma mutação em um ou mais dos seguintes genes: MAPT (proteína tau associada ao microtúbulo), PRKN (parkin), PINK1 (PINK1), LRRK2 (cinase 2 de repetição rica em leucina), GBA (glucocerebrosidase), SNCA (alfa sinucleína), PARK7 (DJ-1) e/ou UCHL1 (esterase terminal de ubiquitina carboxila L1). Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar a lesão cerebral traumática. Em algumas modalidades, o método é para suprimir ou tratar uma lesão relacionada à reperfusão isquêmica. Em algumas modalidades, a lesão relacionada à reperfusão isquêmica é um acidente vascular cerebral. Em algumas modalidades, a lesão relacionada à reperfusão isquêmica é uma lesão retiniana relacionada à reperfusão isquêmica. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por via oral. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por injeção. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o composto é administrado por via intravenosa. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é um método de

suprimir o distúrbio. Em algumas modalidades, incluindo qualquer uma das modalidades anteriores, o método é um método de tratar o distúrbio.

[0015] Qualquer um ou mais dos compostos descritos nesta invenção, incluindo todos os compostos anteriores, podem ser utilizados em uma composição que compreende um veículo farmaceuticamente aceitável, excipiente farmaceuticamente aceitável ou veículo farmaceuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a composição é formulada para uso interno. Qualquer um ou mais dos compostos descritos nesta invenção, incluindo todos os compostos anteriores, podem ser formulados em uma formulação de dose unitária.

[0016] Para todos os compostos, composições, formulações e métodos aqui descritos, qualquer composto na forma de quinona também pode ser utilizado em sua forma reduzida (hidroquinona) quando desejado. Isto é, os compostos aqui citados como forma de compostos de ciclo-hexadienodiona (quinona oxidada) também podem ser utilizados em sua forma de benzenodiol (hidroquinona reduzida) conforme desejado.

[0017] Para todos os compostos, composições e formulações aqui descritos, e todos os métodos utilizando um composto ou composição ou formulação aqui descritos, os compostos ou composições podem compreender os componentes ou etapas listados, ou podem "consistir essencialmente em" os componentes ou etapas listados, ou podem "consistir em" os componentes ou etapas listados. Isto é, a frase de transição "compreendendo" ou "compreende" pode ser substituída pela frase de transição "consistindo essencialmente em" ou "consiste essencialmente em". Alternativamente, a frase de transição "compreendendo" ou "compreende" pode ser substituída, em algumas ou quaisquer modalidades, pela frase de transição "consistindo em" ou

"consiste em". Quando uma composição é descrita como "consistindo essencialmente em" os componentes listados, a composição contém os componentes listados e pode conter outros componentes que não afetam substancialmente a condição a ser tratada, mas não contém quaisquer outros componentes que afetem substancialmente a condição sendo tratados de forma diferente dos componentes expressamente listados; ou, se a composição contiver componentes extras além daqueles listados que afetam substancialmente a condição a ser tratada, a composição não contém uma concentração ou quantidade suficiente dos componentes extras para afetar substancialmente a condição a ser tratada. Quando um método é descrito como "consistindo essencialmente em" as etapas listadas, o método contém as etapas listadas e pode conter outras etapas que não afetam substancialmente a condição a ser tratada, mas o método não contém quaisquer outras etapas que afetem substancialmente a condição sendo tratada diferente daquelas etapas expressamente listadas. Como um exemplo específico não limitativo, quando uma composição é descrita como 'consistindo essencialmente em' um componente, a composição pode conter adicionalmente qualquer quantidade de veículos, veículos, excipientes ou diluentes farmacologicamente aceitáveis e outros tais componentes que não afetam substancialmente a condição a ser tratada.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0018] A Figura 1A mostra a cinética da agregação de α Sinucleína (α Syn) humana recombinante na presença do composto 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona ("C9"), 2,3,5-trimetil-6-octilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona ("C8"), 2,3,5-trimetil-6-heptilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona ("C7"), ou veículo apenas, em uma relação subestequiométrica.

[0019] A Figura 1B mostra o teor de fibrila de α Syn na ausência

(veículo) ou presença de C9, C8 ou C7 em t = 24 horas de fibrilização. O teor de fibrila foi avaliado com base na intensidade de fluorescência ThT relativa (100% foi definido para o valor do ponto final em t = 45,5 h da média de amostras α Syn tratadas com veículo).

[0020] A Figura 2 mostra o efeito do tratamento com veículo, C9, C8 ou C7 no teor de fibrila pré-formada de Tau após 94 horas de incubação.

[0021] A Figura 3A mostra núcleos e α Sinucleína agregada em células dopaminérgicas de rato N27 tratadas com RSL3 na ausência ou presença de co-tratamento C9, C8 ou C7.

[0022] A Figura 3B mostra os efeitos do tratamento C9, C8 ou C7 na agregação de α Sinucleína induzida por RSL3 em células N27.

[0023] As Figuras 4A e 4B mostram o efeito da dosagem C9 na atividade vertical suprimida por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP) (contagens verticais totais e tempo vertical, respectivamente) em um ensaio locomotor de campo aberto de camundongos C57BL/6.

[0024] A Figura 5 mostra o difractograma de XRPD de material na condição de recebimento (ID 1-1), Padrão A, analisado pelo método de varredura longa.

[0025] A Figura 6 mostra o espectro de ^1H RMN do material na condição de recebimento (ID 1-1) em MeOD.

[0026] A Figura 7 mostra o termograma DSC autônomo do material na condição de recebimento (ID-1-1).

[0027] A Figura 8 mostra termogramas TGA e DCS de material na condição de recebimento (ID-1-1).

[0028] A Figura 9A (onde a escala de 100 μm é indicada no canto inferior direito) e 9B (onde a escala de 20 μm é indicada no canto inferior direito) mostra imagens de microscopia do material na condição de recebimento (ID-1-1) na ampliação de 100X e 400X, respectivamente.

[0029] A Figura 10 mostra um gráfico isotérmico DVS para o material na condição de recebimento (ID-1-1).

[0030] A Figura 11 mostra difractogramas de XRPD do sólido na condição de recebimento (ID-1-1), Padrão A (parte inferior), em comparação com o sólido após o ciclo de umidificação no instrumento DVS (parte superior).

[0031] A Figura 12 mostra o cromatograma de HPLC do material na condição de recebimento (ID-1-1).

[0032] A Figura 13 mostra o termograma DSC de ID-10-1 após o tratamento térmico de ID 1-1.

[0033] A Figura 14 mostra difractogramas de XRPD do material na condição de recebimento (ID-1-1), Padrão A (parte inferior), em comparação com o sólido recuperado do tratamento térmico (ID 10-1) (parte superior).

[0034] A Figura 15 mostra o cromatograma de HPLC da amostra de estabilidade ID-4-1.

[0035] A Figura 16 mostra difractogramas de XRPD de ID-1-1 na condição de recebimento (parte inferior) em comparação com a amostra de estabilidade de forma sólida ID-4-1 (parte superior) após uma semana em 75% de RH e 40 °C.

[0036] As Figuras 17A (onde a escala de 100 µm é indicada no canto inferior direito) e 17B (onde a escala de 20 µm é indicada no canto inferior direito) mostram imagens microscópicas de ID-4-1 com ampliação de 100X e 400X, respectivamente.

[0037] A Figura 18 mostra imagens de microscopia de ID-38-1 com ampliação de 25X, onde a escala de 500 µm é indicada no canto inferior direito.

[0038] A Figura 19 mostra imagens de microscopia de ID-38-1 com ampliação de 100X, onde a escala de 100 µm é indicada no canto inferior direito.

[0039] A Figura 20 mostra imagens de microscopia de ID-38-1 com ampliação de 400X, onde a escala de 20 μm é indicada no canto inferior direito.

[0040] A Figura 21 mostra imagens de microscopia de ID-38-2 com ampliação de 25X, onde a escala de 500 μm é indicada no canto inferior direito.

[0041] A Figura 22 mostra imagens de microscopia de ID-38-2 com ampliação de 100X, onde a escala de 100 μm é indicada no canto inferior direito.

[0042] As Figuras 23A e 23B mostram imagens de microscopia de ID-38-2 com ampliação de 400X, onde a escala de 20 μm é indicada no canto inferior direito.

[0043] A Figura 24 mostra a microscopia comparando ambos os lotes ID-38-1 (superior) e ID-38-2 (inferior) com ampliação de 25X, onde a escala de 500 μm é indicada no canto inferior direito.

[0044] A Figura 25 mostra a microscopia comparando ambos os lotes ID-38-1 (superior) e ID-38-2 (inferior) com ampliação de 100X, onde a escala de 100 μm é indicada no canto inferior direito.

[0045] A Figura 26 mostra a microscopia comparando ambos os lotes ID-38-1 (superior) e ID-38-2 (inferior) com ampliação de 400X, onde a escala de 20 μm é indicada no canto inferior direito.

[0046] As Figuras 27 e 28 mostram a distribuição do tamanho de partícula com relação a um experimento representativo para o material do Exemplo 3A, preparações 1 e 2, respectivamente.

[0047] As Figuras 29 e 30 mostram a distribuição do tamanho de partícula com relação a um experimento representativo para o material do Exemplo 3B, preparações 1 e 2, respectivamente.

[0048] A Figura 31 é um difratograma de XRPD de líquido C9 esfriado para a temperatura ambiente durante 5 minutos.

[0049] A Figura 32 é um termograma de DSC do experimento de

ciclo de temperatura com condições menos estressantes.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0050] A presente invenção fornece compostos, composições e métodos para tratar ou suprimir α -sinucleinopatias, tauopatias, ALS, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas com reperfusão isquêmica. As α -sinucleinopatias são doenças neurodegenerativas caracterizadas pelo acúmulo anormal de agregados da proteína alfa-sinucleína em neurônios, fibras nervosas ou células gliais. As tauopatias pertencem a uma classe de doenças neurodegenerativas associadas à agregação patológica da proteína tau em emaranhados neurofibrilares ou gliofibrilares no cérebro humano, tais como a doença de Alzheimer (ver, por exemplo, Cellular and Molecular Neurobiology (2018) 38:965–980). Conforme mostrado nos Exemplos, um composto reivindicado demonstrou eficácia na redução de agregados da proteína alfa-sinucleína e na redução da agregação da proteína tau. Sem desejar ser limitado pela teoria, para as doenças reivindicadas, pode ser benéfico ter penetração de fármaco no cérebro e, além disso, pode ser benéfico ter o fármaco preferencialmente dividido no cérebro em relação a outros tecidos. Por exemplo, isso pode reduzir os efeitos colaterais e fora do alvo. Os requerentes descobriram surpreendentemente que um composto reivindicado possui penetração superior no cérebro e divisão superior do composto no cérebro em relação ao plasma.

[0051] A presente invenção fornece ainda uma forma sólida do composto 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona, composições que compreende a forma sólida em pureza superior e com características preferidas tais como morfologia de partícula e distribuição de tamanho de partícula mais preferidas e processos para produzir as mesmas. Conforme mostrado com maiores detalhes na descrição detalhada, na seção experimental e nas figuras fornecidas

nesta invenção, as composições possuem propriedades benéficas tais como pureza melhorada (por exemplo, menor teor de prata), características de manuseio melhoradas (por exemplo, fluidez) e capacidade aprimorada de serem formuladas em produtos farmacêuticos (por exemplo, capacidade melhorada de moagem). As partículas possuem boas propriedades de fluxo e morfologia em comparação com um processo anterior. A utilização das presentes partículas facilita a fabricação do produto medicamentoso, por exemplo, o carregamento de cápsulas. Além disso, utilizando as presentes partículas, pode ser possível reduzir a quantidade de excipientes necessários para a fabricação do produto medicamentoso, o que oferece vantagens em termos de custo, tempo e eficiência do processo. Na verdade, se um fármaco for pegajoso ou não fluir facilmente, mais excipientes podem ser necessários para melhorar o manuseio do referido fármaco. Da mesma forma, se a moagem do fármaco for necessária, o material pegajoso teria perdas devido às perdas nas superfícies do equipamento de moagem, e também o produto moído formaria mais aglomerados, ou mais difíceis de quebrar. Estas características não são desejáveis no processamento para a fabricação de medicamentos e são aprimoradas no processo descrito.

[0052] As abreviações aqui utilizadas possuem seu significado convencional dentro das técnicas químicas e biológicas, a menos que especificado de outra forma.

[0053] A referência a "cerca de" um valor ou parâmetro nesta invenção inclui (e descreve) variações que são direcionadas a esse valor ou parâmetro per se. Por exemplo, a descrição referente a "cerca de X" inclui a descrição de "X".

[0054] Conforme utilizado nesta invenção, e a menos que especificado de outra forma, os termos "cerca de" e

"aproximadamente", quando utilizados em conexão com vários termos tais como temperaturas, doses, quantidades ou porcentagem em peso de ingredientes de uma composição ou forma de dosagem, significa, por exemplo, uma temperatura, dose, quantidade ou porcentagem em peso que é reconhecida por aqueles de habilidade prática na técnica para fornecer um efeito equivalente ao obtido a partir da temperatura, dose, quantidade ou porcentagem em peso especificada. Especificamente, os termos "cerca de" e "aproximadamente", quando utilizados neste contexto, contemplam uma temperatura, dose, quantidade ou porcentagem em peso, etc. dentro de 15%, dentro de 10%, dentro de 5%, dentro de 4%, dentro de 3%, dentro de 2%, dentro de 1% ou dentro de 0,5% da temperatura, dose, quantidade ou porcentagem em peso especificada, etc.

[0055] Os termos "um" ou "uma", conforme aqui utilizados, significam um ou mais, a não ser que o contexto claramente dite de outra maneira.

[0056] Por "pessoa", "indivíduo" ou "paciente" entende-se um organismo individual, de preferência um vertebrado, mais preferivelmente um mamífero, o mais preferível um ser humano.

[0057] "Tratar" um distúrbio com os compostos e métodos aqui examinados é definido como a administração de um ou mais dos compostos aqui tratados, com ou sem agentes terapêuticos adicionais, a fim de reduzir ou eliminar o distúrbio ou um ou mais sintomas do distúrbio, ou para retardar a progressão do distúrbio ou de um ou mais sintomas do distúrbio, ou para reduzir a gravidade do distúrbio ou de um ou mais sintomas do distúrbio. "Supressão" de um distúrbio com os compostos e métodos aqui examinados é definida como a administração de um ou mais dos compostos aqui tratados, com ou sem agentes terapêuticos adicionais, a fim de suprimir a manifestação clínica do distúrbio ou para suprimir a manifestação de sintomas

adversos do distúrbio. A distinção entre tratamento e supressão é que o tratamento ocorre depois que os sintomas adversos do distúrbio se manifestam em um indivíduo, enquanto que a supressão ocorre antes que os sintomas adversos do distúrbio se manifestem em um indivíduo. A supressão pode ser parcial, substancialmente total ou total. Em algumas modalidades, o rastreamento genético pode ser utilizado para identificar pacientes em risco do distúrbio. Os compostos e métodos aqui divulgados podem então ser administrados em pacientes assintomáticos em risco de desenvolver os sintomas clínicos da doença, a fim de suprimir o aparecimento de quaisquer sintomas adversos.

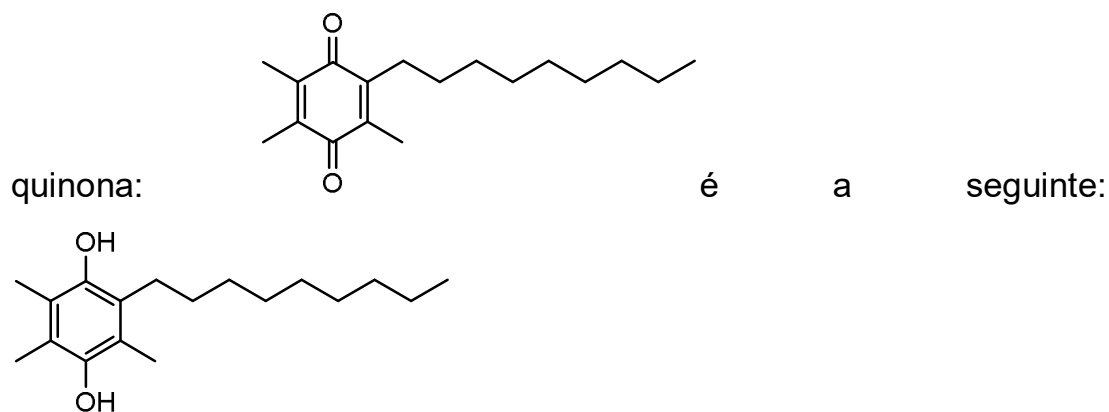
[0058] O "uso terapêutico" dos compostos tratados nesta invenção é definido como o uso de um ou mais dos compostos aqui examinados para tratar ou suprimir um distúrbio, conforme definido nesta invenção. Uma "quantidade terapeuticamente eficaz" de um composto é uma quantidade do composto que, quando administrada a um indivíduo, é suficiente para reduzir ou eliminar um distúrbio ou um ou mais sintomas de um distúrbio, ou para retardar a progressão de um distúrbio ou de um ou mais sintomas de um distúrbio, ou para reduzir a gravidade de um distúrbio ou de um ou mais sintomas de um distúrbio, ou para suprimir a manifestação clínica de um distúrbio, ou para suprimir a manifestação de sintomas adversos de um distúrbio. Uma quantidade terapeuticamente eficaz pode ser dada em uma ou mais administrações.

[0059] "2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona" e "C9" são utilizados de modo trocável nesta invenção.

[0060] "2,3,5-trimetil-6-octilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona" e "C8" são utilizados de modo trocável nesta invenção.

[0061] "2,3,5-trimetil-6-heptilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona" e "C7" são utilizados de modo trocável nesta invenção.

[0062] "Forma de hidroquinona" indica a forma do composto quando uma redução de dois elétrons do anel de quinona é efetuada, fornecendo uma conversão líquida dos dois grupos oxo para dois grupos hidróxi. Por exemplo, a forma de hidroquinona do composto de



[0063] "Alfa-sinucleína" e " α -sinucleína" são utilizados de modo trocável nesta invenção.

[0064] A descrição de compostos nesta invenção também inclui todos os isotopólogos, em algumas modalidades, análogos parcialmente deuterados ou perdeuterados de todos os compostos nesta invenção.

[0065] Lesões relacionadas à reperfusão isquêmica incluem, mas não são limitadas a estas, acidente vascular cerebral e lesão retiniana relacionada à reperfusão isquêmica.

[0066] "Acidente vascular cerebral" inclui acidente vascular cerebral isquêmico (exemplos não limitativos incluem acidente vascular cerebral trombótico, acidente vascular cerebral embólico), acidente vascular cerebral hemorrágico (exemplos não limitativos incluem hemorragia intracerebral, hemorragia subaracnóide) e ataque isquêmico transitório. Em algumas modalidades, o acidente vascular cerebral é um acidente vascular cerebral isquêmico. Em algumas modalidades, o acidente vascular cerebral é um acidente vascular cerebral hemorrágico. Em algumas modalidades, o acidente vascular cerebral é um ataque isquêmico transitório.

[0067] Para todos os dados de caracterização descritos nas reivindicações nesta invenção (por exemplo, picos de XRPD, DSC, TGA, distribuição de tamanho de partícula, etc.), em algumas modalidades, os dados são obtidos por um método executado substancialmente conforme descrito nesta invenção (por exemplo, para XRPD, DSC e TGA, ver, por exemplo, o Exemplo 7 para metodologia específica). "Substancialmente conforme descrito nesta invenção" indica que uma pessoa versada na técnica usaria um método que é reconhecido por aqueles de habilidade prática na técnica para fornecer um resultado substancialmente equivalente àquele obtido do método especificado.

Formulações farmacêuticas

[0068] Para a forma cristalina reivindicada, os solventes residuais estão dentro dos limites permitidos, tornando-os adequados para formulação em composições farmacêuticas. Uma forma em estado sólido também leva em conta a facilidade de purificação por meio de técnicas de cristalização. A forma cristalina reivindicada não é higroscópica nem é um hidrato/solvato, o que significa que não requer tratamento especial quanto à exposição em umidade. Além disso, a morfologia melhorada resultante do processo de recristalização permite um manuseio mais fácil durante a fabricação (tal como descrito com maiores detalhes nesta invenção). Os compostos aqui descritos podem ser formulados como composições farmacêuticas através da formulação com aditivos tais como excipientes farmacologicamente aceitáveis, veículos farmacologicamente aceitáveis e veículos farmacologicamente aceitáveis. Excipientes, veículos e veículos adequados farmacologicamente aceitáveis incluem agentes de processamento e modificadores e intensificadores de liberação de fármacos, tais como, em algumas modalidades, fosfato de cálcio, estearato de magnésio, talco, monossacarídeos, dissacarídeos, amido,

gelatina, celulose, metil celulose, carboximetil celulose de sódio, dextrose, hidroxipropil- β -ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de baixo ponto de fusão, resinas de troca iônica, e semelhantes, assim como combinações de quaisquer dois ou mais destes. Outros excipientes adequados farmacologicamente aceitáveis são descritos em “Remington’s Pharmaceutical Sciences,” Mack Pub. Co., New Jersey (1991) e “Remington: The Science and Practice of Pharmacy,” Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 20th edition (2003) and 21st edition (2005), aqui incorporados por referência.

[0069] Uma composição farmacêutica pode compreender uma formulação de dose unitária, em que a dose unitária é uma dose suficiente para ter um efeito terapêutico.

[0070] As composições farmacêuticas contendo os compostos da invenção podem estar em qualquer forma adequada para o método de administração pretendido, incluindo, em algumas modalidades, uma solução, uma suspensão ou uma emulsão. Os veículos líquidos são tipicamente utilizados na preparação de soluções, suspensões e emulsões. Os veículos líquidos contemplados para uso na prática da presente invenção incluem, em algumas modalidades, água, solução salina, solventes orgânicos farmacologicamente aceitáveis, óleos ou gorduras farmacologicamente aceitáveis, e semelhantes, assim como misturas de dois ou mais dos mesmos. O veículo líquido pode conter outros aditivos adequados farmacologicamente aceitáveis, tais como solubilizantes, emulsificantes, nutrientes, tampões, conservantes, agentes de suspensão, agentes espessantes, reguladores de viscosidade, estabilizantes, e semelhantes. Os solventes orgânicos adequados incluem, em algumas modalidades, álcoois monoídricos, tais como etanol, e álcoois poliídricos, tais como glicóis. Os óleos adequados incluem, em algumas modalidades, óleo de gergelim, óleo de soja, óleo de coco, azeite, óleo de cártamo, óleo de semente de

algodão e semelhantes. Para administração parenteral, o veículo também pode ser um éster oleoso tal como oleato de etila, miristato de isopropila, e semelhantes. As composições da presente invenção também podem estar na forma de micropartículas, microcápsulas, encapsulados lipossomais e semelhantes, assim como combinações de quaisquer dois ou mais destes.

[0071] Sistemas de liberação no tempo ou liberação controlada podem ser utilizados, tais como um sistema de matriz controlado por difusão ou um sistema erodível, como descrito, por exemplo, em: Lee, "Diffusion-Controlled Matrix Systems", pp. 155-198 e Ron and Langer, "Erodible Systems", pp. 199-224, in "Treatise on Controlled Drug Delivery", A. Kydonieus Ed., Marcel Dekker, Inc., New York 1992. A matriz pode ser, em algumas modalidades, um material biodegradável que pode se degradar espontaneamente *in situ* e *in vivo*, em algumas modalidades, através da hidrólise ou clivagem enzimática, por exemplo, por proteases. O sistema de liberação pode ser, em algumas modalidades, um polímero ou copolímero de ocorrência natural ou sintético, em algumas modalidades, na forma de um hidrogel. Polímeros exemplares com ligações cliváveis incluem poliésteres, poliortoésteres, polianidridos, polissacarídeos, poli(fosfoésteres), poliamidas, poliuretanos, poli(imidocarbonatos) e poli(fosfazenos).

[0072] Os compostos da invenção podem ser administrados por via entérica, por via oral, por via parenteral, por via sublingual, através de inalação (por exemplo, como névoas ou sprays), por via retal ou por via tópica em formulações de unidade de dosagem contendo veículos, adjuvantes e veículos convencionais não tóxicos farmacologicamente aceitáveis conforme desejado. Em algumas modalidades, os modos adequados de administração incluem oral, subcutâneo, transdérmico, transmucoso, iontoforético, intravenoso, intra-arterial, intramuscular,

intraperitoneal, intranasal (por exemplo, por meio da mucosa nasal), subdural, retal, gastrointestinal, e semelhantes, e diretamente para um órgão ou tecido específico ou afetado. As formulações para administração tópica podem incluir loções, tinturas, cremes, emulsões, pomadas, sprays, géis, e semelhantes, e podem ainda ser formuladas em outras formulações adequadas tais como protetores solares, loções e cremes hidratantes, géis e cremes faciais, etc. Nessas composições, o produto ativo é misturado com um ou mais excipientes inertes incluindo, por exemplo, água, acetona, etanol, etileno glicol, propileno glicol, butano 1,3 diol, miristato de isopropila, palmitato de isopropila, óleo mineral, e suas misturas. A administração tópica também pode envolver o uso de administração transdérmica tal como adesivos transdérmicos ou dispositivos de iontoforese. O termo parenteral conforme aqui utilizado inclui técnicas de injeção ou infusão subcutânea, intravenosa, intramuscular e intraesternal. Os compostos são misturados com veículos, adjuvantes e veículos farmacologicamente aceitáveis apropriados para a via de administração desejada. A administração oral é uma via de administração preferida e as formulações adequadas para administração oral são as formulações preferidas. A administração tópica é outra via de administração preferida e as formulações adequadas para administração tópica são as formulações preferidas. Os compostos descritos para uso nesta invenção podem ser administrados na forma sólida, na forma líquida, na forma de aerossol ou na forma de comprimidos, pílulas, misturas de pó, cápsulas, grânulos, injetáveis, cremes, soluções, supositórios, enemas, irrigações colônicas, emulsões, dispersões, pré-misturas de alimentos e em outras formas adequadas. Os compostos também podem ser administrados em formulações de lipossomas. Métodos adicionais de administração são conhecidos na técnica.

[0073] As composições para administração tópica podem ser emulsões ou soluções estéreis. Pode ser feito uso, como solvente ou veículo, de propileno glicol, um polietileno glicol, óleos vegetais, em particular azeite, ou ésteres orgânicos injetáveis, em certas modalidades, oleato de etila. Estas composições também podem conter adjuvantes, em particular agentes umectantes, isotonzantes, emulsificantes, dispersantes e estabilizantes. A esterilização pode ser realizada de várias maneiras, em certas modalidades, o uso de um filtro bacteriológico, através de radiação ou através de aquecimento. Eles também podem ser preparados na forma de composições sólidas estéreis que podem ser dissolvidas no momento do uso em água estéril ou qualquer outro meio estéril injetável.

[0074] As preparações injetáveis, em algumas modalidades, suspensões aquosas ou oleaginosas injetáveis estéreis, podem ser formuladas de acordo com a técnica conhecida utilizando agentes dispersantes ou umectantes e agentes de suspensão adequados. A preparação injetável estéril também pode ser uma solução ou suspensão injetável estéril em um diluente ou solvente não tóxico aceitável de modo parenteral, em algumas modalidades, como uma solução em propileno glicol. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados estão a água, solução de Ringer e solução isotônica de cloreto de sódio. Além disso, óleos fixos estéreis são convencionalmente empregados como um solvente ou meio de suspensão. Para este propósito, qualquer óleo fixo suave pode ser empregado, incluindo mono ou diglicerídeos sintéticos. Além disso, os ácidos graxos tais como ácido oleico, encontram uso na preparação de injetáveis.

[0075] As formas de dosagem sólidas para administração oral podem incluir cápsulas, comprimidos, pílulas, pós e grânulos. Nessas formas de dosagem sólidas, o composto ativo pode ser misturado com

pelo menos um diluente inerte, tal como sacarose, lactose ou amido. Essas formas de dosagem também podem compreender substâncias adicionais diferentes de diluentes inertes, por exemplo, agentes lubrificantes, tais como estearato de magnésio. No caso de cápsulas, comprimidos e pílulas, as formas de dosagem também podem compreender agentes tamponantes. Os comprimidos e as pílulas podem ser preparados com revestimentos entéricos.

[0076] As formas de dosagem líquidas para administração oral podem incluir emulsões, soluções, suspensões, xaropes e elixires farmacologicamente aceitáveis contendo diluentes inertes comumente utilizados na técnica, tais como água. Essas composições também podem compreender adjuvantes, tais como agentes umectantes, agentes emulsificantes e agentes de suspensão, ciclodextrinas e agentes adoçantes, aromatizantes e perfumantes.

[0077] Os compostos da presente invenção também podem ser administrados na forma de lipossomas. Como é conhecido na técnica, os lipossomas são geralmente derivados de fosfolípidos ou outras substâncias lipídicas. Os lipossomas são formados por cristais líquidos hidratados mono ou multilamelares que estão dispersos em meio aquoso. Qualquer lipídeo não tóxico, fisiologicamente aceitável e metabolizável capaz de formar lipossomas pode ser utilizado. As presentes composições na forma de lipossoma podem conter, além de um composto da presente invenção, estabilizantes, conservantes, excipientes e semelhantes. Os lipídeos preferidos são os fosfolípidos e as fosfatidilcolinas (lecitinas), tanto naturais como sintéticos. Os métodos para formar lipossomas são conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.W., p. 33 *et seq.* (1976).

[0078] As formulações da presente invenção podem compreender dois ou mais compostos ou composições como aqui descrito.

[0079] A invenção também fornece artigos de fabricação e kits compreendendo qualquer um de um ou mais dos compostos da invenção, para uso em qualquer um dos métodos aqui descritos.

[0080] A quantidade de ingrediente ativo que pode ser combinada com os materiais veículos para produzir uma forma de dosagem única irá variar dependendo do hospedeiro ao qual o ingrediente ativo é administrado e do modo particular de administração. Ficará entendido, no entanto, que o nível de dose específica para qualquer indivíduo particular dependerá de uma variedade de fatores, incluindo a atividade do composto específico empregado, a idade, peso corporal, área corporal, índice de massa corporal (IMC), saúde geral, sexo e dieta do paciente; tempo de administração, via de administração, taxa de excreção ou combinação de fármacos; e o tipo, progressão e gravidade da doença ou condição particular. A dosagem farmacêutica unitária selecionada pode ser fabricada e administrada para fornecer uma concentração final definida de fármaco na região alvo do corpo. A quantidade terapeuticamente eficaz para uma dada situação pode ser facilmente determinada por experimentação de rotina e está dentro da habilidade e avaliação do clínico comum.

