



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

(21) BR 112020024019-2 A2



(22) Data do Depósito: 23/05/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 23/02/2021

(54) Título: MONOIDRATO E FORMAS CRISTALINAS DE 6-[(3S,4S)-4-METIL-1-(PIRIMIDIN-2-ILMETIL)PIRROLIDIN-3-IL]-3-TETRA-HIDROPIRAN-4-IL-7H-IMIDAZO[1,5-A]PIRAZIN-8-ONA

(51) Int. Cl.: A61K 31/4985; A61P 35/00; C07D 487/04.

(30) Prioridade Unionista: 04/01/2019 US 62/788,323; 25/05/2018 US 62/676,381.

(71) Depositante(es): IMARA INC..

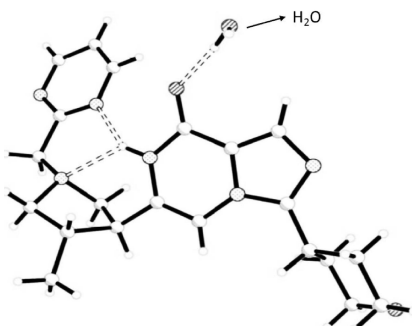
(72) Inventor(es): SUZANNE BUTTAR; MATEUSZ PITAK; ADAM ROSS PATTERSON; SAMUEL ALEXANDER STRATFORD; IOANA SOVAGO; JUN XU; PENG ZHOU; HAOJUAN WEI; KUANGCHU DAI.

(86) Pedido PCT: PCT US2019033835 de 23/05/2019

(87) Publicação PCT: WO 2019/226944 de 28/11/2019

(85) Data da Fase Nacional: 25/11/2020

(57) Resumo: A presente revelação se refere a formas polimórficas cristalinas de 6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona.



“MONOÍDRATO E FORMAS CRISTALINAS DE 6-[(3S,4S)-4-METIL-1-(PIRIMIDIN-2-ILMETIL)PIRROLIDIN-3-IL]-3-TETRA-HIDROPIRAN-4-IL-7H-IMIDAZO[1,5-A]PIRAZIN-8-ONA”

REFERÊNCIA A PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] O presente pedido reivindica o benefício e prioridade ao Pedido Provisório nº US 62/676.381 depositado em 25 de maio de 2018, intitulado MONOHYDRATE AND CRYSTALLINE FORMS OF 6-[(3S,4S)-4-METHYL-1-(PYRIMIDIN-2-YLMETHYL)PYRROLIDIN-3-YL]-3-TETRAHYDROPYRAN-4-YL-7H-IMIDAZO[1,5-A]PYRAZIN-8-ONE, e o Pedido Provisório nº US 62/788.323 depositado em 4 de janeiro de 2019, intitulado MONOHYDRATE AND CRYSTALLINE FORMS OF 6-[(3S,4S)-4-METHYL-1-(PYRIMIDIN-2-YLMETHYL)PYRROLIDIN-3-YL]-3-TETRAHYDROPYRAN-4-YL-7H-IMIDAZO[1,5-A]PYRAZIN-8-ONE, cujos conteúdos são incorporados ao presente documento a título de referência em sua totalidade.

CAMPO DA REVELAÇÃO

[0002] A presente revelação se refere a formas polimórficas de um inibidor do tipo 9 de fosfodiesterase específico de monofosfato de guanilato cíclico (cGMP) (doravante no presente documento referido como o inibidor de PDE9).

ANTECEDENTES

[0003] Os sólidos existem em formas cristalinas ou amorfas. O polimorfismo se refere a várias formas cristalinas de uma substância química. Essas formas cristalinas têm diferentes características em estruturas e propriedades físicas, como espectro de XRPD, espectro de IR e ponto de fusão. Uma forma polimorfa particular pode ter

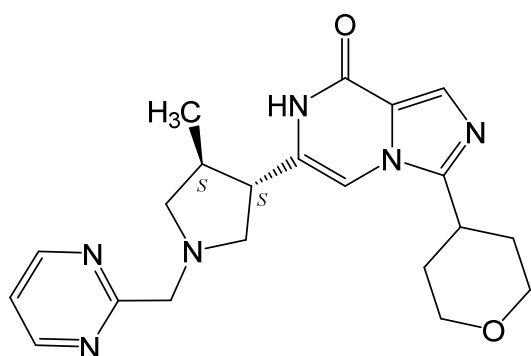
vantagens sobre as outras formas e pode ser mais adequada para a fabricação e uso da substância de fármaco

[0004] 6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona (Composto 1) é um inibidor de PDE9 revelado no documento WO 2017/005786 para tratar várias doenças como anemia falciforme. As formas aprimoradas do Composto 1 são desejadas, particularmente em relação à solubilidade, biodisponibilidade oral e/ou estabilidade física aumentadas.

SUMÁRIO DA REVELAÇÃO

[0005] A presente revelação fornece formas polimórficas de um inibidor de PDE9: 6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona (Composto 1), referida no presente documento como Forma MH1 e Forma MH2. A presente revelação também fornece métodos para fabricar as formas polimórficas, caracterização das formas polimórficas, composições farmacêuticas que compreendem as formas polimórficas, e métodos para usar as formas polimórficas e composições.

[0006] Um aspecto da revelação fornecida no presente documento compreende uma forma cristalina de monodrato de 6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona



(Composto 1).

Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo um padrão de XRPD que compreende os picos de ângulos 2θ a cerca de 9,1, 11,5, 16,2, 16,7, 18,2, 18,9, 19,8, 22,6 e 26,4 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ . Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo um padrão de XRPD substancialmente como mostrado na FIG. 2A. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo um pico endotérmico de desidratação a cerca de 40-100 °C e um pico endotérmico de fusão a cerca de 184,4 °C em um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC). Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo um termograma de DSC substancialmente de acordo com a FIG. 5. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, exibindo desidratação entre o ambiente e cerca de 90 °C com uma perda de peso de cerca de 4,4 % em uma análise termogravimétrica (TGA). Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo uma TGA substancialmente de acordo com a FIG. 5. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo absorções características a cerca de 782 cm^{-1} , 1123 cm^{-1} , 1562 cm^{-1} e 1655 cm^{-1} em um espectro de infravermelho (IR). Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH1, tendo um espectro de infravermelho substancialmente de

acordo com a FIG. 3. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH2, tendo um padrão de XRPD que compreende os picos de ângulos 2θ a cerca de 9,0, 11,6, 15,0, 16,0, 18,6, 19,1, 20,4 ou 20,6 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ . Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH2, tendo um padrão de XRPD substancialmente como mostrado na FIG. 7. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH2, tendo um pico endotérmico a cerca de 59,1 °C (± 5 °C) e a cerca de 184,7 °C (± 5 °C) em um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC). Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH2, tendo um termograma de DSC substancialmente de acordo com a FIG. 9. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH2, exibindo a desidratação a cerca de 25 °C a cerca de 100 °C com uma perda de peso de cerca de 4,4 % em uma análise termogravimétrica (TGA). Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é MH2, tendo uma TGA substancialmente de acordo com a FIG. 9. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato é pelo menos 95, 96, 97, 98 ou 99 % purificada.

[0007] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz da forma cristalina de monoidrato em qualquer uma das modalidades descritas no presente documento, e um excipiente farmacêuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato está presente em uma quantidade de pelo menos cerca de 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % ou 99 % em peso. Em algumas modalidades, a forma

cristalina de monoidrato está presente em uma quantidade de pelo menos cerca de 91 % em peso.

[0008] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende uma composição farmacêutica que consiste essencialmente na forma cristalina de monoidrato de qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[0009] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende uma composição farmacêutica que consiste essencialmente na forma cristalina de monoidrato MH1 de qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[0010] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende uma composição farmacêutica que consiste essencialmente na forma cristalina de monoidrato MH2 de qualquer uma das modalidades descritas no presente documento. Em algumas modalidades, a composição está na forma de cápsula ou comprimido.

[0011] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende um processo para preparar uma forma cristalina de monoidrato do Composto **1**, que compreende precipitar a forma cristalina de monoidrato a partir de uma solução que compreende o Composto **1** e um solvente selecionado a partir do grupo que consiste em acetato de n-propila, acetato de isopropila, anisol, metilisobutil cetona, cumeno, isopropanol, 2-metil tetra-hidrofurano e combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o solvente é acetato de n-propila. Em algumas modalidades, o processo compreende adicionalmente resfriar a solução.

[0012] Um outro aspecto descrito no presente documento

compreende uma forma cristalina de monoidrato do Composto **1** preparado pelo processo de qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[0013] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende um método para inibir a atividade de PDE9 em um paciente, que compreende administrar ao paciente a forma cristalina de monoidrato de qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[0014] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende um método para tratar a anemia falciforme em um paciente com necessidade da mesma, que compreende administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz da forma cristalina de monoidrato de qualquer uma das modalidades descritas no presente documento.

[0015] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende um processo para preparar a Forma de Monoidrato 1 (MH1) do Composto **1**, em que as etapas compreendem: (i) dissolver o Composto **1** em um primeiro solvente para obter uma solução; (ii) adicionar um segundo solvente para obter uma mistura; e (iii) filtrar a mistura para obter um sólido, em que o primeiro e o segundo solventes são, cada um, individualmente selecionados a partir de acetato de isopropila; etanol; tetra-hidrofurano; água; diclorometano; acetonitrila; anisol; metilisobutil cetona; nitrometano; 1,2-dimetoxietano; metiletil cetona; n-heptano; 1,4-dioxano; acetato de n-propila; 2-propanol; acetona; cumeno; N,N-dimetilformamida; sulfóxido de dimetila; e combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o método compreende adicionalmente aquecer a solução a uma temperatura acima da temperatura ambiente a cerca de 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65,

70, 75 ou 80 °C.

[0016] Em algumas modalidades, o primeiro solvente compreende 2-propanol. Em algumas modalidades, o segundo solvente compreende n-heptano. Em algumas modalidades, o primeiro solvente na etapa (i) compreende água e 2-propanol. Em algumas modalidades, o teor de água da solução obtida na etapa (i) é cerca de 0,5 %, 1 % ou 1,5 %. Em algumas modalidades, o teor de água da solução obtida na etapa (i) é cerca de 1 %. Em algumas modalidades, o sólido obtido na etapa (ii) é opcionalmente lavado uma ou mais vezes com n-heptano. Em algumas modalidades, o processo compreende adicionalmente secar o sólido após a etapa (iii). Em algumas modalidades, o sólido é seco em um umidificado.

[0017] Um outro aspecto descrito no presente documento compreende um processo para preparar a Forma de Monoidrato 2 (MH2) do Composto 1, em que as etapas compreendem: a) tratar o Composto 1 ou MH1 com um primeiro sistema de solvente para obter uma suspensão; b) filtrar a suspensão para obter o sólido; c) lavar o sólido com heptano; e d) secar para remover o solvente para obter MH2; em que o solvente é uma mistura de água e acetato de etila (EtOAc) ou acetato de metila (MeOAc), selecionado a partir de 2 % (v/v) de EtOAc/água, 2,7 % (v/v) de EtOAc/água e 7,5 % (v/v) de MeOAc/água.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0018] A FIG. 1 é o diagrama de bastões e esferas de estrutura molecular de MH1.

[0019] A FIG. 2A é o padrão de XRPD experimental de cristal de MH1 à temperatura ambiente.

[0020] A FIG. 2B é uma sobreposição do padrão de XRPD experimental de MH1 à temperatura ambiente (linha de topo) e o padrão de XRPD calculado de MH1 em 293K (linha intermediária) e 100 K (linha de fundo).

[0021] A FIG. 3 é o espectro de FTIR de MH1.

[0022] A FIG. 4 é o espectro de Raman de MH1.

[0023] A FIG. 5 é a análise de TGA e DSC de MH1.

[0024] A FIG. 6 é o diagrama de bastões e esferas de estrutura molecular de MH2.

[0025] A FIG. 7 é uma sobreposição do padrão de XRPD experimental de MH2 à temperatura ambiente e o padrão de XRPD calculado de MH2 em 100 K.

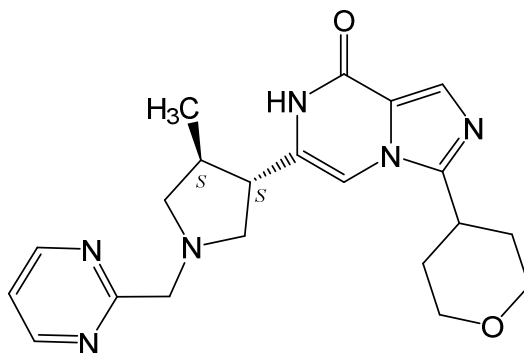
[0026] A FIG. 8 é uma sobreposição de XRPD do aumento em escala de MH2.

[0027] A FIG. 9 é a análise de TGA e DSC de MH2.

DESCRIÇÃO DETALHADA

I. Formas Polimórficas do Composto 1

[0028] Uma forma de racemato do Composto 1 e uma forma anidra do Composto 1 foi descrita no documento WO 2013/053690 e no documento WO 2017/005786. A forma anidra do Composto 1 tem a seguinte estrutura:



6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona.

[0029] Duas diferentes formas polimórficas de monoidrato do Composto **1** foram reveladas, Forma de Monoidrato 1 (MH1) e Forma de Monoidrato 2 (MH2). As duas formas de monoidrato e a forma de anidrato (AH) diferem em sua estrutura cristalina como determinado por Difração de raios X de Pó de cristal único (XRPD). Os picos principais de MH1 e MH2 abaixo de 30° de 2θ foram identificados e suas intensidades relativas são listadas na Tabela 1. Conforme será entendido por uma pessoa versada na técnica, as intensidades relativas dos picos dentro da Tabela 1 podem variar devido a vários fatores como a pureza do material que é analisado, efeitos de orientação de cristais no feixe de raio X, o grau de cristalinidade da amostra e assim por diante. As posições de pico também podem mudar para variações de altura de amostra, mas as posições de pico permanecerão substancialmente como definido na Tabela 1. Uma pessoa versada na técnica também entenderá que as medições com o uso de um comprimento de onda diferente resultarão em diferentes deslocamentos de acordo com a equação de Bragg ($n\lambda = 2d \sin \theta$). Tais padrões de XRPD adicionais gerados pelo uso de comprimentos de onda alternativos são representações alternativas dos padrões de XRPD dos materiais cristalinos.

Tabela 1. Listagem de pico de XRPD para MH1 e MH2.

MH1		MH2	
$^\circ 2\theta$	% de Intensidade	$^\circ 2\theta$	% de Intensidade
8,2	9,7	8,5	12,8
9,1	70,4	9,0	48,1
11,5	36,8	10,2	4,1
12,6	4,3	11,6	45,8

MH1		MH2	
°2θ	% de Intensidade	°2θ	% de Intensidade
14,8	2,8	12,2	8,9
15,0	9,2	12,6	8,7
16,2	100	13,0	11,9
16,5	10	15,0	40,2
16,7	23,6	16,0	100
17,7	3,3	16,5	7,1
18,2	22,4	17,0	28,1
18,9	46,3	17,7	15,6
19,3	5,2	18,6	80,9
19,8	42,7	18,7	7,7
20,7	18,3	19,1	79,3
21,0	18,1	19,2	35,6
21,4	3,8	20,4	43,3
22,3	6,1	20,6	55
22,6	20,9	20,8	10,9
23,0	4,8	21,1	11,6
24,4	14	22,1	18,5
25,2	7,9	22,6	9,4
25,8	3,7	22,7	12,5
26,4	21,5	24,1	30,4
26,7	7,3	24,7	6,7
27,6	4	25,1	7,1
29,2	8,8	25,3	12,3
		25,9	8,4
		26,2	23,9
		26,7	32,6
		27,3	24,1

MH1		MH2	
°2θ	% de Intensidade	°2θ	% de Intensidade
		27,9	20,7
		28,4	6,4
		28,5	5,7
		28,9	11,3
		29,6	8,9

i. MH1 de Forma Cristalina

[0030] Forma MH1 pode ser caracterizada por qualquer um de seus picos na Tabela 1. Por exemplo, MH1 pode ser caracterizado por qualquer um dos seguintes picos, dentre outros: 9,1, 11,5, 16,2, 16,7, 18,2, 18,9 e 19,8 graus 2θ, cada ±0,2 graus 2θ.

[0031] Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato do Composto **1** é MH1 e tem um padrão de difração de pó de raios X (XRPD) que compreende um ou mais picos de qualquer um dentre 9,1, 11,5, 16,2, 16,7, 18,2, 18,9 e 19,8 graus 2θ, cada ±0,2 graus 2θ.

[0032] Em algumas modalidades, a forma cristalina de monoidrato do Composto **1** é MH1 e tem um padrão de difração de pó de raios X (XRPD) que compreende os picos dentre 9,1, 11,5, 16,2, 16,7, 18,2, 18,9 e 19,8 graus 2θ, cada ±0,2 graus 2θ.

[0033] Em algumas modalidades, MH1 analisado com espectroscopia de infravermelho (IR) exibe absorções características a cerca de 782 cm⁻¹, 1123 cm⁻¹, 1562 cm⁻¹ e 1655 cm⁻¹ (±0,5 cm⁻¹) como mostrado na FIG. 3.

[0034] Em algumas modalidades, MH1 analisado por termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC)

mostra um pico endotérmico de desidratação a cerca de 40-100 °C (± 10 °C) e um pico endotérmico de fusão a cerca de 184,4 °C (± 5 °C) como mostrado na FIG. 5.

[0035] Em algumas modalidades, MH1 analisado por análise termogravimétrica (TGA) exibe uma desidratação à temperatura ambiente a cerca de 90 °C com uma perda de peso de cerca de 3,8 % como mostrado na FIG. 5.

ii. MH2 de Forma Cristalina

[0036] Forma MH2 pode ser caracterizada por qualquer um de seus picos na Tabela 1. Por exemplo, MH2 pode ser caracterizado por qualquer um dos seguintes picos, dentre outros: 9,0, 11,6, 15,0, 16,0, 18,6, 19,1, 20,4 e 20,6 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ .

[0037] Em algumas modalidades, a forma cristalina de monohidrato do Composto 1 é MH2 e tem um padrão de difração de pó de raios X (XRPD) que compreende um ou mais picos de qualquer um dentre 9,0, 11,6, 15,0, 16,0, 18,6, 19,1, 20,4 ou 20,6 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ .

[0038] Em algumas modalidades, a forma cristalina de monohidrato do Composto 1 é MH2 e tem um padrão de difração de pó de raios X (XRPD) que compreende os picos de 9,0, 11,6, 15,0, 16,0, 18,6, 19,1, 20,4 e 20,6 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ .

[0039] Em algumas modalidades, MH2 analisado por termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) mostra um pico endotérmico a cerca de 59,1 °C (± 5 °C) e a cerca de 184,7 °C (± 5 °C) como mostrado na FIG. 9.

[0040] Em algumas modalidades, MH2 analisado por análise termogravimétrica (TGA) exibe uma desidratação a cerca de 25 °C a cerca de 100 °C com uma perda de peso de cerca de

4,4 % como mostrado na FIG. 9.

[0041] Em algumas modalidades, a forma cristalina do Composto **1** (por exemplo, MH1 ou MH2) é substancialmente pura. Em algumas modalidades, a forma cristalina de MH1 ou MH2 é pelo menos 80 %, 85 %, 90 % ou 95 % pura. Em algumas modalidades, a forma cristalina de MH1 ou MH2 é pelo menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 % ou 99 % pura. Em algumas modalidades, a forma cristalina de MH1 ou MH2 contém não mais que 10 %, 5 %, 3 % ou 1 % de impureza.

II. Composições farmacêuticas

[0042] A presente revelação fornece adicionalmente uma composição farmacêutica que compreende uma quantidade terapeuticamente eficaz de qualquer uma das formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monodrato MH1 ou MH2) e um diluente, carreador ou excipiente farmacêuticamente aceitável. Em algumas modalidades, a composição farmacêutica é para administração oral. Em algumas modalidades, a administração farmacêutica está na forma de comprimidos ou forma de cápsula.

