



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

(21) BR 112020016205-1 A2



(22) Data do Depósito: 01/02/2019

(43) Data da Publicação Nacional: 15/12/2020

(54) Título: FORMAS COCRISTALINAS DE PROLINA E DE ANÁLOGO DE NOVOBIOCINA

(51) Int. Cl.: C07H 1/06; C07H 15/207; A61K 31/7028; A61P 3/10.

(30) Prioridade Unionista: 07/02/2018 US 62/627,570.

(71) Depositante(es): REATA PHARMACEUTICALS, INC..

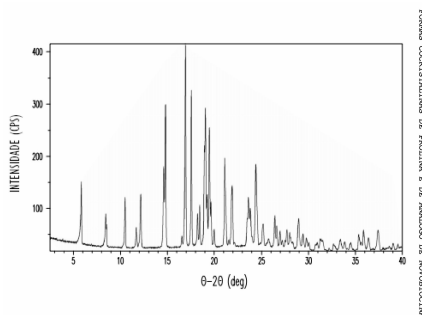
(72) Inventor(es): XIN JIANG; JOHN ALLEN WALLING; MELANIE J. BEVILL; CHRISTOPHER S. SEADEEK; JARED P. SMIT.

(86) Pedido PCT: PCT US2019016304 de 01/02/2019

(87) Publicação PCT: WO 2019/156907 de 15/08/2019

(85) Data da Fase Nacional: 10/08/2020

(57) Resumo: São divulgadas formas cocrystalinas de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina ou D-prolina, suas composições farmacêuticas, processos de fabricação e métodos de uso para tratamento de doenças neurodegenerativas, como neuropatia periférica diabética.



RELATÓRIO DESCRITIVO

FORMAS COCRISTALINAS DE PROLINA E DE ANÁLOGO DE NOVOBIOCINA REIVINDICAÇÃO DE PRIORIDADE

[0001] Este pedido de patente reivindica o benefício da prioridade do pedido de patente norte-americana nº 62/627.570, depositado em 7 de fevereiro de 2018, que é incorporado por referência neste documento em sua totalidade.

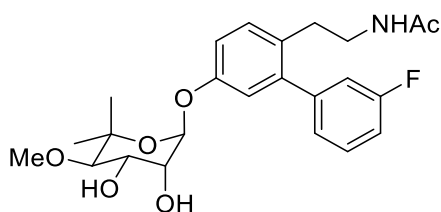
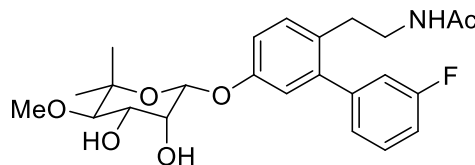
ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

[0002] Aproximadamente 26 milhões de americanos sofrem de diabetes tipo 1 ou tipo 2. Apesar do uso de insulina e medicamentos antidiabéticos orais para ajudar a manter a euglicemia, cerca de 60-70% desses indivíduos desenvolvem neuropatia periférica diabética (DPN, na sigla em inglês). Veja-se Veves, A.; Backonja, M.; Malik, R. A., *Pain Med.* 9 (2008) 660-674. Uma série de pequenas moléculas baseadas na estrutura da novobiocina são relatadas como inibidoras da proteína de choque térmico 90 (Hsp90), são relatadas como tendo propriedades neuroprotetoras significativas e serem úteis para reverter os sintomas da DPN em modelos animais. Veja-se B. R. Kusuma *et al.*, *J. Med. Chem.* patente norte-americana Chem. 55 (2012) 5797-5812; patente norte-americana Nº 9.422.320.

[0003] Um análogo de novobiocina ("novólogo") deste tipo é N-(2-(5-(((3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4**) que é relatado como exibindo alta atividade protetora neuronal. Kusuma (2012). O novólogo **4** é ainda relatado como tendo efeitos que dependem da presença de outra proteína de choque térmico, Hsp70,

enquanto outros efeitos são independentes da Hsp70. O papel preciso da Hsp70 no mecanismo de ação do novólogo **4** e compostos relacionados não foi totalmente caracterizado. J. Ma *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* 6(9) (2015) 1637-1648.

[0004] A síntese do novólogo **4** relatada segue o procedimento que resulta em sólido amorfo, e sua caracterização físico-química omite a atribuição definitiva de estereoquímica na posição 2 (Kusuma (2012); patente norte-americana nº 9.422.320), o que assim permite, em princípio, a existência de dois anômeros possíveis **4a** e **4b** conforme mostrado abaixo:

**4a****4b**

[0005] A síntese publicada de **4** (também conhecido como KU-596), embora indique pureza HPLC de 95,6%, não indica pureza anomérica do sólido amorfo, como evidenciado pelo fato de que apenas a posição 2 noviose carece de atribuição definitiva de estereoquímica. (Kusuma (2012)).

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0006] A presente revelação tem como premissa a descoberta surpreendente de que as formas cristalinas do novólogo **4a** e L-prolina ou D-prolina são realizadas com alto rendimento, pureza e pureza anomérica. As formas inventivas, além disso, demonstram melhorias significativas na biodisponibilidade, em relação à conhecida forma amorfa **4**.

[0007] Assim, uma concretização da revelação é o cocristal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-

metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina (1:2). O cocrystal é caracterizado por difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 14,76, 16,86, 19,00 e 21,05 °2θ ±0,20 °2θ conforme determinado em difratômetro usando radiação Cu-Kα em comprimento de onda de 1,54178 Å. Este cocrystal é referido neste pedido de patente como "Forma B."

[0008] Outra concretização é o cocrystal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina (1:2). O cocrystal é caracterizado por difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 9,20, 16,19, 18,45 e 24,51 °2θ ±0,2 °2θ conforme determinado em difratômetro usando radiação Cu-Kα com comprimento de onda de 1,54178 Å. Este cocrystal é referido neste pedido de patente como "Forma D."

[0009] Além disso, uma concretização é o cocrystal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina que está presente como solvato de acetona (1:1:1). Este cocrystal é caracterizado por difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 14,64, 17,53, 18,91 e 21,33 °2θ ±0,20 °2θ conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα com comprimento de onda de 1,54178 Å. Este cocrystal é referido neste pedido de patente como "Forma C."

[0010] Em outra concretização, a presente revelação formula o cocrystal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-

dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina como solvato de metiletilcetona e pirazina na proporção molar de cerca de 1:1,2:0,6:0,1, respectivamente. O cocrystal é caracterizado por difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 10,42, 14,62, 19,28 e 21,14 °2θ ±0,20 °2θ conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα com comprimento de onda de 1,54178 Å. Este cocrystal é referido neste pedido de patente como "Forma G."

[0011] A revelação também fornece o cocrystal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e D-prolina (1:1), caracterizado por difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 11,77, 14,52, 19,54 e 21,23 °2θ ±0,20 °2θ conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα₁ em um comprimento de onda de 1,5405929 Å.

[0012] A revelação fornece ainda o cocrystal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina (1:1), caracterizado por difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 8,52, 16,33, 19,50 e 21,22 °2θ ±0,20 °2θ conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα₁ com comprimento de onda de 1,5405929 Å.

[0013] De acordo com outra concretização, a revelação é formulada como composição farmacêutica que compreende qualquer uma das formas de cocrystal descritas neste pedido de patente. A composição compreende ainda veículo sólido

farmaceuticamente aceitável. Em algumas concretizações, a composição compreende ainda uma ou mais formas de cocrystal adicionais.

[0014] Outra concretização da revelação é um método para inibir a proteína de choque térmico 90 (Hsp90) no paciente. O método compreende a administração ao paciente de quantidade terapêuticamente eficaz de cocrystal descrito neste pedido de patente.

[0015] A revelação também incorpora método para tratar ou prevenir distúrbio neurodegenerativo em paciente dele acometido. O método compreende a administração ao paciente de quantidade terapêuticamente eficaz de cocrystal descrito neste pedido de patente. Em algumas concretizações, o distúrbio neurodegenerativo é a neuropatia periférica diabética (DPN).

[0016] Alternativamente, de acordo com outras concretizações, a revelação fornece método para prevenir ou reduzir a probabilidade de a neuropatia periférica diabética se desenvolver em paciente que sofre de diabetes tipo 1 ou tipo 2. O método compreende a administração ao paciente de quantidade terapêuticamente eficaz de cocrystal descrito neste pedido de patente.

[0017] De acordo com outra concretização, a revelação fornece processo para fazer o cocrystal da Forma B. O processo compreende a etapa de aquecimento à primeira temperatura a combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina em cerca de razão molar de 1:1 a cerca de 1:2 em álcool C₁₋₆-alquila para produzir solução. A solução é

então resfriada à segunda temperatura não superior a cerca de 30 °C para, desse modo, produzir uma pasta do cocrystal e a pasta é então agitada à segunda temperatura por cerca de 72 horas ou menos.

[0018] Outra concretização é o processo de fabricação do cocrystal de Forma D. O processo compreende o aquecimento à primeira temperatura da combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina em razão molar de cerca 1:1 em EtOH ou acetonitrila, em seguida, resfriar a solução à segunda temperatura não superior a cerca de 30 °C para, assim, produzir a suspensão do cocrystal. A suspensão é então agitada à segunda temperatura por cerca de 72 horas ou menos.

[0019] A revelação é incorporada em ainda outro processo formulado para fazer o cocrystal da forma C. O processo compreende (a) refluxo opcional de quantidades equimolares de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina em EtOH para produzir solução e resfriar a solução a temperatura não superior a cerca de 30 °C para, desse modo, produzir produto sólido. O produto da etapa (a), ou de outra forma combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina em razão molar de cerca de 1:1, é então agitado em acetona a temperatura não superior a cerca de 30 °C por cerca de 72 horas ou menos para assim produzir o cocrystal.

[0020] De acordo com outra concretização, a revelação fornece processo para fazer o cocrystal da forma G. O processo compreende a combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**), L-prolina e pirazina em razões molares de cerca de 1:1:20, respectivamente, em solvente misto de metiletilcetona (MEK) e MeOH para produzir solução e, em seguida, agitar a solução para assim produzir o cocrystal.

[0021] A revelação fornece adicionalmente processo para fazer o cocrystal de **4a**/D-prolina como descrito neste pedido de patente, que compreende o aquecimento à primeira temperatura da combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e D-prolina em razão molar de cerca de 1:1 em álcool C₁₋₆-alquila para produzir solução; e resfriar a solução à segunda temperatura não superior a cerca de 30 °C para assim produzir suspensão do cocrystal.

[0022] Em concretização adicional, a revelação fornece método para aumentar a concentração de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) em relação a N-(2-(5-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4b**) em composição que compreende **4a** e **4b**. O método compreende o contato da composição com prolina em solvente e a sujeição da composição, prolina e solvente a condições de cristalização, em que o cocrystal de **4a** e prolina são produzidos. O volume do cocrystal exibe

concentração de **4a** que é maior do que na composição que compreende **4a** e **4b**.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0023] A Figura 1 apresenta padrão de difração de raios X em pó (XRPD, na sigla em inglês) da Forma B.

[0024] A Figura 2 é a curva de termograma de calorimetria diferencial (DSC, na sigla em inglês) da Forma B.

[0025] A Figura 3 é a curva de análise termogravimétrica (TGA, na sigla em inglês) da Forma B.

[0026] A Figura 4 é a curva de sorção dinâmica de vapor (DVS, na sigla em inglês) da Forma B.

[0027] A Figura 5 é o espectro infravermelho (IR) da Forma B.

[0028] A Figura 6 é o espectro Raman da Forma B.

[0029] A Figura 7 é o desenho elipsoide de deslocamento atômico da Forma B determinado por cristalografia de raios-X de cristal único.

[0030] A Figura 8 é o padrão XRPD calculado da Forma B com base na determinação da estrutura de cristal único.

[0031] A Figura 9 mostra a comparação do padrão XRPD calculado da Forma B (traço inferior) com o padrão XRPD experimental da Forma B (traço superior).

[0032] A Figura 10 apresenta o padrão de difração de raios X em pó (XRPD) da Forma C.

[0033] A Figura 11 é a curva de análise termogravimétrica (TGA) da Forma C.

[0034] A Figura 12 é o desenho do elipsoide de deslocamento atômico da Forma C determinado por cristalografia de raios-X de cristal único.

[0035] A Figura 13 é o padrão XRPD calculado da Forma C com base na determinação da estrutura de cristal único.

[0036] A Figura 14 apresenta o padrão de difração de raios X em pó (XRPD) da Forma D.

[0037] A Figura 15 mostra as curvas DSC (traço inferior) e TGA (traço superior) da Forma D.

[0038] A Figura 16 é a curva de sorção dinâmica de vapor (DVS) da Forma D.

[0039] A Figura 17 apresenta o padrão de difração de raios X em pó (XRPD) da Forma G.

[0040] A Figura 18 apresenta o padrão de difração de raios X em pó (XRPD) de cocrystal de **4a**/D-prolina.

[0041] A Figura 19 mostra as curvas DSC (traço inferior) e TGA (traço superior) do cocrystal **4a**/D-prolina.

[0042] A Figura 20 é a curva de sorção dinâmica de vapor (DVS) de cocrystal de **4a**/D-prolina.

[0043] A Figura 21 mostra as concentrações plasmáticas médias de **4a** em camundongos após a administração de dose oral única de Material A (●) e **4a** (○) amorfo.

[0044] A Figura 22 mostra as concentrações plasmáticas médias de **4a** em macacos após a administração de dose oral única de Material A (●) e **4a** (○) amorfo por gavagem oral, e de Material A (▼) e **4a** (△) amorfo em cápsulas de enchimento solto.

[0045] A Figura 23 apresenta o padrão de difração de raios X em pó (XRPD) de material de cocrystal de **4a**/L-prolina A.

[0046] A Figura 24 mostra as curvas DSC (traço inferior) e TGA (traço superior) do material de cocrystal de **4a**/L-prolina A.

[0047] A Figura 25 é a curva de sorção dinâmica de vapor (DVS) do material de cocrystal de **4a**/L-prolina A.

DESCRIÇÃO DETALHADA

Definições

[0048] Abreviações, acrônimos e termos usados ao longo da revelação têm os significados a seguir.

RMN	Espectroscopia por ressonância magnética nuclear
OM	Microscopia ótica
XRPD	difração de raios X em pó
CP	Precipitação por colisão
FE	Evaporação rápida
RC	Cristalização de reação
SC	Resfriamento lento
SE	Evaporação lenta
qtd	Quantidade
API	Ingrediente farmacêutico ativo
B/E	Birrefringência e extinção
eq	Equivalente
min.	Minuto(s)
mol.	Molar
Obs	Observação
ppt	Precipitado ou precipitação
ref.	Refrigerador
TA	Temperatura ambiente
Sol/sol	Solução
vac	Vácuo
ACN	Acetonitrila
2-BuOH	2-butanol
EtOH	Etanol
EtOAc	Acetato de etila
IPA ou 2-PrOH	Álcool isopropílico, 2-propanol
IPE	Éter isopropílico

MEK	Metiletilcetona
MeOH	Metanol
MTBE ou TBME	Éter metil- <i>terciário</i> -butílico
THF	Tetra-hidrofurano
TMP	2,3,5,6-Tetrametil-pirazina
p/p	peso/peso. A porcentagem em peso de 4a no cocristal de 4a /prolina é calculada excluindo o conteúdo de prolina, isto é, $w/w = (\text{peso } \mathbf{4a}) / (\text{peso de todas as espécies não prolinas no cocristal})$.

Introdução

[0049] Conforme resumido acima, estudos do novólogo **4** destacaram a excelente potência do composto na inibição independente de Hsp70 de Hsp90 (Kusuma (2012) e Ma (2015)). Os estudos revelaram desvantagens potenciais para a síntese do composto, incluindo sua tendência de resultar em mistura do anômero- α **4a** e do anômero- β **4b** e um baixo rendimento geral. Além disso, embora o método de purificação de cromatografia de coluna relatado de **4** seja apropriado para estudo em pequena escala, e embora o composto fosse cerca de 95% puro (HPLC), o método é impraticável para gerar grandes quantidades farmacologicamente puras de anômero- α **4a** para o desenvolvimento de fármacos.

[0050] Os presentes inventores, portanto, empreenderam várias estratégias de cristalização para isolar o **4a**. No entanto, os inventores não descobriram condições sob as quais o **4a** pudesse ser separado do **4b** por cristalização.

[0051] Os inventores submeteram o **4a** amorfo a uma peneira de cocristal composta por 28 coformadores e, surpreendentemente, descobriram que a L-prolina e a D-prolina cocristalizaram seletivamente com o anômero- α **4a**. Além disso, os inventores descobriram que a L-prolina e a D-

prolina são os únicos coformadores testados que produziram qualquer material cristalino passível de caracterização definitiva (ver Exemplo 3).

Formas cocrystalinas

[0052] O contato do composto **4** com a coformadora L-prolina ou D-prolina surpreendentemente resulta na cocrystalização seletiva de **4a** com qualquer coformador (ver Exemplos 2 e 10). Desta forma, a cocrystalização atinge quantidades de **4** que são altamente enriquecidas em **4a**, relativamente a **4b**, conforme determinado por HPLC, por exemplo. Assim, em uma modalidade, a cocrystalização seletiva de **4a** com L-prolina reduz a concentração do anômero- β e facilita a remoção de impurezas menores. Consequentemente, a formação do cocrystal de **4a**/L-prolina melhora a pureza de **4a** (HPLC) de cerca de 90% a pelo menos 95%, 96%, 97% ou 98%. A recristalização subsequente do cocrystal de **4a**/L-prolina melhora ainda mais a pureza de **4a** para pelo menos 97%, 98% ou 99%.

[0053] Da mesma forma, em outras concretizações, a cocrystalização de composição de partida de **4a** e **4b** com D-prolina, tal como em quantidades aproximadamente equimolares de **4a**/ **4b** e D-prolina, resulta em um cocrystal de **4a**/D-prolina em que a pureza (isto é, concentração) de **4a**, em relação à concentração de **4a** na composição inicial, melhora em pelo menos 15%, 10%, 5% ou 3% conforme determinado por HPLC. Assim, por exemplo, uma composição inicial de **4a**/ **4b** contém **4a** na concentração de cerca de 93% e, após a cocrystalização com D-prolina, o cocrystal resultante contém **4a** na concentração de cerca de 98%. Em algumas concretizações, o cocrystal de **4a**/D-prolina contém **4a** na pureza final de pelo menos 85%, 90%, 95%, 97%, 98% ou 99%.

[0054] Em outras concretizações, a quantidade do α -anômero **4a** é purificada por contato com D-prolina, tal como em quantidades equimolares, caso em que o cocrystal de **4a**/D-prolina é produzido. A concentração resultante de **4a** no cocrystal bruto é mais alta, por exemplo, em pelo menos 1%, 2%, 3%, 4% ou 5% (HPLC) do que a concentração de **4a** na quantidade inicial de **4a**. Cada uma dessas concretizações contempla a etapa opcional de uma ou mais recristalizações para aumentar ainda mais a pureza de **4a** em determinado cocrystal.

[0055] A cocrystalização também produziu variedade de formas de cocrystalais, conforme resumido acima. As várias formas são identificadas e distinguidas umas das outras por uma ou mais técnicas analíticas, incluindo difração de raios X em pó (XRPD), termograma de calorimetria diferencial (DSC) e análise termogravimétrica (TGA).

Forma B

[0056] Assim, uma concretização denotada por Forma B é o cocrystal de N-(2-(5-(((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina na razão molar de 1:2, respectivamente. O difratograma de raios X em pó compreende a caracterização de picos a 14,76, 16,86, 19,00 e 21,05 °2θ ±0,2 °2θ conforme determinado em um difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα no comprimento de onda de 1,54178 Å. Em uma concretização, o difratograma de raios X em pó compreende ainda picos em 12,14, 17,51, 18,89 e 19,41 °2θ ±0,2 °2θ. De acordo com ainda outra concretização, a Forma B é adicionalmente substancialmente caracterizada por todo o seu difratograma de raios X em pó (ver Figura 1).

[0057] A curva DSC da Forma B é característica deste cocrystal por exibir exotermia em torno de 211 °C. De acordo com uma concretização, a Forma B é caracterizada por todo o termograma DSC como mostrado substancialmente na Figura 2.

[0058] A revelação é ainda incorporada no processo para produzir a Forma B (ver Exemplo 4). O processo compreende o aquecimento da combinação de N-(2-(5-(((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina na razão molar de cerca de 1:1 a cerca de 1:2 em um álcool C₁₋₆-alquila para produzir a solução. Em algumas concretizações, **4a** está presente como **4a** puro, enquanto em outras concretizações **4a** está presente em combinação com o anômero-β **4b**, tal como a combinação resultante da síntese publicada de **4** (Kusuma 2012, *supra*). Por exemplo, **4a** está presente em 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% (p/p). A combinação

é aquecida à primeira temperatura que varia de cerca de 50 °C a cerca de 80 °C. Álcoois C₁₋₆-alquila ilustrativos incluem metanol, etanol e *n*- e *i*-propanol. Em uma concretização, o álcool é etanol. De acordo com uma concretização, a primeira temperatura conveniente é o ponto de ebulição do álcool sob pressão padrão. Assim, por exemplo, quando o etanol é o álcool, a primeira temperatura é o ponto de ebulição, ou seja, cerca de 78 °C.

[0059] O processo compreende ainda a etapa de resfriamento da solução de **4a** e L-prolina até a segunda temperatura que não é superior a cerca de 30 °C para, assim, produzir a pasta do cocristal. A pasta é agitada à segunda temperatura durante de cerca de 72 horas ou menos. Em uma concretização, a pasta é filtrada para isolar a Forma B.

Forma D

[0060] A revelação é ainda concretizada no cocristal de **4a** e L-prolina presente na razão molar de 1:2, respectivamente, e é denotada como Forma D. A Forma D é caracterizada pelo difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 9,20, 16,19, 18,45 e 24,51 °2θ ±0,2 °2θ conforme determinado em um difratômetro usando radiação Cu-Kα no comprimento de onda de 1,54178 Å. Outra concretização é formulada para picos de caracterização adicionais que ocorrem em 11,83, 17,16, 20,15 e 25,34 °2θ ±0,2 °2θ. A Forma D é adicionalmente caracterizada por seu difratograma de raios X em pó como mostrado substancialmente na Figura 14.

[0061] A curva DSC da Forma D também é característica deste cocristal por exibir endotermia em torno de 212,2 °C, com temperatura inicial de cerca de 211,2 °C. De acordo com

uma concretização, a Forma D é caracterizada por todo o termograma DSC conforme mostrado substancialmente na Figura 15.

[0062] Uma concretização da revelação também se refere ao processo para produzir a Forma D. O processo compreende a etapa de aquecimento à primeira temperatura da combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina na razão molar de cerca de 1:1 em EtOH ou acetonitrila. Em algumas concretizações, **4a** está presente como **4a** puro, enquanto em outras concretizações **4a** está presente em combinação com o anômero- β **4b**, tal como a combinação resultante da síntese publicada de **4** (Kusuma 2012, *supra*). Por exemplo, **4a** está presente em 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% (p/p). A primeira temperatura é aquela selecionada na faixa de cerca de 70 °C a cerca de 85 °C. A temperatura conveniente, por exemplo, é alcançada por refluxo da combinação, *ou seja*, no ponto de ebulição da acetonitrila em torno de 82 °C.

[0063] O processo compreende ainda as etapas de resfriamento da solução à segunda temperatura não superior a cerca de 30 °C para, assim, produzir a suspensão do cocrystal e, em seguida, agitar a suspensão na segunda temperatura durante cerca de 72 horas ou menos. De acordo com uma concretização, a suspensão é filtrada, por exemplo, para isolar a Forma D.

Forma C

[0064] A revelação é ainda incorporada no solvato de acetona do cocrystal de **4a** e L-prolina presente em razões molares de 1:1: 1, respectivamente, e é denotado como Forma

C (ver Exemplo 6). O cocrystal é caracterizado pelo difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 14,64, 17,53, 18,91 e 21,33 °2θ ±0,2 °2θ conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα no comprimento de onda de 1,54178 Å. Mais especificamente, de acordo com outra concretização, o difratograma de raios X em pó compreende picos adicionais em 12,10, 15,14, 18,26 e 19,56 °2θ ±0,2 °2θ. Estes e os picos adicionais que são característicos da Forma C são exibidos em seu difratograma de raios X em pó como mostrado substancialmente na Figura 10.

[0065] A Forma C é adicionalmente caracterizada por referência ao seu termograma TGA que compreende etapas de perda de peso que concluem em torno de 150 °C e em torno de 220 °C. Uma concretização é formulada para o termograma TGA da Forma C, como mostrado substancialmente na Figura 11.

[0066] A Forma C é produzida por processo de acordo com várias modalidades da revelação. Assim, em uma concretização, o processo compreende refluxo de quantidades equimolares de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e L-prolina em EtOH para produzir a solução, e então resfriar a solução a temperatura não superior a cerca de 30 °C para, desse modo, resultar num produto sólido. O produto sólido é então agitado em acetona a temperatura não superior a cerca de 30 °C durante cerca de 72 horas ou menos para, dessa maneira, produzir a Forma C.

[0067] Alternativamente, a combinação de **4a** e L-prolina na razão molar de cerca de 1:1 é agitada em acetona a temperatura não superior a cerca de 30 °C durante cerca de

72 horas ou menos para, dessa maneira, produzir a Forma C. Em qualquer dessas concretizações, **4a** está presente como **4a** puro ou em combinação com o anômero- β **4b**, tal como aquele produzido pela síntese publicada de **4**. Em outra concretização, a Forma C é isolada, por filtração.

Forma G

[0068] A revelação se refere ainda ao cocrystal de **4a** e L-prolina que existe como solvato de metiletilcetona e pirazina e é denotado como Forma G (ver Exemplo 9). Conforme explicado nos exemplos, a indexação de XRPD da Forma G é consistente com a razão molar **4a**: L-prolina de 1:1, mas a indexação não distingue entre as moléculas de MEK e pirazina de tamanho comparável, tornando as quantidades definitivas dos solventes difíceis de estabelecer por esta técnica analítica. A análise por RMN de próton da Forma G, no entanto, estabeleceu razões molares de **4a**, L-prolina, MEK e pirazina em cerca de 1:1,2:0,6:0,1, respectivamente. A Forma G é, assim, caracterizada por seu difratograma XRPD com picos de caracterização em 10,42, 14,62, 19,28 e 21,14 $^{\circ}2\theta \pm 0,2$ $^{\circ}2\theta$ conforme determinado em difratômetro usando radiação Cu-K α no comprimento de onda de 1,54178 Å. Outra concretização fornece picos adicionais em 11,85, 14,93, 17,40 e 19,28 $^{\circ}2\theta \pm 0,2$ $^{\circ}2\theta$. A Forma G também pode ser caracterizada por seu difratograma XRPD completo, conforme mostrado substancialmente na Figura 17.

[0069] A análise XRPD da Forma G estabeleceu parâmetros de célula unitária que caracterizam o cocrystal, de acordo com outra concretização. Assim, os parâmetros são $a = 10,975$ Å, $b = 10,310$ Å, $c = 15,704$ Å, $\alpha = 90^{\circ}$, $\beta = 108,56^{\circ}$ e $\gamma = 90^{\circ}$.