[0081] As dosagens únicas ou múltiplas que podem ser utilizadas incluem uma quantidade independentemente selecionada de cerca de 0,1 mg/kg a cerca de 600 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 500 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 400 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 300 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 200 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 100 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 50 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 30 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 1,0 mg/kg a cerca de 10 mg/kg corporal peso, ou cerca de 10 mg/kg a cerca de 600 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 10

mg/kg a cerca de 500 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 10 mg/kg a cerca de 400 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 10 mg/kg a cerca de 300 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 10 mg/kg a cerca de 200 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 10 mg/kg a cerca de 100 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 50 mg/kg a cerca de 150 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 100 mg/kg a cerca de 200 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 150 mg/kg a cerca de 250 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 200 mg/kg a cerca de 300 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 250 mg/kg a cerca de 350 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 200 mg/kg a cerca de 400 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 300 mg/kg a cerca de 400 mg/kg de peso corporal, ou cerca de 250 mg/kg a cerca de 300 mg/kg de peso corporal, ou ao redor de 300 mg/kg de peso corporal. Os compostos da presente invenção podem ser administrados em uma única dose diária, ou a dosagem diária total pode ser administrada em dosagem dividida de duas, três ou quatro vezes ao dia.

[0082] Doses únicas ou múltiplas podem ser administradas. Em algumas modalidades, a dose é administrada uma, duas, três vezes, quatro vezes, cinco vezes ou seis vezes. Em algumas modalidades, a dose é administrada uma vez por dia, duas vezes por dia, três vezes por dia ou quatro vezes por dia. Em algumas modalidades, a dose é administrada a cada hora, a cada duas horas, a cada três horas, a cada quatro horas, a cada 6 horas, a cada 12 horas ou a cada 24 horas.

[0083] Embora os compostos da invenção possam ser administrados como o único agente farmacêutico ativo, eles também podem ser utilizados em combinação com um ou mais outros agentes utilizados no tratamento ou supressão dos distúrbios aqui descritos. Em algumas modalidades, os compostos da invenção são administrados como o único agente farmacêutico ativo que está

presente em uma quantidade terapêuticamente eficaz.

[0084] Quando os agentes ativos adicionais são utilizados em combinação com os compostos da presente invenção, os agentes ativos adicionais podem geralmente ser empregados em quantidades terapêuticas como indicado no Physicians' Desk Reference (PDR) 53rd Edition (1999), ou tais quantidades terapêuticamente úteis como seriam do conhecimento de uma pessoa de habilidade prática na técnica.

[0085] Os compostos da invenção e os outros agentes terapêuticamente ativos ou agentes profilaticamente eficazes podem ser administrados na dosagem clínica máxima recomendada ou em doses mais baixas. Os níveis de dosagem dos compostos ativos nas composições da invenção podem ser variados de modo a obter uma resposta desejada dependendo da via de administração, gravidade do distúrbio e a resposta do indivíduo. Quando administrados em combinação com outros agentes terapêuticos ou profiláticos, os agentes terapêuticos ou agentes profiláticos podem ser formulados como composições separadas que são dadas ao mesmo tempo ou em momentos diferentes, ou os agentes terapêuticos ou agentes profiláticos podem ser dados como uma única composição.

Preparação de Compostos da Invenção

[0086] Os compostos desta invenção podem ser preparados a partir de materiais de partida facilmente disponíveis utilizando métodos e procedimentos gerais que serão evidentes para uma pessoa versada na técnica em vista da invenção aqui fornecida. Será observado que onde condições de processo típicas ou preferidas (isto é, temperaturas de reação, tempos, relações molares de reagentes, solventes, pressões, etc.) são fornecidas, outras condições de processo também podem ser utilizadas a menos que indicado de outra forma. As condições de reação ideais podem variar com os reagentes ou

solventes específicos utilizados, mas tais condições podem ser determinadas por uma pessoa versada na técnica por procedimentos de otimização de rotina. As soluções de C9 são sensíveis à luz; a iluminação ambiente deve ser filtrada de modo ideal para remover comprimentos de onda < 450 nm (filtros de luz âmbar). Se a luz âmbar não estiver disponível, então os controles apropriados devem ser utilizados para minimizar as soluções para a exposição à luz, por exemplo, invólucro de folha de alumínio, artigos de vidro âmbar.

[0087] Para todos os compostos e métodos aqui descritos, a forma de quinona também pode ser utilizada em sua forma reduzida (hidroquinona) quando desejado. Da mesma forma, a forma de hidroquinona também pode ser utilizada em sua forma oxidada (quinona) quando desejado. A forma reduzida (hidroquinona) pode ser facilmente convertida na forma oxidada (quinona) utilizando métodos conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, *air, silica Miller et al PCT Intl Appl 2006130775 7 Dec 2006*. A forma oxidada (quinona) pode ser facilmente convertida na forma de hidroquinona reduzida utilizando métodos conhecidos na técnica. Ver, por exemplo, *Zn, AcOH Fuchs et al EJOC 6 (2009) 833-40*.

[0088] A invenção é ainda descrita pelos seguintes exemplos e modalidades não limitativas.

[0089] **Recristalização.** Como mostrado nos Exemplos 1A e 3A, os métodos sintéticos para produzir C9 resultaram em um produto que tinha uma ou mais características indesejadas, tais como alto teor de prata, aderência do produto e tamanhos e distribuição de partículas indesejáveis. Geralmente, para usos farmacêuticos, é preferível ter um produto sólido com uma distribuição limitada de tamanho de partícula. A viscosidade do produto no Exemplo 3A tornou o produto difícil de manusear, tornando a moagem difícil e a peneiração impossível.

[0090] A recristalização pode resultar em propriedades

melhoradas, por exemplo, remoção de impurezas do produto sólido e produção de material de tamanho e distribuição mais homogêneos para melhorar o desempenho do produto durante a formulação subsequente. Conforme mostrado nos Exemplos, um procedimento de recristalização foi descoberto que resultou na melhora da qualidade do produto sólido, incluindo, por exemplo: pureza melhorada, ponto de fusão mais elevado, menor teor de prata, melhor fluidez, menos viscosidade e tamanho e distribuição de partícula mais homogêneos. Além disso, o método de recristalização não requer cristais de semente ou ter problemas com a lubrificação do C9.

[0091] O procedimento de recristalização geralmente compreende dissolver C9 em um solvente, aquecer a mistura para cerca de 40 a 45°C a fim de dissolver o C9, esfriar a mistura para cerca de 32 °C onde ocorre a cristalização e filtrar o produto.

[0092] Em algumas modalidades, o solvente de recristalização está ao redor de 75 a 85% de IPA/água. Em algumas modalidades, o solvente de recristalização está ao redor de 80 a 85% IPA/água. Em algumas modalidades, o solvente de recristalização está ao redor de 80 a 87% de IPA/água. Em algumas modalidades, o solvente de recristalização está ao redor de 83 a 87% IPA/água. Em algumas modalidades, o solvente de recristalização está ao redor de 85% de IPA/água. Em algumas modalidades, a relação é medida como (v:v). Em algumas modalidades, a relação é medida como (p:p). Em algumas modalidades, o solvente de recristalização é uma combinação de metanol e água. Em algumas modalidades, o solvente de recristalização é uma combinação de metanol e heptano.

[0093] Quando o solvente de recristalização for IPA/água, em algumas modalidades, o método compreende a dissolução do C9 em IPA (por exemplo, mediante o aquecimento da mistura para cerca de 40 a 45 °C) e, depois, adição de água. Após a adição de água, a

temperatura da mistura pode voltar para cerca de 40 a 45 °C. Em outras modalidades, o método compreende a dissolução do C9 na mistura de IPA/água.

[0094] Em algumas modalidades, a mistura contendo C9 dissolvido é filtrada por polimento. A filtração por polimento pode ser executada em cerca de 40 a 45 °C, ou em uma temperatura necessária para manter o C9 em solução.

[0095] O esfriamento da mistura para cerca de 32 °C em algumas modalidades ocorre ao longo de várias horas, por exemplo, ao redor de 2 a 10 horas, ou ao redor de 4 a 8 horas, ou ao redor de 6 horas. Em algumas modalidades, a mistura é então mantida em cerca de 32°C durante várias horas, a fim de permitir que o C9 cristalize, por exemplo, ao redor de 2 a 24 horas, ou ao redor de 4 a 8 horas, ou ao redor de 6 horas.

[0096] Em algumas modalidades, a mistura é então esfriada ainda mais. Em algumas modalidades, a temperatura pode ser esfriada para cerca de -5 °C a cerca de 5 °C, ou ao redor de 0 °C. O esfriamento pode ocorrer em uma única etapa ou em várias etapas (por exemplo, esfriar para cerca de 24 °C, depois para cerca de 16 °C, então para cerca de 0 °C). Em algumas modalidades, a mistura é esfriada ao longo de um período de tempo de cerca de 3 a 24 horas. Em algumas modalidades, a mistura é mantida ao redor de 0 °C, por exemplo, durante pelo menos uma hora, ou durante cerca de uma hora.

[0097] O procedimento de recristalização resultou em pureza melhorada do produto C9. Em várias modalidades, o produto compreende pelo menos cerca de 95% a/a, ou pelo menos cerca de 96% a/a, ou pelo menos cerca de 97% a/a, ou pelo menos cerca de 98% a/a, ou pelo menos cerca de 99% a/a, ou pelo menos cerca de 99,5% a/a, conforme medido por HPLC, do C9, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes.

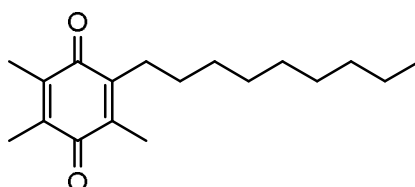
[0098] O procedimento também pode resultar em alta pureza do polimorfo reivindicado. Em várias modalidades, pelo menos cerca de 95% em mol, ou pelo menos cerca de 96% em mol, ou pelo menos cerca de 97% em mol, ou pelo menos cerca de 98% em mol, ou pelo menos cerca de 99% em mol, ou pelo menos cerca de 99,5% em mol, da 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona é o polimorfo, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes.

[0099] O procedimento também pode resultar em alta potência de C9. Potência = $(100\% - \text{impurezas totais por HPLC}) \times (100\% - \% \text{ de teor de água} - \% \text{ de solvente residual total} - \% \text{ de resíduo na ignição})$. A potência pode ser calculada como se segue $(\% \text{ de pureza de área por HPLC}/100) \times (100 - \% \text{ em peso de teor de água (KF)} - \% \text{ em peso de solventes residuais} - \% \text{ em peso de resíduo na ignição (ROI)})$. Em várias modalidades, a potência da 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona é de pelo menos cerca de 95%, pelo menos cerca de 96%, pelo menos cerca de 97%, pelo menos cerca de 98%, pelo menos cerca de 99% ou pelo menos cerca de 99,5%.

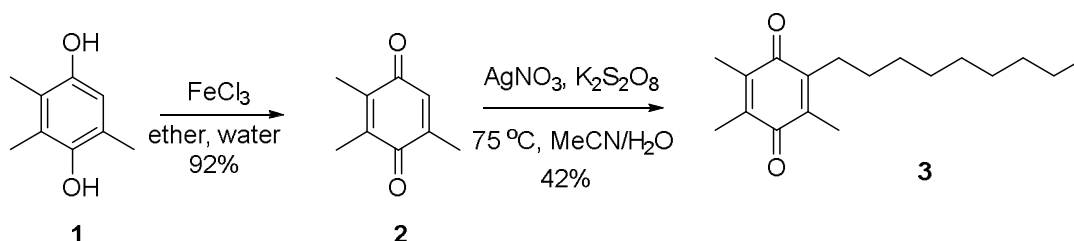
[00100] O procedimento também pode resultar em uma distribuição mais limitada de tamanhos de partícula. D10 representa o diâmetro de partícula que corresponde a 10% cumulativo (de 0 a 100%) da distribuição de tamanho de partícula de menor tamanho (isto é, a porcentagem de partículas menores que D10 é 10%). D90 representa o diâmetro de partícula que corresponde a 90% cumulativo (de 0 a 100%) da distribuição de tamanho de partícula de menor tamanho (isto é, a porcentagem de partículas menores que D90 é 90%). Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 11:1. Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 10:1. Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 9:1. Em algumas modalidades, as

partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 8:1. Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 7:1. Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 6:1. Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 5:1. Em algumas modalidades, as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 4:1.

EXEMPLOS



Exemplo 1A. Síntese de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (3)



(legenda = éter – água)

[00101] Em um reator de 50 L com um termômetro e um agitador foi adicionado 2,3,5-trimetil-benzeno-1,4-diol (1) (1,39 kg, 9,1 mol) e éter (15 L) a 23 °C. Tornou-se uma solução clara após agitação durante 30 minutos. Uma solução de cloreto férrico (5,6 kg, 34,5 mol) em água (20 L) foi adicionada gota a gota ao longo de 3 h. A mistura de reação foi agitada durante mais 2 horas nesta temperatura. A fase orgânica foi separada. A camada aquosa drenada foi extraída com éter (3 x 5 L). As fases orgânicas combinadas foram secas por sulfato de sódio e concentradas. O resíduo foi diluído com diclorometano (DCM) (1 L) e purificado com cromatografia em sílica gel (uma coluna) para fornecer

o produto desejado 2 (1,27 kg, 95%). TLC (éter de petróleo (PE)/acetato de etila (EA) = 30/1). R_f (Composto 1) = 0,2. R_f (Produto 2) = 0,6.

[00102] Em um reator de 50 L com um termômetro e um agitador foi adicionado 2,3,5-trimetil-[1,4]benzoquinona (2) (780 g, 5,2 mol, 1,0 eq), ácido decanóico (895 g, 5,2 mol, 1,0 eq) e acetonitrila (15 L). Tornou-se uma solução clara após agitação na temperatura ambiente durante 30 minutos. Nitrato de prata (882 g, 5,2 mol, 1,0 eq) foi adicionado de uma vez. A mistura de reação foi aquecida até 75 °C. Uma solução de persulfato de potássio (1,54 kg, 5,7 mol, 1,1 eq) em água (30 L) foi adicionada gota a gota durante 2 horas. Após a adição, a reação foi agitada durante mais 3 horas a 75 °C. A solução foi esfriada para a temperatura ambiente. A camada aquosa foi drenada em 15 L de água, a qual foi extraída com acetato de etila (3 x 5 L). As fases orgânicas combinadas foram secadas por sulfato de sódio e filtradas. O filtrado foi concentrado para fornecer um resíduo amarelo, que foi cristalizado com metanol quente (800 ml). O sólido foi filtrado e lavado com uma pequena quantidade de metanol e éter e secado *in vacuo* para proporcionar 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (3) (447 g) como um aglomerado de cristal amarelo. O filtrado foi concentrado e purificado por cromatografia de coluna rápida (éter de petróleo : acetato de etila, 100:1) para proporcionar 155 g adicionais de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (3) (quantidade total: 602 g, 42%). TLC (éter de petróleo / acetato de etila (PE/EA) = 30/1). R_f (Composto 2) = 0,5. R_f (Produto 3) = 0,6. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 2,46 (s, 2H), 2,02 - 2,01 (m, 9H), 1,35 - 1,26 (m, 22H), 0,88 - 0,86 (m, 5H). Ag = 45 ppm. Ponto de fusão 49,9.

[00103] O produto tinha alto teor de prata e, devido à combinação de dois isolamentos, um de trituração de MeOH e o outro de cromatografia de coluna, o produto era uma mistura não homogênea

compreendendo partículas finas, assim como grandes pedaços de composto.

Exemplo 1B. Recristalização de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C9)

[00104] **Sumário.** O produto foi preparado, após pré-tratamento com NaCl, através da recristalização de 2-propanol (IPA)/água (H₂O) seguida de digestão, coleta e secagem por meio de ar e vácuo. O material de partida (C9 conforme preparado no Exemplo 1A, 99,9 g) tinha alto teor de Ag (45 ppm), e então uma lavagem com salmoura e duas lavagens com água foram executadas em uma solução de éter metil terc-butílico (MTBE) do composto C9 antes da secagem e recristalização. A solução de MTBE de C9 foi filtrada através de um filtro de 2,7 µm para remover quaisquer particulados presentes após a lavagem com cloreto de sódio (NaCl). Durante a troca de solvente de MTBE para o solvente de recristalização IPA, formou-se um sólido marrom em solução, necessitando de uma filtração a quente para ser removido. O sólido de cor castanha amarelada provavelmente resultou da exposição à luz da solução de quinona, e não foi analisado posteriormente. A solução amarela brilhante filtrada foi então protegida da luz, concentrada e dissolvida em 85% IPA/H₂O (486 g / 98 g) a 40°C. O calor foi removido e formaram-se cristais a 35 °C. A pasta fluida foi deixada agitar durante 48 h a 16 °C, esfriada para 0 °C e os sólidos coletados, lavados e secados em um peso constante sob ar e vácuo (~ 125 mmHg) para fornecer 82,1 g (82,1%) de agulhas amarelas finas. O material foi analisado por RMN, UPLC, LCMS, IR e MP.

[00105] **Remoção de Ag por lavagem com NaCl.** C9 bruto (99,9 g, conforme preparado no Exemplo 1A) como um conglomerado amarelo de pó e cristais misturados, foi dissolvido em 500 ml de éter metil terc-butílico (MTBE) e o líquido amarelo turvo com pequenas manchas

pretas (1 a 2 mm) foi lavado com salmoura (100 ml, 20% em peso de NaCl em H₂O). A camada superior orgânica amarela turva foi retida, a camada de pano e as fases aquosas incolores e límpidas foram rejeitadas. A fase orgânica foi lavada com água (2 x 100 ml) e secada por sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄, 35 g). A solução amarela clara foi filtrada através de um filtro Whatman Tipo 3 de 55 mm (6 µm) empilhado em cima de um filtro Whatman GF/D de 55 mm (2,7 µm) e os recipientes enxaguados com MTBE (2 x 20 ml). IPA (100 ml) foi adicionado e concentrado por meio de rotovap (125 a 90 mmHg, banho de 40 a 25 °C) para fornecer uma pasta fluida amarela brilhante (180 g). IPA (348 g) foi adicionado e a pasta aquecida até a clareza (35 °C, 120 mmHg) durante 20 min, depois a pressão foi reduzida para 60 mmHg e o volume reduzido até que os cristais começaram a se formar (~ 45 min). Não havia odor de MTBE na pasta fluida resultante. A pasta fluida foi concentrada a 35 °C até um peso de 182 g, IPA (404 g) foi adicionado, aquecido a 40 °C até dissolver e concentrado em um sólido amarelo (35 mmHg). IPA (500 ml) foi adicionado e deixado em agitação durante a noite.

[00106] *Filtração para remover sólidos de cor castanha amarelada.* Manchas marrons foram observadas na solução de IPA e foram removidas por filtração a quente (~ 40 °C) através de um filtro Whatman tipo 3 de 55 mm (8 µm) empilhado e Whatman GF/D (2,7 µm). Um resíduo pegajoso de cor castanha amarelada foi deixado no filtro e a solução amarela brilhante clara foi concentrada em um sólido amarelo por meio de rotovap.

[00107] **Recristalização.** Ao sólido amarelo foi adicionado IPA (486 g), o recipiente foi aquecido para 40 °C e água (98 g) foi adicionada à solução amarela clara. O calor foi reduzido para 21 °C ao longo de 2 h para dar uma pasta fluida amarela clara de agulhas. A pasta fluida foi agitada durante 48 h a 16 °C, esfriada para 0 °C e a pasta fluida

amarela espessa foi filtrada (Whatman #54, 150 mm Buchner). As agulhas amarelas finas foram enxaguadas com 85% IPA/H₂O gelado (2 x 250 ml, 0 °C) e IPA (100 ml, 0 °C). Os sólidos foram deixados sob sucção durante 1 h, uma barragem de nitrila foi instalada no funil de Buchner e mantida sob vácuo interno (~ 100 mmHg) durante a noite. Os cristais amarelos (88,9 g) ainda tinham um odor de IPA, então foram removidos para um novo Buchner/filtro (o funil ficou obstruído com resíduo C9) e mantidos sob vácuo (100 mmHg, 6 h) até um peso constante (82,1 g, 82,1%). Transferidos para uma garrafa Amber Type I Schott-Duran de 500 ml em temperatura ambiente para armazenamento. Volume de cristais de ~280 ml (82,1 g).

[00108] **Análise de CoA por métodos qualificados:** Teor de água (KF) = 0,05%; Teor de solvente = 0,23%; Pureza por HPLC = 100% AUC; Ponto de fusão por DSC = 53,0 °C; Teor de Ag < 2,00 ppm; Resíduo na ignição = 0,02%; Potência (calculada) = 99,71%, Forma do cristal concordante com o padrão A.

[00109] A potência é calculada como se segue (% de pureza de área por HPLC/100) * (100 - % em peso de teor de água (KF) - % em peso de solventes residuais - % em peso = resíduo na ignição (ROI)).

Exemplo 2. Rastreamento de recristalização

[00110] Como mostrado nos Exemplos 1A e 3A, os métodos sintéticos para a produção de C9 resultaram em um produto que tinha uma ou mais características indesejadas, como alto teor de prata, viscosidade do produto, e tamanhos e distribuição de partículas indesejáveis. Conforme examinado acima, a recristalização pode melhorar as propriedades do produto. Consequentemente, uma variedade de solventes foi selecionada para adequação na recristalização de C9.

[00111] 100 mg de C9 foram colocados em tubos de ensaio e solvente adicionado e qualquer alteração observada. As amostras

foram então aquecidas brevemente com uma pistola de ar quente (aquecimento para aproximadamente 45 a 50 °C), a solubilidade observada, deixada esfriar até a temperatura ambiente e a solubilidade observada, depois esfriada para 0 °C e a solubilidade observada. Os resultados estão na tabela abaixo.

Tabela 1. Varredura de solvente para Recristalização

Solvente	Conc. aprox. (mg/ml)	Resultado na RT	Resultado quente	Resultado de quente para a RT	Resultado na RT para frio
MeOH	100	ligeiramente solúvel	solúvel	ligeiramente solúvel	Agulhas insolúveis – longas
EtOH	100	parcialmente solúvel	solúvel	ligeiramente solúvel	Agulhas pequenas parcialmente solúveis
IPA	100	solúvel	solúvel	solúvel	Agulhas pequenas parcialmente solúveis
70% IPA/H ₂ O	100	ligeiramente solúvel	predominantemente solúvel - fundido	ligeiramente solúvel (ficou turvo e os sólidos derreteram antes da solubilidade)	Agulhas translúcidas ligeiramente solúveis
MeCN	100	solúvel	solúvel	solúvel	Agulhas pequenas predominantemente solúveis
THF	100	solúvel	solúvel	solúvel	solúvel
95% EtOH	100	parcialmente solúvel	solúvel	parcialmente solúvel	predominantemente insolúvel
Água	10	insolúvel	insolúvel	insolúvel	Insolúvel
80% EtOH	100	parcialmente solúvel	Derreteu antes da dissolução completa	parcialmente solúvel	ligeiramente solúvel
80% EtOH	50	parcialmente	Derreteu antes da dissolução	parcialmente	ligeiramente

[00112] Os seguintes solventes foram descartados como

inadequados, porque o C9 era muito solúvel em temperaturas frias: MeCN, THF.

[00113] Os seguintes solventes foram descartados como inadequados, porque o C9 não era suficientemente solvente em temperaturas mais altas: água.

[00114] Os seguintes solventes foram descartados como inadequados, porque o material C9 derreteu antes da dissolução: 80% de EtOH. Isso é desfavorecido visto que formará um óleo suspenso na solução. Após o esfriamento, pode cristalizar, mas os cristais geralmente não serão homogêneos ou aumentarão em pureza.

[00115] EtOH a 95% foi descartado como impróprio porque contém MeOH e acetona, o que pode ser problemático para produtos farmacêuticos.

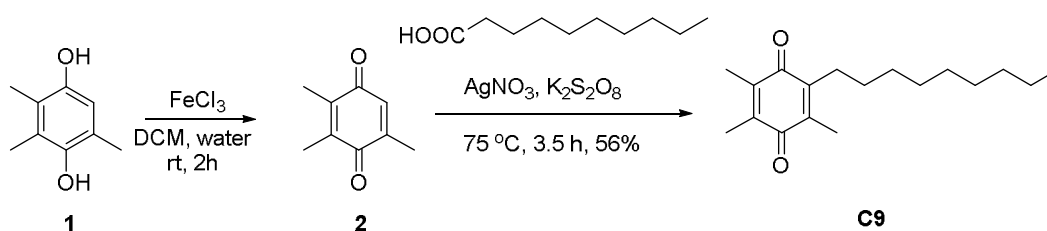
[00116] Metanol e etanol foram os menos preferidos, devido aos seus baixos pontos de ebulição. Além disso, as agulhas longas de MeOH foram menos preferidas porque os cristais de agulha longa são mais difíceis de transferir e filtrar do que as partículas mais compactas.

[00117] Foi observado que o etanol produziu material quase completamente solúvel quando quente e parcialmente solúvel quando frio. O IPA também apresentou comportamento semelhante, mas foi solúvel em alta temperatura em 100 mg/ml e parcialmente solúvel na RT/frio. As misturas de etanol/água foram inicialmente examinadas quanto às propriedades de solubilidade, mas foram rejeitadas porque o composto C9 tornou-se oleoso em > 40 °C. Visto que o IPA tinha solubilidade ligeiramente melhor sem oleosidade em temperaturas mais altas antes da dissolução completa, e o IPA era miscível com um bom antissolvente (H₂O), foi examinado depois que o etanol se mostrou inadequado. 70% IPA/H₂O resultou em problemas de fusão e oleosidade, enquanto que 100% IPA não era idealmente insolúvel em temperaturas frias. Consequentemente, concentrações de IPA entre

70 a 100% foram testadas.

[00118] As soluções de teste na escala de 1 g determinaram que 75 a 85% IPA/água forneceu boa solubilidade (~ 10:1 vol:p), cristais finos que eram filtráveis e soluções que podiam ser aquecidas e esfriadas para produzir uma fusão/cristalização previsível. A semente não parecia ser necessária. Uma filtração quente foi necessária como um material marrom formado durante a cristalização quando a solução foi deixada exposta à luz ambiente durante > 1 h. Isso só foi observado com a solução exposta à luz. A recuperação foi de 92,7% de agulhas finas e a análise de UHPLC do sobrenadante foi de 91% a/a vs 99% para o sólido, indicando que o sobrenadante estava removendo impurezas. As agulhas amarelas finas resultantes foram facilmente filtradas e lavadas com boa recuperação. A UHPLC mostrou uma melhora na % de área de UHPLC e os cristais eram todos semelhantes em tamanho e fluíam facilmente assim que secos.

Exemplo 3A. Síntese de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona



(legenda = água)

[00119] A solução agitada de composto 1 (2,0 kg, 13,15 mol, 1,0 eq) em diclorometano (20 L) foi agitada a 23 °C durante 30 min. Uma solução de cloreto férrico (5,33 kg, 32,88 mol, 2,5 eq) em água (19,04 L) foi adicionada gota a gota ao longo de 22 h. A mistura de reação foi agitada durante mais 2 horas nesta temperatura. A HPLC mostrou que o composto 1 foi completamente consumido. A fase orgânica foi separada. A camada aquosa drenada foi extraída com diclorometano (2 x 10 L). As fases orgânicas combinadas foram lavadas com água (2

x 20 L), salmoura (2 x 10 L) e secadas por sulfato de sódio (ao redor de 5 kg) e concentradas para fornecer o composto bruto 2 (1,95 kg, bruto), que foi utilizado diretamente na próxima etapa sem mais purificação.

[00120] Uma mistura de composto 2 (1,25 kg, 8,33 mol, 1,0 eq) e ácido decanóico (1,44 kg, 8,33 mol, 1,0 eq) em acetonitrila (25 L) foi agitada na temperatura ambiente durante 30 minutos. Nitrato de prata (353,9 g, 2,08 mol, 0,25 eq) foi adicionado de uma vez. A mistura de reação foi aquecida até 75 °C. Uma solução de persulfato de potássio (2,48 kg, 9,17 mol, 1,1 eq) em água (100 L) foi adicionada gota a gota. Após a adição, a reação foi agitada durante 3,5 horas adicionais a 75°C. A HPLC mostrou que o composto 2 foi completamente consumido. A solução foi esfriada para a temperatura ambiente. A camada aquosa foi drenada em 50 L de água, a qual foi extraída com acetato de etila (3 x 10 L). A fase orgânica combinada foi lavada com cloreto de sódio aquoso (5 L), secada por sulfato de sódio (cerca de 5 kg) e filtrada. O filtrado foi concentrado. O resíduo foi purificado por cromatografia de coluna em sílica gel (PE, PE/EA, 50/1) para fornecer um produto em bruto. O produto foi obtido como óleo após cromatografia de coluna rápida (FCC) (solidificado após repouso). Foi carregado em um frasco de três gargalos rapidamente antes de se solidificar. O óleo foi agitado e um sólido se formou com agitação. O sólido foi triturado com metanol (2 volumes, adicionado gota a gota, como a quantidade de produto bruto após a purificação da coluna) durante a noite (~ 15 horas) na temperatura ambiente (20 ~ 30 °C) e filtrado. A torta obtida foi lavada com metanol (500 ml) e secada *in vacuo*: o sólido foi carregado em um evaporador rotativo de 20 L com uma bomba de vácuo (0,5 mmHg) em banho-maria (< 30 °C), durante 7 dias, 8 horas/dia, para remover os solventes residuais: acetonitrila, metanol, diclorometano e acetato de etila) para proporcionar C9 (1,28

kg, 56%) como um cristal amarelo. O produto foi espalhado em um recipiente inoxidável e batido com um pilão para se obter um tamanho semelhante. O processo de moagem foi repetido várias vezes. Tentativa de peneirar o sólido foi adotada. No entanto, o sólido não pôde ser peneirado porque o produto grudou na peneira (malha 100). Visto que a moagem desse material é difícil, as partículas derivadas são grandes e serão difíceis de formular.

TLC (PE/EA = 30/1). R_f (Composto 2) = 0,5. R_f (C9) = 0,8. LC-MS: n/a. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 2,45 - 2,42 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,99 - 1,94 (m, 9H), 1,24 (m, 16H).

Ensaio = HPLC 92,2% p/p versus padrão de referência.