[0043] As formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monodrato MH1 ou MH2) podem ser administradas sozinha ou em combinação com excipientes, diluentes ou carreadores farmacêuticamente aceitáveis, em doses únicas ou múltiplas. As composições farmacêuticas de acordo com a revelação podem ser formuladas com diluentes ou carreadores farmacêuticamente aceitáveis bem como quaisquer outros adjuvantes e excipientes conhecidos de acordo com as técnicas convencionais como aquelas reveladas em Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22^a Edição, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, EUA,

2013.

[0044] As composições farmacêuticas para administração oral incluem formas de dosagem sólida, como cápsulas, comprimidos, drágeas, pílulas, trociscos, pós e grânulos. Quando apropriado, as composições podem ser preparadas com revestimentos, como revestimentos entéricos, ou podem ser formuladas de modo a fornecer liberação controlada do ingrediente ativo, como liberação sustentada ou prolongada de acordo com os métodos bem conhecidos na técnica. As formas de dosagem líquida para administração oral incluem soluções, emulsões, suspensões, xaropes e elixires.

[0045] As composições farmacêuticas para administração parenteral incluem soluções injetáveis aquosas e não aquosas estéreis, dispersões, suspensões ou emulsões, bem como pós estéreis para serem reconstituídos em soluções ou dispersões injetáveis estéreis antes do uso. Outras formas de administração adequadas incluem, porém sem limitação, supositórios, pulverizadores, pomadas, cremes, géis, inalantes, adesivos dérmicos e implantes.

[0046] As dosagens orais típicas variam de cerca de 0,001 a cerca de 100 mg/kg de peso corporal por dia. As dosagens orais típicas também variam de cerca de 0,01 a cerca de 50 mg/kg de peso corporal por dia. As dosagens orais típicas variam de cerca de 0,05 a cerca de 10 mg/kg de peso corporal por dia. As dosagens orais são geralmente administradas em uma ou mais dosagens, tipicamente, uma a três dosagens por dia. A dosagem exata dependerá da frequência e do modo de administração, do gênero, idade, peso e saúde geral do indivíduo tratado, da natureza e da gravidade da condição tratada e quaisquer doenças

concomitantes a serem tratadas e outros fatores evidentes àquele versado na técnica.

[0047] As formulações também podem ser apresentadas em uma forma de dosagem unitária por métodos conhecidos àquele versado na técnica. Para propósitos ilustrativos, uma forma de dosagem unitária típica para administração oral pode conter de cerca de 0,01 a cerca de 1000 mg, de cerca de 0,05 a cerca de 500 mg, ou de cerca de 0,5 mg a cerca de 200 mg.

[0048] Para vias parenterais, como administração intravenosa, intratecal, intramuscular e similar, as doses típicas são da ordem da metade da dose empregada para administração oral.

[0049] A presente revelação também fornece um processo para fabricar uma composição farmacêutica que compreende admisturar uma quantidade terapeuticamente eficaz de qualquer uma das formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e pelo menos um diluente ou carreador farmacêuticamente aceitável.

[0050] Carreadores farmacêuticamente aceitáveis incluem diluentes ou cargas sólidos inertes, soluções aquosas estéreis e vários solventes orgânicos. Os exemplos de carreadores sólidos incluem lactose, terra alba, sacarose, ciclodextrina, talco, gelatina, ágar, pectina, acacia, estearato de magnésio, ácido esteárico e alquil éteres menores de celulose. Os exemplos de carreadores líquidos incluem, porém sem limitação, xarope, óleo de amendoim, azeite, fosfolipídios, ácidos graxos, amins de ácidos graxos, polioxietileno e água. De modo similar, o carreador ou diluente pode incluir qualquer material de liberação

sustentada conhecido na técnica, como monoestearato de glicerila ou diestearato de glicerila, sozinho ou misturado com uma cera. As composições farmacêuticas formadas pela combinação dos compostos da presente divulgação e um carreador farmacêuticamente aceitável são, então, prontamente administradas em uma variedade de formas de dosagem adequadas para as vias de administração divulgadas. As formulações podem ser convenientemente apresentadas na forma de dosagem unitária por métodos conhecidos na técnica de farmácia.

[0051] As formulações da presente divulgação adequadas para administração oral podem ser apresentadas como unidades distintas, como cápsulas ou comprimidos, cada um contendo uma quantidade predeterminada do ingrediente ativo e, opcionalmente, um excipiente adequado. Além disso, as formulações disponíveis oralmente podem estar na forma de um pó ou grânulos, uma solução ou suspensão em um líquido aquoso ou não aquoso, ou uma emulsão líquida óleo-em-água ou água-em-óleo.

[0052] Se um carreador sólido for usado para administração oral, a preparação pode ser em comprimidos, colocada em uma cápsula de gelatina dura em pó ou pastilha ou pode estar na forma de trocisco ou pastilha. A quantidade de carreador sólido irá variar amplamente, mas irá variar de cerca de 25 mg a cerca de 1 g por unidade de dosagem. Se um carreador líquido for usado, a preparação pode estar na forma de um xarope, emulsão, cápsula de gelatina mole ou líquido injetável estéril, como uma solução ou suspensão líquido aquosa ou não aquosa.

[0053] As composições farmacêuticas da revelação podem

ser preparadas por métodos convencionais na técnica. Por exemplo, os comprimidos podem ser preparados misturando-se o ingrediente ativo com adjuvantes e/ou diluentes comuns e comprimindo-se de modo subsequente a mistura em uma máquina de formação de comprimidos convencional que prepara comprimidos. Os exemplos de adjuvantes ou diluentes compreendem: amido de milho, amido de batata, talco, estearato de magnésio, gelatina, lactose, gomas e similares. Quaisquer outros adjuvantes ou aditivos usados usualmente para tais propósitos, como corantes, flavorizantes, conservantes etc. podem ser usados visto que são compatíveis com os ingredientes ativos.

[0054] Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas compreendem pelo menos 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 % ou 90 % em peso de uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2). Em algumas modalidades, as composições farmacêuticas compreendem pelo menos 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % ou 99 % em peso de uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2).

[0055] Em uma modalidade, a administração farmacêutica que compreende os compostos da presente revelação é usada em combinação com um ou mais agentes ativos adicionais, como hidroxíureia ("HU").

III. Métodos para Fabricar Formas Polimórficas do Composto **1**

[0056] A cristalização pode ser precipitada a partir de uma solução que compreende um composto e um solvente. Por exemplo, as cristalizações podem ser obtidas diminuindo-se

a temperatura de uma solução clara. A solubilidade da maioria dos materiais diminui com a temperatura e, por conseguinte, o resfriamento pode ser usado para causar a supersaturação. A cristalização também pode ser obtida por evaporação rápida.

[0057] Em algumas modalidades, os cristais de MH1 são feitos em um processo de cristalização. Em algumas modalidades, os cristais de MH2 são feitos em um processo de cristalização.

[0058] Os cristais do Composto **1** podem ser preparados dissolvendo-se o Composto **1** em um solvente para obter uma solução saturada do Composto **1** e, então, resfriando-se a solução saturada para precipitar os cristais.

[0059] Os cristais de forma de monohidrato MH1 ou MH2 podem ser preparados precipitando-se os cristais a partir de uma solução que compreende o Composto **1** e um solvente. O solvente é selecionado a partir do grupo que consiste em etanol; tetra-hidrofurano; água; diclorometano; acetonitrila; nitrometano; 1,2-dimetoxietano; metiletil cetona; 1,4-dioxano; 2-propanol; acetona; cumeno; N,N-dimetilformamida; sulfóxido de dimetila; acetato de n-propila; acetato de isopropila; anisol; metilisobutil cetona; 2-metil tetra-hidrofurano; e combinações dos mesmos. Por exemplo, o Composto **1** pode ser suspenso em um solvente, por exemplo, acetato de n-propila, para obter uma suspensão, filtrando a suspensão para obter uma solução (isto é, licor-mãe) e, então, resfriando a solução (isto é, licor-mãe) para precipitar os cristais.

[0060] Em algumas modalidades, os cristais de MH1 ou MH2 podem ser preparados pelas etapas que compreendem:

(i) suspender o Composto **1** em um primeiro solvente à temperatura ambiente (TA) para formar uma suspensão;

(ii) aquecer a suspensão obtida na etapa (i) a uma temperatura acima da TA, (por exemplo, de cerca de 40 °C a cerca de 60 °C);

(iii) adicionar um segundo solvente à suspensão obtida na etapa (ii) para formar uma mistura e aquecer a mistura a uma temperatura acima da TA, (por exemplo, de cerca de 40 °C a cerca de 60 °C);

(iv) filtrar opcionalmente a mistura obtida na etapa (iii) para obter uma solução (isto é, licores-mãe); e

(v) resfriar a mistura obtida na etapa (iii) ou a solução obtida na etapa (iv) a uma temperatura abaixo de TA, (por exemplo, cerca de 4 °C), para precipitar cristais de MH1 ou MH2;

em que o primeiro e segundo solventes são, cada um, independentemente selecionados a partir do grupo que consiste em n-heptano; etanol; tetra-hidrofurano; água; diclorometano; acetonitrila; nitrometano; 1,2-dimetoxietano; metiletil cetona; 1,4-dioxano; 2-propanol; acetona; cumeno; N,N-dimetilformamida; sulfóxido de dimetila; acetato de n-propila; acetato de isopropila; anisol; metilisobutil cetona; 2-metil tetra-hidrofurano; e combinações dos mesmos.

[0061] Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo solventes são, cada um, independentemente selecionados a partir de metiletil cetona; 1,4-dioxano; 2-propanol; acetona; acetato de n-propila; acetato de isopropila; anisol; metilisobutil cetona; cumeno; n-heptano; 2-metil tetra-hidrofurano; e combinações dos mesmos. Em algumas

modalidades, o primeiro e o segundo solventes são, cada um, independentemente selecionados a partir de acetato de n-propila ou n-heptano.

[0062] Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo solventes são iguais. Em algumas modalidades, o primeiro e o segundo solventes são diferentes.

[0063] Em algumas modalidades de MH1, o primeiro solvente é selecionado a partir de acetato de n-propila e o segundo solvente é selecionado a partir de n-heptano.

[0064] Em algumas modalidades, o volume do primeiro solvente usado na etapa (i) é menor que o volume do segundo solvente usado na etapa (iii). Por exemplo, a razão entre o volume do primeiro solvente usado na etapa (i) e o volume do segundo solvente usado na etapa (iii) é cerca de 1:1,5, 1:2, 1:2,5, 1:3, 1:3,5, 1:4, 1:4,5 ou 1:5. Em um exemplo, a razão entre o volume do primeiro solvente usado na etapa (i) e o volume do segundo solvente usado na etapa (ii) é cerca de 1:2.

[0065] Em algumas modalidades, a temperatura acima da TA nas etapas (ii) e (iii) é de cerca de 30 °C a cerca de 100 °C. Em algumas modalidades, a temperatura acima da TA é de cerca de 40 °C a cerca de 60 °C. Em algumas modalidades, a temperatura acima da TA é cerca de 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 ou 80 °C.

[0066] Em algumas modalidades, os cristais de MH1 podem ser preparados pelas etapas que compreendem:

(i) dissolver o Composto **1** em um primeiro solvente para obter uma solução;

(ii) adicionar um segundo solvente para obter uma mistura; e

(iii) filtrar a mistura para obter o MH1 sólido cristalino.

[0067] Em algumas modalidades, o primeiro solvente é selecionado a partir de metiletil cetona; 2-propanol; cumeno; acetato de n-propila; acetato de isopropila; anisol; metilisobutil cetona; n-heptano; 2-metil tetra-hidrofurano; e combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o segundo solvente é selecionado a partir de metiletil cetona; 2-propanol; acetato de n-propila; acetato de isopropila; anisol; metilisobutil cetona; cumeno; n-heptano; 2-metil tetra-hidrofurano; e combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o primeiro solvente é 2-propanol. Em algumas modalidades, o segundo solvente é n-heptano.

[0068] Em algumas modalidades, o primeiro solvente da etapa (i) compreende adicionalmente água. . Em algumas modalidades, o primeiro solvente da etapa (i) compreende 2-propanol e água. Em algumas modalidades, o teor de água da solução obtida na etapa (i) é cerca de 1 %, 2 % ou 3 %. Em algumas modalidades, o teor de água da solução obtida na etapa (i) é cerca de 1 %. Em algumas modalidades, a razão (peso/peso) entre água e 2-propanol é cerca de 1:70.

[0069] Em algumas modalidades, a etapa (i) do processo é protegida por gás nitrogênio.

[0070] Em algumas modalidades, a etapa (i) é executada a uma temperatura de cerca de 25 °C a cerca de 40 °C. Em algumas modalidades, a etapa (i) é executada a uma temperatura de cerca de 27 °C a cerca de 35 °C.

[0071] Em algumas modalidades, os cristais de semente são adicionados após a etapa (i) para introduzir a

cristalização de MH1. Em algumas modalidades, a temperatura da mistura é ajustada de cerca de 20 °C a cerca de 30 °C, antes de os cristais de semente serem adicionados. Em algumas modalidades, a temperatura da mistura é ajustada de cerca de 22 °C a cerca de 28 °C, antes de os cristais de semente serem adicionados. O peso dos cristais de semente é de cerca de 0,05 % a cerca de 2 %, do peso do Composto 1 adicionado na etapa (i). Em algumas modalidades, o peso dos cristais de semente é cerca de 0,05, 1 % ou 2 %, do Composto 1 na etapa (i).

[0072] Em algumas modalidades, as etapas (ii) e (iii) são, cada uma, independentemente executadas a uma temperatura de cerca de 20 °C a cerca de 30 °C, como cerca de 22 °C a cerca de 28 °C. Em algumas modalidades, as etapas (ii) e (iii) são, cada uma, independentemente executadas a uma temperatura de cerca de 22 °C a cerca de 28 °C.

[0073] Em algumas modalidades, o sólido obtido na etapa (iii) é opcionalmente lavado uma ou mais vezes com um solvente selecionado a partir de metiletil cetona; 1,4-dioxano; 2-propanol; acetona; cumeno; acetato de n-propila; acetato de isopropila; anisol; metilisobutil cetona; n-heptano; e 2-metil tetra-hidrofurano; e combinações dos mesmos. Em algumas modalidades, o sólido obtido na etapa (iii) é opcionalmente lavado com n-heptano. Em algumas modalidades, o sólido obtido na etapa (iii) ou após a lavagem com n-heptano é pressionado até ficar seco. Em algumas modalidades, o sólido seco resultante é opcionalmente seco de modo subsequente sob um fluxo de gás nitrogênio. Em algumas modalidades, o sólido é

adicionalmente seco em um ambiente umidificado, opcionalmente sob um fluxo de gás nitrogênio. Diferentes soluções de sal, como uma solução saturada de cloreto de sódio, podem fornecer um ambiente umidificado com umidade relativa diferente (UR). Equipamentos comercialmente disponíveis fornecendo gás com UR e temperatura ajustáveis também podem ser usados.

[0074] Em algumas modalidades, a forma anidra (AH) do Composto 1 pode ser convertida em MH1 quando exposta ao ar normal de laboratório (contendo alguma umidificação). Em algumas modalidades, a forma anidra do Composto 1 é deixada sob condições à temperatura ambiente (por exemplo, 25 °C) por pelo menos cerca de 12 horas, cerca de 24 horas, cerca de 36 horas ou cerca de 48 horas.

[0075] Em algumas modalidades, o anidrato (AH) ou MH2 é feito em um processo de cristalização. A secagem e secagem umidificada do anidrato (AH) ou MH2 então produz os cristais de MH1.

[0076] Os cristais de forma de monidrato MH2 são preparados pelas etapas que compreendem:

- (i) tratar o Composto 1 seco ou MH1 com um primeiro sistema de solvente para obter uma suspensão;

- (ii) filtrar a suspensão para obter o sólido;

- (iii) lavar o sólido uma ou mais vezes com um segundo solvente; e

- (iv) secar ao ar o sólido para obter MH2 cristalino, em que o primeiro sistema de solvente é selecionado a partir de água, acetato de etila (EtOAc), e acetato de metila (MeOAc); e combinações dos mesmos; e em que o segundo solvente é selecionado a partir de acetona; n-

heptano; e 2-metil tetra-hidrofurano.

[0077] Em algumas modalidades, o primeiro sistema de solvente é uma mistura de água e acetato de etila (EtOAc) ou acetato de metila (MeOAc). Em algumas modalidades, o primeiro sistema de solvente selecionado a partir de 2 % (v/v) de EtOAc/água; 2,7 % (v/v) de EtOAc/água; ou 7,5 % (v/v) de MeOAc/água. Em algumas modalidades, a suspensão é mantida por cerca de 4 dias a cerca de 5 °C ou cerca de 25 °C.

[0078] Em algumas modalidades, o segundo solvente é heptano.

[0079] Em algumas modalidades, o Composto **1** ou MH1 da etapa (i) é seco em um forno a vácuo. Em algumas modalidades, o Composto **1** ou MH1 da etapa (i) é seco ao ar.

[0080] Em uma modalidade, MH2 cristalino é preparado tratando-se o Composto **1** ou MH1 com um primeiro sistema de solvente que compreende 7,5 % (v/v) de MeOAc/água a cerca de 5°C, filtrando-se o sólido e, então, secando-se ao ar o sólido.

[0081] Em uma modalidade, MH2 cristalino é preparado por:

(i) tratar o Composto **1** ou MH1 com um primeiro sistema de solvente para obter uma suspensão;

(ii) filtrar a suspensão para obter o sólido;

(iii) lavar o sólido com heptano; e

(iv) secar ao ar para remover o solvente para obter MH2;

em que o solvente é uma mistura de água e acetato de etila (EtOAc) ou acetato de metila (MeOAc), selecionado a partir de 2 % (v/v) de EtOAc/água, 2,7 % (v/v) de EtOAc/água e

7,5 % (v/v) de MeOAc/água.

IV. Métodos de Uso de Formas Polimórficas do Composto 1

[0082] PDE9 é expresso especificamente no sistema hematopoiético humano, incluindo neutrófilos, eritroide reticulócito e células eritroleucêmicas. Adicionalmente, pacientes com doença de célula falciforme (SCD) exibem uma elevação marcada e significativa de expressão de PDE9 em reticulócitos e neutrófilos em comparação a indivíduos saudáveis (Almeida *et al.*, Br J Haematol. Setembro de 2008; 142(5):836-44). Uma evidência demonstra adicionalmente uma ligação entre PDE9 e adesão de célula visto que a inibição farmacológica de PDE9 melhora as propriedades adesivas aumentadas de neutrófilos SCD (Miguel *et al.*, Inflamm Res. julho de 2011; 60(7):633-42). Mostrou-se que o mecanismo pelo qual a inibição de PDE9 diminui a adesão de célula é mediado por cGMP aumentado e expressão de molécula de adesão endotelial diminuída. De modo importante, em um modelo de animal de SCD, a diminuição mediada por inibidor de PDE9 na adesão de célula teve o efeito funcional de aumento de sobrevivência celular. Além de demonstrar a adesão de célula diminuída comparável a hidroxiureia (HU), a inibição de PDE9 resultou em aumento de produção de hemoglobina não falciforme fetal (HbF), que reduziu a concentração celular de hemoglobina anormal (HbS) em hemácias (RBCs) resultando em menos polimerização da hemoglobina anormal e suas sequelas associadas. A importância de aumento de HbF no tratamento de SCD é evidente pelos resultados de amplos estudos como o Estudo Comparativo de Doença de Célula Falciforme, bem como estudos em uma variedade de coortes de paciente fora dos

EUA, que mostram que HbF está entre os modificadores mais importantes dessa doença (Alsultan *et al.*, *Am J Hematol.*, 88(6):531-2 (2013)) bem como dados que mostram que modificadores de HbF aprimoram outros parâmetros hematológicos (Akinsheye, *Blood*, 118(1):19-27 (2011)). Finalmente, Almeida e colegas demonstraram que o tratamento com HU combinado com a inibição de PDE9 em um modelo de camundongo de SCD resulta em uma amplificação benéfica adicional dos efeitos de elevação de cGMP de HU (Almeida *et al.*, *Blood*. 4 de outubro de 2012;120(14):2879-88). Em conclusão, a inibição de PDE9 pode modular tanto a expressão de produção de hemoglobina fetal quanto a diminuição de adesão celular, ambos os mecanismos fundamentais para o tratamento de SCD.