[0070] A revelação se refere ainda ao processo para produzir a Forma G. O processo compreende a combinação de N-(2-(5-(((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**), L-prolina e pirazina em razões molares de cerca de 1:1:20, respectivamente, em solvente misto de metil etil cetona (MEK) e MeOH para produzir a solução. Em algumas concretizações, **4a** está presente como **4a** puro, enquanto em outras concretizações **4a** está presente em combinação com o anômero- β **4b**, tal como a combinação resultante da síntese publicada de **4** (Kusuma 2012, *supra*). Por exemplo, **4a** está presente em 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% (p/p). Em geral, o solvente misto é concretizado por excesso de MEK sobre MeOH. Assim, a razão ilustrativa de MEK para MeOH é de cerca de 9:1 (v/v). A solução é então agitada para produzir a Forma G.

Material A

[0071] Outra concretização da presente revelação é o cocristal de **4a** e L-prolina presente na razão molar de 1:1, respectivamente, e é denotado como Material A. O material A é caracterizado pelo difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 8,52, 16,33, 19,50 e 21,22 $^{\circ}2\theta \pm 0,20$ $^{\circ}2\theta$ conforme determinado em difratômetro usando radiação Cu-K $_{\alpha 1}$ no comprimento de onda de 1,5405929 Å. Outra concretização é formulada para picos de caracterização adicionais que ocorrem em 9,19, 13,22, 14,75 e 17,57 $^{\circ}2\theta \pm 0,2$ $^{\circ}2\theta$. O material A é caracterizado adicionalmente por seu difratograma de raios X em pó, conforme mostrado substancialmente na Figura 23.

[0072] Análise XRPD do Material A estabeleceu ainda parâmetros de célula unitária que caracterizam o cocristal,

de acordo com outra concretização. Assim, os parâmetros são $a = 10,126 \text{ \AA}$, $b = 11,021 \text{ \AA}$, $c = 30,259 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$ e $\gamma = 90^\circ$.

[0073] A curva DSC do Material A também é característica desse cocrystal ao exibir endotermia em torno de $145 \text{ }^\circ\text{C}$. De acordo com uma concretização, o Material A é caracterizado pelo termograma DSC integral como mostrado substancialmente na Figura 24.

[0074] O material A é adicionalmente caracterizado por referência ao seu termograma TGA que compreende etapas de perda de peso concluindo em torno de $160 \text{ }^\circ\text{C}$ e em torno de $230 \text{ }^\circ\text{C}$. Uma concretização é formulada para o termograma TGA do Material A, como mostrado substancialmente na Figura 24.

4a/D-prolina cocrystal

[0075] A revelação também fornece, em outra concretização, o cocrystal de **4a** e D-prolina presentes na razão molar de 1:1 (ver Exemplo 11). O cocrystal é caracterizado por seu difratograma XRPD com picos de caracterização em $11,77$, $14,52$, $19,54$ e $21,23 \text{ }^\circ 2\theta \pm 0,20 \text{ }^\circ 2\theta$ conforme determinado em difratômetro usando radiação Cu- $K\alpha_1$ no comprimento de onda de $1,5405929 \text{ \AA}$. Picos característicos adicionais ocorrem em $8,45$, $13,18$, $16,95$ e $19,12 \text{ }^\circ 2\theta \pm 0,2 \text{ }^\circ 2\theta$. Estes e mesmo picos adicionais que sejam característicos do cocrystal são exibidos em seu difratograma de raios X em pó como mostrado substancialmente na Figura 18.

[0076] A curva DSC do cristal de **4a**/D-prolina também é característica deste cocrystal por exibir uma endotermia em torno de $130 \text{ }^\circ\text{C}$. De acordo com uma concretização, o

cocristal é caracterizado por todo o termograma DSC conforme mostrado substancialmente na Figura 19.

[0077] O cocristal é adicionalmente caracterizado por referência ao seu termograma TGA que compreende duas etapas de perda de peso concluindo em torno de 150-160 °C e em torno de 230 °C, respectivamente. Uma concretização é formulada para o termograma TGA do cocristal, como mostrado substancialmente na Figura 19.

[0078] A revelação fornece ainda o processo para produzir o cristal de **4a**/D-prolina. O processo compreende as etapas de (a) aquecimento à primeira temperatura da combinação de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenila]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) e D-prolina em torno da razão molar de 1:1 em álcool C₁₋₆-alquila para produzir solução; e (b) resfriar a solução à segunda temperatura não superior a cerca de 30 °C para assim produzir a suspensão do cocristal. Em algumas concretizações, **4a** está presente como **4a** puro, enquanto em outras concretizações **4a** está presente em combinação com o anômero-β **4b**, tal como a combinação resultante da síntese publicada de **4** (Kusuma 2012, *supra*). Por exemplo, **4a** está presente em 95%, 96%, 97%, 98% ou 99% (p/p).

Métodos de purificação

[0079] A descoberta surpreendente de que **4a** seletivamente cocristaliza com L- e D-prolina gera, de acordo com uma concretização, método para purificar **4a** a partir de quantidades brutas de **4**. Ou seja, a cocristalização de **4a** com prolina enriquece a concentração de **4a** em relação a **4b** na amostra global resultante de **4a**/cocristal de prolina.

Método para aumentar a concentração de **4a** contempla primeiro a composição inicial de **4a** e **4b**. A composição de partida pode ser o sólido a granel que resulta da síntese publicada de **4**, ou por uma de várias vias sintéticas alternativas, conhecidas ou razoavelmente contempladas por aqueles versados na técnica de síntese orgânica, que levam a **4**. Além disso, a composição de partida pode ser sólida a granel de predominantemente **4a** que resultou de outros meios de purificação, como cromatografia em coluna. Os inventores descobriram surpreendentemente a este respeito que **4a** desafiava todas as tentativas de cristalização; de fato, sob nenhuma condição foi observada a existência de **4a** na forma cristalina. Em qualquer destes exemplos, a composição inicial contém pelo menos alguma quantidade de **4b**, tal como 0,5 a cerca de 10% (p/p).

[0080] Excesso molar de prolina, tal como um a cerca de dois equivalentes, é combinado com a composição inicial em solvente. Em algumas concretizações, a prolina é L-prolina e, em outras concretizações, a prolina é D-prolina. É possível usar misturas de L- e D-prolina. Qualquer solvente capaz de dissolver substancialmente a prolina e a composição de partida é adequado para este propósito. Solventes exemplares, como qualquer solvente descrito neste pedido de patente, incluem álcoois alquila-C₁-C₆, como metanol e etanol. Em algumas concretizações do método, é vantajoso promover a dissolução por aquecimento da composição prolina de partida, e mistura de solvente. Temperatura conveniente para este propósito é a temperatura de refluxo do solvente.

[0081] A combinação da composição inicial, prolina e solvente é então submetida a condições de cristalização para alcançar a cocristalização de **4a** e prolina. Várias técnicas

de cristalização são úteis neste contexto, como qualquer das aqui descritas. Em concretizações exemplares, a solução quente da composição de partida e prolina é deixada resfriar até a temperatura ambiente. Medidas de resfriamento externo podem ser implementadas para resfriar a solução abaixo da temperatura ambiente para facilitar a cocristalização. Alternativamente, ou em combinação, o solvente pode evaporar lentamente. Qualquer desses meios, isoladamente ou em combinação com outro, perturba o equilíbrio da solução em direção à cristalização.

[0082] O cocristal bruto resultante de **4a** e prolina é assim enriquecido em **4a**, em relação à concentração de **4a** na composição inicial. A concentração correspondente de **4b** é diminuída. Além disso, o método purifica **4a** de outras impurezas. Método conveniente para quantificar a concentração de **4a** é o HPLC, embora qualquer técnica analítica capaz de resolver e quantificar os componentes presentes na mistura seja adequada para este propósito, incluindo cromatografia gasosa (GC) conduzida em fases quirais estacionárias. Assim, por exemplo, a concentração de **4a** no cocristal bruto é cerca de 3 a cerca de 20%, ou cerca de 5 a cerca de 15% (p/p) maior do que na composição inicial. Alternativamente, o aumento em **4a** no cocristal a granel, em relação à concentração de **4a** na composição inicial a granel, é de pelo menos cerca de 5%, cerca de 10% ou cerca de 15% (p/p). Assim, por exemplo, a composição inicial de **4** contém cerca de 93% **4a** e cerca de 6% **4b**, conforme determinado por HPLC (ver Exemplo 10 (A)). Após a cocristalização com L-prolina, conforme prescrito pelo método da invenção, a quantidade de **4b** no cocristal a granel resultante diminui para cerca de 2,5%. Em qualquer dessas

concretizações, a recristalização subsequente do cocrystal de **4a**/prolina pode diminuir ainda mais a quantidade de **4b** no material a granel.

[0083] Esta revelação se refere a padrões, como padrões de XRPD, em termos de seus picos característicos. A montagem de tais picos é única para dada forma de cocrystal dentro das incertezas atribuíveis a instrumentos individuais e às condições experimentais. Assim, por exemplo, cada pico de XRPD é revelado em termos do ângulo 2θ que tem a incerteza aceitável de $\pm 0,2^\circ 2\theta$, sendo, portanto, entendido que as variações dos picos característicos dentro dessa incerteza de forma alguma prejudicam a identidade de determinada forma de cocrystal com a montagem correspondente de seus picos característicos.

Composição Farmacêutica

[0084] A revelação também contempla como outra modalidade a composição farmacêutica que compreende cocrystal, conforme descrito neste pedido de patente. Conforme explicado nos exemplos, o cocrystal da invenção surpreendentemente exhibe biodisponibilidade muito maior do que **4a** sozinho, isto é, como o sólido amorfo. Portanto, a composição farmacêutica pode ser formulada para conter concentração mais baixa de cocrystal para atingir terapêuticamente os mesmos efeitos, em relação às formulações que contêm **4a** amorfo. Por este benefício do cocrystal inventivo, quantidades terapêuticamente eficazes do cocrystal na composição farmacêutica fornecem dose de cerca de 0,1 mg a cerca de 1000 mg, ajustada conforme necessário de acordo com o peso

do paciente. As dosagens típicas podem variar de cerca de 0,01 mg/kg a cerca de 100 mg/kg por dia.

[0085] A composição farmacêutica compreende ainda, de acordo com as práticas aceitas de composição farmacêutica, um ou mais excipientes, diluentes, adjuvantes, estabilizantes, emulsificantes, conservantes, corantes, tampões ou agentes que conferem sabor, que em agregado constituem o veículo farmacêuticamente aceitável. Em geral, a composição farmacêutica é preparada com materiais e técnicas convencionais, tais como mistura, combinação e semelhantes. Em princípio, o veículo farmacêuticamente aceitável pode ser líquido, desde que o cocrystal mantenha a estabilidade constitutiva e estrutural, tal como não se dissolver no veículo. Em geral, porém, o veículo farmacêuticamente aceitável e, portanto, a composição como um todo são sólidos.

[0086] De acordo com algumas concretizações, a composição farmacêutica compreende ainda um ou mais cocrystal adicionais, conforme divulgado neste documento. Por exemplo, a composição compreende duas formas, três formas ou quatro formas. Composição exemplar compreende a Forma B e a Forma D. As composições binárias, isto é, aquelas contendo apenas duas formas, fornecem as formas em várias proporções de peso que variam de cerca de 0,05:1 a cerca de 1:0,05. Razões e intervalos intermediários também são contemplados, tais como 0,2:1 a cerca de 1:0,2 e 0,5:1 a cerca de 1:0,5.

[0087] Para composições de comprimidos, o cocrystal inventivo em mistura com excipientes farmacêuticamente aceitáveis não tóxicos é usado para a fabricação de comprimidos. Exemplos de tais excipientes incluem, sem limitação, diluentes inertes, tais como carbonato de cálcio,

carbonato de sódio, lactose, fosfato de cálcio ou fosfato de sódio; agentes de granulação e desintegração, por exemplo, amido de milho ou ácido alginico; agentes de ligação, por exemplo amido, gelatina ou acácia, e agentes lubrificantes, por exemplo estearato de magnésio, ácido esteárico ou talco. Os comprimidos podem ser não revestidos ou podem ser revestidos por técnicas de revestimento conhecidas para atrasar a desintegração e absorção no trato gastrointestinal e, assim, fornecer ação terapêutica sustentada durante um período de tempo desejado. Por exemplo, material de retardo de tempo, como monoestearato de glicerila ou diestearato de glicerila, pode ser empregado.

[0088] As formulações para uso oral também podem ser apresentadas como cápsulas de gelatina dura em que o ingrediente ativo é misturado com um diluente sólido inerte, por exemplo, carbonato de cálcio, fosfato de cálcio ou caulino, ou como cápsulas de gelatina mole em que o ingrediente ativo é misturado com água ou um meio de óleo, por exemplo óleo de amendoim, parafina líquida ou azeite. Essas formulações, e todas as outras formulações líquidas descritas neste pedido de patente, estão sujeitas às limitações delineadas acima para preservar a integridade constitutiva e estrutural do cocrystal sólido.

[0089] A composição farmacêutica é apresentada como suspensão de acordo com as concretizações descritas abaixo. As concretizações se referem a "suspensão estável", o que significa que determinado cocrystal ou combinação de cocrystal mantém suas características, *por exemplo*, picos de XRPD, mesmo enquanto em contato com outros componentes da suspensão, ou seja, por não se dissolver em os excipientes

líquidos da suspensão, não se convertendo em outro cocristal ou forma amorfa, ou ambos.

[0090] Para suspensões aquosas, o cocristal da invenção é misturado com excipientes adequados para manter uma suspensão estável. Exemplos de tais excipientes incluem, sem limitação, carboximetilcelulose de sódio, metilcelulose, hidropilmetilcelulose, alginato de sódio, polivinilpirrolidona, goma tragacanta e goma acácia.

[0091] As suspensões orais também podem conter agentes dispersantes ou umectantes, como fosfatídeo de ocorrência natural, por exemplo, lecitina, ou produtos de condensação de óxido de alquilenos com ácidos graxos, por exemplo estearato de polioxietileno, ou produtos de condensação de óxido de etileno com álcoois alifáticos de cadeia longa, por exemplo, heptadecaetilenoxicetanol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e um hexitol, tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, ou produtos de condensação de óxido de etileno com ésteres parciais derivados de ácidos graxos e anidridos de hexitol, por exemplo monooleato de polietileno sorbitano. As suspensões aquosas também podem conter um ou mais conservantes, por exemplo, etil ou n-propil p-hidroxibenzoato, um ou mais agentes corantes, um ou mais agentes aromatizantes e um ou mais agentes adoçantes, tais como sacarose ou sacarina.

[0092] As suspensões oleosas podem ser formuladas suspendendo os ingredientes ativos em óleo vegetal, por exemplo, óleo de amendoim, azeite, óleo de gergelim ou óleo de coco, ou em um óleo mineral, como parafina líquida. As suspensões oleosas podem conter agente espessante, por exemplo cera de abelha, parafina dura ou álcool cetílico.

[0093] Agentes edulcorantes, tais como aqueles apresentados acima, e agentes aromatizantes podem ser adicionados para fornecer preparações orais saborosas. Estas composições podem ser preservadas pela adição de um antioxidante como o ácido ascórbico.

[0094] Pós dispersíveis e grânulos adequados para a preparação de suspensão aquosa pela adição de água podem fornecer o ingrediente ativo em mistura com agente dispersante ou umectante, agente de suspensão e um ou mais conservantes. Agentes dispersantes ou molhantes e agentes de suspensão adequados são exemplificados por aqueles já mencionados acima. Excipientes adicionais, por exemplo agentes adoçantes, aromatizantes e corantes, também podem estar presentes.

[0095] As composições farmacêuticas da invenção também podem estar na forma de emulsões óleo-em-água. A fase oleosa pode ser óleo vegetal, por exemplo azeite ou óleo de amendoim, ou óleo mineral, por exemplo parafina líquida ou misturas destes. Os agentes emulsionantes adequados podem ser gomas de ocorrência natural, por exemplo goma acácia ou goma tragacanta, fosfatídeos de ocorrência natural, por exemplo soja, lecitina e ésteres ou ésteres parciais derivados de ácidos graxos e anidridos de hexitol, por exemplo monooleato de sorbitano e produtos de condensação dos referidos ésteres parciais com óxido de etileno, por exemplo monooleato de polioxietileno sorbitano. As emulsões também podem conter agentes adoçantes e aromatizantes.

[0096] Os xaropes e elixires podem ser formulados com agentes adoçantes, por exemplo, glicerol, propilenoglicol, sorbitol ou sacarose. Essas formulações também podem conter demulcente, conservante e agentes aromatizantes e corantes.

As composições farmacêuticas podem estar na forma de injetável estéril, suspensão aquosa ou suspensão oleaginosa. Esta suspensão pode ser formulada de acordo com a técnica conhecida usando agentes dispersantes ou molhantes e agentes de suspensão adequados que foram mencionados acima. A preparação injetável estéril também pode ser solução ou suspensão injetável estéril em diluente ou solvente não tóxico, parenteralmente aceitável, por exemplo, como solução em 1,3-butanodiol. Entre os veículos e solventes aceitáveis que podem ser empregados estão água, solução de Ringer e solução isotônica de cloreto de sódio. Além disso, óleos fixos estéreis são convencionalmente empregados como solvente ou meio de suspensão. Para este propósito, qualquer óleo fixo suave pode ser empregado, incluindo mono- ou diglicerídeos sintéticos. Além disso, os ácidos graxos, como o ácido oleico, encontram uso na preparação de injetáveis.

[0097] Os cocristais da invenção também podem ser administrados na forma de supositórios para administração retal do cocrystal. Essas composições podem ser preparadas misturando o cocrystal com o excipiente não irritante adequado que é sólido a temperaturas normais, mas líquido à temperatura retal e, portanto, derreterá no reto para liberar o cocrystal. Exemplos de tais materiais são manteiga de cacau e polietilenoglicóis.

[0098] As composições para administração parenteral são administradas em meio estéril. Dependendo do veículo usado e da concentração do cocrystal na formulação, a formulação parenteral pode ser suspensão do cocrystal, desde que a distribuição do tamanho de partícula do cocrystal seja apropriada para este modo de administração. Adjuvantes tais

como anestésicos locais, conservantes e agentes tamponantes também podem ser adicionados às composições parenterais.

Métodos de Uso

[0099] Vantagem surpreendente conferida pelos cocristais inventivos, como evidenciado pelos exemplos anexos, é a capacidade de fabricar grandes quantidades de **4a** em purezas diastereoméricas e químicas muito elevadas. Isso é especialmente importante para o desenvolvimento de **4a** em conformidade, por exemplo, com os regulamentos de Boas Práticas de Fabricação (GMP) promulgados pelos EUA Administração de Alimentos e Medicamentos. Em contraste, a síntese de **4a** amorfo requer técnicas de separação subsequentes e laboriosas, como cromatografia - e todas as tentativas de cristalização foram malsucedidas como mencionado acima - que ainda são ineficientes no isolamento de **4a** em purezas químicas e diastereoméricas elevadas para fins de GMP. Por essas razões, os cocristais e processos inventivos para fazê-los fornecem grandes quantidades de **4a** que são úteis em ensaios clínicos e esforços de comercialização.

[00100] Outra vantagem dos cocristais inventivos reside na biodisponibilidade inesperadamente elevada de **4a** dos cocristais em comparação com **4a** amorfo. Mais especificamente, a administração *in vivo* do cocrystal aumentou a biodisponibilidade de **4a** pelo fator de cerca de 1,5-2, em relação à mesma dose de **4a** amorfo (ver Exemplos 12 e 13). Essa característica dos cocristais inventivos é ainda mais surpreendente tendo em vista, e de fato contrasta com a observação geral de que as formas amorfas de produtos farmacêuticos são marcadamente mais solúveis e, portanto, mais biodisponíveis do que suas contrapartes cristalinas.

Veja-se, BC Hancock *et al.*, *Pharm. Res.* 17(4) (2000) 397 - 404; B. C. Hancock *et al.*, *J. Pharm. Sci.* 86(1) (1997) 1 - 12.

[00101] À luz dessas vantagens, a presente revelação é ainda direcionada ao uso de qualquer das formas de cocrystal, incluindo suas composições farmacêuticas, para tratar ou prevenir distúrbio neurodegenerativo em paciente que dele sofre. Exemplos não limitativos de tais distúrbios neurodegenerativos incluem doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica (ALS), doença de Huntington, atrofia muscular espinhal, ataxia espinocerebelar e formas de ataxia e distúrbios nervosos desmielinizantes, incluindo doenças do neurônio motor. Além disso, as formas de cocrystal e suas composições farmacêuticas são úteis no tratamento da neuropatia diabética (incluindo suas formas dolorosas e insensíveis) e outras formas de neuropatia, incluindo dor neuropática que não é devida ao diabetes.

[00102] As formas de cocrystal e suas composições farmacêuticas também são úteis no tratamento de distúrbios neurológicos envolvendo disfunção mitocondrial, estresse oxidativo ou inflamação, à luz do uso relatado do composto **4a** para melhorar a função mitocondrial prejudicada em neurônios e para reduzir a expressão de marcadores inflamatórios em neurônios diabéticos (Ma (2015)). Como os tecidos diabéticos sofrem estresse oxidativo significativo, esses resultados indicam que as formas de cocrystal da invenção e suas composições farmacêuticas são úteis no tratamento de outros distúrbios neurológicos que envolvem estresse oxidativo e inflamação crônica, incluindo epilepsia, esclerose múltipla, lesão da medula espinhal e

distúrbios psiquiátricos incluindo esquizofrenia, depressão, transtorno bipolar, autismo e transtornos relacionados e transtornos de estresse pós-traumático. As composições e formas de cocristal podem ser usadas em combinação com outras terapias, particularmente terapias que reduzem o estresse oxidativo, inflamação e disfunção mitocondrial por outros mecanismos.

[00103] Como o termo é usado neste documento, "distúrbio neurodegenerativo" refere-se a um distúrbio no qual a perda progressiva de neurônios ocorre no sistema nervoso periférico ou no sistema nervoso central. Assim, em uma concretização, a revelação fornece método para inibir Hsp90 em paciente, tal como durante ou em seguida ao tratamento do distúrbio neurodegenerativo, por meio da inibição da deterioração progressiva de neurônios que leva à morte celular.

[00104] Método conforme descrito neste pedido de patente compreende a administração ao paciente de quantidade terapêuticamente eficaz do cocristal inventivo. Dentro das diretrizes de dosagem estabelecidas acima, a "quantidade terapêuticamente eficaz" é a quantidade de cocristal que inibe, total ou parcialmente, a progressão do distúrbio ou alivia, pelo menos parcialmente, um ou mais sintomas do distúrbio. Quantidade terapêuticamente eficaz também pode ser a quantidade que é profilaticamente eficaz. A quantidade que é terapêuticamente eficaz dependerá do tamanho e sexo do paciente, do distúrbio a ser tratado, da gravidade do distúrbio e do resultado pretendido. Para determinado paciente e distúrbio, a quantidade terapêuticamente eficaz pode ser determinada por métodos conhecidos pelos versados na técnica.

[00105] Em várias concretizações, o método envolve a prevenção de distúrbio neurológico. O termo "prevenir" ou "prevenção", conforme usado neste documento, significa que o cocristal inventivo é útil quando administrado ao paciente que não foi diagnosticado como possivelmente tendo o distúrbio no momento da administração, mas que normalmente se espera que desenvolva o distúrbio ou tenha risco aumentado para o distúrbio. O cocristal inventivo retarda o desenvolvimento dos sintomas do distúrbio, retarda o início do distúrbio ou impede que o paciente desenvolva o distúrbio. A prevenção também contempla a administração de cocristal ao paciente que se acredita estar predisposto ao distúrbio devido à idade, história familiar, anormalidades genéticas ou cromossômicas e/ou devido à presença de um ou mais marcadores biológicos para o distúrbio.

[00106] Em outras concretizações, o método inventivo envolve "tratamento" ou "tratar", o que significa que o cocristal é usado no paciente com pelo menos um diagnóstico provisório do distúrbio. Portanto, o cocristal da invenção atrasa ou retarda a progressão do distúrbio. Além disso, o termo "tratamento" abrange pelo menos a melhoria dos sintomas associados ao distúrbio, onde a melhoria é usada em sentido amplo para se referir a pelo menos uma redução na magnitude do parâmetro, por exemplo, sintoma, associado à condição sendo tratada. Como tal, "tratamento" também inclui situações em que o distúrbio, ou pelo menos os sintomas associados a ele, são completamente inibidos, por exemplo, impedidos de acontecer, ou interrompidos, por exemplo, interrompido, de modo que o paciente não mais sofra do distúrbio, ou pelo menos dos sintomas que caracterizam o transtorno.

[00107] Em uma concretização, o distúrbio neurodegenerativo é a glucotoxicidade do neurônio sensorial resultante de, por exemplo, hiperglicemia associada à condição diabética. Por exemplo, o paciente sofre de diabetes tipo 1 ou tipo 2. Mais especificamente, de acordo com uma concretização, o distúrbio neurodegenerativo é a neuropatia periférica diabética. Assim, em uma concretização, o método inventivo compreende prevenir ou reduzir a probabilidade de neuropatia periférica diabética se desenvolver em paciente que sofre de diabetes tipo 1 ou tipo 2.

[00108] No contexto dos métodos e usos inventivos, o "paciente" a ser tratado com o cocristal inventivo é animal e é de preferência mamífero, por exemplo, cães, gatos, ratos, macacos, ratos, coelhos, cavalos, vacas, porquinhos-da-índia, ovelhas. Em uma concretização, o paciente é humano.

EXEMPLOS

[00109] Os seguintes exemplos não limitativos são fornecidos para ilustrar concretizações adicionais da presente divulgação.

[00110] **4a** amorfo com cerca de 95% de pureza (HPLC) é obtido, por exemplo, de acordo com procedimentos publicados (Kusuma (2012) e patente norte-americana nº 9.422.320).

I. Métodos gerais experimentais de cristalização

[00111] **Precipitação por colisão (CP, na sigla em inglês):** Soluções de **4a** foram preparadas em vários solventes ou sistemas de solventes com vários coformadores em determinadas proporções molares com agitação. Aliquotas de vários antissolventes foram distribuídas com agitação até ocorrer a precipitação. As misturas foram deixadas a agitar

durante tempo especificado. Onde declarado, técnicas de cristalização adicionais foram empregadas.

[00112] Evaporação rápida (FE): Soluções de **4a** foram preparadas em vários solventes com vários coformadores em determinadas proporções molares com agitação. Cada solução foi deixada evaporar de um frasco aberto nas condições ambientais, a menos que indicado de outra forma. As soluções foram deixadas evaporar até a secura, a menos que designadas como evaporações parciais (sólido presente com pequena quantidade de solvente remanescente), caso no qual os sólidos foram isolados pelo método declarado ou técnicas de cristalização adicionais foram empregadas conforme declarado.

[00113] Trituração manual: Quantidades pesadas de **4a** e vários coformadores foram transferidas para argamassa de ágata. Pequena quantidade de determinado solvente foi adicionada aos sólidos, e as misturas foram trituradas manualmente com pilão de ágata durante determinado período.

[00114] Moagem: Quantidades em peso de **4a** e coformadores determinados foram transferidos para recipientes de moagem de ágata. Pequena quantidade de determinado solvente e bola de moagem de ágata foram adicionadas aos recipientes, que foram então anexados a moinho Retsch. As misturas foram moídas a 30 s⁻¹ pelo tempo declarado. Os sólidos foram raspados das paredes da jarra entre os ciclos.