Exemplo 3B. Recristalização de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona

[00121] **Sumário.** Este exemplo resume a recristalização de C9 em uma batelada de engenharia de 10 g e a recristalização subsequente de 2,4 kg de C9 (ambas as amostras fornecidas do Exemplo 3A). Dissolução do material em 2-propanol a 40 °C, seguida pela adição de água para obter uma solução turva que foi filtrada por polimento através de um filtro encamisado a 40 °C. A solução clara resultante foi lentamente esfriada para 32 °C, após o que o produto cristalizou espontaneamente como agulhas amarelas finas. O esfriamento adicional por etapas até 16 °C e depois 0 °C proporcionou uma pasta fluida que foi coletada por filtração e enxaguada com 85% de 2-propanol em água. O sólido resultante foi secado sob vácuo a 25 °C até peso constante para proporcionar o produto (1,975 kg) com uma recuperação de 82%. O sólido isolado foi testado e aprovado por DSC, IR e ^1H RMN.

[00122] **Argumentação.** As vantagens do processamento aqui descrito são: leva em conta a formação controlada de um sólido verdadeiramente cristalino, sem oleosidade; não há necessidade de

cristais sementes; um aumento no ensaio/pureza; falta de aderência com boas propriedades de fluxo; uma distribuição de tamanho de partícula mais estreita; e partículas de formato regular que são mais fáceis de isolar e secar. Se necessário, espera-se que a moagem deste material seja fácil.

[00123] A análise de LCMS do C9 fornecido (feito de acordo com o Exemplo 3A, 92,2% puro) mostrou uma maior impureza por contagem total de íons (TIC) que não era visível em UV254 ou por detector de dispersão de luz evaporativa (ELSD). A impureza foi expurgada com eficiência no produto recristalizado com alta recuperação da impureza no licor-mãe.

[00124] O protocolo de esfriamento promulgado produziu cristais sem oleosidade ou exigindo o uso de cristais sementes, a cristalização ocorreu a 32 °C.

[00125] O isolamento do produto final proporcionou uma torta úmida que foi transferida para um forno de secagem a 25 °C sem o uso de uma barragem de nitrila.

[00126] **Recristalização (2,4 kg).** A um reator encamisado de 50 L equipado com um agitador mecânico superior, entrada de argônio e uma sonda de temperatura revestida com Teflon foi adicionado C9 (2.400 g) e 2-propanol (15,6 L, Fisher A416). A mistura foi agitada em 75 rpm sob argônio e o reator foi coberto com folha de alumínio. A camisa do reator foi aquecida para 41 °C (temperatura interna de 40°C) e agitada durante 60 minutos para se tornar uma solução límpida.

[00127] À reação foi adicionada água deionizada (2,5 L, Ricca 9150-5) e a solução foi agitada durante 90 minutos. A solução foi filtrada por polimento através de um funil encamisado de vidro sinterizado P4 (10 a 16 um) a 40 °C utilizando pressão de argônio positiva (8 psi) e coletada em um garrafão de vidro de 20 L.

[00128] O reator de 50 L foi enxaguado com 2-propanol (2L, Fisher A416) e drenado para resíduos orgânicos.

[00129] O sobrenadante claro (36 °C) foi devolvido ao reator encamisado de 50 L equipado com um agitador mecânico superior, entrada de argônio e uma sonda de temperatura revestida com Teflon e aquecido de volta para 40 °C. A solução foi agitada em 75 rpm e esfriada para 32 °C ao longo de 6 horas e depois mantida a 32 °C durante mais 6 horas. Cristais se formaram. A pasta fluida foi esfriada para 24 °C durante 1 hora e adicionalmente esfriada para 16 °C durante 1 hora e esfriada para 0 °C durante 1 hora.

[00130] O sólido foi coletado em um funil de vidro sinterizado P4 (10 a 16 µm) utilizando pressão positiva de argônio (8 psi). A torta de filtração foi enxaguada com 2-propanol/água (85/15 v/v, 2 x 6 L) e secada sob uma corrente de argônio durante 2 horas para proporcionar 3450 g de um sólido amarelo. O sólido foi transferido para um forno a vácuo e secado sob vácuo a 25 °C durante 240 horas. O peso foi verificado em intervalos de ~24 horas até que o peso constante fosse alcançado para produzir o produto final C9 (1975 g, rendimento de 82,2%) como um sólido cristalino amarelo de fluxo livre. A análise de DSC do sólido mostrou um início de fusão a 48,66 °C e um ponto de fusão de 50,13 °C. O ensaio por HPLC mostrou pureza de 99,4% a/a.

[00131] O licor-mãe foi concentrado sob pressão reduzida para produzir 400 g de um óleo vermelho. A análise do óleo mostrou algum produto, com um grande pico de impureza por TIC que não parecia ter absorvância observável em 254 nm. O peso molecular da impureza parecia ser 373 (M + H = 374 amu).

[00132] **Análise de CoA por métodos qualificados:** Teor de água (KF) = 0,06%; Teor de solvente = 0,24%; Pureza por HPLC = 100% AUC; Ponto de fusão por DSC = 53,0 °C; Teor de Ag < 2,00 ppm;

Resíduo na ignição = < 0,01%; Potência (calculada) = 99,69%, Forma de cristal concordante com a forma A.

Exemplo 4. Polimorfo de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona

[00133] **SUMÁRIO.** Um resumo do Padrão A na condição de recebimento e sua fusão é fornecido abaixo.

Sólido	Cristalinidade	Inícios de DSC (°C)	Mudança em massa DVS (% em peso)	Solubilidade em 24 horas (mg/mL)*				
				FaSSGF	FeSSIF	FaSSIF	0,5% MC + 2% Tween80 (aq)	Água
Padrão A	alta	48.70	0,01 (15 a 75% RH); 0,08 (2 a 95% RH)	BDL	0,20	BDL	0,31	BDL
Padrão A Fundido	nenhum	-	0,044 (15 a 75% RH); 0,073 (2 a 95% RH)	BDL	0,20	0,04	0,28	BDL

*BDL: Abaixo do limite de detecção.

[00134] **CARACTERIZAÇÃO.** O sólido recebido (ID 1-1, conforme produzido de acordo com os Exemplos 1A e 1B) era um pó amarelo ligeiramente pegajoso. O recipiente foi armazenado em um refrigerador a 5 °C. Visto que o material era sensível à luz, o recipiente e todos os frascos de amostra foram protegidos da exposição à luz com frascos revestidos de âmbar ou papel alumínio. A análise de XRPD do material (ID 1-1) mostrou que o material era cristalino e tinha picos de alta intensidade em 4, 12 e 16 °2θ, assim como vários outros picos de intensidade mais baixa; esse padrão foi denominado Padrão A (Figura 5). Uma lista de picos com espaçamento d e intensidade é mostrada na Tabela 2.

Tabela 2. Lista de picos XRPD para material (ID 1-1). Picos com intensidade relativa > 5 são relatados

2-teta (grau)	Espaçamento d (Å)	Intensidade relativa (contagens)
4,10	21,52	100
11,77	7,51	8
12,12	7,30	40
16,14	5,49	31
22,41	3,96	7

* padrão de difração na Tabela 2 foi obtido com um Rigaku MiniFlex 600 com fonte de Cu K α 1, um comprimento de onda de 1,540598 Å e uma temperatura de 23 a 25 °C.

[00135] O material (ID 1-1) foi dissolvido em MeOD e analisado por ¹H RMN (Figura 6). O espectro de RMN era consistente com a estrutura de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona. Também é consistente com o fato de ser anidro e não um solvato.

[00136] DSC do material (ID 1-1) mostrou um início de fusão a 48,70 °C (Figura 7). TGA/DSC simultâneo mostrou um início de fusão que concorda com DSC, com uma etapa associada para perda de peso de 0,26% (Figura 8). O resumo dos dados de DSC incluindo detalhes do método é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Lista de picos para termograma de DSC do material (ID 1-1)*

Início (°C)	Pico (°C)	Entalpia normalizada (J/g)
48,70	50,45	-144,12

* O termograma de DSC foi obtido com Mettler Toledo DSC3+ com um método que eleva de 25 a 250 °C em 10 °C/min, 60 ml/min de N₂, em panela de Al hermética com tampa com orifício, sem dobra.

[00137] Imagens microscópicas do material na condição de recebimento (ID 1-1) foram capturadas com ampliação de 100X (Figura 9A) e 400X (Figura 9B). O material apresentou morfologia retangular em forma de placa.

[00138] A titulação de Karl Fischer (KF) para o teor de água foi executada com duas amostras de material na condição de recebimento (ID 1-1), a primeira com 24 mg e a segunda com 43 mg; no entanto, nenhuma amostra forneceu uma medição pelo titulador.

Isso indicou que o teor de água do material estava abaixo do limite de detecção do instrumento (> 1 ppm). Este resultado é consistente com o material sendo anidro (ppm).

[00139] O material na condição de recebimento (ID 1-1) foi submetido a um ciclo de umidificação por instrumento de sorção de vapor dinâmico (DVS). O material sofreu uma alteração de 0,01% na massa na faixa de umidade relativa de 15 a 75% e uma alteração de 0,08% na massa na faixa completa de 2 a 95% de umidade relativa. O gráfico isotérmico é mostrado na Figura 10. Após o ciclo de umidificação, o sólido foi analisado por XRPD. O padrão observado permaneceu inalterado em relação ao sólido conforme recebido (ID 1-1), Padrão A; os dados de XRPD são mostrados na Figura 11. Esses resultados demonstram que o material não é higroscópico.

[00140] Uma amostra do sólido na condição de recebimento foi dissolvida em uma concentração de 0,5 mg/ml e injetada por HPLC para análise de pureza. Nenhuma impureza foi observada. O cromatograma é mostrado na Figura 12.

[00141] **Tratamento Térmico.** 15 mg de material na condição de recebimento (ID-1-1) foram pesados em uma bandeja de DSC e submetidos a tratamento térmico no instrumento DSC autônomo com um método que aqueceu para 60 °C em 10 °C/min e depois esfriado para 10 °C em 2 °C/min. O material resultante foi recuperado da bandeja e semeado para análise de XRPD (ID-10-1). O material fundiu com início de 48,74 °C e recristalizou com início exotérmico de 22,58°C. O material recuperado apresentou Padrão A por XRPD. O termograma do tratamento de DSC é mostrado na Figura 13. Os dados de XRPD são mostrados na Figura 14.

[00142] **Microscopia em Estágio Quente.** Um sistema de estágio quente Linkam foi empregado para capturar imagens do sólido na condição de recebimento (ID-1-1) durante a fusão. Uma pequena

quantidade de material foi colocada em uma lâmina de microscópio dentro do estágio quente, e um método de aumento da temperatura foi empregado para ir de 30 °C para 55 °C em uma taxa de 1 °C/min. Uma série de imagens foi capturada com ampliação de 200X durante a elevação. Nenhuma mudança morfológica foi observada até a fusão (dados não mostrados). Após a fusão, o estágio quente foi esfriado de volta para a temperatura ambiente naturalmente e o material foi monitorado com ampliação de 200X com relação à recristalização, mas nenhum sólido foi observado; a amostra apareceu como um vidro. O material foi manipulado com uma agulha de calibre 21 para tentar a nucleação do cristal. A lâmina foi então removida do estágio quente e uma imagem foi capturada com ampliação de 200X; o material resultante apareceu inalterado (dados não mostrados). Isso mostra que o composto pode existir como uma forma líquida fundida (amorfa) na temperatura ambiente.

[00143] **Estabilidade da Forma Sólida.** A estabilidade da forma sólida do material foi avaliada ao longo de uma semana. 49,0 mg de ID-1-1 foram colocados dentro de um frasco de 4 ml coberto com papel alumínio, que foi coberto com um KimWipe. Este frasco foi colocado dentro de um frasco de 20 ml contendo cloreto de sódio aquoso saturado. O frasco foi colocado em uma placa quente a 40 °C durante 7 dias, criando uma atmosfera de 75% de umidade relativa no sistema. Após 7 dias, o sólido foi experimentado com relação à HPLC (ID-4-1).

[00144] O cromatograma resultante não mostrou nenhuma impureza na amostra de estabilidade. O cromatograma é mostrado na Figura 15. Uma amostra do material estressado foi plaqueada e analisada por XRPD; o padrão observado foi o Padrão A. Os dados de XRPD são mostrados na Figura 16. Imagens microscópicas de ID-4-1 foram capturadas com ampliação de 100X e 400X. As imagens são

mostradas na Figura 17A (100X) e na Figura 17B (400X).

[00145] Uma amostra da forma sólida foi aquecida para 55 °C até derreter, em seguida, esfriada para a temperatura ambiente durante 5 minutos, e um difractograma de XRPD mostrou que ela era amorfa (Figura 31). A 20 °C, a fusão eventualmente solidificou no Padrão A, como visto em um experimento de DSC de ciclo de temperatura (Figura 32). Isso indica que a forma líquida amorfa é metaestável e se converte no Padrão A.

[00146] **Solubilidade em Fluidos Simulados e Água.** A solubilidade do Padrão A e do sólido fundido foi avaliada em fluido gástrico simulado em estado de jejum (FaSSGF), fluido intestinal simulado em estado de alimentação (FeSSIF) e fluido intestinal simulado em estado de jejum (FaSSIF), água e metil celulose 0,5% + Tween80 2% em água. Cinco frascos de 4 ml cobertos com papel alumínio foram preparados com 11 a 13 mg de material na condição de recebimento (ID-1-1), barras de agitação de 10 mm foram incluídas. Cinco frascos de 4 ml cobertos com papel alumínio contendo entre 11 a 13 mg de C9 foram derretidos em uma placa quente a 70 °C durante 10 min e esfriados para a temperatura ambiente durante 5 min, barras de agitação de 10 mm foram incluídas.

[00147] As pastas fluidas foram preparadas com o material na condição de recebimento ID-1-1 (Padrão A) e C9 fundido, cada um em 2,5 ml de fluidos simulados (incluindo metil celulose 0,5% + Tween80 2% em água) ou água. As amostras contendo ingrediente farmacêutico ativo derretido (API) foram sonicadas brevemente, visto que elas pareciam conter aglomerados de material. Tanto o pH quanto a solubilidade foram avaliados em 30 minutos e 24 horas. Para a análise de solubilidade, 1 ml de cada amostra foi pipetado em um filtro de seringa, o primeiro 0,5 ml foi filtrado de volta para o frasco de origem e os 0,5 ml restantes foram filtrados em frascos de HPLC com inserções

de baixo volume.

[00148] O fator de resposta calculado com os pontos de calibração foi utilizado para determinar as concentrações de API nos fluidos simulados e água. As amostras de calibração foram preparadas com material na condição de recebimento (ID-1-1) no ACN. As concentrações e as áreas de pico para cada ponto de calibração foram traçadas e um fator de resposta calculado para avaliação de solubilidade.

[00149] O projeto experimental e os dados resultantes são mostrados na Tabela 5. O remanescente de cada pasta fluida foi filtrado e plaqueado para análise de XRPD. Todos os padrões observados foram Padrão A (dados não mostrados).

Tabela 5. Projeto experimental e dados resultantes da solubilidade em fluidos simulados e água

Padrão	Fluido	Conc. (mg/ml) em 30 min*	Conc. (mg/ml) Em 24 h*	pH do fluido puro	pH em 30 min	pH em 24 h	XRPD
A	FaSSGF	BDL	BDL	1,63	1,51	1,60	A
	FeSSIF	0,29	0,20	4,95	4,90	4,82	A
	FaSSIF	0,01	BDL	6,55	6,48	6,44	A
	0.5% MC + 2% Tween80 (aq.)	0,53	0,31#	3,38	3,52	3,62	A
	Água	BDL	BDL	~7,00	6,65	6,82	A
A (fundido)	FaSSGF	BDL	BDL	1,63	1,48	1,62	A
	FeSSIF	0,25	0,20	4,95	4,87	4,83	A
	FaSSIF	0,02	0,04	6,55	6,54	6,44	A
	0.5% MC + 2% Tween80 (aq.)	0,22	0,28#	3,38	3,61	3,65	A
	Água	BDL	BDL#	~7,00	7,18	7,29	A

* BDL: abaixo do limite de detecção

#Com coluna de HPLC Phenomenex Luna Phenyl Hexyl e método

modificado.

[00150] Devido às altas pressões observadas com a coluna HPLC, uma coluna diferente e um método modificado foram empregados para pontos de dados de 24 h com metil celulose 0,5% + Tween80 2% em água e 24 h em água (ID-30-4, ID-30-9 e ID-30-10). Amostras de HPLC de ID-30-4 e 30-9 (aquelas contendo a mistura de metil celulose/Tween80) foram diluídas 10X com ACN. Essas amostras acrescidas de um novo conjunto de injeções dos pontos de calibração foram analisadas, um novo fator de resposta foi determinado e a solubilidade das amostras remanescentes foi calculada (fator de resposta: 8084,7908; R2: 0,9989).

Exemplo 5. Morfologia de Cristal de C9 dos Exemplos 3A e 3B

[00151] **Sumário.** O material dos lotes conforme descrito nos Exemplos 3A e 3B eram visualmente sólidos cristalinos amarelos.

[00152] Múltiplas imagens de microscopia foram tiradas para cada lote em 3 ampliações diferentes (25X, 10X, 400X) para evitar polarização ao capturar imagens. O primeiro lote, ID-38-1 (Exemplo 3B), demonstrou partículas maiores por microscopia, variando de aproximadamente 100 µm a mais de 600 µm. No geral, as partículas eram de forma regular, retangular e um tanto plana na forma, e demonstraram boa birrefringência.

[00153] O segundo lote, ID-38-2 (Exemplo 3A), demonstrou partículas significativamente menores no geral quando comparado com o primeiro lote. Uma faixa de partículas entre aproximadamente 50 a 350 µm foi observada, e essas partículas tendiam a ser mais granulares ou de forma irregular. Também houve aglomeração notável de partículas menores presas às partículas maiores, ao contrário do primeiro lote em que partículas individuais foram observadas de forma consistente.

[00154] **Resultados.** A microscopia foi realizada em ID-38-1

(Exemplo 3B) em 3 ampliações diferentes: 25X, 100X e 400X. Este lote particular de C9 demonstrou uma ampla faixa de tamanhos de partícula, através da microscopia.

[00155] Na Figura 18, ampliação de 25X, foi possível ver a variação nos tamanhos e formas das partículas. Predominantemente, placas retangulares foram observadas; no entanto, também havia algumas formas bidimensionais irregulares. Com ampliação de 100X, Figura 19, os comprimentos variam de aproximadamente 100 μm a 600 μm ; birrefringência foi observada. Na ampliação de 400X, as partículas eram muito grandes para caber no quadro, mas as formas retangulares lisas birrefringentes foram bem observadas (Figura 20).

[00156] A microscopia foi realizada em ID-38-2 (Exemplo 3A) em 3 ampliações diferentes: 25X, 100X e 400X. Este lote particular de C9 demonstrou partículas menores no geral quando comparado com ID-38-1 (Exemplo 3B), menos birrefringência e mais partículas pequenas aglomeradas "presas" a algumas das partículas maiores observadas.

[00157] Na Figura 21, pequenas partículas aglomeradas foram observadas com ampliação de 25X. Com uma ampliação de 100X, Figura 22, as partículas de forma granular se tornaram mais visíveis, variando de aproximadamente 50 μm a 350 μm . Várias partículas aglomeradas menores também foram observadas. Com uma ampliação de 400X, Figuras 23A e 23B, as partículas foram observadas dentro do quadro, ao contrário de ID-38-1 (Exemplo 3B). Partículas translúcidas foram observadas em uma forma esférica e birrefringência também foi observada para muitas das partículas. Múltiplas imagens foram capturadas com esta ampliação para demonstrar a grande variedade de tamanhos de partículas observados, assim como para visualizar as partículas menores que foram aglomeradas em alguns dos sólidos maiores.

[00158] **Comparação de Lotes.** Uma comparação direta foi dada

abaixo de ID-38-1 (Exemplo 3B) e ID-38-2 (Exemplo 3A). Com ampliação de 25X, a diferença na morfologia e no tamanho foi rapidamente observada entre os dois lotes, Figura 24. Na Figura 25, com ampliação de 100X, mais partículas individuais foram observadas para ID-38-1 em comparação com ID-38-02, em que pequenas partículas foram observadas aglomeradas nas maiores. Na ampliação de 400X, Figura 26, as partículas eram muito grandes para caber no quadro para ID-38-1 (Exemplo 3B), mas a morfologia tipo placa lisa foi observada claramente, enquanto pequenas partículas aglomeradas em sólidos maiores foram mais uma vez observadas para ID-38-2 (Exemplo 3A).

[00159] **Microscopia.** A microscopia óptica foi executada utilizando um microscópio de formação de imagem digital Zeiss AxioScope A1 equipado com objetivas 2,5X, 10X, 20X e 40X e polarizador. As imagens são capturadas por meio de uma câmera digital AxioCam 105 embutida e processadas utilizando o software ZEN 2 (edição azul) fornecido pela Zeiss.

Exemplo 6. Distribuição de Tamanho de Partícula C9 dos Exemplos 3A e 3B

[00160] **Sumário.** A distribuição do tamanho de partícula para C9 do Exemplo 3A (bruto) e 3B (recristalizado) foi determinada utilizando um Malvern 3000 Mastersizer.

[00161] **Exemplo 3A, Prep 1.** 24,4 mg de amostra C9 foram pesados em um frasco. Aproximadamente 20 ml de água foram adicionados. 20 gotas de octilfenoxipolietoxietanol 5% (IGEPAL) em solução aquosa foram adicionadas ao frasco. A solução foi tapada e suavemente misturada.

[00162] **Exemplo 3A, Prep 2.** 25,2 mg de amostra C9 foram pesados em um frasco. Aproximadamente 20 ml de água foram adicionados. 20 gotas de IGEPAL a 5% em solução aquosa foram

adicionadas ao frasco. A solução foi tapada e misturada suavemente.

[00163] **Exemplo 3B, Prep 1.** 24,7 mg de amostra C9 foram pesados em um frasco. Aproximadamente 20 ml de água foram adicionados. 20 gotas de IGEPAL a 5% em solução aquosa foram adicionadas ao frasco. A solução foi tapada e suavemente misturada.

[00164] **Exemplo 3B, Prep 2.** 25,2 mg de amostra C9 foram pesados em um frasco. Aproximadamente 20 ml de água foram adicionados. 20 gotas de IGEPAL a 5% em solução aquosa foram adicionadas ao frasco. A solução foi tapada e suavemente misturada.

[00165] **Observações Visuais de Amostras de PSD.** As amostras do Exemplo 3A foram observadas como sólidos não muito uniformes. Muitas partículas grandes foram observadas nas amostras. Ambas as preparações continham uniformidade não semelhante.

[00166] Cristais muito grandes foram observados nas amostras do Exemplo 3B. A observação visual indicou cristais muito pequenos e cristais maiores em ambas as preparações de amostra. A preparação da amostra 2 continha mais partículas menores/mais finas visualmente do que a preparação da amostra 1.

[00167] **Distribuição de tamanho de partícula.** A distribuição de tamanho de partícula foi determinada por difração a laser, utilizando um Malvern 3000 Mastersizer. As configurações são mostradas na Tabela 6. As mesmas configurações foram utilizadas para as outras amostras. Os resultados são mostrados na Tabela 7.

Tabela 6. Configurações do Malvern Instrument para o Exemplo 3A, Preparação 1

Tipo de Partícula	
Modo de partícula não esférica	Sim
É do tipo Fraunhofer	Não
Propriedades do Material	
Índice de refração	1,480
Índice de absorção	0,001
Densidade da partícula	1,00 g/cm ³

Tipo de Partícula	
Diferentes propriedades ópticas na luz azul	Sim
Índice de refração (na luz azul)	1,480
Índice de absorção (na luz azul)	0,001
Propriedades dispersantes	
Nome do dispersante	Água
Índice de refração	1,330
Limite do sensor de nível	100,000
Duração da Medição	
Duração da medição em segundo plano (vermelho)	15,00 s
Duração da medição da amostra (vermelho)	15,00 s
Executar a medição da luz azul?	Sim
Duração da medição em segundo plano (azul)	15,00 s
Duração da medição da amostra (azul)	15,00 s
Avaliar a estabilidade de fundo da luz	Não
Sequência de medição	
Alíquotas	1
Numeração automática das medições	Não
Atraso de pré-alinhamento	0,00 s
Número de medições	3
Ataso entre as medições	0,00 s
Atraso da pré-medição	0,00 s
Fechar a janela de medição após a medição	Não
Configurações de obscurecimento da medição	
Iniciar a medição automaticamente	Não
Limite inferior de obscurecimento	1,00%
Limite superior de obscurecimento	10,00%
Ativar filtragem de obscurecimento	Não
Alarmes de medição	
Utilizar a Verificação de Antecedentes	Não
Limites da Verificação de Antecedentes	[1,200],[20,60]

Tabela 7. Distribuição do Tamanho de Partícula para as Amostras C9.

Exemplo 3A			
Resultados Combinados (Duas Preps, N = 3 para cada Prep)	d (v, 0,1) (µm) (D10)	d (v, 0,5) (µm) (D50)	d (v, 0,9) (µm) (D90)
Média	59,78	278,83	926,00
RSD (%)	5,68	10,27	13,51
Exemplo 3B			
Resultados Combinados (Duas Preps, N = 3 para cada Prep)	d (v, 0,1) (µm) (D10)	d (v, 0,5) (µm) (D50)	d (v, 0,9) (µm) (D90)
Média	133,22	433,33	877,67
RSD (%)	43,71	13,54	5,71

[00168] Como mostrados na Tabela 7, ambos os exemplos são compostos de partículas razoavelmente grandes, mas 3B é muito maior em média: Média d (v, 0,5 µm) = 278 µm para 3A e 433 µm para 3B. No entanto, 3A possui uma distribuição de tamanho mais ampla provavelmente devido à moagem parcial (d (v, 0,1 a 0,9) = ~ 60 µm a 925 µm para 3A versus d (v, 0,1 a 0,9 = ~ 133 a 878 µm) para 3B. Um exemplo representativo de cada análise é mostrado nas Figuras 27 e 28 (Exemplo 3A preparações 1 e 2 e Figuras 29 e 30 (Exemplo 3B preparações 1 e 2). Como pode ser visto nas Figuras 27 e 29, as amostras do Exemplo 3A possuem uma distribuição de tamanho de partícula mais ampla e também uma característica bimodal em comparação com as amostras do Exemplo 3B (recristalizadas). Existe uma faixa de distribuição mais estreita entre D90 e D10 nas amostras do Exemplo 3B (uma relação de 6,6:1), em comparação com as amostras do Exemplo 3A (relação de 15,5:1). D10 representa o diâmetro de partícula correspondente a 10% cumulativo (de 0 a 100%) da distribuição de tamanho de partícula subdimensionado (isto é, a porcentagem de partículas menores que D10 é 10%). D90 representa o diâmetro de partícula correspondente a 90% cumulativo (de 0 a 100%) da distribuição de tamanho de partícula subdimensionado (isto

é, a porcentagem de partículas menores do que D90 é 90%). Exemplos representativos de cada preparação são mostrados nas Figuras 27 a 30 (Exemplo 3A preparação 1, Exemplo 3A preparação 2, Exemplo 3B preparação 1, Exemplo 3B preparação 2, respectivamente). Como visto nas Figuras 27 a 30, as amostras do Exemplo 3A possuem uma distribuição de tamanho de partícula mais ampla do que as amostras do Exemplo 3B (recristalizadas).

Exemplo 7. Rastreamento de Compostos em Fibroblastos Dérmicos Humanos de Pacientes com Doença de Parkinson (PD) e Doença de Alzheimer (AD)

[00169] Um rastreamento inicial foi executado para identificar a eficácia dos compostos para a melhora de PD e AD. As amostras de teste e controles de solvente foram testados quanto à sua capacidade de resgatar fibroblastos da PD e AD estressados pela adição de L-butionina-(S,R)-sulfoximina (BSO, um inibidor específico de GSH sintetase) acrescida de ferro (por exemplo, citrato de ferro), em de uma maneira semelhante àquela descrita em Jauslin *et al.*, Hum. Mol. Genet. 11(24):3055 (2002), Jauslin *et al.*, FASEB J. 17:1972-4 (2003), e pedido de Patente Internacional WO 2004/003565. Esta morte celular específica mediada por BSO foi evitada ou melhorada pela administração dos compostos aqui descritos.

[00170] Os experimentos de AD foram executados como se segue. Os experimentos de DP foram realizados de maneira semelhante; certas condições específicas são observadas abaixo na Tabela 1A.

[00171] MEM (um meio enriquecido em aminoácidos e vitaminas) e Medium 199 (M199) com Earle's Balanced Salts (EBS), sem vermelho de fenol, foram adquiridos da Invitrogen. Soro Fetal Bovino foi obtido da Corning. O fator de crescimento de fibroblasto básico (bFGF) e o fator de crescimento epidérmico (EGF) foram adquiridos da PeproTech. A mistura de penicilina-estreptomicina-glutamina, L-

butionina (S,R)-sulfoximina, citrato de ferro e insulina de pâncreas bovino foram adquiridos da Sigma. Calcein AM foi adquirido da Anaspec. O meio de cultura celular foi preparado através da combinação de 450 ml de MEM, 50 ml de soro fetal bovino, 100 U/ml de penicilina e 100 microgramas/ml de estreptomicina. O meio de ensaio foi preparado mediante a combinação de 125 ml de M199, 50 ml de Soro Fetal Bovino, 100 U/ml de penicilina, 100 microgramas/ml de estreptomicina, 2 mM de glutamina, 10 microgramas/ml de insulina, 10 ng/ml de EGF e 10 ng/ml de bFGF; MEM foi adicionado para aumentar o volume até 500 ml. Soluções de BSO 10 mM e citrato de ferro 10 mM foram preparadas em água com subsequente esterilização por filtro e armazenadas a -20 °C.

[00172] As amostras de teste foram fornecidas em frascos de vidro de 1,5 ml ou frascos de polipropileno. Os compostos foram diluídos com DMSO, para resultar em uma solução estoque 1 mM. Assim que dissolvidos, foram armazenados a -20 °C.

[00173] As amostras de teste foram analisadas de acordo com o seguinte protocolo: Uma cultura de fibroblastos derivados de pacientes com AD ou PD foi iniciada a partir de um frasco com aproximadamente 500.000 células armazenadas em nitrogênio líquido. As células foram propagadas em meio de cultura celular, com subcultivo a cada três dias por tripsinização em uma relação de 1:3. Uma vez confluentes, os fibroblastos foram colhidos por tripsinização, colocados novamente em suspensão em meio de ensaio e semeados em uma densidade celular final de 2.500 células/0,1 ml por cavidade de uma placa de cultura de tecido de 96 cavidades padrão. As placas foram incubadas 5 horas a 37 °C em uma atmosfera com 95% de umidade e 5% de CO₂ para permitir a fixação das células à placa de cultura, em seguida, solução de citrato de ferro (em água) foi adicionada na concentração final desejada.