[0083] Um aspecto da presente revelação fornece métodos para usar qualquer uma das formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e composições farmacêuticas que compreendem qualquer uma das formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2).

[0084] As formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) podem ser usadas para tratar anemia falciforme ou qualquer doença e/ou sintoma relacionados à anemia falciforme, como anemia, doença falciforme-hemoglobina C (SC), talassemia beta (talassemia beta mais e talassemia beta zero), crise vaso-oclusiva, ataques de dor (crise falciforme), crise de sequestro esplênico, síndrome torácica aguda, crise aplástica, crise hemolítica, dor de longo prazo, Infecções bacterianas e derrame.

[0085] Em uma modalidade, as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) são usadas para tratar talassemia beta de um indivíduo e/ou para aumentar os níveis de hemoglobina no indivíduo.

[0086] Em uma outra modalidade, as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) são usadas para aumentar os níveis de cGMP em uma célula ou no plasma de um indivíduo, em que o indivíduo tem anemia falciforme. A célula pode ser, porém sem limitação, glóbulos vermelhos e/ou glóbulos brancos. O nível de cGMP pode ser aumentado por pelo menos 50 %, 100 % ou 150 %. Em algumas modalidades, o nível de cGMP é aumentado pelo menos 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes, 10 vezes, 15 vezes, 20 vezes ou 25 vezes.

[0087] Em uma outra modalidade, as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) são usadas para aumentar o número de glóbulos vermelhos positivos para hemoglobina fetal (HbF) em um indivíduo, em que o indivíduo tem anemia falciforme. O número de glóbulos vermelhos positivos para HbF é aumentado por pelo menos 50 %, 100 % ou 150 %. Em algumas modalidades, o número de glóbulos vermelhos positivos para HbF é aumentado pelo menos 2 vezes, 3 vezes, 4 vezes, 5 vezes, 10 vezes, 15 vezes, 20 vezes ou 25 vezes.

[0088] Em uma outra modalidade, as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) são usadas para reduzir a porcentagem de glóbulos vermelhos falciformes (% de RBC falciformes), porcentagem de estase (% de estase), bilirrubina total ou contagem de leucócitos totais em um indivíduo, em que o indivíduo tem

anemia falciforme. A % de RBC falciforme, % de estase, bilirrubina total, contagem de leucócitos total ou peso de baço é diminuída em pelo menos 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % ou 70 %.

[0089] O nível de cGMP pode ser medido com qualquer método adequado na técnica, como imunoensaio de enzima.

[0090] As células positivas para HbF, como usado no presente documento, significam glóbulos vermelhos com HbF. As células positivas para HbF podem ser medidas a partir de uma amostra de sangue com qualquer método adequado na técnica, como eletroforese e/ou métodos calorimétricos.

[0091] Os glóbulos vermelhos falciformes, glóbulos vermelhos com anemia falciforme, como usado no presente documento, significam glóbulos vermelhos com um formato falciforme ou crescente. % de glóbulos vermelhos falciformes pode ser medida a partir de uma amostra de sangue com qualquer método adequado na técnica.

[0092] Estase ou estase microvascular, como usado no presente documento, é uma desaceleração séria ou cessação completa do fluxo de sangue ou linfa através dos vasos. A % de estase é o número de vênulas estáticas (sem fluxo) dividido pelo número de vênulas em fluxo vezes 100. A % de estase pode ser medida com qualquer método adequado na técnica.

[0093] A bilirrubina total, como usado no presente documento, significa tanto bilirrubina não conjugada quanto conjugada. Os níveis de bilirrubina total podem ser medidos a partir de uma amostra sanguínea com qualquer método adequado na técnica.

[0094] A contagem de leucócitos totais ou contagem de

glóbulos brancos totais, como usado no presente documento, é um teste de sangue que mede o número de glóbulos brancos no corpo. A mesma pode ser medida a partir de uma amostra de sangue com qualquer método adequado na técnica.

[0095] Um outro aspecto da presente revelação fornece métodos para usar as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) em combinação com pelo menos um outro agente ativo. As mesmas podem ser administradas de modo simultâneo ou sequencial. As mesmas podem estar presentes como uma mistura para administração simultânea, ou podem, cada uma, estar presentes em reservatórios separados para administração sequencial.

[0096] O termo “administração simultânea”, como usado no presente documento, não é especificamente limitado e significa que as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e o pelo menos um outro agente ativo são substancialmente administrados ao mesmo tempo, por exemplo, como uma mistura ou em sequência subsequente imediata.

[0097] O termo “administração sequencial”, como usado no presente documento, não é especificamente limitado e significa que as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e o pelo menos um outro agente ativo não são administrados ao mesmo tempo, mas um após o outro ou em grupos, com um intervalo de tempo específico entre as administrações. O intervalo de tempo pode ser igual ou diferente entre as respectivas administrações das formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e o pelo menos

um outro agente ativo pode ser selecionado, por exemplo, a partir da faixa de 2 minutos a 96 horas, 1 a 7 dias ou um, dois ou três meses. Em geral, o intervalo de tempo entre as administrações pode estar na faixa de alguns minutos a horas, como na faixa de 2 minutos a 72 horas, 30 minutos a 24 horas ou 1 a 12 horas. Os exemplos adicionais incluem intervalos de tempo na faixa de 24 a 96 horas, 12 a 36 horas, 8 a 24 horas e 6 a 12 horas.

[0098] A razão molar entre as formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e o pelo menos um outro agente ativo não é particularmente limitada. Por exemplo, quando uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e um outro agente ativo é combinada em uma composição, a razão molar entre os mesmos pode estar na faixa de 1:500 a 500:1, ou de 1:100 a 100:1, ou de 1:50 a 50:1, ou de 1:20 a 20:1, ou de 1:5 a 5:1, ou 1:1. As razões molares similares são aplicadas quando uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) e dois ou mais outros agentes ativos são combinados em uma composição. A forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) pode compreender uma porcentagem de peso molar predeterminada de cerca de 1 % a 10 % ou cerca de 10 % a cerca de 20 % ou cerca de 20 % a cerca de 30 % ou cerca de 30 % a 40 % ou cerca de 40 % a 50 % ou cerca de 50 % a 60 % ou cerca de 60 % a 70 % ou cerca de 70 % a 80 % ou cerca de 80 % a 90 % ou cerca de 90 % a 99 % da composição.

[0099] O outro agente ativo pode ser um inibidor de PDE9 diferente da presente revelação ou HU. O outro agente ativo

também pode ser um agente antibiótico, como penicilina, um fármaco anti-inflamatório não esteroideal (NSAIDS), como diclofenaco ou naproxeno, uma medicação de alívio de dor, como opioide ou ácido fólico.

[0100] Ainda um outro aspecto da presente revelação fornece métodos para usar uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) em combinação com pelo menos uma outra terapia, como, porém sem limitação, a transfusão de sangue, transplante de medula óssea ou terapia de gene.

V. Kits e Dispositivos

[0101] A revelação fornece uma variedade de kits e dispositivos para executar de modo conveniente e/ou eficaz os métodos da presente revelação. Tipicamente, os kits compreenderão quantidades e/ou números suficientes de componentes para permitir que um usuário realize múltiplos tratamentos de um indivíduo (ou indivíduos) e/ou realize múltiplos experimentos.

[0102] Em uma modalidade, a presente revelação fornece kits para tratar anemia falciforme, compreendendo uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) ou uma combinação de formas polimórficas do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 e MH2), opcionalmente em combinação com quaisquer outros agentes ativos, como HU, um agente antibiótico, como penicilina, um fármaco anti-inflamatório não esteroideal (NSAIDS), como diclofenaco ou naproxeno, uma medicação de alívio de dor, como opioide ou ácido fólico.

[0103] O kit pode compreender adicionalmente empacotamento e instruções e/ou um agente de entrega para

formar uma composição de formulação. O agente de entrega pode compreender uma solução salina, uma solução tamponada ou qualquer agente de entrega revelado no presente documento. A quantidade de cada componente pode ser variada para possibilitar formulações de solução salina de maior concentração consistente e reprodutível ou de tampão simples. Os componentes também podem ser variados a fim de aumentar a estabilidade de compostos de inibidor de PDE9 na solução tampão por um período de tempo e/ou sob uma variedade de condições.

[0104] A presente revelação fornece dispositivos que podem incorporar uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2). Esses dispositivos contêm em uma formulação estável disponível para ser imediatamente entregue a um indivíduo em necessidade da mesma, como um paciente humano com anemia falciforme ou talassemia beta.

[0105] Exemplos não limitantes dos dispositivos incluem uma bomba, um cateter, uma agulha, um adesivo transdérmico, um dispositivo de entrega olfatória pressurizado, dispositivos de iontoforese, dispositivos microfluídicos de múltiplas camadas. Os dispositivos podem ser empregados para entregar uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) de acordo com regimentos de dosagem única, múltipla ou dividida. Os dispositivos podem ser empregados para entregar uma forma polimorfa do Composto **1** (como forma cristalina de monoidrato MH1 ou MH2) através do tecido biológico, por via intradérmica, subcutânea ou intramuscular. Mais exemplos de dispositivos adequados para entregar formas polimórficas de

compostos incluem, porém sem limitação, um dispositivo médico para entrega intravesical de fármaco revelado na Publicação Internacional nº de documento WO 2014036555, uma garrafa de vidro feita do vidro de tipo I revelado na Publicação nº US 20080108697, um dispositivo de eluição de fármaco que compreende um filme feito de um polímero degradável e um agente ativo como revelado na Publicação nº US 20140308336, um dispositivo de infusão tendo uma microbomba de injeção, ou um reservatório contendo um preparação farmacologicamente adequada de um agente ativo como revelado na Patente nº US 5716988, um dispositivo implantável que compreende um reservatório e um membro canalizado em comunicação fluida com o reservatório como revelado na Publicação Internacional nº de documento WO 2015023557, um dispositivo de entrega de fármaco biocompatível à base de fibra óptica com uma ou mais camadas como revelado na Publicação nº US 20090220612, um dispositivo implantável para a entrega de fármaco incluindo um dispositivo flexível e alongado tendo um alojamento que define um reservatório que contém um fármaco em forma sólida ou semissólida como revelado na Publicação Internacional nº de documento WO 2013170069, um dispositivo de implante biorreabsorvível revelado na Patente nº US 7326421, cujos conteúdos são incorporados ao presente documento a título de referência em sua totalidade.

VI. Definições

[0106] Os artigos “um” e “uma”, como usado no presente documento, devem ser entendidos como “pelo menos um”, salvo se indicado claramente ao contrário.

[0107] A frase “e/ou”, como usada no presente documento,

deve ser entendida como “um ou outro ou ambos” dentre os elementos assim unidos, isto é, elementos que estão presentes em conjunto em alguns casos e presentes de modo disjuntivo em outros casos. Outros elementos podem, opcionalmente, ser apresentados, diferentes dos elementos identificados especificamente pela cláusula “e/ou”, independentemente de serem relacionados ou não relacionados àqueles elementos identificados especificamente, salvo claramente indicado o contrário. Desse modo, como um exemplo não limitativo, uma referência a “A e/ou B”, quando usada em conjunto com linguagem de interpretação livre, como “que compreende”, pode se referir, em uma modalidade, a A sem B (incluindo opcionalmente elementos diferentes de B); em uma outra modalidade, para B sem A (incluindo opcionalmente elementos diferentes de A); em ainda uma outra modalidade, tanto a A quanto a B (incluindo opcionalmente outros elementos).

[0108] Conforme usado no presente documento, “ou” deve ser entendido como tendo um significado de “e/ou”, conforme definido acima. Por exemplo, separando-se itens em uma lista, “ou” ou “e/ou” devem ser interpretados como sendo inclusivos, isto é, a inclusão de pelo menos um, porém, também inclui mais que um, de um número de ou lista de elementos, e, opcionalmente, itens não listados adicionais. Apenas os termos que indicam claramente o contrário, tais como “apenas um dentre” ou “exatamente um dentre”, ou, quando usados nas reivindicações, “que consiste em” se referirão à inclusão de exatamente um elemento de um número ou lista de elementos.

[0109] De modo geral, o termo “ou” conforme usado no

presente documento deve ser interpretado alternativas exclusivas (por exemplo, “um ou o outro, porém, não ambos”) quando precedido pelos termos de exclusividade, tais como “um ou outro” “um dentre”, “apenas um dentre” ou “exatamente um dentre”. “Consistindo essencialmente em”, quando usado nas reivindicações, deve ter seu significado comum conforme usado no campo das leis de patente.

[0110] Conforme usado no presente documento, a frase “pelo menos um”, em referência a uma lista de um ou mais elementos, deve ser entendida como significando pelo menos um elemento selecionado a partir de um ou mais dentre os elementos na lista de elementos, porém, não necessariamente incluindo pelo menos um de todos os elementos listados especificamente dentro da lista de elementos e não excluindo quaisquer combinações de elementos na lista de elementos. Essa definição também permite que sejam apresentados, opcionalmente, elementos diferentes daqueles elementos identificados especificamente dentro da lista dos elementos os quais a frase “pelo menos um” se refere, independentemente de serem relacionados ou não relacionados àqueles elementos identificados especificamente.

[0111] Assim, como um exemplo não limitante, “pelo menos um dentre A e B” (ou, equivalentemente, “pelo menos um dentre A ou B”, ou, equivalentemente “pelo menos um dentre A e/ou B”) pode se referir, em uma modalidade, a pelo menos um, incluindo opcionalmente mais de um, A, sem B presente (e incluindo opcionalmente elementos além de B); em uma outra modalidade, a pelo menos um, incluindo opcionalmente mais de um, B, sem A presente (e incluindo opcionalmente elementos além de A); em ainda uma outra modalidade, a pelo

menos um, incluindo opcionalmente mais de um, A, e pelo menos um, incluindo opcionalmente mais de um, B (e incluindo opcionalmente outros elementos); etc.

[0112] Como usado no presente documento, todas as frases, como “que compreende”, “que inclui”, “que carrega”, “que tem”, “que contém”, “que envolve”, “que retém” e semelhantes devem ser entendidas em sentido aberto, isto é, significando incluindo, porém, não limitando.

[0113] Apenas frases transicionais “que consiste em” e “que consiste essencialmente em” devem ser frases transicionais de sentido fechado ou semifechado, respectivamente, como estabelecido no Manual de Procedimentos de Exame de Patentes do Escritório de Patentes dos Estados Unidos.

[0114] Como usado no presente documento, um “indivíduo” ou um “paciente” se refere a qualquer mamífero (por exemplo, um ser humano), como um mamífero que pode ser suscetível a uma doença ou transtorno, por exemplo, tumorigênese ou câncer. Exemplos incluem um ser humano, um primata não humano, uma vaca, um cavalo, um porco, uma ovelha, um bode, um cachorro, um gato ou um roedor, como um camundongo, um rato, um hamster ou uma cobaia. Em várias modalidades, um indivíduo se refere a um que foi ou será o objetivo de tratamento, observação ou experimento. Por exemplo, um indivíduo pode ser um indivíduo diagnosticado com câncer ou que de outro modo sabe-se que possui câncer ou um selecionado para tratamento, observação ou experimento com base em um câncer conhecido no indivíduo.

[0115] Como usado no presente documento, “processo” e “método” podem ser usados intercambiavelmente.

[0116] Como usado no presente documento, “tratamento” ou “tratar” se refere à melhoria de uma doença ou transtorno, ou pelo menos um sinal ou sintoma dos mesmos. “Tratamento” ou “tratar” pode se referir a reduzir a progressão de uma doença ou transtorno, como determinado, por exemplo, por estabilização de pelo menos um sinal ou sintoma ou uma redução na taxa de progressão, como determinado por uma redução na taxa de progressão de pelo menos um sinal ou sintoma. Em outra modalidade, “tratamento” ou “tratar” se refere a atrasar o início de uma doença ou transtorno.

[0117] Como usado no presente documento, “prevenção” ou “prevenir” se refere a uma redução do risco de adquirir ou ter um sinal ou sintoma de uma determinada doença ou transtorno, isto é, tratamento profilático.

[0118] A frase “quantidade terapeuticamente eficaz”, como usado no presente documento, significa a quantidade de um composto, material ou composição que compreende um composto dos presentes ensinamentos que é eficaz para produzir um efeito terapêutico desejado. Consequentemente, uma quantidade terapeuticamente eficaz trata ou previne uma doença ou um transtorno, por exemplo, melhora pelo menos um sinal ou sintoma do transtorno. Em várias modalidades, a doença ou transtorno é um câncer.

[0119] Um traço (“-”) que não está entre as duas letras ou símbolos é usado para indicar um ponto de ligação para um substituinte. Por exemplo, -CONH₂ é fixado através do átomo de carbono (C).

[0120] “Opcional” ou “opcionalmente” significa que um evento descrito subsequentemente de circunstância pode ou não ocorrer e que a descrição inclui casos em que o dito

evento ou circunstância ocorre e exemplos em que não ocorre. Por exemplo, "arila opcionalmente substituída" abrange tanto "arila" quanto "arila substituída", como definido no presente documento. Deve ser entendido por aqueles elementos de conhecimento comum na técnica, com relação a qualquer grupo que contém um ou mais substituintes, que tais grupos não se destinam a introduzir qualquer substituição ou padrões de substituição que sejam estericamente impraticáveis, sinteticamente inviáveis e/ou inerentemente instáveis.

[0121] Como usado no presente documento, o termo "substancialmente" se refere à extensão ou ao grau completo ou quase completo de uma ação, característica, propriedade, estado, estrutura, item ou resultado. Por exemplo, um objeto consiste no fato de que "substancialmente o mesmo" ou "substancialmente de acordo com" um segundo objeto significaria que o objeto é completamente ou quase completamente igual ao segundo objeto. O grau exato de desvio permitido da integridade absoluta pode, em alguns casos, depender do contexto específico. No entanto, em geral, a proximidade da conclusão será de modo a ter o mesmo resultado geral como se a conclusão absoluta e total fosse obtida.

[0122] O uso de "substancialmente" é igualmente aplicável quando usado em uma conotação negativa para se referir à falta completa ou quase completa de uma ação, característica, propriedade, estado, estrutura, item ou resultado. Por exemplo, uma composição que é "substancialmente livre de" impurezas ou careceria completamente de impurezas ou então careceria quase

completamente de impurezas que o efeito seria o mesmo como se carecesse completamente de impurezas. Em outras palavras, uma composição que é "substancialmente livre de" um ingrediente ou elemento ainda pode realmente conter tal item, desde que não haja nenhum efeito mensurável do mesmo.

[0123] Salvo se especificado de outro modo, todos os números que expressam quantidades de ingredientes, condições de reação e outras propriedades ou parâmetros usados no relatório descritivo e reivindicações devem ser entendidos como modificados em todos os exemplos pelo termo "cerca de". Consequentemente, salvo se indicado de outro modo, deve-se entender que os parâmetros numéricos estabelecidos no seguinte relatório descritivo e reivindicações anexas são aproximações. No mínimo, e não como uma tentativa de limitar a aplicação da doutrina dos equivalentes ao escopo das reivindicações, os parâmetros numéricos devem ser lidos à luz do número de dígitos significativos relatados e da aplicação de técnicas comuns de arredondamento. Por exemplo, o termo "cerca de" pode abranger variações de $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,5\%$ ou $\pm 0,1\%$ do valor numérico do número, cujo termo "cerca de" modifica. Em várias modalidades, o termo "cerca de" abrange variações de $\pm 5\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$ ou $\pm 0,5\%$ do valor numérico do número. Em algumas modalidades, o termo "cerca de" abrange variações de $\pm 5\%$, $\pm 2\%$ ou $\pm 1\%$ do valor numérico do número. Em certas modalidades, o termo "cerca de" abrange variações de $\pm 5\%$ do valor numérico do número. Em certas modalidades, o termo "cerca de" abrange variações de $\pm 2\%$ do valor numérico do número. Em certas modalidades, o

termo “cerca de” abrange variações de $\pm 1\%$ do valor numérico do número.