[00115] Cristalização de reação (RC): Misturas de **4a** com vários coformadores foram preparadas em determinado solvente pela adição de sólidos de um componente à solução do segundo componente. Quando sólidos suficientes foram adicionados de tal forma que a solução continha diferentes concentrações de

cada componente (geralmente uma diferença de 10 a 20 vezes na molaridade de um componente em relação ao outro), a solução foi deixada em agitação por duração prolongada. Quando especificado, sólidos adicionais do componente mais concentrado foram adicionados se nenhuma precipitação ocorreu, e a mistura foi novamente deixada em agitação por duração prolongada. Quaisquer sólidos precipitados foram isolados e analisados.

[00116] Resfriamento lento (SC): Soluções concentradas de **4a** foram preparadas em vários sistemas de solventes com vários coformadores em determinadas proporções molares em temperaturas elevadas com agitação. Cada frasco foi tampado e deixado na placa quente, e a placa quente foi desligada para permitir que a amostra resfrie lentamente até a temperatura ambiente. Se não houvesse sólidos após o resfriamento à temperatura ambiente, a amostra era colocada no refrigerador (aproximadamente 2 a 8 °C) e/ou no freezer (aproximadamente -10 a -25 °C) para resfriamento posterior. Se nenhum sólido estivesse presente, técnicas de cristalização adicionais eram empregadas, conforme especificado.

[00117] Evaporação lenta (SE): Soluções de **4a** foram preparadas em vários sistemas de solventes com vários coformadores em determinadas razões molares. Cada solução foi deixada evaporar em condições ambientais em frasco coberto com folha de alumínio perfurada com orifícios finos. As soluções foram deixadas evaporar até a secura, a menos que designadas como evaporações lentas parciais, nas quais uma porção do solvente evaporou. Os sólidos resultantes foram isolados pela técnica indicada ou foram empregadas técnicas de cristalização adicionais, quando indicado.

[00118] Experimentos com pasta: Suspensões de **4a** com vários coformadores em proporções molares estabelecidas foram preparadas pela adição de sólidos suficientes a determinado sistema de solventes em condições ambientais de modo que sólidos não dissolvidos estivessem presentes. As misturas foram então agitadas (tipicamente por mexeção) em frasco selado nas condições estabelecidas por longa duração. Os sólidos foram coletados pela técnica indicada ou técnicas de cristalização adicionais foram empregadas quando indicado.

[00119] Difusão de Vapor (VD): Soluções concentradas de determinados materiais de partida (determinada forma de **4a**/L-prolina ou misturas estequiométricas declaradas de **4a** e L-prolina) foram preparadas em vários solventes. Em alguns casos, as soluções foram filtradas por meio de um filtro de náilon de 0,2 µm. Cada solução foi dispensada em um pequeno frasco, que foi então colocado dentro de um frasco maior contendo determinado antissolvente. Onde indicado, sementes de dada forma de **4a**/L-prolina foram adicionadas às soluções. O frasco pequeno foi deixado sem tampa e o frasco maior foi tampado para permitir a difusão do vapor. Onde declarado, técnicas de cristalização adicionais foram tentadas.

[00120] Filtração a Vácuo: Os sólidos foram coletados em filtros de papel ou de náilon por filtração a vácuo e secos ao ar nos filtros sob pressão reduzida brevemente antes de serem transferidos para o frasco.

[00121] Pastas de interconversão: Soluções de determinados materiais de partida (dada forma **4a**/L-prolina ou misturas estequiométricas declaradas de **4a** e L-prolina) foram preparadas adicionando sólidos a determinado sistema de solvente a temperatura determinada. Se solução saturada foi

especificada, a suspensão foi agitada à temperatura ambiente por longa duração para garantir a saturação da fase líquida. Os cristais-semente de cada uma das formas de **4a**/L-prolina de interesse foram adicionados às soluções preparadas (ou à fase líquida filtrada da solução saturada) de modo que sólidos não dissolvidos estivessem presentes. Cada mistura foi então agitada (tipicamente por mexeção) em frasco selado a temperatura determinada por duração determinada. Os sólidos foram isolados por filtração a vácuo e analisados.

II. Identificação de pico por difração de raios X em pó (XRPD)

[00122] Ao longo desta revelação há padrões de difração de raios-X e tabelas com listas de picos. Picos dentro da faixa de até cerca de $30^\circ 2\theta$ foram selecionados. Algoritmos de arredondamento foram usados para arredondar cada pico ao $0,01^\circ 2\theta$ mais próximo. A localização dos picos ao longo do eixo x ($^\circ 2\theta$) tanto nas figuras quanto nas listas foi determinada usando software proprietário (TRIADSTM v2.0) e arredondada para dois algarismos significativos após a vírgula decimal. As variabilidades de posição de pico são dadas dentro de $\pm 0,2^\circ 2\theta$ com base nas recomendações descritas na discussão da USP sobre a variabilidade na difração de raios X em pó (United States Pharmacopeia, USP 38-NF 33 a S2, <941> 12/1/2015). A exatidão e a precisão associadas a qualquer medição específica revelada neste pedido de patente não foram determinadas. Além disso, medições de terceiros em amostras preparadas independentemente em diferentes instrumentos podem levar a variabilidade que é maior do que $\pm 0,2^\circ 2\theta$. O comprimento de onda usado para calcular os espaçamentos d foi $1,5405929\text{\AA}$, o comprimento de onda Cu- $K\alpha_1$ (Holzer, G.; Fritsch, M.; Deutsch, M.; Hartwig, J.; Forster,

E. *Phys. Rev.* **1997**, A56 (6), 4554-4568). A variabilidade associada às estimativas do espaçamento-d foi calculada a partir da recomendação da USP, em cada espaçamento-d, e fornecida nas respectivas tabelas de dados.

[00123] De acordo com as diretrizes da USP, hidratos e solvatos variáveis podem exibir variações de pico maiores que $0,2^\circ 2\theta$ e, portanto, variações de pico de $0,2^\circ 2\theta$ não são aplicáveis a esses materiais.

[00124] Para amostras com apenas um padrão de XRPD e nenhum outro meio de avaliar se a amostra fornece boa aproximação da média do pó, as tabelas de pico contêm dados identificados apenas como "Picos proeminentes". Esses picos são um subconjunto de toda a lista de picos observados. Os picos proeminentes são selecionados a partir dos picos observados, identificando, de preferência, picos de baixo ângulo não sobrepostos, com forte intensidade.

[00125] Onde vários padrões de difração estão disponíveis, avaliações de estatísticas de partículas (PS, na sigla em inglês) e/ou orientação preferencial (PO, na sigla em inglês) são possíveis. A reprodutibilidade entre os padrões de XRPD de várias amostras analisadas no mesmo difratômetro indica que as estatísticas de partículas são adequadas. A consistência da intensidade relativa entre os padrões de XRPD de vários difratômetros indica boas estatísticas de orientação. Alternativamente, o padrão de XRPD observado pode ser comparado com o padrão calculado de XRPD com base na estrutura de um único cristal, se disponível. Padrões de espalhamento bidimensional usando detectores de área também podem ser usados para avaliar PS/PO. Se os efeitos de PS e PO forem determinados como insignificantes, então o padrão XRPD é representativo da intensidade média do pó para a

amostra e picos proeminentes podem ser identificados como "Picos Representativos". Em geral, quanto mais dados coletados para determinar os picos representativos, mais confiante se pode ser na classificação desses picos.

[00126] "Picos característicos", na medida em que existem, retratam o subconjunto de Picos Representativos e são usados para diferenciar um polimorfo cristalino de outro polimorfo cristalino (os polimorfos são formas cristalinas com a mesma composição química). Os picos característicos são determinados avaliando quais picos representativos, se houverem, estão presentes em um polimorfo cristalino do composto contra todos os outros polimorfos cristalinos conhecidos desse composto dentro de $\pm 0,2^\circ 2\theta$. Nem todos os polimorfos cristalinos do composto têm, necessariamente, pelo menos um pico característico.

[00127] Técnicas Instrumentais

[00128] Termograma de calorimetria diferencial (DSC): DSC foi realizada usando calorímetro de varredura diferencial de TA Instruments Q2000. A calibração da temperatura foi realizada usando índio metálico rastreável pelo NIST. A amostra foi colocada na bandeja frisada DSC de alumínio Tzero, coberta com tampa, e o peso foi registrado com precisão. A bandeja pesada de alumínio configurada como bandeja de amostra foi colocada no lado de referência da célula.

[00129] Sorção dinâmica de vapor (DVS): Os dados de sorção dinâmica de vapor foram coletados no analisador de sorção de vapor VTI SGA-100. NaCl e polivinipirrolidona (PVP) foram usados como padrões de calibração. As amostras não foram secadas antes da análise. Os dados de sorção e dessorção

foram coletados em uma faixa de 5% a 95% de RH em incrementos de 10% de RH sob purga de nitrogênio. O critério de equilíbrio utilizado para a análise foi inferior a 0,0100% de mudança de peso em 5 minutos com tempo máximo de equilíbrio de 3 horas. Os dados não foram corrigidos para o teor de umidade inicial das amostras.

[00130] Reator EasyMax™: Os experimentos de cristalização foram realizados usando o Mettler Toledo EasyMax™ 102 com resfriador/circulador Julabo F26. As cristalizações foram realizadas em tubos de vidro de 20 mL (tampados) com agitação magnética. A temperatura foi controlada usando o ajuste de temperatura da camisa (T_j, na sigla em inglês).

[00131] Análise Elementar: As análises elementares foram realizadas por Galbraith Laboratories, Knoxville, TN.

[00132] Espectroscopia de infravermelho: Os espectros de IR foram adquiridos em espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier Nicolet 6700 (FT-IR) (Thermo Nicolet) equipado com uma fonte de infravermelho Ever-Glo mid/far, divisor de feixe de brometo de potássio (KBr) e detetor por sulfato de triglicina deuterado (DTGS). A verificação do comprimento de onda foi realizada usando o NIST SRM 1921b (poliestireno). O acessório de refletância total atenuada (ATR) (Thunderdome™, Thermo Spectra-Tech), com cristal de germânio (Ge) foi usado para aquisição de dados. Cada espectro representa 256 varreduras coadicionadas coletadas na resolução espectral de 4 cm⁻¹. O conjunto de dados de fundo foi adquirido com cristal Ge limpo. O espectro Log 1/R (R = refletância) foi obtido tomando uma razão desses dois conjuntos de dados um contra o outro.

[00133] Espectroscopia Raman: os espectros Raman foram adquiridos no módulo FT-Raman interfaceado ao espectrofotômetro Nexus 670 FT-IR (Thermo Nicolet) equipado com o detector de arsenieto de índio gálio (InGaAs). A verificação do comprimento de onda foi realizada usando enxofre e ciclo-hexano. Cada amostra foi preparada para análise colocando a amostra no porta-pellet. Aproximadamente 0,514 W de potência do laser Nd:YVO4 (comprimento de onda de excitação de 1064 nm) foi usada para irradiar a amostra. Cada espectro representa 256 varreduras coadicionadas coletadas na resolução espectral de 4 cm⁻¹.

[00134] Difração de raios-X de cristal único (SCXRD, na sigla em inglês): As estruturas de cristal único da **4a/L**-prolina Forma B e Forma C foram determinadas no Laboratório de Cristalografia da Universidade de Purdue.

[00135] Termogravimetria (TGA): as análises de TG foram realizadas por meio do TA Instruments 2050 ou analisador termogravimétrico Discovery. A calibração da temperatura foi realizada usando níquel e Alumel®. Cada amostra foi colocada na bandeja de alumínio ou platina e inserida no forno TG. O forno foi aquecido sob purga de nitrogênio da temperatura ambiente até 350 °C à taxa de aquecimento de 10 °C/min.

[00136] Microscopia óptica: as amostras foram observadas no microscópio óptico Wolfe com polarizadores cruzados nas objetivas 2x ou 4x ou no estereomicroscópio Leica com compensador vermelho de primeira ordem com polarizadores cruzados nas objetivas de 0,8x a 10x.

[00137] Solução Espectroscopia de RMN ¹H: Os espectros de RMN ¹H da solução foram adquiridos pela Spectral Data

Services de Champaign, IL a 25 °C com espectrômetro Varian UNITYINOVA-400. As amostras foram dissolvidas em DMSO-*d*₆. O pico residual do DMSO incompletamente deuterado é de aproximadamente 2,5 ppm, e o pico relativamente amplo de aproximadamente 3,3 ppm é devido à água.

[00138] Difração de raios X em pó (XRPD)

[00139] Difratômetro PANalytical X'PERT Pro MPD - Geometria de transmissão (maioria das amostras): os padrões de XRPD foram coletados com difratômetro PANalytical X'Pert PRO MPD usando feixe incidente de radiação de Cu produzido pelo uso da fonte Optix de foco longo e fino. Espelho de múltiplas camadas elipticamente graduado foi usado para focalizar os raios X de Cu K α através da amostra e no detector. Antes da análise, a amostra de silício (NIST SRM 640e) foi analisada para verificar se a posição observada do pico de Si 111 é consistente com a posição certificada pelo NIST. Espécime da amostra foi ensanduichado entre filmes de 3 μ m de espessura e analisado em geometria de transmissão. Detentor de feixe, extensão curta de antiespalhamento e lâmina antiespalhamento foram usados para minimizar o fundo gerado pelo ar. Fendas Soller para os feixes incidentes e difratados foram usadas para minimizar o alargamento da divergência axial. Padrões de difração foram coletados usando detector sensível à posição de varredura (X'Celerator) localizado a 240 mm do espécime e o software Data Collector v. 2.2b.

[00140] Difratômetro PANalytical X'PERT Pro MPD - Geometria de reflexão (amostras em quantidade limitada): os padrões de XRPD foram coletados com difratômetro PANalytical X'Pert PRO MPD usando feixe incidente de radiação Cu-K α produzida usando uma fonte de foco fino e longo e filtro de

níquel. O difratômetro foi configurado usando a geometria simétrica de Bragg-Brentano. Antes da análise, a amostra de silício (NIST SRM 640e) foi analisada para verificar se a posição observada do pico de Si 111 é consistente com a posição certificada pelo NIST. Espécime da amostra foi preparado como fina camada circular centrada no substrato de silício de fundo zero. Fendas antidispersão (SS, na sigla em inglês) foram usadas para minimizar o fundo gerado pelo ar. Fendas Soller para os feixes incidentes e difratados foram usadas para minimizar o alargamento da divergência axial. Os padrões de difração foram coletados usando detector sensível à posição de varredura (X'Celerator) localizado a 240 mm da amostra e o software Data Collector v. 2.2b.

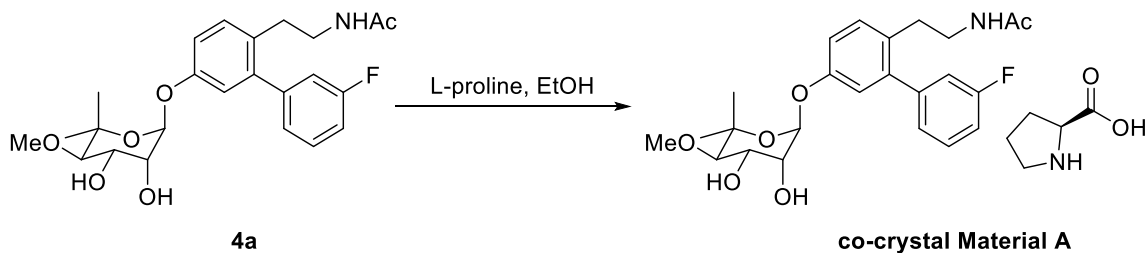
[00141] Procedimentos HPLC

[00142] A tabela a seguir apresenta parâmetros e condições para medições de HPLC descritas neste pedido de patente. As purezas relatadas de HPLC de **4a** e **4b** não levam em consideração o pico para prolina.

Coluna	Thames Restek Raptor C18 150 x 4.6 mm, 2.7 µm
Fase móvel A	Água
Fase móvel B	Acetonitrila
taxa de fluxo	1,0 mL/min
Comprimento de onda UV	215 nm
Temperatura da coluna	40 °C
Volume de injeção	10 µL
Tempo de execução	40 minutos
Gradiente	

Tempo (minutos)	Fase móvel A (%)	Fase móvel B (%)
0	90	10
3	90	10
33	10	90
35	10	90
37	90	10
40	90	10

[00143] Exemplo 1: Síntese de cocrystal de 4a/L-prolina (Material A)



[00144] O composto **4a** foi obtido por separação cromatográfica (HPLC: **4a** 96,4% e **4b** 1,2%, 500 mg) e foi misturado com L-prolina (128 mg, 1 eq.) em EtOH (4 mL). A mistura foi aquecida ao refluxo durante 15 min. A solução quente foi filtrada através de tampão de algodão. O filtrado límpido resultante foi arrefecido lentamente e mantido à temperatura ambiente durante 16 h. O sólido precipitado foi coletado por filtração e secado ao ar à temperatura ambiente para produzir cocrystal de prolina **4a**/L que foi designado como Material A (456 mg, 73% de rendimento) como sólido branco. M.P. 203-205 °C. RMN ¹H indicou a razão de **4a** para L-prolina como 1:1,1.

[00145] O material A é cocrystal de **4a**/L-prolina 1:1 e é provavelmente solvato isoestrutural. O material A contém componente menor de L-prolina com base no padrão XRPD (Figura

23), que foi indexado com sucesso (Tabela A1). A indexação XRPD é normalmente bem-sucedida para amostras que consistem principalmente ou exclusivamente em fase cristalina única. No entanto, a solução de indexação foi obtida para esta mistura com o entendimento de que os picos/ombros menores presentes no padrão XRPD em $8,7^\circ$, $15,0^\circ$ e $18,0^\circ$ 2θ não são consistentes com a solução de indexação e são provavelmente atribuíveis à L-prolina. Os parâmetros selecionados da célula unitária obtidos da solução de indexação são apresentados na Tabela A2.

**[00146] Tabela A1: Picos observados para 4a/L-prolina
Material A**

$^\circ 2\theta$	Espaço d (Å)	Intensidade (%)
5,81 $\pm 0,20$	15,189 $\pm 0,522$	6
8,52 $\pm 0,20$	10,369 $\pm 0,243$	100
9,19 $\pm 0,20$	9,613 $\pm 0,209$	63
9,92 $\pm 0,20$	8,913 $\pm 0,179$	23
10,49 $\pm 0,20$	8,426 $\pm 0,160$	7
11,68 $\pm 0,20$	7,568 $\pm 0,129$	57
11,87 $\pm 0,20$	7,451 $\pm 0,125$	65
12,21 $\pm 0,20$	7,244 $\pm 0,118$	29
13,22 $\pm 0,20$	6,691 $\pm 0,101$	67
14,75 $\pm 0,20$	5,999 $\pm 0,081$	73
16,07 $\pm 0,20$	5,510 $\pm 0,068$	18
16,33 $\pm 0,20$	5,422 $\pm 0,066$	78
16,68 $\pm 0,20$	5,312 $\pm 0,063$	20
17,10 $\pm 0,20$	5,181 $\pm 0,060$	45
17,57 $\pm 0,20$	5,044 $\pm 0,057$	54
18,32 $\pm 0,20$	4,839 $\pm 0,052$	29
18,54 $\pm 0,20$	4,783 $\pm 0,051$	27
18,87 $\pm 0,20$	4,698 $\pm 0,049$	30
19,26 $\pm 0,20$	4,605 $\pm 0,047$	39
19,50 $\pm 0,20$	4,548 $\pm 0,046$	75
19,65 $\pm 0,20$	4,514 $\pm 0,045$	35
20,17 $\pm 0,20$	4,399 $\pm 0,043$	27
20,34 $\pm 0,20$	4,363 $\pm 0,042$	46

21,22 ±0,20	4,183 ±0,039	70
21,79 ±0,20	4,076 ±0,037	21
22,08 ±0,20	4,023 ±0,036	8
22,34 ±0,20	3,976 ±0,035	8
22,61 ±0,20	3,930 ±0,034	6
23,51 ±0,20	3,781 ±0,032	35
23,79 ±0,20	3,738 ±0,031	50
24,58 ±0,20	3,619 ±0,029	26
24,88 ±0,20	3,576 ±0,028	15
25,12 ±0,20	3,542 ±0,028	13
25,48 ±0,20	3,493 ±0,027	24
25,96 ±0,20	3,430 ±0,026	8
26,20 ±0,20	3.398 ±0.025	16
26,45 ±0,20	3,367 ±0,025	9
27,28 ±0,20	3,266 ±0,023	6
27,63 ±0,20	3,225 ±0,023	14
27,85 ±0,20	3,201 ±0,023	11
28,27 ±0,20	3,154 ±0,022	11
28,40 ±0,20	3,140 ±0,022	14
29,04 ±0,20	3,072 ±0,021	6
29,46 ±0,20	3,029 ±0,020	5
29,78 ±0,20	2,998 ±0,020	14

[00147] Tabela A2: Parâmetros de célula unitária para 4a/L-prolina Material A

Tipo Bravais	Ortorrômico primitivo
a [Å]	10,126
b [Å]	11,021
c [Å]	30,259
α [deg]	90
β [deg]	90
γ [deg]	90
Volume [Å ³ /célula]	3.376,9
Conteúdo quirál?	Quiral
Símbolo de Extinção	P 2 ₁ 2 ₁ -
Grupo(s) espaciais	P2 ₁ 2 ₁ 2 (18)

[00148] O volume da célula unitária é grande o suficiente para acomodar um cocrystal 1:1 **4a**/L-prolina solvatado. O

volume livre (ou o volume da célula unitária remanescente após o cocrystal ser contabilizado) pode possivelmente caber em água e/ou qualquer um dos solventes a partir dos quais o Material A foi produzido, incluindo EtOH, IPA e THF.

[00149] O material A, conforme descrito acima, foi caracterizado adicionalmente por DSC, TGA e DVS. A sobreposição de termogramas DSC e TGA para o material é mostrada na Figura 24. O termograma TGA exhibe duas etapas distintas de perda de peso, a primeira ocorrendo entre ~100 e 160 °C (7% em peso) e a segunda entre 160 e 230 °C (21% em peso). Ampla endotermia é observada por DSC com pico máximo em 145 °C, que corresponde à primeira etapa de perda de peso TGA. As temperaturas relativamente altas em que esses eventos ocorrem, bem como a natureza gradativa da perda de peso, provavelmente indicam a perda de solvente/água adsorvidos. A sobreposição de eventos endotérmicos entre ~170 e ~240 °C por DSC corresponde à segunda etapa de perda de peso no termograma TGA, provavelmente correspondendo à fusão simultânea do cocrystal e volatilização do componente L-prolina. A queda acentuada no termograma TGA acima de ~250 °C provavelmente corresponde à decomposição.

[00150] A isotérmica DVS para o Material A, conforme descrito acima, é apresentada na Figura 25. Como o material foi caracterizado como mistura com L-prolina que não reagiu, não se sabe qual efeito, se houver, o excesso de L-prolina pode ter tido no comportamento de sorção de vapor. O material exhibe higroscopicidade significativa em ou acima de 85% UR, absorvendo ~6% em peso de vapor de água entre 85% e 95% UR. O equilíbrio cinético de sorção de vapor atingiu o tempo limite em 85% - 95% UR, indicando que o cocrystal poderia potencialmente captar mais umidade do que o que foi

medido se fosse permitido um tempo de equilíbrio mais longo. Perda de peso relativamente estável foi observada após a dessorção entre 95% e 5% de UR. O peso perdido na dessorção (~8% em peso) foi significativamente maior do que o ganho durante a sorção, indicando que o material provavelmente estava solvatado/hidratado no início da análise. A análise do material pós-DVS por XRPD mostrou diminuição na cristalinidade, embora a forma sólida permanecesse intacta. A presença ou ausência de excesso de L-prolina na amostra pós-DVS não pôde ser confirmada devido ao distúrbio no padrão de XRPD.

[00151] Exemplo 2: Purificação de 4a por cocristalização com L-prolina

[00152] A mistura de 500 mg de **4** que consiste nos compostos **4a** e **4b** (HPLC: 92,0% de **4a** e 7,1% **4b**) e L-prolina (128 mg, 1 eq) em etanol (4 mL) foi submetida a refluxo durante 15 min. A mistura foi semeada com cocristal obtido no Exemplo 1, e a mistura foi deixada resfriar e então mantida à temperatura ambiente por 18 h. Sólido branco foi removido por filtração, enquanto o sólido residual foi transferido para fora do frasco de reação com o licor-mãe. A quantidade coletada de cocristal de **4a**/L-prolina (proporção de 1:1 conforme determinado por RMN ¹H, 497 mg, 79% de rendimento) consistia em 98,0% **4a** e 1,49% **4b** (analisado por HPLC).

[00153] Exemplo 3: Peneira de cocristal

[00154] **4a** amorfo foi utilizado em aproximadamente 50 experimentos de peneira de cocristal com 26 coformadores diferentes de L- e D-prolina, conforme resumido na Tabela 1 abaixo. Variadas técnicas de cristalização passíveis de formação de cocristal foram empregadas, incluindo moagem

assistida por solvente e moagem manual, resfriamento, evaporação, pasta, precipitação por impacto e cristalização de reação, em que a solução contendo alto excesso molar de um componente é combinada com outro componente para estimular o equilíbrio da reação e favorecer a formação de cocristais. Variados coformadores foram utilizados que possuíam grupos funcionais capazes de formar ligações de hidrogênio, que incluíam ácidos carboxílicos, aminoácidos, açúcares, amidas, aminas e numerosos compostos aromáticos funcionais. Sob a variedade de condições e coformadores explorados nesta tela, no entanto, **4a** não formou nenhum cocrystal confirmado com esses coformadores comuns.

