



**República Federativa do Brasil**

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) BR 112017012566-8 B1**

**(22) Data do Depósito:** 17/12/2015

**(45) Data de Concessão:** 30/01/2024

**(54) Título:** FORMA CRISTALINA MONOHIDRATADA, COMPOSIÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE INIBIDORES DE CINASES RELACIONADAS À TROPOMIOSINA (TRK)

**(51) Int.Cl.:** A61K 9/00; A61K 47/10; A61K 47/26.

**(30) Prioridade Unionista:** 18/12/2014 US 62/093,801.

**(73) Titular(es):** GENZYME CORPORATION.

**(72) Inventor(es):** HARVEY LIEBERMAN; DONGLAI YANG; C. MICHAEL PHILBROOK; MICHAEL SANTOS; CHRIS HO.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2015066396 de 17/12/2015

**(87) Publicação PCT:** WO 2016/100677 de 23/06/2016

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 13/06/2017

**(57) Resumo:** LUBRIFICANTE PARA ALTA TEMPERATURA PARA A INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA. São divulgadas formulações farmacêuticas com um inibidor de cinase relacionada à tropomiosina ("inibidor de Trk"). As formulações farmacêuticas compreendem a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em formulações de suspensões microcristalinas em sua forma de mono-hidrato, que mostra características aperfeiçoadas sobre a forma sem hidrato, e em formulações de liberação prolongada. As formulações farmacêuticas de liberação prolongada compreendem microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**FORMA CRISTALINA MONOHIDRATADA, COMPOSIÇÃO E FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS DE INIBIDORES DE CINASES RELACIONADAS À TROPOMIOSINA (TRK)**".

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Campo da Invenção

[0001] Esta invenção refere-se às formulações farmacêuticas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, um inibidor de cinase relacionada à tropomiosina ("inibidor de Trk"), e a uma forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina – mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A forma de mono-hidrato tem propriedades desejáveis que promovem a preparação da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em formulações farmacêuticas.

[0002] As formulações farmacêuticas de solução microcristalina de inibidor de Trk compreendem a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em sua forma de mono-hidrato, que mostra características aperfeiçoadas sobre a forma sem hidrato.

[0003] A presente invenção também se refere às formulações farmacêuticas de liberação prolongada do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, compreendendo microesferas carregadas com a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[0004] Esta invenção adicionalmente refere-se ao uso destas formulações farmacêuticas para tratar doenças que incluem as doenças

inflamatórias, a doença autoimune, os defeitos do metabolismo do osso, e o câncer, assim como no tratamento de osteoartrite (OA), dor, dor pós-operatória, e dor associada com OA.

[0005] O inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina e os métodos de produzir o inibidor de Trk são divulgados no Pedido de Patente Internacional Número PCT/US14/69469 e no Pedido de Patente US No. 14/564.773, cada um intitulado *Tropomyosin-Related Kinase (TRK) Inhibitors*, que são incorporados neste documento por referência.

#### Técnica Relacionada

[0006] Não aplicável.

#### BREVE RESUMO DA INVENÇÃO

[0007] Um primeiro aspecto da invenção refere-se a uma forma cristalina do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, onde o padrão de difração de pó de raios x contém os seguintes picos 2 $\theta$  medidos usando radiação de CuK $\alpha$ : 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 e 14,31.

[0008] Um segundo aspecto da invenção refere-se às formulações farmacêuticas compreendendo a forma cristalina do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, onde o padrão de difração de pó de raios x contém os seguintes picos 2 $\theta$  medidos usando radiação de CuK $\alpha$ : 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 e 14,31, e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

[0009] Um terceiro aspecto da invenção refere-se à forma de monohidrato do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00010] Um quarto aspecto da invenção refere-se às formulações farmacêuticas compreendendo a forma de monohidrato do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-

3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

[00011] Um quinto aspecto da invenção refere-se às formulações farmacêuticas de liberação prolongada compreendendo microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina.

[00012] Em um sexto aspecto, a invenção refere-se aos métodos de fabricar uma forma cristalina de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, compreendendo:

- a. Misturar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina com um solvente para formar uma suspensão;
- b. Agitar a suspensão;
- c. Coletar os sólidos na suspensão por filtração; e
- d. Secar os sólidos.

[00013] Em um sétimo aspecto, a invenção refere-se aos métodos de fabricar uma forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, compreendendo:

- a. Misturar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina com um solvente para formar uma suspensão;
- b. Agitar a suspensão;
- c. Coletar os sólidos na suspensão por filtração; e
- d. Secar os sólidos.

[00014] Em um oitavo aspecto, a invenção refere-se aos métodos de fabricar microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina por extração com solvente, compreendendo:



- a. Dissolver a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma solução de fármaco;
- b. Adicionar um polímero à solução de fármaco para formar uma solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina;
- c. Misturar a solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em uma solução aquosa para formar uma emulsão;
- d. Adicionar água deionizada à emulsão;
- e. Formar microesferas a partir da emulsão por extração com solvente; e
- f. Peneirar as microesferas resultantes usando uma solução de tensoativo

[00015] E em um nono aspecto, a invenção refere-se aos métodos de fabricar microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina por extração com solvente, compreendendo:

- a. Dispersar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma suspensão de fármaco;
- b. Adicionar um polímero à suspensão de fármaco para formar uma dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina;
- c. Misturar a dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-

metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina com uma solução aquosa para formar uma emulsão;

- d. Adicionar água deionizada à emulsão;
- e. Formar microesferas a partir da emulsão por extração com solvente; e
- f. Peneirar as microesferas resultantes usando uma solução de tensoativo.

[00016] Em um décimo-primeiro aspecto, a invenção refere-se aos métodos de fabricar microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de secagem por pulverização, compreendendo:

- a. Dissolver a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma solução de fármaco;
- b. Adicionar um polímero à solução de fármaco para formar uma solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina; e
- c. Bombear a solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de um pulverizador para uma secadora para formar uma partícula esférica.

[00017] Em um décimo-segundo aspecto, a invenção refere-se aos métodos de fabricar microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de secagem por pulverização, compreendendo:

- a. Dispersar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina

em um solvente orgânico para formar uma suspensão de fármaco;

- b. Adicionar um polímero à suspensão de fármaco para formar uma dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina; e
- c. Bombear a dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de um pulverizador para uma secadora para formar uma partícula esférica.

#### BREVE DESCRIÇÃO DAS DIVERSAS VISTAS DO(S) DESENHO(S)

[00018] Figura 1: Difração de Pó de Raios X (XRPD) da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, 4–40 °2θ. A XRPD da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina mostra picos únicos nos picos 2θ 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 e 14,31, medidos usando CuK<sub>α</sub>.

[00019] Figura 2: Termograma de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e de Análise Gravimétrica Térmica (TGA) da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, Aquecida a 10°C/min. O termograma de DSC exhibe três eventos térmicos a 76,72, 160,13, e 195,78°C, o termograma de TGA mostra 3,7% de perda de peso de 25 – 100°C.

[00020] Figura 3: Estrutura Cristalina da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. A estrutura cristalina da forma de mono-hidrato do inibidor de Trk é mostrada.

[00021] Figura 4: Sobreposição do Padrão de XRPD Experimental

com o Padrão de XRPD Calculado a partir da Estrutura de Cristal Individual. Esta figura mostra uma sobreposição do padrão de pó experimental com o calculado a partir da estrutura de cristal individual. O forte grau de correlação sugere que a estrutura de cristal individual é indicativa do material volumoso.

[00022] Figura 5: Efeito da Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 12% de API/R202H:752H a 9:1, 16% API/R202H:752H a 9:1 e 20% de API/R202H:752H a 9:1. Esta figura compara o efeito da carga de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de composição variada.

[00023] Figura 6: Termogramas de DSC de Microesferas de 16% de API/R202H:752H a 9:1 e 20% de API/R202H:752H a 9:1. O termograma de DSC demonstra que as microesferas de 20% mostram uma endotérmica de fusão entre 130-150°C, confirmando a presença de cristais de fármaco superficiais.

[00024] Figura 7: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:752H a 9:1 (1500X). As microesferas carregadas com 16% de fármaco não mostram nenhum cristal de fármaco, indicando que o fármaco é amorfo.

[00025] Figura 8: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 20% de API/R202H:752H a 9:1 (1500X). As microesferas carregadas com 20% de fármaco mostram cristais de fármaco superficiais.

[00026] Figura 9: Efeito da Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 15% de API/R202H, 17% de API/R202H e 19% de API/R202H. Esta figura compara o efeito da carga de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de composição variada.

[00027] Figura 10: Efeito da Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:752H a 9,5:0,5, 18% de API/R202H:752H a 9,5:0,5 e 20% de API/R202H:752H a 9,5:0,5. Esta figura compara o efeito da carga de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de composição variada.

[00028] Figura 11: Efeito da Mistura de Polímeros sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG752H a 9,0:0,5 e 16% de API/R202H:RG752H a 9:1. Esta figura compara o efeito da mistura de polímeros sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de composição variada.

[00029] Figura 12: Efeito da Mistura de Polímeros sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5 e 16% de API/R202H:RG502H a 9:1. Esta figura compara o efeito da mistura de polímeros sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de composição variada.

[00030] Figura 13: Formulações Mostrando o Perfil de IVR de Ordem Zero por 180 Dias – Microesferas de 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 e 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5. As microesferas preparadas usando 15% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em polímeros de R203H:752H, em uma razão de 9:1, e 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em polímeros R202H:RG502H, em uma razão de 9,5:0,5, exibiram um perfil de liberação de pseudo-ordem zero durante 6 meses.

[00031] Figura 14: Efeito dos Sistemas de Cossolventes na Preparação sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R203H:RG752H a 9:1 – DCM:MeOH a 9:1, DCM:MeOH:BA a 9:0,5:0,5, DCM:BA a 9,5:0,05, DCM:BA a 9:1. Esta figura compara o

efeito do sistema de cossolvente usado na preparação das microesferas sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas com carga de 16% de fármaco e uma mistura de polímeros de R203H:RG752H a 9:1

[00032] Figura 15: Efeito do Sistema de Cossolventes de DCM:BA em Aumentar a Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1, 25% de API/R202H:RG752H a 9:1, 30% de API/R202H, 40% de API/R202H, 25% de API/R203H, 30% de API/R203H, 40% de API/R203H, 50% de API/R203H. Esta figura compara o efeito do sistema de cossolventes usado na preparação das microesferas em aumentar carga de fármaco sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas com misturas de polímeros variadas.

[00033] Figura 16: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas Preparadas com o Processo de Microencapsulação de Suspensão Micronizada (1500X). As microesferas produzidas por encapsulação de uma suspensão de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxiben-zil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina eram esféricas, com uma textura superficial irregular devida à presença de cristais de fármaco incrustados na superfície.

[00034] Figura 17: Efeito do Processo de Microencapsulação de Suspensão Micronizada sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 25% de API/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,6 mL de EA, 25% de API/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% PVA + 3,25 mL de EA, 25% de API/R203H 39 mL de 5% PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 40% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,3 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202S 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R203S 39 mL de 5% de PVA + 2.0 mL. Esta

figura compara o processo de microencapsulação de suspensão micro-nizada usado na preparação das microesferas sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas com carga de fármaco variada.

[00035] Figura 18: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/ R202H:RG752H a 9:1, Extração com Solvente (1000X). As microesferas por extração com solvente eram esféricas, com uma textura superficial uniforme.

[00036] Figura 19: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1, Secagem por Pulverização (1000X). As microesferas secadas por pulverização eram esféricas, com alguma textura superficial.

[00037] Figura 20: Efeito do Processo de Microencapsulação sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 por Extração com Solvente (OW), Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 através de Secagem por Pulverização (20% e 22,5% de Polímero) e Microesferas de 16% de API/R203H:RG752H a 9:1 através de Secagem por Pulverização (22,5% de Polímero). Esta figura compara o perfil de liberação *in vitro* de microesferas carregadas com 16% de fármaco, R202H:RG752H a 9:1, preparadas por extração com solvente e secagem por pulverização.

[00038] Figura 20: Efeito do Processo de Microencapsulação sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 por Extração com Solvente (OW), Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 através de Secagem por Pulverização (20% e 22,5% de Polímero) e Microesferas de 16% de API/R203H:RG752H a 9:1 através de Secagem por Pulverização (22,5% de Polímero). Esta figura mostra o efeito do processo de microencapsulação sobre o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de formulações variadas.

[00039] Figura 21: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem

Aditivo, Secadas por Pulverização (1000X). São apresentadas microesferas secadas por pulverização de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem Aditivo.

[00040] Figura 22: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG, Secadas por Pulverização (1000X). São apresentadas microesferas secadas por pulverização de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG.

[00041] Figura 23: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407, Secadas por Pulverização (1000X). São apresentadas microesferas secadas por pulverização de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407.

[00042] Figura 24: Efeito da % de 10 kDa de PEG ou de 1% de Poloxâmero 407 sobre o Perfil de IVR – 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem Aditivo, 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG, 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407. Esta figura compara o perfil de liberação *in vitro* de microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem Aditivo, microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG, e 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407 preparadas através de secagem por pulverização.

[00043] Figura 25: Perfil de IVR *in vivo* (Rato) – Microesferas de 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1. Esta figura mostra uma liberação quase de ordem zero *in vivo* durante aproximadamente 3-4 meses e 5-6 meses para as microesferas de 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1.

[00044] Figura 26: [<sup>14</sup>C] 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina Que Permanece ao Longo do Tempo (Articulação do Joelho do Rato) –



Microesferas de 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/203H:RG752H a 9:1. Após a administração intra-articular nas articulações dos joelhos dos ratos, para 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 as microesferas mostraram uma liberação de fármaco durante 5 a 6 meses; 16% de API/202H:RG502H a 9:1 mostraram 12% permanecendo na articulação após 5 meses e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 mostraram 30% do fármaco permanecendo após 6 meses.

[00045] Figura 27: Perfis de Concentração de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina-Tempo (Sangue do Rato) – Microesferas de 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1. Esta figura mostra o perfil de concentração de fármaco-tempo no sangue após a administração intra-articular de microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00046] Figura 28: Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/202H:RG752H a 9:1, 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 e 40% de API/203H.

[00047] Figura 29: Perfis de Concentração de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina-Tempo – Microesferas de 16% de API/202H:RG752H a 9:1, 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 e 40% de API/203H.

[00048] Figura 30: XRPD Medida ou Simulada das Formas 1 a 4 (Anidras e de Hidrato). É apresentada a XRPD das formas anidras e de hidrato da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00049] Figura 31: XRPD da Forma 5 (Etanol). É apresentada a XRPD da Forma 5 (Etanol) da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00050] Figura 32: XRPD da Forma 9 (Acetona). É apresentada a XRPD da Forma 9 (Acetona) da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00051] Figura 33: Comparação por XRPD da Forma 10 (Acetona) e da Forma 9 (Acetona). Esta figura proporciona uma comparação das duas formas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, obtidas em acetona.

[00052] Figura 34: XRPD da Forma 11 (Acetonitrila). É apresentada a XRPD da Forma 11 (Acetonitrila) da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00053] Figura 35: Fases Cristalinas Sólidas da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. Esta figura proporciona uma comparação das dez formas cristalinas da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, obtidas nos experimentos.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[00054] Esta invenção refere-se às formulações farmacêuticas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, um inibidor de cinase relacionada à tropomiosina ("inibidor de Trk"), e a uma forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00055] As formulações farmacêuticas de solução microcristalina de inibidor de Trk compreendem a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina na sua forma de mono-hidrato, que mostra características aperfeiçoadas sobre a forma sem hidrato.

[00056] A presente invenção também se refere às formulações farmacêuticas de liberação prolongada do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-

((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, compreendendo microesferas carregadas com a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[00057] Esta invenção adicionalmente se refere ao uso destas formulações farmacêuticas para tratar doenças que incluem as doenças inflamatórias, a doença autoimune, os defeitos do metabolismo do osso, e o câncer, assim como no tratamento de osteoartrite (OA), dor, dor pós-operatória, e dor associada com OA.

[00058] As formulações farmacêuticas do inibidor de Trk da presente invenção inibem a cinase relacionada à tropomiosina A (TrkA), a cinase relacionada à tropomiosina B (TrkB), a cinase relacionada à tropomiosina C (TrkC), e o c-FMS (o receptor celular para o fator estimulador de colônias 1 (CSF-1)). As cinases relacionadas à tropomiosina (Trk) são receptores de alta afinidade, ativados por fatores do crescimento solúveis chamados neurofinas (NT). A TrkA, também conhecida como receptor para tirosina cinase neurotrófico tipo 1, é ativada pelo fator do crescimento nervoso (NGF). A TrkB é ativada pelo fator do crescimento dos derivados cerebrais e o NT-4/5. A TrkC é ativada por NT3. A ativação da Trk leva à ativação das cinases a jusante que estão envolvidas na sinalização celular, incluindo a proliferação, a sobrevivência, a angiogênese e a metástase das células. A Trk tem estado envolvida em diversas doenças, incluindo a OA.

[00059] As formulações farmacêuticas do inibidor de Trk da presente invenção podem também inibir o c-FMS (o receptor celular para o fator estimulador de colônias 1 (CSF-1)). O c-FMS desempenha um papel na regulação da função dos macrófagos, e é acreditado desempenhar um papel nas doenças inflamatórias, na doença autoimune, nos defeitos do metabolismo do osso e no câncer (Burns e Wilks, 2011, *Informa Healthcare*).

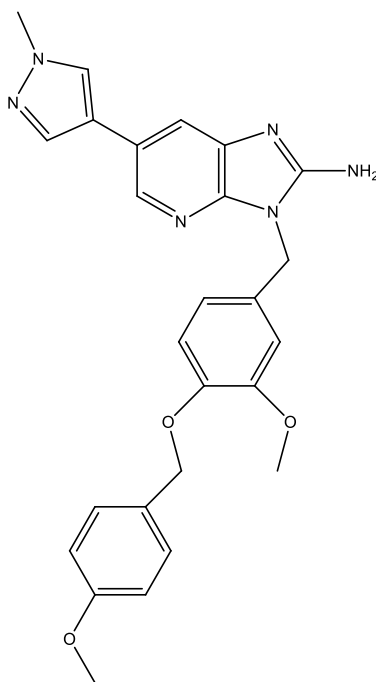
[00060] A OA é uma doença predominante e debilitante das articulações, caracterizada por dor crônica e destruição da cartilagem articular. Os ensaios clínicos recentes têm confirmado um papel para o bloqueio do NGF na dor dos joelhos por AO, demonstrando um alívio da dor significativo e altas taxas de respondedores em pacientes tratados por infusão intravenosa com anticorpos bloqueadores anti-NGF (Lane, 2010, *N Engl J Med*). Entretanto, esta modalidade pode levar a um risco aumentado por eventos adversos, devido à inibição sistêmica da sinalização do NGF (FDA Arthritis Advisory Committee Meeting to Discuss Safety Issues Related to the Anti-Nerve Growth Factor Agents; <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/Calendar/ucm286556.htm>)

Consequentemente, tem sido adotada uma nova abordagem com relação ao alívio da dor por AO mediada pelo NGF, através do desenvolvimento de inibidores de Trk, especificamente os inibidores de TrkA, o receptor de alta afinidade para o NGF (Nicol, 2007, *Molecular Interv*). Os inibidores de Trk da presente invenção são liberados localmente e, com isso, evitam a distribuição sistêmica observada com a administração intravenosa de anti-NGF. Esta estratégia de tratamento proporciona uma conveniência aumentada da dosagem, assim como maior segurança por permitir a manutenção da sinalização do NGF fisiologicamente necessária (i.e., a manutenção dos nervos sensitivos/simpáticos, a angiogênese) em lugares não locais.

[00061] Esta invenção refere-se às formulações farmacêuticas do inibidor de Trk e aos métodos de tratar a doença com as formulações farmacêuticas do inibidor de Trk. Mais particularmente, a invenção diz respeito aos métodos de tratar a dor, a OA, a dor associada com a OA, a dor pós-operatória, as doenças inflamatórias, a doença autoimune, os defeitos do metabolismo do osso e o câncer com as formulações farmacêuticas dos inibidores de Trk. As composições farmacêuticas de inibidores de Trk podem ser administradas em formas de dosagens

múltiplas, incluindo uma injeção para a liberação local tanto como uma suspensão microcristalina, quanto em formulações de liberação prolongada. O inibidor de Trk é o ingrediente farmacêutico ativo nas composições farmacêuticas que compreendem o inibidor de Trk. O inibidor de Trk pode também se coadministrado e/ou coformulado com outros ingredientes ativos para o tratamento da doença, incluindo o tratamento de dor, OA e dor associada com a OA.

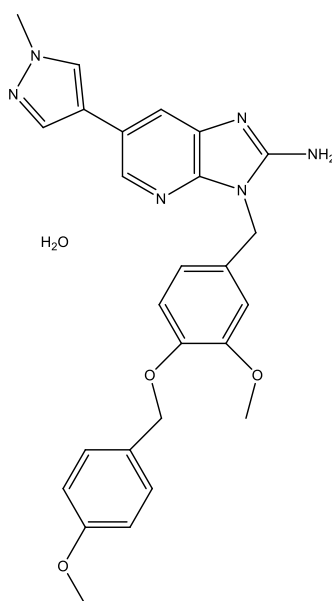
[00062] As formulações farmacêuticas do inibidor de Trk da presente invenção compreendem a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, representada pela Fórmula (I) abaixo, como o ingrediente farmacêutico ativo. A 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é também conhecida como GZ389988.



**Fórmula (I): 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (GZ389988)**

[00063] O problema a ser resolvido com esta invenção é a dificuldade em formular composições compreendendo a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A solução para este problema é a descoberta que

a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina tem propriedades físicas e químicas aperfeiçoadas, incluindo melhor estabilidade física e dissolução aquosa mais lenta, em comparação com a forma sem hidrato. A forma sem hidrato da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina provou ser relativamente instável em solução, produzindo problemas com a sua formulação em uma composição farmacêutica. A forma sem hidrato exibe alterações variáveis da forma sólida sob certas condições, incluindo a conversão no hidrato. A forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina permitiu uma estabilidade adicional e é essencial para evitar a conversão polimórfica com a armazenagem de longa duração e durante o processamento, e leva a uma estabilidade física aumentada. Ademais, foi observada uma dissolução mais lenta em solução aquosa com a forma de mono-hidrato. A forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, também conhecida como GZ389988A, é representada pela Fórmula (II) abaixo.



**Fórmula (II): Forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (GZ389988A)**

[00064] O peso molecular da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é 470,54 g/mol, e a fórmula elementar é  $C_{26}H_{26}N_6O_3$ . A forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é um pó não totalmente branco e, sob um microscópio de luz polarizada, parece ser agulhas finas ou partículas similares a fibras.

[00065] A forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é sintetizada de acordo com o Exemplo 1.

[00066] Uma modalidade particular desta invenção é uma forma cristalina de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, onde o padrão de difração de pó de raios x (XRPD) contém os seguintes picos  $2\theta$  medidos usando radiação de  $CuK\alpha$ : 7,14, 8,89, 10,22, 12,42, 12,73 e 14,31. Os detalhes sobre o método de obter os cálculos de XRPD são proporcionados no Exemplo 1. Outra modalidade da invenção é uma formulação farmacêutica compreendendo a forma cristalina do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

[00067] Outra modalidade desta invenção refere-se a outras formas de cristais do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em outros solventes, incluindo o etanol, a acetona, a acetonitrila, e os solventes mistos. Os detalhes sobre as outras formas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-

2-amina e o método de obter os cálculos de XRPD são proporcionados no Exemplo 4.

[00068] A invenção também se refere a uma composição compreendendo a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, representada pela Fórmula (I), e à formulação farmacêutica compreendendo a forma de mono-hidrato do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

[00069] As formulações farmacêuticas do inibidor de Trk podem compreender um ou mais excipientes farmacêuticamente aceitáveis. Os modos de administração das formulações farmacêuticas do inibidor de Trk incluem orais, sublinguais, intravenosos, subcutâneos, intramusculares, intra-articulares, transdérmicos, retais, por inalação, intratecais/intraventriculares, e tópicos. Consequentemente, as formulações farmacêuticas do inibidor de Trk podem ser formuladas, por exemplo, como uma cápsula, comprimido, pó, solução, suspensão, emulsão, pó liofilizado, ou uma formulação de liberação prolongada compreendendo microcápsulas injetáveis. Os excipientes usados nas formulações farmacêuticas do inibidor de Trk dependerão da rota de administração para a qual se pretende a formulação farmacêutica do inibidor de Trk.