[0124] Todas as faixas numéricas no presente documento incluem todos os valores numéricos e faixas de todos os valores numéricos na faixa citada de valores numéricos. Como exemplo não limitante, (C₁-C₆) alquilas também incluem qualquer uma dentre C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, (C₁-C₂), (C₁-C₃), (C₁-C₄), (C₁-C₅), (C₂-C₃), (C₂-C₄), (C₂-C₅), (C₂-C₆), (C₃-C₄), (C₃-C₅), (C₃-C₆), (C₄-C₅), (C₄-C₆), e (C₅-C₆) alquilas.

[0125] Ademais, embora as faixas e os parâmetros numéricos que estabelecem o escopo amplo da revelação sejam aproximações, como discutido acima, os valores numéricos estabelecidos na seção Exemplos são relatados com a maior precisão possível. Deve-se entender, no entanto, que tais valores numéricos contêm inerentemente determinados erros resultantes do equipamento de medição e/ou técnica de medição.

EXEMPLOS

[0126] Será apreciado que os seguintes exemplos se destinam a ilustrar, mas não a limitar a presente revelação. Vários outros exemplos e modificações da descrição anterior e exemplos serão evidentes para uma pessoa versada na técnica após ler a revelação sem se afastar do espírito e escopo da revelação, e pretende-se que todos tais exemplos ou modificações sejam incluídos no escopo das reivindicações anexas. Todas as publicações e patentes citadas no presente documento estão incorporadas em sua totalidade a título de referência.

Lista de abreviaturas:

¹H-RMN Ressonância Magnética Nuclear de Prótons

ATR	Refletância Total Atenuada
ca.	Aproximadamente
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetria de Varredura Diferencial
DVS	Sorção Dinâmica de Vapores
EtOAc	Acetato de etila
EtOH	Etanol
FBRM	Medição de Reflectância por Feixe Focalizado
GVS	Sorção por Vapor Gravimétrico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
HSM	Microscópio de Estágio a Quente
ID	Identificação
IPA	Propan-2-ol
IPrOAc	Acetato de Iso-Propila
KF	Karl Fischer
MeOH	Metanol
MeOAc	Acetato de metila
N/A	Não Aplicável
PLM	Microscopia de Luz Polarizada
UR	Umidade Relativa
TA	Temperatura Ambiente
SCXRD	Difração de Raios X de Cristal Único
TFA	Ácido Acético de Tri-Fluoro
TGA	Análise Gravimétrica Térmica
THF	Tetra-hidrofurano
Vol	Volume
VT-XRPD	Difração de Pó de Raios X de Temperatura Variável
XRPD	Difração de Pó de Raios X

Detalhes de Metodologia e Instrumento

Difração de Raios X de Pó (XRPD)

[0127] Os difratogramas de XRPD foram coletados em um difratômetro Bruker D8 com o uso de radiação $K\alpha$ de Cu (40 kV, 40 mA) e um goniômetro θ - 2θ equipado com um monocromador Ge. O feixe incidente passa por uma fenda de divergência de 2,0 mm seguido de uma fenda antidispersão de 0,2 mm e gume. O feixe difratado passa por uma fenda de recebimento de 8,0 mm com fendas de Soller de $2,5^\circ$ seguido pelo Detector Lynxeye. O software usado para análise e coleta de dados foi Diffrac Plus XRD Commander e Diffrac Plus EVA respectivamente.

[0128] As amostras foram executadas sob condições ambientes como espécimes de placa plana usando pó à medida que é recebido. A amostra foi preparada em um disco do tipo wafer de silício polido de fundo zero (510) pressionando-se suavemente sobre a superfície plana ou embalado em uma cavidade de corte. A amostra foi girada em seu próprio plano.

[0129] Os detalhes do método de coleta de dados Pharmorphix padrão são: Faixa angular: 2 a $42^\circ 2\theta$; Tamanho da etapa: $0,05^\circ 2\theta$; Tempo de coleta: 0,5 s/etapa (tempo de coleta total: 6,40 min).

PANalytical Empyrean

[0130] Os difratogramas de XRPD foram coletados em um difratômetro Empyrean da PANalytical com o uso de radiação $K\alpha$ de Cu (45 kV, 40 mA) em geometria de transmissão. Uma fenda de $0,5^\circ$, máscara de 4 mm e fendas Soller de 0,04 rad com um espelho com focalização foram usados no feixe incidente. Um detector PI Xcel30, colocado no feixe difratado, foi equipado com uma fenda de recebimento e fendas Soller de 0,04 rad. O software usado para íon de

coleta de dados foi Coletor de Dados X'Pert com o uso de Interface de Operador de X'Pert. Os dados foram analisados e apresentados com o uso de Diffrac Plus EVA ou HighScore Plus.

[0131] As amostras foram preparadas e analisadas em uma placa de 96 poços de Millipore ou de metal em modo de transmissão. O filme transparente de raios X foi usado entre as lâminas de metal na placa de poço de metal e os pós (aproximadamente 1 - 2 mg) foram usados à medida que foram recebidos. A placa Millipore foi usada para isolar e analisar os sólidos a partir das suspensões adicionando-se uma pequena quantidade de suspensão diretamente à placa antes da filtração sob um vácuo de luz.

[0132] O modo de varredura para a placa de metal usou o eixo geométrico de varredura de placa de metal de gônio, enquanto uma varredura de 2θ foi utilizada para a placa Millipore.

[0133] Os detalhes do método de coleta de dados de triagem padrão são: Faixa angular: $2,5$ a $32,0^\circ 2\theta$; Tamanho da etapa: $0,0130^\circ 2\theta$; Tempo de coleta: $12,75$ s/etapa (tempo de coleta total de $2,07$ min).

Condições não Ambiente

[0134] Os difratogramas de XRPD foram coletados em um difratômetro Empyrean da PANalytical com o uso de radiação $K\alpha$ de Cu (45 kV, 40 mA) em geometria de reflexão. O instrumento é equipado com um CHC plus+ da Anton Paar equipado com janelas de grafite/Kapton e equipado com resfriamento ao ar e um sistema de bomba de baixo vácuo com o uso de uma bomba Edwards RV3. Uma fenda de divergência programável (em modo automático), com uma máscara de feixe

incidente fixo de 10 mm, filtro de Ni e fendas Soller de 0,04 rad foram utilizadas no feixe incidente. Um detector PIXcel^{3D}, colocado no feixe difratado, foi equipado com uma fenda antidispersão programável (em modo automático) e fendas Soller de 0,04 rad.

[0135] O software usado para coleta de dados foi Coletor de Dados X'Pert e os dados analisados e apresentados com o uso de Diffrac Plus EVA ou Highscore Plus.

[0136] Para experimentos de temperatura variável (VT), as amostras foram preparadas e analisadas em um porta-amostras cromado Anton Paar. Uma taxa de aquecimento/resfriamento de 10 °C/min foi usada com um retentor isotérmico por 2 min antes da medição ser iniciada. Os parâmetros de medição são de acordo com o método de coleta de dados de triagem padrão (detalhado acima). As medições foram tomadas nas seguintes temperaturas: 25, 50, 75, 100, 160 e 25 °C. A amostra foi, então, reanalisada por XRPD após 1 h para verificar a reidratação completa.

[0137] Para experimentos a vácuo, as amostras foram preparadas e analisadas em um porta-amostras cromado de Anton Paar. Os parâmetros de medição são de acordo com o método de coleta de dados de triagem padrão (detalhado acima), a 25 °C sem vácuo (I2). Um vácuo de cerca de 0,005 MPa (50 mbar) foi, então, aplicado e a amostra medida a cada 5 min até que o padrão de anidrato fosse obtido por três medições consecutivas (para garantir a desidratação completa, até a amostra I8). O vácuo foi, então, liberado e a amostra analisada a cada 5 min por 6 medições (até a amostra I22). A amostra foi, então, reanalisada por XRPD

após 1 h para verificar a reidratação completa.

Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (^1H -RMN)

[0138] Espectros de ^1H RMN foram coletados em um instrumento Bruker de 400 MHz equipado com um autoamostrador e controlado por um painel de DRX400. As amostras foram preparadas no solvente DMSO-*d*₆, salvo se indicado o contrário. Os experimentos automatizados foram adquiridos com uso da configuração de ICON-RMN dentro do software Topspin, com o uso de experimentos carregados de Bruker padrão (^1H). A análise desconectada foi realizada com o uso de Processador ACD Spectrus.

Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

[0139] Os dados de DSC foram coletados em um Discovery DSC da TA Instruments equipado com um autoamostrador de 50 posições. Normalmente, 0,5-3 mg de cada amostra, em uma panela de alumínio furada, foram aquecidos a 10 °C/min de 25 °C a 300 °C. Uma purga de nitrogênio seco a 50 ml/min foi mantida sobre a amostra.

[0140] O software de controle de instrumento era TRIOS e os dados foram analisados com o uso de TRIOS ou Universal Analysis.

Análise Termogravimétrica (TGA)

[0141] Os dados de TGA foram coletados em um Discovery TGA da TA Instruments, equipado com um autoamostrador de 25 posições. Tipicamente, 5 - 10 mg de cada amostra foram carregados em uma panela DSC de alumínio pré-tarada e aquecidos a 10 °C/min a partir da temperatura ambiente a 350 °C. Uma purga de nitrogênio a 25 ml/min foi mantida sobre a amostra.

[0142] O software de controle de instrumento era TRIOS e

os dados foram analisados com o uso de TRIOS ou Universal Analysis.

Microscopia de Luz Polarizada (PLM)

[0143] As amostras foram estudadas em um microscópio de luz polarizada Nikon SMZ1500 com uma câmera de vídeo digital conectada a uma unidade de controle de Câmera DS DS-L2 para captura de imagem. A amostra foi visualizada com magnificação apropriada e luz parcialmente polarizada, acoplada a um filtro de cor falsa λ .

Microscopia de Estágio a Quente (HSM)

[0144] A Microscopia de Estágio a Quente foi executada com o uso de um microscópio de luz polarizada Leica LM/DM combinado com um Mettler-Toledo FP82HT de estágio a quente e uma câmera de vídeo digital para captura de imagem. Uma pequena quantidade de cada amostra foi colocada em uma lâmina de vidro com partículas individuais separadas bem como possível. A amostra foi visualizada com magnificação apropriada e luz parcialmente polarizada, acoplada a um filtro de cor falsa λ , enquanto é aquecida sob temperatura ambiente, tipicamente a 10 - 20 °C/min. Os dados foram coletados com o uso de StudioCapture.

Sorção por Vapor Gravimétrico (GVS)

[0145] As isotermas de sorção foram obtidas por meio de um analisador de sorção de umidade SMS DVS Intrinsic, controlado pelo software DVS Intrinsic Control. A temperatura de amostra foi mantida a 25 °C pelos controles de instrumento. A umidade foi controlada misturando-se as correntes de nitrogênio seco e úmido, com uma taxa de fluxo total de 200 ml/min. A umidade relativa foi medida por uma sonda Rotrônica calibrada (faixa dinâmica de 1,0 - 100 % de

UR), localizada próximo da amostra. A mudança de peso, (relaxamento de massa) da amostra como uma função de % de UR foi constantemente monitorada por um microbalança (precisão de $\pm 0,005$ mg).

[0146] Tipicamente, 5 - 30 mg de amostra foram colocados em uma cesta de malha tarada de aço inoxidável em condições ambientais. A amostra foi carregada e descarregada em 40 % de UR e 25 °C (condições de temperatura típica). Uma isoterma de sorção de umidificação foi realizada como indicado abaixo (2 varreduras por ciclo completo). A isoterma padrão foi realizada a 25 °C em intervalos de 10 % de UR em uma faixa de 0 - 90 % de UR. Tipicamente, um ciclo duplo (4 varreduras) foi executado. A análise de dados foi executada no Microsoft Excel com o uso de DVS Analysis Suite.

Tabela 2. Método para experimentos intrínsecos de SMS DVS.

Parâmetro	Valor
Adsorção - Varredura 1	40-90
Dessorção, Adsorção -Varredura 2	90-0, 0-40
Intervalos (% de UR)	10
Número de varreduras	4
Taxa de fluxo (ml/min)	200
Temperatura (°C)	25
Estabilidade (°C/min)	0,2
Tempo de Sorção (horas)	tempo esgotado de 6 horas
Número de ciclos	2

[0147] A amostra foi recuperada após a conclusão da isoterma e reanalisada por XRPD.

Determinação de Pureza Química por HPLC

[0148] A análise de pureza foi realizada em um sistema de Agilent série HP1100 equipado com um detector de matriz de diodo e com o uso de software ChemStation. Os detalhes de método completo são fornecidos abaixo na Tabela 3.

Tabela 3. Método de HPLC para determinação de pureza química.

Parâmetro	Valor		
Tipo de método	Fase reversa com eluição de gradiente		
Preparação de Amostra	0,5 mg/ml em acetonitrila:água 1:1		
Coluna	Supelco Ascentis Express C18, 100x4,6 mm, 2,7 µm		
Temperatura de Coluna (°C)	25		
Injeção (µl)	5		
Comprimento de onda, Largura de banda (nm)	255, 90		
Taxa de fluxo (ml/min)	2		
Fase A	0,1 % de TFA em água		
Fase B	0,085 % de TFA em acetonitrila		
Tabela de tempo	Tempo (min)	% de Fase A	% de Fase B
	0	95	5
	6	5	95
	6,2	95	5
	8	95	5

Determinação de Água por Titulação de Karl Fischer (KF)

[0149] O teor de água de cada amostra foi medido em um Processador de Amostra de Forno de Metrohm 874 a 1,50 °C

com 851 Titran Coulometer com o uso de reagente de forno de Hydranal Coulomat AG e purga de nitrogênio. As amostras de sólido pesadas foram introduzidas em um frasco de amostra vedado. Aproximadamente 10 mg de amostra foram usados por titulação e determinações de duplicata foram feitas. Uma média desses resultados é apresentada salvo se indicado o contrário. A análise e coleta de dados foram realizadas com o uso de software Tiamo.

Solubilidade Aquosa Termodinâmica

[0150] A solubilidade aquosa foi determinada suspendendo-se o composto suficiente em meios relevantes para gerar uma concentração final máxima de ≥ 200 mg/ml da presente forma livre do composto. A suspensão foi equilibrada a 25 °C, em um agitador de placa Heidolph definido a 750 rpm por 24 horas. O pH da solução saturada foi, então, medido e a suspensão filtrada através de um filtro de fibra C de vidro (retenção de partícula de 1,2 μ m) e diluído apropriadamente. A quantificação foi por HPLC com referência a uma solução padrão de aproximadamente 0,15 mg/ml em DMSO. Os diferentes volumes das soluções de amostra padrão, diluída e não diluída foram injetados.

[0151] A solubilidade foi calculada com uso das áreas de pico determinadas por integração do pico encontrado no mesmo tempo de retenção que o pico principal na injeção padrão.

Tabela 4. Método de HPLC para medições de solubilidade.

Parâmetro	Valor
Tipo de método	Fase reversa com eluição de gradiente
Coluna	Phenomenex Luna, C18 (2) 5 μ m

Parâmetro	Valor		
	50 x 4,6 mm		
Temperatura de Coluna (°C)	25		
Injeções Padrão (µl)	1, 2, 3 4, 5, 7		
Injeções de Teste (µl)	1, 2, 3, 10, 15, 20		
Detecção: Comprimento de onda, Largura de banda (nm)	260, 90		
Taxa de fluxo (ml/min)	2		
Fase A	0,1 % de TFA em água		
Fase B	0,085 % de TFA em acetonitrila		
Tabela de tempo	Tempo (min)	% de Fase A	% de Fase B
	0	95	5
	1	80	20
	2,3	5	95
	3,3	5	95
	3,5	95	5
	4,4	95	5

[0152] A análise foi realizada em um sistema de Agilent série HP1100 equipado com um detector de matriz de diodo e com o uso de software ChemStation.

Espectroscopia de Raman

[0153] Os dados foram coletados em um Renishaw inVia Qontor. Controle de instrumento, análise de dados e software de apresentação foi WiRE.

[0154] Método: fonte de excitação, λ_{ex} = laser de 633 nm

ou 785 nm, atenuada apropriadamente para evitar a degradação de amostra. Faixa de deslocamento Raman: 100 - 5000 cm^{-1} . Tempo de exposição: 0,02 -10 s. Acúmulos: 1 - 3. Alternativamente, faixa de deslocamento Raman: 180 - 1700 cm^{-1} . Tempo de exposição: 30 s. Acúmulos: 3.

Crystal 16

[0155] Um sistema de cristalização Crystal16 (Technobis, Países Baixos) foi usado para determinar a solubilidade e zona metaestável do material como uma função de temperatura.

[0156] As pastas fluidas de API, em diferentes concentrações totais foram preparadas adicionando-se uma quantidade conhecida de sólido a uma quantidade conhecida de solvente fresco (entre 0,5 e 1,5 ml) e agitadas a 400 rpm com o uso de uma barra magnética. A temperatura de saturação foi medida através de ciclos de aquecimento e resfriamento de -8 a 70 °C em 0,5 °C/min.

[0157] Mediante o aumento da temperatura/o sólido completamente dissolvido e a suspensão torna-se uma solução clara de modo que a transmissão de luz alcançasse seu valor máximo. Essa temperatura é atribuída como o ponto límpido/que foi assumido para coincidir com a temperatura de saturação. Desse modo, através do resfriamento da solução em uma taxa de 0,5 °C/min, a temperatura na qual as partículas se formaram em primeiro lugar foi detectada por uma diminuição na transmissão de luz. Isso é atribuído como o ponto de turvação. Os pontos foram ajustados por uma equação Van't Hoff e a diferença entre os pontos de turvação e límpidos definiu a largura de zona metaestável (MSZW) do sistema. O software de controle de instrumento

foi Sistemas de Cristalização e os dados foram analisados com o uso de Crystal Clear e Microsoft Excel.

Medição de Reflectância por Feixe Focalizado (FBRM)

[0158] A distribuição de tamanho de partícula foi coletada com o uso de uma sonda FBRM G400 pela coleta de dados a cada 10 segundos. Os dados foram processados com software iC FBRM SP1.

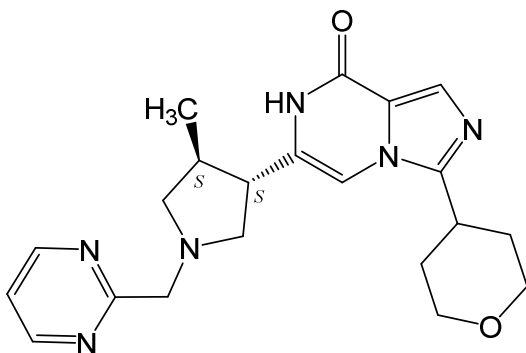
Difração de Raios X de Cristal Único (SCXRD)

[0159] Os dados foram coletados em um difratômetro Rigaku Oxford Diffraction Supernova Dual Source, Cu a Zero, Atlas CCD equipado com um dispositivo de resfriamento Oxford Cryosystems Cobra. Os dados foram coletados com o uso de radiação $K\alpha$ de Cu ou radiação $K\alpha$ de Mo como indicado nas tabelas experimentais. As estruturas foram solucionadas e refinadas com o uso de Bruker AXS SHELXTL ou o software cristalográfico OLEX2. Os detalhes totais podem ser encontrados em CIF. Salvo se indicado o contrário, os átomos de hidrogênio fixados ao carbono foram colocados geometricamente e permitiu-se o refino com um parâmetro de deslocamento isotrópico deslizante. Os átomos de hidrogênio ligados a um heteroátomo estavam localizados em uma diferente síntese de Fourier e permitiu-se o refino livremente com um parâmetro de deslocamento isotrópico. Um difratograma de referência para a estrutura cristalina foi gerado com o uso de Mercury.