[00155] Tabela 1

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
ácido acético	~1:66	1) adicionar ácido acético glacial a sólidos 4a sob agitação 2) RC (agitação), TA, 3 dias 3) ref., 73 dias	Obs	1) sólidos se tornaram azuis claros e então se dissolveram, solução azulada leve clara. 2) solução clara 3) solução clara
L-arginina	1:5	1) dissolver L-arginina em água, adicionar a 4a 2) RC (agitação), TA, 3 dias 3) adicionar 5 mol. eq. L-arginina	Obs	1) sólidos não dissolvidos presentes 2) fase líquida clara, sólidos pastosos esbranquiçados na barra de agitação

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
	1:10	4) RC (agitação), TA, 4 dias		3) sólidos não dissolvidos presentes 4) fase líquida clara, sólidos viscoso presos à barra de agitação
L-arginina	1:1	1) moinho 4a com MeOH a 30 Hz durante 3 x 10 min. ciclos 2) secar sob N ₂ 1 dia	Obs	1) gosma pegajosa 2) gosma pegajosa
cafeína	1:2	1) adicionar MEK a 4a e sólidos de coformador com agitação a ~74 °C 2) SC, ~74 °C para TA, permanecer em TA, 1 dia 3) cutucar com espátula 4) filtrar por vácuo	Obs	1) solução clara 2) grande massa de sólidos esbranquiçados, pequena qtd. líquido visível 3) líquido liberado de sólidos 4) sólidos brancos
			OM	agulhas, B/E
			XRPD	cafeína
cafeína	1:1	moer manualmente 4a c/acetona 4 min.	Obs	fluxo livre de sólidos esbranquiçados
			OM	finos e agregados, B/E parcial
			XRPD	cafeína + amorfo
carbamazepina	1:1	1) adicionar EtOAc a 4a e sólidos coformadores sob agitação a ~75 °C 2) SC, ~75 °C	Obs	1) solução clara 2) suspensão branca opaca, sólidos brancos nas paredes
			OM	finos e agregados, B/E

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
		para a temperatura ambiente, agitar à TA por 3 dias 3) filtrar a vácuo	XRPD	carbamazepina
ácido cítrico	1:5	1) dissolver o ácido cítrico em EtOH, adicionar a 4a	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) solução clara 4) solução clara 5) solução clara 6) solução clara
	1:10	4) RC (agitação), TA, 4 dias 5) adicionar 10 mol. eq. ácido		
	1:20	6) RC (agitação), TA, 46 dias		
D-frutose	1:5	1) dissolver a D-frutose em MeOH, adicionar a 4a 2) RC (agitação), TA, 3 dias 3) adicionar 5 mol. eq. frutose	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) sólidos não dissolvidos presentes 4) solução clara 5) sólidos não dissolvidos presentes 6) fase líquida clara, sólidos brancos 7) sólidos brancos
	1:10	4) RC (agitação), TA, 4 dias 5) adicionar 10 mol. eq. frutose		
	1:20	6) RC (agitação), TA, 16 dias 7) filtrar por vácuo	OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	D-frutose
ácido fumárico	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos ácidos com agitação em ~74 °C 2) SC, ~74 °C para TA, agitar à TA por 1 dia 3) filtrar por vácuo	Obs	1) solução clara 2) suspensão branca turva 3) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	ácido fumárico

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
ácido fumárico	1:10	1) dissolver o ácido em THF, adicionar a 4a 2) RC (agitação), TA, 3 dias 3) adicionar 10 mol. eq. ácido fumárico	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) sólidos não dissolvidos presentes 4) fase líquida clara, sólidos brancos 5) sólidos brancos
	1:20	4) RC (agitação), TA, 12 dias 5) filtrar por vácuo	OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	ácido fumárico
ácido gentísico	1:3	1) dissolver 4a e ácido em ACN 2) agitar, TA, 1 dia 3) adicionar MTBE sob agitação (ACN/MTBE 1: 3) 4) agitar, TA, 3 dias 5) SE 6) filtrar a vácuo forno, TA, 3 dias	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) solução. tornou-se ligeiramente nublado, depois clareou 4) solução clara, ligeiramente âmbar 5) grandes cristais embutidos em óleo âmbar pegajoso 6) sólidos esbranquiçados borbulhantes
			OM (após a etapa 5)	numerosas placas (provavelmente simples), B/E; óleo, sem B/E
			OM (após a etapa 6)	morfologia desconhecida, sem B/E; placas, B/E
			XRPD	ácido gentísico

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
ácido L-glutâmico	1:2	1) adicionar EtOH e água (1:2) a 4a sob agitação a ~75 °C 2) filtro quente 3) SC, ~75 °C para TA, permanecer em TA 4 dias 4) ref., 6 dias 5) decantar o líquido, secar os sólidos brevemente sob N2	Obs	1) solução levemente obscura 2) solução clara 3) solução clara 4) fase líquida clara, sólidos brancos no fundo 5) sólidos brancos úmidos
			OM	placas e aglomerados irregulares, B/E
			XRPD	ácido L-glutâmico
glicina	1:2	1) dissolver 4a em EtOH 2) adicionar 4a à solução. para glicina 3) pasta, TA, 4 dias 4) adicionar 4a a 1:1	Obs	1) solução clara 2) sólidos não dissolvidos presentes 3) suspensão turva, grandes cristais no fundo (provavelmente glicina) 4) turvo
	1:1	5) agitar, TA, 3 dias 6) adicionar 4a a 1,5: 1		5) suspensão turva, poucos cristais grandes (provavelmente glicina) presentes 6) turvo
	1.5:1	7) agitar, TA, dias 8) filtrar por vácuo		7) suspensão nublada, cristais grandes mínimos no fundo 8) sólidos brancos
			OM	finos, agregados e comprimidos, B/E
			XRPD	glicina

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
glicina	1:2	1) moinho 4a c/tolueno a 30 Hz durante 3 x 10 min. ciclos 2) secar sob N2 1 dia	Obs	1) gosma pegajosa e sólidos brancos 2) gosma pegajosa esbranquiçada
ácido hipúrico	1:1	1) adicionar MEK a 4a e sólidos ácidos com agitação a ~74 °C 2) SC, ~74 °C para TA, permanecer em TA, 1 dia 3) decantar o líquido, secar os sólidos brevemente sob N2	Obs	1) solução clara 2) fase líquida transparente, fundo de revestimento de sólidos brancos 3) sólidos brancos
			OM	placas retangulares e agregados, B/E
			XRPD	ácido hipúrico
<i>trans</i> -4-hidroxi-L-prolina	5:1	1) dissolver 4a em EtOH 2) adicionar 4a à solução. para sólidos coformadores sob agitação 3) RC (agitação), TA, 6 dias 4) filtrar a vácuo filtrar	Obs	1) solução amarelo clara ligeiramente turva 2) pequena qtd. sólidos não dissolvidos presentes 3) suspensão opaca esbranquiçada 4) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, sem B/E
			XRPD	<i>trans</i> -4-hidroxi-L-prolina

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
Ácido D-(-)-isoascórbico	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos ácidos com agitação em ~75 °C 2) SC, ~75 °C para a temperatura ambiente, agitar à TA por 3 dias 3) filtrar por vácuo	Obs	1) solução clara 2) suspensão branca opaca, sólidos brancos nas paredes 3) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	Ácido D-isoascórbico
ácido láctico	~1:48	1) adicionar conc. ácido láctico para sólidos 4a com agitação 2) RC (agitação), TA, 3 dias 3) ref., 73 dias	Obs	1) suspensão espessa, sólidos não dissolvidos presentes 2) solução clara 3) solução clara
nicotinamida	1:3	1) dissolver 4a e ácido em MEK 2) agitar, TA, 1 dia SE parcial 4) decantar o líquido, secar os sólidos brevemente sob N ₂	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) pequena qtd. fase líquida clara, sólidos esbranquiçados no fundo e nas laterais 4) sólidos brancos pegajosos
			OM	agulhas finas, B/E
			XRPD	nicotinamida
nicotinamida	1:20	1) dissolver a nicotinamida em MeOH, adicionar a 4a 2) RC (agitação), TA, 1 dia 3) filtrar por vácuo	Obs	1) solução clara 2) fase líquida clara, sólidos brancos presentes 3) sólidos brancos
			OM	agulhas e agregados, B/E
			XRPD	nicotinamida

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
ácido oxálico	1:10	1) adicionar ACN a 4a e sólidos ácidos com sonicação 2) RC (agitação), TA, 2 dias 3) adicionar 10 mol. eq. ácido	Obs	1) solução levemente obscura 2) solução clara 3) sólidos não dissolvidos presentes 4) fase líquida âmbar clara, sólidos brancos presentes 5) sólidos brancos
	1:20	4) RC (agitar), TA, 11 dias 5) decantar a fase líquida, secar sólidos sob N ₂	OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	ácido oxálico
L-fenilalanina	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos coformadores com agitação a ~73 °C 2) adicionar água a EtOH/água 50:50 3) SC, ~73 °C para TA, agitar em TA 1 dia 4) filtrar por vácuo	Obs	1) sólidos não dissolvidos 2) suspensão ligeiramente obscura 3) suspensão turva (opaca) 4) sólidos brancos
			OM	agulhas finas e agregados, B/E
			XRPD	L-fenilalanina hemi-hidratada
piperazina	1:1	1) moer manualmente 4a c/acetona 4 min. 2) secar sob gás N ₂ por 2 min.	Obs	1) filme pegajoso 2) filme pegajoso, não pode ser raspado do almofariz e pilão
piracetam	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos de coformador com agitação a ~75 °C 2) SC, ~75 °C para a temperatura ambiente, agitar à TA por 3 dias	Obs	1) solução clara 2) suspensão opaca esbranquiçada 3) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	piracetam

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
L-prolinamida	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos de coformador com agitação a ~75 °C 2) SC, ~75 °C para a temperatura ambiente, agitar à TA por 3 dias 3) congelador, 7 dias 4) SE 5) adicionar éter dietílico 6) pasta (agitação), TA, 22 dias	Obs	1) solução amarelo claro. 2) solução amarelo claro. 3) solução amarelo claro. 4) óleo amarelo pegajoso 5) fase líquida clara, óleo amarelo 6) fase líquida clara, óleo amarelo na parte inferior
L-prolinamida	1:2	1) adicionar ACN a 4a e sólidos de coformador com agitação a ~73 °C 2) SC, ~73 °C para TA, agitar em TA 1 dia 3) congelador, 16 dias 4) SE 5) adicionar IPE com agitação 6) agitar, TA, 3 dias	Obs	1) solução amarelo claro. 2) solução amarelo claro, filme translúcido nas paredes 3) fase líquida amarela, pequena qtd. sólidos 4) óleo amarelo pegajoso 5) líquido claro, óleo amarelo 6) fase líquida clara, óleo amarelo na parte inferior
galato de propila	1:1	1) moinho 4a c/tolueno a 30 Hz durante 3 x 10 min. ciclos 2) secar sob N2 1 dia	Obs	1) gosma pegajosa 2) gosma pegajosa branca

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
galato de propila	1:1	1) adicionar EtOH a 4a com agitação a ~75 °C 2) SC, ~75 °C para TA, permanecer em TA 4 dias 3) congelador, 2 dias 4) SE parcial 5) congelador (tampado), 3 dias 6) SE 7) adicionar MTBE com agitação 8) agitar, TA, 30 dias 9) SE	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) solução clara 4) solução clara 5) solução clara 6) gosma pegajosa 7) solução clara 8) solução clara 9) óleo âmbar pegajoso
pirazina	1:5	1) dissolver pirazina em acetona, adicionar a 4a 2) RC (agitação), TA, 3 dias 3) adicionar 5 mol. eq. pirazina	Obs	1) solução clara 2) solução amarelo claro. 3) solução clara 4) solução clara 5) solução amarelo claro limpa. 6) solução clara
	1:10	4) RC (agitação), TA, 4 dias 5) adicionar 10 mol. eq. pirazina		
	1:20	6) RC (agitação), TA, 46 dias		

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
pirazina	1:2	1) adicionar EtOH a 4a com agitação a ~75 °C 2) SC, ~75 °C para TA, permanecer em TA 4 dias 3) congelador, 2 dias 4) SE parcial 5) congelador (tampado), 3 dias 6) SE 7) adicionar heptano com agitação 8) agitar, TA, 30 dias	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) solução clara 4) solução clara 5) solução clara 6) gosma pegajosa 7) fase líquida transparente, gosma amarelo claro 8) fase líquida transparente, óleo no fundo
Ácido L-piroglutâmico	1:1	1) moinho 4a com MeOH a 30 Hz durante 3 x 10 min. ciclos 2) secar sob N2 1 dia	Obs	1) gosma pegajosa 2) gosma pegajosa
Ácido L-piroglutâmico	1:2	1) adicionar EtOH a 4a com agitação a ~75 °C 2) SC, ~75 °C para TA, permanecer em TA 4 dias 3) congelador, 2 dias 4) SE parcial 5) congelador (tampado), 3 dias 6) SE 7) adicionar éter dietílico sob agitação 8) agitar, TA, 5 dias 9) decantar fase líquida, secar sólidos sob N2	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) solução clara 4) solução clara 5) solução clara 6) gosma pegajosa 7) fase líquida clara, gosma branca 8) fase líquida clara, sólidos brancos 9) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	Material A piroglutâmico + ácido piroglutâmico

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
Ácido L-piroglutâmico	1:1	1) adicionar EtOH a 4a e ácidos sólidos com sonicação 2) FE parcial, 1 dia 3) evaporar sob a corrente de N ₂ 4) adicionar éter dietílico sob agitação 5) adicionar sementes ^a , mexer, TA, 10 dias filtrar por vácuo	Obs	1) solução clara 2) pequena qtd. solução clara 3) óleo viscoso claro 4) o óleo ficou branco 5) fase líquida clara, sólidos brancos presentes 6) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	Material B Piroglutâmico + ácido piroglutâmico
Ácido L-piroglutâmico	1:1	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos ácidos com sonicação 2) alternativamente, adicione sementes ^a e alíquotas de éter dietílico várias vezes com agitação para a proporção de éter/EtOH 6: 1 3) agitar, TA, 1 dia 4) agitar, 2-8 °C, 11 dias 5) SE 6) raspe os sólidos até o óleo, adicione éter dietílico sob agitação 7) agitar, TA, 1 dia 8) decantar o líquido, secar	Obs/OM	1) solução clara 2) sementes sempre dissolvidas, sempre límpidas. 3) solução clara 4) solução clara 5) óleo pegajoso, qtd. pequena. sólidos nas paredes superiores (placas irregulares, B/E) 6) solução clara, óleo no fundo 7) fase líquida clara, sólidos esbranquiçados 8) sólidos esbranquiçados
			OM (após a etapa 8)	finos e agregados, B/E

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
		os sólidos brevemente sob N ₂	XRPD	Material A piroglutâmico + Material B + ácido
Ácido L-piroglutâmico	2:1	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos ácidos com sonicação 2) filtrar 3) evaporar sob fluxo de N ₂ 4) adicionar sementes ^b 5) adicionar éter dietílico sob agitação 6) agitar, TA, 18 dias 7) filtrar por vácuo	Obs	1) solução clara, poucos flutuadores 2) solução clara 3) óleo viscoso claro 4) sementes permaneceram 5) óleo ficou branco, fase líquida transparente 6) fase líquida clara, sólidos brancos 7) sólidos brancos
			OM	finos e agregados, B/E
			XRPD	Material B Piroglutâmico + ácido piroglutâmico
2,3,5,6-tetrametil-pirazina (TMP)	1:10	1) adicionar EtOAc a 4a e sólidos coformadores com sonicação 2) RC (agitação), TA, 2 dias 3) adicionar 10 mol eq. TMP	Obs	1) solução clara 2) solução clara 3) sólidos não dissolvidos presentes 4) solução clara
	1:20	4) RC (agitação), TA, 36 dias		

Coformador	4a/Razão molar de coformador	Condições	Técnica	Resultados
L-triptofano	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos coformadores com agitação a ~73 °C 2) adicionar água a EtOH/água 3: 1 3) SC, ~73 °C para TA, agitar em TA 1 dia 4) filtrar por vácuo	Obs	1) sólidos não dissolvidos presentes 2) solução clara 3) fase líquida clara, sólidos brancos 4) sólidos brancos brilhantes (como uma pérola)
			OM	agregados, B/E
			XRPD	L-triptofano
ureia	1:2	1) adicionar EtOH a 4a e sólidos de ureia sob agitação em ~74 °C 2) SC, ~74 °C à TA, agitar em TA 1 dia 3) congelador, 3 dias 4) adicionar EtOAc com agitação (EtOAc/EtOH 6:1) 5) agitar, TA, 1 dia 6) congelador, 7 dias 7) decantar fase líquida, secar sólidos brevemente sob N ₂	Obs	1) solução clara 2) solução clara. 3) suspensão ligeiramente turva 4) suspensão ligeiramente turva 5) fase líquida clara, pequena qtd. sólidos 6) fase líquida clara, pequena qtd. sólidos brancos 7) sólidos brancos
			OM	agulhas, B/E
			XRPD	ureia

^{a,b} Vários lotes de sementes de material cristalino não caracterizado, que compreendem **4a** e ácido piroglutâmico.

[00156] Exemplo 4: Preparação e Caracterização da Forma B de 4a/L-prolina

[00157] Quantidades equimolares de **4a** amorfa e L-prolina (1:1) foram misturadas em metanol e foram aquecidas a cerca de 68 °C. A solução resultante foi deixada arrefecer lentamente até à temperatura ambiente, altura em que se formou uma suspensão branca. A suspensão foi então agitada à temperatura ambiente durante três dias, após o que a Forma B como um sólido branco foi recolhida por filtração e secada.

[00158] Alternativamente, **4a** amorfo e L-prolina na razão molar de 1:2 foram combinados em etanol e aquecidos a cerca de 82 °C para produzir suspensão branca. A suspensão foi mantida a 82 °C por cerca de 5 minutos, deixada resfriar lentamente até a temperatura ambiente e, em seguida, agitada à temperatura ambiente por três dias. A Forma B foi recolhida como um sólido branco por filtração e secada.

[00159] A Forma B é cocrystal anidro de **4a**/L-prolina 1:2. A Forma B foi caracterizada por XRPD (com indexação), DSC, TGA, DVS, espectroscopia Raman, espectroscopia de IR, RMN de prótons, HPLC e análise elementar.

[00160] O padrão XRPD para a Forma B foi indexado com sucesso (Tabela 2) e indicou que a Forma B consiste principalmente ou exclusivamente em uma única fase cristalina (Figura 1). O volume da célula unitária obtido da solução de indexação é consistente com cocrystal anidro de 1:2 **4a**/L-prolina. A Tabela 3 abaixo apresenta os parâmetros da célula unitária.

[00161] Tabela 2: Picos observados para Forma B 4a/L-prolina

$^{\circ}2\theta$	Espaço d (Å)	Intensidade (%)
5,81 $\pm 0,20$	15,204 $\pm 0,523$	36
8,40 $\pm 0,20$	10,512 $\pm 0,250$	21
8,50 $\pm 0,20$	10,396 $\pm 0,244$	16
10,46 $\pm 0,20$	8,454 $\pm 0,161$	29
11,65 $\pm 0,20$	7,590 $\pm 0,130$	15
12,14 $\pm 0,20$	7,286 $\pm 0,120$	30
14,57 $\pm 0,20$	6,076 $\pm 0,083$	43
14,76 $\pm 0,20$	5,998 $\pm 0,081$	71
16,49 $\pm 0,20$	5,371 $\pm 0,065$	11
16,86 $\pm 0,20$	5,253 $\pm 0,062$	100
17,51 $\pm 0,20$	5,061 $\pm 0,057$	78
18,16 $\pm 0,20$	4,881 $\pm 0,053$	21
18,39 $\pm 0,20$	4,819 $\pm 0,052$	25
18,89 $\pm 0,20$	4,694 $\pm 0,049$	52
19,00 $\pm 0,20$	4,667 $\pm 0,049$	70
19,17 $\pm 0,20$	4,627 $\pm 0,048$	30
19,41 $\pm 0,20$	4.570 ± 0.047	61
19,58 $\pm 0,20$	4.530 ± 0.046	27
19,93 $\pm 0,20$	4,452 $\pm 0,044$	14
21,05 $\pm 0,20$	4,217 $\pm 0,040$	47
21,48 $\pm 0,20$	4,134 $\pm 0,038$	10
21,82 $\pm 0,20$	4,070 $\pm 0,037$	34
23,43 $\pm 0,20$	3,794 $\pm 0,032$	19
23,56 $\pm 0,20$	3,774 $\pm 0,032$	29
23,77 $\pm 0,20$	3,740 $\pm 0,031$	24
24,36 $\pm 0,20$	3,651 $\pm 0,030$	44
25,13 $\pm 0,20$	3,541 $\pm 0,028$	17
25,71 $\pm 0,20$	3,462 $\pm 0,026$	10
26,36 $\pm 0,20$	3,378 $\pm 0,025$	21
26,60 $\pm 0,20$	3,348 $\pm 0,025$	16
26,94 $\pm 0,20$	3,306 $\pm 0,024$	14
27,18 $\pm 0,20$	3,278 $\pm 0,024$	9
27,48 $\pm 0,20$	3,243 $\pm 0,023$	9
27,67 $\pm 0,20$	3,221 $\pm 0,023$	14
27,97 $\pm 0,20$	3,188 $\pm 0,022$	13
28,28 $\pm 0,20$	3,153 $\pm 0,022$	9
28,91 $\pm 0,20$	3,086 $\pm 0,021$	19
29,38 $\pm 0,20$	3,037 $\pm 0,020$	12
29,75 $\pm 0,20$	3.001 ± 0.020	10

29,99 ±0,20	2,977 ±0,019	8
-------------	--------------	---

[00162] Tabela 3: Parâmetros de célula unitária para 4a/L-prolina Forma B

Tipo Bravais	Monoclínico primitivo
a [Å]	11,130
b [Å]	10,168
c [Å]	16,094
α [deg]	90
β [deg]	109,27
γ [deg]	90
Volume [Å ³ /célula]	1,719.3
Conteúdo quirál?	Quiral
Símbolo de Extinção	P 1 2 ₁ 1
Grupo(s) espaciais	P2 ₁ (4)

[00163] Amostra da Forma B isolada da pasta de MeOH foi caracterizada por RMN de prótons e HPLC. Os dados de RMN de próton indicam uma estequiometria de **4a**/L-prolina 1:2 sem solvente residual detectado. A pureza de **4a** na amostra foi de 99,7% conforme determinado por HPLC.

[00164] Os termogramas DSC e TGA para a Forma B são apresentados na Figura 2 e na Figura 3, respectivamente. Os dados são plotados separadamente, uma vez que diferentes amostras foram analisadas para cada técnica. A amostra analisada por TGA foi isolada de uma pasta de MeOH, enquanto a amostra de DSC resultou de um experimento de formação de cocristal em MeOH. Praticamente nenhuma perda de peso é observada por TGA entre a temperatura ambiente e 190 °C, consistente com um material anidro/não solvatado. O DSC também é consistente com isso, não mostrando eventos térmicos notáveis até o início de um evento endotérmico a 208 °C, com um evento exotérmico forte sobreposto. A ser notado, a amostra foi observada sair da bandeja após esta análise,

provavelmente contribuindo para a magnitude da exotérmica. Esses eventos provavelmente correspondem à fusão/dissociação do cocrystal. Da mesma forma, uma diminuição acentuada no termograma TGA acima de 190 °C é provavelmente atribuída à volatilização de uma porção do componente L-prolina do cocrystal, seguida pela provável decomposição.

[00165] Para confirmar ainda mais a estequiometria de cocrystal, a Forma B foi analisada por análises elementares C, H, N, F e O (Tabela 4). A comparação dos valores experimentais da composição percentual com os valores teóricos para cocrystal 1:1 e 1:2 mostra que a amostra é mais consistente com o cocrystal 1:2. Este resultado é consistente com os outros dados de caracterização.

[00166] Tabela 4: Análise Elementar da Forma B de 4a/L-prolina

Cocrystal teórico 1:1	Cocrystal teórico 1:2	Resultados experimentais
61,9% C	60,3% C	59,78% C
7,0% H	7,1% H	6,88% H
5,0% N	6,2% N	6,28% N
3,4% F	2,8% F	2,79% F
22,7% O	23,6% O	25,12% O

[00167] A isoterma de sorção dinâmica de vapor (DVS) para a Forma B é mostrada na Figura 4. O ganho de peso de 2,3% em peso foi observado entre 5% e 95% UR, com a maioria da sorção ocorrendo acima de 50% UR. Todo esse peso foi perdido na dessorção com histerese menor observada. O equilíbrio cinético da sorção de vapor atingiu o tempo limite na etapa de sorção entre 85% - 95% UR, indicando que o cocrystal

poderia potencialmente captar mais umidade do que o que foi medido se fosse permitido um tempo de equilíbrio mais longo. A análise do material pós-DVS por XRPD não mostrou nenhuma mudança observável na forma.

[00168] Os espectros de IR e Raman foram adquiridos para a Forma B e são apresentados na Figura 5 e na Figura 6, respectivamente.

[00169] Exemplo 5: Determinação da Estrutura de Raios-X de Cristal Único da Forma B de 4a/L-prolina

[00170] Coleta de Dados

[00171] Placa incolor de **4a/L-prolina** Forma B (C₃₄H₄₈FN₃O₁₀ [C₂₄H₃₀FNO₆, 2 (C₅H₉NO₂)] com dimensões aproximadas de 0,70 × 0,45 × 0,30 mm, foi montada em uma alça de náilon em orientação aleatória. O exame preliminar e a coleta de dados foram realizados com radiação Cu K α ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$) em um difratômetro Rigaku Rapid II equipado com óptica confocal. Os refinamentos foram realizados usando SHELX2013 (Sheldrick, G.M. *Acta Cryst.*, 2008, A64, 112).

[00172] Constantes de células e a matriz de orientação para coleta de dados foram obtidas a partir do refinamento por mínimos quadráticos usando os ângulos de configuração de 21646 reflexões no intervalo $4^\circ < \theta < 68^\circ$. A mosaicidade refinada de DENZO/SCALEPACK era de $0,44^\circ$, indicando boa qualidade de cristal (Otwinowski, Z.; Minor, W. *Methods Enzymol.* **1997**, 276, 307). O grupo espacial foi determinado pelo programa XPREP (Bruker, XPREP in SHELXTL v. 6.12., Bruker AXS Inc., Madison, WI, USA, **2002**). A partir da presença sistemática das seguintes condições: $0k0$ $k = 2n$, e do refinamento por mínimos quadráticos subsequente, o grupo espacial foi determinado como $P2_1$ (no. 4).

[00173] Os dados foram coletados em ângulo de difração máximo (2θ) de $135,73^\circ$, em temperatura ambiente.

[00174] Redução de dados

[00175] Os quadros foram integrados ao HKL3000 (Otwinowski (1997)). O total de 21646 reflexões foram coletadas, das quais 5936 eram únicas. Correções de Lorentz e polarização foram aplicadas aos dados. O coeficiente de absorção linear é $0,833 \text{ mm}^{-1}$ para radiação Cu $K\alpha$. A correção de absorção empírica usando SCALEPACK (Otwinowski (1997)) foi aplicada. Os coeficientes de transmissão variaram de 0,128 a 0,779. A correção de extinção secundária foi aplicada (Sheldrick (2008)). O coeficiente final, refinado por mínimos quadráticos, foi de 0,0157 (11) (em unidades absolutas). As intensidades de reflexões equivalentes foram calculadas. O fator de concordância para a média foi de 4,1% com base na intensidade.

[00176] Solução e Refinamento de Estrutura

[00177] A estrutura foi resolvida por métodos diretos usando SHELXT (Sheldrick (2008)). Os átomos restantes foram localizados em sucessivas sínteses de Fourier. Os átomos de hidrogênio foram incluídos no refinamento, mas restritos a continuar no átomo ao qual estiverem ligados. A estrutura foi refinada por mínimos quadráticos de matriz completa, minimizando a função:

$$\sum w(F_o|^2 - |F_c|^2)^2$$

O peso w é definido como $1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0640P)^2 + (0,5095P)]$, em que $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$.

[00178] Os fatores de dispersão foram extraídos das "International Tables for Crystallography" (International

Tables for Crystallography, Vol. C, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Holanda, **1992**, Tabelas 4.2.6.8 e 6.1.1.4). Dos 5936 reflexos usados nos refinamentos, apenas os reflexos com $F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$ foram usados no cálculo do ajuste residual, R . O total de 5601 reflexos foi usado no cálculo. O ciclo final de refinamento incluiu 490 parâmetros variáveis e convergiu (a maior mudança de parâmetro foi $<0,01$ vezes o seu desvio padrão estimado) com fatores de concordância não ponderados e ponderados por:

$$R = \sum |F_o - F_c| / \sum F_o = 0,0422$$

$$R_w = \sqrt{\left(\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2 \right)} = 0,1141$$

[00179] O desvio padrão da observação de peso unitário (qualidade do ajuste) foi 1,062. O pico mais alto na diferença final de Fourier teve altura de 0,187 e/Å³. O pico negativo mínimo teve uma altura de -0,193 e/Å³.

[00180] Padrão calculado de difração de raios X em pó (XRPD)

[00181] O padrão calculado de XRPD foi gerado para radiação Cu usando Mercury (Macrae, CF Edgington, PR McCabe, P. Pidcock, E. Shields, GP Taylor, R. Towler M. e van de Streek, J.; *J. Appl. Cryst.*, **2006**, 39, 453-457) e as coordenadas atômicas, grupo espacial e parâmetros de célula unitária da estrutura de cristal único.