[00070] Os excipientes adequados incluem, porém não estão limitados aos, materiais inorgânicos ou orgânicos, tais como diluentes, solventes, gelatina, albumina, lactose, amido, estabilizadores, agentes de fusão, agentes emulsificantes, agentes de suspensão, sais e tampões. Os excipientes farmacêuticamente aceitáveis adequados para as formulações intra-articulares, tais como as soluções ou as suspensões, incluem, porém não estão limitados aos, géis ou líquidos inertes, comercialmente disponíveis

[00071] Dada a baixa solubilidade do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-



((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina e da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, um agente de suspensão é necessário para preparar uma formulação de suspensão microcristalina para a injeção intra-articular compreendendo o inibidor de Trk como o ingrediente farmacêutico ativo. Os agentes de suspensão farmaceuticamente aceitáveis, comumente usados, incluem: a acácia, o ágar, o ácido algínico, a bentonita, o estearato de cálcio, o carbômero, a carboximetilcelulose (cálcica e sódica), a carragenina, a celulose (microcristalina, microcristalina e carboximetilcelulose sódica, em pó), o dióxido de silicone coloidal, a dextrina, a gelatina, a goma guar, a hectorita, a sílica coloidal hidrofóbica, a hidroxietil celulose, a hidroximetil celulose, a hidroxipropil celulose, a hipromelose, o caulim, o silicato de magnésio alumínio, as soluções de maltitol, os triglicerídeos de cadeias médias, a metilcelulose, o borato fenilmercúrico, os fosfolipídios, o policarbofil, o polietileno glicol, os ésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitan, a povidona (polivinilpirrolidona), o alginato de propileno glicol, a saponita, o óleo de gergelim, o alginato de sódio, os ésteres de sorbitan, a sacarose, o tragacanto, o polietileno glicol succinato de vitamina E, e a goma xantana (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6ª Edição).

[00072] Os agentes de tamponamento são também usados na formulação de uma solução para a administração intra-articular onde o ingrediente ativo for a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, o inibidor de Trk. Os agentes de tamponamento farmaceuticamente aceitáveis incluem: o ácido adípico, a solução de amônia, o ácido bórico, o carbonato de cálcio, o hidróxido de cálcio, o lactato de cálcio, o fosfato de cálcio, tribásico, o mono-hidrato de ácido cítrico, o fosfato de sódio dibásico, a dietanolamina, a glicina, o Ácido maléico, o ácido

málico, a metionina, o fosfato de sódio monobásico, a monoetanolamina, o glutamato de monossódio, o ácido fosfórico, o citrato de potássio, o acetato de sódio, o bicarbonato de sódio, o borato de sódio, o carbonato de sódio, o di-hidrato de citrato de sódio, o hidróxido de sódio, o lactato de sódio, e a trietanolamina (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6ª Edição).

[00073] Como as formulações farmacêuticas do inibidor de Trk da presente invenção são formulações para a administração intra-articular, elas também podem conter diluentes. Os diluentes adequados para as aplicações como na presente invenção incluem: o malitol, o óleo de girassol, o alginato de amônio, o carbonato de cálcio, o lactato de cálcio, o fosfato de cálcio dibásico anidro, di-hidrato dibásico, tribásico, o silicato de cálcio, o sulfato de cálcio, a celulose (em pó, microcristalina silicificada), o acetato de celulose, o açúcar comprimível, o açúcar de confeito, o amido de milho e o amido pré-gelatinizado, os dextratos, a dextrina, a dextrose, o eritritol, a etilcelulose, a frutose, o ácido fumárico, o palmitoestearato de glicerila, a lactose para inalação, o isomalte, o caulim, o lactitol, a lactose (anidra, mono-hidrato e amido de milho, mono-hidrato e celulose microcristalina, secada por pulverização), o carbonato de magnésio, o óxido de magnésio, a maltodextrina, a maltose, o manitol, os triglicerídeos de cadeias médias, a celulose microcristalina, a polidextrose, os polimetacrilatos, a simeticona, o alginato de sódio, o cloreto de sódio, o sorbitol, o amido (milho pré-gelatinizado, esterilizável), a sacarose, as esferas de açúcares, o éter sulfobutílico b-ciclodextrina, o talco, o tragacanto, a trealose, o xilitol (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6ª Edição).

[00074] As formulações farmacêuticas de suspensão microcristalina do inibidor de Trk, com a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina como o ingrediente ativo, são descritas no Exemplo 2.

[00075] Esta invenção também se refere aos métodos de fabricar uma forma cristalina de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina e de fabricar a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, compreendendo:

- a. Misturar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina com um solvente para formar uma suspensão;
- b. Agitar a suspensão;
- c. Coletar os sólidos na suspensão por filtração; e
- d. Secar os sólidos.

[00076] Neste método, o solvente usado para formar a suspensão pode ser uma mistura de acetona e água. Ademais, a suspensão pode ser agitada durante a noite, e os sólidos que são coletados podem ser secados ao ar.

[00077] As formulações farmacêuticas de liberação prolongada do inibidor de Trk podem compreender a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina ou a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina visto que, no caso das formulações produzidas a partir de soluções do fármaco, o inibidor de Trk é dissolvido no solvente antes da microencapsulação e da formulação, e no caso das formulações produzidas a partir de suspensões do fármaco, o inibidor de Trk é suspenso no solvente antes da microencapsulação e da formulação. Uma solução ou suspensão contendo o ingrediente ativo é então combinada com diversos polímeros, conforme apresentado no Exemplo 3, para microencapsular a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. A microencapsulação da 3-

(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina auxilia a prover uma formulação com um efeito prolongado, até e mais de 3 meses de duração, e a proporcionar um efeito terapêutico constante no paciente.

[00078] Em uma modalidade particular da invenção, a formulação farmacêutica compreendendo a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina compreende um diluente farmacêuticamente aceitável, um agente de suspensão farmacêuticamente aceitável e um agente de tamponamento farmacêuticamente aceitável. Em certas modalidades das formulações farmacêuticas da presente invenção, o diluente é o sorbitol, o agente de suspensão é a povidona, e o agente de tamponamento é o ácido fosfórico.

[00079] A presente invenção também se refere às formulações farmacêuticas de liberação prolongada compreendendo microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. Nestas formulações de liberação prolongada, o inibidor de Trk pode ser a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina ou a forma de mono-hidrato do composto. As microesferas carregadas com fármaco podem adicionalmente compreender um polímero.

[00080] Em uma modalidade específica de uma microesfera carregada com o inibidor de Trk compreendendo um polímero, o polímero é selecionado a partir de poli(D,L-lactídeo), poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) e uma combinação tanto de poli(D,L-lactídeo) quanto de poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). Em certas modalidades da invenção, o poli(D,L-lactídeo) usado na formulação de liberação prolongada tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,35 dL/g. Em outra modalidade, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,24 dL/g. Ainda em

outra modalidade, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,25-0,35 dL/g. Em certas modalidades da invenção, o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,24 dL/g. Em uma modalidade, o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,22 dL/g. Em outra modalidade, o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,24 dL/g.

[00081] Em uma formulação de liberação prolongada compreendendo tanto o poli(D,L-lactídeo) quanto o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,35 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,24 dL/g. Em uma modalidade, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,24 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,22 dL/g. Em outra modalidade, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,24 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,22 dL/g. Ainda em outra modalidade, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,25-0,35 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,22 dL/g. E ainda em outra modalidade, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,25-0,35 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,24 dL/g.

[00082] Em outra modalidade, as formulações farmacêuticas de liberação prolongada compreendendo microesferas carregadas com o inibidor de Trk compreendem uma razão de 9:1 de poli(D,L-lactídeo) e poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). Nestas formulações de liberação prolongada, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,35 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,24 dL/g.

[00083] Em outra modalidade, as formulações farmacêuticas de

liberação prolongada compreendendo microesferas carregadas com o inibidor de Trk compreendem uma razão de 9,5:0,5 de poli(D,L-lactídeo) e poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). Nestas formulações, o poli(D,L-lactídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,16-0,35 dL/g e o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) tem uma viscosidade intrínseca de 0,14-0,24 dL/g.

[00084] Na formulação de liberação prolongada farmacêutica compreendendo microesferas carregadas com o inibidor de Trk, as microesferas são carregadas com 1% p/p a 99% p/p de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. Em uma modalidade mais específica, as microesferas são carregadas com 12% p/p a 50% p/p de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. Ainda em outra modalidade, as microesferas são carregadas com 12% p/p a 50% p/p de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. Nas modalidades mais específicas, as microesferas são carregadas com 12% p/p, 15% p/p, 16% p/p, 17% p/p, 18% p/p, 19% p/p, 20% p/p, 25% p/p, 30% p/p, 40% p/p ou mesmo 50% p/p de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina.

[00085] Esta invenção também se refere aos métodos de fabricar microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina por extração com solvente e através de secagem por pulverização.

[00086] Um método extração com solvente da presente invenção refere-se a formar microesferas carregadas com o inibidor de Trk a partir de uma solução de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. Este método compreende:

- a. Dissolver a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-

(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma solução de fármaco;

- b. Adicionar um polímero à solução de fármaco para formar uma solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina;
- c. Misturar a solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em uma solução aquosa para formar uma emulsão;
- d. Adicionar água deionizada à emulsão;
- e. Formar microesferas a partir da emulsão por extração com solvente; e
- f. Peneirar as microesferas resultantes usando uma solução de tensoativo.

[00087] Neste método, o solvente orgânico pode compreender (i) diclorometano e metanol, (ii) diclorometano, (iii) álcool benzílico e metanol, (iv) diclorometano e álcool benzílico, (v) clorofórmio, (v) clorofórmio e metanol, ou (vii) clorofórmio e álcool benzílico. O polímero neste método pode ser o poli(D,L-lactídeo), o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), ou uma combinação de poli(D,L-lactídeo) e poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). A solução aquosa neste método pode ser o poli(álcool vinílico) em água. A solução de tensoativo neste método pode ser o poloxâmero 407 em água, o polissorbato 80 em água, ou o polissorbato 20 em água.

[00088] Outro método de extração com solvente da presente invenção refere-se a formar microesferas carregadas com o inibidor de Trk a partir de uma suspensão de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina. Este método compreende:

- a. Dispersar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma suspensão de fármaco;
- b. Adicionar um polímero à suspensão de fármaco para formar uma dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina;
- c. Misturar a dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina com uma solução aquosa para formar uma emulsão;
- d. Adicionar água deionizada à emulsão;
- e. Formar microesferas a partir da emulsão por extração com solvente; e
- f. Peneirar as microesferas resultantes usando uma solução de tensoativo.

[00089] Neste método, o solvente orgânico pode compreender (i) acetato de etila, (ii) diclorometano, (iii) clorofórmio, (iv) acetato de etila e diclorometano, (v) acetato de etila e clorofórmio, (vi) diclorometano e clorofórmio ou (vii) acetato de etila, diclorometano e clorofórmio. O polímero neste método pode ser o poli(D,L-lactídeo), o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), ou uma combinação de poli(D,L-lactídeo) e poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). A solução aquosa neste método pode ser o poli(álcool vinílico) em água. A solução de tensoativo neste método pode ser o poloxâmoro 407 em água, o polissorbato 80 em água, ou o polissorbato 20 em água.

[00090] Em outro aspecto, a invenção refere-se a um método de formar microesferas carregadas com o inibidor de Trk a partir de uma solução de microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-



metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de secagem por pulverização. Este método compreende:

- a. Dissolver a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma solução de fármaco;
- b. Adicionar um polímero à solução de fármaco para formar uma solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina; e
- c. Bombear a solução de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de um pulverizador para uma secadora para formar uma partícula esférica.

[00091] Neste método, o solvente orgânico pode compreender (i) diclorometano e metanol, (ii) diclorometano, (iii) álcool benzílico e metanol, (iv) diclorometano e álcool benzílico, (v) clorofórmio, (v) clorofórmio e metanol, ou (vii) clorofórmio e álcool benzílico. O polímero neste método pode ser o poli(D,L-lactídeo), o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), ou uma combinação de poli(D,L-lactídeo) e poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). Os parâmetros adicionais deste método referem-se à taxa de pulverização e ao fluxo de nitrogênio atomizador do pulverizador. A taxa de pulverização pode ser 0,7 mL/min; o fluxo de nitrogênio atomizador pode ser 4 L/min. A temperatura em diversos pontos na secadora são também elementos que podem ser controlados para impactar o tamanho resultante da microesfera. Neste método, a secadora pode ter uma temperatura de entrada de 50°C, uma temperatura da câmara de 40-45°C, e uma temperatura de escape de 20-30°C. Em uma modalidade mais específica, a temperatura da câmara é 40-43°C; mais especificamente,

a temperatura da câmara é 41-43°C. Em outra modalidade, a temperatura de escape é 22-28°C.

[00092] Ainda em outro aspecto, a invenção refere-se a um método de formar microesferas carregadas com o inibidor de Trk a partir de uma suspensão de microcápsulas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de secagem por pulverização. Este método compreende:

- a. Dispersar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em um solvente orgânico para formar uma suspensão de fármaco;
- b. Adicionar um polímero à suspensão de fármaco para formar uma dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina; e
- c. Bombear a dispersão de polímero/3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina através de um pulverizador para uma secadora para formar uma partícula esférica.

[00093] Neste método, o solvente orgânico pode compreender (i) acetato de etila, (ii) diclorometano, (iii) clorofórmio, (iv) acetato de etila e diclorometano, (v) acetato de etila e clorofórmio, (vi) diclorometano e clorofórmio ou (vii) acetato de etila, diclorometano e clorofórmio. O polímero neste método pode ser o poli(D,L-lactídeo), o poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), ou uma combinação de poli(D,L-lactídeo) e poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo). Os parâmetros adicionais deste método referem-se à taxa de pulverização e ao fluxo de nitrogênio atomizador do pulverizador. A taxa de pulverização pode ser 0,7 mL/min; o fluxo de nitrogênio atomizador pode ser 4 L/min. A temperatura em diversos pontos na secadora são também elementos que podem ser controlados para

impactar o tamanho resultante da microesfera. Neste método, a secadora pode ter uma temperatura de entrada de 50°C, uma temperatura da câmara de 40-45°C, e uma temperatura de escape de 20-30°C. Em uma modalidade mais específica, a temperatura da câmara é 40-43°C; mais especificamente, a temperatura da câmara é 41-43°C. Em outra modalidade, a temperatura de escape é 22-28°C.

[00094] Os seguintes Exemplos não limitativos ilustram as diversas modalidades da invenção, incluindo os métodos para preparar a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, as formulações farmacêuticas com a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, as formulações farmacêuticas de liberação prolongada de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina e os métodos para produzir estas formulações de liberação prolongada.

### Exemplos

#### **Exemplo 1: A Forma de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina**

#### **Exemplo 1- 1: Síntese da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina**

[00095] A uma solução agitada de 3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)fenil)metanamina (2,00 g, 7,32 mmol) e 5-bromo-2-cloro-3-nitropiridina (1,66 g, 6,97 mmol) em acetonitrila (50 mL) foi adicionada a *N,N*-di-isopropiletilamina (1,13 g, 8,71 mmol). A mistura resultante foi aquecida ao refluxo e deixada agitar. Após 64 h, a mistura de reação foi deixada resfriar até a temperatura ambiente e foi diluída com água. A mistura foi extraída duas vezes com diclorometano. As fases orgânicas

combinadas foram secadas sobre sulfato de magnésio, filtradas, e concentradas para proporcionar 3,34 g (> 100%) de 5-bromo-*N*-(3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)benzil)-3-nitropiridin-2-amina como um sólido amarelo-castanho.

[00096] A uma solução agitada de 5-bromo-*N*-(3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)benzil)-3-nitropiridin-2-amina em tetraidrofurano (40 mL), etanol (40 mL), e água (40 mL) foi adicionado o hidrossulfito de sódio (6,09 g, 34,99 mmol). A mistura resultante foi aquecida ao refluxo e deixada agitar. Após 4 h, a mistura de reação foi deixada resfriar até a temperatura ambiente e foi diluída com água. A mistura amarela foi extraída três vezes com diclorometano. As fases orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura, secadas (sulfato de magnésio), filtradas e concentradas para proporcionar 3,10 g de um sólido amarelo-castanho. A purificação cromatográfica (Coluna Combi-Flash, 40 g de SiO<sub>2</sub> gold, 1-2,5% de metanol/diclorometano) forneceu 1,28 g (51%) de 5-bromo-*N*<sup>2</sup>-(3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)benzil)piridina-2,3-diamina como um sólido amarelo.

[00097] A uma solução agitada de 5-bromo-*N*<sup>2</sup>-(3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)benzil)piridina-2,3-diamina (0,850 g, 1,91 mmol) em diclorometano (30 mL) e metanol (30 mL) foi adicionado o brometo de cianogênio (5,0 M em acetonitrila, 573 µL, 2,87 mmol). A solução resultante foi deixada agitar na temperatura ambiente. Após 24 h, uma segunda alíquota de solução de brometo de cianogênio foi adicionada (600 µL) e a agitação continuou. Após 48 h, uma terceira alíquota de solução de brometo de cianogênio foi adicionada (600 µL) e a agitação continuou. Após um total de 72 h, a mistura de reação foi concentrada, e o resíduo foi dissolvido em diclorometano. A solução foi lavada com solução de hidróxido de sódio a 1N, secada sobre sulfato de magnésio, filtrada, e concentrada para proporcionar 1,17 g de um sólido marrom. A purificação cromatográfica (Coluna Combi-Flash, 40 g de SiO<sub>2</sub> gold, 1-10% de

amônia a 2 M em metanol/diclorometano) forneceu 0,28 g (32%) de 6-bromo-3-(3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)benzil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina como um sólido marrom.

[00098] A uma solução agitada de 6-bromo-3-(3-metóxi-4-(4-metoxibenzilóxi)benzil)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina (0,25 g, 0,53 mmol) em 1,4-dioxana (10 mL) e água (4 mL) foram adicionados o 1-metil-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1*H*-pirazol (0,14 g, 0,66 mmol), o fosfato de potássio tribásico (0,39 g, 1,84 mmol), a triciclo-hexilfosfina (0,015 g, 0,052 mmol), o acetato de paládio(II) (0,005 g, 0,026 mmol). A mistura de reação foi aquecida até 125°C em um reator de micro-ondas. Após 15 min, a mistura de reação foi deixada resfriar até a temperatura ambiente e foi diluída com água. A mistura foi extraída duas vezes com acetato de etila. As fases orgânicas combinadas foram lavadas com salmoura, secadas sobre sulfato de magnésio, filtradas e concentradas para proporcionar 0,36 g de um sólido marrom esverdeado. A purificação cromatográfica (Coluna Combi-Flash, 12 g de SiO<sub>2</sub> gold, 1-10% de amônia a 2 M em metanol/diclorometano) forneceu 0,10 g (41%) do produto como um sólido verde claro.

[00099] A 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina foi adicionada a uma mistura de acetona (2 mL) e água (0,1 mL). A suspensão foi agitada por uma barra de agitação magnética na temperatura ambiente, durante a noite. Os sólidos foram coletados por filtração e secados no ar. A estrutura foi confirmada por RMN de prótons. O termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) exhibe três eventos térmicos a 76,72, 160,13, e 195,78°C, o termograma de análise gravimétrica térmica (TGA) mostra 3,7% de perda de peso de 25-100°C, e a análise por difração de pó de raios X (XRPD) mostra picos únicos nos picos 2θ 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 e 14,3, medidos usando CuK<sub>α</sub> (precisão ± 0,2°).

**Exemplo 1- 2: Identificação da Estrutura Cristalina da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000100] A estrutura cristalina da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina também foi resolvida. Os cristais da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foram recristalizados a partir de acetona/água. Um cristal de 0,20 \* 0,08 \* 0,03 mm de tamanho produziu quadros de difração adequados quando foi colocado sobre o topo de uma MiTeGen Micro Mount. Os dados de difração de raios X foram coletados em um difratômetro de três círculos Bruker/AXS, equipado com um detector de área SMART APEX, um dispositivo de baixa temperatura (modelo LT 2) e um gerador de microfocos de cobre-K, operado a 45 kV/650 µA e uma ótica de multicamadas Montel de feixe de focalização com um diâmetro de ponto de foco da imagem de ~ 250 µm (Wiesmann e col., 2007). Os dados foram coletados usando o pacote de programas SMART V 5.628 (Bruker AXS, 2001), e processados com o programa SAINT + Release 6.45 (Bruker AXS, 2003). Esta análise produziu 2459 reflexões ( $\vartheta_{\min} = 1,78$ ,  $\vartheta_{\max} = 50,21$ ;  $0 < h < 24$ ,  $-4 < k < 0$ ,  $-19 < l < 19$ ), das quais todas as 2459 reflexões eram únicas ( $R_{\text{int}} = \text{n.a.}$ ,  $R_{\sigma} = 0,1583$ ). O refinamento dos parâmetros da célula foi realizado usando 1405 reflexões. Uma correção de absorção empírica foi aplicada e o problema de fase foi resolvido com o módulo de "solução da estrutura" do conjunto APEX2.

[000101] A estrutura foi refinada pelos métodos dos mínimos quadrados (minimização de  $(F_o^2 - F_c^2)^2$ ) usando o módulo XL do conjunto APEX2 (Bruker AXS, 2011). As posições de todos os átomos de hidrogênio foram calculadas,  $S_{\text{goodness of fit}} = 1,085$ ,  $R_{\text{all data}} = 0,1329$  ( $R_{\text{obs. data}} = 0,0920$  para 1614 reflexões com  $|F_{\text{obs}}| > 4\sigma$ ,  $wR2_{\text{all data}} = 0.2710$ ,  $wR2_{\text{obs.}}$

$\text{data} = 0.2377$ ). Os maiores picos não especificados no mapa da diferença correspondem a  $-0,348$  versus  $+0,386$  elétrons por  $\text{\AA}^3$ . O desvio padrão estimado (e.s.d.) médio de uma ligação C-C é  $0,009 \text{ \AA}$ , o de uma ligação O-C é  $0,009 \text{ \AA}$  e o de uma ligação N-C é  $0,009 \text{ \AA}$ . O e.s.d. médio dos ângulos da ligação C-C-C é  $0,7$  e o dos ângulos de torção de C-C-C  $1,004^\circ$ .

[000102] A estrutura cristalina da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é apresentada na Figura 3. A Figura 4 mostra uma sobreposição do padrão de pó experimental com o calculado a partir da estrutura de cristal individual. O forte grau de correlação sugere que a estrutura de cristal individual é indicativa do material volumoso.

**Exemplo 2: Formulações de Suspensões Microcristalinas de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000103] Foram desenvolvidas formulações farmacêuticas de suspensões microcristalinas do inibidor de Trk, onde a forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é o ingrediente ativo. Estas formulações foram desenvolvidas como uma suspensão das partículas insolúveis de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina para manter a liberação do inibidor de Trk para o corpo ao longo do tempo. Esta abordagem baseia-se na fraca solubilidade do ingrediente ativo e na dose para controlar a duração da liberação; também mostra a liberação constante de aproximadamente 1 mês da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina *in vivo*.

**Exemplo 2- 1: Suspensão Microcristalina de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-**

### **imidazo[4,5-b]piridin-2-amina a 20 mg/mL para Injeção**

[000104] Uma formulação farmacêutica compreendendo 20 mg da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina por mL de solução foi preparada. A composição da suspensão microcristalina a 20 mg/mL é proporcionada na Tabela 1 abaixo.

**Tabela 1: Formulação da Suspensão Microcristalina a 20 mg/mL.**

<b>Componente</b>	<b>Composição por Unidade</b>	<b>Função</b>
Forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina	72 mg	Ingrediente ativo
Sorbitol	162 mg	Diluyente
Povidona K17 sem pirogênio	72 mg	Agente de suspensão
Tampão de fosfato (10 mM, pH 7,4)	3,6 mL <sup>†</sup>	Agente de tamponamento

<sup>†</sup> Um enchimento em excesso de 10% é aplicado.