[00174] Amostras de teste (1 mM em DMSO) foram diluídas em DMSO 10%:solução de água para uma concentração final de 5 microM, em seguida, diluídas em série em DMSO 10% para as concentrações desejadas. As células foram então tratadas com as várias diluições de compostos, resultando em uma concentração final de DMSO de 1%, e depois incubadas a 37 °C em uma atmosfera com 95% de umidade e 5% de CO₂ durante 18 horas.

[00175] No dia seguinte, a solução de BSO foi adicionada às cavidades para resultar na concentração final desejada. Quarenta e oito horas depois, o meio foi descartado e o líquido remanescente foi removido batendo suavemente a placa invertida sobre uma toalha de papel. As placas foram lavadas uma vez com 100 microlitros por cavidade de PBS contendo cálcio e magnésio (+Ca +Mg).

[00176] 100 microlitros de Calcein AM (1 microM) em PBS +Ca +Mg foram então adicionados a cada cavidade. As placas foram incubadas durante 30 minutos a 37 °C. Após esse tempo, a fluorescência (comprimentos de onda de excitação/emissão de 485 nm e 525 nm, respectivamente) foi lida em uma leitora de fluorescência Spectramax. Os dados foram analisados utilizando algoritmos de ajuste de curva de quatro parâmetros padrão (XLFit ou Prism) para determinar a concentração EC₅₀ para cada composto.

[00177] Os solventes (DMSO, água) não tiveram um efeito prejudicial sobre a viabilidade de células não tratadas com BSO, nem tiveram uma influência benéfica sobre BSO mais fibroblastos tratados com ferro, mesmo na concentração mais elevada testada (1%).

[00178] As amostras de teste aqui descritas foram observadas de resgatar células de fibroblastos de pacientes com doença de Parkinson e doença de Alzheimer de BSO mais estresse oxidativo induzido por ferro.

Tabela 8. Resgate de Fibroblastos de Pacientes com DP de BSO (125

μM) acrescido de Estresse Oxidativo Induzido por Ferro (125 μM)

	PD (ND29542)		
Composto (#C)	EC ₅₀ (nM)	SEM	Resgate Max (@ 500 nM)
C6	>500	20	39
C8	>500	97	73
C9	84	4	103

EC₅₀ = concentração na qual 50% do resgate máximo da viabilidade celular foi observado

SEM = erro padrão da média.

Tabela 9. Resgate de Fibroblastos de Pacientes com AD de Estresse Oxidativo Induzido por BSO acrescido de Ferro por C9

Linhagem celular	EC ₅₀ (nM)			
	Citrato de ferro (50 μM) + BSO (50 μM)	Citrato de ferro (100 μM) + BSO (25 μM)	Citrato de ferro (100 μM) + BSO (100 μM)	Citrato de ferro (200 μM) + BSO (100 μM)
ND34730	15	24	-	-
ND41001	13	17	-	-
AG04402	-	-	5	12
AG11414	-	-	11	23

- = não testado

[00179] Como observado na Tabela 8, o composto C9 (2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona) teve maior potência do que os análogos C6 e C8 no resgate de fibroblastos de PD do estresse oxidativo mediado por BSO acrescido de ferro.

[00180] O composto C9 também demonstrou atividade no resgate de células de fibroblastos de pacientes com AD do estresse oxidativo (Tabela 9).

Exemplo 8. Rastreamento de Compostos para Inibição da Agregação de α-Sinucleína

[00181] **Sumário:** O composto 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona ("C9"), e seus análogos C8 (2,3,5-trimetil-6-octilciclo-

hexa-2,5-dieno-1,4-diona) e C7 (2,3,5-trimetil-6-heptilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona) foram testados quanto à sua função como inibidores da agregação de α -Sinucleína, conforme medido pela presença e extensão de uma fase de latência na cinética de agregação de proteínas. Mudanças na intensidade de fluorescência pelo fluoróforo de ligação ao agregado, Tioflavina T, foram seguidas para relatar sobre a agregação de proteína em função do tempo.

[00182] **Métodos Experimentais:** Ensaios de agregação de α -Sinucleína livre de células foram estabelecidos com 200 μ M de α -Sinucleína humana recombinante (Proteos, Inc.) na presença de 100 μ M de composto (a partir de soluções estoque 10 mM em DMSO) ou em 1% (v/v) DMSO como veículo. Todas as soluções foram preparadas em tampão de solução salina tamponada com fosfato da Dulbecco (DPBS) (pH 7,4) com 0,03% (v/v) NaN_3 e 5 μ M tioflavina T (ThT), preparadas como uma mistura mestre antes da adição da proteína ou compostos. Uma mistura mestre de proteínas foi então preparada e separada em 4 tubos (1 por condição). Em paralelo, uma mistura mestre foi criada para medições em segundo plano, sob condições idênticas, exceto que nenhuma proteína foi adicionada à solução. Os compostos ou DMSO foram carregados em cada amostra, submetidos a vórtice durante 10 segundos e centrifugados durante 3 segundos.

[00183] Solução de proteína +/- composto e amostras de fundo foram carregadas dentro de cavidades de uma placa de 96 cavidades opticamente transparente com paredes pretas (Corning Costar), que foi selada com um selo LightCycler® 480 (Roche Life Science), incubada a 37 °C durante 15 minutos para equilibrar, após o que a coleta de dados foi iniciada. Um espectrômetro Tecan M1000 foi utilizado para coletar pontos de dados de fluorescência ThT (ex/em 450/490 nm) a cada 30 minutos. A placa foi agitada por agitação entre

as leituras de fluorescência.

[00184] **Análise de Dados e Resultados:** Os dados de intensidade de fluorescência foram coletados em todas as amostras ao longo do tempo. O valor da unidade de intensidade de fluorescência de ponto final (FIU) da média das amostras α Syn tratadas com veículo foi definido como 100%, e todos os outros valores de FIU foram normalizados em relação a ele (ver a Figura 1A). Os resultados finais foram representados graficamente como fluorescência ThT normalizada (%) em relação ao tempo.

[00185] Os valores de fluorescência ThT normalizados (% FIU) em $t = 24$ horas foram utilizados para comparar as amostras (ver a Figura 1B). Pelo menos 2 réplicas técnicas foram utilizadas por condição. A análise estatística das amostras foi executada por meio de análise ANOVA unidirecional comum. O teste de comparações múltiplas de Tukey foi conduzido em todas as amostras contendo proteína, o que mostrou significância estatística entre o veículo e as amostras tratadas com C9 ($p = 0,0041$), amostras tratadas com C9 vs. amostras tratadas com C7 ($p = 0,0085$) e amostras tratadas com C9 vs. tratadas com C8 ($p = 0,0437$). Todas as outras comparações não foram estatisticamente significativas (isto é, ns), com $p > 0,05$.

[00186] Como mostrado nas Figuras 1A e 1B, o composto C9 possui um efeito de inibição significativo na agregação de α -Sinucleína e mostra maior inibição do que os análogos C7 ou C8.

Exemplo 9. 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C9) e a sua potência de análogos estruturais na desagregação de fibrila pré-formada Tau K18 WT

[00187] **Sumário:** Compostos 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C9), 2,3,5-trimetil-6-octilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C8) e 2,3,5-trimetil-6-heptilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C7) foram testados quanto à sua capacidade de desagregar fibrilas pré-

formadas (PFFs) do fragmento Tau K18 do tipo selvagem humano, conforme medido pela diminuição na intensidade de fluorescência do fluoróforo de ligação ao agregado, Tioflavina T, ao longo do tempo.

[00188] **Métodos Experimentais:** Fibrilas pré-formadas (PFFs) do fragmento Tau K18 WT recombinante humano foram geradas através da incubação do monômero Tau K18 (Bio-Techne®) com heparina de sódio em uma relação de 1:1 na presença de excesso (50x) de tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP) como o agente redutor em tampão de solução salina tamponada com fosfato da Dulbecco (DPBS) (pH 7,4). A mistura foi incubada durante 4 dias a 37 °C sem agitação para produzir PFFs em concentração final de 100 µM.

[00189] Ensaios de desagregação Tau livre de células foram estabelecidos com 10 µM de Tau PFFs na presença de 30 µM de composto (a partir de estoques de 10 mM em DMSO) ou em 0,3% (v/v) DMSO como veículo. Todas as soluções foram preparadas em tampão DPBS (pH 7,4) com 0,03% (v/v) NaN₃ e 5 µM Tioflavina T (ThT), preparada como uma mistura mestre antes da adição da proteína ou compostos. Uma mistura mestre de proteínas foi preparada em primeiro lugar no dia anterior ao ensaio para pré-equilibrar as Tau PFFs em 10 µM na temperatura e atmosfera ambientes. No dia seguinte, a solução de proteína pré-misturada foi separada em 4 tubos (1 por condição). Os compostos ou DMSO foram carregados em cada amostra, submetidos a vórtice durante 10 segundos e centrifugados durante 3 segundos, seguido por uma incubação de 15 minutos na temperatura ambiente. Em paralelo, uma mistura mestre foi criada para medições em segundo plano, sob condições idênticas, exceto sem proteína adicionada.

[00190] Solução Tau PFFs +/- composto e amostras de fundo foram carregadas em cavidades de uma placa de 96 cavidades opticamente transparente com paredes pretas, que foi selada com um selo

LightCycler® 480 (Roche Life Science), incubada a 37 °C durante 15 minutos para o equilíbrio e a coleta de dados foi iniciada. Um espectrômetro Tecan M1000 foi utilizado para coletar dados de fluorescência ThT (ex/em 450/490 nm) a cada 30 minutos sem agitação.

[00191] **Análise de Dados e Resultados:** O valor da unidade de intensidade de fluorescência máxima (FIU) das amostras Tau tratadas com veículo foi definido como 100%, para o qual todos os outros valores de FIU foram normalizados relativamente. Pelo menos 2 réplicas técnicas foram utilizadas por condição. Os valores finais do teor de fibrilas de todas as amostras 94 horas após o início do ensaio foram relatados (Figura 2).

[00192] A análise estatística de amostras foi executada por meio de análise ANOVA unidirecional comum. O teste de comparações múltiplas de Dunnett foi conduzido entre as amostras de Tau PFF tratadas com veículo vs. tratadas com composto, que mostraram significância estatística entre o veículo e as amostras tratadas com C9 ($p = 0,0478$).

[00193] Como mostrado na Figura 2, a amostra tratada com C9 teve uma redução significativa no teor de Tau fibrila em 94 h. Em contraste, as amostras tratadas com C7 e C8 não tiveram uma redução significativa no teor de fibrila em 94 horas.

Exemplo 10. Inibição da agregação de α Sinucleína induzida por RSL3

[00194] Células dopaminérgicas de rato N27 (adquiridas na EMD Millipore, SCC048) foram transformadas para estavelmente superexpressar a α -Sinucleína truncada fundida com proteína fluorescente verde (GFP) com um construto de plasmídeo obtido da Origene (RG221446). As células foram mantidas em meio de seleção que consistia em meio RPMI 1640 suplementado com soro fetal bovino em 10% (v/v) (Millipore, ES-009-B), 1% (v/v) Pencilina-Estreptomicina

(Gibco, 15140-122), 1% (v/v) L-Glutamina (Gibco, 25030-081) e 500 µg/ml de G418 (Gibco, 10131-027).

[00195] Células dopaminérgicas de rato N27 que superexpressam uma proteína de fusão α Sinucleína-GFP humana truncada (112 aminoácidos), como descrito acima, foram mantidas em condições de cultivo normais, como descrito acima. No dia anterior ao experimento, as células foram plaqueadas em fundo óptico de 96 cavidades, placas de parede preta em 3.000 células/cavidade e mantidas a 37 °C durante 24 horas. O experimento foi iniciado através do cotratamento de células com 2-(2-cloroacetil)-1-(4-(metoxicarbonil)fenil)-2,3,4,9-tetraidro-1H-pirido[3,4-b]indol-3-carboxilato de (1S,3R)-metila (1S,3R-RSL3, descrito por Yang *et al.*, Cell 156:317-331 (2014)) (60 nM) e compostos de 70 nM (2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C9), 2,3,5-trimetil-6-octilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C8) ou 2,3,5-trimetil-6-heptilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona (C7)) utilizando uma impressora de composto D300e (Tecan), e colocado de volta na incubadora a 37 °C durante 24 horas. As células foram fixadas com paraformaldeído a 4% durante 15 minutos na temperatura ambiente, lavadas 3 vezes com tampão de solução salina tamponada com fosfato da Dulbecco (DPBS) e, em seguida, incubadas na temperatura ambiente durante 48 horas com solução Triton-X 100 a 1% (em DPBS) para permitir a marcação seletiva de α Sinucleína agregada. As células foram então lavadas e métodos de imunocitoquímica padrão (ICC) foram empregados para marcar a α Sinucleína total (anti- α Sinucleína de camundongo, 1:250, BD Biosciences). As células foram incubadas com o anticorpo primário durante a noite a 4 °C e depois lavadas com DPBS 3 vezes no dia seguinte. As células foram então incubadas na temperatura ambiente com um anticorpo secundário conjugado por fluorescência (cabra anti-camundongo Alexa 647, Invitrogen) durante 2 horas na temperatura ambiente. Hoechst 10 nM também foi adicionado

aos núcleos da marcação, e as células foram fotografadas em uma plataforma de formação de imagem de alto conteúdo (ThermoFisher, HSC Cellomics Arrayscan) para quantificar α Sinucleína agregada total (ver Figura 3A).

[00196] A Figura 3B mostra a inibição da agregação de α Sinucleína induzida por RSL3 pelos compostos C7, C8 e C9. A análise estatística das amostras foi executada por meio de análise ANOVA unidirecional comum com o teste de múltiplas comparações de Dunnett, que compara células tratadas apenas com RSL3 vs. tratadas com RSL3 acrescidas de composto. C7 não demonstrou qualquer inibição da agregação de α Sinucleína ($p > 0,05$). C8 e C9 mostraram inibição significativa da agregação de α Sinucleína (valores p de 0,01 e 0,0003, respectivamente, com C9 demonstrando um nível de inibição de agregação aproximadamente 5,45 vezes maior em relação a C8).

Exemplo 11. Eficácia de 2,3,5-trimetil-6-nonilciclo-hexa-2,5-dieno-1,4-diona em um modelo de MPTP de camundongo da doença de Parkinson

[00197] **SUMÁRIO.** O tratamento de animais com (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina) (MPTP) (60 mg/kg) produziu uma depleção significativa (~ 74%) de dopamina no corpo estriado, em linha com relatórios de literatura e estudos de validação interna.

[00198] A administração de C9 (300 mg/kg) produziu efeitos significativos dos tratamentos na atividade vertical (contagens verticais e tempo, como mostrado nas Figuras 4A e 4B).

[00199] **INTRODUÇÃO.** O MPTP é uma neurotoxina dopaminérgica nigroestriatal potente e seletiva que produz muitas das características neuropatológicas da doença de Parkinson (DP) em seres humanos, primatas não humanos e camundongos. Em camundongos, o MPTP produz degeneração dopaminérgica nigroestriatal. Os agentes farmacológicos que aumentam a função dopaminérgica ou que

bloqueiam a neurotoxicidade do MPTP também atenuam a disfunção locomotora associada ao MPTP e têm sido úteis na clínica para o tratamento da doença de Parkinson. Além do mais, a toxicidade mediada por MPTP pode ter uma relação com os mecanismos associados à perda dopaminérgica na doença, indicando que esse modelo também pode ser potencialmente útil para identificar agentes que retardam ou reduzem a perda dopaminérgica nigroestriatal.

[00200] Neste estudo, C9 foi testado no modelo de PD induzido por MPTP. Os desfechos do estudo foram os parâmetros da atividade locomotora em um teste de campo aberto.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.

[00201] **Animais.** Espécie: Rato. Classe: C57Bl/6. Fonte dos Animais: Charles River. Idade: 6 a 7 semanas. Sexo: Masculino. Randomização: Os animais foram atribuídos aleatoriamente a grupos de tratamento. Cegante do estudo: As pessoas do experimento foram cegas para os tratamentos experimentais.

[00202] **Alojamento e Alimentação.** Aclimação/Condicionamento: não menos de três dias. Alojamento: Os camundongos foram alojados em um ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes às 06:00). Não mais do que 4 camundongos por gaiola. Sistema de cremalheira de gaiola ventilada. Dieta: ração padrão para roedores e água *ad libitum*.

[00203] **Parâmetros de Projeto.** Vias de administração: PO. Volume da dose: PO: 5 ml/kg. Formulações: formulada pela Melhor de acordo com as instruções da BioElectron. Veículo - óleo de gergelim (Spectrum Chemical, Catálogo NF #SE130, CAS#8008-74-0). Níveis de Dose: 300 mg/kg. Frequência de Dose: QD começando no Dia -2 (MPTP = Dia 0) e até o Dia 7. Duração do estudo: 11 dias. Tempo de pré-tratamento (até 2 horas): Para o Dia 0 (Dia de MPTP): 30 min, Tempo de pré-tratamento para Ensaio de Campo Aberto/Ensaio de Atividade Locomotora (OFA/LMA): 1 h. Número de Grupos: 3. Número

de animais por grupo: 10. Número total de animais: 30 (no estudo), 42 animais no total (para garantir uma análise de energia adequada de pelo menos 10 animais/grupo, para todos os grupos que receberam MPTP, 4 animais adicionais foram adicionados para mitigar os impactos do estudo se houvesse fatalidades induzidas por MPTP).

[00204] Tratamento de MPTP. MPTP foi formulado em solução salina tamponada com fosfato e administrado a camundongos três vezes em uma dose de 20 mg/kg (1 mg/ml liberado em 20 ml/kg) em intervalos de duas horas (dose final de MPTP = 60 mg/kg).

[00205] Atividade locomotora. Um dia antes (linha de base) e no Dia 7 após a administração de MPTP (Dia (-1) e Dia 7), os camundongos foram monitorados com relação a vários aspectos da função locomotora utilizando um aparelho de campo aberto totalmente automatizado (Med-Associates, Inc). O aparelho consistia em uma arena de 10,75" x 10,75" fechada em uma caixa com atenuação de som, equipada com ventilador e luz ambiente. A arena está equipada com três arranjos IR de 16 feixes localizados nos eixos X e Y para rastreamento posicional e no eixo Z para detecção de elevação.

[00206] Todos os camundongos foram administrados com a dose final de C9 ou óleo de gergelim veículo 1 hora antes do ensaio de campo aberto de acordo com o cronograma de dosagem. Os principais parâmetros locomotores associados às deficiências dopaminérgicas incluíram o comportamento de empinar (número de elevações/sessão de 15 minutos) e distância total percorrida (por 15 minutos).

[00207] **Análise de dados.** Os dados foram calculados em média e são expressos como a média \pm SEM. Os dados foram analisados por ANOVA unidirecional seguido de testes post-hoc. Valores p menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos do controle.

RESULTADOS

[00208] **Efeito dos tratamentos no ensaio locomotor de campo**

aberto (contagens verticais). A atividade no aparelho de campo aberto (contagens verticais) em animais tratados com solução salina + veículo, MPTP + veículo ou MPTP + C9 foi medida. Os animais receberam os tratamentos indicados acima. Como mostrado na Figura 4A, em comparação com animais tratados com solução salina + veículo, as contagens verticais foram diminuídas em animais tratados com MPTP + veículo ($p = 0,06$). O tratamento com C9 de animais estimulados com MPTP restaurou as contagens verticais com aquelas observadas em animais de controle com solução salina + veículo (MPTP + veículo vs. MPTP + C9, $p < 0,01$; solução salina + veículo vs. MPTP + C9, $p = 0,312$). Os dados são apresentados como média + SEM, $n = 12$ a 14 em cada grupo. Análise estatística: ANOVA unidirecional com teste post hoc de Tukey para múltiplas comparações; ** $p < 0,01$; ns, não estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

[00209] **Efeito dos tratamentos no ensaio locomotor de campo aberto (tempo vertical).** A atividade no aparelho de campo aberto (tempo vertical) em animais tratados com solução salina + veículo, MPTP + veículo ou MPTP + C9 foi medida. Os animais receberam os tratamentos indicados acima. Como mostrado na Figura 4B, em comparação com animais tratados com solução salina + veículo, o tempo vertical foi diminuído em animais tratados com MPTP + veículo ($p < 0,05$). O tratamento com C9 de animais estimulados com MPTP restaurou o tempo vertical com aqueles observados em animais de controle com solução salina + veículo (MPTP + veículo vs. MPTP + C9, $p < 0,001$; solução salina + veículo vs. MPTP + C9, $p = 0,315$). Os dados são apresentados como média + SEM, $n = 12$ a 14 em cada grupo. Análise estatística: ANOVA unidirecional com teste post hoc de Tukey para comparações múltiplas; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; ns, não estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

[00210] A dosagem de C9 no modelo de camundongo de MPTP de PD demonstrou uma melhora significativa na atividade locomotora medida por contagens verticais e tempo, duas métricas comportamentais reflexivas da função dopaminérgica no corpo estriado (Meredith and Rademacher, J Parkinsons Dis. 1(1):19-33 (2012) e suas referências).

Exemplo 12. Perfis de PK de C9 após administração oral aguda em camundongos C57 machos

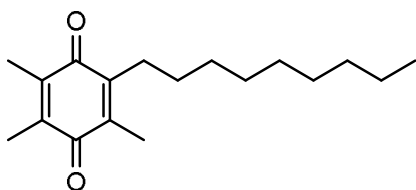
[00211] Uma dose de 300 mg/kg de C9 foi administrada como uma solução de óleo de gergelim por meio de gavagem oral a quatro camundongos C57BL/6. Oito horas após a administração do composto, a exposição no plasma e cérebro foi medida (Tabela 10).

Tabela 10. Exposição no Cérebro e Plasma de C9 em Camundongos após Dosagem Oral

Dose (mg/kg)	Via	Tempo (h)	C9 [Plasma] (ng/ml)	C9 [Cérebro] (ng/g)	Relação Cérebro:Plasma
300	PO	8	3830	27925	7

[00212] As modalidades não limitativas da invenção incluem as seguintes:

[00213] Modalidade 1. Um método de tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, lesão cerebral traumática e lesão relacionada à reperfusão isquêmica, que compreende a administração a um indivíduo com sua necessidade de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto da fórmula:



ou a sua forma de hidroquinona; ou um solvato ou hidrato do mesmo.

[00214] Modalidade 2. O método de acordo com a Modalidade 1, em que o composto não é um solvato ou hidrato.

[00215] Modalidade 3. O método de acordo com a Modalidade 1 ou 2, em que o composto está na forma de quinona.

[00216] Modalidade 4. O método de acordo com a Modalidade 1 ou 2, em que o composto está na forma de hidroquinona.

[00217] Modalidade 5. Método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 4, em que o método é para tratar ou suprimir a doença de Alzheimer.

[00218] Modalidade 6. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 4, em que o método é para tratar ou suprimir a doença de Parkinson.

[00219] Modalidade 7. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 4, em que o método é para tratar ou suprimir a lesão cerebral traumática.

[00220] Modalidade 8. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 4, em que o método é para tratar ou suprimir a lesão relacionada à reperfusão isquêmica.

[00221] Modalidade 9. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 4, em que o método é para tratar ou suprimir o acidente vascular cerebral.

[00222] Modalidade 10. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 9, em que o método é para tratar o distúrbio.

[00223] Modalidade 11. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 9, em que o método é para suprimir o distúrbio.

[00224] Modalidade 12. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 11, em que o composto é administrado por via oral.

[00225] Modalidade 13. O método de acordo com qualquer uma das Modalidades de 1 a 11, em que o composto é administrado por via

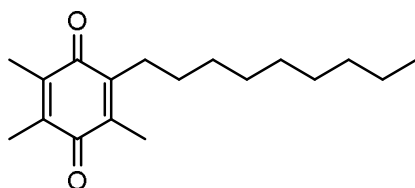
intravenosa.

[00226] As divulgações de todas as publicações, patentes, pedidos de patentes e pedidos de patentes publicados referidos nesta invenção através de uma citação de identificação são aqui incorporadas por referência na sua totalidade.

[00227] Embora a invenção anterior tenha sido descrita com alguns detalhes a título de ilustração e exemplo para propósitos de clareza de compreensão, fica evidente para aqueles versados na técnica que certas pequenas alterações e modificações serão praticadas. Portanto, a descrição e os exemplos não devem ser interpretados como limitativos do escopo da invenção.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para o tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em uma α -sinucleinopatia, tauopatia, esclerose lateral amiotrófica (ALS), lesão cerebral traumática e lesão relacionada à reperfusão isquêmica, caracterizado pelo fato de que compreende a administração a um sujeito em necessidade de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da fórmula:



ou a sua forma de hidroquinona; ou um solvato ou hidrato do mesmo.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o composto não é um solvato ou hidrato.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o composto está na forma de quinona.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o composto está na forma de hidroquinona.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão de uma α -sinucleinopatia.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que a α -sinucleinopatia é selecionada a partir do grupo que consiste em: Doença de Parkinson, Doença de Parkinson com demência (PDD), atrofia multissistêmica (MSA), Demência Frontotemporal, Demência com Corpos de Lewy (DLB), doença de Gaucher (GD), neurodegeneração com acúmulo de ferro no cérebro (NBIA) e distrofias neuroaxonais (neurodegeneração associada a PLA2G6).

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a doença de Parkinson é genética.

8. Método, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que a doença de Parkinson é idiopática.

9. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão de uma tauopatia.

10. Método, de acordo com a reivindicação 9, caracterizado pelo fato de que a tauopatia é selecionada do grupo que consiste em: doença de Alzheimer, demência pugilística, Esclerose lateral amiotrófica-Parkinsonismo-Demência de Guam (Guam ALS/PD), doença de Pick, Demência com grãos argirofílicos, Nieman-Pick tipo C, panencefalite esclerosante subaguda (SSPE), paralisia supranuclear progressiva (PSP), atrofia multissistêmica (MSA), degeneração corticobasogangliônica, demência frontotemporal com parkinsonismo-17 (FTDP-17), Parkinsonismo pós-encefálico (PEP) e Parkinsonismo recessivo autossômico.

11. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão da doença de Alzheimer.

12. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão da doença de Parkinson.

13. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão da lesão cerebral traumática.

14. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão de lesão relacionada à reperfusão isquêmica.

15. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para o

tratamento ou supressão de acidente vascular cerebral.

16. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento ou supressão da esclerose lateral amiotrófica (ALS).

17. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para o tratamento do distúrbio.

18. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para suprimir o distúrbio.

19. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizado pelo fato de que o composto é administrado por via oral.

20. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizado pelo fato de que o composto é administrado por via intravenosa.

21. Polimorfo de um anidrato de 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona, caracterizado pelo fato de que um padrão de raios-X por difração de pó para o polimorfo compreende picos característicos pelo menos nas seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 12,12 e 16,14.

22. Polimorfo, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que compreende picos característicos pelo menos nas seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12 e 16,14.

23. Polimorfo, de acordo com a reivindicação 21, caracterizado pelo fato de que compreende picos característicos pelo menos nas seguintes posições angulares, em que as posições angulares podem variar em $\pm 0,2$: 4,10, 11,77, 12,12, 16,14 e 22,41.

24. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 23, caracterizado pelo fato de que as posições angulares podem variar em $\pm 0,1$.

25. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 23, caracterizado pelo fato de que as posições angulares podem variar em $\pm 0,05$.

26. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 25, caracterizado pelo fato de que o polimorfo possui um padrão de raios-X por difração de pó substancialmente como mostrado em qualquer uma das Figuras 5, 11, 14 e 16.

27. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 26, caracterizado pelo fato de que possui um termograma de calorimetria diferencial de varredura (DSC) substancialmente como mostrado na Figura 7.

28. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 27, caracterizado pelo fato de que um termograma de DSC possui um único pico endotérmico em cerca de 47 a cerca de 53 °C.

29. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 28, caracterizado pelo fato de que possui um termograma de análise termogravimétrica (TGA) substancialmente como mostrado na Figura 8.

30. Polimorfo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 21 a 29, caracterizado pelo fato de que possui um espectro de ^1H NMR substancialmente como mostrado na Figura 6.

31. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, caracterizada pelo fato de que pelo menos cerca de 95% em mol da 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona é o polimorfo, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes.

32. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, caracterizada pelo fato de que pelo menos cerca de 99% em mol da 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona é o polimorfo, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes.

33. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com a reivindicação 31 ou 32, caracterizada pelo fato de que pelo menos cerca de 95% a/a conforme medido por HPLC da composição é a 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona, exclusivo de quaisquer solventes, veículos ou excipientes.

34. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com a reivindicação 31 ou 32, caracterizada pelo fato de que pelo menos cerca de 99% a/a conforme medido por HPLC da composição é a 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona, exclusivo de quaisquer solventes, veículo ou excipientes.

35. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações de 31 a 34, caracterizada pelo fato de que a potência da 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona é pelo menos ao redor de 95%.

36. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31 a 34, caracterizada pelo fato de que a potência da 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona é pelo menos ao redor de 99%.

37. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31 a 36,

caracterizada pelo fato de que o polimorfo está presente como uma pluralidade de partículas, em que as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 11:1.

38. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31 a 36, caracterizada pelo fato de que o polimorfo está presente como uma pluralidade de partículas, em que as partículas possuem uma relação de D90:D10 menor do que cerca de 7:1.

39. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31 a 38, caracterizada pelo fato de que o polimorfo foi recristalizado por um solvente que compreende cerca de 75 a 85% de IPA/água.

40. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31 a 39, caracterizada pelo fato de que o polimorfo foi recristalizado por um solvente que compreende cerca de 80 a 85% de IPA/água.

41. Composição compreendendo o polimorfo, como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 31 a 39, caracterizada pelo fato de que o polimorfo foi recristalizado por um solvente que compreende ao redor de 85% de IPA/água.

42. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende o polimorfo como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 31 a 41, e um solvente, veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável ou uma composição farmacêutica preparada com o polimorfo como definido em qualquer uma das

reivindicações 21 a 30, ou a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 31 a 41, e um solvente, veículo ou excipiente farmacologicamente aceitável.

53. Método para o tratamento ou supressão de uma α -sinucleinopatia, tauopatia, esclerose lateral amiotrófica (ALS), lesão cerebral traumática ou lesão relacionada à reperfusão isquêmica, caracterizado pelo fato de que compreende a administração a um indivíduo em necessidade de uma quantidade terapêuticamente eficaz do polimorfo como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 31 a 42.