[00182] Elipsoide de deslocamento atômico e diagramas de empacotamento

[00183] O diagrama do elipsoide de deslocamento atômico foi preparado usando Mercury (Macrae (**2006**)). Os átomos são representados por elipsoides térmicos anisotrópicos de

probabilidade de 50%. Diagramas de empacotamento e figuras adicionais foram gerados com Mercury (Macrae (2006)). A ligação de hidrogênio é representada por linhas tracejadas. A avaliação dos centros quirais foi realizada com PLATON (Spek, A.L. *PLATON. Molecular Graphics Program*. Universidade de Utrecht, Utrecht, Holanda, 2008. Spek, A. L, *J.Appl.Cryst.* 2003, 36, 7). A configuração absoluta é avaliada usando a especificação de regras de quiralidade molecular (Cahn, RS; Ingold, C; Prelog, V. *Angew. Chem. Intern. Ed. Eng.*, 1966, 5, 385; Prelog, V., Helmchen, G. *Angew. Chem. Intern. Ed. Eng.*, 1982, 21, 567).

[00184] Resultados

[00185] Os parâmetros da célula monoclinica e o volume calculado são: $a = 11,1270(4) \text{ \AA}$, $b = 10,1566(4) \text{ \AA}$, $c = 16,0790(6) \text{ \AA}$, $\beta = 109,309(2)^\circ$ ($\alpha = \gamma = 90^\circ$), $V = 1714,91(11) \text{ \AA}^3$. O peso da fórmula da unidade assimétrica na estrutura cristalina da Forma B é $677,75 \text{ g mol}^{-1}$ com $Z = 2$, resultando na densidade calculada de $1,313 \text{ g cm}^{-3}$. O grupo espacial foi determinado como $P2_1$ (no. 4). O resumo dos dados de cristal e parâmetros de coleta de dados cristalográficos são fornecidos na Tabela 5.

[00186] Tabela 5 Dados do Crystal e Parâmetros de coleta de dados para 4a/L-prolina Forma B

Fórmula	$C_{34}H_{48}FN_3O_{10}$
peso da Fórmula	677,77
grupo espacial	$P2_1$ (No. 4)
$a, \text{ \AA}$	11,1270(4)
$b, \text{ \AA}$	10,1566(4)
$c, \text{ \AA}$	16,0790(6)
$\beta, \text{ deg}$	109,309 (2)
$V, \text{ \AA}^3$	1714,91(11)
Z	2

d_{calc} , g cm ⁻³	1,312
dimensões do cristal, mm	0,25 x 0,20 x 0,16
temperatura, K	295
radiação (comprimento de onda, Å)	Cu K _α (1,54178)
monocromador	óptica confocal
coeficiente abs linear, mm ⁻¹	0,833
correção de absorção aplicada	empírica ^a
fatores de transmissão: min, max	0,128, 0,779
difratômetro	Rigaku RAPID-II
variação h, k, l	-13 a 13 -12 a 12 -18 a 18
variação 2 θ , deg	8,42-135,73
mosaicidade, deg	0,44
programas usados	SHELXTL
F ₀₀₀	724
dados coletados	21646
dados únicos	5936
R _{int}	0,041
dados usados no refinamento	5936
ponto de corte usado em cálculos do fator-R	$F_o^2 > 2,0s(F_o^2)$
dados com $I > 2,0s(I)$	5601
coeficiente de extinção refinado	0,0157
número de variáveis	490
maior deslocamento/esd no ciclo final	0
R(F _o)	0,0422
R _w (F _o ²)	0,1141
qualidade de ajuste	1,062
determinação de estrutura absoluta	Parâmetro Flack ^b (-0,02 (11)) Parâmetro Hooft ^c (-0,02 (5)) Cobertura Friedel 92%

^a Otwinowski, Z.; Minor, W. *Methods Enzymol.* 1997, 276, 307.

^b Flack, H. D. *Acta Cryst.*, 1983 A39, 876.

^c Hooft, R.W.W., Straver, L.H., e Spek, A.L. *J. Appl. Cryst.*, 2008, 41, 96-103.

[00187] O grupo espacial e os parâmetros da célula unitária são consistentes com aqueles obtidos a partir da análise XRPD da Forma B (ver Tabela 3 acima).

[00188] A qualidade da estrutura obtida é elevada, conforme indicado pelo ajuste residual, R de 0,0422 (4,22%). Valores de R na faixa de 0,02 a 0,06 são cotados para as estruturas determinadas de forma mais confiável (Glusker, Jenny Pickworth; Trueblood, Kenneth N. *Crystal Structure Analysis: A Primer*, 2^a ed.; Oxford University press: New York, 1985; p. 0,87).

[00189] O desenho do elipsoide de deslocamento atômico da Forma B é mostrado na Figura 7. A molécula observada na unidade assimétrica da estrutura de cristal único é consistente com a estrutura molecular proposta de **4a**. A unidade assimétrica mostrada na Figura 7 contém uma molécula **4a** e duas moléculas L-prolina, consistente com a estequiometria **4a** 1:2: L-prolina. Dois prótons foram localizados e refinados independentemente em ambos os átomos de nitrogênio da prolina, indicando zwitterions. Ambas as moléculas de L-prolina são desordenadas em duas posições, refinando para ocupações de 82/18% e 71/29%.

[00190] A estrutura absoluta pode ser determinada através da análise de espalhamento anômalo de raios-X pelo cristal. O parâmetro x refinado, conhecido como parâmetro Flack (Flack, HD; Bernardinelli, G., *Acta Cryst.* 1999, A55, 908; Flack, H. D.; Bernardinelli, G., *J. Appl. Cryst.* 2000, 33, 1143; Flack, H. D. *Acta Cryst.* 1983, A39, 876; Parsons, S., Flack, H. D., Wagner, T., *Acta Cryst.* 2013, B69, 249-259), codifica a abundância relativa dos dois componentes em um gêmeo de inversão. A estrutura contém a fração $1-x$ do modelo

que está sendo refinado e x do seu inverso. Desde que seja obtida uma incerteza padrão baixa, o parâmetro Flack deve ser próximo a 0 se a estrutura resolvida estiver correta e próximo a 1 se o modelo inverso estiver correto. O parâmetro Flack medido para a estrutura da Forma B mostrada na Figura 7 é -0,02 com incerteza padrão de 0,11, o que indica poder de distinção de inversão fraco e, portanto, nenhuma interpretação do parâmetro Flack pode ser feita. O erro na incerteza padrão impede atribuição baseada somente no fator Flack.

[00191] O refinamento do parâmetro Flack (x) não resulta em declaração quantitativa sobre a atribuição de estrutura absoluta. No entanto, a abordagem que aplica estatísticas Bayesianas a diferenças Bijvoet pode fornecer uma série de probabilidades para diferentes hipóteses da estrutura absoluta (Hooft, RWW, Straver, LH, e Spek, *AL J. Appl. Cryst.*, **2008**, *41*, 96-103; Bijvoet, J.M.; Peerdeman, A.F.; van Bommel A.J. *Nature* **1951**, *168*, 271). Esta análise fornece o parâmetro Flack equivalente (Hooft), além das probabilidades de que a estrutura absoluta seja correta, incorreta ou racêmica. Para o conjunto de dados atual, o parâmetro Flack equivalente (Hooft) foi determinado como -0,02(5), a probabilidade de que a estrutura esteja correta é 1,000, a probabilidade de que a estrutura esteja incorreta é $0,9 \times 10^{-91}$ e a probabilidade de que o material seja gêmeo racêmico é $0,2 \times 10^{-24}$. Portanto, a configuração absoluta do modelo na Figura 7 está correta. Esta estrutura contém quatro centros quirais em **4a** localizados em C7, C9, C11 e C12 (Figura 7) que se ligam na configuração *R, R, S* e *R*, respectivamente, e um centro quiral em cada uma das moléculas de prolina em C26 e C31 ambos com ligação na configuração *S*.

[00192] A Figura 8 mostra o padrão XRPD calculado da Forma B, gerado a partir da estrutura de cristal único. O padrão XRPD experimental indexado anteriormente da Forma B (Exemplo 4) é mostrado acima e é consistente com o padrão XRPD calculado (Figura 9).

[00193] Exemplo 6: Preparação e Caracterização da Forma C de 4a/L-prolina

[00194] Quantidades equimolares de **4a** amorfo e L-prolina (1:1) foram empastadas e depois agitadas em acetona à temperatura ambiente durante 3 dias. A pasta foi filtrada para coletar a Forma C como um sólido branco.

[00195] A Forma C também foi preparada dissolvendo quantidades equimolares de **4a** amorfa e L-prolina em EtOH. A acetona foi então introduzida na solução por difusão de vapor (DV) para precipitar a Forma C.

[00196] Os dados indicaram que a Forma C consiste em cocrystal 1:1 com 1 mole de acetona presente na rede cristalina, embora a acetona não participe da ligação de hidrogênio. Os dados de cristal único fornecem confirmação das composições químicas e da fase sólida.

[00197] Um padrão XRPD para a Forma C (Figura 10) foi indexado com sucesso e os picos observados são mostrados na Tabela 6.

[00198] Tabela 6: Picos observados para a Forma C de 4a/L-prolina

$^{\circ}2\theta$	Espaço d (Å)	Intensidade (%)
8,73 \pm 0,20	10,126 \pm 0,232	67
10,51 \pm 0,20	8,414 \pm 0,160	46
11,83 \pm 0,20	7,477 \pm 0,126	32
12,10 \pm 0,20	7,308 \pm 0,120	62

12,26 ±0,20	7,214 ±0,117	36
12,44 ±0,20	7,110 ±0,114	31
14,64 ±0,20	6,047 ±0,082	97
15,14 ±0,20	5,847 ±0,077	50
16,13 ±0,20	5,492 ±0,068	13
17,53 ±0,20	5,055 ±0,057	100
18,26 ±0,20	4,855 ±0,053	62
18,91 ±0,20	4,688 ±0,049	71
19,36 ±0,20	4,580 ±0,047	74
19,56 ±0,20	4,536 ±0,046	56
20,17 ±0,20	4,399 ±0,043	20
20,97 ±0,20	4,232 ±0,040	24
21,15 ±0,20	4,197 ±0,039	22
21,33 ±0,20	4,163 ±0,039	54
21,55 ±0,20	4,121 ±0,038	29
22,40 ±0,20	3,966 ±0,035	14
23,18 ±0,20	3,834 ±0,033	29
23,71 ±0,20	3,750 ±0,031	20
24,02 ±0,20	3,701 ±0,030	33
24,34 ±0,20	3,654 ±0,030	25
24,73 ±0,20	3,597 ±0,029	40
25,87 ±0,20	3,441 ±0,026	23
26,54 ±0,20	3,356 ±0,025	17
26,71 ±0,20	3,335 ±0,025	15
27,09 ±0,20	3,289 ±0,024	12
27,38 ±0,20	3,254 ±0,023	16
27,86 ±0,20	3,200 ±0,023	8
28,40 ±0,20	3,140 ±0,022	12
28,73 ±0,20	3,105 ±0,021	11
29,05 ±0,20	3,071 ±0,021	10
29,45 ±0,20	3,031 ±0,020	23

[00199] Os parâmetros da célula unitária da indexação XRPD são apresentados na Tabela 7 abaixo:

[00200] **Tabela 7: Parâmetros de célula unitária para 4a/L-prolina Forma C**

Tipo Bravais	Monoclínico primitivo
a [Å]	10,992
b [Å]	10,275

c [Å]	15,362
α [deg]	90
β [deg]	108,07
γ [deg]	90
Volume [Å ³ /célula]	1.649,5
Conteúdo quiral?	Quiral
Símbolo de Extinção	P 1 2 ₁ 1
Grupo(s) espaciais	P2 ₁ (4)

[00201] O termograma TGA para a Forma C exibe perda de peso gradativa, consistente com a descoberta de que o material consiste em solvato de acetona (Figura 11). A acetona parece volatilizar em duas etapas separadas. Na primeira etapa, 2,6% de perda de peso é observada entre ~60 e 150 °C. Na suposição de que o volátil é a acetona, 2,6% em peso corresponde a 0,26 moles (ou ~1/4 do total de acetona por estrutura de cristal único). A segunda etapa de perda de peso entre 150 e 220 °C corresponde a 6,7% de perda de peso, ou 0,70 mol se a acetona for considerada o único volátil.

[00202] Exemplo 7: Determinação da Estrutura de Raios-X de Cristal Único da Forma C de 4a/L-prolina

[00203] Placa incolor de C₃₂H₄₅FN₂O₉[C₂₄H₃₀FNO₆, C₅H₉NO₂, C₃H₆O] com dimensões aproximadas de 0,19 × 0,18 × 0,10 mm, foi montada em fibra em orientação aleatória. O exame preliminar e a coleta de dados foram realizados com radiação Cu K α ($\lambda = 1,54178$ Å) em difratômetro Rigaku Rapid II equipado com óptica confocal. Refinamentos foram realizados usando SHELX2013 (Sheldrick (2008)).

[00204] Constantes de células e matriz de orientação para coleta de dados foram obtidas a partir do refinamento de mínimos quadráticos usando os ângulos de configuração de 12.615 reflexões no intervalo $4^\circ < \theta < 59^\circ$. A mosaicidade

refinada de DENZO/SCALEPACK foi de $0,25^\circ$ indicando boa qualidade do cristal (Otwinowski (1997)). O grupo espacial foi determinado pelo programa XPREP (Bruker (2002)). A partir da presença sistemática das seguintes condições: $0k0$ $k = 2n$, e do refinamento por mínimos quadráticos subsequente, o grupo espacial foi determinado como $P2_1$ (no. 4).

[00205] Os dados foram coletados no ângulo de difração máximo (2θ) de $117,84^\circ$ em temperatura ambiente.

[00206] Os quadros foram integrados com HKL3000 (Bruker (2002)). Total de 12.615 reflexos foram coletados, dos quais 4368 foram únicos. Correções de Lorentz e polarização foram aplicadas aos dados. O coeficiente de absorção linear é $0,788 \text{ mm}^{-1}$ para radiação $\text{Cu K}\alpha$. Correção de absorção empírica que utiliza SCALEPACK (Bruker (2002)) foi aplicada. Os coeficientes de transmissão variaram de 0,060 a 0,924. A correção de extinção secundária foi aplicada (Sheldrick (2008)). O coeficiente final, refinado em mínimos quadráticos, foi 0,0049(7) (em unidades absolutas). As intensidades de reflexões equivalentes foram calculadas. O fator de concordância para a média foi de 4,8% com base na intensidade.

[00207] A solução e o refinamento da estrutura foram realizados de maneira análoga ao Exemplo 5 acima. Dos 4368 reflexos usados nos refinamentos, apenas os reflexos com $F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$ foram usados no cálculo do resíduo de ajuste, R . Total de 3518 reflexos foi usado no cálculo. O ciclo final de refinamento incluiu 417 parâmetros variáveis e convergiu (a maior mudança de parâmetro foi $< 0,01$ vezes o seu desvio padrão estimado) com fatores de concordância não ponderados e ponderados de:

$$R = \sum |F_o - F_c| / \sum F_o = 0,0535$$

$$R_w = \sqrt{\left(\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / \sum w(F_o^2)^2 \right)} = 0,1305$$

[00208] O desvio padrão da observação de peso unitário (qualidade do ajuste) foi 1,078. O pico mais alto na diferença final de Fourier teve uma altura de 0,271 e/Å³. O pico negativo mínimo teve altura de -0,167 e/Å³.

[00209] O padrão XRPD calculado e o diagrama de elipsoide de deslocamento atômico foram gerados de acordo com o procedimento no Exemplo 5.

[00210] Os parâmetros da célula monoclinica e o volume calculado são: $a = 10,9962(6)$ Å, $b = 10,2721(6)$ Å, $c = 15,3197(9)$ Å, $\beta = 107,937(4)^\circ$ ($\alpha = \gamma = 90^\circ$), $V = 646,32(17)$ Å³. O peso da fórmula da unidade assimétrica na estrutura cristalina da Forma C é 620,70 g mol⁻¹ com $Z = 2$, resultando em densidade calculada de 1,252 g cm⁻³. O grupo espacial foi determinado como $P2_1$ (no. 4). O resumo dos dados de cristal e parâmetros de coleta de dados cristalográficos são fornecidos na Tabela 8. Os parâmetros de grupo espacial e célula unitária estão de acordo com aqueles obtidos anteriormente por indexação XRPD (Exemplo 6).

[00211] Tabela 8 Dados do Crystal e parâmetros de coleta de dados para 4a/L-prolina Forma C

Fórmula	C ₃₂ H ₄₅ FN ₂ O ₉
peso da Fórmula	620,72
grupo espacial	$P2_1$ (No. 4)
a, Å	10,9962(6)
b, Å	10,2721(6)
c, Å	15,3197(9)
b, deg	107,937(4)

V, Å ³	1646,32(16)
Z	2
d _{calc} , g cm ⁻³	1,252
dimensões do cristal, mm	0,19 x 0,18 x 0,15
temperatura, K	293
radiação (comprimento de onda, Å)	Cu K _α (1,54178)
monocromador	óptica confocal
coeficiente abs linear, mm ⁻¹	0,788
correção de absorção aplicada	empírica ^a
fatores de transmissão: min, max	0,79, 0,89
difratômetro	Rigaku RAPID-II
variação h, k, l	-12 a 12 -11 a 11 -17 a 17
variação 2θ, deg	6,06-126,82
mosaicidade, deg	0,25
programas usados	SHELXTL
F ₀₀₀	664
dados coletados	12615
dados únicos	4368
R _{int}	0,048
dados usados no refinamento	4368
ponto de corte usado em cálculos do fator R	F _o ² > 2,0σ(F _o ²)
dados com I > 2,0σ(I)	3518
coeficiente de extinção refinado	0,0049
número de variáveis	417
maior deslocamento/esd no ciclo final	0
R(F _o)	0,054
R _w (F _o ²)	0,131
qualidade de ajuste	1,078
determinação de estrutura absoluta	Parâmetro Flack ^b (0,08(14)) Parâmetro Hooft (0,09(9)) Cobertura de Friedel 86%

^a Otwinowski (1997).

^b Flack (1983).

^c Hooft (2008).

[00212] O desenho do elipsoide de deslocamento atômico da Forma C é mostrado na Figura 12. A molécula observada na unidade assimétrica da estrutura de cristal único é consistente com a estrutura molecular proposta de **4a**/L-prolina. A unidade assimétrica mostrada na Figura 12 contém uma molécula **4a**, uma molécula de L-prolina e uma molécula de acetona. Dois prótons foram localizados e refinados independentemente no átomo de nitrogênio da prolina, indicando um zwitterion.

[00213] A Figura 13 mostra o padrão XRPD calculado da Forma C, gerado a partir da estrutura de cristal único. O padrão XRPD experimental do material a granel a partir do qual o cristal foi obtido é mostrado na Figura 10, como descrito acima. Todos os picos nos padrões experimentais são representados no padrão XRPD calculado, indicando que o material a granel é provavelmente fase única. As diferenças nas intensidades entre os padrões de difração de pó calculados e experimentais geralmente são devidas à orientação preferencial. A orientação preferencial é a tendência dos cristais se alinharem com algum grau de ordem. Esta orientação preferencial da amostra pode afetar significativamente as intensidades dos picos, mas não as posições dos picos, no padrão de difração de pó experimental.

[00214] Para o conjunto de dados atual, o parâmetro Flack equivalente (Hooft) foi determinado da maneira descrita no Exemplo 5, e foi determinado como sendo 0,09(9), a probabilidade de que a estrutura esteja correta é 1,000, a probabilidade de que a estrutura esteja incorreta é $0,4 \times 10^{-21}$ e a probabilidade de que o material seja um gêmeo racêmico é $0,4 \times 10^{-4}$.

[00215] Portanto, a configuração absoluta do modelo na Figura 12 provavelmente está correta. Esta estrutura contém quatro centros quirais em **4a** localizados em C7, C9, C11 e C12 (Figura 12) que se ligam na configuração *R, R, S, R*, respectivamente e um centro quiral na prolina localizado em C26 que se liga na configuração *S*.

[00216] Exemplo 8: Preparação e Caracterização da Forma D de 4a/L-prolina

[00217] Quantidades equimolares de **4a** amorfa e L-prolina foram combinadas em acetonitrila para entregar a suspensão fina, que foi então aquecida a cerca de 85 °C. A suspensão foi resfriada a cerca de 71 °C, semeada com pequena quantidade do material preparado no Exemplo 1 e mantida em cerca de 71 °C por cerca de 15 minutos. A suspensão foi então deixada arrefecer lentamente até à temperatura ambiente e depois agitada durante três dias. A suspensão branca resultante foi filtrada para produzir a Forma D, que foi então secada.

[00218] A Forma D também foi preparada combinando quantidades equimolares de **4a** amorfo e L-prolina em EtOH, aquecendo a cerca de 82 °C e mantida a essa temperatura por cerca de 15 minutos, resfriando a cerca de 76 °C, semeando com pequena quantidade de material preparado no Exemplo 1, resfriando lentamente à temperatura ambiente e mexendo por três dias. A pasta esbranquiçada resultante foi filtrada e a quantidade coletada de Forma D foi secada sob vácuo a ~48 °C.

[00219] A Forma D consiste em cocrystal anidro/não solvatado de 1:2 **4a**/L-prolina. O padrão XRPD para a Forma D foi indexado com sucesso, indicando que o material consiste

principalmente ou exclusivamente em única fase cristalina (Figura 14, Tabela 9). O volume da célula unitária (Tabela 10) obtido da solução de indexação é consistente com o cocrystal anidro 1:2 **4a**/L-prolina.

[00220] Tabela 9: Picos observados para a Forma D de 4a/L-prolina

$^{\circ}2\theta$	Espaço d (Å)	Intensidade (%)
2,82 \pm 0,20	31,302 \pm 2,219	13
5,68 \pm 0,20	15,535 \pm 0,546	50
8,45 \pm 0,20	10,455 \pm 0,247	16
9,20 \pm 0,20	9,605 \pm 0,2081	100
9,78 \pm 0,20	9,038 \pm 0,184	24
10,46 \pm 0,20	8,454 \pm 0,161	10
11,42 \pm 0,20	7,741 \pm 0,135	25
11,83 \pm 0,20	7,475 \pm 0,126	62
12,17 \pm 0,20	7,265 \pm 0,119	33
13,15 \pm 0,20	6,729 \pm 0,102	37
14,42 \pm 0,20	6,138 \pm 0,085	23
14,62 \pm 0,20	6.054 \pm 0.082	70
16,19 \pm 0,20	5,470 \pm 0,067	84
16,46 \pm 0,20	5,382 \pm 0,065	16
16,94 \pm 0,20	5,231 \pm 0,061	47
17,16 \pm 0,20	5,163 \pm 0,060	80
17,56 \pm 0,20	5,047 \pm 0,057	14
18,22 \pm 0,20	4,864 \pm 0,053	24
18,45 \pm 0,20	4,804 \pm 0,052	75
18,95 \pm 0,20	4,680 \pm 0,049	21
19,10 \pm 0,20	4,643 \pm 0,048	30
19,31 \pm 0,20	4,593 \pm 0,047	46
19,52 \pm 0,20	4,544 \pm 0,046	77
20,15 \pm 0,20	4,403 \pm 0,043	94
20,98 \pm 0,20	4,230 \pm 0,040	45
21,15 \pm 0,20	4,196 \pm 0,039	62
21,53 \pm 0,20	4,124 \pm 0,038	25
22,49 \pm 0,20	3,951 \pm 0,035	18
22,96 \pm 0,20	3,870 \pm 0,033	26
23,35 \pm 0,20	3,807 \pm 0,032	49
23,98 \pm 0,20	3,707 \pm 0,030	29

24,51 ±0,20	3,629 ±0,029	52
25,34 ±0,20	3,512 ±0,027	40
25,95 ±0,20	3,431 ±0,026	22
26,64 ±0,20	3,343 ±0,025	14
27,07 ±0,20	3,291 ±0,024	15
27,70 ±0,20	3,218 ±0,023	16
27,88 ±0,20	3,198 ±0,022	27
28,30 ±0,20	3,151 ±0,022	17
29,04 ±0,20	3,072 ±0,021	12
29,45 ±0,20	3,030 ±0,020	14

[00221] Tabela 10: Parâmetros de célula unitária para 4a/L-prolina Forma D

Tipo Bravais	Ortorrômbico primitivo
a [Å]	10,092
b [Å]	11,112
c [Å]	30,974
α [deg]	90
β [deg]	90
γ [deg]	90
Volume [Å ³ /célula]	3.473,3
Conteúdo quirais?	Quiral
Símbolo de Extinção	P 2 ₁ 2 ₁ -
Grupo(s) espaciais	P2 ₁ 2 ₁ (18)

[00222] A Forma D foi caracterizada por técnicas térmicas, RMN de prótons, HPLC e DVS. A sobreposição dos termogramas DSC e TGA para a Forma D seca é mostrada na Figura 15. A perda de peso insignificante por TGA até 185 °C e a falta de ampla endotermia de dessolvatação por DSC são consistentes com material anidro/não solvatado. Pequena endotermia ampla foi observada a 132 °C (pico máximo). Endotermia aguda com início a 211 °C corresponde a perda de peso gradativa íngreme de 26% em peso no termograma TGA, provavelmente correspondendo à fusão simultânea do cocrystal e volatilização de L-prolina.

[00223] Os dados de RMN de próton indicaram uma estequiometria de **4a**/L-prolina 1:2 com 0,2% em peso de EtOH residual detectado. A pureza de **4a** na amostra foi de 99,6% por HPLC.

[00224] A isotérmica DVS para a Forma D é mostrada na Figura 16. O material exibe higroscopicidade significativa, particularmente acima de 55% UR, com ganho de peso de 4,7% em peso observado entre 5% e 95% UR. Todo esse peso foi perdido na dessorção, com menor histerese observada. A ser observado, o equilíbrio cinético de sorção de vapor atingiu o tempo limite na etapa de sorção entre 85% - 95% UR, indicando que o cocrystal poderia potencialmente captar mais umidade do que o que foi medido se fosse permitido tempo de equilíbrio mais longo.

[00225] Exemplo 9: Preparação e Caracterização da Forma G de 4a/L-prolina

[00226] **4a** amorfa, pirazina e L-prolina foram combinadas em proporções molares de 1:20: 1, respectivamente, dissolvendo primeiro a pirazina em metiletilcetona e MeOH (90:10, v/v). A solução de pirazina foi adicionada à mistura de **4a** e L-prolina e agitada à temperatura ambiente durante dois dias para resultar em suspensão branca opaca. A Forma G foi isolada por filtração a vácuo da suspensão.

[00227] A Forma G consiste em cocrystal **4a**/L-prolina solvatado em MEK. A Forma G exibiu padrão cristalino único por XRPD (Figura 17) que foi indexado (Tabela 11).