### **Exemplo 2- 2: Método de fabricação da Formulação da Suspensão Microcristalina de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina a 20 mg/mL.**

[000105] A solução a 20 mg/mL da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foi preparada de acordo com as seguintes etapas:

1. Um tampão de fosfato a 10 mM, pH 7,4, é preparado combinando-se quantidades apropriadas de Água para Injeção (WFI), e di-hidrogenofosfato de sódio, agitando para completar a dissolução e então ajustando o pH para 7,4 ( $\pm 0,2$ ) com solução de hidróxido de sódio a 1N.
2. Um veículo é preparado combinando-se as quantidades



apropriadas de sorbitol e Povidona K17 pirogênio, adicionando-se o tampão de fosfato a 10 mM, pH 7,4, e agitando-se até a dissolução completa.

3. O veículo resultante é então filtrado através de um filtro hidrofílico de 0,22 µm de PVDF [poli(fluoreto de vinilideno)].
4. Uma suspensão concentrada é obtida pela mistura da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina com aproximadamente o veículo para obter uma suspensão concentrada a 30 mg/mL.
5. A suspensão concentrada, mantida sob agitação, é filtrada sobre uma peneira de aço inoxidável de 75 µm.
6. A suspensão pré-filtrada permanece sob agitação e é filtrada sobre uma peneira de aço inoxidável de 40 µm para obter a suspensão concentrada.
7. A suspensão concentrada é ajustada com o veículo filtrado para obter uma suspensão a 20 mg/mL.
8. A suspensão final é inserida em frascos pequenos de vidro do tipo I incolores, estéreis e despirogenados até um volume de enchimento de 3,6 mL. Os frascos pequenos são fechados com rolhas de bromo-butila revestidas com ETFE estéreis e despirogenadas. As rolhas são comprimidas com tampas de alumínio estéreis e tampas plásticas brancas estéreis sobre os frascos pequenos.
9. Os frascos pequenos cheios são esterilizados em equipamentos de autoclavar.

**Exemplo 2- 3: Doses Clínicas da Formulação da Suspensão Microcristalina de Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-**

**amina a 20 mg/mL.**

[000106] A suspensão microcristalina a 20 mg/mL da forma de monohidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina é adicionalmente modificada para atingir a dose e o volume a serem administrados ao paciente nas configurações de produtos de fármaco acabados. As doses-alvo são reconstituídas, conforme necessário, a partir da suspensão microcristalina a 20 mg/mL. Um resumo dos diversos formatos de dosagem e volume é proporcionado na Tabela 2.

**Tabela 2: Apresentações Clínicas da Suspensão Microcristalina de Monohidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina a 20 mg/mL**

Dose Alvejada (mg)	Volume Total do Frasco Pequeno Reconstituído (mL)	Concentração Final no Frasco Pequeno (mg/mL)	Volume Administrado ao Paciente (mL)
3	3,47	0,98	3,2
10	3,95	3,29	3,2
30	6,60	10	3,2
60	n/d <sup>†</sup>	20	3,2
100	n/d <sup>†</sup>	20	5,4 <sup>‡</sup>

<sup>†</sup> Reconstituição não requerida para atingir a concentração final desejada.

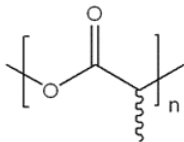
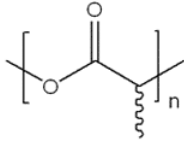
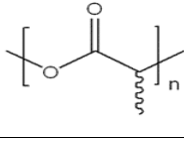
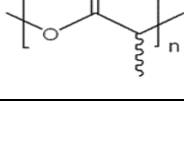
<sup>‡</sup> Frascos pequenos de 2 x 2,7 mL.

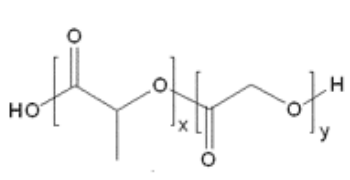
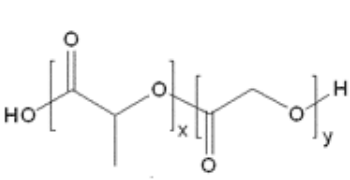
**Exemplo 3: Formulações de Liberação Prolongada de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000107] Em alguns casos, a duração da liberação do fármaco é desejada ser prolongada, por exemplo, para um tempo de exposição maior do que 3 meses. Consequentemente, as formulações de liberação prolongada do inibidor de Trk 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina como o ingrediente ativo são produzidas e formuladas usando a forma sem hidrato

ou de mono-hidrato do composto. A abordagem de formulação de liberação prolongada usa os polímeros de poli(D,L-lactídeo) (PLA), poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA) ou uma combinação de polímeros de PLA-PLGA para encapsular a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (o ingrediente farmacêutico ativo [API] ou a substância de fármaco [DS]) para produzir uma solução de produtos de fármacos [DP] de microcápsulas injetáveis. Estas formulações podem proporcionar uma exposição constante, ou maior do que 3 meses, do fármaco no corpo. Um resumo dos diferentes polímeros usados na preparação das formulações de liberação prolongada deste exemplo é proporcionado na Tabela 3.

**Tabela 3: Polímeros Usados nas Formulações de Liberação Prolongada do Mono-hidrato de 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

Código de Referência do Polímero de Evonik	Nome do Polímero	Estrutura Geral	Viscosidade Intrínseca* (g/mol)	Grupo Terminal
R202H	Poli(D,L-lactídeo) [PLA]		0,16-0,24	Ácido
R202S	Poli(D,L-lactídeo) [PLA]		0,16-0,24	Éster
R203H	Poli(D,L-lactídeo) [PLA]		0,25-0,35	Ácido
R203S	Poli(D,L-lactídeo) [PLA]		0,25-0,35	Éster

Código de Referência do Polímero de Evonik	Nome do Polímero	Estrutura Geral	Viscosidade Intrínseca* (g/mol)	Grupo Terminal
RG502H	Poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) a 50:50 [PLGA]		0,16-0,24	Ácido
RG752H	Poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo) a 75:25 [PLGA]		0,14-0,22	Ácido

\* A viscosidade intrínseca é medida a 0,1% p/v em CHCl<sub>3</sub> a 25°C, com um viscosímetro capilar de vidro de tamanho 0c Ubbelohde.

Fonte: <http://www.resomer.com/product/biodegradable-polymers/en/pharma-polymers/products/pages/bioresorbable-polymer.aspx>

[000108] As formulações farmacêuticas de liberação prolongada de inibidores de Trk, com a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina como o ingrediente ativo, usam os polímeros biodesagregáveis, poli(D,L-lactídeo) e/ou poli(D,L-lactídeo-co-glicolídeo), para alterar o controle da liberação do ingrediente ativo a partir da dissolução das partículas de fármaco até a hidrólise do polímero. Usando a combinação apropriada de polímeros e carga de ingrediente ativo, a taxa de liberação do fármaco pode ser controlada para resultar em 3 ou mais meses de exposição. As combinações particulares de polímeros de PLGA/PLA e 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina são combinadas em um modo que prolonga a duração da

liberação do fármaco até mais do que 3 meses; estas formulações são discutidas adicionalmente neste exemplo.

**Exemplo 3- 1: Efeito da Carga de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina sobre o Perfil de Liberação *in vitro***

[000109] As composições farmacêuticas compreendendo as microesferas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foram preparadas por extração com solvente. As quantidades de massas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina e polímero de PLA/PGLA usadas para preparar cada batelada estão apresentadas na Tabela 4. As cinéticas de liberação *in vitro* (IVR) destas diversas formulações foram examinadas.

**Tabela 4: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> - 12% de API/R202H:752H a 9:1, 16% de API/R202H:752H a 9:1 e 20% de API/R202H:752H a 9:1.**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*
1	12%	36	R202H: 752H a 9:1	234:26
2	16%	50	R202H: 752H a 9:1	234:26
3	20%	65	R202H: 752H a 9:1	234:26

<sup>‡</sup> Preparadas por extração com solvente.

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000110] A 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foi dissolvida em 2 mL de diclorometano (DCM):metanol (MeOH) a 9:1 com aquecimento suave (~30 minutos). Os polímeros foram adicionados e dissolvidos durante 30 minutos. Separadamente, 39 mL de solução de polivinilamina (PVA) gelada, filtrada estéril (5% p/v em água), foram colocados em um béquer

de 250 mL equipado com uma barra de agitação magnética de Teflon de 7,9 x 38,1 mm. O béquer foi colocado em um banho de gelo sobre uma placa de agitação básica IKA RCT ajustada a 500 rpm. A solução de polímero/fármaco foi filtrada para a solução de PVA usando um filtro de seringa de PTFE de 0,2 µm Pall Acrodisc unido a uma seringa Hamilton de vidro de 5 cm<sup>3</sup>. Com a adição, a solução de polímero/fármaco formou uma emulsão. Após 1 minuto, 160 mL de água deionizada fria foram adicionados. Após 5 minutos, a velocidade da agitação foi diminuída para 300 rpm. As microesferas foram formadas por extração com solvente durante 3 horas. As microesferas foram peneiradas através de peneiras empilhadas de 75 µm e 38 µm, usando 0,1% de Kolliphor P 407 gelado em água deionizada; a fração de 38-75 µm foi coletada e a solução de enxágue em excesso foi removida. As microesferas foram congeladas a -80°C e liofilizadas.

[000111] A cinética de IVR da liberação da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina a partir das formulações de microesferas foi determinada pela preparação de uma suspensão aquosa a 2% (p/v) de microesferas em 0,2% de ácido hialurônico + 0,2% de Kolliphor P 407, pretendida imitar o ambiente intra-articular do joelho. Em triplicata, os volumes das suspensões contendo uma carga teórica de 500 µg de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foram pipetados para tubos de centrifuga de vidro de 50 mL separados contendo meio de liberação de 0,5% de dodecil sulfato de sódio em PBS, pH 7,4. Os tubos foram colocados deitados em uma incubadora de agitador recíproco a 37 °C. Em cada ponto do tempo, as microesferas eram deixadas sedimentar e 1 mL de meio de liberação era amostrado e substituído. Para determinar a massa total efetiva de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina nas amostras de IVR, os mesmos

volumes de suspensões usados para o estudo de liberação foram amostrados (em triplicata) e 10 mL de sulfóxido de dimetila foram adicionados. As amostras foram sonicadas, aquecidas suavemente e colocadas sobre um balancim na temperatura ambiente para dissolver. Estas amostras foram analisadas quanto ao teor total de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina usando HPLC-UV. Um perfil de IVR cumulativa foi representada graficamente como a porcentagem de carga efetiva de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina versus o tempo.

[000112] A eficiência de encapsulação da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foi determinada pela divisão da carga de fármaco efetiva pela carga teórica. Para determinar a carga efetiva, as massas precisamente pesadas das microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foram dissolvidas em sulfóxido de dimetila e a concentração de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foi medida por HPLC-UV.

[000113] Os perfis de IVR mostraram que os níveis de carga de fármaco acima de 16% (p/p) apresentaram uma liberação brusca (Figura 5). A causa para esta liberação brusca foi identificada por calorimetria de varredura diferencial (DSC) e microscopia eletrônica de varredura (SEM). A análise por DSC indicou que os níveis de carga de fármaco acima de 16% (p/p) mostraram uma cristalização do fármaco nas microesferas, conforme evidenciada por uma endotérmica de fusão a 130 - 150°C (Figura 6). A cristalização de fármaco também foi revelada por SEM, onde os níveis de carga de fármaco acima de 16% mostraram cristais do fármaco sobre as superfícies das microesferas (Figura 7).

[000114] A Figura 6 demonstra que 20% das microesferas mostram

uma endotérmica de fusão entre 130 - 150°C, confirmando a presença de cristais de fármaco sobre as superfícies. A Figura 7 e a Figura 8 mostram as SEMs das microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em 1500X. A Figura 7, microesferas carregadas com 16% de fármaco, não mostra nenhum cristal de fármaco (o fármaco é amorfo); A Figura 8, microesferas carregadas com 20% de fármaco, mostra cristais de fármaco sobre as superfícies.

[000115] O efeito da cristalização do fármaco sobre a IVR também foi demonstrado usando composições de microesferas relacionadas. A Figura 9 mostra a IVR de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina de microesferas preparadas com o polímero R202H. A Figura 10 mostra a IVR de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina de microesferas preparadas com uma razão de 9,5:0,5 dos polímeros R202H e RG752H. Nestes exemplos, os níveis de carga de fármacos acima de 16% (p/p) mostraram uma liberação brusca; a extensão da liberação brusca de fármacos estava diretamente relacionada ao nível de carga de fármaco.

**Exemplo 3- 2: Efeito das Misturas de Polímeros de Poli-lactídeo e Poli-lactídeo-co-glicolídeo sobre o Perfil de Liberação *in vitro* de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

**Exemplo 3- 2- 1: Microesferas de 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG752H a 9,0:0,5 e 16% de API/R202H:752H a 9:1**

[000116] As composições farmacêuticas compreendendo 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H, R202H:RG752H a 9,0:0,5 e R202H:752H a 9:1 e 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H,



R202H:RG502H a 9,0:0,5 e R202H:RG502H a 9:1 foram preparadas para avaliar o efeito de diferentes misturas de polímeros sobre a cinética de liberação *in vitro* de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A Tabela 5 apresenta as massas de fármaco e polímeros usadas para preparar cada batelada. O método usado para preparar estas formulações está descrito no Exemplo 3- 1.

**Tabela 5: Formulações de Microesferas de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina com Misturas de Polímeros de Poli-lactídeo e Poli-lactídeo-co-glicolídeo (16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG752H a 9,0:0,5 e 16% de API/R202H:RG752H a 9:1)**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*
4	16%	50 mg	R202H	260
5	16%	50 mg	R202H:RG752H a 9,5:0,5	247:13
6	16%	50 mg	R202H:RG752H a 9:1	234:26

<sup>‡</sup> Preparadas por extração com solvente.

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000117] As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. A eficiência de encapsulação para as formulações 4, 5 e 6 foi  $96,1 \pm 2,6\%$ ,  $87,8 \pm 6,3\%$ , e  $77,7 \pm 8,6\%$ , respectivamente.

[000118] As microesferas preparadas usando 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina no polímero R202H exibiram uma taxa de liberação bifásica, com uma taxa de liberação inicial lenta de 0 - 70 dias, seguida

por uma taxa de liberação secundária mais rápida de 70 - 110 dias (Figura 11). A mistura de um polímero mais hidrofílico, o RG752H (PLGA a 75:25), nas formulações de microesferas de PLA aumentou a taxa inicial de liberação. Este polímero de PLGA permitiu a absorção de água mais rápida nas microesferas, levando ao aumento da taxa. Na razão de 9:1 de R202H:RG752H, a liberação inicial igualou a taxa de liberação secundária, produzindo um perfil de liberação de pseudo-ordem zero durante 3 meses (Figura 11).

**Exemplo 3- 2- 2: Microesferas de 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5 e 16% de API/R202H:RG502H a 9:1**

[000119] As composições farmacêuticas compreendendo 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H, R202H:RG502H a 9,0:0,5 e R202H:RG502H a 9:1 foram preparadas para avaliar o efeito de diferentes misturas de polímeros sobre a cinética de liberação *in vitro* de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A Tabela 6 apresenta as massas de fármaco e polímeros usadas para preparar cada batelada. O método usado para preparar estas formulações está descrito no Exemplo 3- 1.

**Tabela 6: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> - 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5 e 16% de API/R202H:RG502H a 9:1.**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*
7	16%	50 mg	R202H	260
8	16%	50 mg	R202H:RG502H a 9,5:0,5	247:13
9	16%	50 mg	R202H:RG502H a 9:1	234:26

<sup>‡</sup> Preparadas por extração com solvente.

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000120] As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. A eficiência de encapsulação para as formulações 7, 8, e 9 era  $96,1 \pm 2,6\%$ ,  $91,7 \pm 3,3\%$ , e  $94,2 \pm 2,5\%$ , respectivamente.

[000121] As microesferas preparadas usando 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em polímero R202H exibiram uma taxa de liberação bifásica, com uma taxa de liberação inicial lenta de 0 - 70 dias, seguida por uma taxa de liberação secundária mais rápida de 70 - 110 dias (Figura 12). A mistura de um polímero de PLGA a 50:50 mais hidrofílico (RG752H) nas formulações de microesferas de PLA aumentou a taxa inicial de liberação. O RG752H permitiu a absorção de água mais rápida nas microesferas, levando a este aumento da taxa. Na razão de 9,5:0,5 de R202H:RG502H, a liberação inicial igualou a taxa de liberação secundária, produzindo um perfil de liberação de pseudo-ordem zero durante 6 meses (Figura 12).

**Exemplo 3- 3: Preparação e Caracterização das Formulações de Microesferas Mostrando Cinética de Liberação *in vitro* de Ordem Zero Durante 180 Dias.**

[000122] As composições farmacêuticas compreendendo 15% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R203H:RG752H a 9:1 e 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H:RG502H a 9,0:0,5 foram preparadas e analisadas quanto à cinética de liberação *in vitro*. A Tabela 7 apresenta as massas de fármaco e polímeros usadas para preparar cada batelada.

**Tabela 7: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> - 15% de API/R203H:RG502H a 9:1 e 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5)**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*
10	15%	46 mg	R203H:RG752H a 9:1	234:26
11	16%	50 mg	R202H:RG502H a 9,5:0,5	247:13

<sup>‡</sup> Preparadas por extração com solvente.

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000123] As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. A eficiência de encapsulação para as formulações 10 e 11 era  $89,7 \pm 2,1\%$  e  $91,7 \pm 3,3\%$ , respectivamente.

[000124] As microesferas preparadas usando 15% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina nos polímeros R203H:752H em uma razão de 9:1 e 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina nos polímeros R202H:RG502H em uma razão de 9,5:0,5 exibiram um perfil de liberação de pseudo-ordem zero durante 6 meses (Figura 13).

**Exemplo 3- 4: Efeito dos Sistemas de Cossolventes na Preparação sobre o Perfil de Liberação *in vitro* de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

**Exemplo 3- 4- 1: 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 como Preparado em DCM:MeOH a 9:1, DCM:MeOH:BA a 9:0,5:0,5, DCM:BA a 9:5 e DCM:BA a 9:1.**

[000125] As composições farmacêuticas compreendendo as microesferas carregadas com 16% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H:RG752H a 9:1 foram preparadas usando várias soluções de

cossolventes com diferentes razões dos solventes diclorometano (DCM), metanol (MeOH) e álcool benzílico (BA). As razões usadas foram DCM:MeOH a 9:1, DCM:MeOH:BA a 9:0,5:0,5, DCM:BA a 9,5:0,5, e DCM:BA a 9:1. Recorrer à Tabela 8 quanto ao fármaco, polímeros e cossolventes usados para preparar cada batelada. O método usado para preparar estas formulações está descrito no Exemplo 3- 1.

**Tabela 8: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> Preparadas com Vários Sistemas de Cossolventes - 16% de API/R203H:RG752H a 9:1**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*	Sistema de Cossolventes
12	16%	50 mg	R202H:RG 752H a 9:1	234:26	DCM:MeOH a 9:1
13	16%	50 mg	R202H:RG 752H a 9:1	234:26	DCM:MeOH:BA a 9:0,5:0,5
14	16%	50 mg	R202H:RG 752H a 9:1	234:26	DCM:BA a 9,5:0,5
15	16%	50 mg	R202H:RG 752H a 9:1	234:26	DCM:BA a 9:1

<sup>‡</sup> Preparadas por extração com solvente (vários sistemas de cossolventes).

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000126] As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. A eficiência de encapsulação para as bateladas 12, 13, 14, e 15 era  $77,7 \pm 8,6\%$ ,  $94,9 \pm 2,0\%$ ,  $90,5 \pm 2,6\%$ , e  $94,4 \pm 1,5\%$ , respectivamente. O álcool benzílico foi escolhido para incorporar nos sistemas de cossolventes devido à sua capacidade aumentada de solubilizar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A Figura 14 e a Figura 15 mostram que o álcool benzílico pode ser usado como parte de um sistema de cossolventes com o diclorometano ou o diclorometano e o

metanol, para produzir as microesferas sem afetar as taxas de liberação. Isto pode ser útil na redução da recristalização potencial da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina durante a produção das microesferas.

**Exemplo 3- 4- 2: Uso de DCM:BA para Aumentar a Carga de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000127] As composições farmacêuticas que compreendem 16% e 25% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H:RG752H a 9:1, 30% e 40% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H, e 25%, 30%, 40% e 50% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R203H foram preparadas usando diversos volumes de diclorometano (DCM) e álcool benzílico (BA). Recorrer à Tabela 9 quanto às massas de fármaco e polímeros e volumes de solventes usados para preparar cada batelada. O método usado para preparar estas formulações está descrito no Exemplo 3- 1.

**Tabela 9: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> Preparadas com o Sistema de Cossolventes de DCM:BA - 16% de API/R202H:RG752H a 9:1, 25% de API/R202H:RG752H a 9:1 , 30% de API/R202H, 40% de API/R202H, 25% de API/R203H, 30% de API/R203H, 40% de API/R203H, 50% de API/R203H**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*	Sistema de Cossolventes [volume de solvente + volume de solvente (mL)]
16	16%	50 mg	R202H:RG752H a 9:1	234:26	0,2 mL de BA + 1,8 mL de DCM
17	25%	84 mg	R202H:RG752H a 9:1	234:26	0,2 mL de BA + 1,8 mL de DCM

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*	Sistema de Cos-solventes [volume de sol-vente + volume de solvente (mL)]
18	30%	112 mg	R202H	260	0,26 mL de BA + 1,2 mL de DCM
19	40%	174 mg	R202H	260	0,4 mL de BA + 1,2 mL de DCM
20	40%	174 mg	R202H	260	0,5 mL de BA + 1,2 mL de DCM
21	25%	84 mg	R203H	260	0,2 mL de BA + 1,8 mL de DCM
22	30%	112 mg	R203H	260	0,2 mL de BA + 1,8 mL de DCM
23	40%	174 mg	R203H	260	0,4 mL de BA + 1,2 mL de DCM
24	40%	174 mg	R203H	260	0,5 mL de BA + 1,2 mL de DCM
25	50%	260 mg	R203H	260	0,5 mL de BA + 1,2 mL de DCM
26	50%	26 mg	R203H	260	0,61 mL de BA + 1,2 mL de DCM

‡ Preparadas por extração com solvente

† GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000128] As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. A eficiência de encapsulação para as formulações produzidas com volumes variados de dicloro-metano (DCM) e álcool benzílico (BA) foram:

Batelada	Eficiência de Encapsulação
16	94,4 ± 1,5%
17	96,0 ± 1,8%
18	99,2 ± 3,6%

Batelada	Eficiência de Encapsulação
19	94,0 ± 1,0%
20	100,5 ± 1,0%
21	91,2 ± 0,5%
22	90,2 ± 2,8%
23	95,5 ± 6,8%
24	95,4 ± 3,1%
25	95,0 ± 0,8%
26	94,7 ± 1,7%

[000129] O álcool benzílico foi escolhido para incorporar nos sistemas de cossolventes devido à sua capacidade aumentada de solubilizar a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A Figura 10 mostra que o álcool benzílico pode ser usado como parte de um sistema de cossolventes com o diclorometano, para produzir microesferas com cargas tão altas quanto 50% (p/p). Alguns dos perfis de liberação mostrados têm uma liberação brusca mínima e cinéticas que devem atingir 3-6 meses de duração. O volume de álcool benzílico usado no processo provoca a liberação brusca da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. A redução da quantidade de álcool benzílico no sistema de solventes, embora ainda mantendo a solubilidade do API, a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, na solução de polímeros, reduz o efeito de liberação brusca. O aumento da carga de API proporciona benefício por diminuir a quantidade de polímero administrado ao paciente. Espera-se que isso melhore a biocompatibilidade do implante e reduza o potencial por acúmulo de polímero após administrações repetidas. Além disso, as cargas de API aumentadas devem se converter em menores custos de fabricação por unidade.