54. Método de recristalização de 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona a partir de uma composição, caracterizado pelo fato de que compreende:

a) colocar em contato a composição com IPA e água de modo que a razão resultante de IPA para água seja ao redor de 75 a 87% de isopropanol (IPA)/25 a 13% de água (v:v), em uma temperatura de cerca de 40 a 45 °C;

b) esfriar a mistura para cerca de 32 °C; e

c) filtrar a 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona da mistura.

55. Método, de acordo com a reivindicação 54, caracterizado pelo fato de que a etapa (a) compreende:

a1) colocar em contato a composição com IPA;

a2) aquecer a mistura até cerca de 40 a 45 °C; e

a3) adicionar água à mistura de tal modo que a relação de IPA para água seja ao redor de 75 a 85% de IPA:25 a 15% de água (v:v).

56. Método, de acordo com a reivindicação 54, caracterizado pelo fato de que a etapa (a) compreende agitação para

dissolver a composição.

57. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 56, caracterizado pelo fato de que a relação de IPA:água é ao redor de 80 a 85% de IPA:20 a 15% de água (v:v).

58. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 56, caracterizado pelo fato de que a relação de IPA:água é ao redor de 85% de IPA:15% de água (v:v).

59. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 58, caracterizado pelo fato de que a etapa (a3) compreende retornar a temperatura da mistura para cerca de 40 a 45°C.

60. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 58, caracterizado pelo fato de que compreende a filtragem por polimento da mistura após a etapa (a).

61. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 59, caracterizado pelo fato de que a etapa (b) compreende esfriar para cerca de 32 °C ao longo de cerca de 2 a 10 horas.

62. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 59, caracterizado pelo fato de que a etapa (b) compreende esfriar para cerca de 32 °C ao longo de cerca de 6 horas.

63. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 61, caracterizado pelo fato de que compreende uma etapa (b1) após a etapa (b), que compreende manter a mistura ao redor de 32 °C durante cerca de 2 a 24 horas.

64. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 61, caracterizado pelo fato de que compreende uma etapa (b1) após a etapa (b), que compreende manter a mistura ao redor de 32 °C durante cerca de 6 horas.

65. Método, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 54 a 63, caracterizado pelo fato de que compreende uma etapa (b2) após a etapa (b) ou (b1), quando presente, compreendendo o esfriamento da mistura para cerca de 0 °C.

66. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 54 a 63, caracterizado pelo fato de que a etapa (b2) compreende o esfriamento da mistura para cerca de 0 °C ao longo de cerca de 3 a 24 horas.

67. Método, de acordo com qualquer uma das reivindicações 64 a 65, caracterizado pelo fato de que a etapa (b2) ainda compreende manter a mistura ao redor de 0 °C durante cerca de uma hora.

68. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona como definido em qualquer uma das reivindicações 54 a 67.

69. Método de preparação de uma composição farmacêutica, caracterizado pelo fato de que compreende a conversão do polimorfo como definido em qualquer uma das reivindicações 21 a 30, ou a composição como definida em qualquer uma das reivindicações 31 a 42 ou 68, em uma forma líquida ou de emulsão.

70. Método, de acordo com a reivindicação 69, caracterizado pelo fato de que a forma líquida ou de emulsão é fornecida como uma solução oral, uma cápsula carregada com líquido ou uma solução injetável.

71. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que é produzida como definido na reivindicação 69 ou 70.

72. Forma amorfa fundida metaestável de 2,3,5-trimetil-6-nonilcicloexa-2,5-dieno-1,4-diona, caracterizada pelo fato de que possui um gráfico de XRPD substancialmente como mostrado na Figura 31.