Exemplo 1. Síntese do Composto 1.

[0160] O Composto 1 é um enantiômero de 6-[4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona revelado no documento WO 2013/053690. O Composto 1 pode ser preparado a partir de

purificação quiral-seletiva de 6-[4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona preparado de acordo com o método revelado no documento WO 2013/053690, cujos conteúdos são incorporados ao presente documento a título de referência em sua totalidade. O Composto **1** também pode ser preparado com o método revelado no documento WO 2017/005786, cujos conteúdos são incorporados ao presente documento a título de referência em sua totalidade.



Exemplo 2. Determinação de Estrutura Cristalina e caracterização de MH1.

Experimentos de Crescimento de Cristal Único

[0161] A cristalização pode ser obtida diminuindo-se a temperatura de uma solução clara. A solubilidade da maioria dos materiais diminui com a temperatura e, por conseguinte, o resfriamento pode ser usado para causar a supersaturação. Os solventes usados nesse estudo foram Acetato de Isopropila; Etanol; Tetra-hidrofurano; Água; Diclorometano; Acetonitrila; Anisol; Metilisobutil Cetona; Nitrometano; 1,2-Dimetoxietano; Metiletil Cetona; 1,4-Dioxano; Acetato de n-Propila; 2-Propanol; Acetona; Cumeno; N,N-Dimetilformamida; Sulfóxido de Dimetila; Metanol; 2-Metil tetra-hidrofurano; MeCN/5 % de água; IPA/5 % de água;

EtOH/água 1:1; e THF/10 % de água.

[0162] 5,0 mg de MH1 (pó esbranquiçado) foi pesado em 24 frascos de HPLC e tratado com vários solventes (50 µl) à temperatura ambiente (TA). A amostra foi, então, colocada a 50 °C por 5 minutos. Quaisquer soluções obtidas à TA ou 50 °C foram colocadas em um refrigerador a 4 °C. Uma alíquota adicional de solvente (100 µl) foi adicionada a quaisquer suspensões e essas foram, então, colocadas a (50 °C) por 1 hora. Quaisquer suspensões restantes foram, então, filtradas por seringa e os licores-mãe colocados no refrigerador a 4 °C. Quaisquer soluções obtidas após a adição de solvente após 1 hora também foram colocadas em um refrigerador.

[0163] Os cristais adequados para análise foram apenas obtidos inicialmente no resfriamento a partir de acetato de isopropila, anisol, metilisobutila cetona, acetato de n-propila, cumeno e 2-metil THF. Um cristal de tamanho e qualidade suficientes para análise por difração de raios X de cristal único foi isolado com dimensões aproximadas de 0,40 x 0,15 x 0,08 mm obtidas pelo resfriamento do licor-mãe a partir de uma solução saturada do composto em acetato de n-propila.

[0164] A estrutura cristalina de MH1 foi determinada em 293 e 100 K. Os cristais são ortorrômbicos, grupo de espaço $P2_12_12_1$ com $R1_{\text{final}} = [I > 2\sigma(I)] = 4,25$ e $3,46$ % respectivamente e o parâmetro de Flack = $0,02(8)$ e $-0,05(7)$ em 293 K e 100 K respectivamente. A estereoquímica absoluta do composto foi determinada como (S, S). O composto foi identificado como descrito na FIG. 1. Há uma molécula do Composto **1** e uma molécula de água na unidade assimétrica,

ambos completamente ordenados. Os padrões de XRPD foram calculados a partir de estruturas cristalinas e comparados ao difratograma experimental para o material como recebido à temperatura ambiente. Uma sobreposição do difratograma experimental à temperatura ambiente (FIG. 2B) e os padrões de XRPD simulados para MH1 em 293 K e 100 K mostram que são consistentes. Quaisquer pequenas diferenças são atribuíveis às variações de rede com temperatura e orientação preferencial.

[0165] Um sumário dos dados de caracterização para MH1 está na Tabela 5.

Tabela 5. Dados de caracterização para MH1.

Técnica	Caracterização
XRPD	MH1 Cristalino (FIG. 2A)
¹ H-RMN	Consistente com a estrutura
TGA	3,8 % p/p de ambiente de perda de massa - 90 °C. 0,1 % p/p de perda no ponto de fusão. (FIG. 5)
DSC	Endoterma ampla de 40 - 100 °C (73 J/g) Início de endoterma grande 184,4 °C (68 J/g) (FIG. 5)
Pureza por HPLC	99,4 %
KF	2,7 %
GVS	Absorção máxima de 4,7 %, sem histerese, etapa grande entre 1020 % de UR
FTIR	Coletado como referência (FIG. 3; Tabela 6)

Raman	Coletado como referência (785 nm) (FIG. 4; Tabela 7)
-------	--

Tabela 6. Tabela de pico de FTIR para MH1.

cm ⁻¹	% de T	Intensidade	cm ⁻¹	% de T	Intensidade	cm ⁻¹	% de T	Intensidade	cm ⁻¹	% de T	Intensidade
668	92,3	M	996	94,0	W	1257	94,0	W	1476	93,9	W
712	93,6	W	1004	94,2	W	1265	94,0	W	1544	93,5	W
746	90,5	M	1014	93,6	W	1284	93,6	W	1562	87,8	S
782	88,7	S	1021	94,7	W	1292	94,4	W	1604	94,7	W
808	89,631	M	1046	95,0	W	1303	93,2	M	1655	82,8	VS
816	89,127	M	1055	94,1	W	1324	91,4	M	2807	94,8	W
836	94,18	W	1085	90,1	M	1333	92,4	M	2852	95,6	W
845	93,857	W	1110	92,8	M	1351	90,6	M	2870	95,9	W
870	94,546	W	1123	88,6	S	1361	90,2	M	2917	95,0	W
888	90,823	M	1136	93,8	W	1381	93,7	W	2955	94,3	W
913	95,345	W	1148	93,7	W	1390	94,2	W	2963	94,6	W
927	93,207	M	1161	92,2	M	1413	90,7	M	3078	95,2	W
943	93,438	W	1167	92,4	M	1433	90,7	M	3107	95,3	W
964	93,947	W	1199	95,0	W	1452	92,3	M	3431	96,4	W
987	90,082	M	1241	92,9	M	1465	94,6	W	3537	96,5	VW

Legenda: W-fraco, M-médio, S-forte, Vs-muito forte

Tabela 7. Tabela de pico Raman para MH1.

Centro de banda/ cm ⁻¹	Intensidade absoluta/ a.u	Centro de banda/ cm ⁻¹	Intensidade absoluta/ a.u	Centro de banda/ cm ⁻¹	Intensidade absoluta/ a.u	Centro de banda/ cm ⁻¹	Intensidade absoluta/ a.u
217,3	12597	634,2	7887	1076,4	38792	1455,0	37645
233,9	8008	642,9	16466	1090,8	6061	1477,3	120271
256,0	41662	668,3	6531	1111,0	31567	1545,1	42516
279,6	17895	712,2	10035	1123,1	13450	1571,9	11241
313,9	18410	790,6	5200	1168,5	72312	-	-
339,5	8409	816,4	47312	1199,9	8600	-	-
369,4	8047	836,4	27888	1240,0	4881	-	-
398,1	9543	847,5	6629	1269,5	13599	-	-
457,7	11219	870,6	26632	1278,5	21228	-	-
476,0	7098	887,4	6800	1293,7	12122	-	-
534,7	10630	941,0	7904	1306,7	18711	-	-
554,2	3744	997,6	53279	1327,8	16145	-	-
573,5	11517	988,7	5529	1366,0	60204	-	-
605,1	5479	1021,0	19238	1383,4	10783	-	-
623,8	5852	1037,5	5146	1434,8	23876	-	-

Exemplo 3. Determinação de Estrutura Cristalina de MH2 do Composto 1.

Experimentos de Crescimento de Cristal Único

[0166] O MH1 suprido (1,6 g) foi colocado em um forno a vácuo a 50 °C por 3 h. A amostra foi, então, tratada com 7,5 % de Água/MeOAc (10 vol, 16 ml) a 5 °C. Após 12 h a 5 °C, a suspensão foi filtrada, lavada com heptano e seca ao ar.

[0167] Os cristais adequados para análise foram obtidos após a lavagem do frasco com n-heptano durante o procedimento de filtração. Esses cristais usados para determinar a estrutura cristalina única em 100 K.

Método de Cristalização	Forma
Evaporação rápida (lavagem de heptano)	MH2

Estrutura Cristalina de MH2

[0168] Os cristais de MH2 foram obtidos por evaporação rápida ao serem lavados com heptano. Um cristal de tamanho e qualidade suficientes para análise por difração de raios X de cristal único foi isolado com dimensões aproximadas 0,65 x 0,26 x 0,18 mm. A estrutura cristalina de MH2 foi determinada em 100 K. Os cristais são ortorrômbicos, grupo de espaço $P2_12_12_1$ com R_1 final $= [I > 2 \sigma(I)] = 3,07 \%$. O composto foi identificado como descrito na FIG. 6. A unidade assimétrica contém uma molécula do Composto 1 e uma molécula de água, ambos completamente ordenados. A configuração absoluta de MH2 foi determinada com C7 e C9 na configuração (S,S), com o parâmetro Flack = -0,01(8).

[0169] Um padrão de XRPD foi calculada a partir da estrutura cristalina e comparada ao difratograma

experimental do material de MH2 à temperatura ambiente (FIG. 7). O difratograma simulado foi geralmente consistente com o material em volume. Quaisquer leves diferenças são provavelmente mais atribuíveis às variações de rede com temperatura e orientação preferencial.

Exemplo 4. Transformações entre Formas Anidras (AH) e Hidratadas (MH1 e MH2).

Investigações de Desidratação de MH1

[0170] MH1 foi inicialmente colocado em um forno a vácuo a 50 °C durante a noite. A amostra foi, então, retornada para o forno a vácuo e armazenada por 5 dias a 50 °C e, então, por 4 horas a 90 °C. Uma alíquota foi, então, removida do armazenamento a 90 °C e mantida a condições ambientes por 2 horas. Em cada intervalo de tempo, a análise por TGA foi desenvolvida.

[0171] Uma perda de peso atribuída à água foi observada em todas as amostras após a secagem. Isso é devido à amostra sem perder a água completamente a temperaturas investigadas ou sem reabsorver a água em condições ambientes. Para determinar o impacto de vácuo e aquecimento na forma cristalina, as pesquisas de XRPD adicionais foram realizadas.

XRPD de VT

[0172] MH1 foi analisado a 25, 50, 75, 100, 160 e 25 °C (10 °C/min de taxa de aquecimento e uma espera de 2 min antes da medição ser iniciada) em Empyrean. A amostra foi, então, reanalisada por XRPD após 10 e 20 min para verificar a reidratação.

[0173] Inicialmente, a amostra é MH1. À medida que a temperatura é aumentada, a amostra se converte na forma de

anidrato e a 75 °C a mesma é completamente anidra por XRPD. Mediante o resfriamento de novo a 25 °C, os picos correspondentes ao MH1 são presentes. Mediante o repouso adicional a 25 °C, esses picos se tornam mais intensos visto que aqueles que correspondem ao anidrato se tornam menos intensos. Isso indica que sob condições ambientes, o anidrato se converte prontamente em MH1. TGA após VT XRPD gera 3,2 % de perda de massa, confirmando a reabsorção de água.

XRPD Sob Vácuo

[0174] MH1 foi analisado a 25 °C sem vácuo. Um vácuo de cerca de 0,005 MPa (50 mbar) foi, então, aplicado e a amostra medida a cada 5 min até que o padrão de anidrato fosse obtido por três medições consecutivas (para garantir a desidratação completa). O vácuo foi, então, liberado e a amostra analisada a cada 5 min por 6 medições antes da parte frontal do estágio de amostra ser removida.

[0175] Inicialmente, a amostra é MH1, à medida que a amostra é armazenada sob vácuo, a amostra se converte na forma de anidrato (após 10 min a mesma é completamente anidra por XRPD). Mediante a liberação a vácuo, nenhuma alteração é inicialmente vista por 30 min. A parte frontal do estágio de amostra é, então, tirada para permitir que o ar ambiente penetre o estágio de amostra. Os picos que correspondem ao MH1 aparecem imediatamente e a amostra é completamente hidratada por XRPD após 15 min. Isso indica que sob condições ambientes, o anidrato se converte prontamente em MH1. TGA após XRPD a vácuo gera 3,4 % de perda de massa.

[0176] Os resultados das pesquisas de secagem confirmam

que embora seja possível obter a forma anidra, esse material se converte rapidamente no monohidrato, MH1. Os estudos de compressão em MH1 mostraram nenhuma conversão em anidrato por XRPD.

Experimentos de Atividade de Água para MH1

[0177] MH1 (30,0 mg) foi pesado em frascos de HPLC e colocado em um forno a vácuo para secar ao longo do final de semana. Todas as amostras foram, então, colocadas em um dissecador antes do uso para garantir a secura. O solvente (300 µl) foi adicionado e pastas fluidas agitadas a 25 °C ou 5 °C. MH1 adicional foi adicionado a quaisquer soluções formadas para retornar para uma pasta fluida. Tanto o acetato de etila quanto o acetato de metila foram secos antes do uso. Após quatro dias, as amostras foram analisadas por XRPD com exposição mínima a condições ambientes.

[0178] As amostras selecionadas foram também caracterizadas após o repouso à temperatura ambiente por 2 dias por XRPD, 1H RMN, TGA e DSC.

[0179] Os resultados obtidos a partir dos experimentos de atividade de água mostraram na atividade de água de $a_w \leq 0,4$ que o monohidrato MH1 foi obtido. Em $a_w = 0,5$ e $0,6$ a 25 °C, o monohidrato MH1 foi também obtido. No entanto, uma nova forma foi observada a 5 °C. Essa forma foi, então, observada tanto a 5 °C quanto a 25 °C em $a_w = 0,7-0,9$. A reanálise de amostras selecionadas dessa forma após dois dias a condições ambientes confirmou que as mesmas permaneceram da mesma forma. A nova forma é também uma forma de monohidrato e foi identificada como MH2.

Tabela 8. Resultados de Experimentos de Atividade de Água.

Solvente	Atividade de água	Resultados para 5 °C	Resultados para 25 °C
EtOAc	Peneiras	MH1	MH1
0,5 % de água/EtOAc	Aw = 0,3	MH1	MH1
0,8 % de água/MeOAc	Aw = 0,4	MH1	MH1
1 % de água/EtOAc	Aw = 0,5	Nova Forma	MH1
1,5 % de água/EtOAc	Aw = 0,6	Nova Forma	MH1
2 % de água/EtOAc	Aw = 0,7	Nova Forma	Nova Forma
2,7 % de água/EtOAc	Aw = 0,8	Nova Forma	Nova Forma
7,5 % de água/MeOAc	Aw = 0,9	Nova Forma	Nova Forma

Ampliação de MH2

[0180] MH1 (1,6 g) foi colocado em um forno a vácuo a 50 °C por 3 h. A amostra foi, então, tratada com 7,5 % de Água/MeOAc (10 Vol, 16 ml) a 5 °C. Após 12 h a 5 °C, uma alíquota da amostra foi analisada por XRPD. A suspensão foi, então, filtrada, lavada com heptano, seca ao ar e analisada por XRPD e as técnicas apropriadas. A lavagem do frasco com heptano fez com que cristais se formassem na parede do frasco os quais foram analisados por SCXRD. Um sumário dos resultados de caracterização é mostrado na Tabela 9.

[0181] Resultados e discussão: Tentativas para preparar MH2 foram bem-sucedidas. A sobreposição de XRPD da ampliação de MH2 é mostrada na FIG. 8. Os dados de TGA revelaram uma perda de massa de 4,4 % entre 25 e 100 °C correspondendo a 1 equivalente (eq) de água, indicando que a amostra é um monohidrato. Isso foi confirmado pela medição de KF com 4,5 % de água detectada na amostra. A perda de água também foi notada nos dados de DSC com uma ampla

endoterma a 59,1 °C seguido de uma endoterma indicativo de fusão a 184,7 °C. Essa endoterma corresponde à fusão de AH e está muito próxima do valor com o ponto de fusão obtido ao iniciar a partir de MH1 (185,6 °C). O espectro de ^1H -RMN é consistente com a estrutura bem como o espectro de referência de MH1. Os dados de GVS mostraram uma carência na absorção no primeiro ciclo de sorção de 40 a 90 % de UR. Isso foi seguido por 4,8 % de perda de peso no ciclo de dessorção. Uma absorção de 4,5 % foi observada no segundo ciclo de sorção. Isso sugeriu que MH2 transformado em AH durante o ciclo de dessorção seguido da conversão para um monoidrato durante o ciclo de sorção. O íon por transformada foi confirmado pela análise de XRPD pós-GVS, que indicou que o mesmo tinha reidratado como MH1. Os espectros de Raman de MH1 e MH2 contêm características similares com as principais diferentes em 1350 e 1650 cm^{-1} . Isso é esperado, visto que quaisquer diferenças em espectros de Raman entre polimorfos são frequentemente menores. A estereoquímica de MH2 foi determinada por SCXRD como *S,S*-enantiômero (mesmo como MH1). PLM mostra que a morfologia da amostra consiste em placas cristalinas misturadas com formatos irregulares. A solubilidade termodinâmica na água de MH2 a 25 °C é 36,5 mg/ml

Tabela 9. Dados de caracterização para MH2.

XRPD	Forma cristalina - Corresponde à Forma de Monoidrato 2 (MH2)
Pureza por HPLC	99,3 %
^1H -RMN	Consistente com espectro de referência

DSC	Endoterma ampla a 59,1 °C seguido de endoterma acentuada correspondente ao ponto de fusão a 184,7 °C
TGA	4,4 % p/p entre 25-100 °C
KF	4,5 % de água detectada
GVS	Primeiro ciclo de sorção de 40 a 90 % de UR, nenhuma absorção. Seguido de 4,8 % de perda de peso no ciclo de dessorção. Segundo ciclo de sorção, absorção de 4,5 %.
XRPD pós-GVS	Cristalino - Corresponde a MH1
PLM	Placas cristalinas e formatos irregulares
Solubilidade Termodinâmica em água	36,5 mg/ml (25 °C)
Raman	Espectro similar entre MH1 e MH2 com diferenças principais observadas em 1350 e 1650 cm ⁻¹
SCXRD	Monohidrato S,S-enantiômero (diferente de MH1)

Análise Adicional de MH1 e MH2

Exemplo 5. Pesquisa de XRPD de MH2.

[0182] Procedimento: Um segundo lote de material de MH2 foi preparado com uso do mesmo procedimento. Essa amostra foi, então, analisada por VTXPDP e por XRPD sob vácuo.

[0183] Resultados e discussão: MH2 se converte em AH (anidrato) mediante aquecimento. Uma mistura de MH2 e AH foi formada a 50 °C seguido de uma conversão completa em AH

a 75 °C. Após o resfriamento de volta para 25 °C, AH foi completamente transformado em MH1. A formação de MH1 foi confirmada por XRPD após 1 h de armazenamento a condições ambientes.

[0184] A amostra de MH2 desidratou em AH após 5 minutos sob exposição a vácuo. Após 15 minutos, o vácuo foi liberado. OS dados de XRPD foram coletados por 55 minutos e o padrão final coletado foi uma mistura de AH e MH1. A amostra foi reanalisada após 1 h e uma reidratação completa em MH1 foi observada.

Exemplo 6. Pesquisa de Secagem dos Dois Hidratos (MH1 e MH2).

[0185] Procedimento: MH1 e MH2 foram colocados em um forno a vácuo a 50 °C e TA por 24 h. As amostras foram, então, analisadas por TGA e XRPD imediatamente após a remoção e após 4 horas de repouso sob condições ambientes.