[00228] Tabela 11: Picos observados para 4a/L-prolina Forma G

$^{\circ}2\theta$	Espaço d (Å)	Intensidade (%)
-------------------	----------------	-----------------

8,66 ±0,20	10,200 ±0,235	50
10,42 ±0,20	8,480 ±0,162	47
11,85 ±0,20	7,461 ±0,125	43
12,09 ±0,20	7,316 ±0,121	27
12,20 ±0,20	7,247 ±0,118	39
14,62 ±0,20	6.056 ±0.082	100
14,93 ±0,20	5,927 ±0,079	45
16,14 ±0,20	5,485 ±0,068	7
17,40 ±0,20	5,092 ±0,058	85
17,85 ±0,20	4,965 ±0,055	53
18,22 ±0,20	4,865 ±0,053	27
18,31 ±0,20	4,842 ±0,052	25
18,79 ±0,20	4,719 ±0,050	64
19,28 ±0,20	4,600 ±0,047	85
19,43 ±0,20	4,565 ±0,047	46
19,81 ±0,20	4,479 ±0,045	22
20,43 ±0,20	4,344 ±0,042	6
20,94 ±0,20	4,239 ±0,040	23
21,14 ±0,20	4,198 ±0,039	47
21,59 ±0,20	4,113 ±0,038	24
22,15 ±0,20	4,010 ±0,036	12
22,66 ±0,20	3,921 ±0,034	25
23,79 ±0,20	3,738 ±0,031	37
24,28 ±0,20	3,663 ±0,030	34
24,56 ±0,20	3,622 ±0,029	23
24,77 ±0,20	3,592 ±0,029	10
25,42 ±0,20	3,501 ±0,027	13
25,94 ±0,20	3,432 ±0,026	15
26,07 ±0,20	3,415 ±0,026	15
26,62 ±0,20	3,345 ±0,025	12
26,80 ±0,20	3,323 ±0,024	10
27,33 ±0,20	3,261 ±0,023	13
27,89 ±0,20	3,197 ±0,022	7
28,18 ±0,20	3,165 ±0,022	10
28,59 ±0,20	3,120 ±0,021	15
29,08 ±0,20	3,068 ±0,021	11
29,54 ±0,20	3,022 ±0,020	18

[00229] O volume da célula unitária (Tabela 12) obtido a partir da indexação do padrão XRPD é consistente com

cocristal de 1:1 **4a**/L-prolina com até 1 mol de MEK ou pirazina presente (MEK e moléculas de pirazina são comparáveis em volume e não podem ser distinguido pela indexação XRPD). Os parâmetros de célula unitária (Tabela 12) também indicam que a Forma G é isoestrutural às Formas B e C. A Forma G foi confirmada como contendo **4a**, L-prolina, MEK e pirazina residual menor em molar de ~1:1,2: 0,6: 0,1 razão por RMN de próton.

[00230] Tabela 12: Parâmetros de célula unitária para 4a/L-prolina Forma G

Tipo Bravais	Monoclínico primitivo
a [Å]	10,975
b [Å]	10,310
c [Å]	15,704
α [deg]	90
β [deg]	108,56
γ [deg]	90
Volume [Å ³ /célula]	1.684,5
Conteúdo quirál?	Quiral
Símbolo de Extinção	P 1 2 ₁ 1
Grupo(s) espaciais	P2 ₁ (4)

[00231] As análises de cristal único das Formas B e C indicaram que essas formas são isoestruturais, com **4a** e L-prolina formando um canal que abriga L-prolina adicional para a Forma B e acetona para a Forma C. Tanto a L-prolina quanto as moléculas de acetona nos respectivos canais não formam ligações de hidrogênio com as moléculas que constituem o canal. Conforme mencionado acima, o grupo espacial e outros parâmetros de célula unitária obtidos para a Forma G indicaram que é isoestrutural para as Formas B e C. Embora outras explicações sejam possíveis, considerando o que se sabe sobre o empacotamento molecular para essas formas e os equivalentes não estequiométricos de L-prolina e MEK medidos

por RMN de prótons para a Forma G, é altamente provável que o canal na Forma G possa acomodar tanto L-prolina quanto MEK em razão não estequiométrica (e possivelmente variável) devido à facilidade de troca criada pela falta de ligações de hidrogênio dentro do canal.

[00232] Exemplo 10: Purificação de 4a por formação de cocrystal

A. Purificação com L-prolina

[00233] A cocrystalização de **4** de acordo com os procedimentos acima levou à Forma B e à Forma D e, portanto, reduziu de forma muito eficaz a quantidade de anômero- β **4b**. Lote típico de **4** amorfo consistia em **4a/4b** em 93,2%/6,3%, conforme determinado por HPLC. Após a etapa de formação de cocrystal em experimento típico, o nível de **4b** foi reduzido de 6,3% para 2,4% (HPLC). O cocrystal de **4a/L-prolina** resultante foi recristalizado misturando-o com MeOH (2 volumes) e a mistura foi aquecida a refluxo durante 3 h. A mistura foi resfriada a 0 ± 3 °C ao longo de 2,5 h e, em seguida, agitada durante a noite. O sólido resultante foi recolhido por filtração. Após a recristalização, a quantidade de **4b** foi ainda reduzida para 1,2% e a pureza de **4a** foi melhorada para 98,7% (HPLC).

B. Purificação com D-prolina

[00234] Quantidade separada de composto amorfo **4** continha 89,3% **4a** e 10,1% **4b** conforme determinado por HPLC. O composto **4** (300 mg, 0,670 mmol) e a D-prolina (77,3 mg, 0,671 mmol) em EtOH (2,4 mL) foram aquecidos em banho de óleo a 90 °C. Após refluxo por 15 min, a solução resultante foi resfriada à temperatura ambiente em frasco e mantida por 24 h com a tampa do frasco removida para deixar o EtOH evaporar lentamente em temperatura ambiente. O sólido precipitado foi recolhido por filtração e secado ao ar para dar o cocrystal de **4a**/D-prolina. O cocrystal continha 97,6% de **4a** e 2,1% de **4b** conforme determinado por HPLC (150 mg, 40% de rendimento como sólido branco). A análise de RMN ¹H do cocrystal indicou razão molar de 1:1 de **4a** e D-prolina.

[00235] Exemplo 11: Preparação e caracterização de cocrystal de 4a/D-prolina

[00236] Mistura do composto **4a** (100 mg, 0,223 mmol) e D-prolina (25,8 mg, 0,224 mmol) em EtOH (0,8 mL) foi aquecida em banho de óleo a 90 °C. Após refluxo por 15 min, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e mantida em frasco fechado à temperatura ambiente por 24 h. A tampa do frasco foi então removida para deixar o EtOH evaporar lentamente à temperatura ambiente. Após 24 h, o sólido precipitado foi coletado por filtração e, em seguida, secado ao ar para dar o cocrystal de **4a**/D-prolina como um sólido branco (74 mg, 59% de rendimento) em 99 +% de pureza (HPLC). A análise de RMN ¹H indicou que o cocrystal contém a proporção de 1/1 do composto **4a** e D-Prolina.

[00237] O cocrystal **4a**/D-prolina foi caracterizado por XRPD, DSC, TGA e DVS. O padrão de XRPD para o cocrystal de

4a/D-prolina foi indexado com sucesso, indicando que o material consiste principalmente ou exclusivamente em uma única fase cristalina (Figura 18, Tabela 13).

[00238] Tabela 13: Picos observados para 4a/D-prolina

$^{\circ}2\theta$	Espaço d (Å)	Intensidade (%)
5,76 ±0,20	15,323 ±0,531	14
5,90 ±0,20	14,964 ±0,507	13
8,45 ±0,20	10,453 ±0,247	79
8,74 ±0,20	10,113 ±0,231	42
9,22 ±0,20	9,579 ±0,207	57
9,81 ±0,20	9,007 ±0,183	20
10,44 ±0,20	8,470 ±0,162	19
11,55 ±0,20	7,653 ±0,132	62
11,77 ±0,20	7,511 ±0,127	75
12,19 ±0,20	7,256 ±0,119	41
12,30 ±0,20	7,189 ±0,116	25
13,18 ±0,20	6,713 ±0,101	83
14,04 ±0,20	6,303 ±0,089	7
14,52 ±0,20	6,094 ±0,083	92
14,68 ±0,20	6,028 ±0,082	44
15,04 ±0,20	5,886 ±0,078	15
15,93 ±0,20	5,559 ±0,069	26
16,19 ±0,20	5,470 ±0,067	40
16,57 ±0,20	5,345 ±0,064	13
16,95 ±0,20	5,226 ±0,061	66
17,27 ±0,20	5,131 ±0,059	28
17,38 ±0,20	5,099 ±0,058	48
17,56 ±0,20	5,045 ±0,057	66
17,80 ±0,20	4,980 ±0,056	28
18,22 ±0,20	4,865 ±0,053	18
18,43 ±0,20	4,810 ±0,052	16
18,73 ±0,20	4,735 ±0,050	49
19,12 ±0,20	4,639 ±0,048	53
19,26 ±0,20	4,604 ±0,047	36
19,40 ±0,20	4,573 ±0,047	40
19,54 ±0,20	4,539 ±0,046	100
19,78 ±0,20	4,485 ±0,045	21
20,19 ±0,20	4,394 ±0,043	33
20,60 ±0,20	4,308 ±0,041	8
20,91 ±0,20	4,245 ±0,040	35
21,23 ±0,20	4,183 ±0,039	96
21,41 ±0,20	4,146 ±0,038	23

21,62 ±0,20	4,107 ±0,038	32
21,84 ±0,20	4,066 ±0,037	11
22,15 ±0,20	4,009 ±0,036	6
22,37 ±0,20	3,972 ±0,035	10
22,59 ±0,20	3,934 ±0,034	9
22,73 ±0,20	3,910 ±0,034	20
23,25 ±0,20	3,823 ±0,032	26
23,57 ±0,20	3,771 ±0,032	53
23,80 ±0,20	3,736 ±0,031	23
23,99 ±0,20	3,706 ±0,030	9
24,23 ±0,20	3,670 ±0,030	13
24,32 ±0,20	3,657 ±0,030	13
24,58 ±0,20	3,619 ±0,029	28
24,88 ±0,20	3,575 ±0,028	14
25,38 ±0,20	3,506 ±0,027	27
25,76 ±0,20	3,456 ±0,026	10
26,11 ±0,20	3,410 ±0,026	15
26,25 ±0,20	3,392 ±0,025	11
26,56 ±0,20	3,354 ±0,025	6
26,71 ±0,20	3,335 ±0,025	9
27,01 ±0,20	3,299 ±0,024	10
27,41 ±0,20	3,251 ±0,023	14
27,71 ±0,20	3,216 ±0,023	26
27,93 ±0,20	3,192 ±0,022	13
28,14 ±0,20	3,168 ±0,022	17
28,68 ±0,20	3,110 ±0,021	9
29,09 ±0,20	3,067 ±0,021	7
29,30 ±0,20	3,045 ±0,020	19

[00239] Sobreposição DSC/TGA para o material é mostrada na Figura 19. O termograma TGA para o cocristal de **4a**/D-prolina exibiu duas etapas distintas de perda de peso, a primeira ocorrendo entre ~100 °C e 150-160 °C (7,0% de perda de peso) e a segunda entre 150 e 230 °C (20,0% perda de peso). Ampla endotermia foi observada por DSC com pico máximo a 130 °C, que se coordena com a primeira etapa de perda de peso de TGA, possivelmente atribuída à perda de solvente/água ligados. Eventos endotérmicos sobrepostos foram observados acima de ~170 °C, provavelmente devido à fusão/volatilização simultânea do componente D-prolina do cocristal. Queda

acentuada no termograma TGA acima de ~250 °C provavelmente corresponde à decomposição.

[00240] A isotérmica DVS para o cocrystal de D-prolina é apresentada na Figura 20. Após a sorção, o cocrystal ganhou 26% em peso entre 5% e 95% UR, com a grande maioria do ganho de peso ocorrendo entre 85% e 95% UR. O equilíbrio cinético expirou durante esta etapa, indicando que o cocrystal poderia potencialmente captar mais umidade do que o que foi medido se fosse permitido tempo de equilíbrio mais longo. Após a dessorção, o cocrystal exibiu perda de peso relativamente estável entre 95% e 5% de RH e perdeu mais peso do que o ganho durante a sorção (29% em peso), indicando que o material provavelmente continha solvente/água no início da análise. A ser notado, a amostra pós-DVS do cocrystal de D-prolina observou-se ter ficado presa à bandeja e não pôde ser recuperada, indicando deliquescência parcial durante o experimento.

[00241] Exemplo 12: Administração comparativa de 4a/L-prolina Material A e Amorfo 4a a Camundongos

[00242] Este exemplo avaliou a exposição sistêmica a **4a** após a administração oral de formulação da suspensão de Material A como preparada no Exemplo 1 em comparação com a formulação da suspensão de **4a** amorfo em camundongos C57BL/6 machos.

[00243] Amorfo **4a** ou Material A foi formulado em 0,5% de CMC com 5% de DMSO (levando em consideração a presença de prolina na base de peso) e administrado por gavagem oral a 35 camundongos C57BL/6 machos a 1000 mg/kg usando o volume de dosagem de 15 mL/kg. Amostras de sangue para isolamento de plasma foram coletadas em 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 e 24 horas

após a dose, usando grupo separado (n = 5/grupo/ponto de tempo) de camundongos para cada ponto de tempo, conforme resumido na Tabela 14 abaixo. As amostras de plasma foram analisadas para concentrações de **4a** pela metodologia LC/MS/MS conforme descrito abaixo.

[00244] Tabela 14: Resumo do estudo de camundongo

Grupo	Artigo de Teste	N	Via de dosagem	Veículo	Nível de dose (mg/kg)	Volume da dose (mL/kg)	Tempos de coleta de sangue (h)
1	Amorfo 4a	35	PO	0,5% CMC/5% DMSO em água esterilizada	1000	15	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 & 24
2	Material A	35	PO	0,5% CMC/5% DMSO em água esterilizada	1000	15	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 & 24

[00245] Reagentes e suprimentos: Todos os reagentes e suprimentos eram de alta qualidade e grau LC/MS quando apropriado e obtidos de fornecedores comerciais padrão.

[00246] Preparação da amostra de plasma: **4a** foi extraído de amostras de plasma fortificadas com K3EDTA usando o método de precipitação de proteína. Em poço de microplaca de polipropileno (96 poços), foram adicionados 20 µL de uma solução 2,5-ng/mL D3-**4a** (padrão interno, IS) preparada em acetonitrila/H₂O (1: 1), seguido pela adição de 20 µL de amostra de plasma. A placa foi selada com fita de vedação (Phenomenex, AH0- 7362) e suavemente misturada com um misturador vórtice por 1 minuto. A solução foi pipetada para poço de placa de polipropileno (96 poços, 2 mL, Phenomenex, AH0-7194) que continha 500 µL de metanol. A placa foi selada e misturada em vórtice por 5 minutos, seguido por centrifugação a 3000 × g por 3 minutos em

temperatura ambiente. Aliquota de 300 µL do sobrenadante foi transferida para novo poço que continha 300 µL de água desionizada. Após mistura suave, a placa foi selada e colocada em amostrador automático LC mantido a 12 °C, e alíquota de 10 µL foi injetada em sistema LC/MS/MS para análise quantitativa de **4a**.

[00247] Condições de cromatografia e espectrometria de massa: A separação cromatográfica líquida de **4a** foi obtida por coluna analítica de fase reversa com solução de fase móvel contendo H₂O, acetonitrila e ácido fórmico. O analito cromatografado foi detectado por espectrômetro de massa triplo quadrupolo Waters Xevo TQ-S operando no modo de monitoramento de reação múltipla (MRM). As áreas de pico cromatografadas para amostras de controle de qualidade, padrões de calibração e amostras de estudo foram integradas usando o software MassLynx V4.1 (Waters Corp.).

[00248] Análise Farmacocinética: As estimativas dos parâmetros farmacocinéticos foram obtidas a partir da análise não compartimental dos dados de concentração plasmática média **4a**-tempo para cada grupo de dose usando o software WinNonlinTM versão 6.3 (Pharsight Corp., Cary, NC). A área sob a curva de concentração de plasma-tempo do tempo zero ao tempo (t) da última concentração mensurável de **4a** (AUC (0-t)) foi determinada usando a regra trapezoidal logarítmica linear. O tempo da última concentração mensurável foi definido como o tempo após o qual as concentrações de **4a** ficaram abaixo do limite de quantificação (BLQ) na maioria dos animais para cada grupo de dose.

[00249] Resultados: Os dados de concentração plasmática média (± SD) **4a** após uma única administração por sonda oral de Material A e **4a** amorfo são apresentados na Tabela 15

abaixo e exibidos na Figura 21. As estimativas dos parâmetros farmacocinéticos para **4a** são apresentadas na Tabela 16.

[00250] **Tabela 15: Concentrações plasmáticas médias (\pm DP) de 4a em camundongos após a administração de dose oral única de material A e 4a amorfo**

Tempo (h)	4a Concentração de plasma (ng/mL)	
	Material A	Amorfo 4a
0,25	9770 \pm 6480	6760 \pm 2840
0,5	8090 \pm 690	3060 \pm 1600
1	733 \pm 336	359 \pm 140
2	51,4 \pm 27,7	80,7 \pm 116
4	15,8 \pm 17,9	2,28 \pm 0,92
8	3,68 \pm 6,12	4,01 \pm 4,34
24	BLQ ^a	BLQ ^a

^a Todas as amostras do grupo eram BLQ.

[00251] **Tabela 16: Estimativas de parâmetros farmacocinéticos do plasma após única administração oral a camundongos**

Grupo	Dose (mg/kg)	T _{max} (h)	C _{max} (ng/mL)	AUC _(0-t) (h*ng/mL)
Material A	1000	0,25	9770	5330
Amorfo 4a	1000	0,25	6760	2880

[00252] Exemplo 13: Administração comparativa de 4a/L-prolina Material A e 4a amorfo para macacos

[00253] Este exemplo avaliou a exposição sistêmica ao Material A conforme preparado no Exemplo 1 e formulações amorfas **4a**, respectivamente, em macacos cynomolgus machos após única administração por gavagem oral a 30 mg/kg usando 0,5% de carboximetilcelulose (CMC) em água estéril como veículo (5 mL/kg) ou a 50 mg (independentemente do peso corporal) em cápsulas de enchimento solto conforme resumido na Tabela 17 abaixo.

[00254] Tabela 17: Resumo do Estudo do Macaco

Grupo	Artigo de Teste	N	Via de dosagem	Veículo	Nível de Dose	Volume da dose (mL/kg)	Tempos de coleta de sangue (h)
1	Material A	3	PO	0,5% CMC em água estéril	30 mg/kg	5	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 e 24
2	Amorfo 4a	3	PO	0,5% CMC em água estéril	30 mg/kg	5	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 e 24
3	Material A	3	PO	Cápsula de Gelatina (tamanho 00)	50 mg ^a	NA ^b	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 e 24
4	Amorfo 4a	3	PO	Cápsula de Gelatina (tamanho 00)	50 mg ^a	NA ^b	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 e 24

^a Dose administrada independentemente do peso corporal

^b NA, não aplicável

[00255] A dosagem do Material A foi responsável pela presença de prolina com base no peso. Amostras de sangue para isolamento de plasma foram coletadas em 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 horas após a dose de cada macaco. As amostras de plasma foram analisadas quanto às concentrações de **4a** pela metodologia LC/MS/MS e a análise farmacocinética foi realizada, conforme descrito no Exemplo 12 acima.

[00256] Resultados: As concentrações plasmáticas médias (\pm SD) após uma única sonda oral (30 mg/kg, 5 mL/kg) ou após a dosagem da cápsula (50 mg) são apresentadas na Tabela 18 abaixo e exibidas na Figura 22. As estimativas dos parâmetros farmacocinéticos são apresentadas na Tabela 19.

[00257] Tabela 18: Concentrações plasmáticas médias (\pm DP) 4a em macacos após administração oral de material A ou 4a amorfo como suspensão ou cápsula

4a Concentração de plasma (ng/mL)				
Tempo (h)	Gavagem oral (30 mg/kg)		Cápsula (50 mg)	
	Material A	Amorfo 4a	Material A	Amorfo 4a
0,25	264 \pm 193	103 \pm 71	32,1 \pm 25,1	15,9 \pm 12,9
0,5	265 \pm 79	129 \pm 92	40,8 \pm 16,4	12,3 \pm 5,5
1	225 \pm 67	128 \pm 56	19,6 \pm 8,9	5,97 \pm 0,95
2	111 \pm 39	80,2 \pm 26,4	0,333	1,90 \pm 1,89
4	11,3 \pm 3,3	14,1 \pm 5,5	0,349	0,200 ^b
8	1,60 \pm 0,70	1,20 \pm 0,45	0,348	0,951 \pm 1,30 ^a
12	0,463 \pm 0,228 ^c	BLQ ^d	2,64 \pm 3,48 ^c	3,53 \pm 5,78 ^a
24	BLQ ^e	BLQ ^d	12,5 \pm 11,0 ^c	6,11 \pm 9,23 ^c

^a 2 de 3 valores para o ponto de tempo intermediário (ou seja, entre 2 pontos de tempo com valores quantificáveis) estavam abaixo do limite de quantificação (BLQ, na sigla em inglês) e incluídos na média como $\frac{1}{2}$ do limite inferior de quantificação (LLOQ, na sigla em inglês) (ou seja, 0,200 ng/mL)

^b Todos os valores para o ponto de tempo intermediário (ou seja, entre 2 pontos de tempo com valores quantificáveis) foram BLQ e relatados como $\frac{1}{2}$ do LLOQ (ou seja, 0,200 ng/mL)

^c 1 de 3 valores foi BLQ e atribuído um valor de $\frac{1}{2}$ do LLOQ (ou seja, 0,200 ng/mL) para calcular a média e o desvio padrão

^d Média relatada como BLQ porque 2 de 3 amostras eram BLQ

^e Todos os valores foram BLQ

[00258] Tabela 19: Dados Farmacocinéticos Médios (\pm DP) em Macacos após a administração de 4a por via oral de suspensão ou cápsula

Grupo	T _{max} (h) ^a	C _{max} (ng/mL)	AUC _(0-t) (hr*ng/mL)
Material A (30 mg/kg)	0,25	309 \pm 117	491 \pm 120
Amorfo 4a (30 mg/kg)	0,5	160 \pm 78	307 \pm 96
Material A (cápsula de 50 mg)	0,25	51,0 \pm 7,6	110 \pm 85
4a amorfo (cápsula de 50 mg)	0,25	19,7 \pm 9,4	81,6 \pm 105

^a Dados apresentados como mediana

[00259] Ambas as formulações de cápsulas (mas não as formulações de suspensão oral) produziram concentrações plasmáticas de **4a** que estavam abaixo ou perto do limite inferior de quantificação (ou seja, 0,400 ng/mL) em 4 e 8 horas após a dose, mas demonstraram pico secundário de exposição em 24 horas com concentrações médias (\pm DP) **4a** de 12,5 \pm 11,0 e 6,11 \pm 9,23 ng/mL para as formulações de Material A e **4a** amorfa, respectivamente.

REIVINDICAÇÕES

1. Cocrystal de N-(2-(5-(((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina (1:2), caracterizado por:

difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 14,76, 16,86, 19,00, e 21,05 °2θ ±0,20 °2θ conforme determinado num difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα no comprimento de onda de 1,54178 Å.

2. Cocrystal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por:

o difratograma de raios X em pó compreender ainda picos em 12,14, 17,51, 18,89 e 19,41 °2θ ±0,20 °2θ.

3. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3, caracterizado por:

termograma por calorimetria de varredura diferencial (DSC) que compreende exotérmica em 211 °C.

4. Cocrystal de N-(2-(5-(((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina (1:2), caracterizada por:

difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 9,20, 16,19, 18,45 e 24,51 °2θ ±0,20 °2θ, conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-Kα no comprimento de onda de 1,54178 Å.

5. Cocrystal, de acordo com a reivindicação 46, caracterizado por:

o difratograma de raios X em pó compreender ainda picos a 11,83, 17,16, 20,15 e 25,34 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

6. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 4 a 5, caracterizado por:

termograma por calorimetria de varredura diferencial (DSC) que compreende endotérmica com temperatura de início de 211,2 $^{\circ}\text{C}$.

7. Cocrystal de N-(2-(5-(((2R, 3R, 4S, 5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il) etil)-acetamida e solvato de acetona L-prolina (1:1:1), caracterizado por:

difratograma de raios X em pó que compreende seguintes picos: 14,64, 17,53, 18,91 e 21,33 $^{\circ}2\theta \pm 0,20^{\circ}2\theta$, determinados em difratômetro que utiliza radiação Cu-K α no comprimento de onda de 1,54178 Å.

8. Cocrystal, de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por:

o difratograma de raios X em pó compreender ainda picos a 12,10, 15,14, 18,26 e 19,56 $^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

9. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 7 e 8, caracterizado por:

termograma de análise termogravimétrica (TGA) que compreende etapas de perda de peso que terminam em 150 $^{\circ}\text{C}$ e 220 $^{\circ}\text{C}$.

10. Cocrystal de N-(2-(5-(((2R, 3R, 4S, 5R)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-

fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il) etil)-acetamida, L-prolina, metiletilcetona e pirazina em razão molar de 1:1,2:0,6:0,1, caracterizado por:

difratograma de raios X em pó que compreende os seguintes picos: 10,42, 14,62, 19,28 e 21,14 $^{\circ}2\theta \pm 0,20$ $^{\circ}2\theta$ conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-K α no comprimento de onda de 1,54178 Å.

11. Cocrystal, de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por:

o difratograma de raios X em pó compreender ainda picos em 11,85, 14,93, 17,40 e 19,28 $^{\circ}2\theta \pm 0,2$ $^{\circ}2\theta$.

12. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 16 a 18, caracterizado por:

o tamanho unitário das células serem: a = 10,975 Å, b = 10,310 Å, c = 15,704 Å, $\alpha = 90^{\circ}$, $\beta = 108,56^{\circ}$ e $\gamma = 90^{\circ}$.

13. Cocrystal de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e D-prolina (1:1), caracterizado por:

o difratograma de raios X em pó compreender os seguintes picos: 11,77, 14,52, 19,54 e 21,23 $^{\circ}2\theta \pm 0,20$ $^{\circ}2\theta$ conforme determinado em um difratômetro usando radiação Cu-K α_1 no comprimento de onda de 1,5405929 Å.

14. Cocrystal, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado por:
- o difratograma de raios X em pó compreender ainda picos em 8,45, 13,18, 16,95 e 19,12 °2θ ±0,2 °2θ.
15. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 13 a 14, caracterizado por:
- o termograma por calorimetria de varredura diferencial (DSC) compreender endotérmica a 130 °C.
16. Cocrystal de N-(2-(5-(((2R, 3R, 4S, 5R)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il) etil)-acetamida e L-prolina (1:1), caracterizado por:
- o difratograma de raios X em pó compreender os seguintes picos: 8,52, 16,33, 19,50 e 21,22 °2θ ±0,20 °2θ, conforme determinado em difratômetro que utiliza radiação Cu-K_{α1} no comprimento de onda de 1,5405929 Å.
17. Cocrystal, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado por:
- o difratograma de raios X em pó compreender ainda picos em 9,19, 13,22, 14,75 e 17,57 °2θ ±0,2 °2θ.
18. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 16 a 17, caracterizado por:
- o tamanho unitário das células: a = 10,126 Å, b = 11,021 Å, c = 30,259 Å, α = 90°, β = 90° e γ = 90°.

19. Cocrystal, de acordo com qualquer das reivindicações 16 a 17, caracterizado por:

o termograma por calorimetria de varredura diferencial (DSC) compreender endotérmica a 145 °C.

20. Composição farmacêutica caracterizada por:

compreender cocrystal de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 19 e veículo sólido farmacêuticamente aceitável.

21. Utilização de cocrystal de acordo com qualquer das reivindicações 1- 19 caracterizado por:

ser apropriado para preparar medicamento para inibir a proteína de choque térmico 90 (Hsp90).