**Exemplo 3- 5: Efeito do Processo de Microencapsulação de Suspensão Micronizada sobre o Perfil de Liberação *in vitro* de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000130] As composições farmacêuticas que compreendem 25% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina (forma de mono-hidrato) em R202H:RG752H a 9:1, 30% e 40% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R203H:RG752H a 9:1, 25% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H, 30% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202S, e 30% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R203S foram preparadas com a forma de mono-hidrato da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina. Recorrer à Tabela 10 quanto às massas de fármaco e polímeros usadas para preparar cada batelada. As Bateladas 27, 28 e 29 foram preparadas usando a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina a partir das bateladas de fabricação, enquanto as Bateladas 30, 31, 32, 33, 34 e 35 foram preparadas usando a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina que foi micronizada usando um processo de microfluidização para assegurar que o tamanho de partícula fosse menos do que 10 µm de diâmetro. Este exemplo compara a diferença nas microesferas obtidas quando o polímero é disperso em uma solução de poli(álcool vinílico) (PVA), com ou sem acetato de etila (EA), assim como a carga de API, a composição dos polímeros e as concentrações variadas de solução de polímeros (pela variação do volume de EA).

**Tabela 10: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> Preparadas com o Processo de Microencapsulação de Suspensão Micronizada - 16% de API/R202H:RG752H a 9:1, 25% de API/R202H:RG752H a 9:1, 30% de API/R202H, 40% de API/R202H, 25% API/R203H, 30% de API/R203H, 40% de API/R203H, 50% de API/R203H**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*	Volume e Composição da Solução de Dispersão (mL)	Volume de Acetato de Etila (mL)
27	25%	84 mg	R202H:RG752H a 9:1	234:26	39 mL de 5% de PVA	2,6
28	25%	84 mg	R202H:RG752H a 9:1	234:26	39 mL de 5% de PVA	3,25
29	25%	84 mg	R203H	260	39 mL de 5% de PVA	2,0
30	30%	112 mg	R203H:RG752H a 9:1	234:26	39 mL de 5% de PVA + 2,5% de Acetato de Etila	2,0
31	40%	174 mg	R203H:RG752H a 9:1	234:26	39 mL de 5% de PVA + 2,5% de Acetato de Etila	2,0
32	30%	112 mg	R203H:RG752H a 9:1	234:26	39 mL de 5% de PVA + 2,5% de Acetato de Etila	2,0
33	30%	112 mg	R203H:RG752H a 9:1	234:26	39 mL de 5% de PVA + 2,5% de Acetato de Etila	2,3
34	30%	112 mg	R202S	260	39 mL de 5% de PVA + 2,5% de Acetato de Etila	2,0

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*	Volume e Composição da Solução de Dispersão (mL)	Volume de Acetato de Etila (mL)
35	30%	112 mg	R203S	260	39 mL de 5% de PVA + 2,5% de Acetato de Etila	2,0

<sup>‡</sup> Preparadas por extração com solvente

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg.

[000131] As análises por SEM mostraram que as microesferas produzidas por encapsulação de uma suspensão de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina eram esféricas, com uma textura superficial irregular devido à presença de cristais de fármaco incrustados na superfície (Figura 16). As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. A eficiência de encapsulação para os números das bateladas 30, 31, 32, 33, 34, e 35 era  $103,3 \pm 3,8\%$ ,  $101,6 \pm 5,3\%$ ,  $94,7 \pm 4,0\%$ ,  $97,1 \pm 0,2\%$ ,  $35,6 \pm 0,8\%$  e  $62,5 \pm 3,0\%$ , respectivamente. A eficiência de encapsulação não foi realizada nas bateladas 27, 28 ou 29.

[000132] Os perfis de IVR mostraram uma liberação brusca variando de 25% a 47%, seguida por uma ausência de liberação após 4 dias (Figura 17). As bateladas foram avaliadas por até 21 dias.

### **Exemplo 3- 6: Efeito do Processo de Microencapsulação sobre o Perfil de Liberação *in vitro* da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000133] As composições farmacêuticas compreendendo 16% e 25%

de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R202H:RG752H a 9:1 e 25% e 30% de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em R203H foram preparadas usando uma razão de 9:1 de diclorometano (DCM):álcool benzílico (BA). Recorrer à Tabela 11 quanto às massas de fármaco e polímeros usadas para preparar cada batelada. O método usado para preparar a Batelada 23 está descrito no Exemplo 3- 1, Batelada 2. A Batelada 24 foi preparada por dissolução da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em 5,016 g de DCM/MeOH a 9:1 com sonicação suave. Os dois polímeros foram então adicionados e dissolvidos.

**Tabela 11: Composições das Microesferas Preparadas por Extração com Solvente e Secagem por Pulverização - 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 e Sem API/R202H:RG752H a 9:1**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*	Processo de Microencapsulação
36	16%	50 mg	R202H:RG752H a 9:1	234:26	Extração com solvente
37	16%	238,8 mg	R202H:RG752H a 9:1	1140:114	Secagem por pulverização
38	16%	238,8 mg	R202H:RG752H a 9:1	1140:114	Secagem por pulverização
39	16%	238,8 mg	R203H:RG752H a 9:1	1140:114	Secagem por pulverização

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg para a batelada 23 e 1254 mg para a batelada 24

[000134] A secagem por pulverização foi realizada usando uma unidade ProCepT, 4M8, equipada com um bocal de dois fluidos com uma abertura de 0,4 mm. As condições e os parâmetros da secagem por

pulverização estão listados abaixo:

No. da Batelada	37	38	39
Carga de GZ389988 (% p/p)	16	16	16
Solvente (Cloro de Metileno:Metanol (v/v))	90:10	90:10	90:10
Concentração da Solução de PLGA (% p/v):	20	22,5	22,5
Taxa de Pulverização (mL/min):	0,7	0,7	0,7
Fluxo de Nitrogênio Atomizador (L/min):	4	4	4
Quantidade de Pulverização (g):	6,4	5,8	5,8
Temperatura de Entrada (°C):	50	50	50
Temperatura da Câmara (°C):	41-43	40,7	40,0
Temperatura de Escape (°C):	27,4	22,0	22,1
Fluxo de Nitrogênio (m³/min):	0,35	0,35	0,35
Pressão do Tubo de Transferência [Pa (mbar)]:	3100-3200 (31-32)	3100-3200 (31-32)	3200 (32)
Rendimento (% p/p)	72,8	76,7	51,6

[000135] As análises por SEM mostraram que as microesferas por extração com solvente eram esféricas, com uma textura superficial uniforme, e as microesferas secadas por pulverização eram esféricas, com alguma textura superficial (Figura 18 e Figura 19). As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. As eficiências de encapsulação para a batelada 36 de extração com solvente e as bateladas 37 e 38 de secagem por pulverização eram  $107,4 \pm 11,6\%$ ,  $91,4 \pm 4,3\%$  e  $92,6 \pm 3,6\%$ , respectivamente.

[000136] Os dois processos de microencapsulação produziram microesferas com perfis de liberação de ordem quase zero. A Figura 18 e Figura 19 mostram as SEMs das microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina a 1000X. Os perfis de IVR mostram diferentes taxas de liberação (Figura 20); a formulação secada por pulverização atinge a duração desejada de liberação de 3-6 meses.

**Exemplo 3- 7: Efeito de 1% de 10 kDa de PEG ou 1% de Poloxâmero 407 sobre o Perfil de Liberação *in vitro* das Microesferas Secadas por Pulverização de 16% (p/p) de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000137] Este experimento foi realizado para determinar se a adição de um aditivo hidrofílico poderia ser usada para acelerar a taxa de liberação *in vitro* da GZ389988 das microesferas de PLA/PGA. Neste experimento, as microesferas (sem aditivos) foram comparadas com as microesferas preparadas com 1% de 10 kDa de PEG ou 1% de Poloxâmero 407. A Tabela 12 detalha as massas de fármaco e polímeros usadas para preparar cada batelada.

**Tabela 12: Composições das Microesferas<sup>‡</sup> Preparadas com 1% de 10 kDa de PEG ou 1% de Poloxâmero 407 - 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem Aditivo, 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG, 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407.**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Peso da GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg:mg)	Quantidade de Aditivo (mg)
40	16%	500 mg	R202H:R203H a 1:1	1310:1310	N/D
41	16%	500 mg	R202H:R203H a 1:1	1297:1297	31,25 de PEG de 10 kDa
42	16%	500 mg	R202H:R203H a 1:1	1297:1297	31,25 de Poloxâmero 407

<sup>‡</sup> Preparadas através de secagem por pulverização.

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina.

[000138] A secagem por pulverização foi realizada usando uma unidade ProCepT, 4M8, equipada com um bocal de dois fluidos com uma abertura de 0,4 mm. As condições e os parâmetros de secagem por pulverização estão listados abaixo:

No. da Batelada	40	41	42
Carga de GZ389988 (% p/p)	16	16	16
Concentração da Solução de PLGA (% p/v):	22,5	22,5	22,5
Taxa de Pulverização (mL/min):	0,7	0,7	0,7
Fluxo de Ar (L/min):	0,35	0,35	0,35
Fluxo de Nitrogênio Atomizador (L/min):	4	4	4
Temperatura do Resfriador (°C):	-4	-4	-4
Temperatura de Entrada (°C):	50	50	50
Temperatura da Câmara (°C):	40	40	40
Temperatura de Escape (°C):	29	29	29
Pressão no Pré-Ciclone [Pa (mBar)]:	2700-3000 (27-30)	2700-3000 (27-30)	2700-3000 (27-30)

[000139] As análises por SEM mostraram que as microesferas secadas por pulverização, preparadas com ou sem aditivos hidrofílicos, mostraram uma distribuição de tamanho e uma textura superficial similares; todas as microesferas secadas por pulverização eram esféricas, com alguma textura superficial (Figura 21, Figura 22, e Figura 23). As análises de eficiência de encapsulação e IVR foram realizadas conforme descrito no Exemplo 3- 1. As eficiências de encapsulação para os números das bateladas secadas por pulverização 40, 41 e 42 eram  $102,0 \pm 16,3\%$ ,  $101,7 \pm 16,3\%$  e  $100,5 \pm 16,1\%$ , respectivamente.

[000140] As microesferas preparadas sem aditivos mostraram uma liberação de GZ389988 de ordem quase zero, lenta, com aproximadamente 20% do composto ativo liberado durante 35 dias (Figura 24). A adição de 1% de 10 kDa de PEG ou 1% de Poloxâmero 407 aumentou a taxa de liberação; aproximadamente 42% do composto ativo foram liberados durante 35 dias. Este exemplo demonstra que a incorporação de um excipiente hidrofílico acelerou a taxa de liberação *in vitro* de GZ389988 das microesferas de PLA/PGA.

#### **Exemplo 4: Estudos *in vivo***

##### **Exemplo 4- 1: Desempenho *in vivo* das Microesferas Carregadas com $[^{14}\text{C}]$ -3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina Após a injeção Intra-articular em uma Articulação do Joelho do Rato**

[000141] Duas formulações foram selecionadas para comparar a cinética de liberação *in vitro* com a permanência do fármaco *in vivo* na articulação do joelho do rato. As formulações estão apresentadas na Tabela 13.

[000142] O teste da liberação *in vitro* foi realizado usando o método descrito no Exemplo 3- 1. O teste da permanência do fármaco *in vivo* foi realizado usando a  $[^{14}\text{C}]$ -3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina e a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina não marcada; as duas formas de fármacos foram solubilizadas em conjunto, durante o processo de microencapsulação, para garantir a distribuição uniforme do fármaco nas microesferas. A quantidade total de radioatividade administrada a cada articulação do rato foi ~ 1,2 MBq.

[000143] A avaliação do fármaco que permaneceu nas articulações dos joelhos dos ratos foi realizada sacrificando 2-3 ratos em cada ponto do tempo, triturando em temperaturas muito baixas a articulação do joelho e extraíndo a 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina do tecido triturado. A quantificação foi realizada por contagem de cintilação líquida. A quantidade de radioatividade recuperada na articulação foi calculada dividindo-se as contagens radioativas em cada ponto do tempo pelas contagens radioativas nos ratos sacrificados em 0,1 hora após o tratamento. A concentração do fármaco radioativo no sangue do rato (expressa como nEq/g) foi representada graficamente ao longo do tempo e



comparada com o valor de IC<sub>50</sub> conhecido para o composto.

**Tabela 13: Composições das Microesferas Testadas *In vivo* - 16% de API/202:H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1**

No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup> + [14C] GZ389988	Peso de GZ389988 (mg)	Razão de Polímeros	Quantidade de Polímeros (mg)*
43	16%	50 mg	R202H:RG502H a 9:1	234:26
44	15%	47 mg	R203H:RG752H a 9:1	234:26

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

\* Quantidade Total de Polímeros = 260 mg

[000144] Os perfis de IVR para as bateladas 40 e 41 mostram uma liberação de ordem quase zero durante aproximadamente 3-4 meses e 5-6 meses, respectivamente (Figura 25). Após a administração intra-articular nas articulações dos joelhos dos ratos, as Bateladas 43 e 44 mostraram uma liberação do fármaco durante 5 a 6 meses; a Batelada 43 mostrou 12% permanecendo na articulação após 5 meses e a Batelada 44 mostrou 30% do fármaco permanecendo após 6 meses (Figura 26). A taxa de liberação do fármaco *in vivo* foi ligeiramente menor comparada com a taxa de IVR, provavelmente devida à localização das microesferas na sinóvia.

[000145] A Figura 27 mostra o perfil de concentração de fármaco-tempo no sangue. Após a administração intra-articular das microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, a concentração da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina no compartimento sistêmico estava ligeiramente acima do valor de EC<sub>50</sub> (com base nas células) durante a primeira semana, mas, em seguida, caiu abaixo do valor de EC<sub>50</sub> pela duração do experimento (5-6 meses). Este experimento demonstra que as microesferas carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-

metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina proporcionam uma liberação do fármaco local, constante, para a articulação do joelho, com baixa exposição sistêmica (i.e., subterapêutica) ao fármaco.

**Exemplo 4- 2: Avaliação da Farmacocinética da GZ389988 Após uma Injeção Intra-articular, Única, de Três Formulações de Microesferas de Liberação Prolongada das Microesferas Carregadas com 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000146] Três formulações foram selecionadas para comparar a farmacocinética *in vitro* e *in vivo* no compartimento sistêmico após a injeção intra-articular nas articulações dos joelhos dos ratos. As formulações estão apresentadas na Tabela 14.

[000147] O teste de liberação *in vitro* foi realizado usando o método descrito no Exemplo 3- 1. O desempenho *in vivo* foi medido injetando 3 ratos Wistar machos com uma dada formulação da microesfera, liberando 0,1 ou 1 mg de GZ389988 na articulação do joelho. Em cada ponto de tempo, as amostras de sangue (~0,25 mL) eram coletadas por meio de uma cânula na veia jugular e colocadas em tubos resfriados contendo K<sub>2</sub>EDTA como o anticoagulante, misturadas, e mantidas sobre gelo até a centrifugação. As amostras foram centrifugadas dentro de 1 hora da coleta, em uma temperatura de 4°C, a 3.000 x g, por 5 a 10 minutos. O plasma foi coletado após a centrifugação das amostras de sangue para tubos de polipropileno. As amostras de plasma foram congeladas sobre gelo seco e armazenadas congeladas a -60 a -80°C, antes da análise por LC-MS/MS. A concentração de GZ389988 no plasma do rato (expressa em ng/mL) foi representada graficamente ao longo do tempo (total de 28 dias).

**Tabela 14: Composições e Dose das Microesferas Testadas na Avaliação da Farmacocinética da GZ389988**

Formulação	No. da Batelada	Carga de GZ389988 <sup>†</sup>	Razão de Polímeros	Dose administrada (mg)
A	45	16%	R202H:RG752H a 9:1	0,1
	46	16%	R202H:RG752H a 9:1	1
B	47	15%	R203H:RG752H a 9:1	0,1
	48	15%	R203H:RG752H a 9:1	1
C	49	40%	R203H	0,1
	50	40%	R203H	1

<sup>†</sup> GZ389988 = 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

[000148] Os perfis de IVR para a Formulação e a Formulação B mostram uma liberação lenta, com aproximadamente 10% do composto ativo liberado durante 28 dias. A Formulação C mostra uma liberação inicial ligeiramente maior durante os primeiros 5 dias, seguida por uma taxa de liberação diminuída durante os 23 dias restantes; aproximadamente 22% do composto ativo foram liberados durante 28 dias.

[000149] Após a administração intra-articular nas articulações dos joelhos dos ratos, as Formulações A e B mostraram perfis similares de exposição ao fármaco no plasma durante 28 dias; ambas as formulações mostraram valores de  $T_{\text{máx}}$  de 1-1,5 hora, com níveis de plasma no estado estacionário ao longo da duração do experimento (0,08 e 0,8 ng/mL para as doses de 0,1 e 1,0 mg, respectivamente). Comparada com as Formulações A e B, a Formulação C mostrou um valor de  $C_{\text{máx}}$  maior e um nível de plasma no estado estacionário mais elevado ao longo da duração do experimento (1,2 a 12 ng/mL para as doses de 0,1 e 1,0 mg, respectivamente) (Figura 29). Estes resultados estavam em boa concordância com os resultados do experimento de IVR.

**Exemplo 4- 3: Estudo Clínico para Avaliar a Segurança, a Tolerabilidade e a Farmacocinética da 3-(3-Metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em Pacientes com Osteoartrite Dolorosa do Joelho**

[000150] A segurança e a eficácia da forma de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina em seres humanos foram testadas em um estudo clínico de duas partes, duplo cego, controlado com placebo, para avaliar a segurança, a tolerabilidade e a farmacocinética de doses individuais intra-articulares, incrementadas gradualmente, seguido por avaliação da eficácia, da segurança, da tolerabilidade e da farmacocinética de uma dose individual intra-articular em pacientes com osteoartrite dolorosa do joelho.

[000151] Na parte um do estudo, injeções intra-articulares individuais no joelho de diversas doses da suspensão microcristalina de mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, produzida de acordo com o Exemplo 2 acima mencionado, são testadas contra as doses de placebo de 3 mL e 5 mL.

#### Dose

---

3 mg/3 mL

10 mg/3 mL

30 mg/3 mL

60 mg/3 mL

100 mg/5 mL

[000152] Homens e mulheres adultos com uma diagnose de osteoartrite de joelho primária são qualificados para a participação no estudo. Os pacientes são sintomáticos por mais do que 6 meses e proporcionam um consentimento informado por escrito antes de qualquer procedimento relacionado ao estudo.

[000153] A eficácia é avaliada com base na segurança e na tolerabilidade (eventos adversos, exame físico, peso corporal, temperatura corporal, testes laboratoriais clínicos, pressão arterial, frequência cardíaca, eletrocardiograma de 12 derivações, tolerância local) em 12 semanas após a injeção. A farmacocinética (plasma e, se possível, em fluido

sinovial) e a farmacodinâmica também são avaliadas.

[000154] Os pacientes são acompanhados durante  $84 \pm 7$  dias após a administração do fármaco ou do placebo em estudo, com a opção de permanecerem em um estudo de segurança observacional de longa duração, sem nenhuma administração adicional do fármaco em estudo para avaliar a segurança e a eficácia de longa duração.

**Exemplo 5: Estudo do Polimorfismo da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

[000155] Um estudo do polimorfismo da GZ389988 foi conduzido para identificar as formas de cristais de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina em solventes puros e misturas controladas de solventes e água. As técnicas usadas como ferramentas de caracterização dos polimorfos incluíram a Difração de Pó de Raios X (XRPD), a Difração de Pó de Raios X de Alta Resolução (HR-XRPD) e a Difração de Raios X de Cristal Único (XRSCD), a Análise Termogravimétrica (TGA) combinada com a Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) ou a Espectrometria de Massa (MS), a Absorção de Vapor Dinâmica (DVS) de água e solventes, e a Microscopia Óptica (OM). Estas técnicas estão descritas em maior detalhe abaixo.

**DIFRAÇÃO DE PÓ DE RAIOS X DE ALTA RESOLUÇÃO (HR-XRPD)**

[000156] Os diagramas de alta resolução foram registrados em condições ambientes sobre um difratômetro de pó Panalytical X'Pert Pro MPD, usando a geometria de parafofocalização de Bragg-Brentano (configuração  $\theta$ - $2\theta$  vertical) combinada com um detector X'Celerator. Um tubo de raios X de ânodo de cobre vedado foi usado, funcionando nos níveis de 45 kV e 40 mA. Um monocromador de feixe incidente (tipo Johansson: um cristal de germânio (111) curvado, simetricamente cortado) produziu a radiação de Cu K  $\alpha$  1 pura ( $\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$ ).

[000157] Para cada conjunto de experimentos, uma fina camada do produto foi depositada sobre a superfície de um suporte de amostra, coberta com uma lâmina de um único cristal de silício. A lâmina tinha sido cortada de acordo com a orientação cristalográfica do Si (510) que, por extinção sistemática, impediu qualquer reflexão de Bragg do silício. A faixa angular disponível estendeu-se de 2 a 50° em 2 $\theta$ , com um tamanho de fase de 0,017° em 2 $\theta$ . Foi usado um tempo de contagem variável de 100 a 2500 segundos por fase.

#### DIFRAÇÃO DE PÓ DE RAIOS X (XRPD)

[000158] Outras análises por XRPD foram realizadas sobre um difratômetro de pó Siemens-Brucker D8 Advance, usando também a geometria de parafofocalização de Bragg-Brentano (configuração  $\theta$ - $\theta$  vertical), e uma câmara de temperatura Anton-Paar-TTK450. Uma fina camada do produto foi depositada sobre uma lâmina de um único silício cristalino, cortada de acordo com a orientação cristalográfica do Si(510) que, por extinção sistemática, impediu qualquer reflexão de Bragg da lâmina. Foi usado um tubo de raios X de ânodo de cobre vedado, funcionando nos níveis de 4 kV e 35 mA. Duas linhas foram tipicamente emitidas: CuK $\alpha$ 1 ( $\lambda$  = 1,5405 Å) e CuK $\alpha$ 2 ( $\lambda$  = 1,5443 Å). Um filtro de Níquel  $\beta$ , colocado entre o detector e a amostra, não eliminou completamente a radiação de CuK $\beta$  ( $\lambda$  = 1,3922 Å), o que contribuiu ainda com cerca de 1% do feixe difratado no detector (dados do fabricante). O feixe foi emitido através das fendas de Soller para melhorar o seu paralelismo. As fendas de divergência variável mantiveram constante a iluminação da área da amostra. Um colimador limitou a difusão entre o tubo e a amostra. Um detector linear LynxEye completou a configuração. Ele tinha uma janela de detecção de 3,5° de largura no ângulo 2 $\theta$ . Os diagramas foram registrados nas seguintes condições: na temperatura ambiente, varreduras de 2 a 40° no ângulo 2 $\theta$ . Os tempos de integração dependeram das condições experimentais. Os estudos de evolução e a

maioria das varreduras foram conduzidos usando um tempo de contagem em segundos de 0,1 s por fase em  $2\theta$ . Os tempos de integração mais longos (até 5 s) podem ter sido usados para caracterizar as formas estáveis.

#### DIFRAÇÃO DE RAIOS X DE CRISTAL ÚNICO (XRSCD, TAMBÉM DENOMINADA SCXRD).

[000159] Os dados da XRSCD foram registrados em um difratômetro de cristal único Bruker Smart Apex. Foi usada uma fonte de raios X de microfoco de molibdênio  $\text{I}\mu\text{S}$ , funcionando em 50 kV e 0,6 mA, emitindo radiação de  $\text{Mo-K}\alpha$  ( $\lambda = 0,710731 \text{ \AA}$ ). Um detector de área Charge-Coupled Device (chip do CCD: 4K, 62 mm) foi posicionado a 6,0 cm. Um criostato de nitrogênio da Oxford Cryosystems (Cryostream Plus) permitiu que os experimentos de XRSCD fossem realizados a 100 K.

[000160] Ambos os cristais foram preparados a partir de uma gota de óleo Paratone N<sup>®</sup> sobre um circuito MiTeGen mylar de base baixa. Uma esfera de reflexões de Ewald completa foi coletada (3 varreduras ômega de 680 quadros, com uma largura do quadro de  $0,3^\circ$ ). Os tempos de acúmulo dependeram do cristal.

[000161] A matriz de orientação e a célula unitária foram estabelecidas usando o conjunto de programas Apex2 (v2014.11-0). O perfil de reflexão 3D e a integração de todas as reflexões foram realizados com o programa SAINT (v8.34A). O programa SADABS (v2014/5) foi usado para corrigir os efeitos de Lorentz e de polarização e a absorção pela amostra. O grupo espacial experimental foi determinado com o programa XPREP (v2014/2). O conjunto SHELXTL (v2014/7) foi usado para resolver a estrutura pelo método de faseamento intrínseco e para refinar a solução por cálculos dos mínimos quadrados de matriz completa sobre  $F^2$ .

#### IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO POLIMORFO

[000162] Usando as técnicas acima descritas, as formas de cristais da

3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina foram identificadas. Estas formas, os picos 2 $\theta$  da XRPD medidos usando radiação de CuK $\alpha$  e as condições de formação estão apresentados na Tabela 15 abaixo.

**Tabela 15: Formas da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina**

Anidra, Hidrato ou Solvato	Número do Polimorfo	Número da Forma	Picos 2 $\theta$ da XRPD Medidos usando Radiação de CuK $\alpha$	Condições de Formação
Anidra	1	Forma 2	3,8, 7,6, 11,0, 11,5, 13,3, 13,9 e 15,3	Forma obtida por desidratação do mono-hidrato 1
Anidra	1	Forma 3	6,0, 6,9, 10,9, 12,4, 12,7, 13,7 e 15,3	Obtida em alta temperatura (160°C para o mono-hidrato 1, ~120°C para os solvatos)
Anidra	3	Forma 6/7	5,6, 8,1, 12,1, 14,0, 16,2 e 20,7	Forma obtida por dessolvatação do mono-hidrato 2 e dos solvatos 2 de etanol, acetonitrila e acetona
Mono-hidrato	1	Forma 1	3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 e 14,3	Ver o Exemplo 1
Mono-hidrato	2	Forma 8	5,5, 6,4, 8,2, 12,5, 12,8 e 16,5	Forma que se derivou dos solvatos 2 de etanol, acetonitrila e acetona (a partir dos ciclos de "vapor de N <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O")
Sesqui-hidrato		Forma 4	3,5, 7,1, 9,3, 10,3, 10,6, 12,4, 13,0 e 14,1	Forma obtida por cristalização de acetona/água
Solvato de Etanol		Forma 5	5,3, 6,3, 7,5, 11,4, 12,6, 12,8 e 15,1	Forma obtida por recristalização do mono-hidrato 1 em etanol ou da solvatação por etanol da forma anidra 3
Solvato de Acetona	1	Forma 9	6,1, 8,9, 12,1, 15,3, 16,4, 18,2 e 21,2	Forma obtida por recristalização do mono-hidrato 1 em acetona pura e acetona/água a 99:1



Anidra, Hidrato ou Solvato	Número do Polimorfo	Número da Forma	Picos 2 $\theta$ da XRPD Medidos usando Radiação de CuK $\alpha$	Condições de Formação
Solvato de Acetona	2	Forma 10	5,4, 6,2, 7,4, 11,4, 12,6 e 14,8	Forma obtida por recristalização do mono-hidrato 1 em acetona pura ou da solvatação por acetona da forma anidra 3
Solvato de Acetonitrila		Forma 11	5,3, 6,4, 7,7, 11,6, 12,8, 13,2 e 15,5	Forma obtida por recristalização do mono-hidrato 1 em acetonitrila ou da solvatação por acetona da forma anidra 3

[000163] Os diagramas da HR-XRPD medida da Forma de mono-hidrato 1, das Formas anidras 2 e 3, assim como um diagrama da XRPD simulada da Forma de sesqui-hidrato 4 estão representados graficamente conjuntamente na Figura 30.

[000164] Uma suspensão de 20 mg/mL da forma de mono-hidrato de GZ389988A na mistura de solventes de etanol/água (99/1) foi aquecida até 80°C por 1 h. A suspensão foi então filtrada. Em seguida, a solução foi mantida durante a noite na temperatura ambiente. Depois de uma noite, foram observados cristais, mais tarde identificados como correspondendo à forma de solvato de etanol (rotulada como Forma 5). A qualidade física do cristal obtido por evaporação lenta de uma mistura de etanol e água (99/1) estava apropriada para ser analisada por difração de raios X de cristal único. A medição foi realizada a 100 K sobre um cristal de 5 x 50 x 200  $\mu\text{m}^3$ , com um tempo de acúmulo de 300 s por quadro. Os difratogramas confirmaram a cristalinidade da partícula analisada. A Figura 31 mostra o diagrama da HR-XRPD do pó de solvato de etanol (base), medido na temperatura ambiente, comparado com o diagrama da XRPD, simulado a partir dos dados da XRSCD medidos a 100K (topo).

[000165] Uma suspensão de 20 mg/mL da forma de mono-hidrato da

GZ389988A 1 (Forma 1) foi preparada em uma mistura de solventes de acetona/água (99/1) ou em acetona pura, e aquecida até 80°C por 1 hora para atingir a dissolução completa. Em seguida, a suspensão foi filtrada. A solução foi então mantida na temperatura ambiente ou a 5°C. Depois de uma noite, os cristais estavam visíveis a olho nu, posteriormente identificados como correspondendo a uma forma de solvato de acetona (rotulada como Forma 9). A qualidade física do cristal obtido por evaporação lenta de uma mistura de acetona e água (99/1) estava apropriada para ser analisada por difração de XR de cristal único. A medição foi realizada a 100 K sobre um cristal de 100 x 200 x 2000  $\mu\text{m}^3$ , com um tempo de acúmulo de 30 s por quadro. A Figura 32 mostra o diagrama da XRPD para o pó de solvato de acetona, medido na temperatura ambiente (base) e simulado a partir da XRSCD a 100K (topo).

[000166] Em outro experimento, uma suspensão de 20 mg/mL da forma de mono-hidrato da GZ389988A 1 (Forma 1) foi preparada em acetona pura, e aquecida até 80°C por 1 h. Em seguida, a suspensão foi filtrada e então resfriada diretamente até 5°C e armazenada nesta temperatura. Depois de uma noite, os cristais estavam visíveis a olho nu e eram similares àqueles obtidos para o solvato de acetona 1, Forma 9. Após tritura-los em suspensão em um pilão, eles foram identificados como correspondentes ao outro solvato de acetona, Forma 10. A Figura 33 compara a XRPD para as duas formas de solvato de acetona, a Forma 9 (base) e a Forma 10 (topo).

[000167] Uma suspensão de 20 mg/mL da forma de mono-hidrato da GZ389988A em acetonitrila (ACN) foi aquecida até 80°C por 4 h. A suspensão foi então filtrada. Em seguida, a solução foi mantida durante a noite em 40°C, então deixada por 2 horas para resfriar até a temperatura ambiente. Depois de uma noite, aglomerados de cristais tinham se formado no fundo do frasco pequeno. O diagrama da HR-XRPD da

forma de solvato de acetonitrila (ACN) (Forma 11) está apresentado na Figura 34.

IDENTIFICAÇÃO DA FASE CRISTALINA SÓLIDA QUE SE FORMA NOS SOLVENTES MISTOS DE ACETONA/ÁGUA E ACETONITRILA/ÁGUA.

[000168] 50 mg do Mono-hidrato 1 de GZ389988A foram complementados com 2 mL de uma mistura de um solvente (acetona ou acetonitrila) e água desmineralizada, em três razões em peso diferentes: 50/50, 80/20 e 95/5. Com a acetona, foram examinadas misturas adicionais nas razões 99/1 e 98/2. Após 2 horas a 80°C, as amostras foram filtradas sobre um filtro de seringa de PTFE com um tamanho de poro nominal de 0,45 µm, e armazenadas novamente a 80°C por 15 minutos após a filtração.

[000169] As amostras foram então deixadas resfriar durante a noite a 40°C, e então na temperatura ambiente por outras 24 horas.

[000170] As amostras foram então analisadas por XRPD em uma câmara saturada com o solvente correspondente. Se necessário, os cristais grandes foram triturados no frasco pequeno com uma espátula até um pó mais fino. Uma amostra do pó “úmido” foi então depositada tão nivelada quanto possível sobre o suporte de amostra. Os resultados destas análises estão apresentados na Tabela 16 abaixo.

**Tabela 16: Fase cristalina Sólida da GZ389988A em Misturas de Acetona/Água e Acetonitrila/Água**

<b>Solvente</b>	<b>Razão em peso de Água/Solvente</b>	<b>Fase(s) cristalina(s)</b>
Acetona	99/1	Forma de solvato de Acetona 9
	98/2	Mono-hidrato 1
	97/3	Mono-hidrato 1
	95/5	Mono-hidrato 1
	80/20	Mono-hidrato 1
	50/50	Mono-hidrato 1

<b>Solvente</b>	<b>Razão em peso de Água/Solvente</b>	<b>Fase(s) cristalina(s)</b>
	95/5	Mono-hidrato 1
Acetonitrila	80/20	Mono-hidrato 1
	50/50	Mono-hidrato 1

[000171] A formação de solvatos e hidratos a partir da cristalização do Mono-hidrato 1 nas misturas de etanol, acetona, acetonitrila e acetona/água e acetonitrila/água foi estudada e apresentada neste exemplo. Dez fases cristalinas foram identificadas:

- Fase anidra 1 (Forma 2)
- Fase anidra 2 (Forma 3)
- Fase anidra 3 (Forma 6/7)
- Mono-hidrato 1 (Forma 1)
- Mono-hidrato 2 (Forma 8)
- Sesqui-hidrato (Forma 4)
- Solvato de etanol (Forma 5)
- Solvato de acetona 1 (Forma 9)
- Solvato de acetona 2 (Forma 10)
- Solvato de acetonitrila (Forma 11)

[000172] Os difratogramas correspondentes estão representados graficamente, juntos, na Figura 35.

[000173] A partir do estudo do polimorfismo conduzido sobre o etanol, a acetona e a acetonitrila, bem como sobre as misturas de solventes (acetona/água e acetonitrila/água), podem ser deduzidas diversas conclusões. Todos os três solventes puros levam à formação de fases de solvatos cristalinos sólidos. Cada recristalização da GZ389988A em etanol e acetonitrila leva a uma forma de solvato. Duas formas de solvato foram obtidas a partir da recristalização em acetona. Todos os cristais formados nos sistemas de solventes mistos de acetona/água, com razões em peso de 98:2, 97:3, 95:5, 80:20 e 50:50, estão na fase

cristalina de mono-hidrato 1. Todos os cristais formados nos sistemas de solventes mistos de acetonitrila/água, com razões em peso de 95:5, 80:20 e 50:50, são também cristais de mono-hidrato 1. O solvato de acetona 1 foi observado transformar-se em um sólido predominantemente amorfo com a dessolvatação. Se a mobilidade molecular for aumentada pela presença de vapores de acetona e água misturadas, tanto os cristais de solvato de acetona 1 iniciais, quanto o sólido amorfo se reorganizam em mono-hidrato 1. Os solvatos de etanol, acetonitrila e acetona 1, expostos a uma temperatura de 120°C, sob nitrogênio, dessolvatam na mesma fase cristalina anidra 2. O isomorfismo é observado para as formas de solvato de etanol, acetonitrila e acetona 2 (a ser confirmado por difração de raios X de cristal único). Todas elas reversivelmente dessolvatam na mesma fase anidra 3. A fase anidra 3 hidrata-se para uma forma de mono-hidrato, "mono-hidrato 2", diferente do mono-hidrato 1.

## REIVINDICAÇÕES

1. Forma cristalina de monohidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina, caracterizada pelo fato de que:

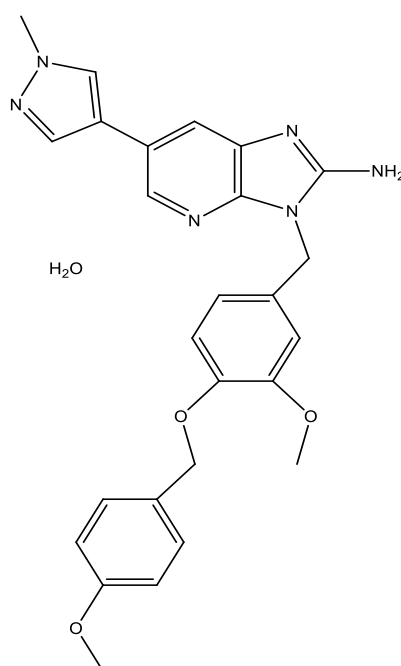
i) o padrão de difração de pó de raios x contém os seguintes picos 2θ medidos usando radiação de CuKα: 3,6, 7,1, 8,9, 10,4, 10,7, 12,4, 12,7 e 14,3;

ii) o termograma de calorimetria de varredura diferencial (DSC) exhibe três eventos térmicos a 76,72, 160,13, e 195,78°C; e

iii) o termograma de análise gravimétrica térmica (TGA) mostra 3,7% de perda de peso de 25-100°C.

2. Formulação farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende a forma cristalina de monohidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1*H*-pirazol-4-il)-3*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-amina como definida na reivindicação 1 e um excipiente farmacêuticamente aceitável.

3. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:



4. Formulação farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende:

- a. uma composição como definida na reivindicação 3, e
- b. um excipiente farmacêuticamente aceitável.

5. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que o excipiente farmacêuticamente aceitável compreende um diluente.

6. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 5, caracterizada pelo fato de que o diluente é selecionado a partir de: malitol, óleo de girassol, alginato de amônio, carbonato de cálcio, lactato de cálcio, fosfato de cálcio dibásico anidro, fosfato de cálcio dibásico di-hidratado, fosfato de cálcio tribásico, silicato de cálcio, sulfato de cálcio, celulose (em pó, microcristalina silicificada), acetato de celulose, açúcar comprimível, açúcar de confeitaria, amido de milho e amido pré-gelatinizado, dextratos, dextrina, dextrose, eritritol, etilcelulose, frutose, ácido fumárico, palmitoestearato de glicerila, lactose para inalação, isomalte, caulim, lactitol, lactose (anidra, mono-hidrato e amido de milho, mono-hidrato e celulose microcristalina, secada por pulverização), carbonato de magnésio, óxido de magnésio, maltodextrina, maltose, manitol, triglicerídeos de cadeias médias, celulose microcristalina, polidextrose, polimetacrilatos, simeticona, alginato de sódio, cloreto de sódio, sorbitol, amido (milho pré-gelatinizado, esterilizável), sacarose, esferas de açúcares, éter sulfobutílico b-ciclodextrina, talco, tragacanto, trealose, e xilitol.

7. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que o excipiente farmacêuticamente aceitável compreende um agente de suspensão.

8. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de que o agente de suspensão é selecionado a partir de: acácia, ágar, ácido algínico, bentonita, estearato de cálcio, carbômero, carboximetilcelulose (cálcica e sódica), carragenina, celulose (microcristalina, microcristalina e carboximetilcelulose sódica,

em pó), dióxido de silicone coloidal, dextrina, gelatina, goma guar, hectorita, sílica coloidal hidrofóbica, hidroxietil celulose, hidroximetil celulose, hidroxipropil celulose, hipromelose, caulim, silicato de magnésio alumínio, soluções de maltitol, triglicerídeos de cadeias médias, metilcelulose, borato fenilmercúrico, fosfolipídios, policarbofil, polietileno glicol, ésteres de ácidos graxos de polioxietileno sorbitan, povidona (polivinilpirrolidona), alginato de propileno glicol, saponita, óleo de gergelim, alginato de sódio, ésteres de sorbitan, sacarose, tragacanto, polietileno glicol succinato de vitamina E, e goma xantana.

9. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, caracterizada pelo fato de que o excipiente farmacêuticamente aceitável compreende um agente de tamponamento.

10. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o agente de tamponamento é selecionado a partir de: ácido adípico, solução de amônia, ácido bórico, carbonato de cálcio, hidróxido de cálcio, lactato de cálcio, fosfato de cálcio, mono-hidrato de ácido cítrico, fosfato de sódio dibásico, dietanolamina, glicina, ácido maléico, ácido málico, metionina, fosfato de sódio monobásico, monoetanolamina, glutamato de monossódio, ácido fosfórico, citrato de potássio, acetato de sódio, bicarbonato de sódio, borato de sódio, carbonato de sódio, di-hidrato de citrato de sódio, hidróxido de sódio, lactato de sódio, e trietanolamina.

11. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de ser para uso no tratamento de osteoartrite.

12. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de ser para uso no tratamento de dor.

13. Formulação farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de ser para uso no tratamento de dor associada com osteoartrite.



FIG. 1

Figura 1: Difração de Pó de Raios X (XRPD) da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, 4-40 °2 $\theta$

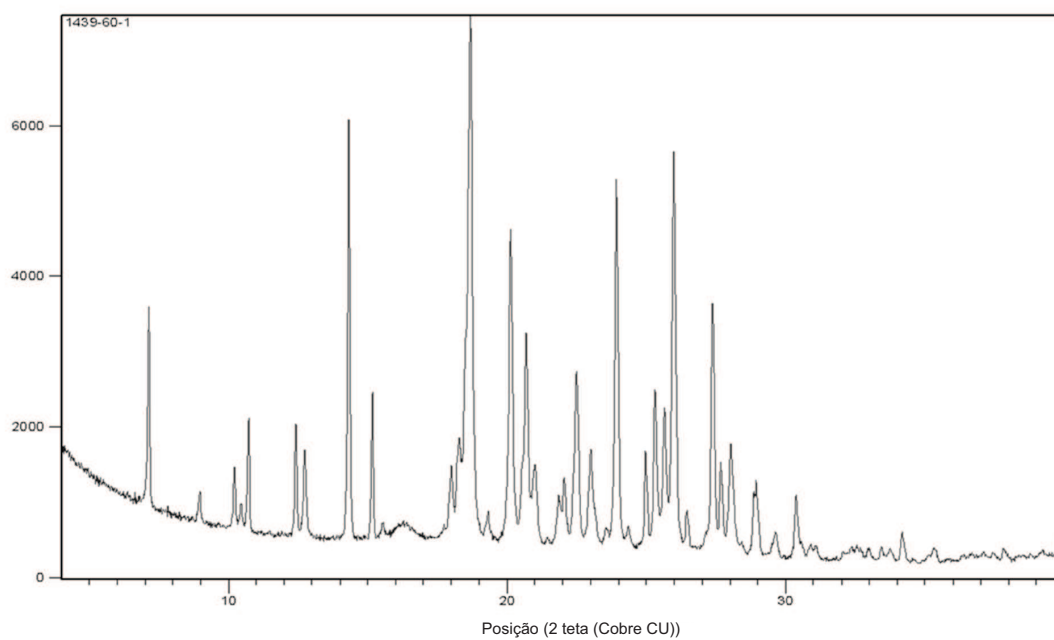


FIG. 2

Figura 2: Termograma de Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e de Análise Gravimétrica Térmica (TGA) da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina, Aquecida a 10°C/min

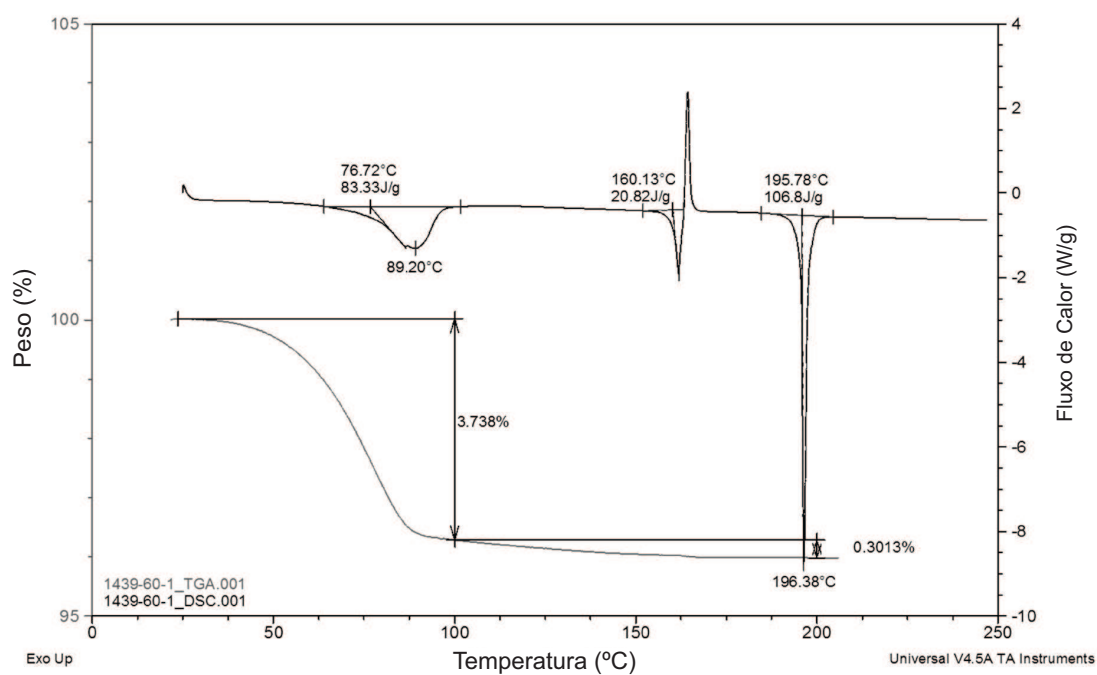


FIG. 3

Figura 3: Estrutura Cristalina da Forma de Mono-hidrato de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

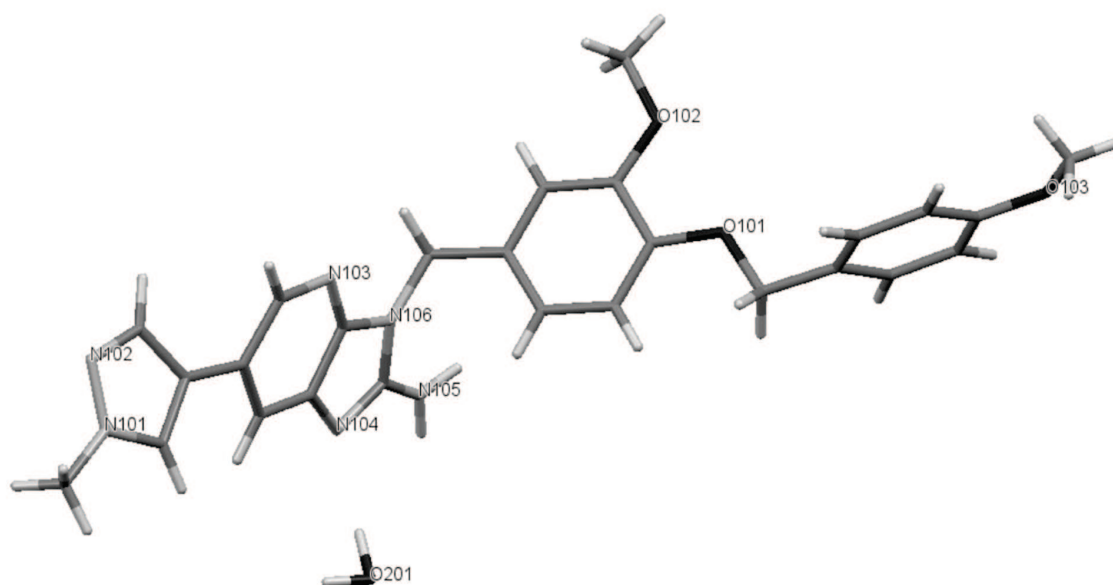


FIG. 4

Figura 4: Sobreposição do Padrão de XRPD Experimental com o Padrão de XRPD Calculado a partir da Estrutura de Cristal Individual