[0186] Resultados e discussão: As amostras foram analisadas por XRPD e TGA imediatamente após terem sido removida do forno (T=0) e, então, remeidas após 4 h (T=4 h). No T=0, tanto MH1 quanto MH2 (secos à TA e 50 °C) convertidos em uma mistura de MH1 e AH por XRPD. Uma pequena quantidade de perda de água foi registrada por TGA para ambas as amostras. Isso indica que ambos os hidratos foram convertidos em AH durante secagem em forno a vácuo. Após 4 h a condições ambientes, os dados de XRPD mostraram uma conversão completa de ambas as amostras em MH1. No entanto, os dados de TGA indicaram que a reidratação não é completamente completa com apenas ~1,8-2,7 % de água perdida. Com base nesses resultados, parece que MH2 se converte em AH durante a secagem, seguido de uma conversão

em MH1 em armazenamento à temperatura ambiente.

Tabela 10. Pesquisa de secagem de MH1 e MH2.

Composto	MH 1	MH2
XRPD (T=0, TA)	Corresponde a MH1 e AH	Corresponde a MH1 e AH
TGA (T=0, TA)	0,3 % p/p perdido entre 25 e 100 °C	0,2 % p/p perdido entre 25 e 100 °C
XRPD (T=0, 50 °C)	Corresponde a MH1 e AH	Corresponde a MH1 e AH
TGA (T=0, 50 °C)	0,3 % p/p perdido entre 25 e 100 °C	0,6 % p/p perdido entre 25 e 100 °C
XRPD (T=4 h, TA)	Corresponde a MH1	Corresponde a MH1
TGA (T=4 h, TA)	1,8 % p/p perdido entre 25 e 100 °C	1,9 % p/p perdido entre 25 e 100 °C
XRPD (T=4 h, 50 °C)	Corresponde a MH1	Corresponde a MH1
TGA (T=4 h, 50 °C)	2,7 % p/p perdido entre 25 e 100 °C	1,9 % p/p perdido entre 25 e 100 °C

Exemplo 7. Estudos de Estabilidade com Pastas Fluidas Competitivas dos Dois Hidratos (MH1 e MH2).

[0187] Procedimento: As soluções saturadas do MH1 suprido (J08343) foram preparadas em diferentes solventes/sistemas (1 ml). As soluções saturadas foram, então, filtradas e usadas para experimentos de pasta fluida competitiva.

[0188] MH1 e MH2 (ca. 15 mg cada um) foram fisicamente misturados antes de serem tratados com as soluções saturadas filtradas (300 µl). As amostras foram agitadas a 25 °C por 24 h, então, filtrada, secas ao ar e analisadas

por XRPD.

[0189] Os mesmos solventes foram usados como amostras em experimentos de atividade de água com misturas de IPA/heptano adicionais visto que isso é o presente solvente de cristalização. Esse procedimento foi também seguido para IPA/heptano a 5 e 50 °C (3 dias de formação de pasta fluida).

[0190] *Resultados e Discussão:* MH2 foi predominantemente obtido durante pastas fluidas competitivas a 25 °C (Tabela 11). Os solventes que produziram MH2 tinham uma faixa de diferentes valores para atividade de água. As misturas de MH1 e MH2 foram obtidas mesmo que a água estivesse ausente dos sistemas de solventes (isto é, nenhuma conversão para AH foi observada). MH2 é preferencial em IPA e uma mistura de IPA com heptano a 5 °C. No entanto, as misturas de MH1 e MH2 ou MH1 puro foram produzidas quando uma temperatura maior foi empregada (50 °C) (Tabela 12).

[0191] Portanto, as pastas fluidas competitivas indicam que MH2 é preferencial a uma temperatura de isolamento menor bem como em uma atividade de água maior. Enquanto isso, MH1 é preferencial a uma temperatura de isolamento maior e uma menor atividade de água.

[0192] Experimentos adicionais foram designados para aumentar a diversidade de solventes/sistemas estudados enquanto ainda investigam o efeito de atividade de água na forma obtida. Isso teve relação com uma visualização para definir uma lista de solventes para a Fase 3 (Seleção de Solvente). As soluções saturadas adicionais foram preparadas como descrito na seção de procedimento com o uso de MH1 como suprido.

[0193] Algumas amostras se dissolveram durante as pastas fluidas competitivas, provavelmente devido à saturação completa não ter ocorrido. MH2 é novamente favorecido à temperatura inferior com uma alta atividade de água (Tabela 13). Uma mistura de MH1 e MH2 foi obtida a partir de: heptano a 5 °C, IPA ou uma mistura de IPA: heptano a 50 °C. IPrOAc: 0,5 % de mistura de água ($a_w = 0,35$) favoreceu a formação de MH1 a 50 °C, mas MH2 a 5 °C. MH1 puro foi também obtido quando o solvente de THF foi usado a 50 °C.

[0194] Embora MH2 fosse preferencial à baixa temperatura e alto a_w , MH1 foi selecionado para desenvolvimento adicional visto que MH2 se converte em MH1 (através de AH) e o mesmo pode ser obtido com o uso de maiores temperaturas e menores atividades de água.

Tabela 11. Pasta fluida competitiva dos dois hidratos à TA (MH1 e MH2).

ID de amostra	Solvente	Atividade de água	Observações após adição de solvente	Observação após 24 h a 25 °C	XRPD
32-01	EtOAc	-	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
32-02	0,5 % de água/EtOAc	$a_w = 0,3$	Suspensão	Suspensão	MH2
32-03	0,8 % de água/MeOAc	$a_w = 0,4$	Suspensão	Suspensão	MH2
32-04	1 % de água/EtOAc	$a_w = 0,5$	Suspensão	Suspensão	MH2
32-05	1,5 % de água/EtOAc	$a_w = 0,6$	Suspensão	Suspensão	MH2
32-06	2 % de água/EtOAc	$a_w = 0,7$	Suspensão	Suspensão	MH2
32-07	2,7 % de água/EtOAc	$a_w = 0,8$	Suspensão	Suspensão	MH2
32-08	7,5 % de água/MeOAc	$a_w = 0,9$	Suspensão	Suspensão	MH2

ID de amostra	Solvente	Atividade de água	Observações após adição de solvente	Observação após 24 h a 25 °C	XRPD
32-09	IPA	-	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
34-02	IPA:Heptano 1:3	-	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
34-03	IPA:Heptano 1:2	-	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2

Tabela 12. Pasta fluida competitiva dos dois hidratos a 5 e 50 °C (MH1 e MH2).

ID de amostra	Solvente	Temperatura (°C)	Observações após adição de solvente	Observações após 24 h	XRPD
34-04	IPA:Heptano 1:3	5	Suspensão	Suspensão	MH2
34-05	IPA:Heptano 1:2	5	Suspensão	Suspensão	MH2
34-08	IPA	5	Suspensão	Suspensão	MH2
34-06	IPA:Heptano 1:3	50	Suspensão	Suspensão	MH1
34-07	IPA:Heptano 1:2	50	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
34-09	IPA	50	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2

Tabela 13. Pasta fluida competitiva adicional dos dois hidratos a 5 e 50 °C (MH1 e MH2).

ID de amostra	Solvente	Atividade de água	Temp. (°C)	Observações após adição de solvente	Observações após 3 dias 24 h	XRPD
35-01	Água	$a_w = 1$	5	Suspensão	Solução	-
35-02	THF:10 % de água	$a_w = 0,9$	5	Suspensão	Solução	-
35-03	IPA:10 % de água	$a_w = 0,75$	5	Suspensão	Solução	-
35-04	Etanol:7 % de água	$a_w = 0,5$	5	Suspensão	Solução	-

ID de amostra	Solvente	Atividade de água	Temp. (°C)	Observações após adição de solvente	Observações após 3 dias 24 h	XRPD
35-05	IPrOAc:0,5 % de água	$a_w = 0,35$	5	Suspensão	Suspensão	MH2
35-06	MeOH:5 % de água	$a_w = 0,2$	5	Suspensão	Solução	-
35-07	IPA	-	5	Suspensão	Solução	-
35-08	IPA:Heptano (1:2)	-	5	Suspensão	Suspensão	MH2
35-09	THF	-	5	Suspensão	Suspensão	-
35-10	Heptano	-	5	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
35-11	Água	$a_w = 1$	50	Suspensão	Suspensão	MH2
35-12	THF:10 % de água	$a_w = 0,9$	50	Suspensão	Solução	-
35-13	IPA:10 % de água	$a_w = 0,75$	50	Suspensão	Suspensão	MH2
35-14	Etanol:7 % de água	$a_w = 0,5$	50	Suspensão	Solução	-
35-15	IPrOAc:0,5 % de água	$a_w = 0,35$	50	Suspensão	Suspensão	MH1
35-16	MeOH:5 % de água	$a_w = 0,2$	50	Suspensão	Solução	-
35-17	IPA	-	50	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
35-18	IPA:Heptano (1:2)	-	50	Suspensão	Suspensão	MH1+MH2
35-19	THF	-	50	Suspensão	Suspensão	MH1
35-20	Heptano	-	50	Suspensão	Solução	-

Comparação de Estrutura de MH1 e MH2

[0195] A célula unitária e as unidades assimétricas de MH1 e MH2 foram comparadas (Tabela 14, medidas em 100 K). As duas estruturas hidratadas têm o mesmo grupo de espaço e têm células unitárias de tamanho similar. No entanto, as unidades assimétricas se diferem de modo significativo.

[0196] Em MH1, a água e o API (Composto 1) na unidade assimétrica participam de uma ligação de hidrogênio

intermolecular O-H---O. Além disso, há uma ligação de hidrogênio intramolecular, bifurcada e assimétrica entre o átomo de nitrogênio do anel imidazopirazina e os átomos de nitrogênio dos anéis pirimidina e pirrolidina.

[0197] Em MH2, a molécula de água está localizada entre os anéis de imidazopirazina e pirimidina, por conseguinte, a ligação de hidrogênio intramolecular presente em MH1 é substituída pela interação intermolecular entre a água e o API.

Tabela 14. Comparação de estrutura cristalina única de MH1 e MH2.

MH1	MH2
Sistema de cristal ortorrômbicos	Sistema de cristal ortorrômbicos
Grupo de espaço $P2_12_12_1$	Grupo de espaço $P2_12_12_1$
Dimensões de célula unitária	Dimensões de célula unitária
$a = 8,97778(18) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$	$a = 9,20995(16) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$
$b = 10,84333(16) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$	$b = 11,01308(16) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$
$c = 21,2411(4) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$	$c = 20,7812(3) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$
Volume = $2067,80(6) \text{ \AA}^3$	Volume = $2107,84(6) \text{ \AA}^3$
Fator R = 3,46 %	Fator R = 3,07 %
$Z' = 4$	$Z' = 4$

[0198] Resultados e discussão: Os experimentos realizados nesse estudo mostraram que MH1 é a forma mais estável em condições ambientes. As misturas de solvente com água (atividades com alto teor de água) e à temperatura menor (5°C) produziram MH2 e, por conseguinte, devem ser evitadas. Embora MH1 fosse apenas produzido no final do processo de cristalização, cuidados devem ser tomados para

evitar a formação de AH ou MH2.

Exemplo 8. Avaliação de Solubilidade de MH1.

[0199] Procedimento: Quatro solventes foram escolhidos com base nos experimentos de pasta fluida competitiva que favoreceram MH1 bem como para diversidade. As combinações desses solventes com água ($a_w = 0,35$) foram também utilizadas para verificar qual hidrato é favorecido. As misturas dos solventes com heptano (1:1) foram usadas para verificar a forma cristalina com um antissolvente satisfatório.

[0200] MH1 (22 x 104 mg) foi suspenso em vários solventes (11 x 0,5 ml) e agitado a 5 ou 50 °C por 24 horas a 750 rpm. Os sólidos foram isolados por filtração e centrifugação e os licores foram analisadas por HPLC para determinar sua solubilidade (em relação a uma constituição padrão). Os sólidos foram também investigados por XRPD. Esse procedimento foi também seguido por mais cinco sistemas de solvente que compreendem diferentes razões de THF:heptano e IPA:heptano a 5 ou 50 °C. Os sólidos isolados foram investigados por XRPD, HPLC e $^1\text{HRMN}$.

[0201] Resultados e discussão: As amostras que formaram soluções limpas são consideradas por ter solubilidade > 200 mg/ml (Tabela 15). Esse foi o caso em seis das amostras a 50 °C como: THF, etanol, IPA, bem como vários solventes combinados com água ou heptano. A 5 °C, solubilidade > 200 mg/ml foi alcançada em etanol e a mistura de etanol com água. Uma grande solubilidade também foi medida com o uso de etanol:heptano (1:1) (170 mg/ml) a 5 °C.

[0202] As amostras produziram uma variação de MH1 e MH2, bem como uma mistura de MH1 com AH tanto a 5 °C quanto a

50 °C. Visto que IPA e THF geraram alta solubilidade a 50 °C (>200 mg/ml) e THF:heptano (1:1) gerou MH1 a ambas temperaturas, as avaliações de solubilidade adicionais foram executadas com o uso de misturas de IPA:heptano (1:1, 1:2, 1:3) e THF:heptano (2:1, 1:2) (Tabela 16).

[0203] Com base nas observações de solubilidade, decidiu-se prosseguir com o sistema de IPA/Heptano (1:3) para a cristalização antissolvente, visto que gera uma baixa solubilidade a 5 °C e nenhum MH2 foi observado. Esse solvente/sistema foi selecionado para experimentos de solubilidade e MSZW, para explorar a dependência de temperatura em relação à solubilidade de MH1.

Tabela 15. Avaliação de solubilidade de MH1.

ID de amostra	Temperatura de Análise (°C)	Meio	Peso (mg)	Aparência	Solubilidade (mg/ml)	XRPD
40-01	5	THF	104,46	Suspensão	79	MH2 + Novos picos
40-02		THF:0,8 % de água	104,02	Suspensão	76	MH2
40-03		THF:Heptano 1:1	103,93	Suspensão	6,3	MH1
40-04		IPrOAc	103,90	Suspensão	11	MH1
40-05		IPrOAc:0,5 % de água	103,89	Suspensão	3,8	MH2
40-06		IPrOAc:Heptano 1:1	103,86	Suspensão	1,9	MH1
40-07		Etanol	103,73	Solução Clara	>200	-
40-08		Etanol:4,2 % de água	103,93	Solução Clara	>200	-
40-09		Etanol:Heptano 1:1	103,75	Suspensão	170	MH1+AH
40-10		IPA	103,89	Suspensão	130	MH1+AH
40-11		Heptano	103,80	Suspensão	N/um*	MH1
40-12	50	THF	103,88	Solução Clara	>200	-
40-13		THF:0,8 % de água	103,85	Solução Clara	>200	-

ID de amostra	Temperatura de Análise (°C)	Meio	Peso (mg)	Aparência	Solubilidade (mg/ml)	XRPD
40-14		THF:Heptano 1:1	106,30	Suspensão & Sólido no fundo	11	MH1
40-15		IPrOAc	103,84	Suspensão & Sólido no fundo	6,3	MH1+AH
40-16		IPrOAc:0,5 % de água	103,82	Suspensão & Sólido no fundo	5,6	MH1
40-17		IPrOAc:Heptano 1:1	103,91	Suspensão & Sólido no fundo	2,1	MH1
40-18		Etanol	103,91	Solução Clara	>200	-
40-19		Etanol:4,2 % de água	103,76	Solução Clara	>200	-
40-20		Etanol:Heptano 1:1	103,75	Solução Clara	>200	-
40-21		IPA	103,85	Solução Clara	>200	-
40-22		Heptano	103,94	Suspensão & Sólido no fundo	N/A	MH1+AH

Tabela 16. Avaliação de solubilidade adicional para MH1.

ID de amostra	Temp. de Análise (°C)	Meio	Peso (mg)	Aparência	Solubilidade (mg/ml)	XRPD	PLM
44-01	5	THF: Heptano 2:1	103,94	Suspensão & Sólido no fundo	17	MH2 (MH1 pequeno)	Cristais pequenos, alguns aglomerados
44-02		THF: Heptano 1:2	104,01	Suspensão & Sólido no fundo/lados	0,33	MH1	Cristais pequenos, alguns aglomerados
44-03		IPA: Heptano 1:1	104,16	Suspensão & Sólido no fundo	40	MH1	Cristais pequenos, alguns aglomerados
44-04		IPA: Heptano 1:3	104,12	Suspensão & Sólido no fundo	8	MH1	Cristais pequenos, alguns aglomerados
44-05		IPA: Heptano 1:2	104,02	Suspensão & Sólido no fundo/lados	14	MH1	Cristais pequenos, alguns aglomerados
44-06	50	THF: Heptano 2:1	103,93	Suspensão & Sólido no fundo/lados	21	MH1	Cristais grandes

ID de amostra	Temp. de Análise (°C)	Meio	Peso (mg)	Aparência	Solubilidade (mg/ml)	XRPD	PLM
44-07		THF: Heptano 1:2	104,01	Suspensão & Sólido no fundo/lados	0,62	MH1	Cristais pequenos
44-08		IPA: Heptano 1:1	104,04	Solução Amarelo Claro	>200	-	-
44-09		IPA: Heptano 1:3	103,95	Suspensão & Sólido nos lados	10	MH1	Cristais pequenos, alguns aglomerados
44-10		IPA: Heptano 1:2	103,99	Suspensão & Sólido no fundo/lados	19	MH1	Cristais pequenos, alguns aglomerados

Exemplo 9. Estudos de Solubilidade em MH1 e MH2.

[0204] Procedimento: experimentos de solubilidade de perfilagem de pH foram realizados em MH1 e MH2. A solubilidade foi determinada isoladamente por meio da suspensão de composto suficiente em meio relevante (1,00 ml) para gerar uma concentração final máxima como mostrado na Tabela 17.

Tabela 17. Concentrações de Amostra Final Máxima.

Amostra	pH	Concentração Máx. (mg/ml)
A	1,2	1100
B	4,0	140
C	6,5	20
D	7,5	20

[0205] As suspensões foram equilibradas a 25 °C, em um agitador de placa Heidolph definido a 750 rpm por 24 horas. As amostras tiveram pH ajustado como necessário com o uso de HCl a 0,5 M/1M e NaOH a 0,2 M em 0,1 da unidade de pH desejada (onde possível). Os pHs das soluções saturadas foram medidos (onde aplicável) e uma aparência foi registrada. As suspensões foram filtradas através de um

filtro de fibra C de vidro (retenção de partícula 1,2 µm) e diluídas apropriadamente. A quantificação foi por HPLC com referência a uma solução padrão de aproximadamente 0,15 mg/ml em DMSO. Os diferentes volumes das soluções de amostra padrão, diluída e não diluída foram injetados. A solubilidade foi calculada com uso das áreas de pico determinadas por integração do pico encontrado no mesmo tempo de retenção que o pico principal na injeção padrão.

[0206] Resultados e discussão: Mediante a adição de meios a MH1-A e MH2-A, uma pasta espessa foi observada indicando que os meios foram absorvidos, portanto, os meios adicionais foram adicionados ao frasco de amostra e uma suspensão foi observada.

[0207] Após ca. 1 hora MH1-B, C e D e MH2-C e D eram soluções claras, portanto, o material adicional foi adicionado aos frascos de amostra.

[0208] Durante o primeiro ajuste de pH de MH1-A, pouco deslocamento em pH foi observado ao usar HCl a 0,5 M, decidiu-se, então, que HCl a 1 M fosse usado como a solução de ajuste. A capacidade de volume do frasco foi alcançada com o pH da amostra que foi 5,02. O volume no frasco foi também alcançado para MH1-A com um pH medido de 6,63.

Tabela 18. Resultados dos experimentos de solubilidade.