22. Método para aumentar a concentração de N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4a**) em relação a N-(2-(5-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida (**4b**) em composição de partida que compreende **4a** e **4b**, que compreende o contato da composição de partida com prolina em solvente e sujeitar a composição de partida, prolina e solvente a condições de cristalização, caracterizado por:

cocrystal de **4a** e prolina serem produzidos, e o cocrystal a granel exibir concentração de **4a** que seja maior do que na composição inicial que compreende **4a** e **4b**.

23. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado por:

a prolina ser L-prolina.

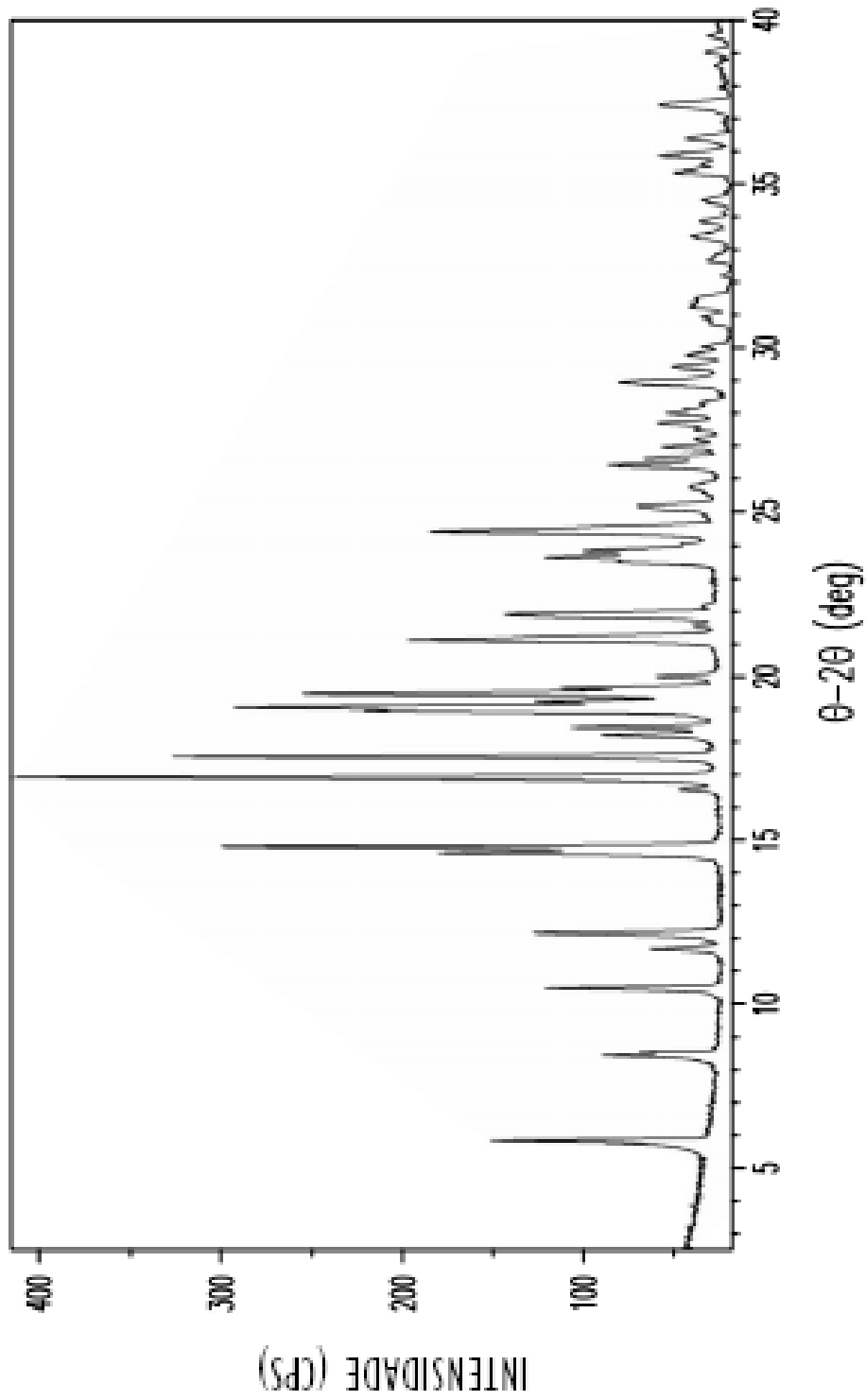
24. Método de acordo com a reivindicação 22, caracterizado por:
- a prolina ser D-prolina.
25. Método, de acordo com qualquer das reivindicações 22 a 24, caracterizado por:
- o método compreender ainda o aquecimento da composição de partida, prolina e solvente.
26. Método de acordo com qualquer das reivindicações 22 a 25, caracterizado por:
- a concentração de **4a** ser determinada por HPLC.
27. Método, de acordo com qualquer das reivindicações 22 a 26, caracterizado por:
- a concentração de **4a** no cocrystal a granel de **4a** e prolina ser 3 a 20% (p/p) maior do que na composição inicial.
28. Método, de acordo com qualquer das reivindicações 22 a 27, caracterizado por:
- a concentração de **4a** no cocrystal a granel de **4a** e prolina ser 5 a 15% (p/p) maior do que na composição de partida.
29. Método de acordo com qualquer das reivindicações 22 a 28, caracterizado por:
- a concentração de **4a** no cocrystal de **4a** e prolina a granel aumentar por 5%, 10% ou 15% (p/p).
30. Uso do cocrystal de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 19, caracterizado por:
- ser apropriado para a fabricação de medicamento para tratar ou prevenir distúrbio neurodegenerativo em paciente dele acometido.

31. Utilização de cocristal de acordo com qualquer das reivindicações 1- 19, caracterizada por:

ser apropriado para a fabricação de medicamento para prevenir ou reduzir a probabilidade de desenvolvimento de neuropatia periférica diabética em paciente acometido de diabetes tipo 1 ou tipo 2.

DESENHOS

FORMAS COCRISTALINAS DE PROLINA E DE ANÁLOGO DE NOVOBIOCINA

**Fig. 1**

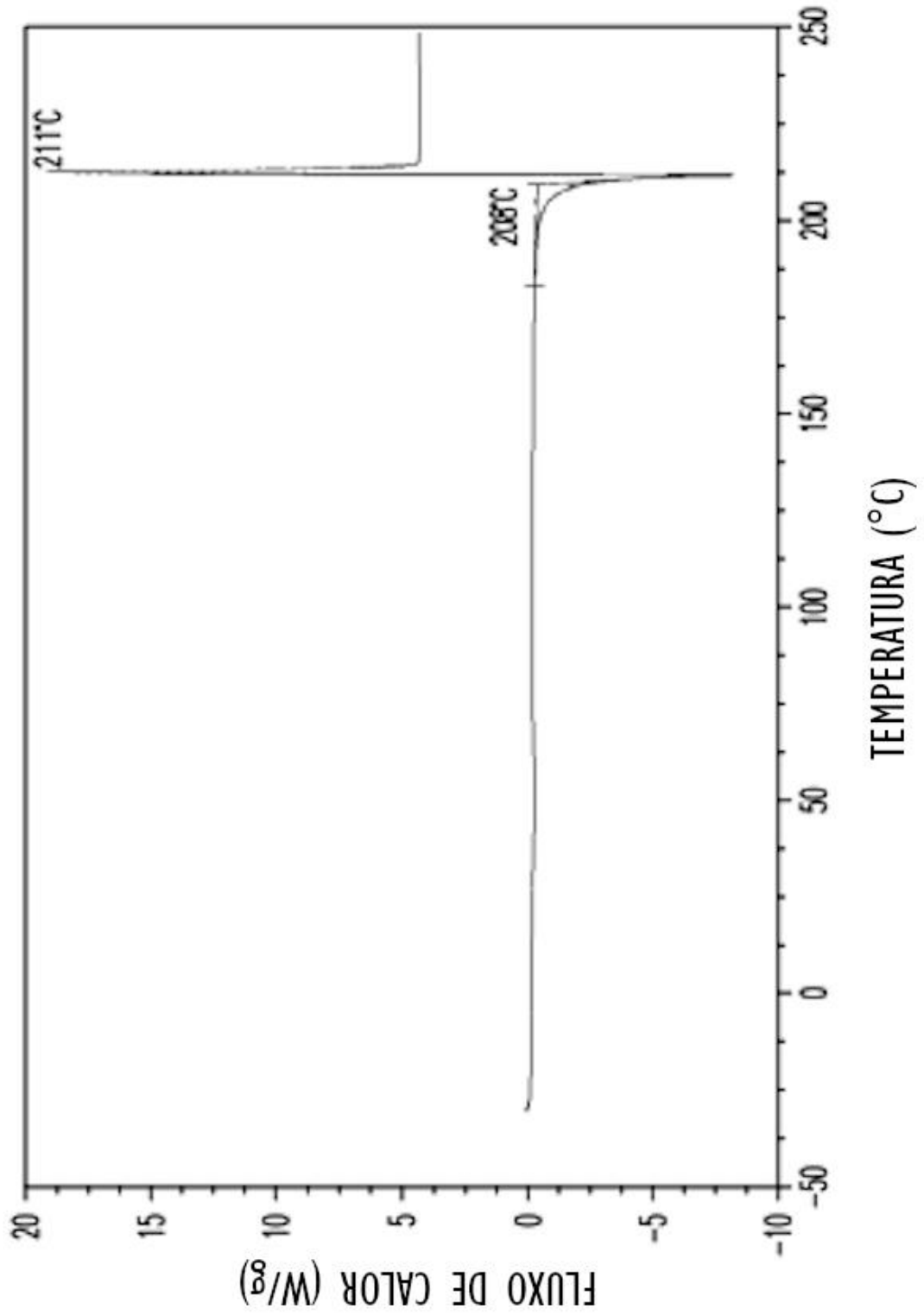


Fig. 2

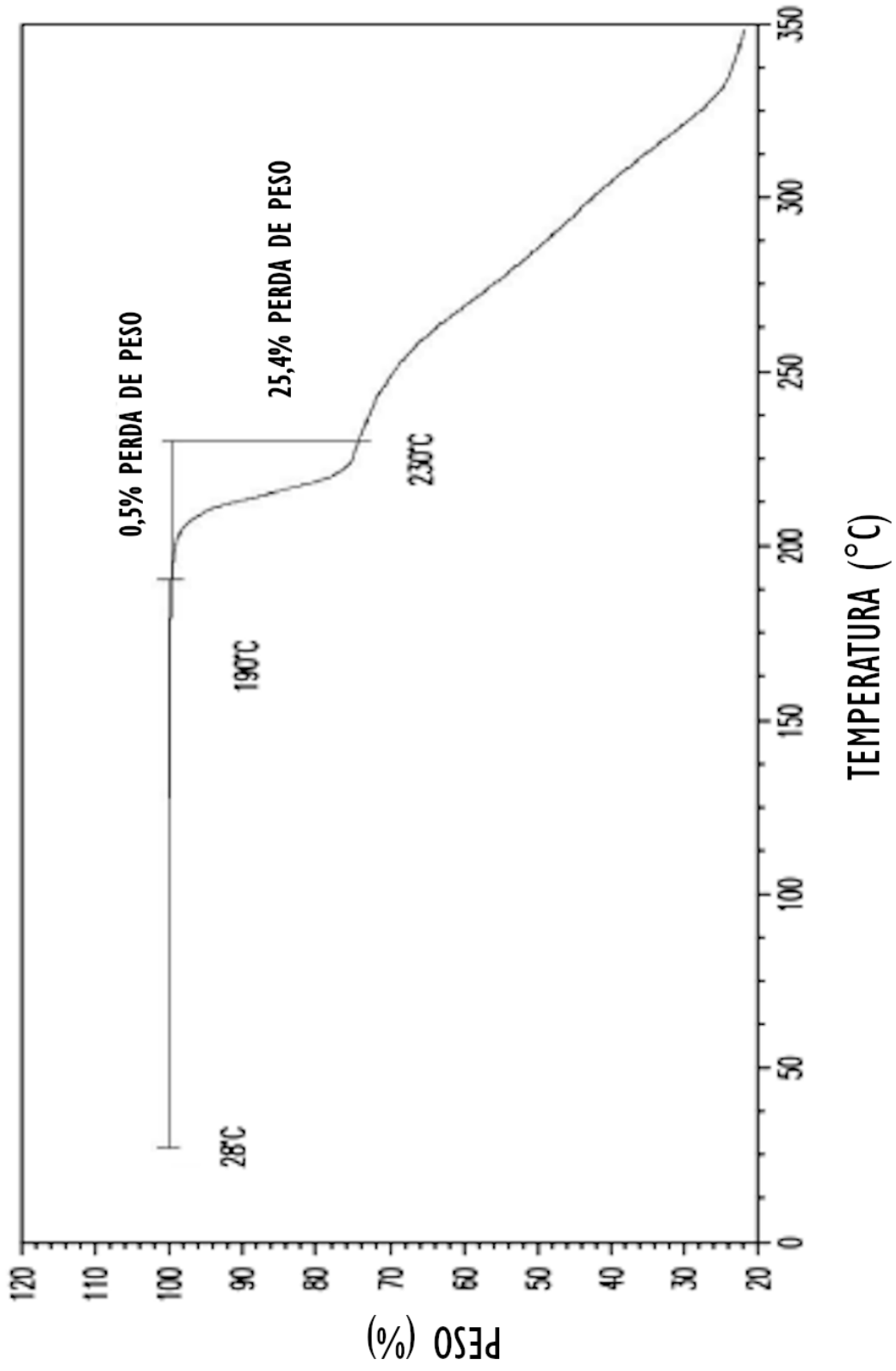
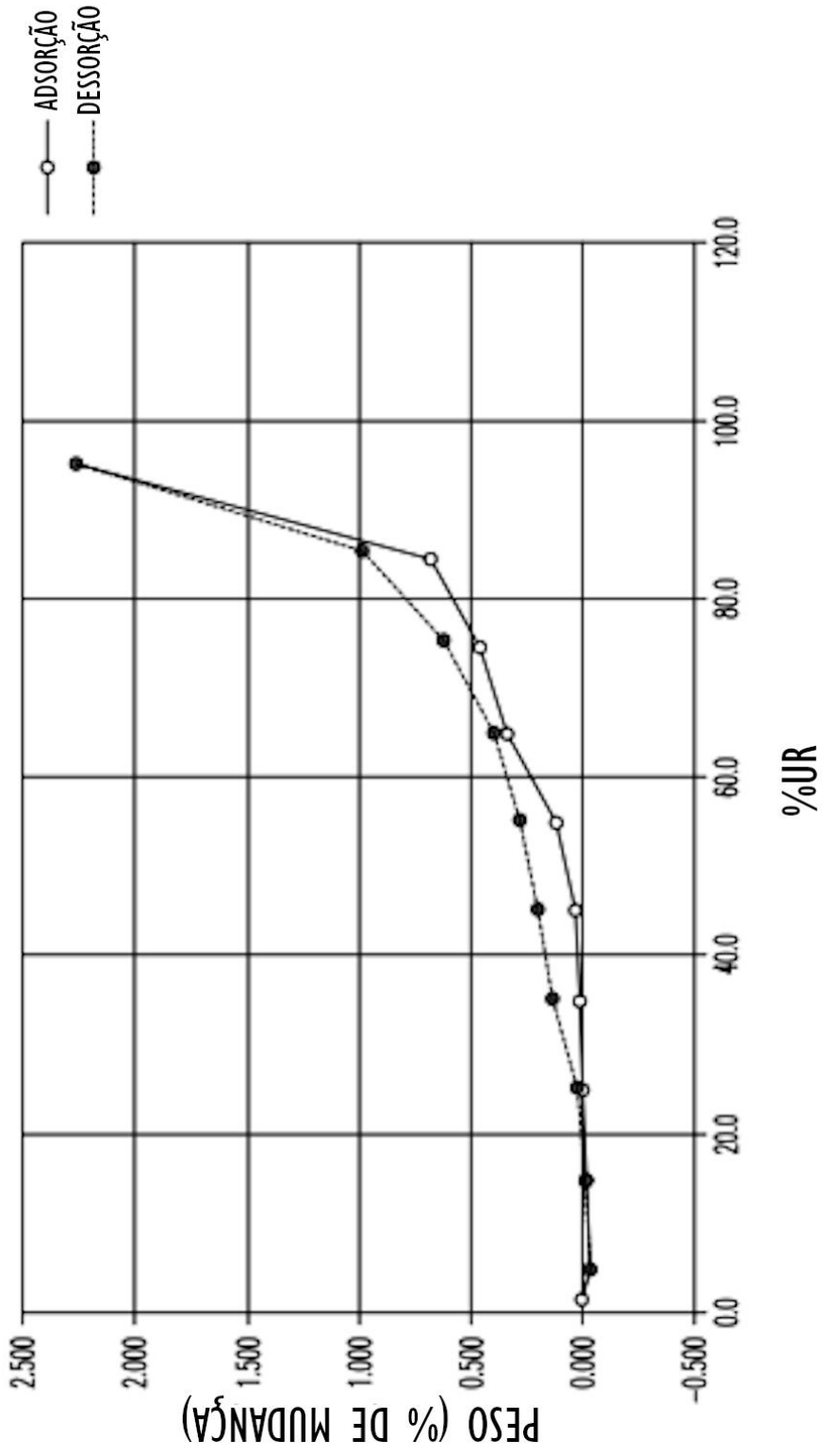


Fig. 3

**Fig. 4**

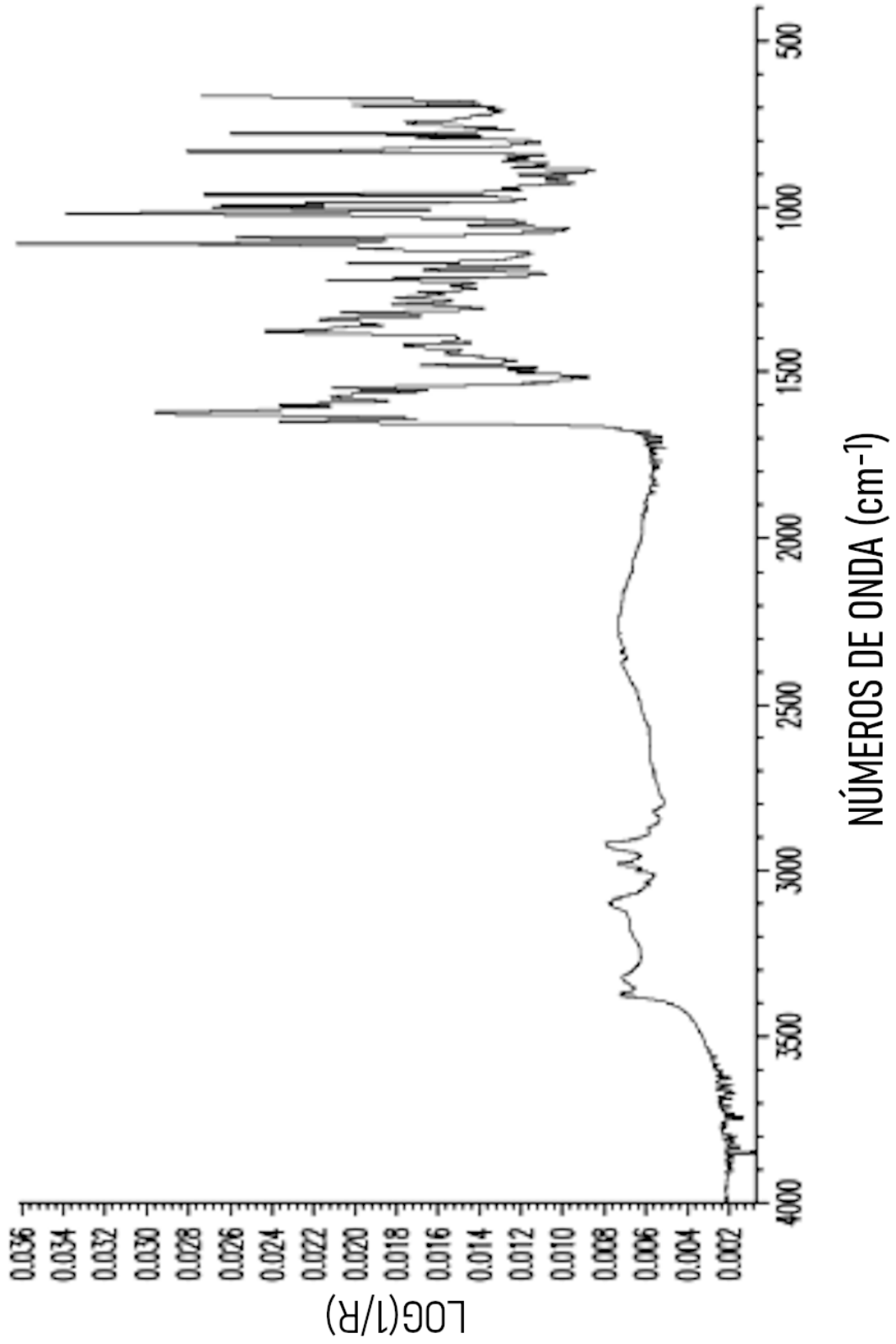


Fig. 5

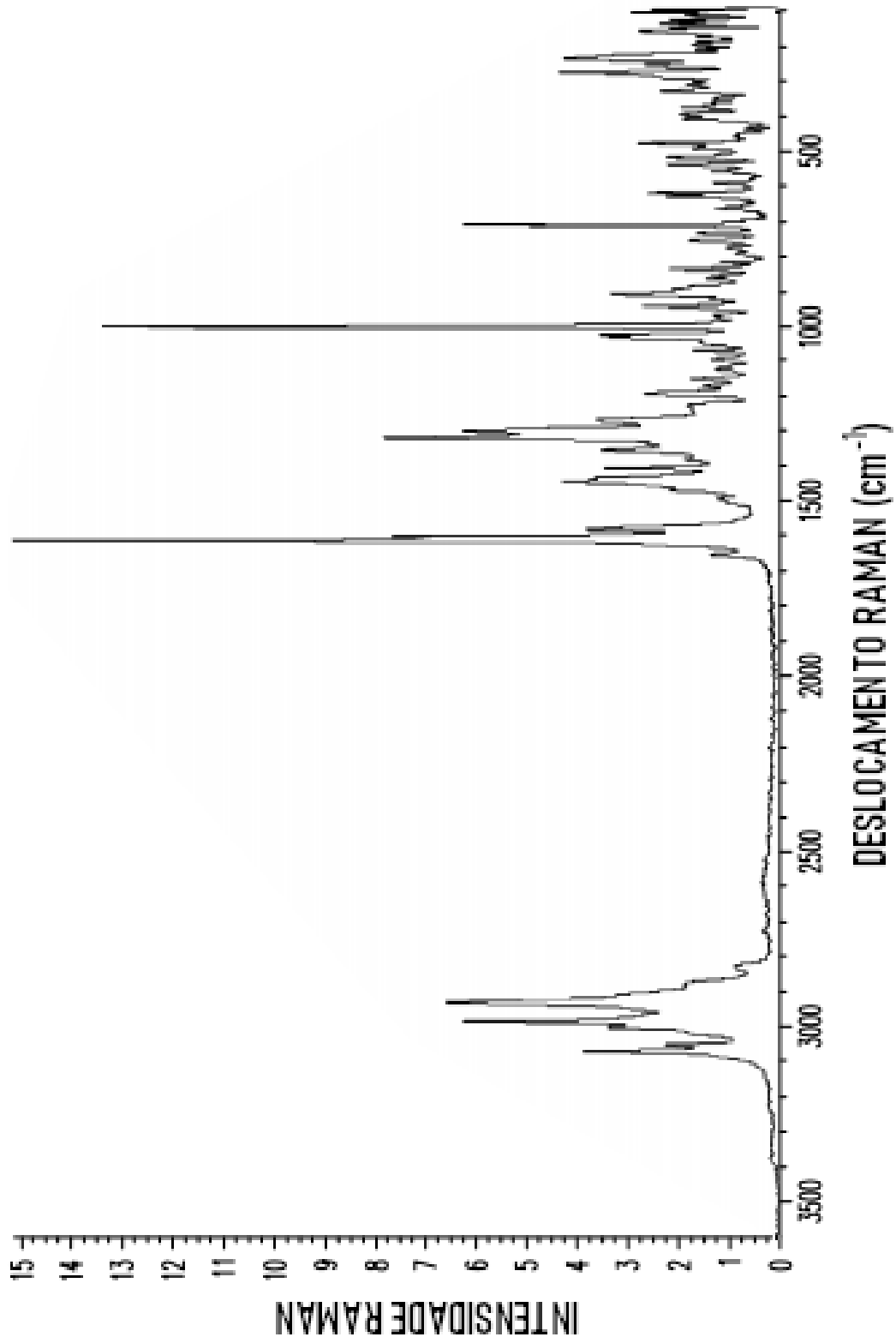
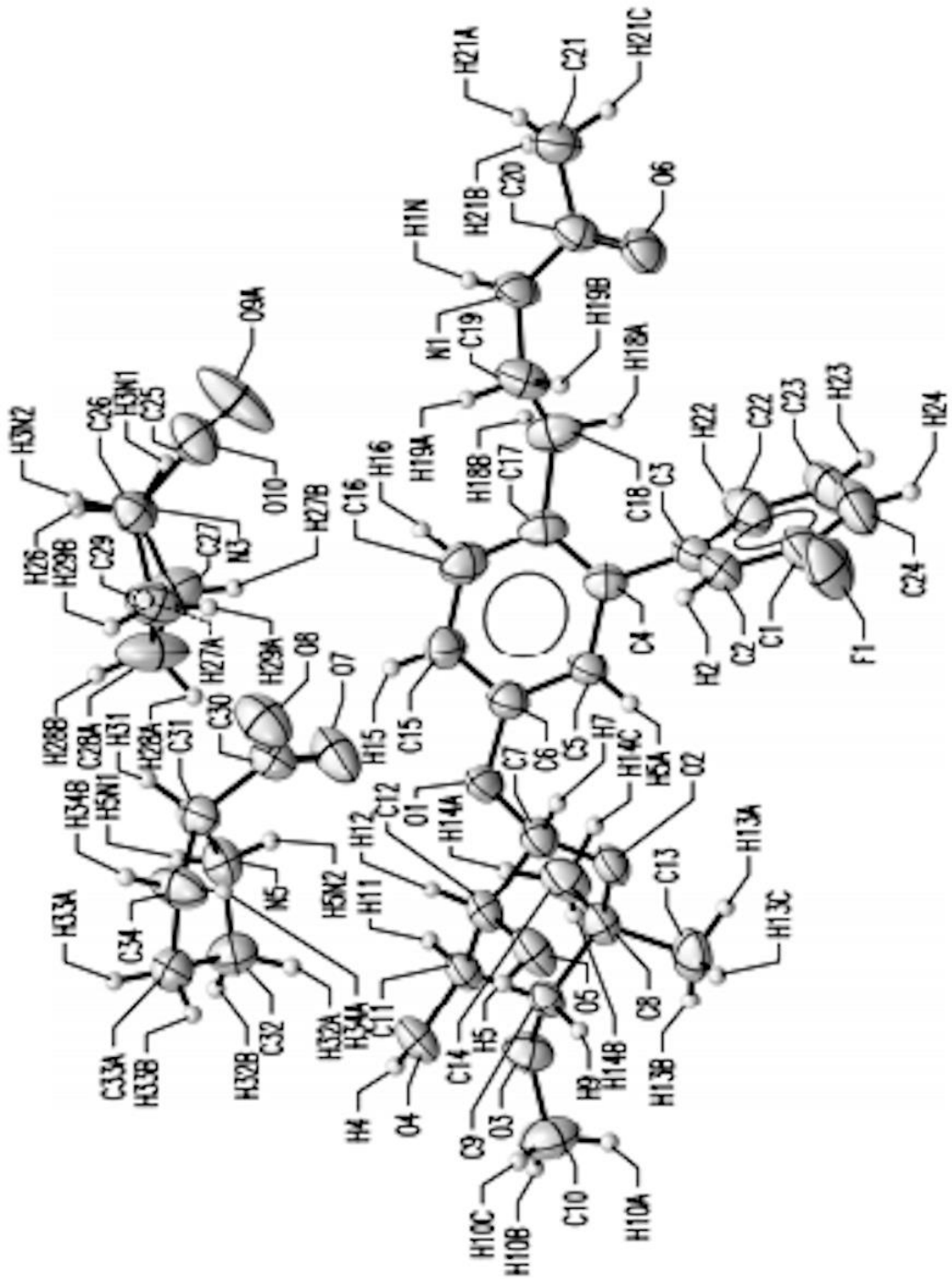