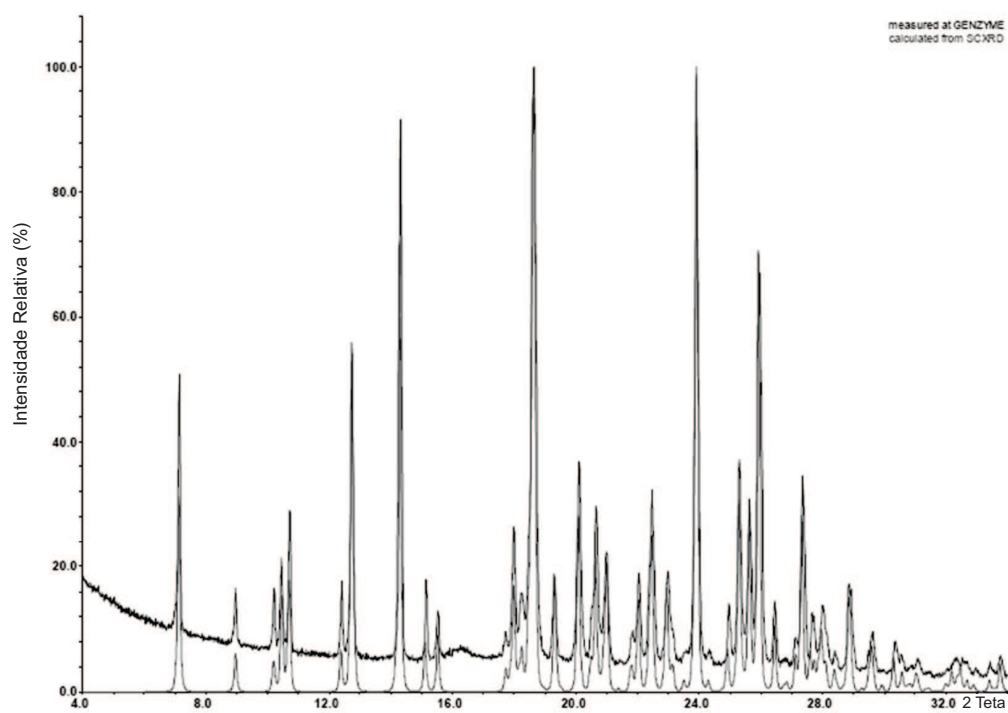


FIG. 5

Figura 5: Efeito da Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 12% de API/R202H:752H a 9:1, 16% API/R202H:752H a 9:1 e 20% de API/R202H:752H a 9:1

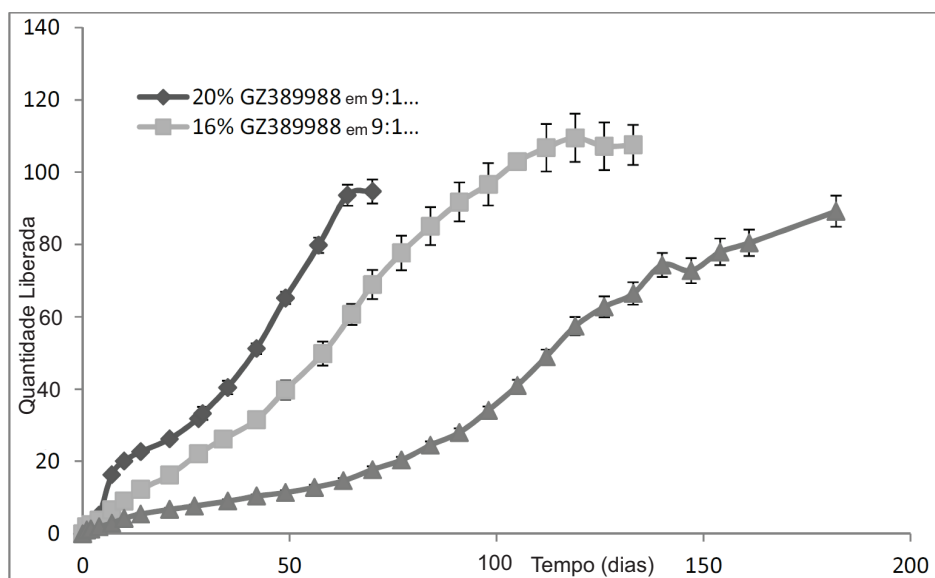


FIG. 6

Figura 6: Termogramas de DSC de Microesferas de 16% de API/R202H:752H a 9:1 e 20% de API/R202H:752H a 9:1

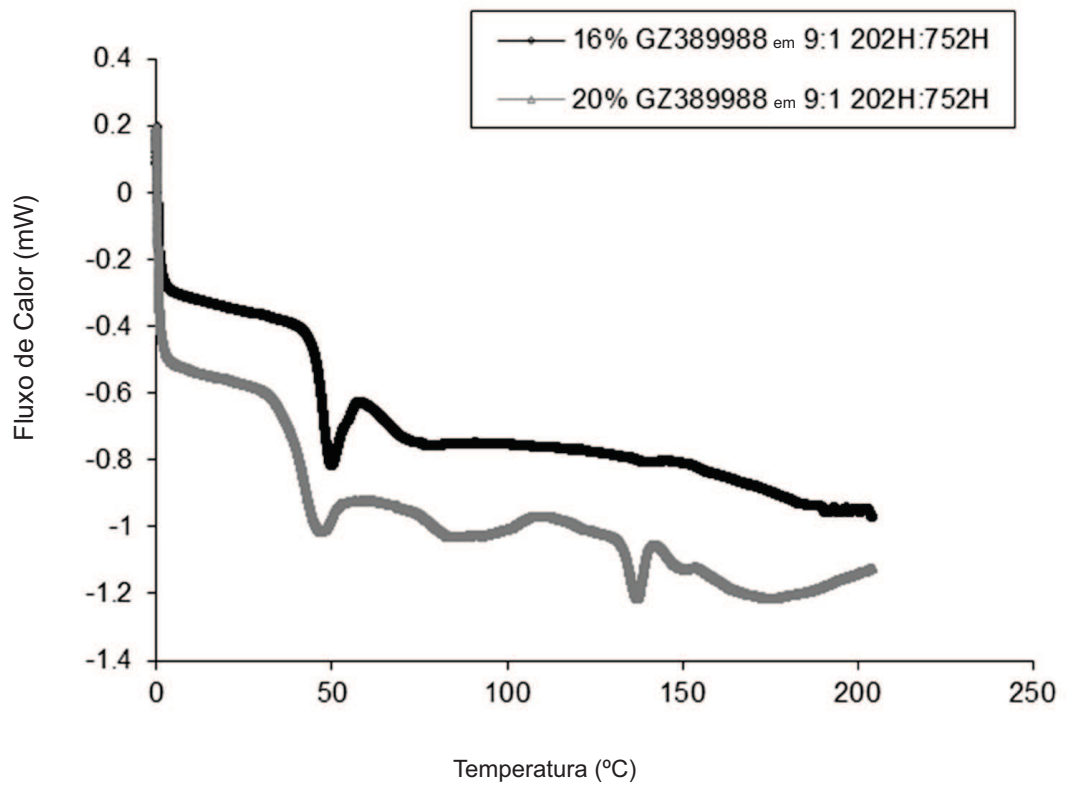


FIG. 7

Figura 7: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:752H a 9:1 (1500X)

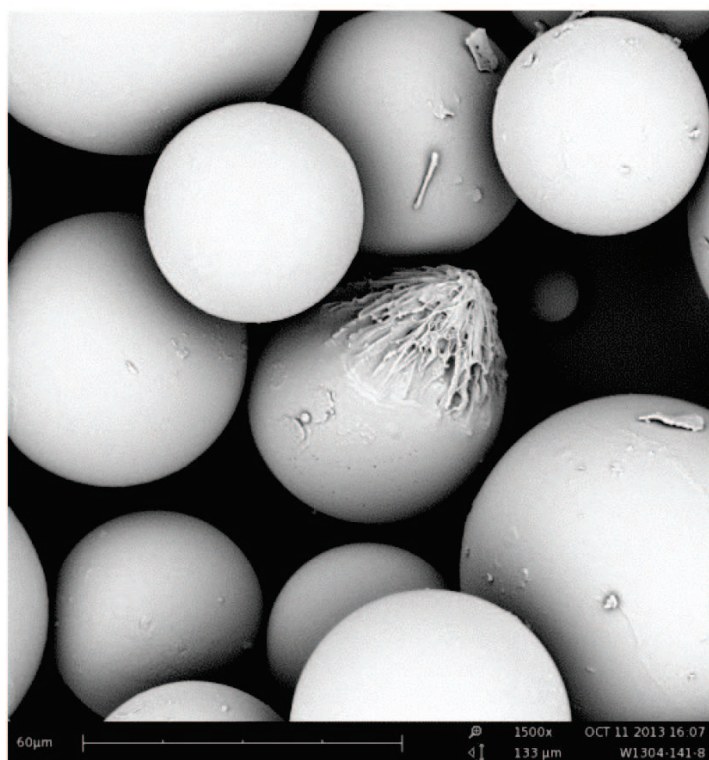


FIG. 8

Figura 8: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 20% de API/R202H:752H a 9:1 (1500X)

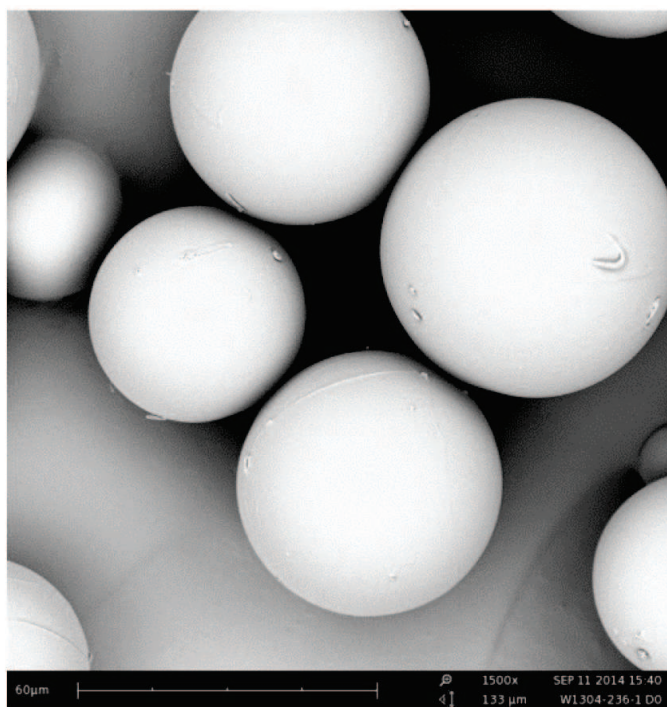




FIG. 9

Figura 9: Efeito da Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 15% de API/R202H, 17% de API/R202H e 19% de API/R202H

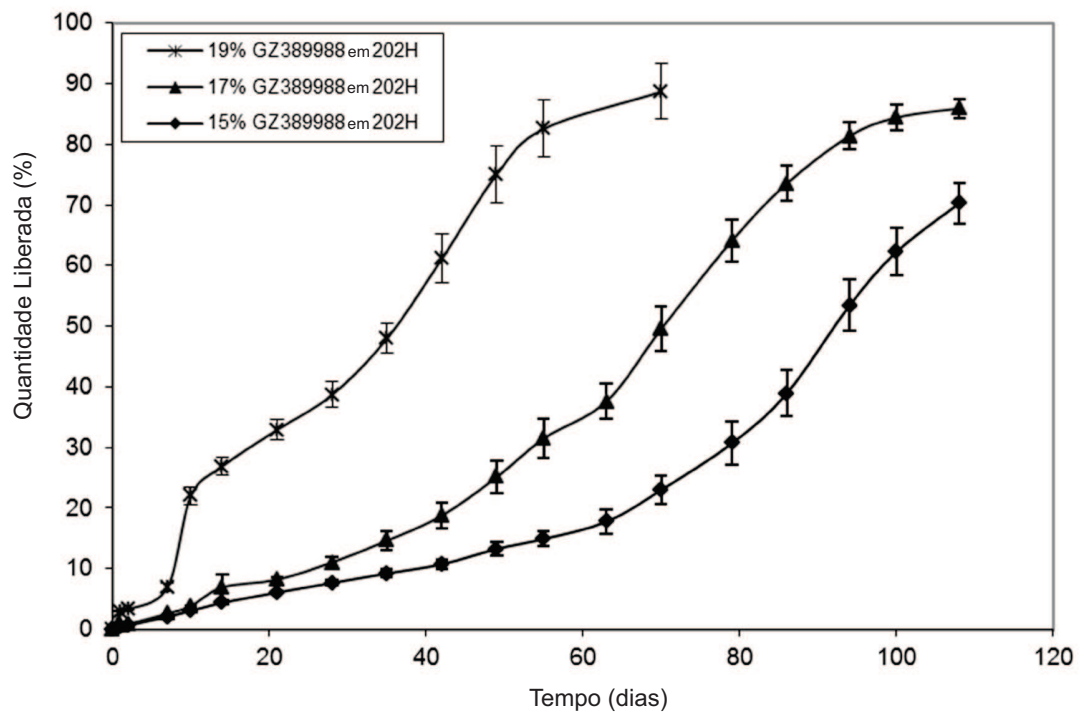


FIG. 10

Figura 10: Efeito da Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:752H a 9,5:0,5, 18% de API/R202H:752H a 9,5:0,5 e 20% de API/R202H:752H a 9,5:0,5

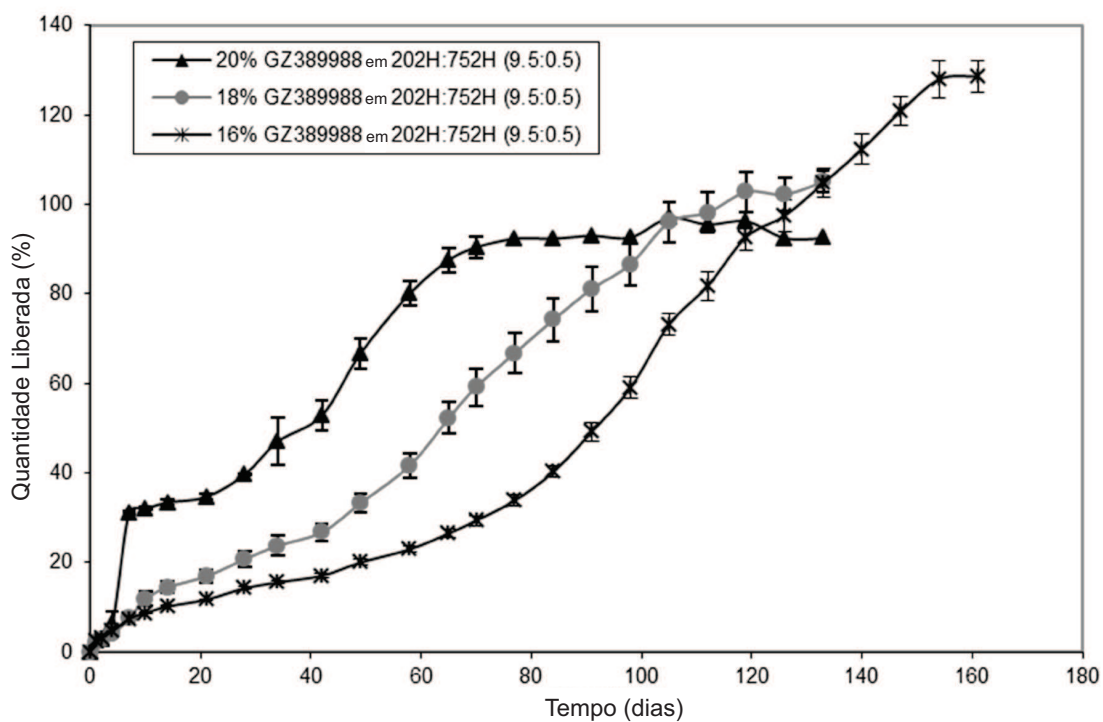


FIG. 11

Figura 11: Efeito da Mistura de Polímeros sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG752H a 9,0:0,5 e 16% de API/R202H:RG752H a 9:1

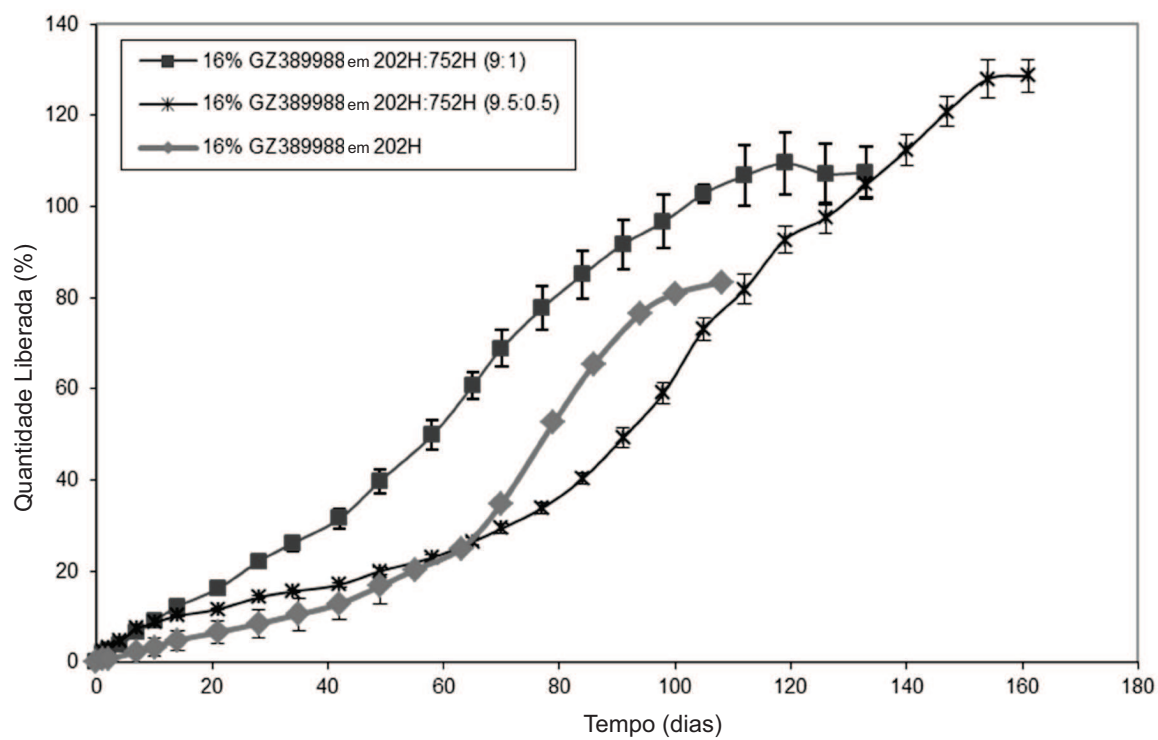


FIG. 12

Figura 12: Efeito da Mistura de Polímeros sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H, 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5 e 16% de API/R202H:RG502H a 9:1

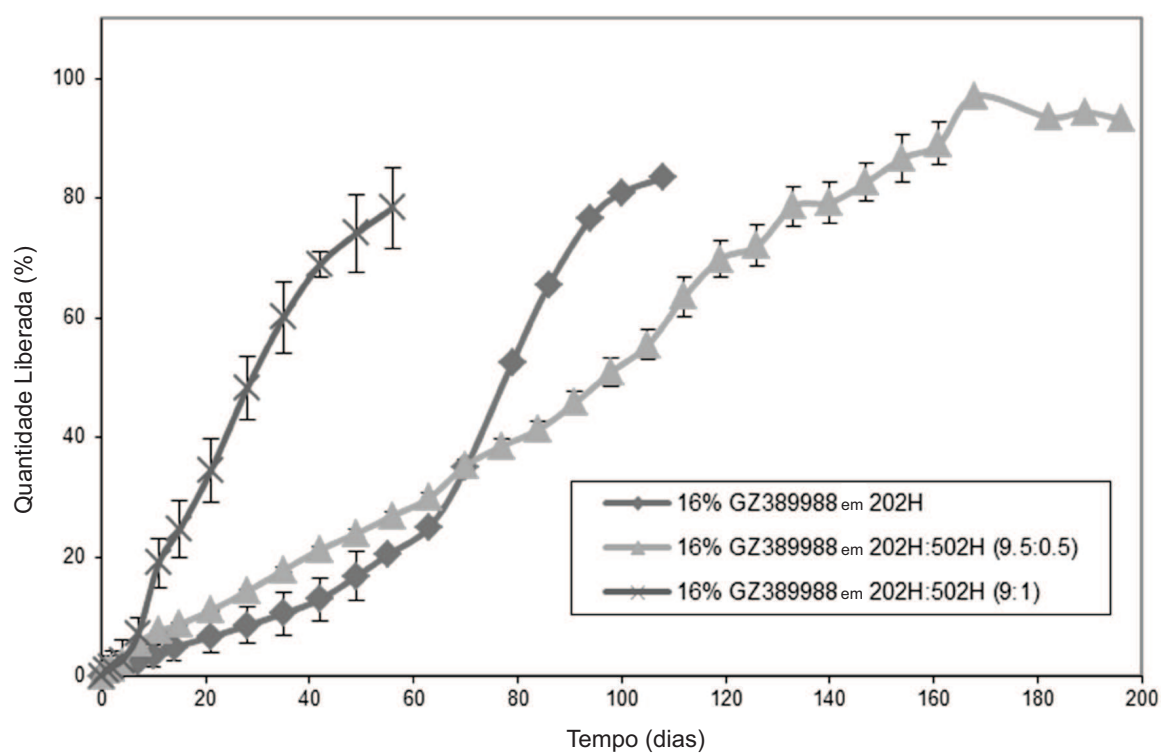


FIG. 13

Figura 13: Formulações Mostrando o Perfil de IVR de Ordem Zero por 180 Dias – Microesferas de 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 e 16% de API/R202H:RG502H a 9,5:0,5

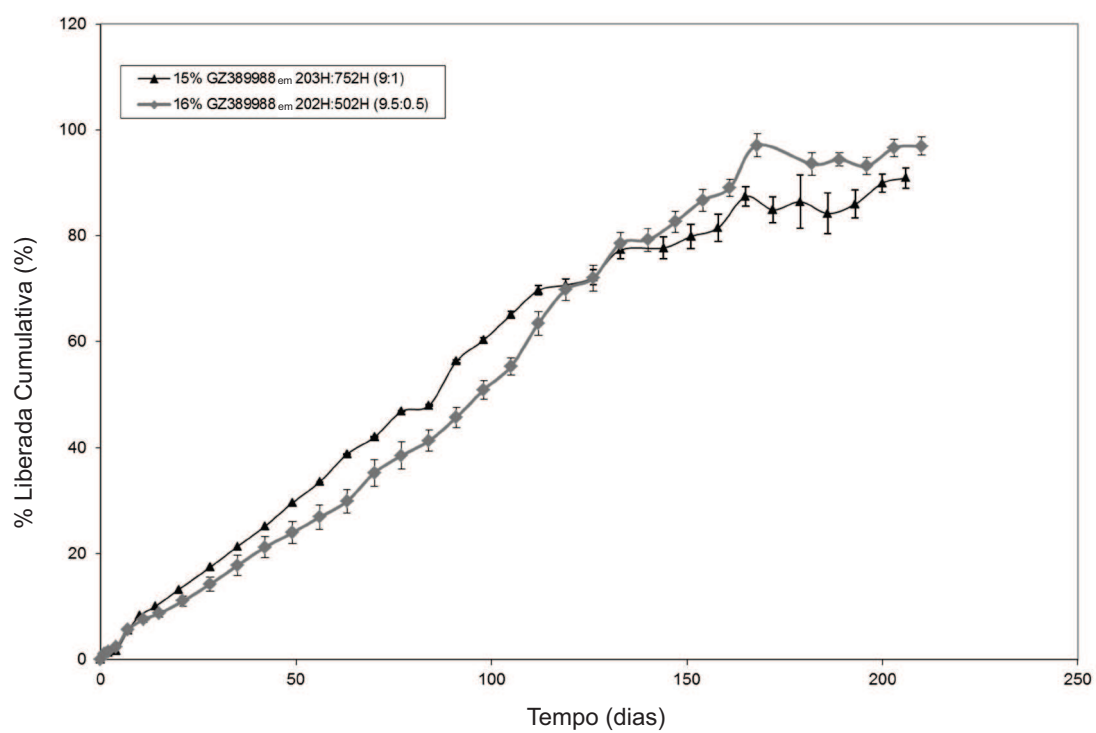


FIG. 14

Figura 14: Efeito dos Sistemas de Cossolventes na Preparação sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R203H:RG752H a 9:1 – DCM:MeOH a 9:1, DCM:MeOH:BA a 9:0,5:0,5, DCM:BA a 9,5:0,05, DCM:BA a 9:1