ID de amostra	Peso (mg)	Meio	Aparência	pH final	Solubilidade (mg/ml)
MH1-A	1101,4	pH = 1,2	Solução Clara	5,02	> 275
MH1-B	194,1	pH = 4,0	Solução Clara	4,02	> 106

ID de amostra	Peso (mg)	Meio	Aparência	pH final	Solubilidade (mg/ml)
MH1-C	193,7	pH = 6,5	Solução Clara	6,53	> 164
MH1-D	191,9	pH = 7,5	Sólido no fundo	7,51	62
MH2-A	1109,1	pH = 1,2	Solução Clara	6,63	> 275
MH2-A	140,9	pH = 4,0	Solução Clara	3,76	> 99
MH2-A	191,7	pH = 6,5	Solução Clara	6,47	> 147
MH2-A	193,3	pH = 7,5	Sólido no fundo	7,52	58

[0209] A solubilidade para as amostras A (inicialmente em meios de pH 1,2) foi determinada como >275 mg/ml, no entanto, é importante notar que o pH não foi capaz de ser mantido em pH 1,2 visto que a capacidade de volume do frasco foi alcançada. Portanto, o valor de solubilidade obtido é para o pH final. Esses experimentos foram repetidos com o uso de uma abordagem de adição inversa.

Repetição de Solubilidade

[0210] Procedimento: meios tamponados com pH 1,2 (0,4 ml) foram adicionados aos dois frascos de 7 ml separados. Para cada composto, o material foi adicionado em porções aos meios com pH 1,2. Após cada adição do composto, o frasco foi misturado em vórtice e o pH e a aparência foram registrados. As amostras foram ajustadas para pH 1,2 com HCl a 1 M em 0,05 da unidade de pH desejada. Isso foi

repetido até que nenhum material adicional estivesse disponível (~400 mg para cada forma, o que geraria uma concentração máxima de cerca de 1000 mg/ml se nenhum ajuste for necessário).

[0211] Resultados e discussão: As soluções claras foram observadas para ambas as amostras devido ao volume de ajuste de solução necessário. No entanto, o pH de ambas as soluções foi mantido em pH 1,2 ao longo das mesmas.

Tabela 19. Solubilidade de MH1 e MH2 com pH 1,2

Amostra	Solubilidade (mg/ml)
MH1	>153
MH2	>161

Exemplo 10. Processo de Cristalização para a Preparação de MH1.

[0212] O 2-propanol (67 kg) seco ($KF \leq 0,1 \%$) foi carregado no reator sob N_2 seguido de Composto **1** de sólido bruto (20,4 kg). A água purificada (1 kg) e 2-propanol seco (3 kg) foram subsequentemente adicionados e o controle de temperatura de reator foi ajustado a 27-35 °C. A mistura de reação resultante foi agitada sob proteção de N_2 até que todo o material sólido tenha sido dissolvido. Opcionalmente, uma amostra (KF) de controle em processo (IPC) foi realizada para determinar os teores de água da mistura de reação e 2-propanol seco suficiente foi adicionado para trazer o teor de água para 1,0 % (como verificado por KF).

[0213] A temperatura da mistura de reação foi ajustada para 22-28 °C e os cristais de semente (0,24 kg) foram adicionados. A mistura de reação resultante foi agitada por

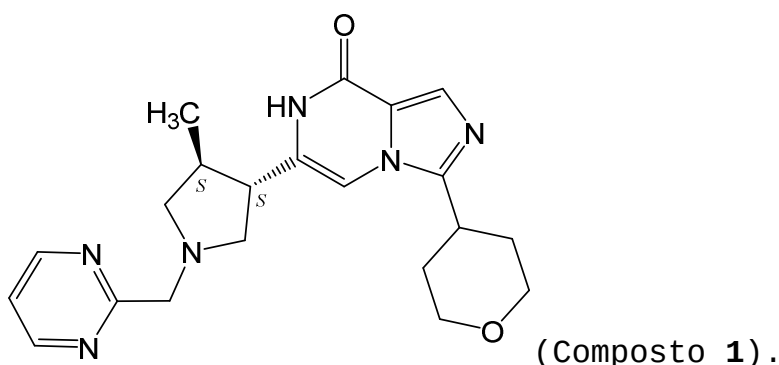
0,5-2,0 h a 22-28 °C. n-Heptano (246 kg) foi carregado lentamente no reator a 22-28 °C com o uso de uma bomba, como uma bomba de diafragma, e a mistura de reação resultante foi agitada a 22-28 °C. A fim de alcançar a dessupersaturação completa e maximizar o rendimento, a mistura de reação resultante pode ser agitada por 8-12 h. Opcionalmente, nesse momento, uma amostra de IPC foi tomada para determinar a umidificação, o Composto 1 residual no tensoativo, pureza e cristalinidade do sólido precipitado.

[0214] A mistura de reação foi filtrada a 22-28 °C e o sólido resultante foi lavado com n-heptano (27,8 kg). A torta de filtro foi pressionada até ficar seca e subsequentemente seca sob um fluxo de N₂ por 1-2 h. Opcionalmente, nesse momento, uma amostra de IPC confirmou a pureza e cristalinidade do sólido isolado.

[0215] O sólido foi seco em uma solução saturada de cloreto de sódio na câmara de secagem a 20-27 °C sob um fluxo constante de nitrogênio por 10-18 h. O sólido foi removido do secador, peneirado e embalado em um tambor alinhado com bolsas de LDPE. Uma amostra de liberação confirmou a umidificação (KF = 4,2 %) e cristalinidade (XRPD: MH 1) juntamente com outros métodos de liberação relacionados à pureza. Rendimento: 17,46 kg de MH1.

REIVINDICAÇÕES

1. Forma cristalina de monodrato **caracterizada por** ser de 6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona



2. Forma cristalina de monodrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monodrato **caracterizada por** ser MH1, tendo um padrão de XRPD que compreende os picos de ângulos 2θ a cerca de 9,1, 11,5, 16,2, 16,7, 18,2, 18,9, 19,8, 22,6 e 26,4 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ .

3. Forma cristalina de monodrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monodrato **caracterizada por** ser MH1, tendo um padrão de XRPD substancialmente como mostrado na FIG. 2A.

4. Forma cristalina de monodrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monodrato **caracterizada por** ser MH1, tendo um pico endotérmico de desidratação a cerca de 40-100 °C e um pico endotérmico de fusão a cerca de 184,4 °C em um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC).

5. Forma cristalina de monodrato, de acordo com a

reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH1, tendo um termograma de DSC substancialmente de acordo com a FIG. 5.

6. Forma cristalina de monohidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH1, exibindo desidratação entre ambiente e cerca de 90 °C com uma perda de peso de cerca de 3,8 % em uma análise termogravimétrica (TGA).

7. Forma cristalina de monohidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH1, tendo uma TGA substancialmente de acordo com a FIG. 5.

8. Forma cristalina de monohidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH1, tendo absorções características a cerca de 782 cm^{-1} , 1123 cm^{-1} , 1562 cm^{-1} e 1655 cm^{-1} em um espectro de infravermelho (IR).

9. Forma cristalina de monohidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH1, tendo um espectro de infravermelho substancialmente de acordo com a FIG. 3.

10. Forma cristalina de monohidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH2, tendo um padrão de XRPD que compreende os picos de ângulos 2θ a cerca de 9,0, 11,6, 15,0, 16,0, 18,6, 19,1, 20,4 ou 20,6 graus 2θ , cada $\pm 0,2$ graus 2θ .

11. Forma cristalina de monohidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monohidrato **caracterizada por** ser MH2, tendo um padrão de XRPD

substancialmente como mostrado na FIG. 7.

12. Forma cristalina de monoidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monoidrato **caracterizada por** ser MH2, tendo um pico endotérmico a cerca de 59,1 °C (± 5 °C) e a cerca de 184,7 °C (± 5 °C) em um termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC).

13. Forma cristalina de monoidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monoidrato **caracterizada por** ser MH2, tendo um termograma de DSC substancialmente de acordo com a FIG. 9.

14. Forma cristalina de monoidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monoidrato **caracterizada por** ser MH2, exibindo desidratação a cerca de 25 °C a cerca de 100 °C com uma perda de peso de cerca de 4,4 % em uma análise termogravimétrica (TGA).

15. Forma cristalina de monoidrato, de acordo com a reivindicação 1, sendo a forma cristalina de monoidrato **caracterizada por** ser MH2, tendo uma TGA substancialmente de acordo com a FIG. 9.

16. Forma cristalina de monoidrato, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, **caracterizada por** ser pelo menos 95, 96, 97, 98 ou 99 % purificada.

17. Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender uma quantidade terapeuticamente eficaz da forma cristalina de monoidrato conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 16 e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

18. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizada pelo** fato de que a forma cristalina de monoidrato está presente em uma quantidade de

pelo menos cerca de 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % ou 99 % em peso.

19. Composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 16 ou 17, **caracterizada pelo** fato de que a forma cristalina de monoidrato está presente em uma quantidade de pelo menos cerca de 91 % em peso.

20. Composição farmacêutica **caracterizada por** consistir essencialmente em uma ou mais formas cristalinas de monoidrato conforme definidas em qualquer uma das reivindicações 1 a 16.

21. Composição farmacêutica **caracterizada por** consistir essencialmente na forma cristalina de monoidrato MH1 conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 9 ou 16.

22. Composição farmacêutica **caracterizada por** consistir essencialmente na forma cristalina de monoidrato MH2 conforme definida em qualquer uma das reivindicações 10 a 16.

23. Composição farmacêutica, de acordo com qualquer uma das reivindicações 17 a 22, sendo a composição **caracterizada por** estar na forma de comprimido ou forma de cápsula.

24. Processo para preparar uma forma cristalina de monoidrato do Composto **1 caracterizado por** compreender precipitar a forma cristalina de monoidrato a partir de uma solução que compreende o Composto **1** e um solvente selecionado a partir do grupo que compreende acetato de n-propila, acetato de isopropila, anisol, metilisobutil cetona, cumeno, isopropanol, 2-metil tetra-hidrofurano e combinações dos mesmos.

25. Processo, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado pelo** fato de que o solvente é acetato de n-propila.

26. Processo, de acordo com a reivindicação 24, **caracterizado por** compreender adicionalmente resfriamento da solução.

27. Forma cristalina de monodrato do Composto 1 **caracterizada por** ser preparada pelo processo conforme definido em qualquer uma das reivindicações 24-26.

28. Método de inibição da atividade de PDE9 em um paciente **caracterizado por** compreender administrar ao paciente a forma cristalina de monodrato conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 16.

29. Método de tratamento de anemia falciforme em um paciente em necessidade do mesmo **caracterizado por** compreender administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz da forma cristalina de monodrato conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 16.

30. Processo para preparar a Forma de Monodrato 1 (MH1) do Composto 1 **caracterizado pelo** fato de que as etapas compreendem:

(i) dissolver o Composto 1 em um primeiro solvente para obter uma solução;

(ii) adicionar um segundo solvente para obter uma mistura; e

(iii) filtrar a mistura para obter um sólido, em que o primeiro e o segundo solventes são, cada um, individualmente selecionados a partir de acetato de isopropila; etanol; tetra-hidrofurano; água; diclorometano;

acetonitrila; anisol; metilisobutil cetona; nitrometano; 1,2-dimetoxietano; metiletil cetona; n-heptano; 1,4-dioxano; acetato de n-propila; 2-propanol; acetona; cumeno; N,N-dimetilformamida; sulfóxido de dimetila; e combinações dos mesmos.

31. Processo, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado pelo** fato de que a etapa (i) compreende adicionalmente aquecer a solução a uma temperatura acima da temperatura ambiente a cerca de 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 ou 80 °C.

32. Processo, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado pelo** fato de que o primeiro solvente compreende 2-propanol.

33. Processo, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado pelo** fato de que o segundo solvente compreende n-heptano.

34. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 30-33, **caracterizado pelo** fato de que o primeiro solvente na etapa (i) compreende água e 2-propanol.

35. Processo, de acordo com a reivindicação 34, **caracterizado pelo** fato de que o teor de água da solução obtida na etapa (i) é cerca de 0,5 %, 1 % ou 1,5 %.

36. Processo, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado pelo** fato de que o teor de água da solução obtida na etapa (i) é cerca de 1 %.

37. Processo, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado pelo** fato de que o sólido obtido na etapa (ii) é opcionalmente lavado uma ou mais vezes com n-heptano.

38. Processo, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado por** compreender adicionalmente o sólido após a etapa (iii).

39. Processo, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado pelo** fato de que o sólido é seco em um ambiente umidificado.

40. Processo para preparar a Forma de Monohidrato 2 (MH2) do Composto **1** **caracterizado pelo** fato de que as etapas compreendem:

- a. tratar o Composto 1 ou MH1 com um primeiro sistema de solvente para obter uma suspensão;
- b. filtrar a suspensão para obter o sólido;
- c. lavar o sólido com heptano; e
- d. secar para remover o solvente para obter MH2;

em que o solvente é uma mistura de água e acetato de etila (EtOAc) ou acetato de metila (MeOAc), selecionado a partir de 2 % (v/v) de EtOAc/água, 2,7 % (v/v) de EtOAc/água e 7,5 % (v/v) de MeOAc/água.

Fig. 1

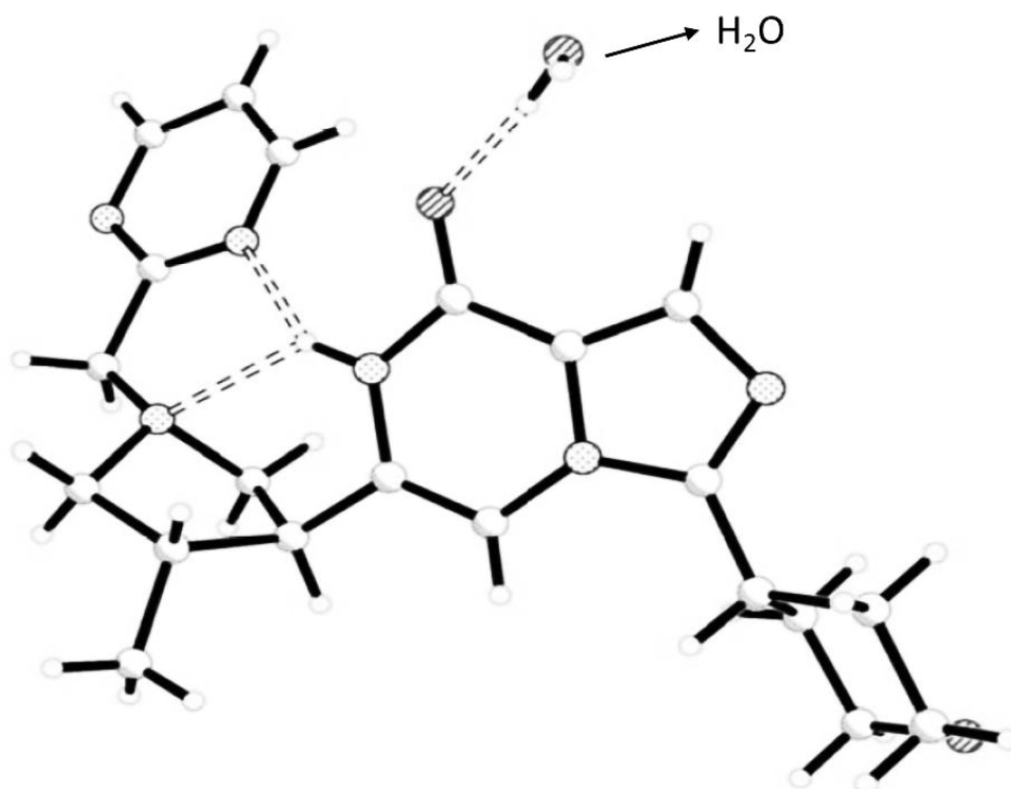
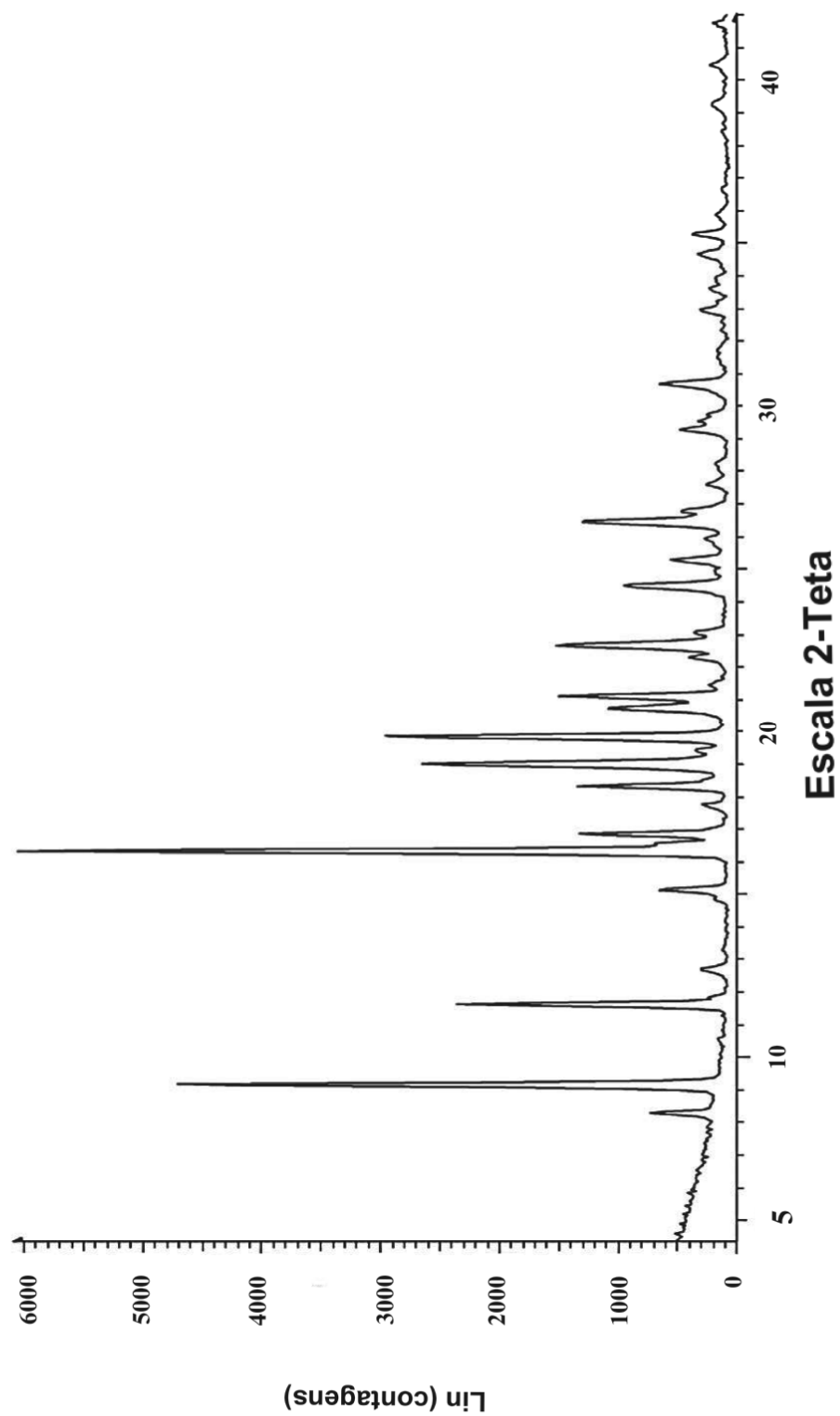