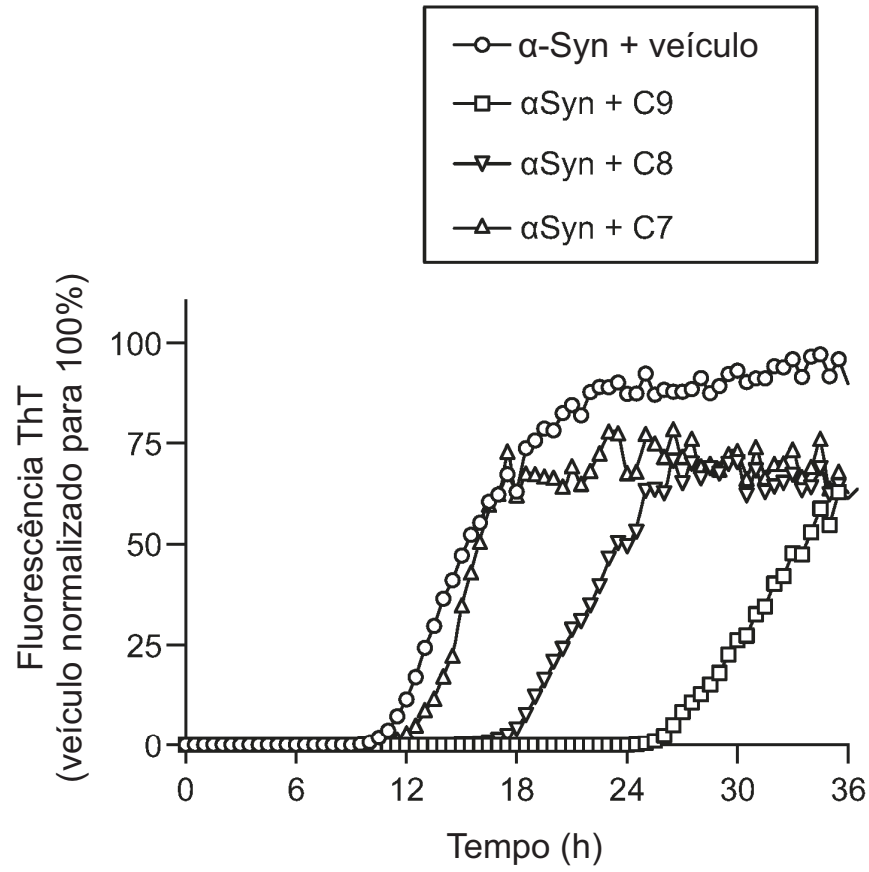


FIG. 1A

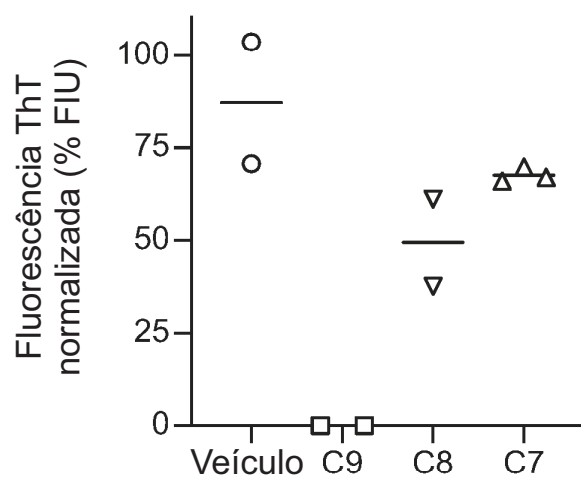


FIG. 1B

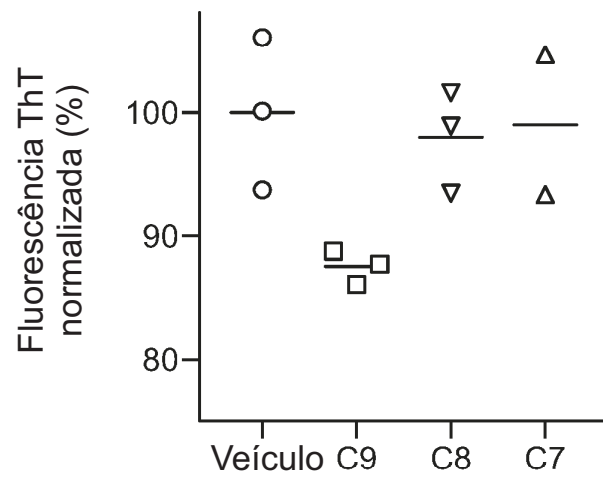


FIG. 2

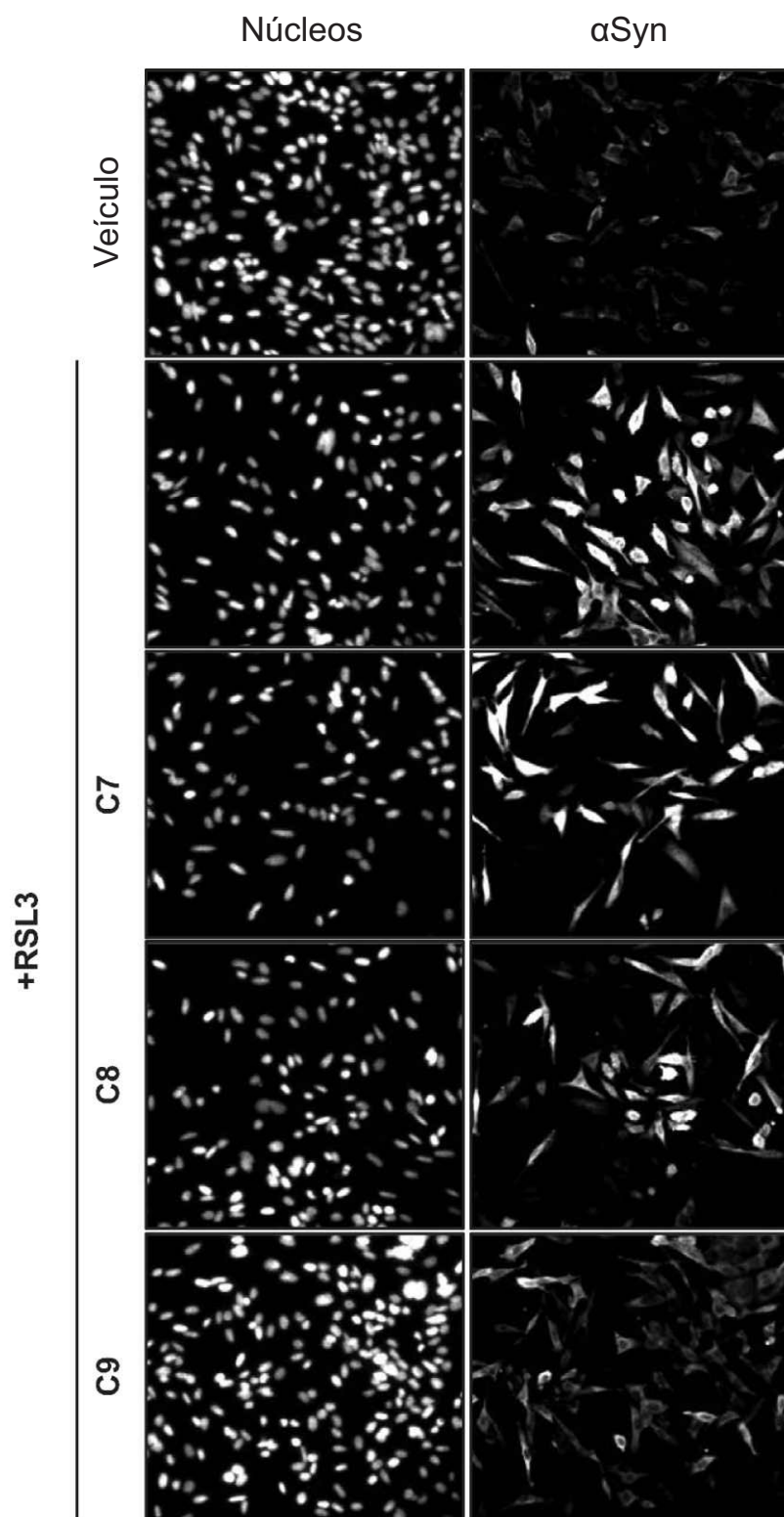


FIG. 3A

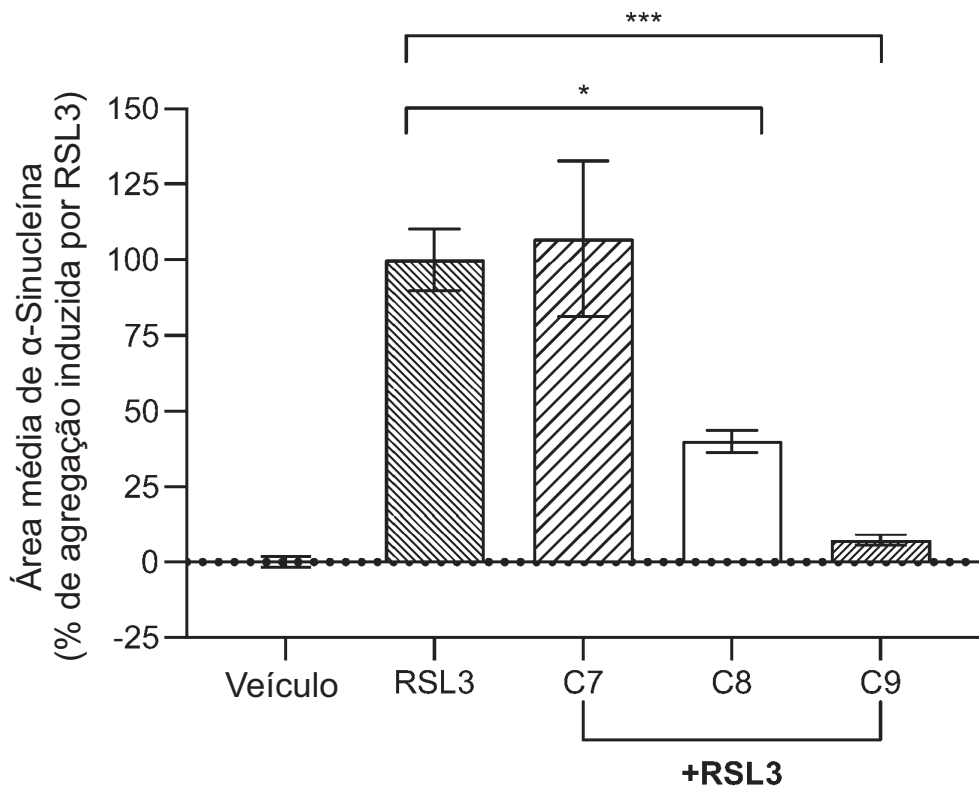


FIG. 3B

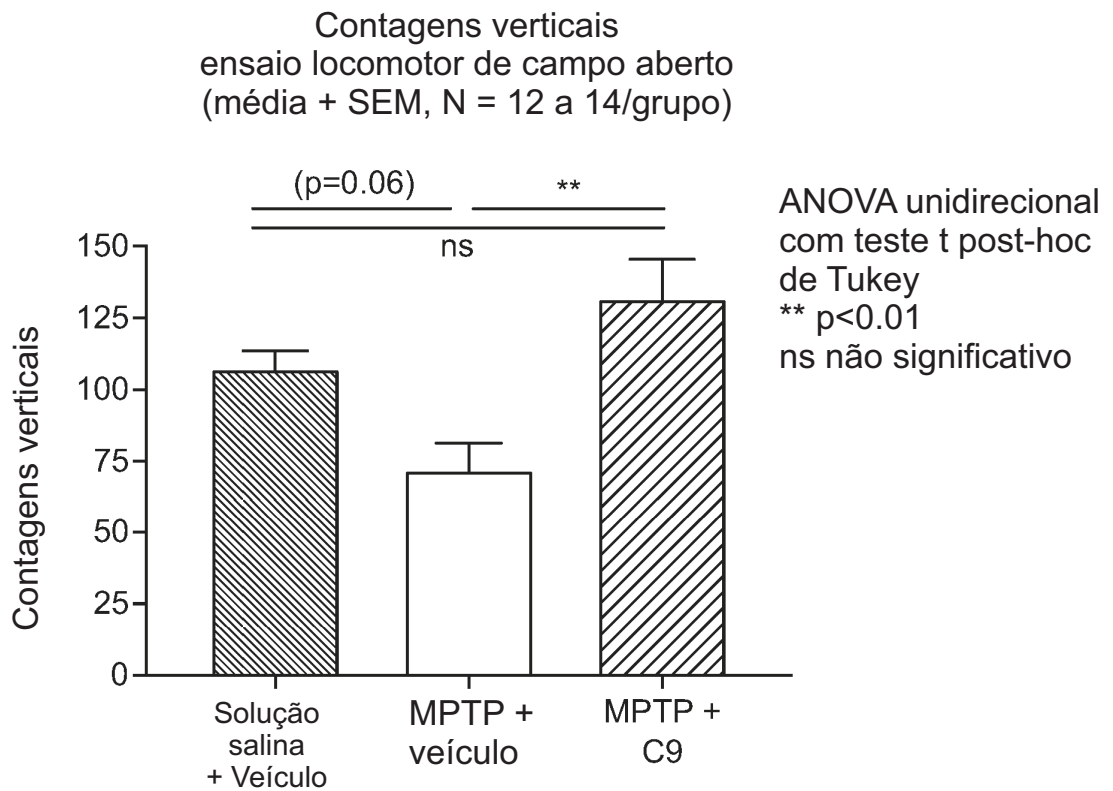


FIG. 4A

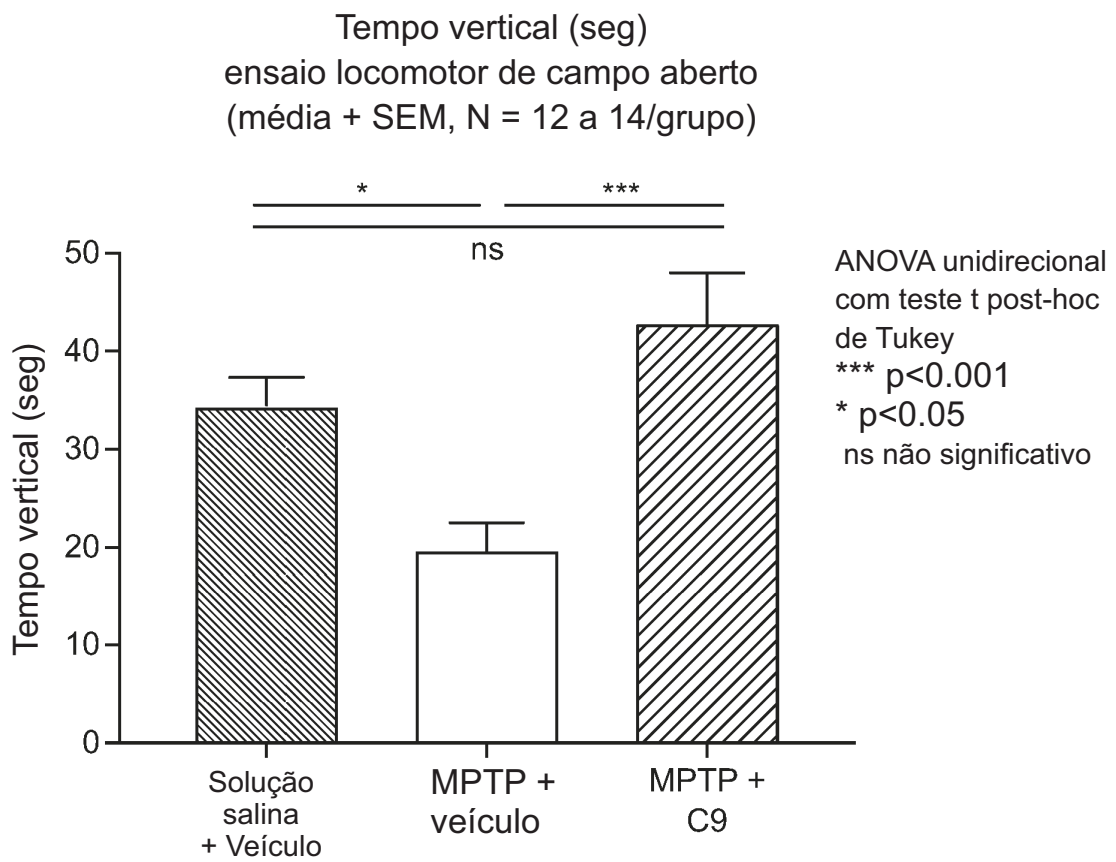


FIG. 4B

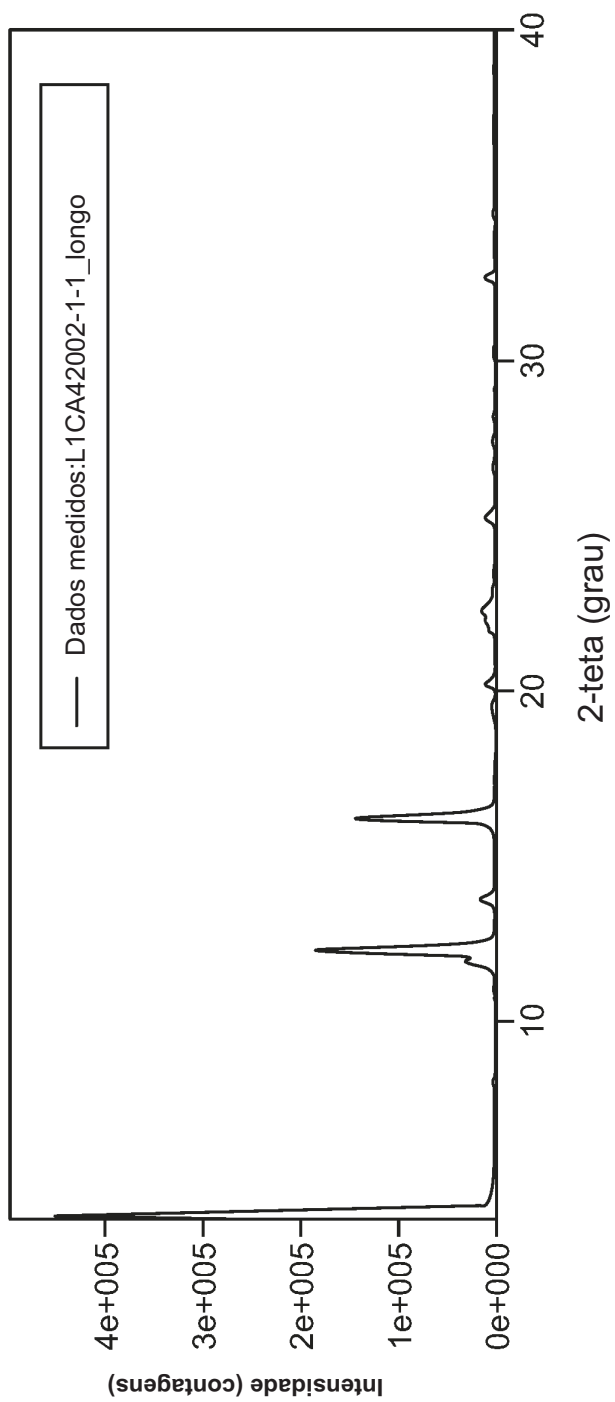


FIG. 5

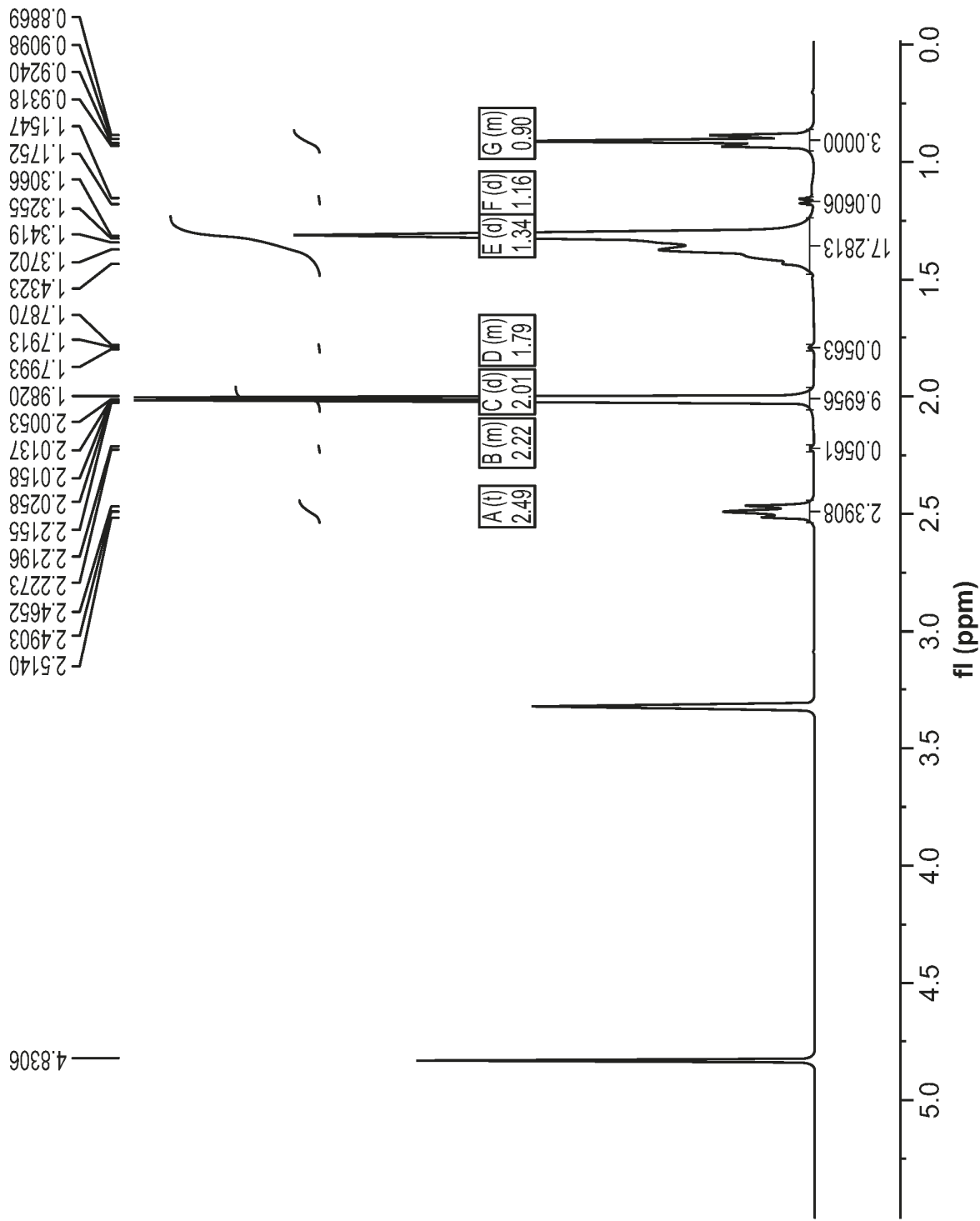


FIG. 6

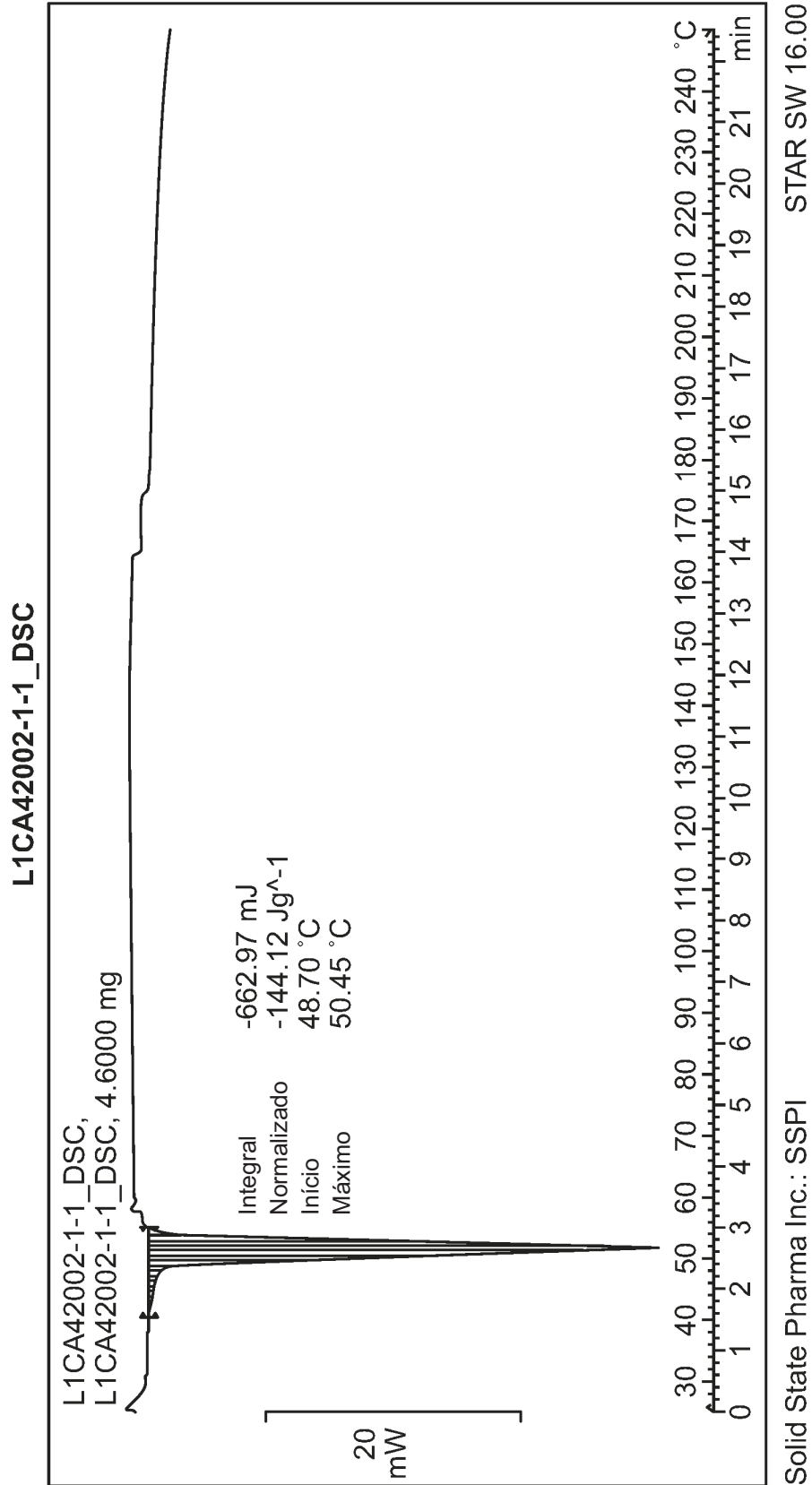


FIG. 7

Solid State Pharma Inc.: SSPI

L1CA42002-1-1_TGA2

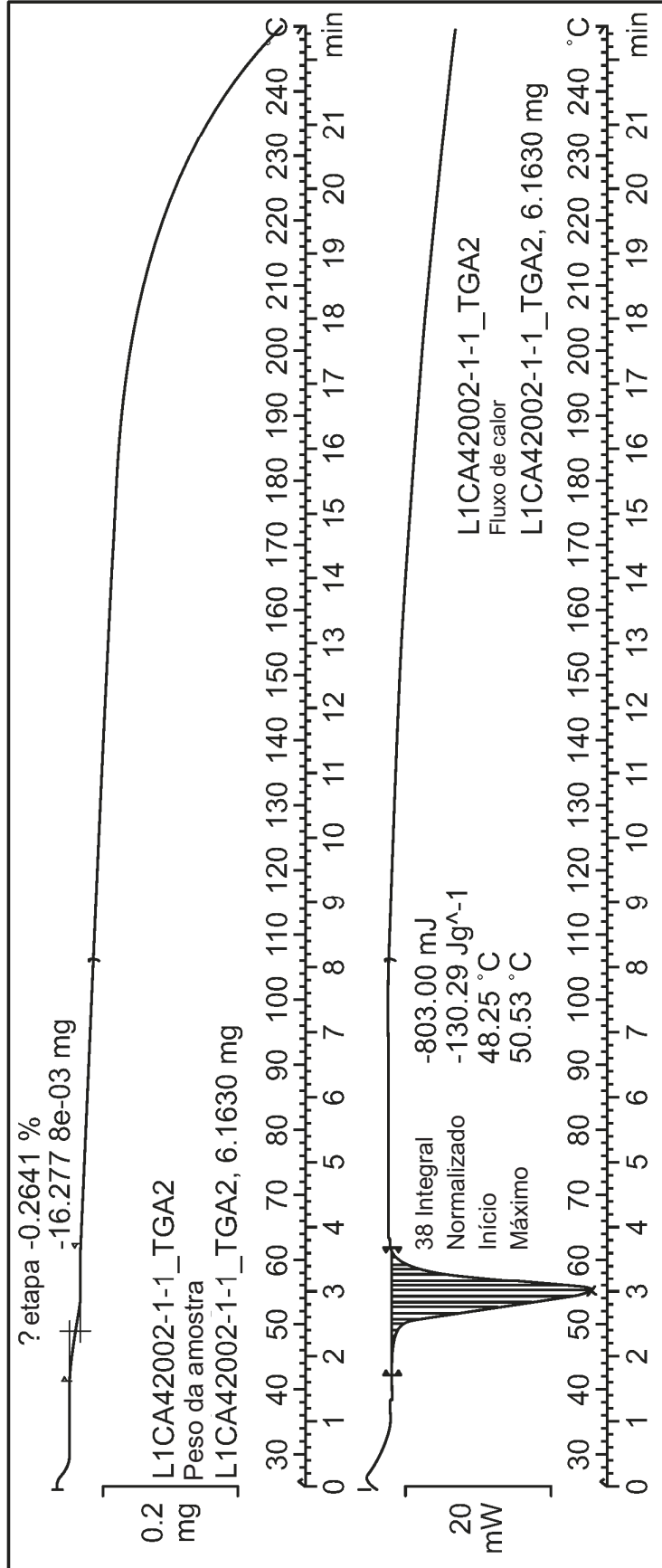


FIG. 8

ILab: SSPI

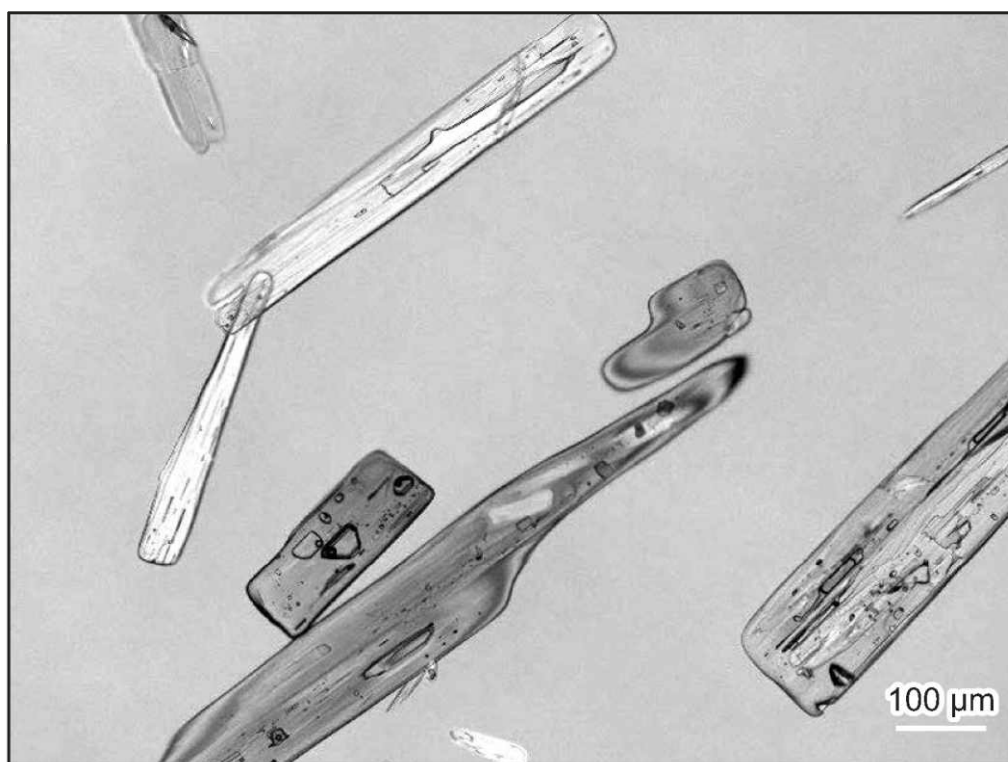


FIG. 9A

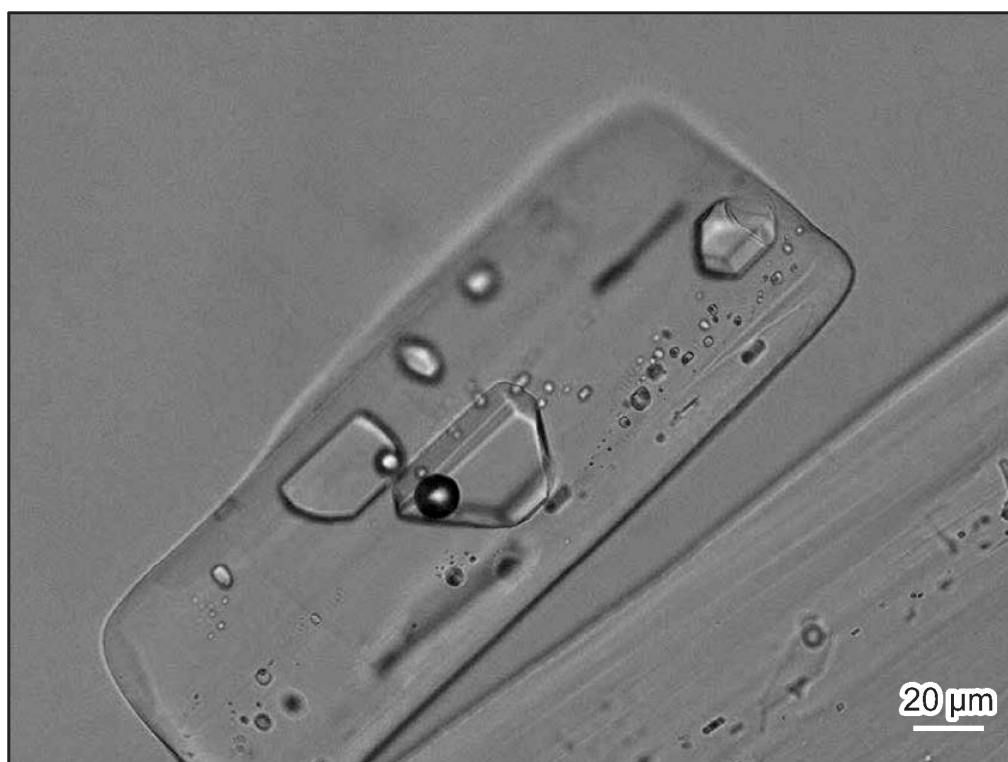
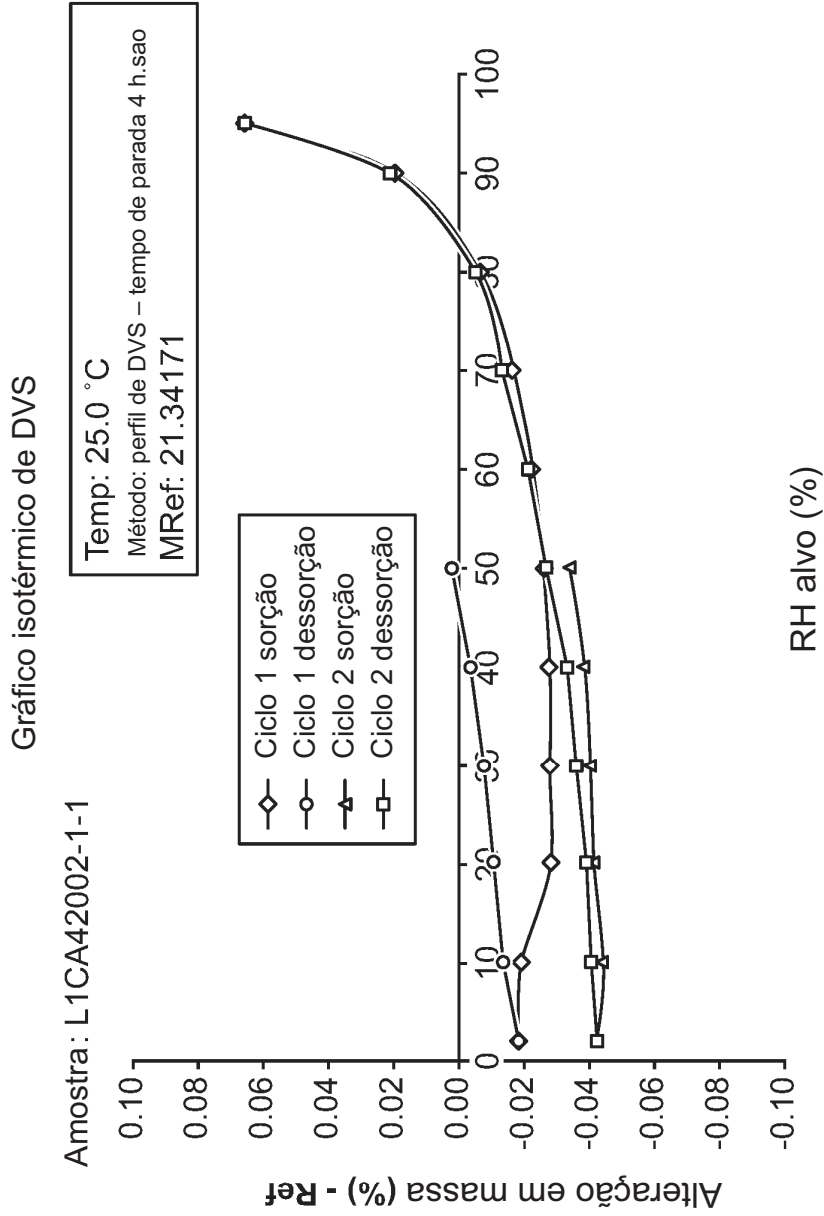


FIG. 9B



DVS- The SorptionSolution © Surface Measurement System Ltd UK 1996-2014

FIG. 10

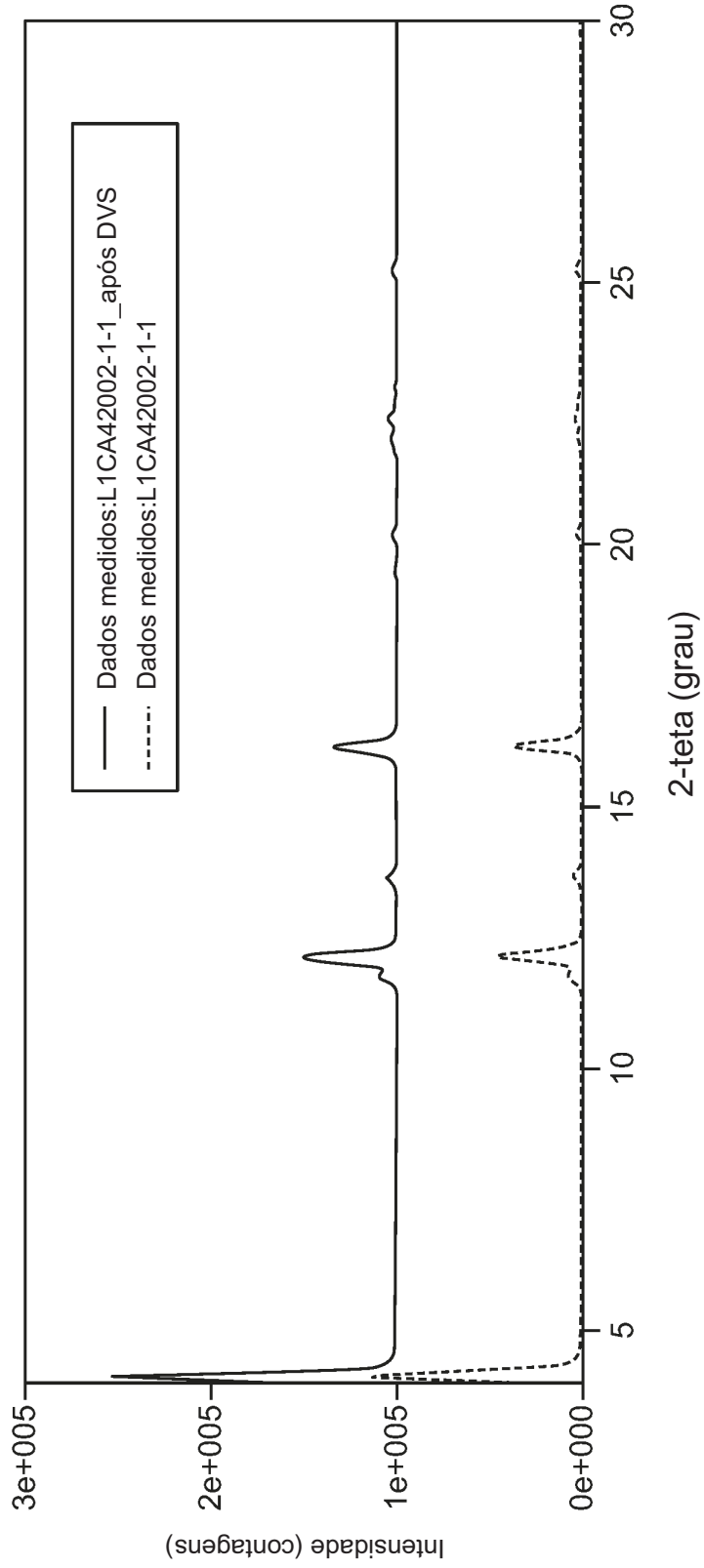


FIG. 11

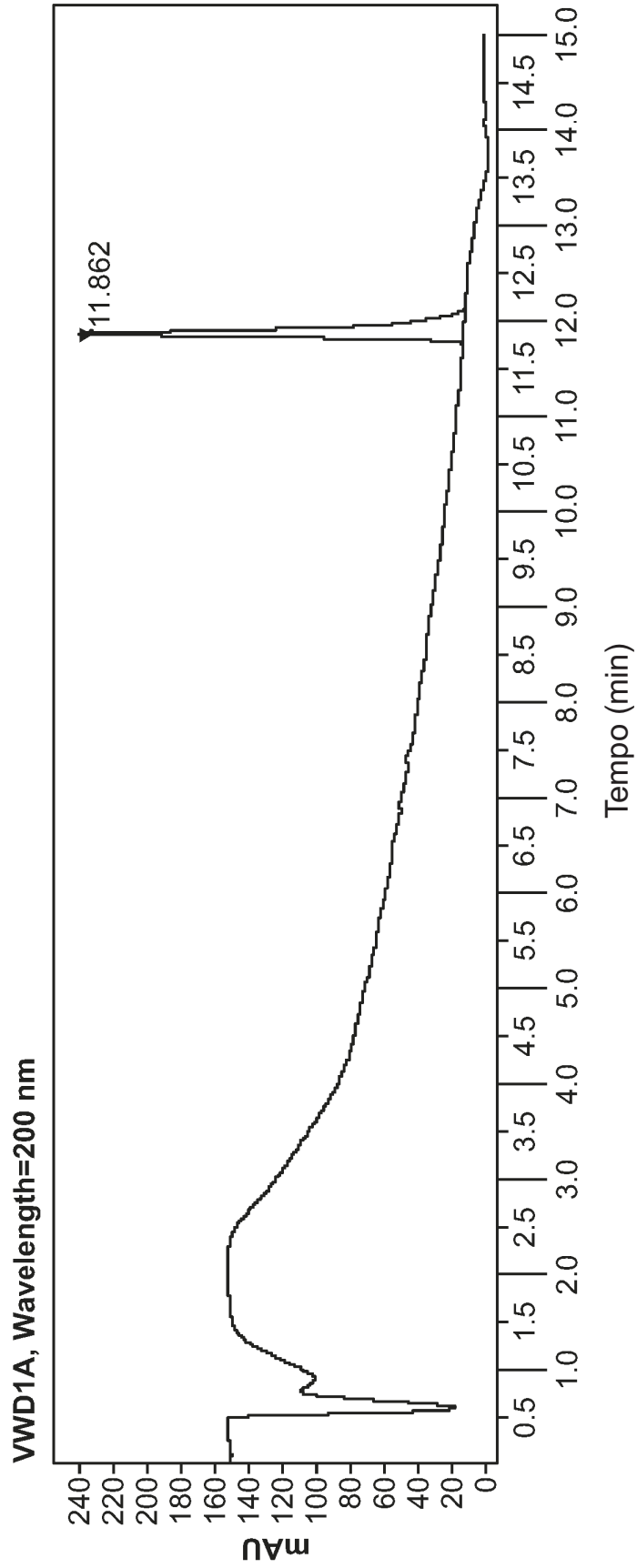
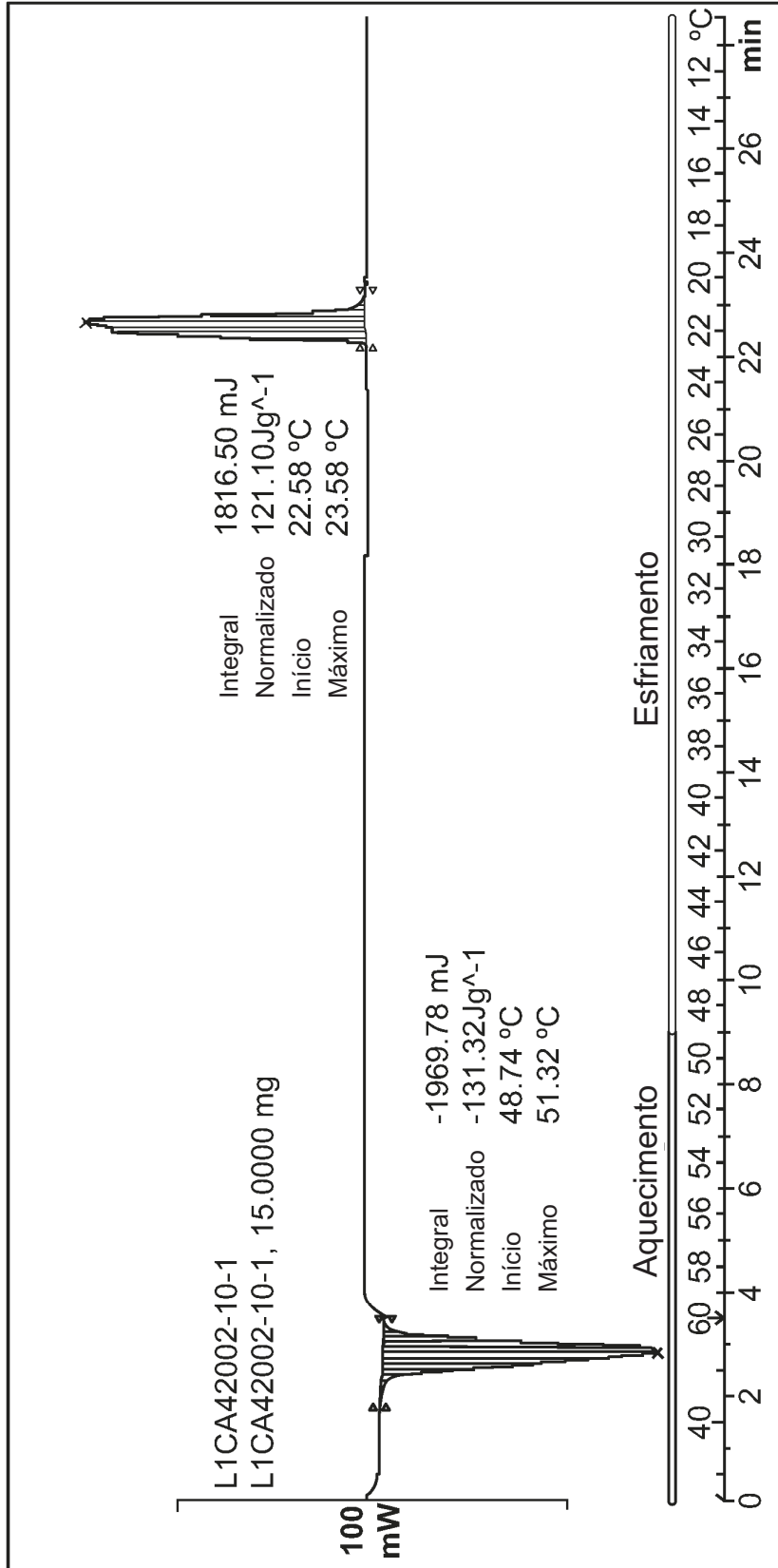