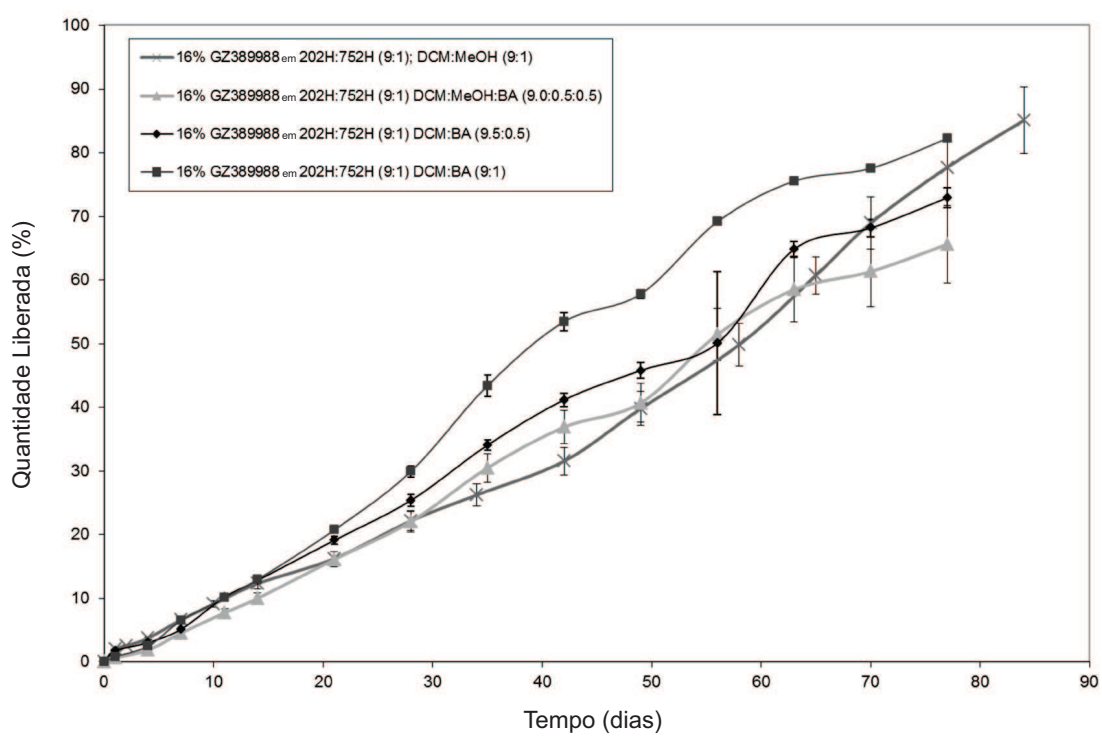


FIG. 15

Figura 15: Efeito do Sistema de Cossolventes de DCM:BA em Aumentar a Carga de API sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1, 25% de API/R202H:RG752H a 9:1, 30% de API/R202H, 40% de API/R202H, 25% de API/R203H, 30% de API/R203H, 40% de API/R203H, 50% de API/R203H

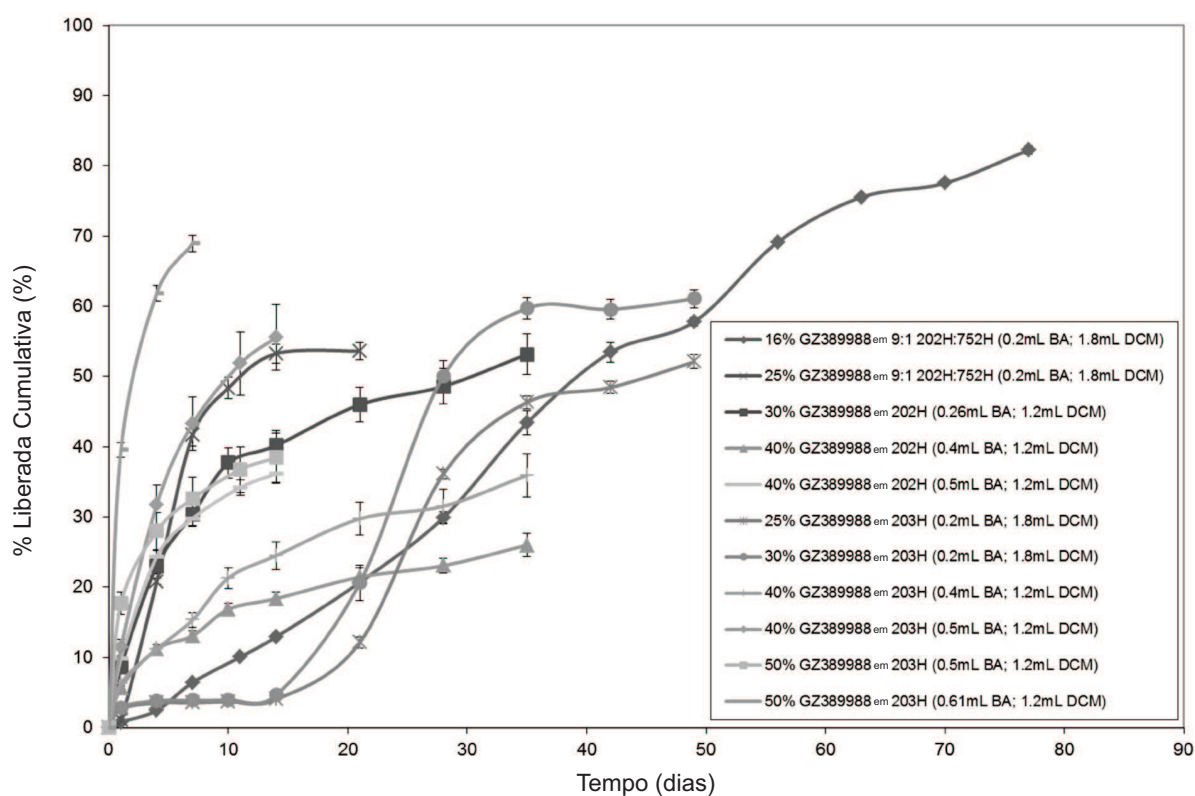


FIG. 16

Figura 16: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas Preparadas com o Processo de Microencapsulação de Suspensão Micronizada (1500X)

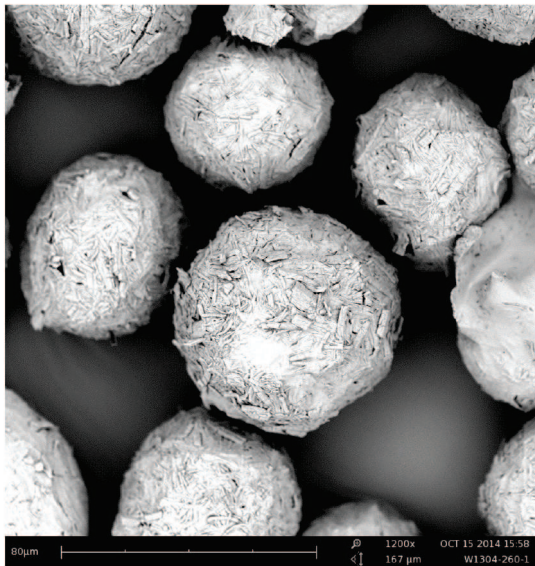




FIG. 17

Figura 17: Efeito do Processo de Microencapsulação de Suspensão Micronizada sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 25% de API/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,6 mL de EA, 25% de API/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% PVA + 3,25 mL de EA, 25% de API/R203H 39 mL de 5% PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 40% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202H:RG752H a 9:1 39 mL de 5% de PVA + 2,3 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R202S 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL de EA, 30% de API Microfluidizado/R203S 39 mL de 5% de PVA + 2,0 mL

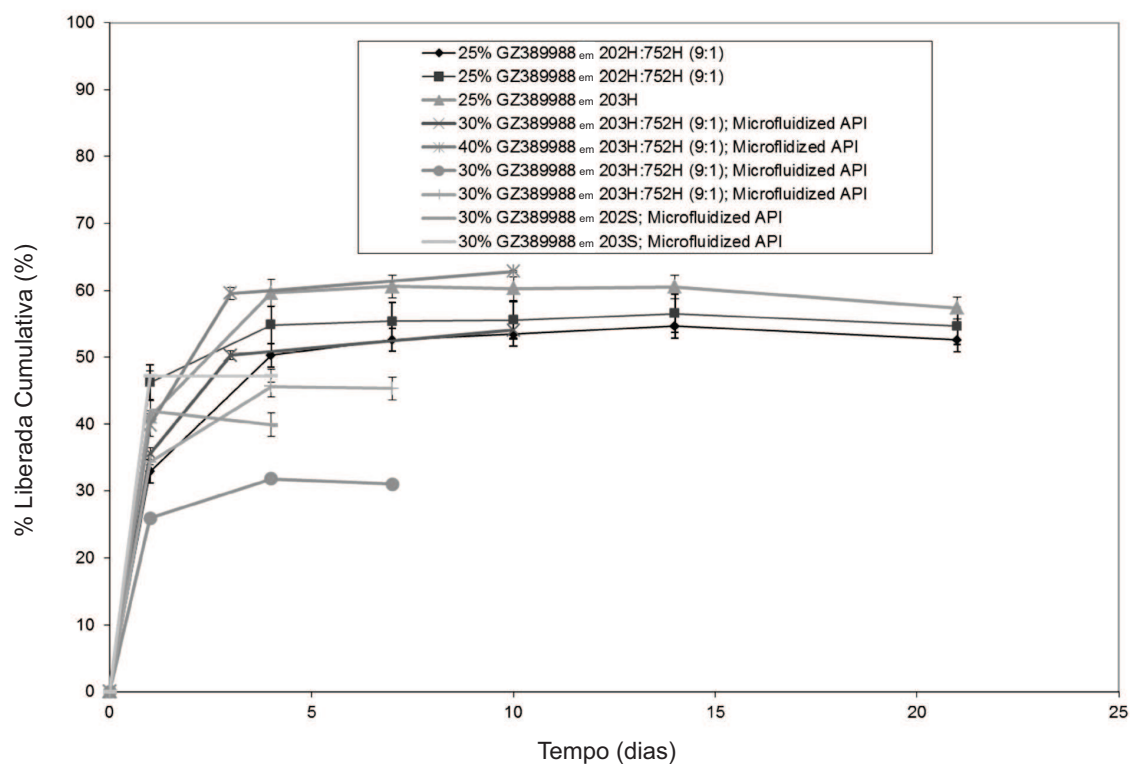


FIG. 18

Figura 18: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/ R202H:RG752H a 9:1, Extração com Solvente (1000X)

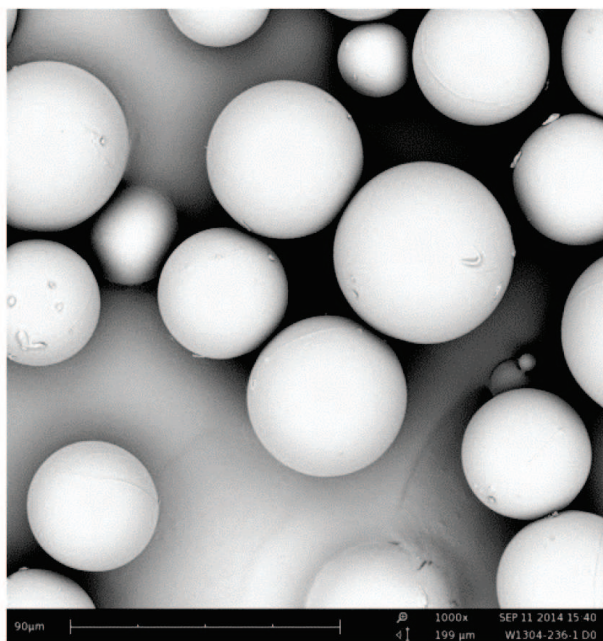


FIG. 19

Figura 19: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1, Secagem por Pulverização (1000X)

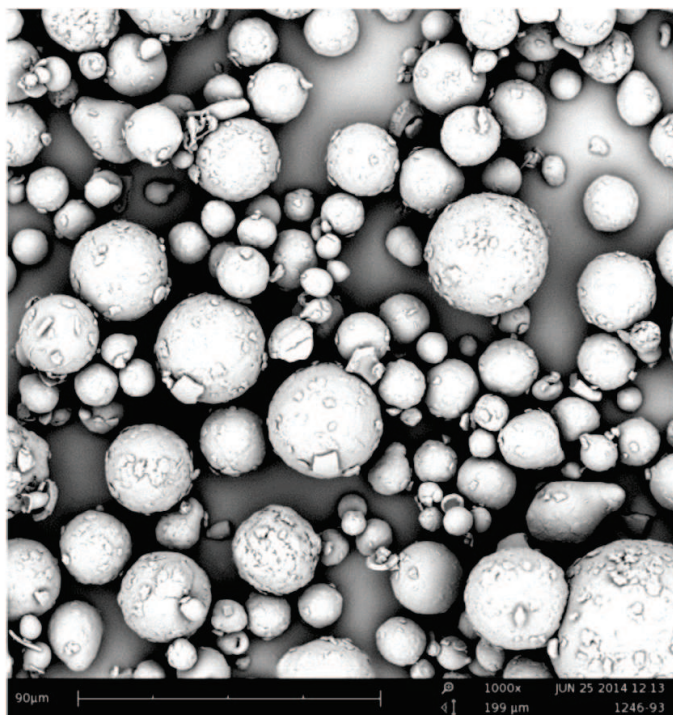


FIG. 20

Figura 20: Efeito do Processo de Microencapsulação sobre o Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 por Extração com Solvente (OW), Microesferas de 16% de API/R202H:RG752H a 9:1 através de Secagem por Pulverização (20% e 22,5% de Polímero) e Microesferas de 16% de API/R203H:RG752H a 9:1 através de Secagem por Pulverização (22,5% de Polímero)

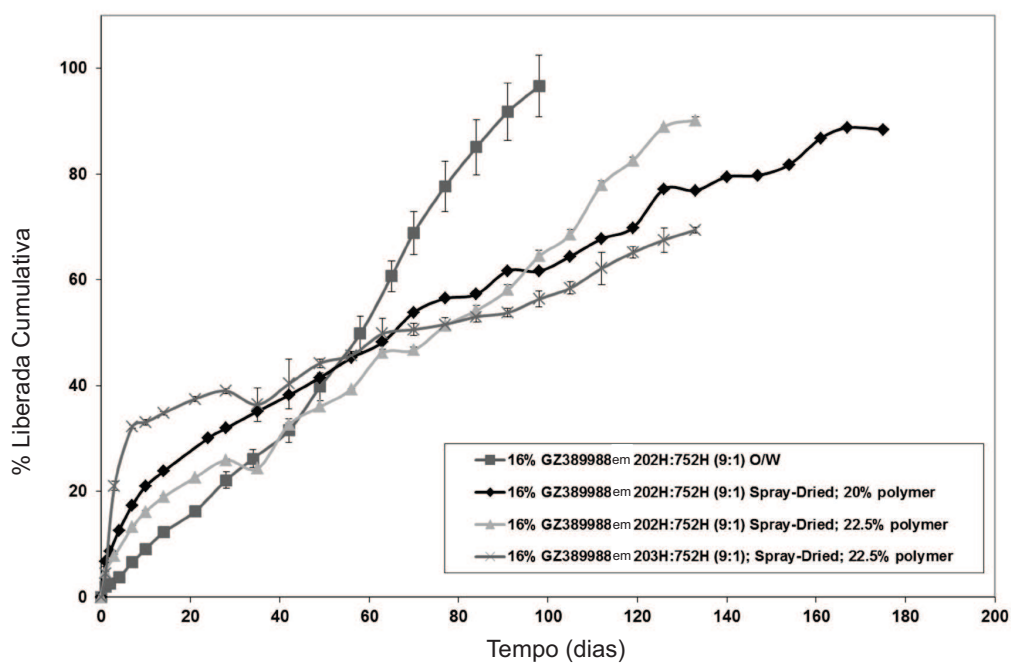


FIG. 21

Figura 21: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem Aditivo, Secadas por Pulverização (1000X)

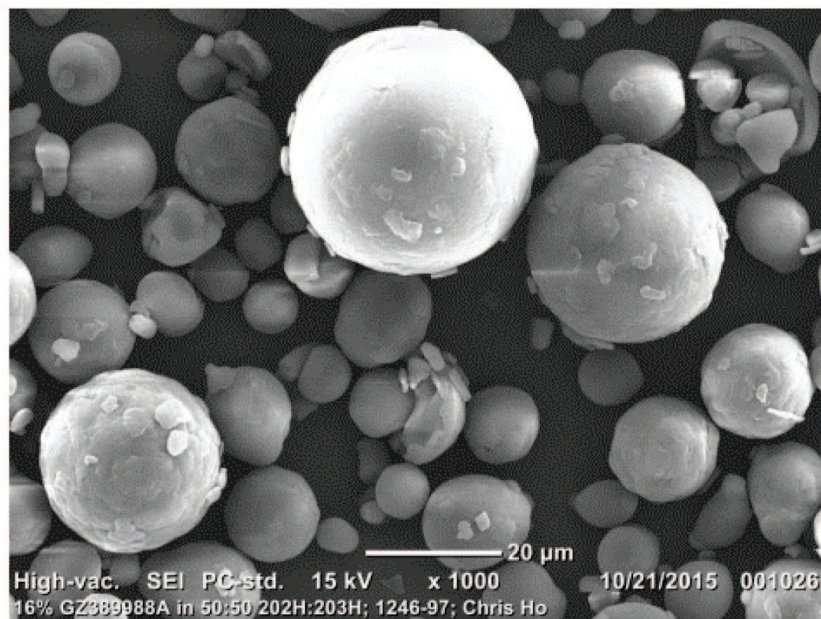




FIG. 22

Figura 22: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG, Secadas por Pulverização (1000X)

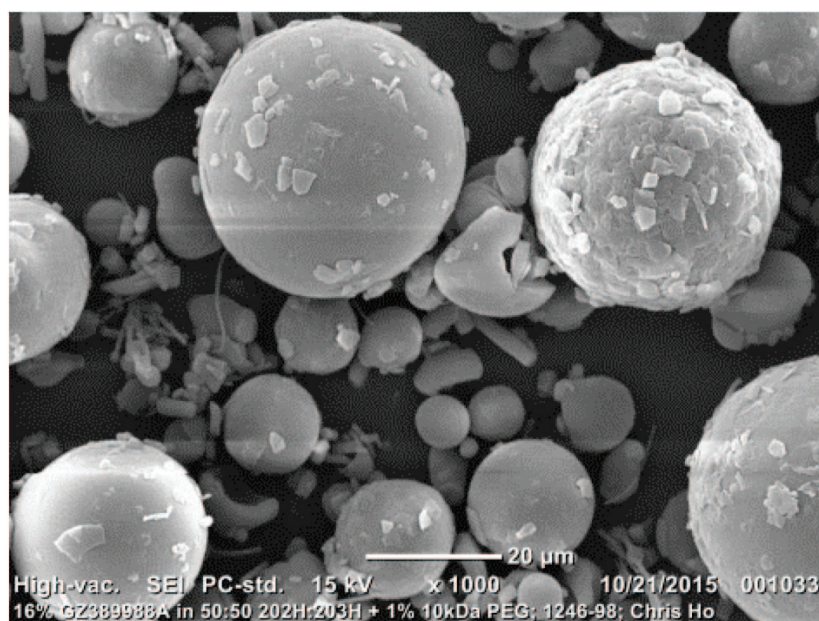


FIG. 23

Figura 23: Vista por Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) das Microesferas de 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407, Secadas por Pulverização (1000X)

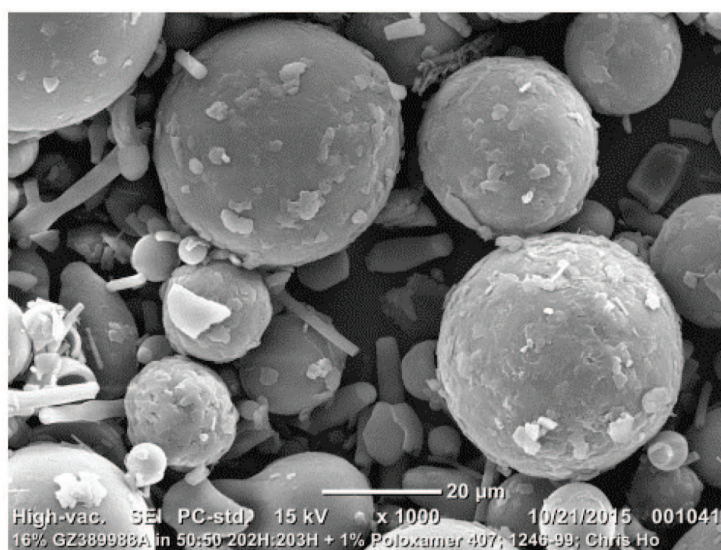


FIG. 24

Figura 24: Efeito da % de 10 kDa de PEG ou de 1% de Poloxâmero 407 sobre o Perfil de IVR – 16% de API/R202H:R203H a 1:1/Sem Aditivo, 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de PEG, 16% de API/R202H:R203H a 1:1/31,25 mg de Poloxâmero 407

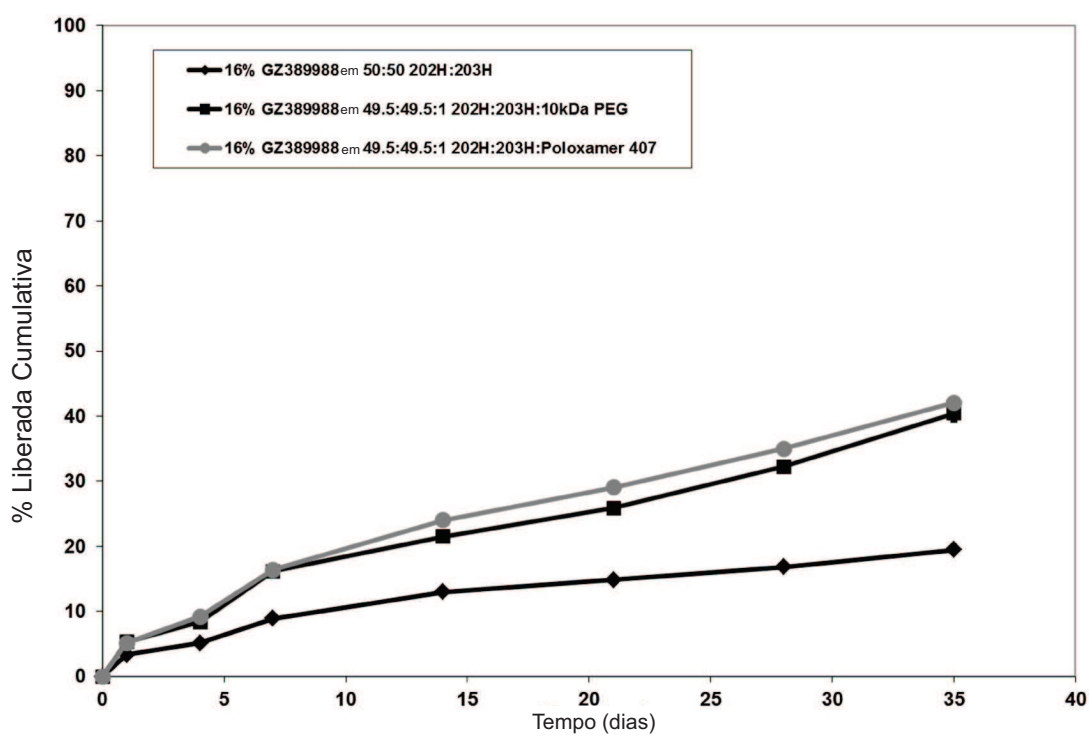




FIG. 25

Figura 25: Perfil de IVR *in vivo* (Rato) – Microesferas de 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1

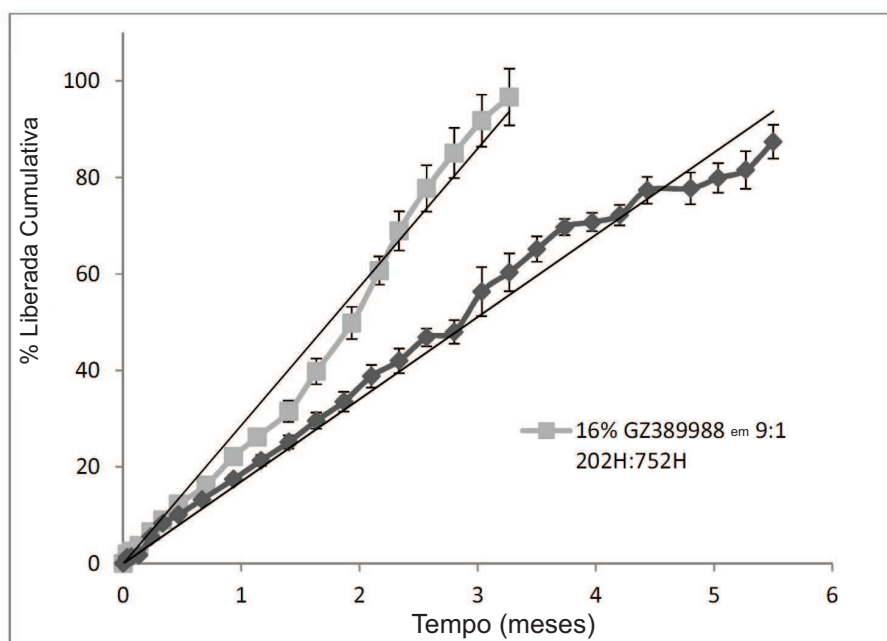


FIG. 26

Figura 26: [ $^{14}\text{C}$ ] 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo [4,5-b]piridin-2-amina Que Permanece ao Longo do Tempo (Articulação do Joelho do Rato) – Microesferas de 16% de API/202H:RG502H a 9:1 e 15% de API/203H:RG752H a 9:1