Fig. 2A



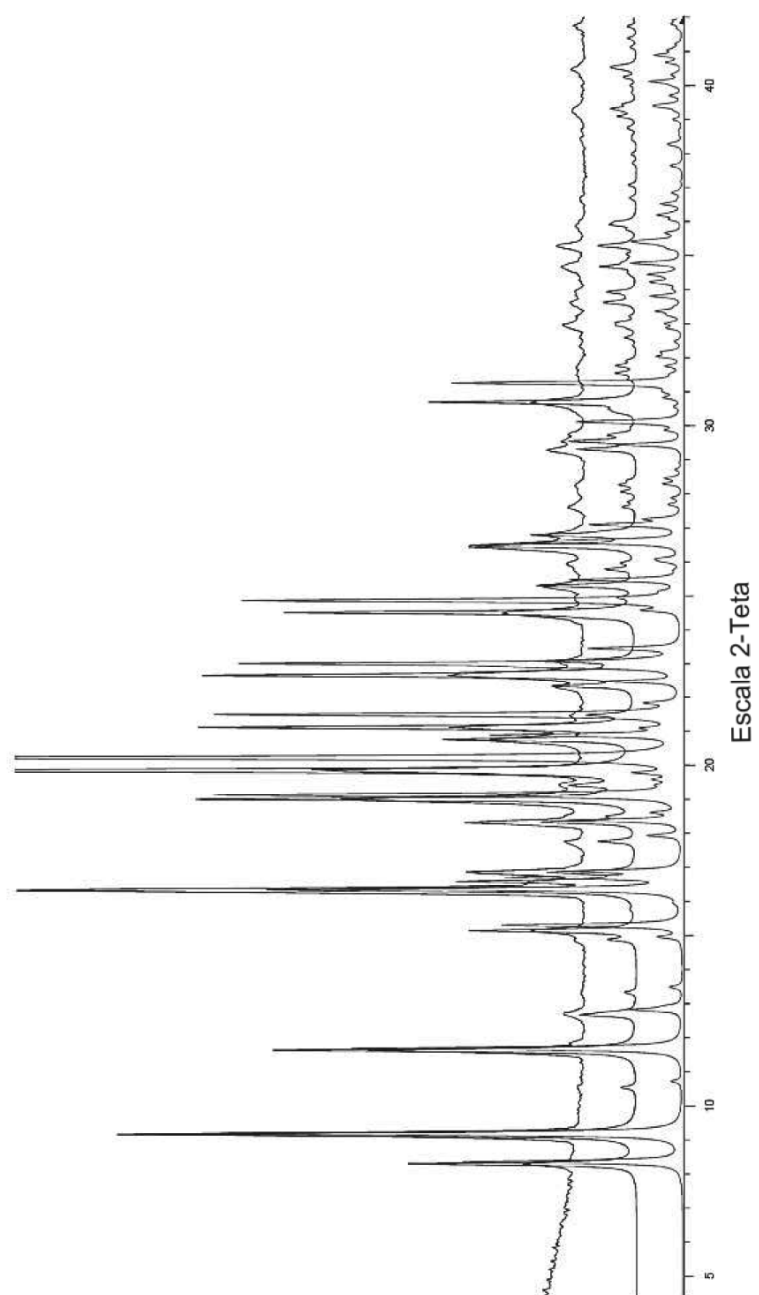


Fig. 2B

Fig. 3

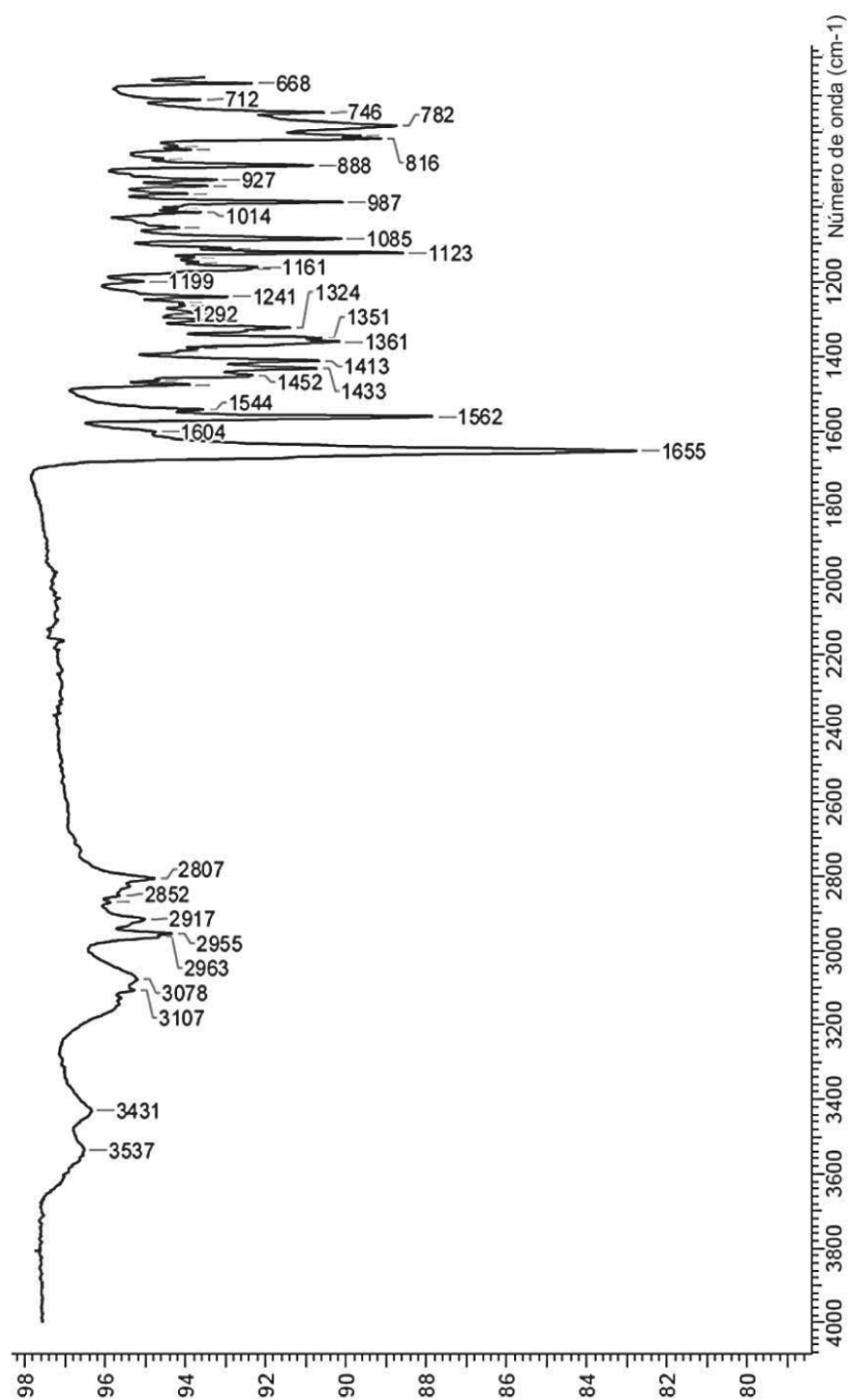


Fig. 4

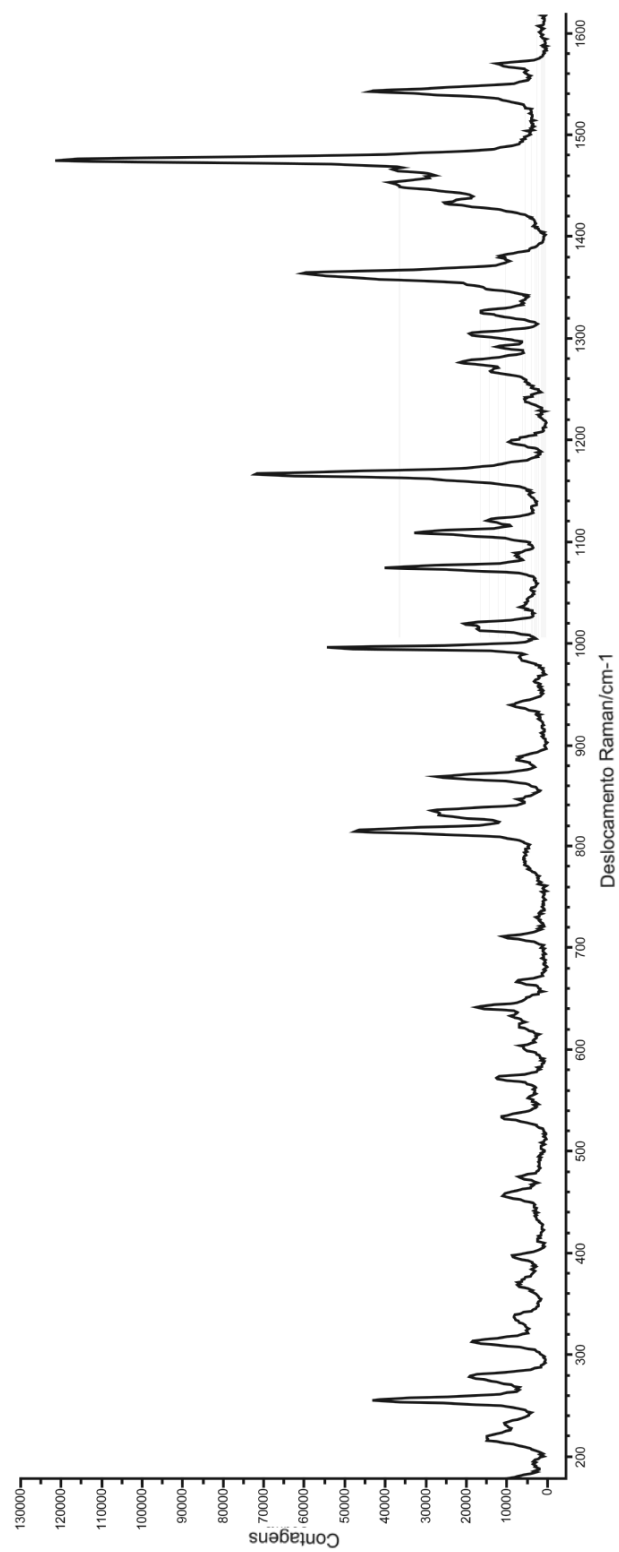


Fig. 5

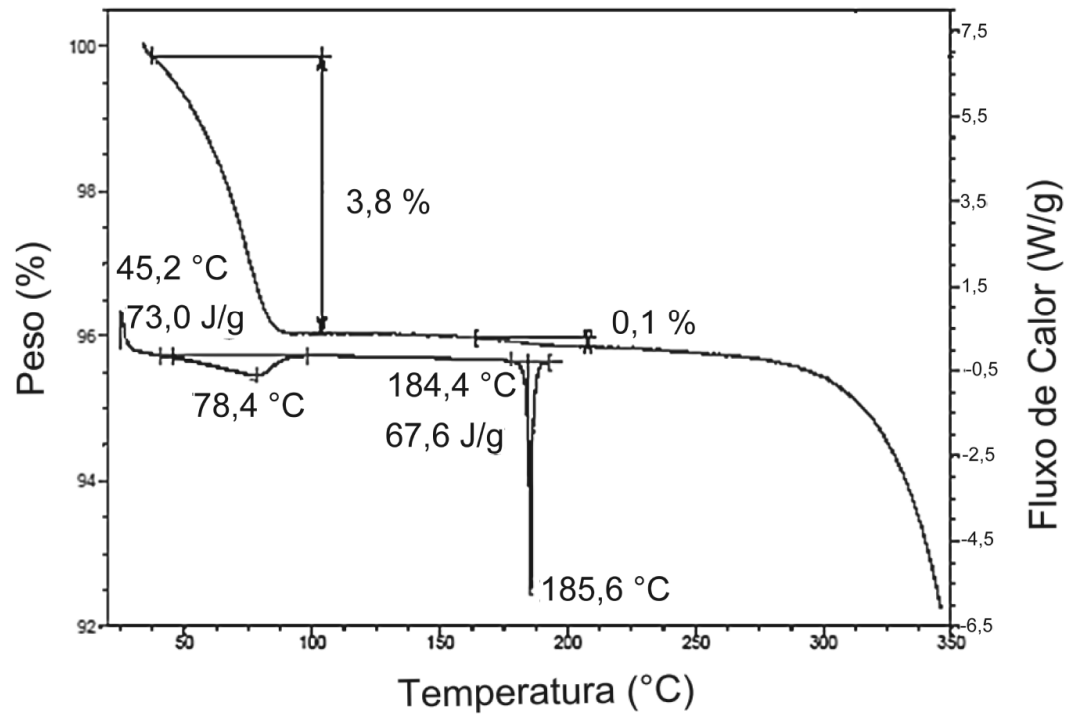


Fig. 6

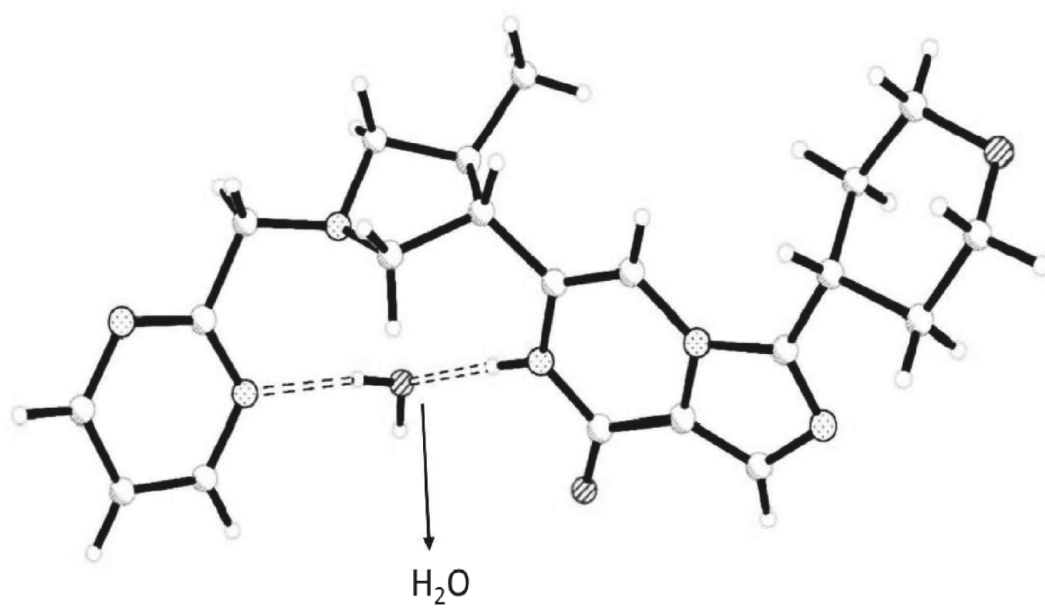


Fig. 7

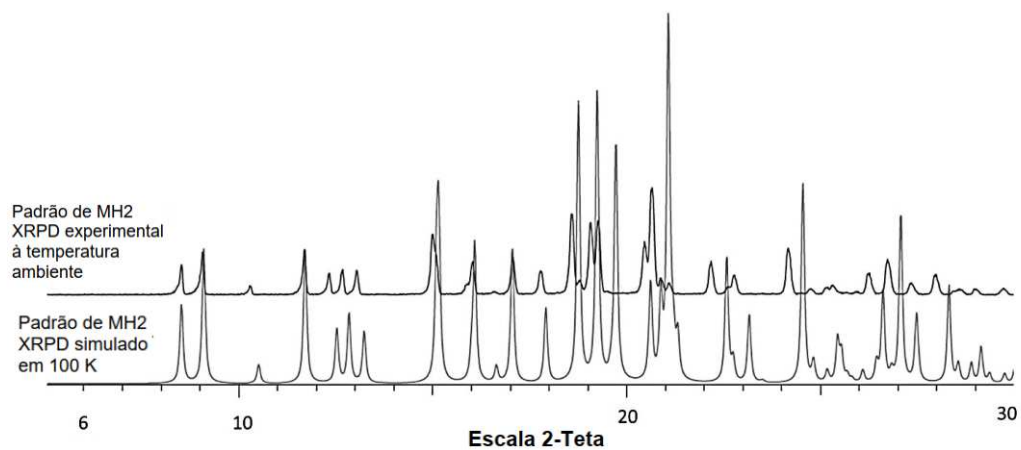


Fig. 8

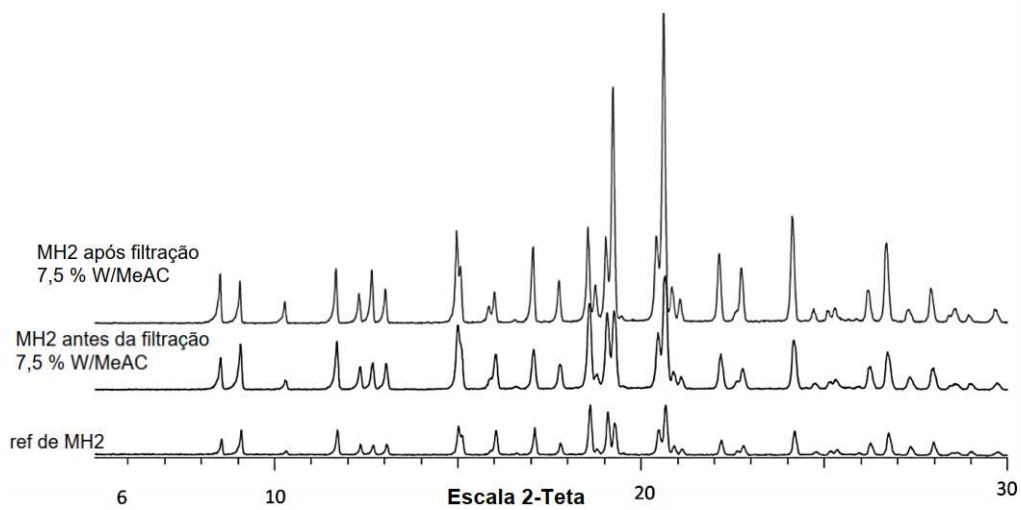
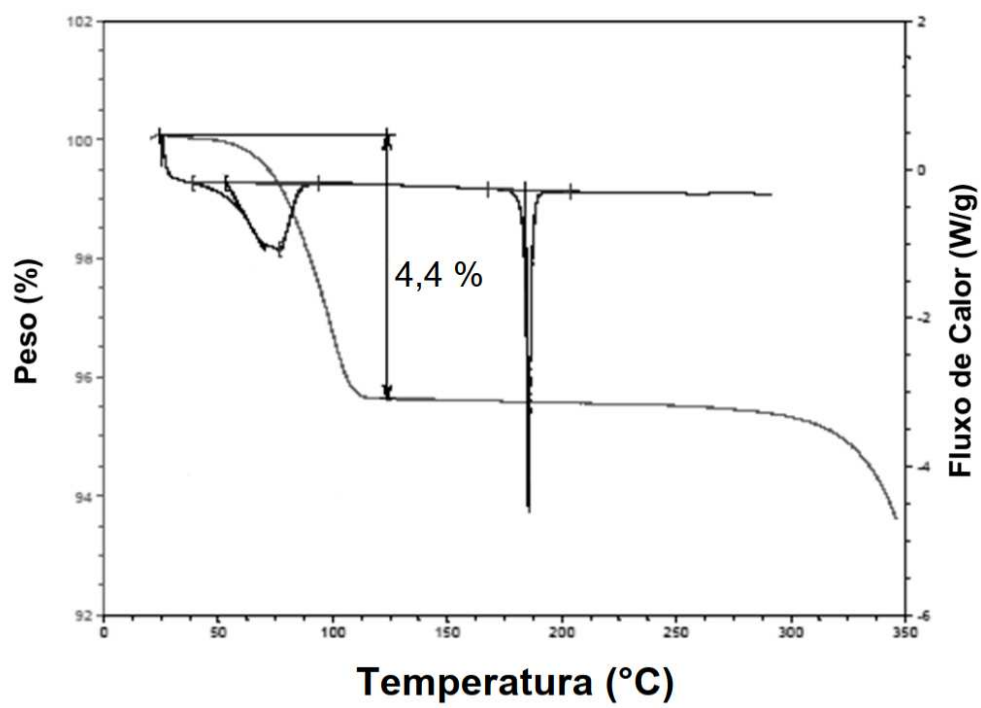


Fig. 9



RESUMO

“MONOIDRATO E FORMAS CRISTALINAS DE 6-[(3S,4S)-4-METIL-1-(PIRIMIDIN-2-ILMETIL)PIRROLIDIN-3-IL]-3-TETRA-HIDROPIRAN-4-IL-7H-IMIDAZO[1,5-A]PIRAZIN-8-ONA”

A presente revelação se refere a formas polimórficas cristalinas de 6-[(3S,4S)-4-metil-1-(pirimidin-2-ilmetil)pirrolidin-3-il]-3-tetra-hidropiran-4-il-7H-imidazo[1,5-a]pirazin-8-ona.