FIG. 12

L1CA42002-10-1



Solid State Pharma Inc.: SSPI

STAR SW 16.00

FIG. 13

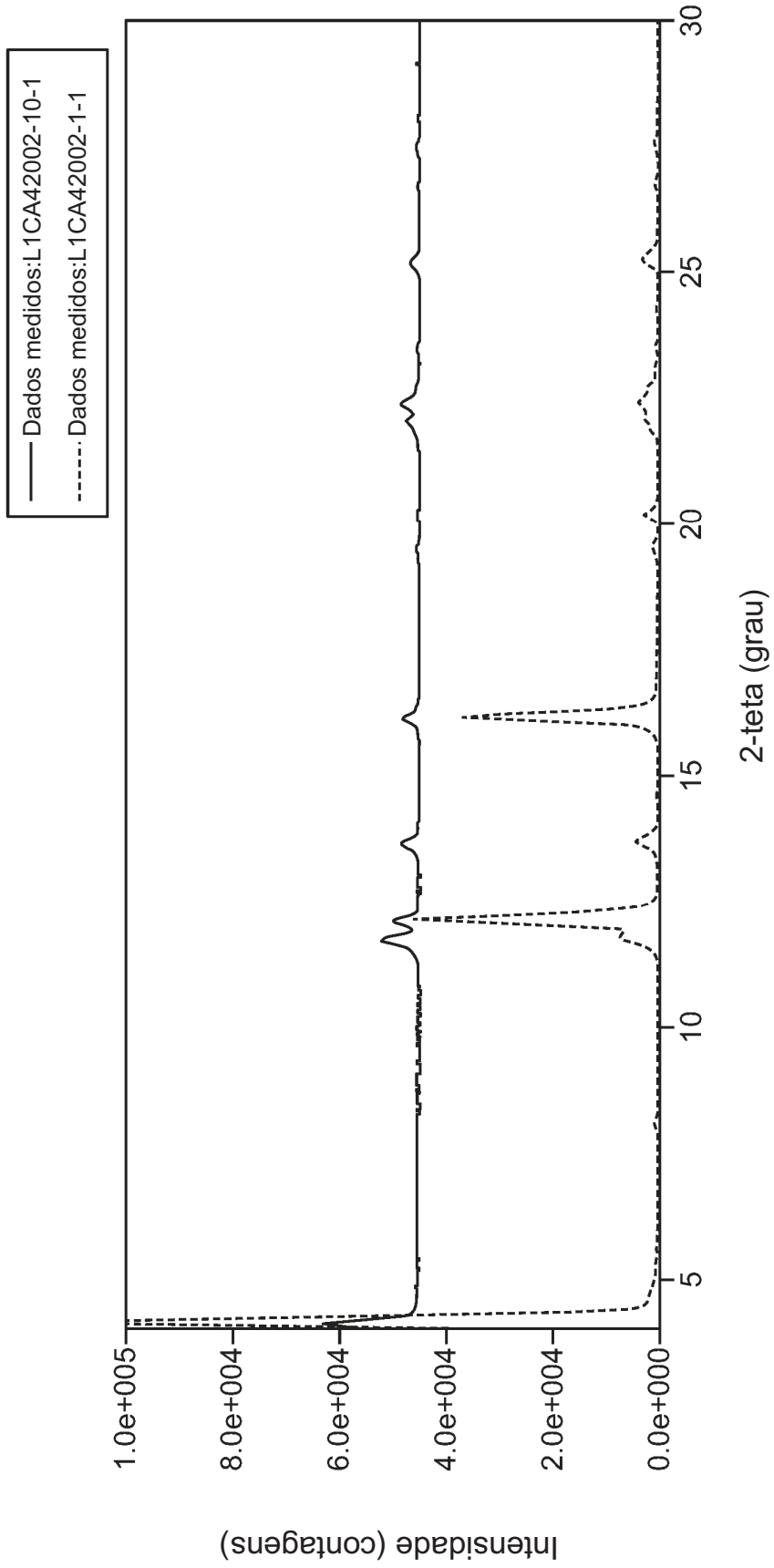


FIG. 14

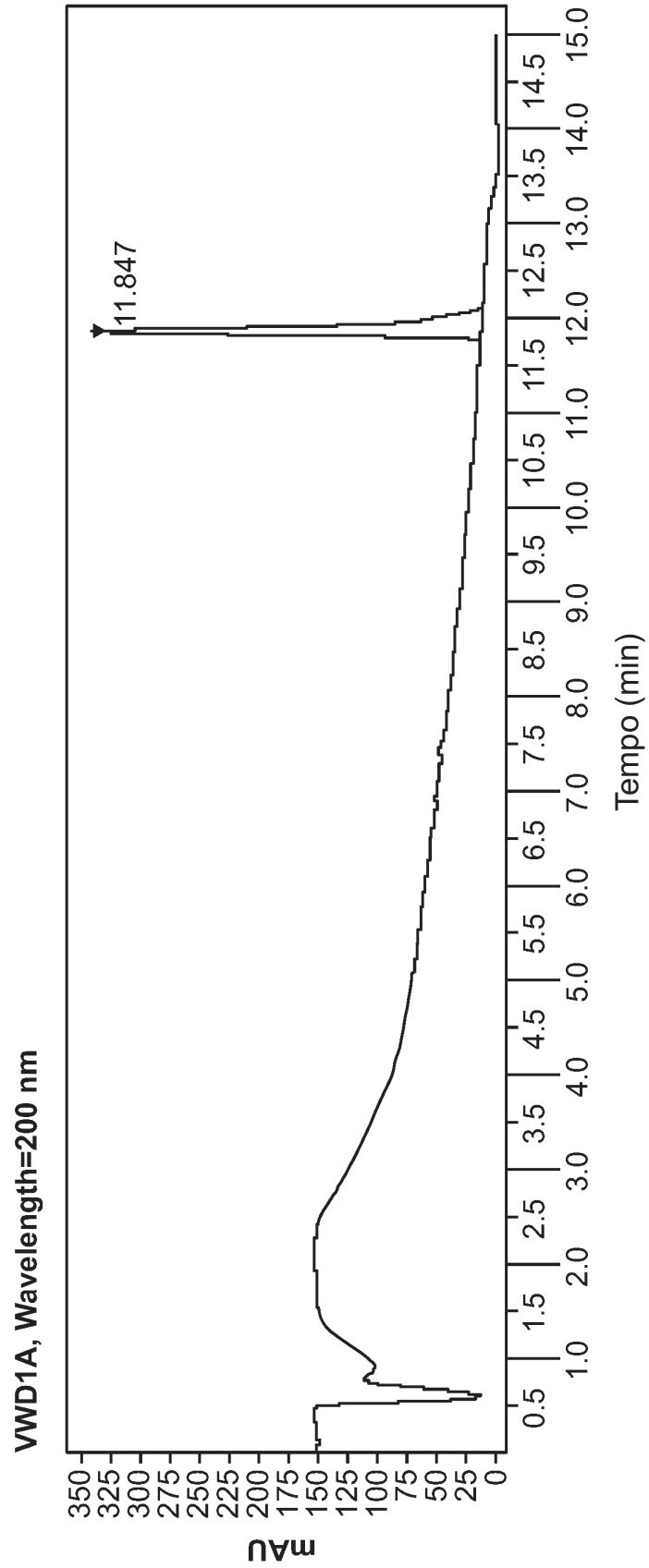


FIG. 15

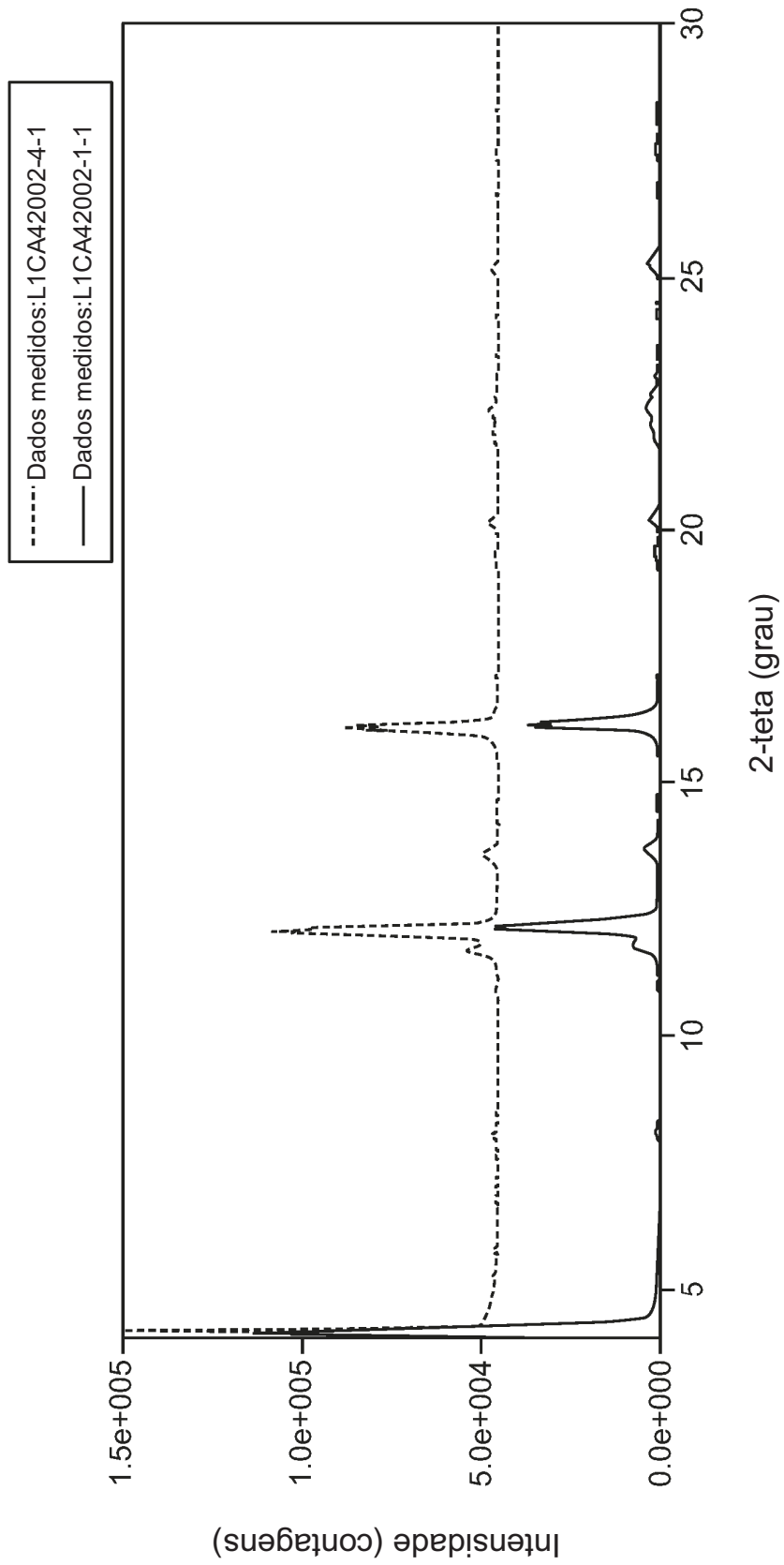


FIG. 16

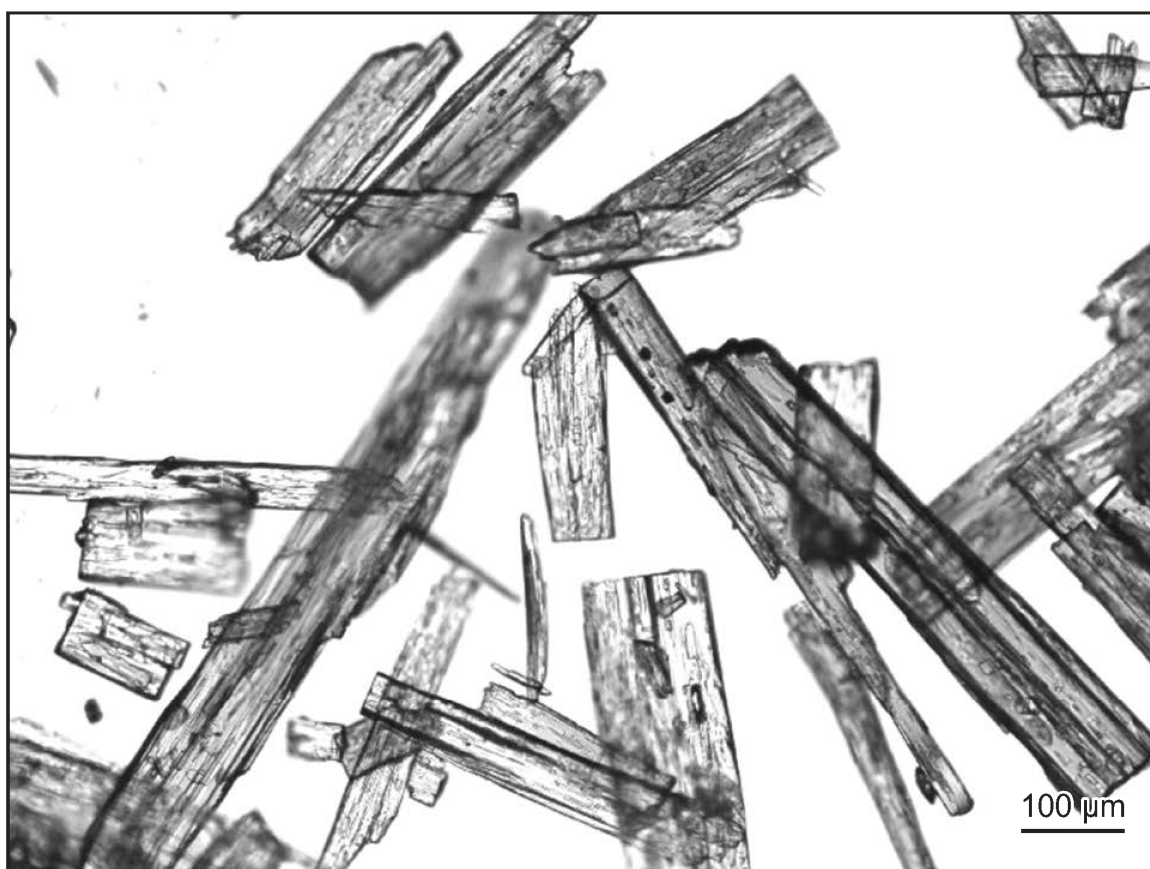


FIG. 17A

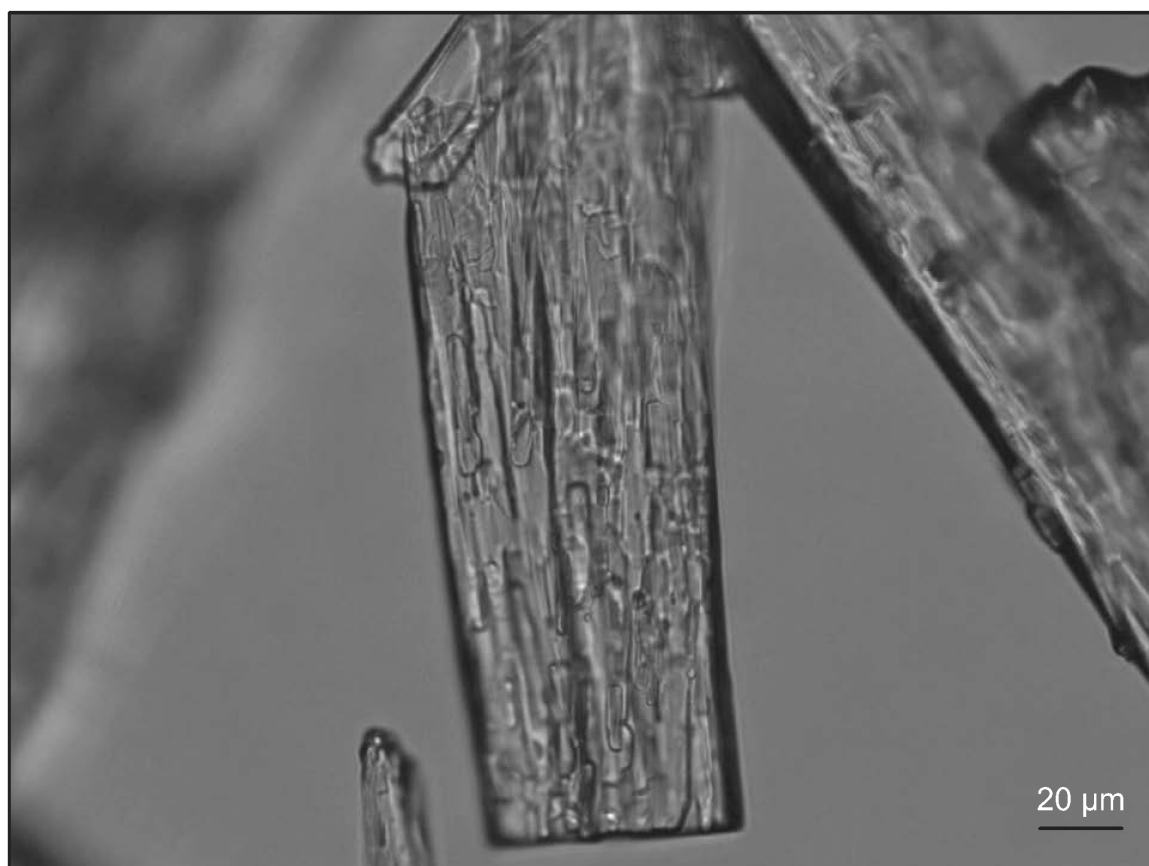


FIG. 17B

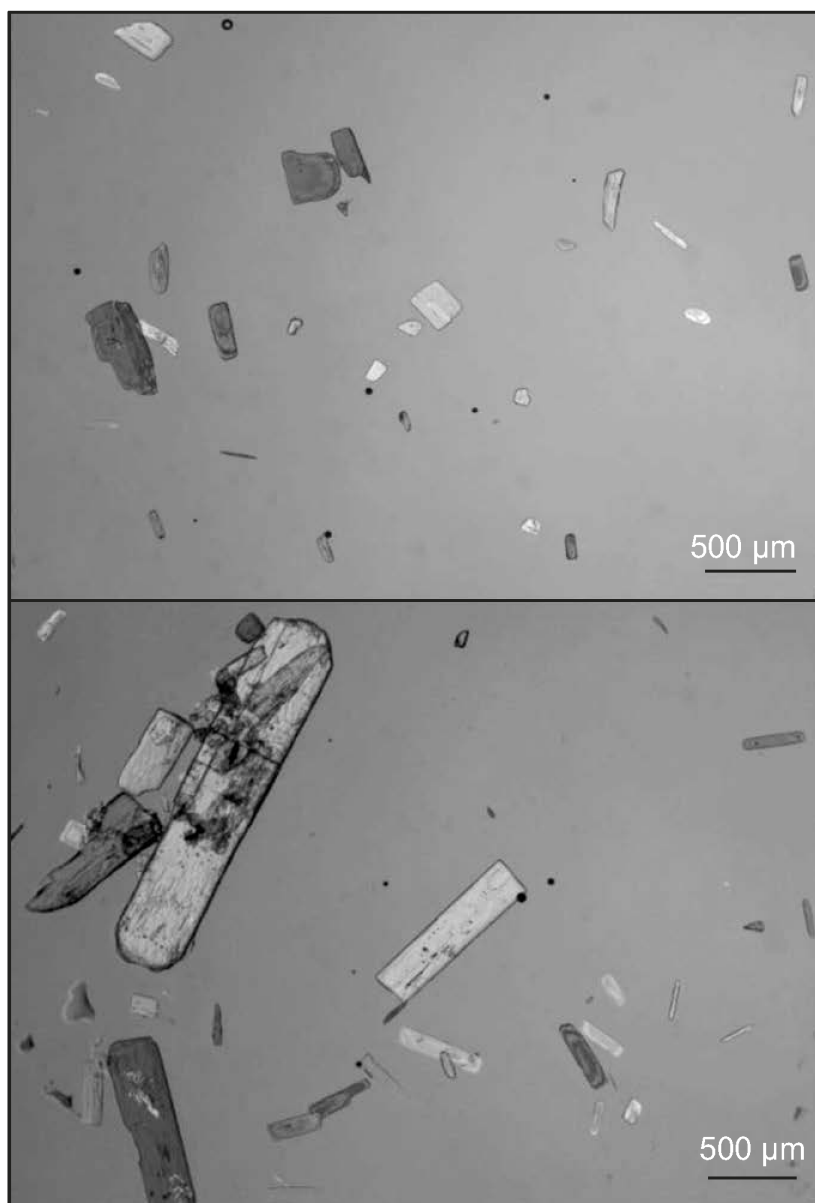


FIG. 18

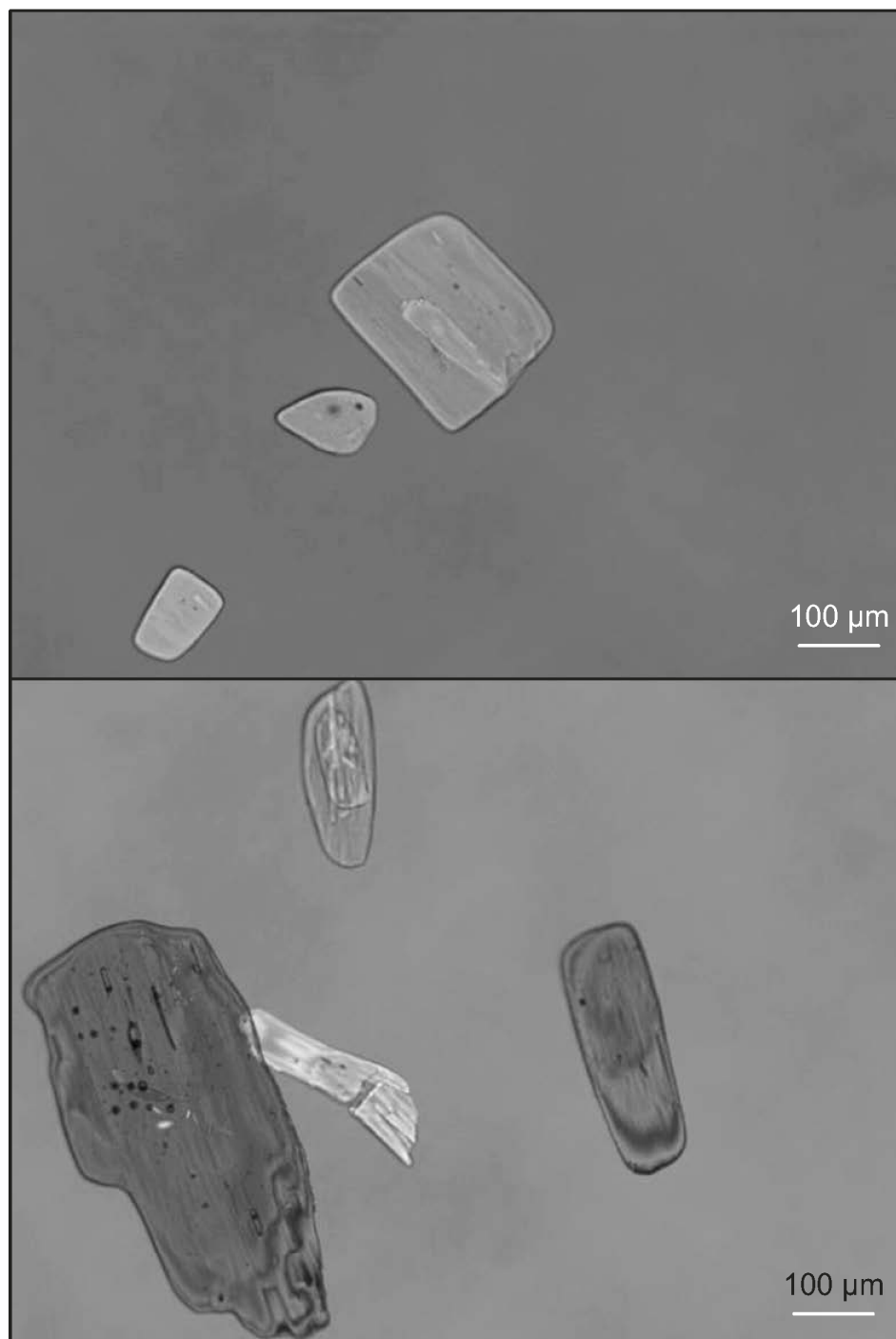


FIG. 19

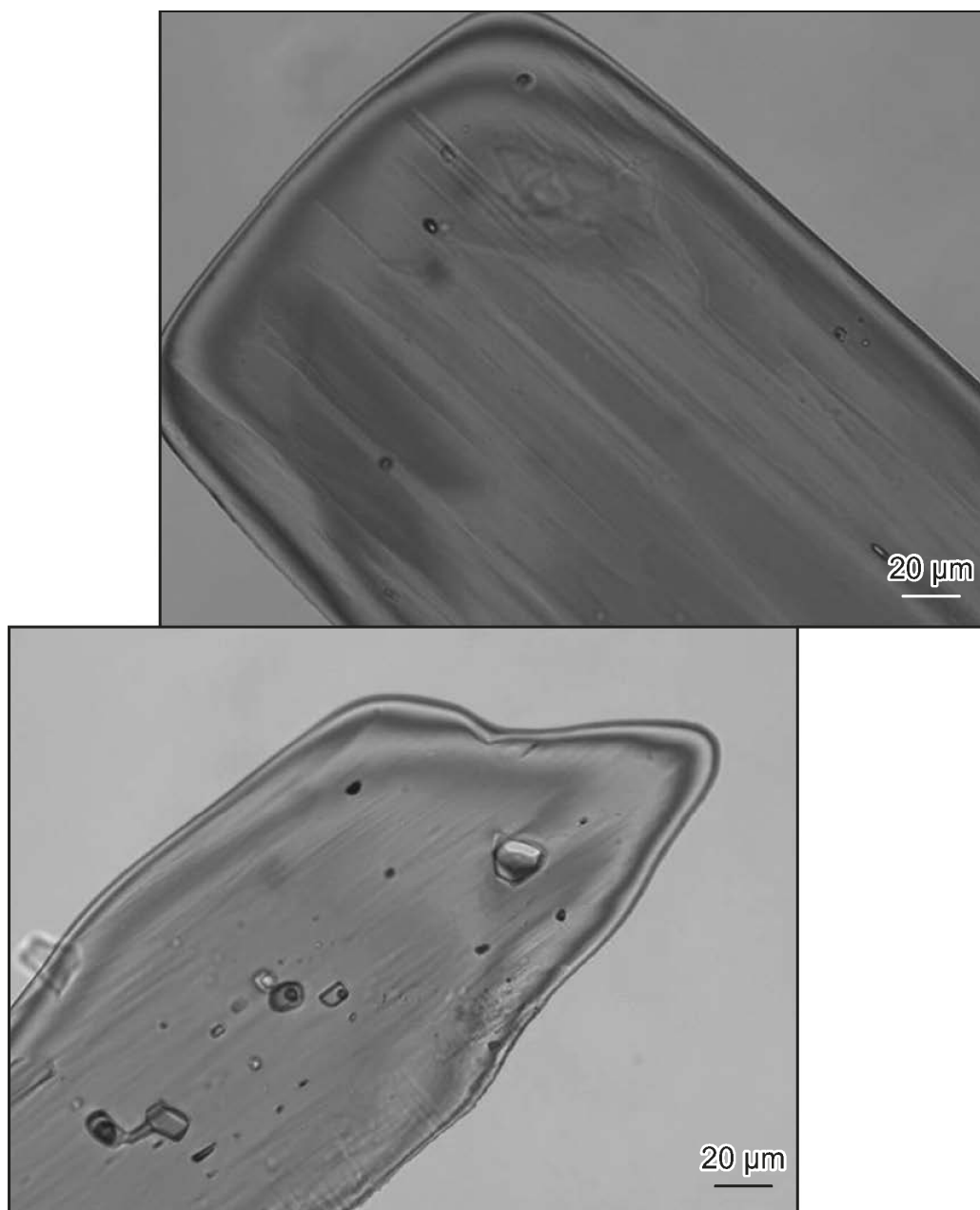


FIG. 20

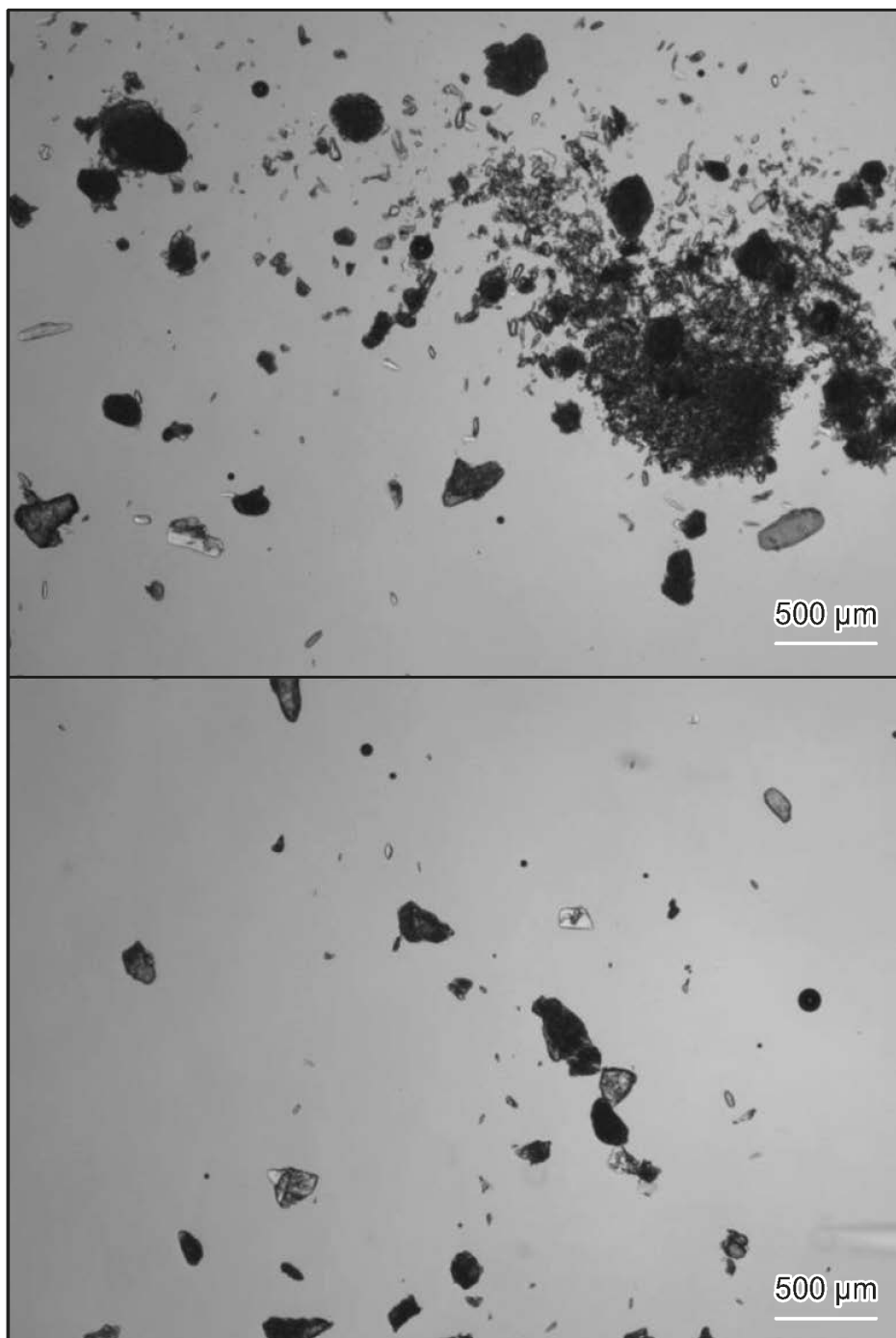


FIG. 21

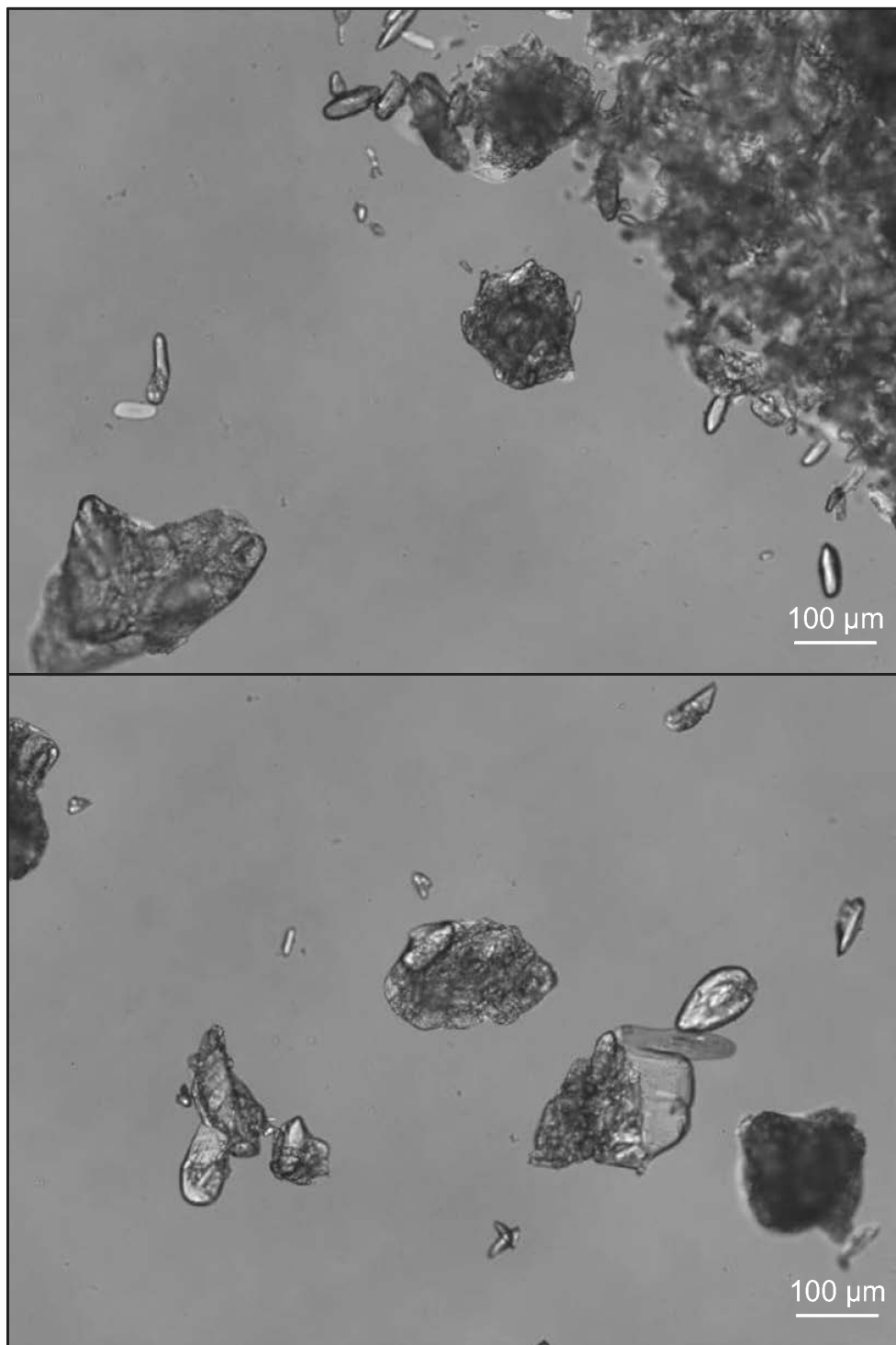


FIG. 22



FIG. 23A

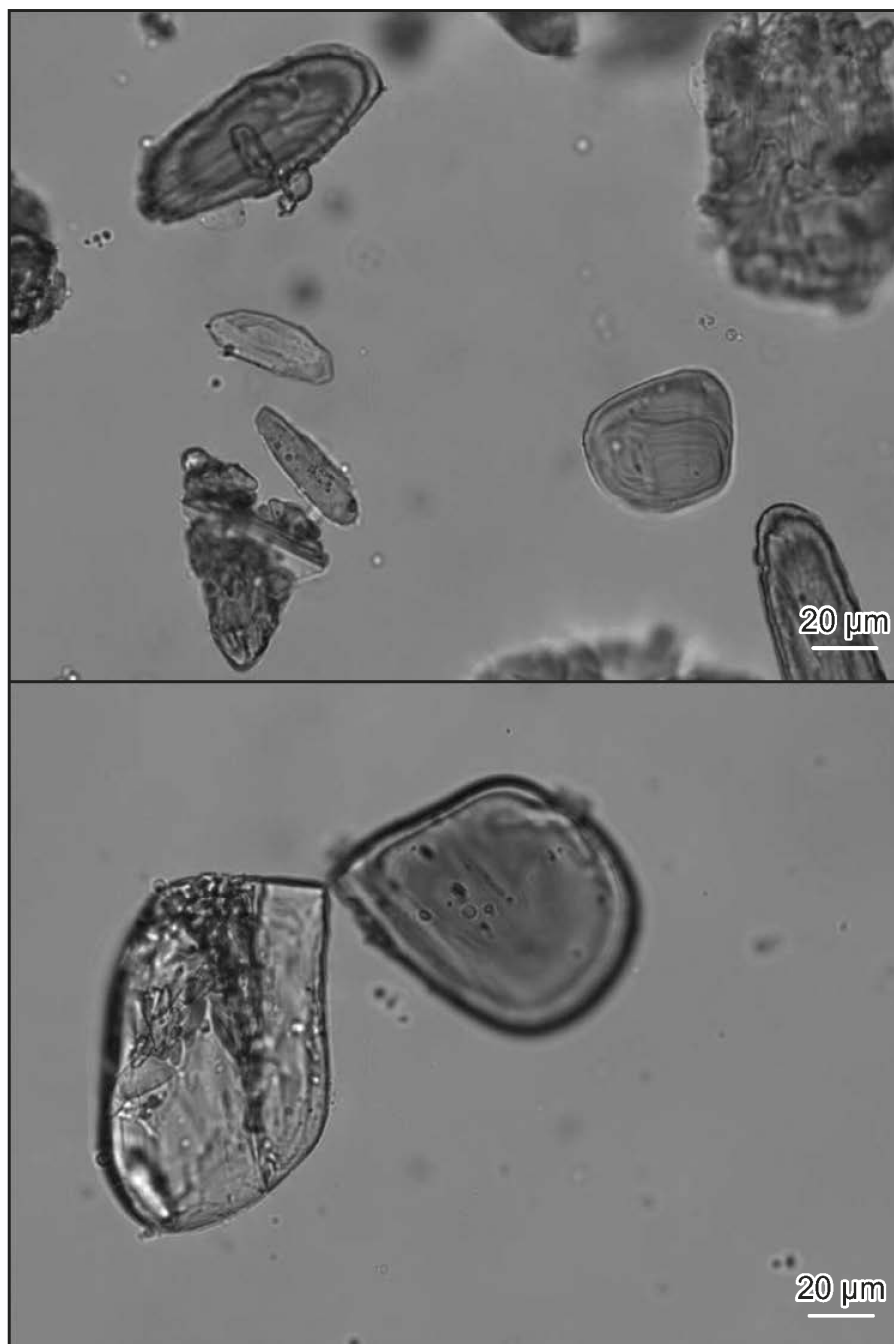


FIG. 23B

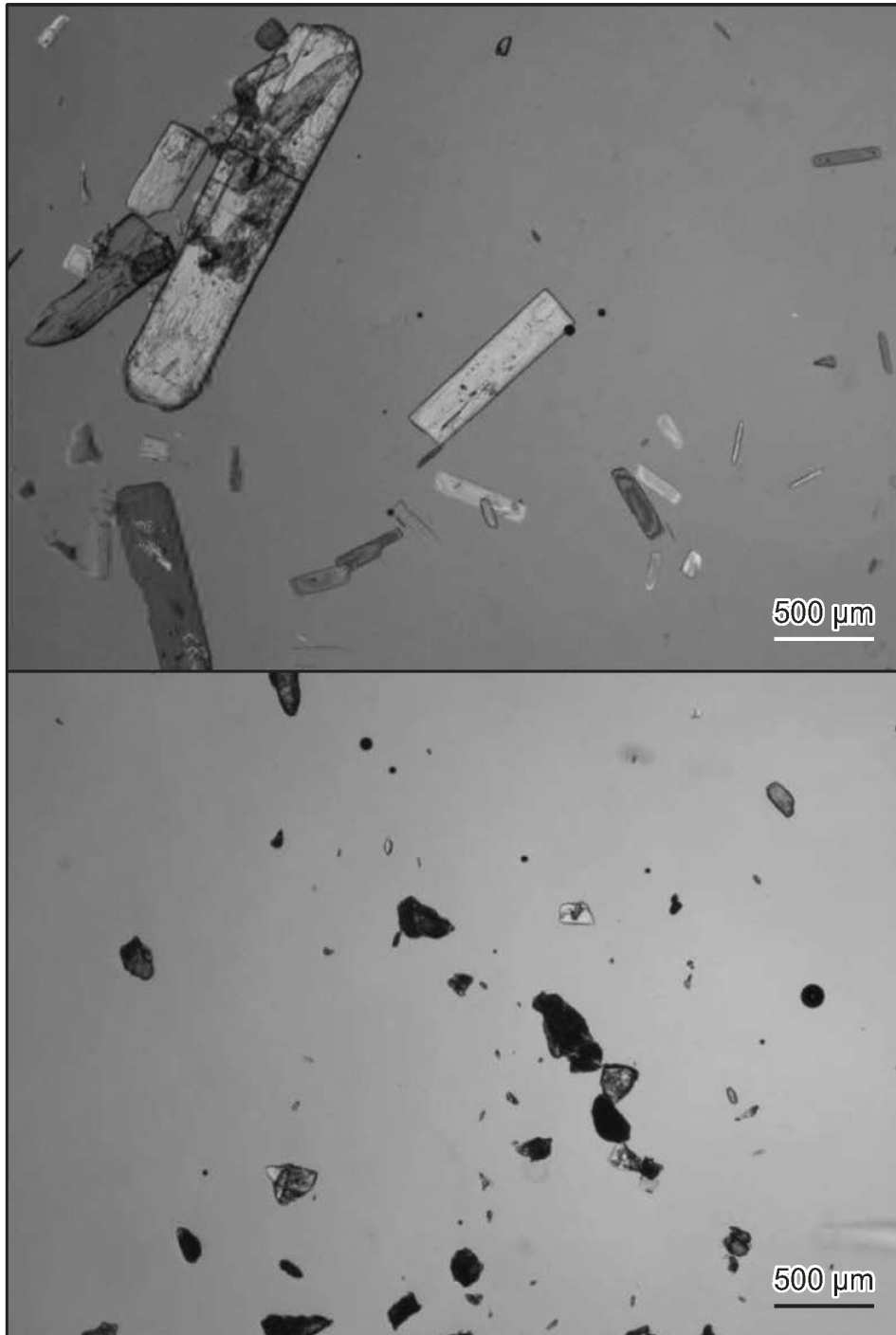


FIG. 24

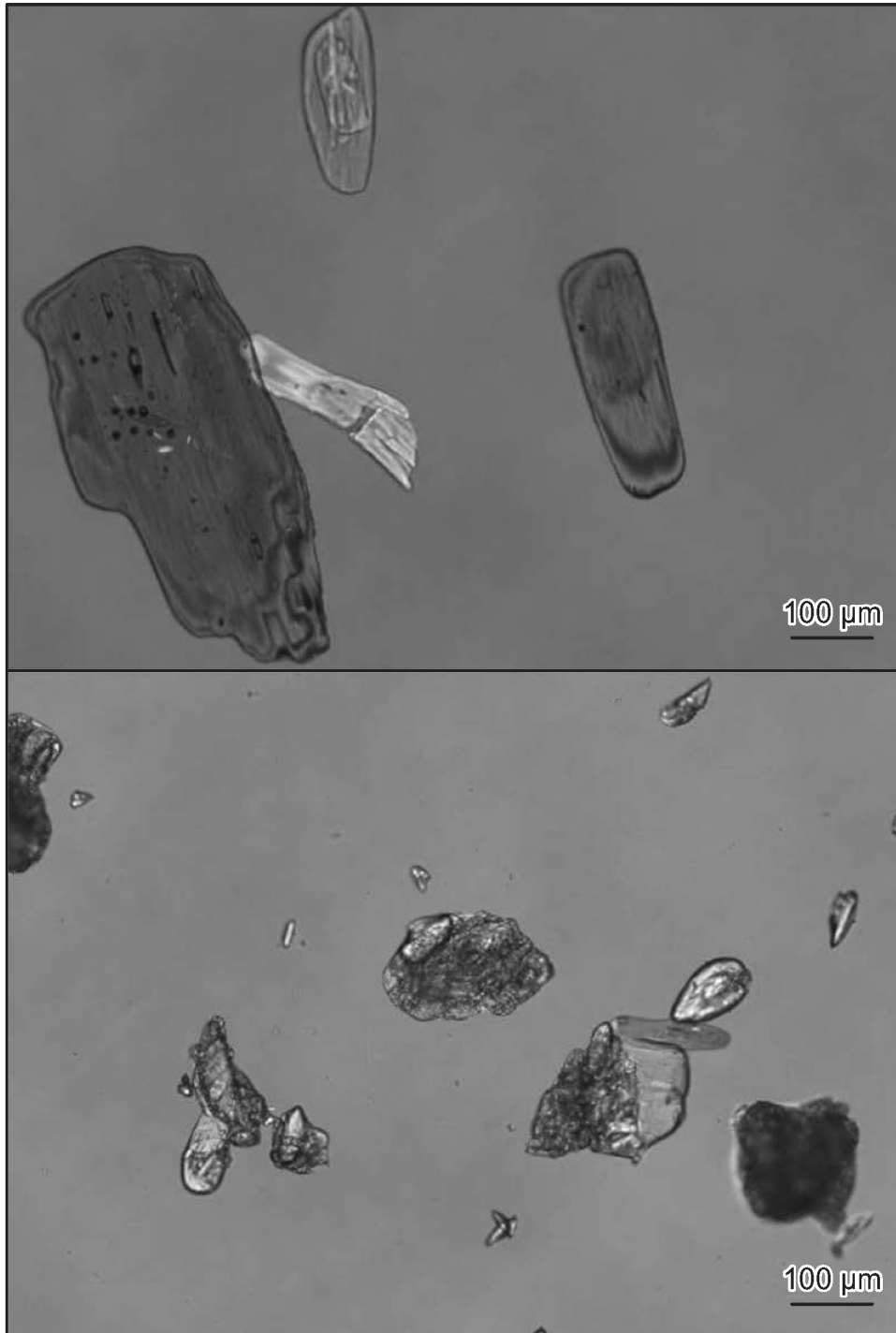


FIG. 25

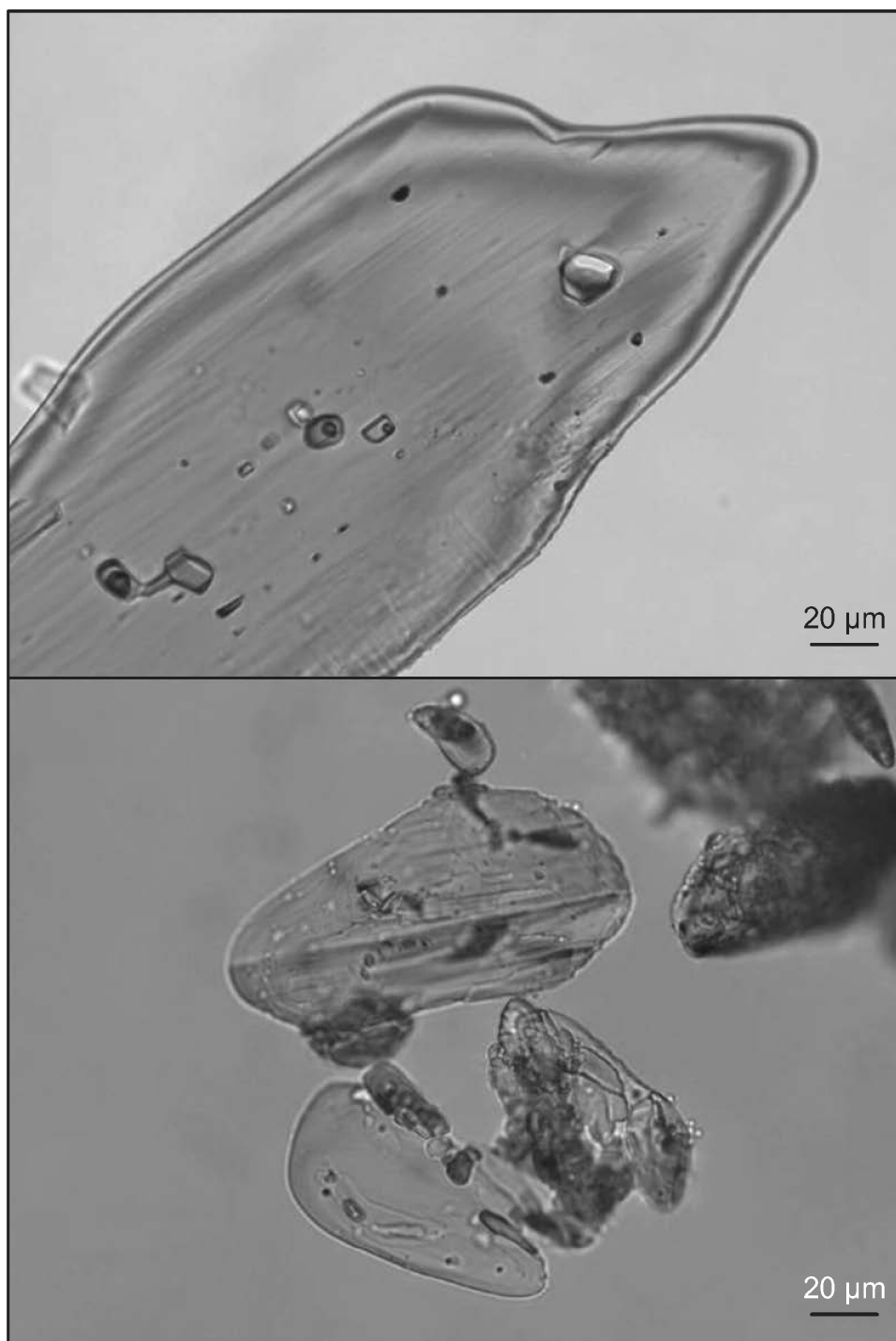


FIG. 26

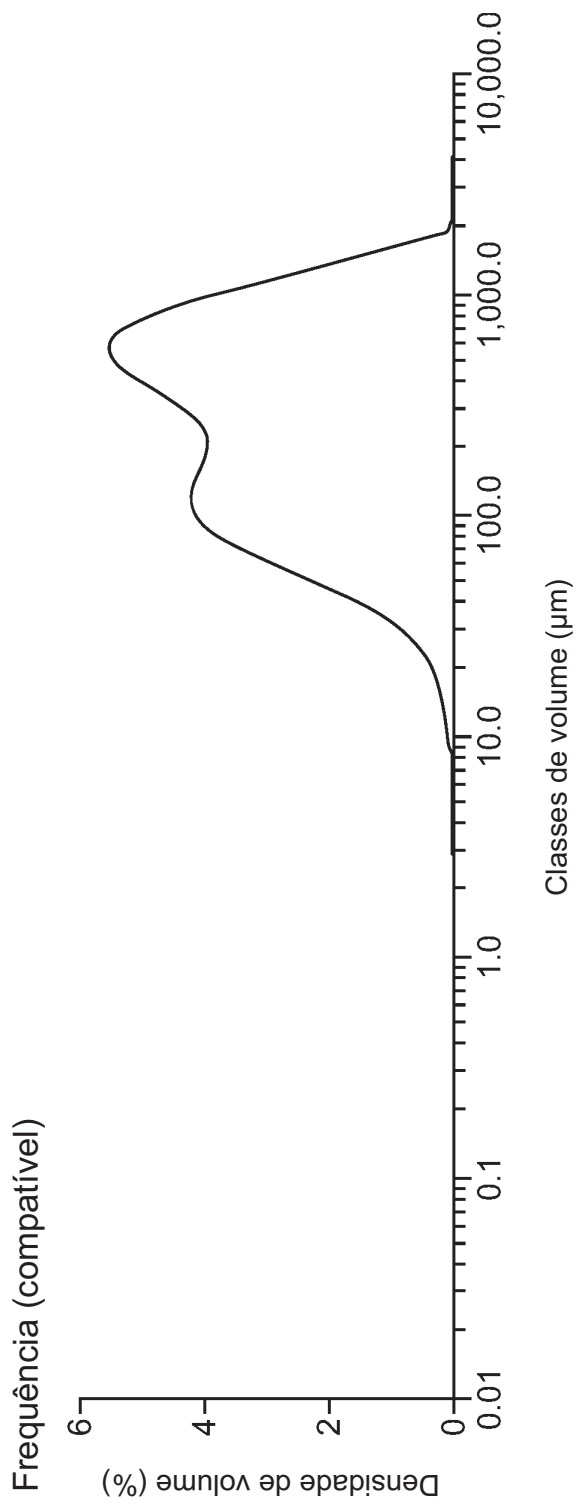


FIG. 27

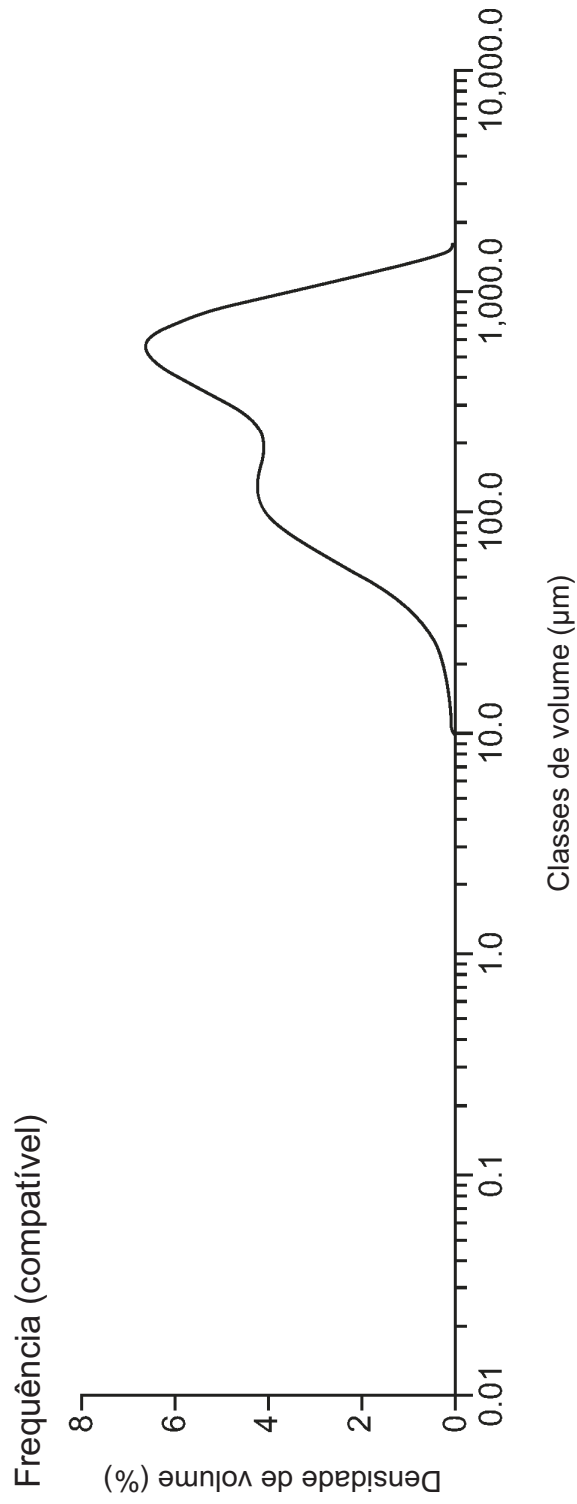