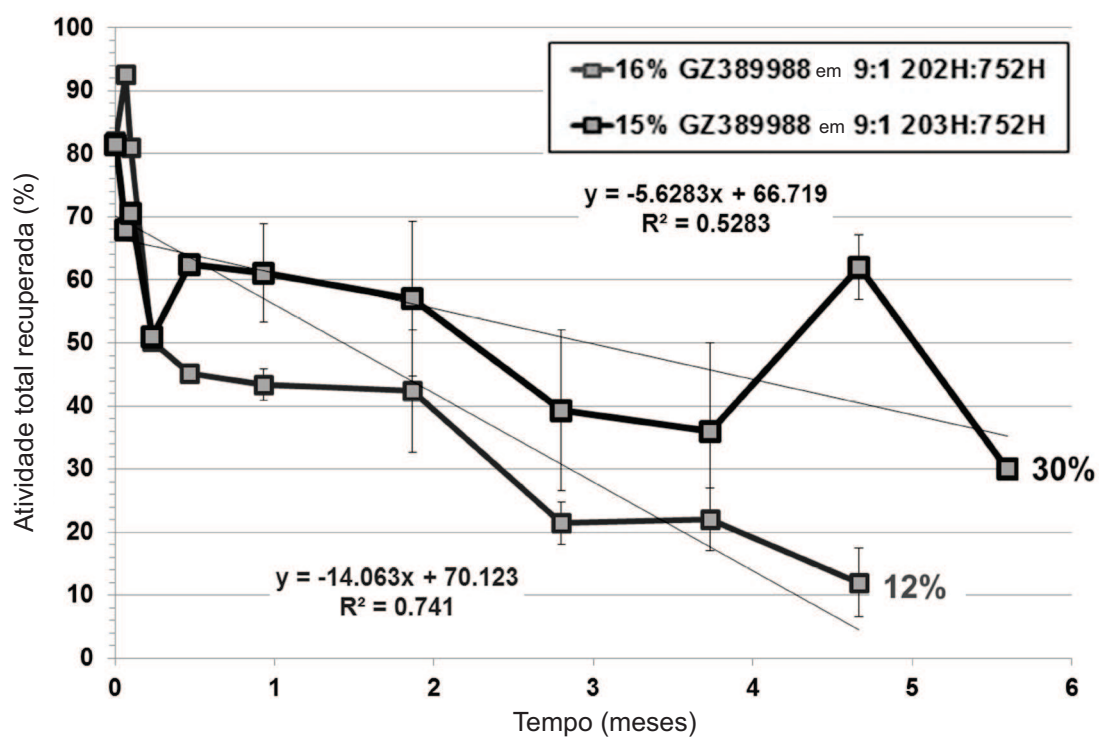
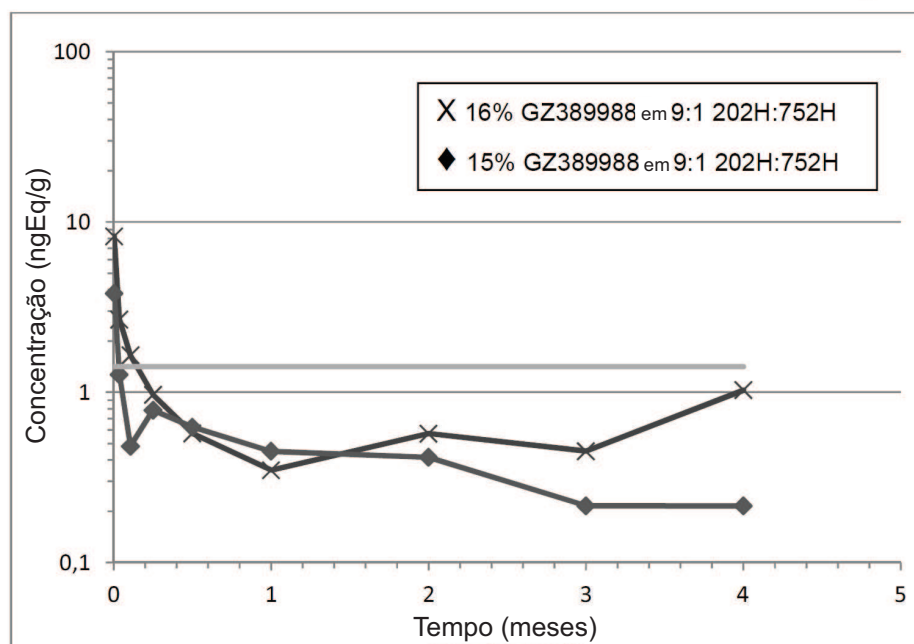


FIG. 27

Figura 27: Perfis de Concentração de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina-Tempo (Sangue do Rato) – Microesferas de 16% de API/202:H:RG502H a 9:1 e 15% de API/R203H:RG752H a 9:1



- Representa o valor de  $EC_{50}$  (com base na célula) da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina de 1,4 ng/mL

FIG. 28

Figura 28: Perfil de IVR – Microesferas de 16% de API/202:H:RG752H a 9:1, 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 e 40% de API/203H

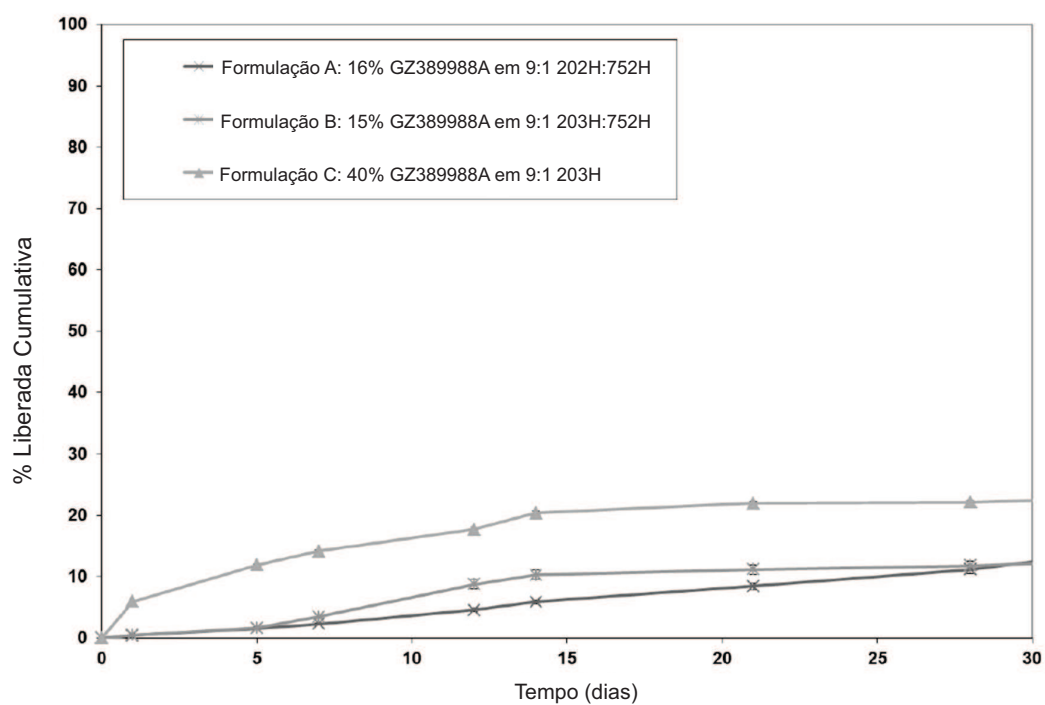


FIG. 29

Figura 29: Perfis de Concentração de 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina-Tempo – Microesferas de 16% de API/202:H:RG752H a 9:1, 15% de API/R203H:RG752H a 9:1 e 40% de API/203H

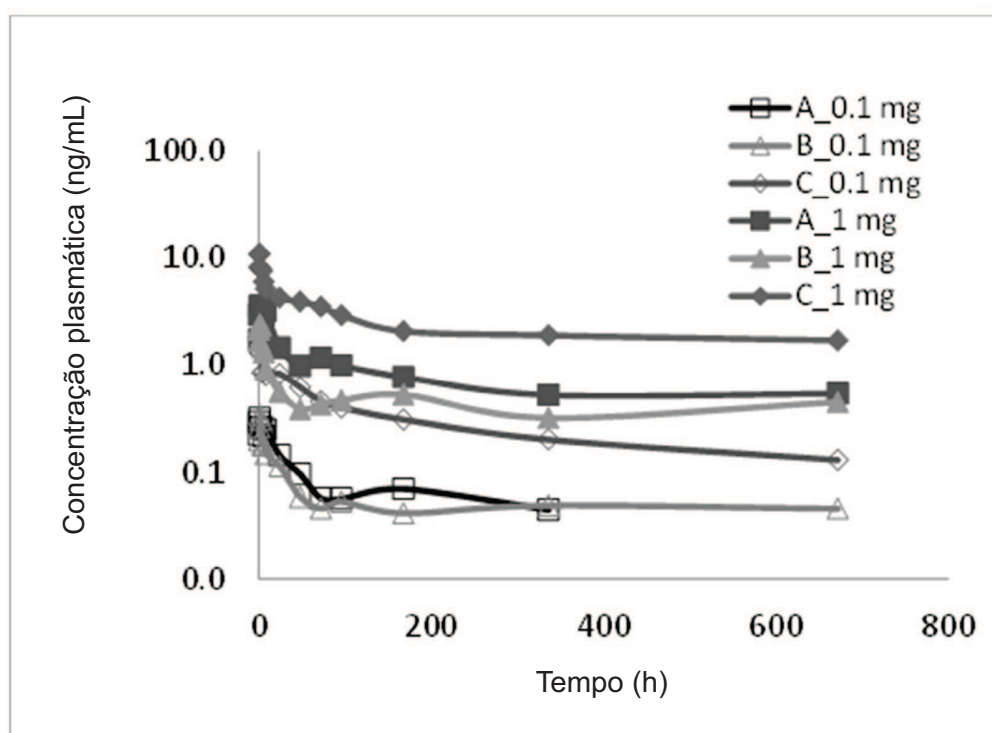


FIG. 30

Figura 30: XRPD Medida ou Simulada das Formas 1 a 4 (Anidras e de Hidrato)

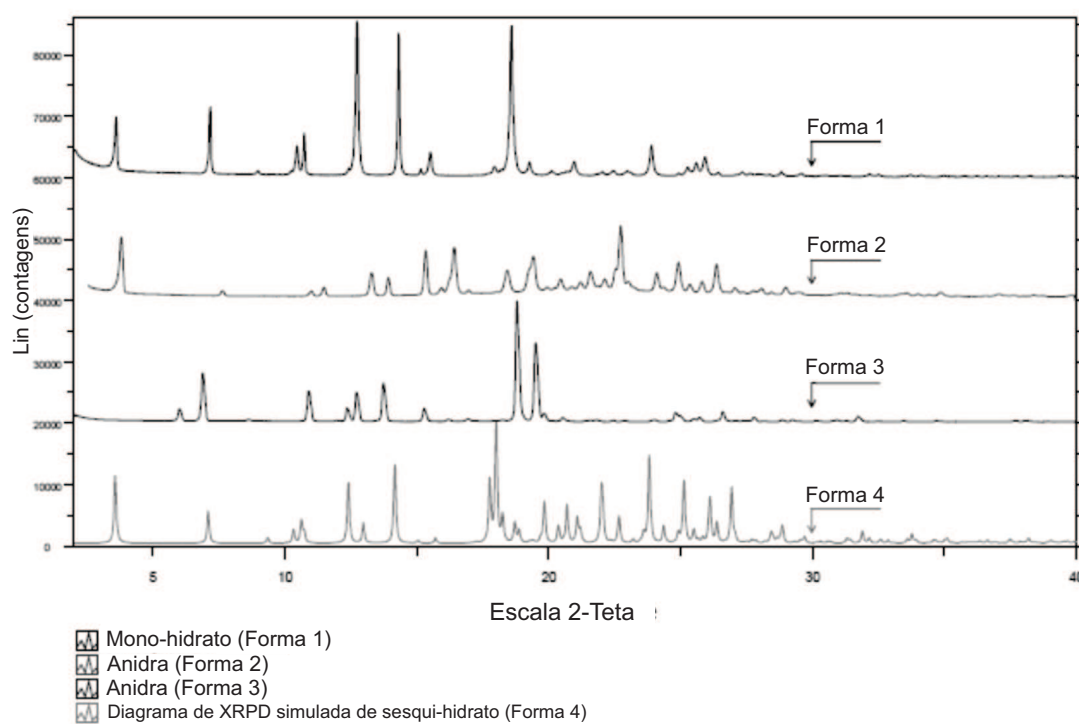


FIG. 31

Figura 31: XRPD da Forma 5 (Etanol)

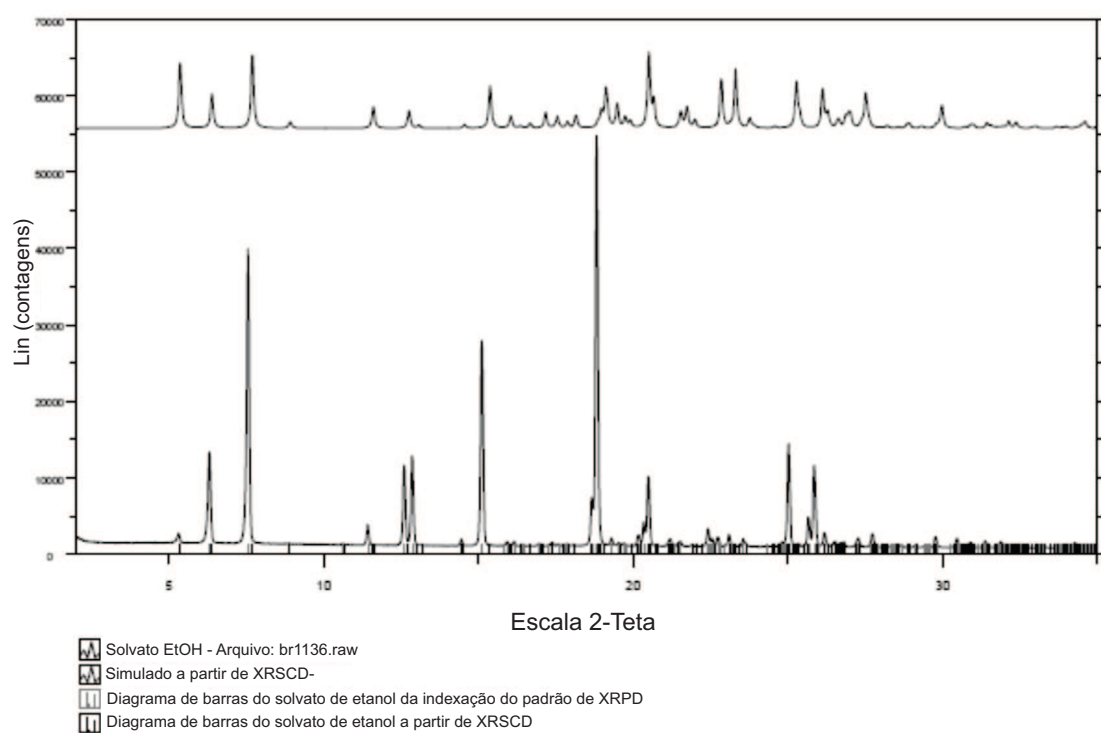


FIG. 32

Figura 32: XRPD da Forma 9 (Acetona)

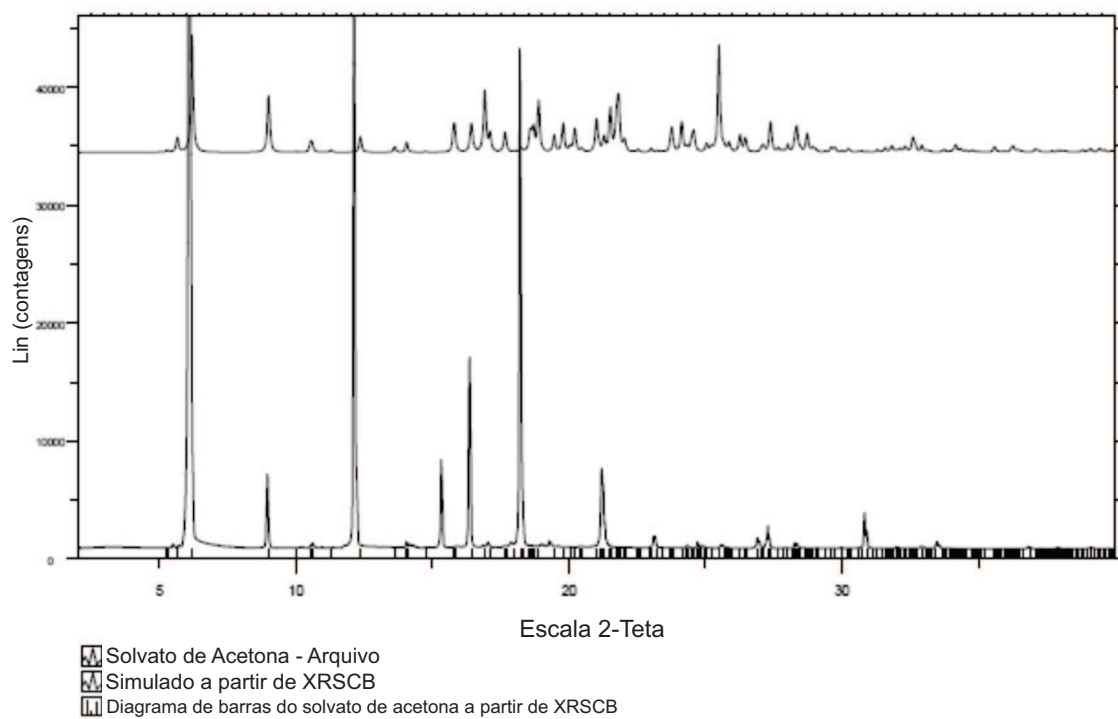




FIG. 33

Figura 33: Comparação por XRPD da Forma 10 (Acetona) e da Forma 9 (Acetona)

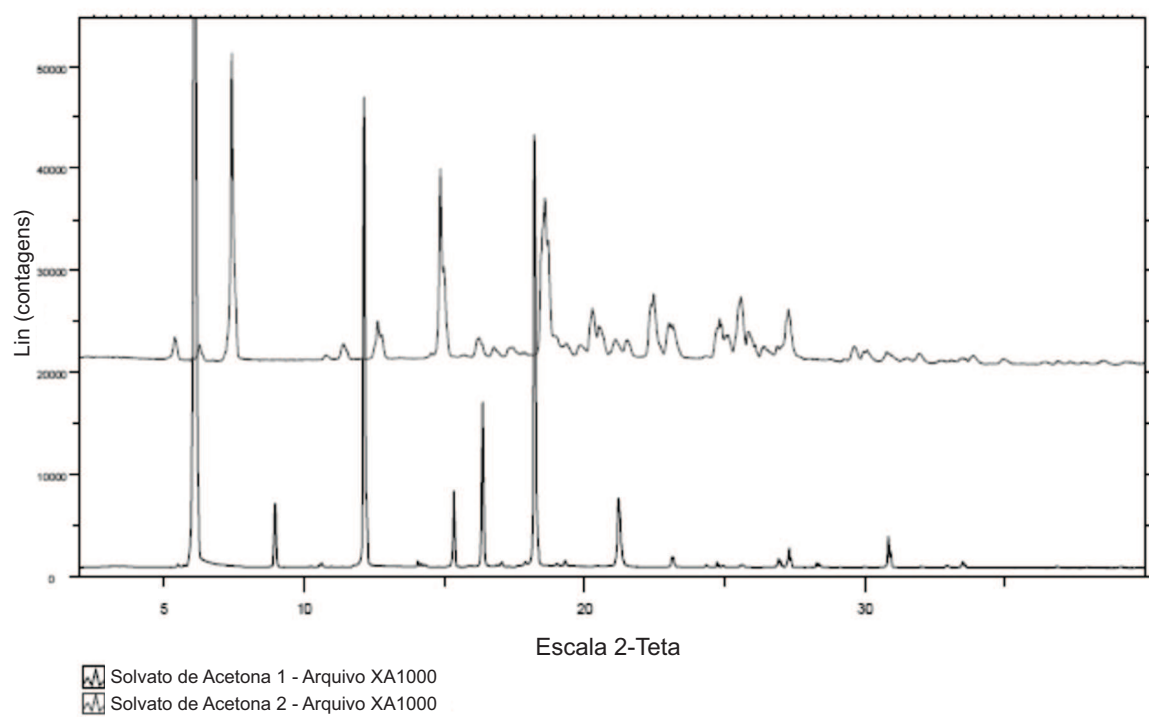


FIG. 34

Figura 34: XRPD da Forma 11 (Acetonitrila)

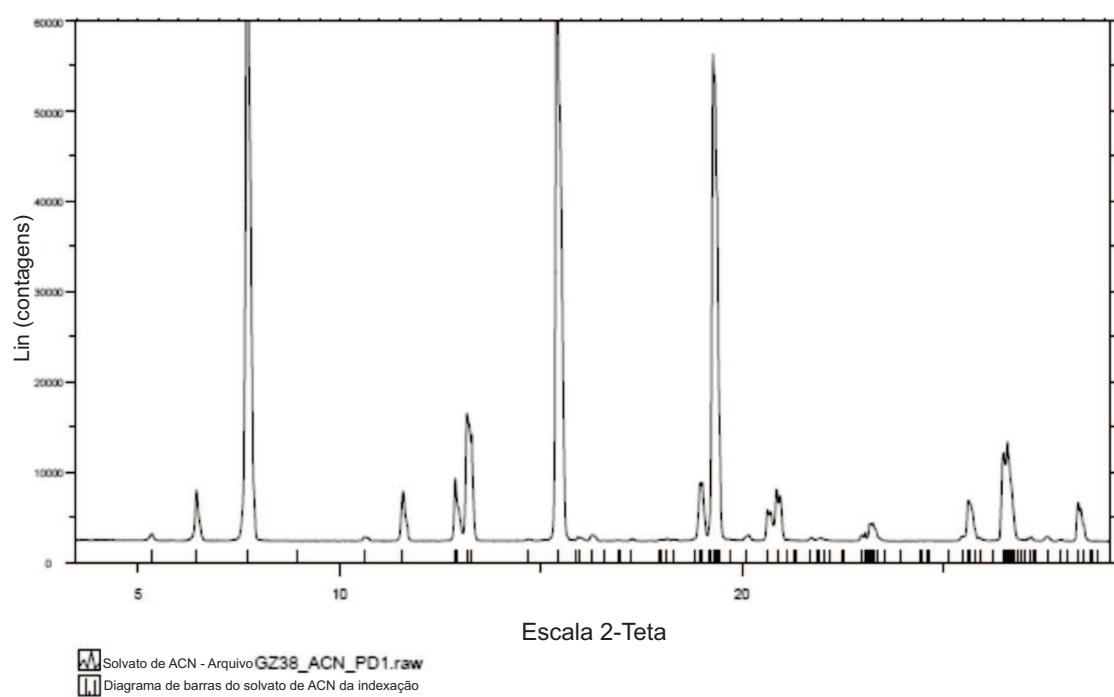


FIG. 35

Figura 35: Fases Cristalinas Sólidas da 3-(3-metóxi-4-((4-metoxibenzil)óxi)benzil)-6-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-3H-imidazo[4,5-b]piridin-2-amina