FIG. 28

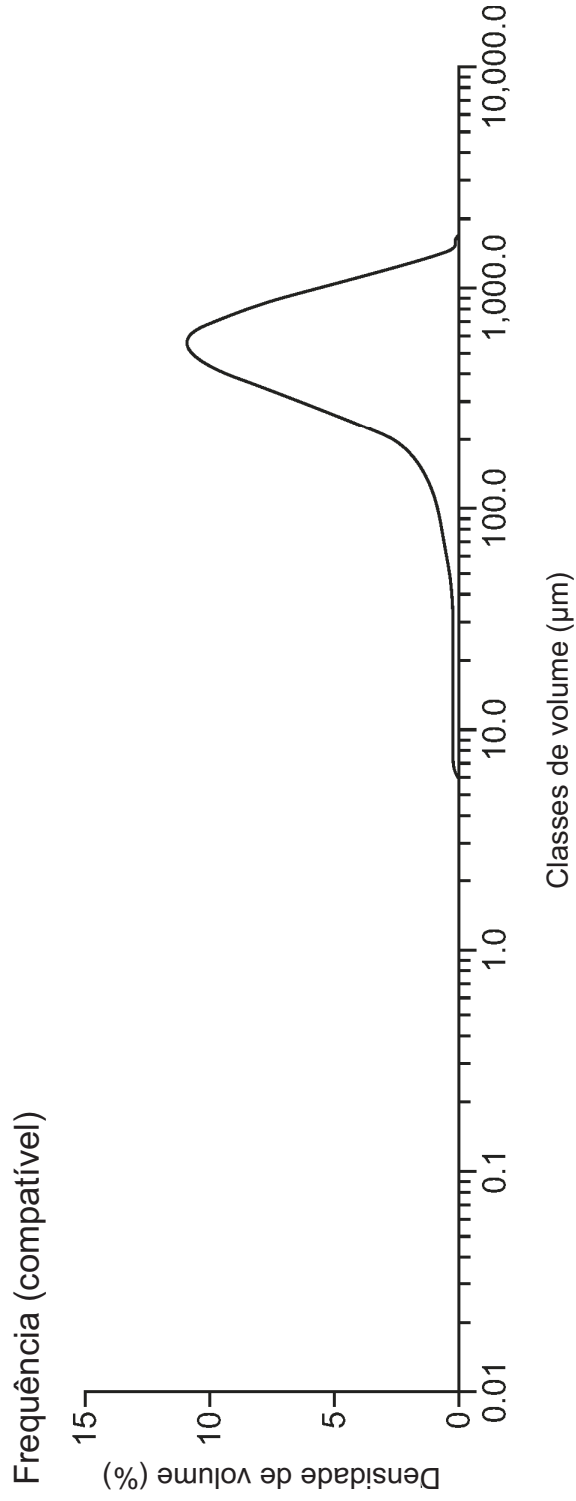


FIG. 29

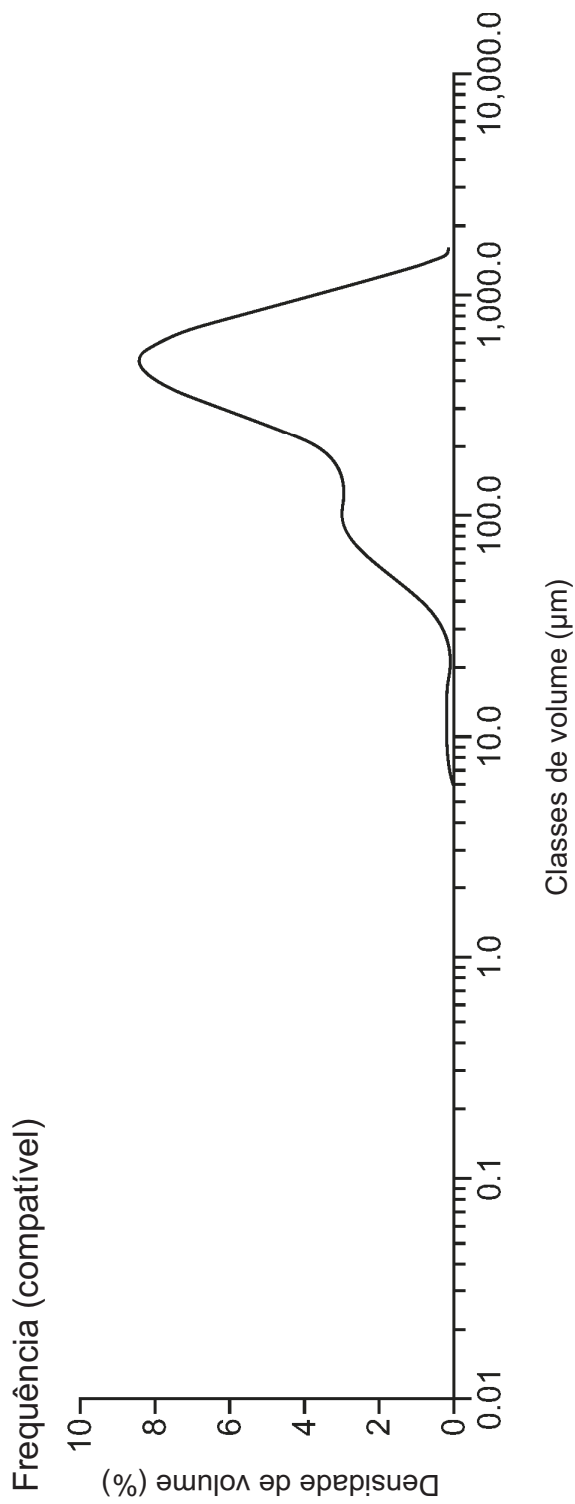


FIG. 30

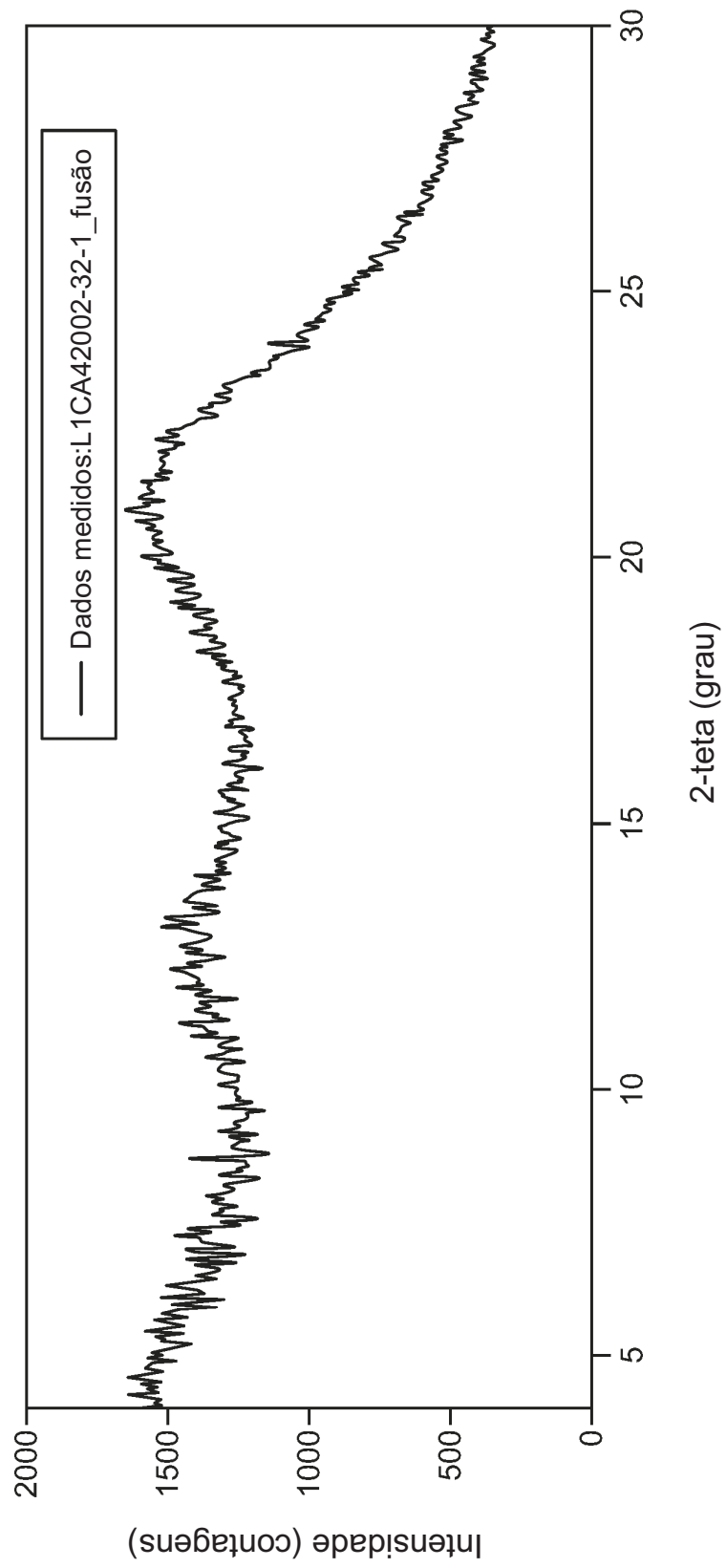
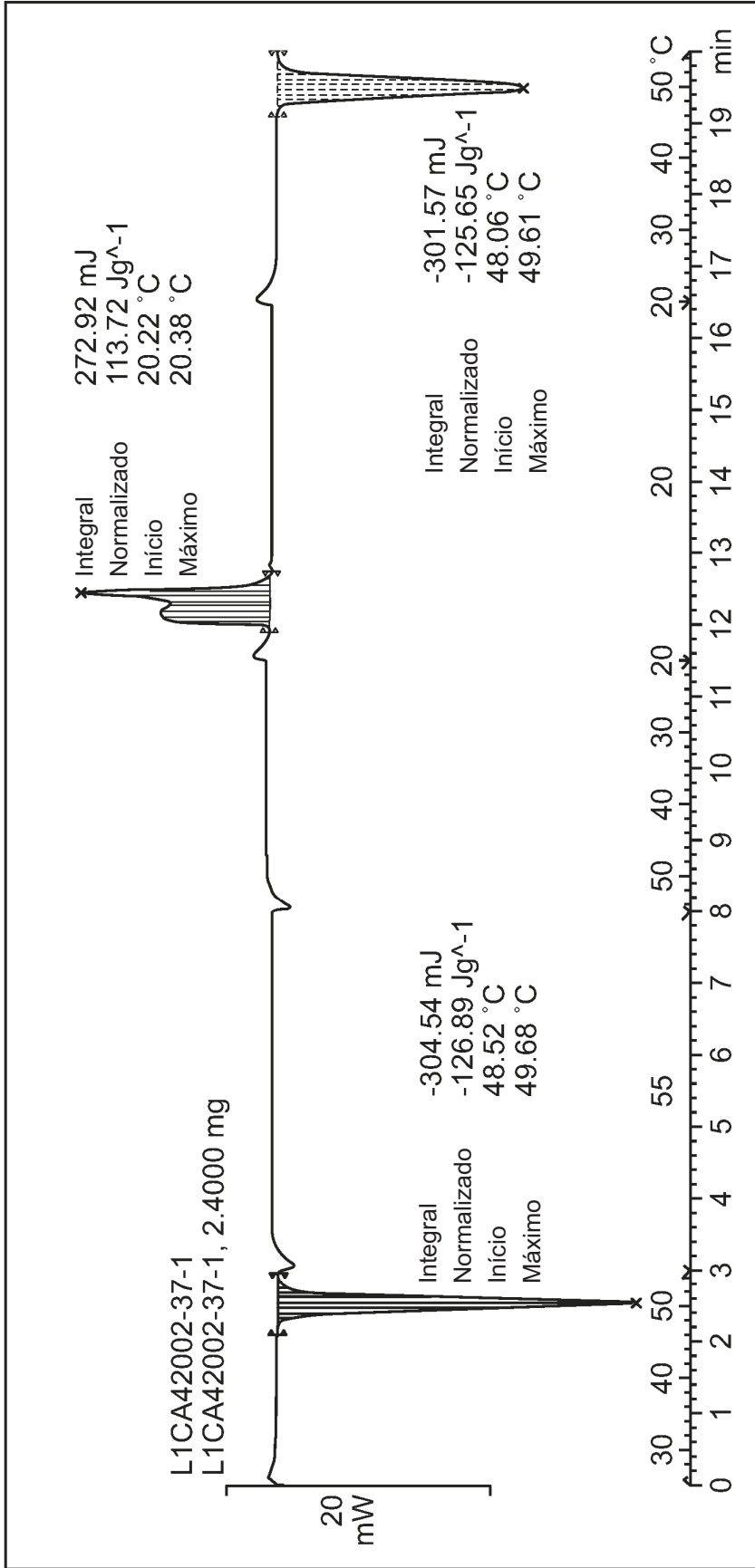


FIG. 31

L1CA42002-1-1_DSC



Solid State Pharma Inc.: SSPI

STAR SW 16:00

FIG. 32

RESUMO

Patente de Invenção: **"2,3,5-TRIMETIL-6-NONILCICLOEXA-2,5-DIENO-1,4-DIONA PARA A SUPRESSÃO E TRATAMENTO DE α -SINUCLEINOPATIAS, TAUOPATIAS E OUTROS DISTÚRBIOS"**.

A presente invenção refere-se a métodos de tratamento ou supressão de um distúrbio selecionado do grupo que consiste em α -sinucleinopatias, tauopatias, ALS, lesão cerebral traumática e lesões relacionadas à reperfusão isquêmica, compreendendo a administração a um indivíduo com sua necessidade de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto da fórmula: ou a sua forma de hidroquinona; ou um solvato ou hidrato do mesmo.