Fig. 6

**Fig. 7**

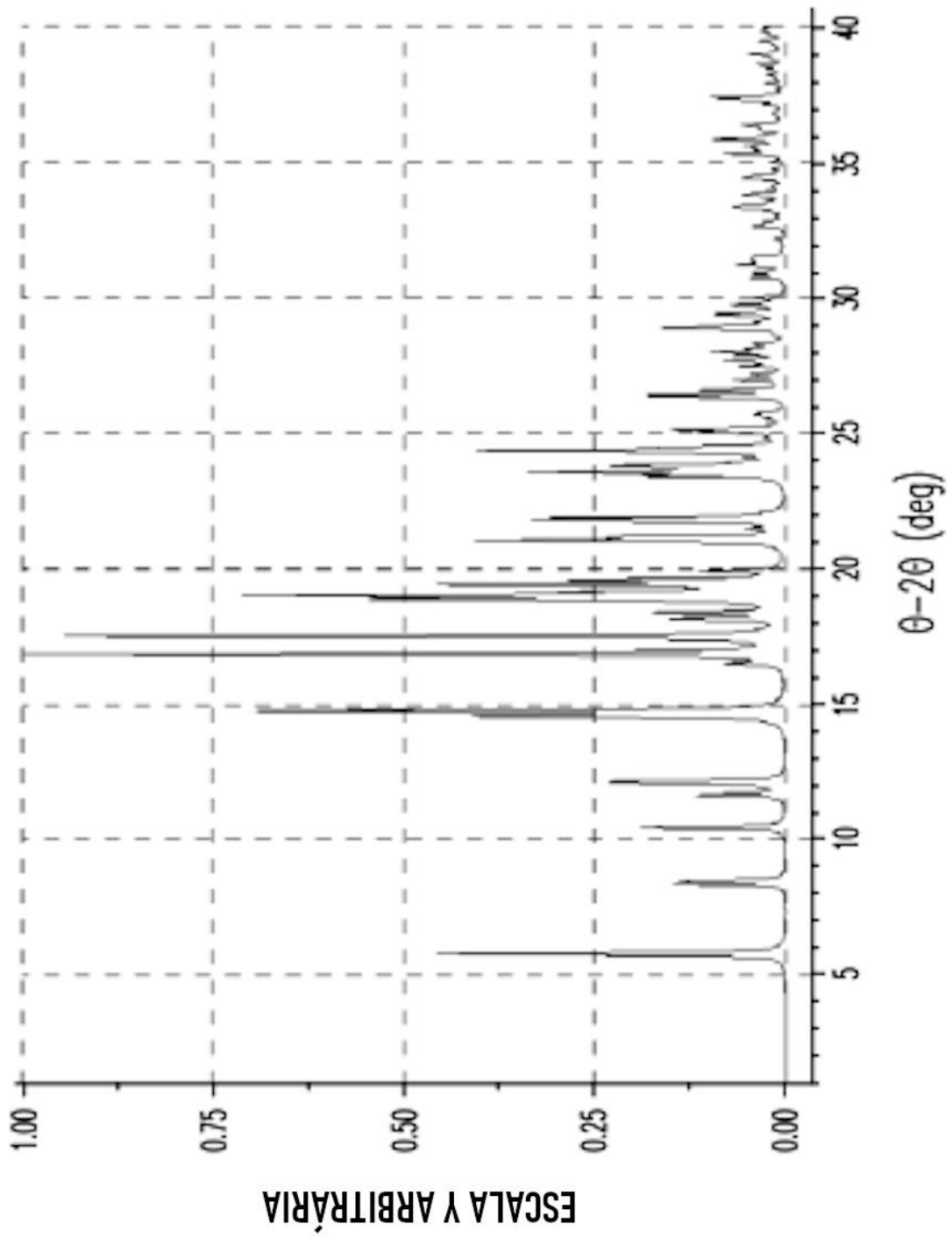


Fig. 8

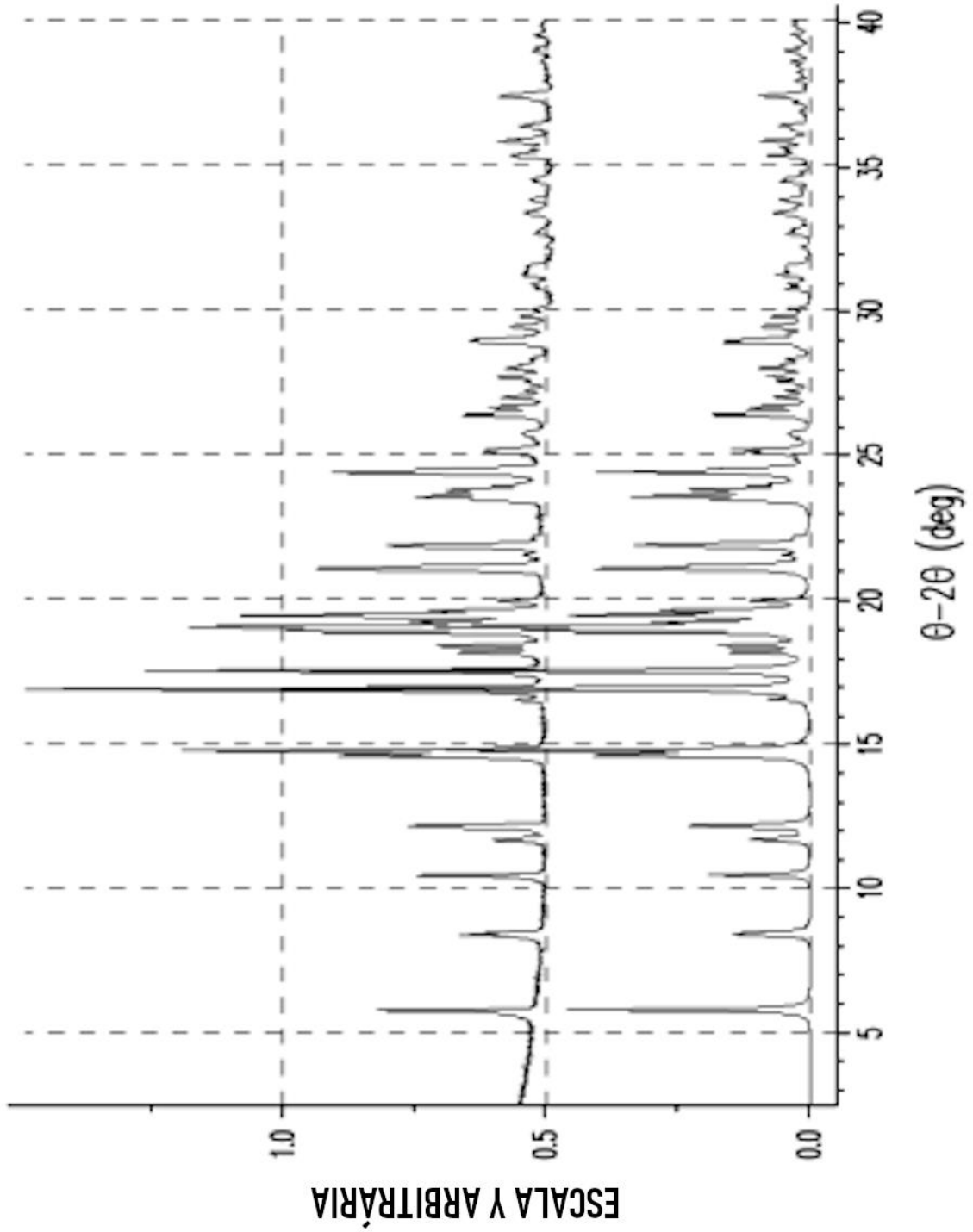
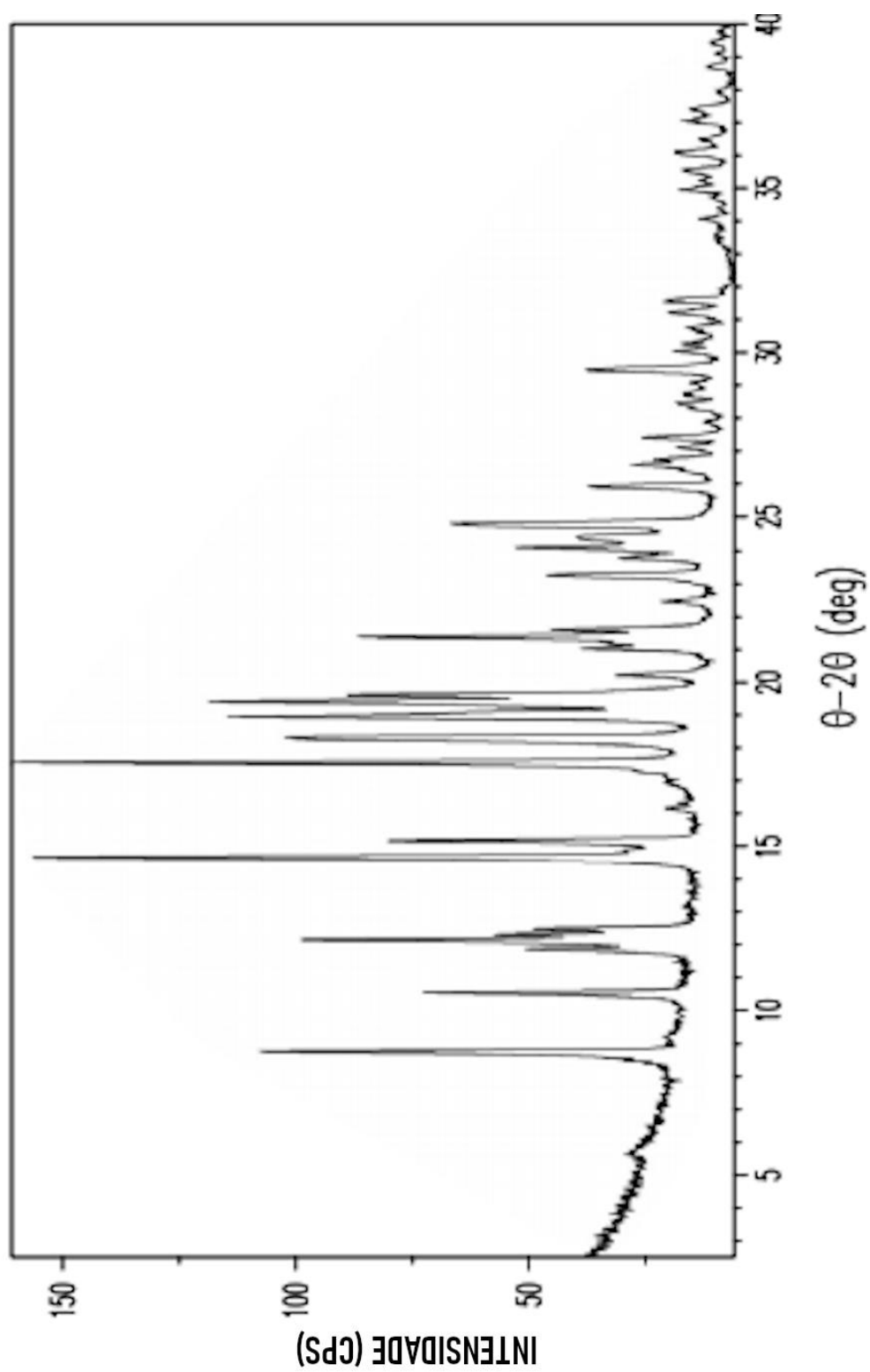
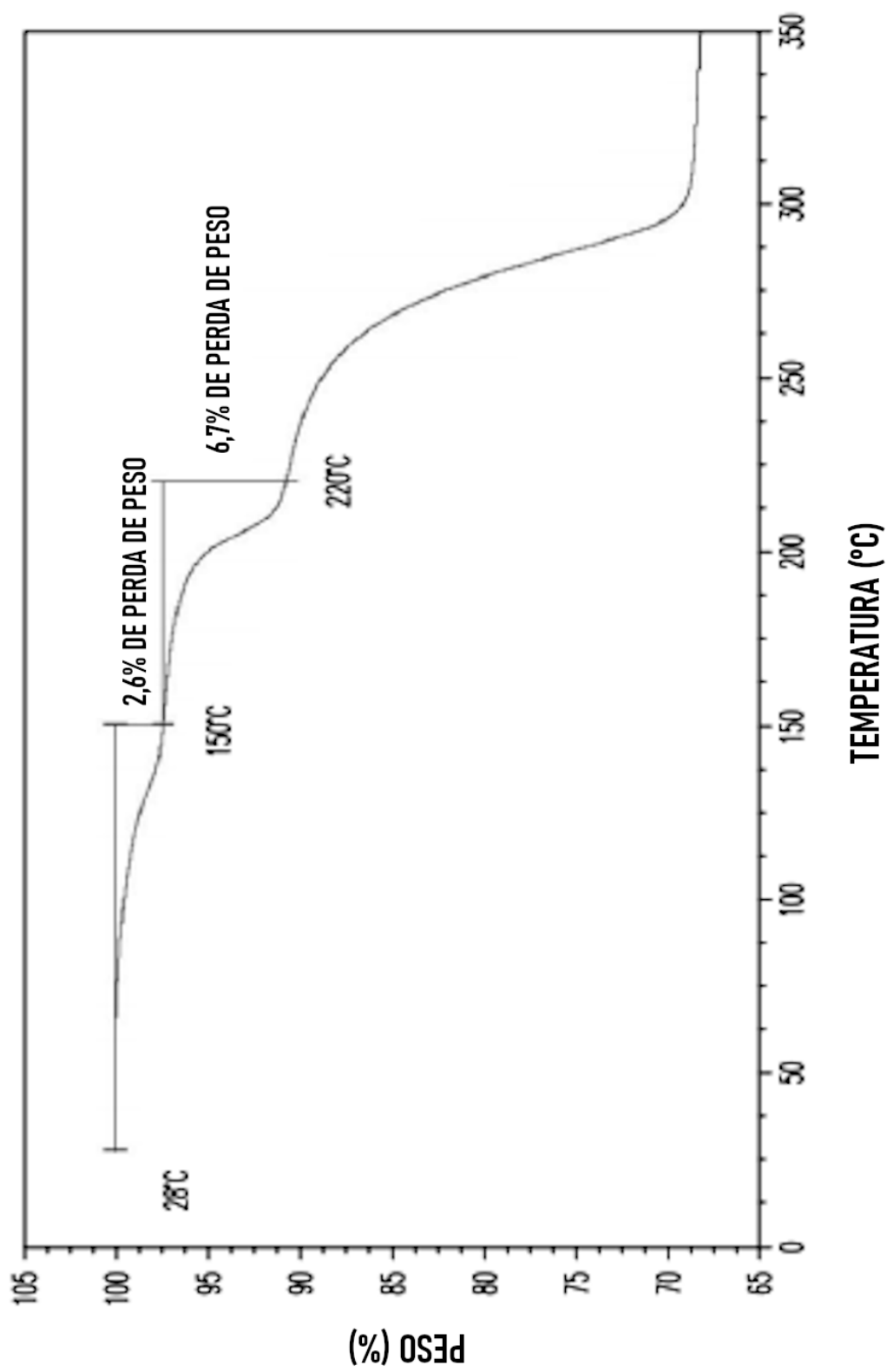
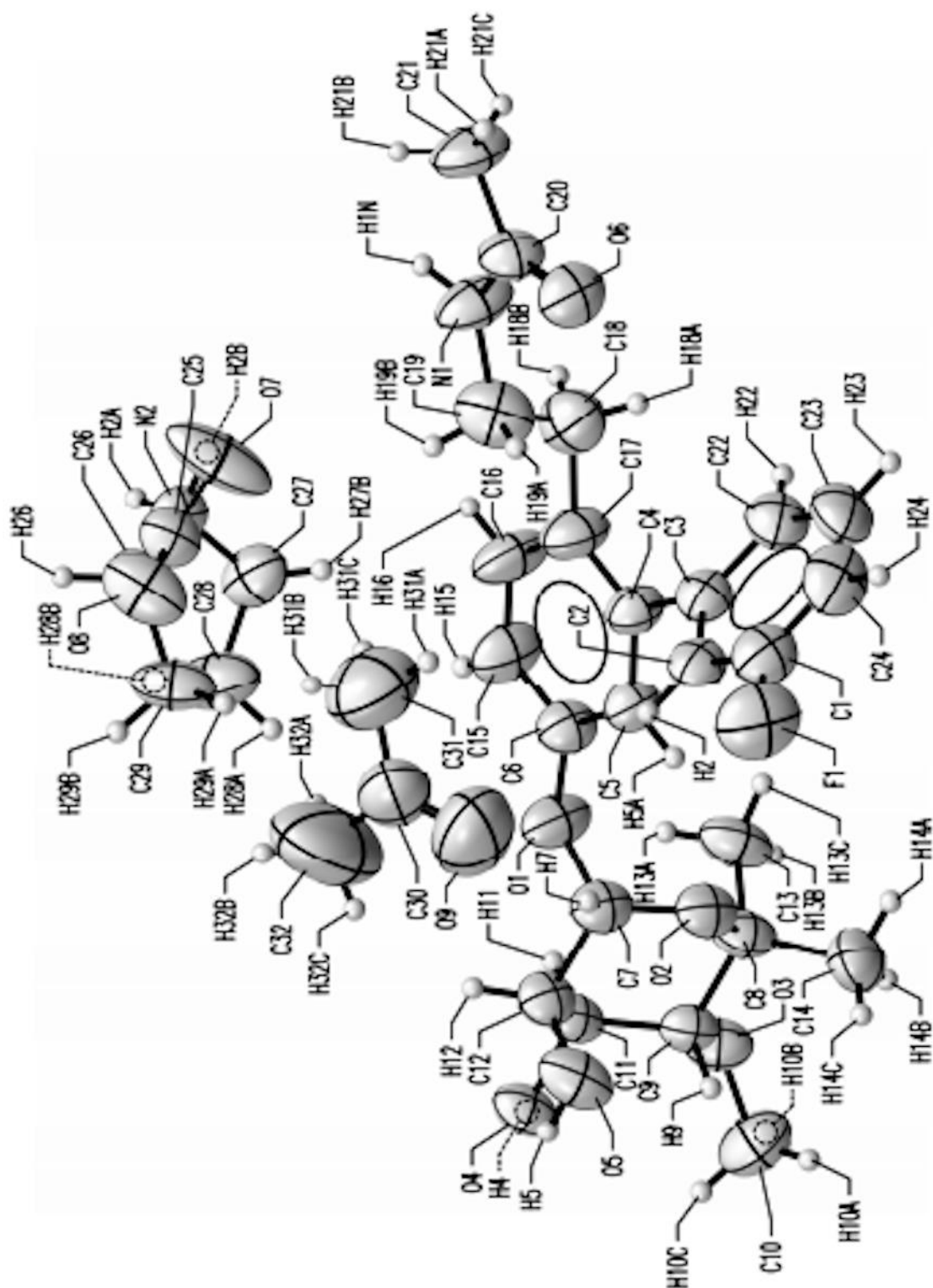
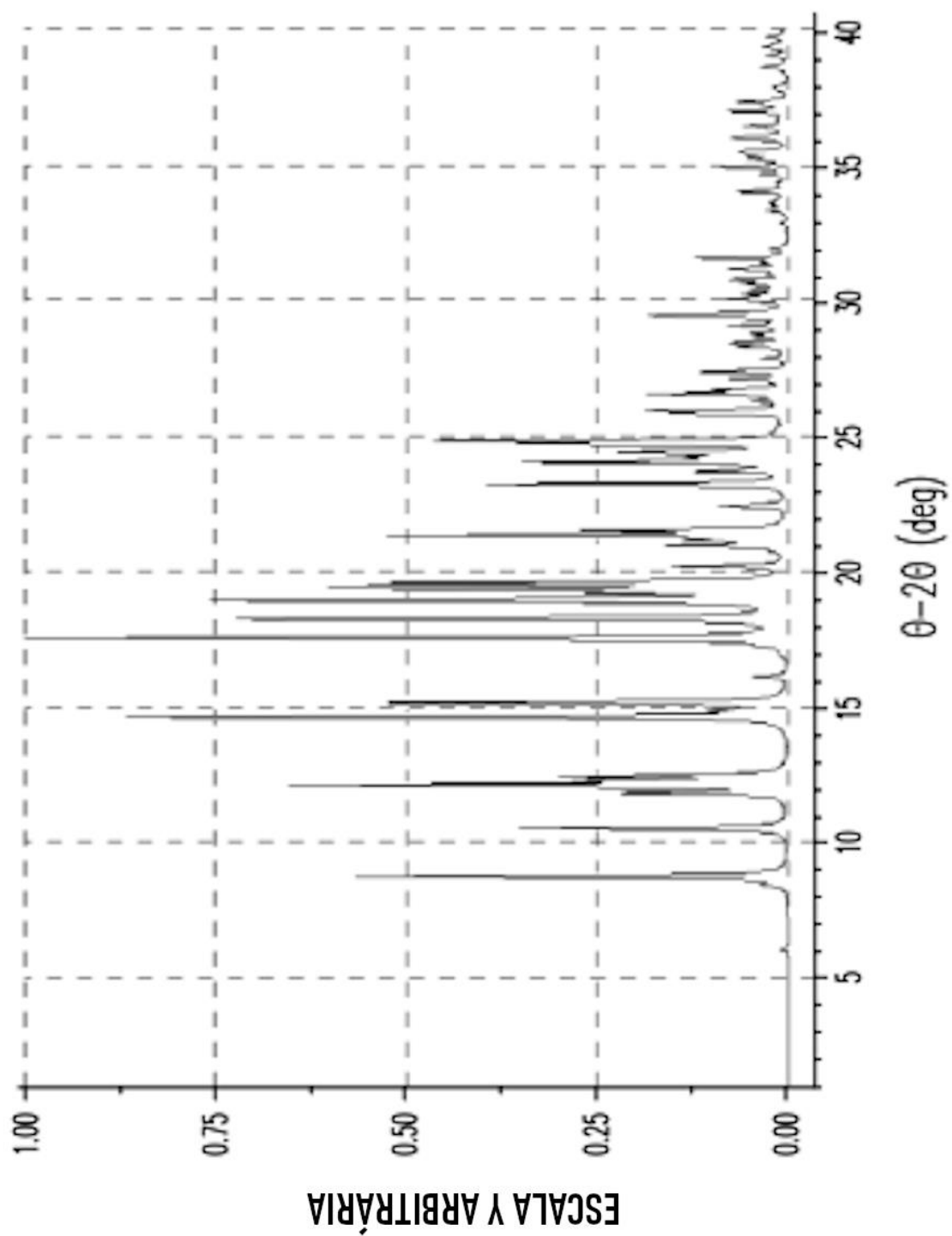


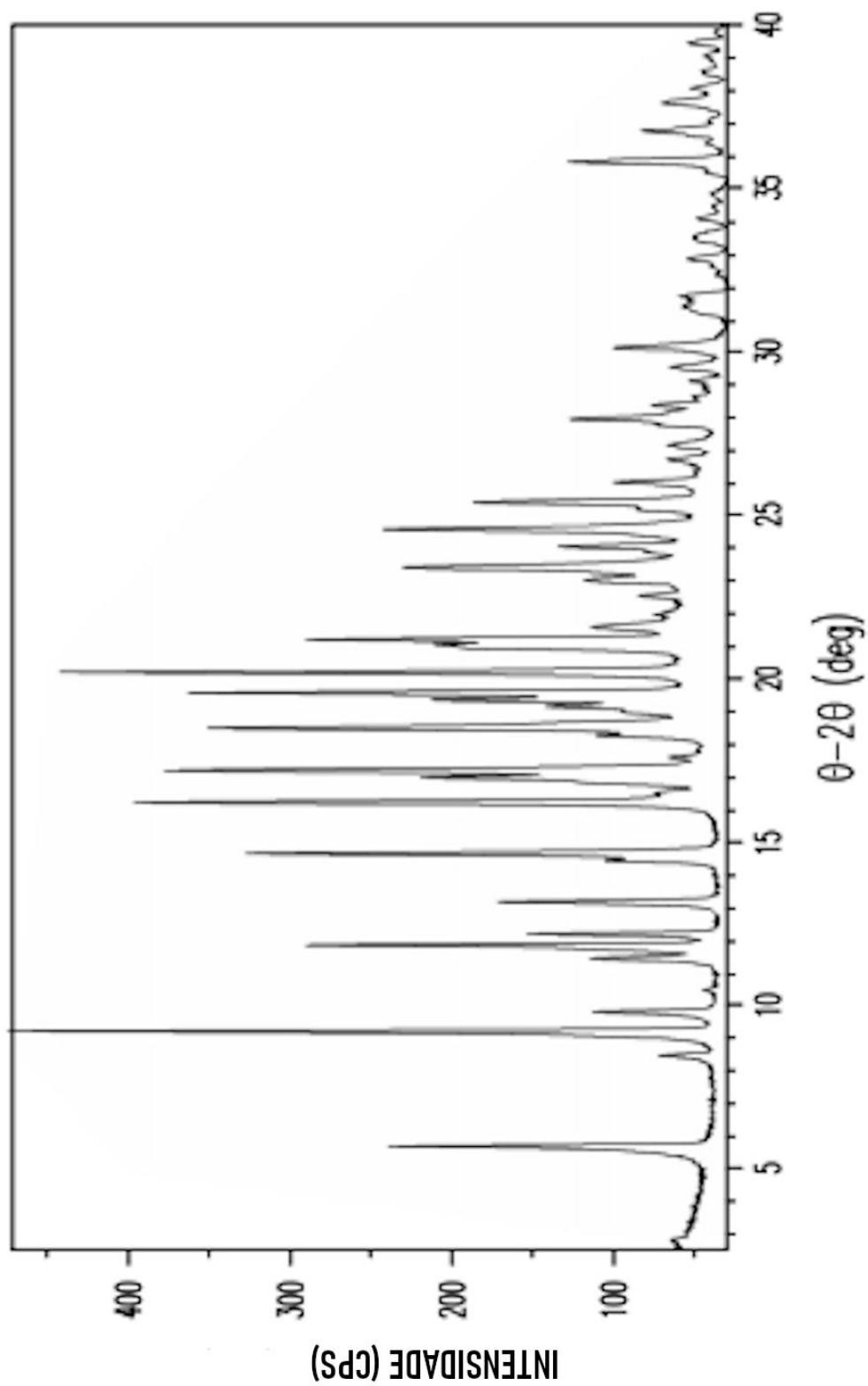
Fig. 9

**Fig. 10**

**Fig. 11**

**Fig. 12**

**Fig. 13**

**Fig. 14**

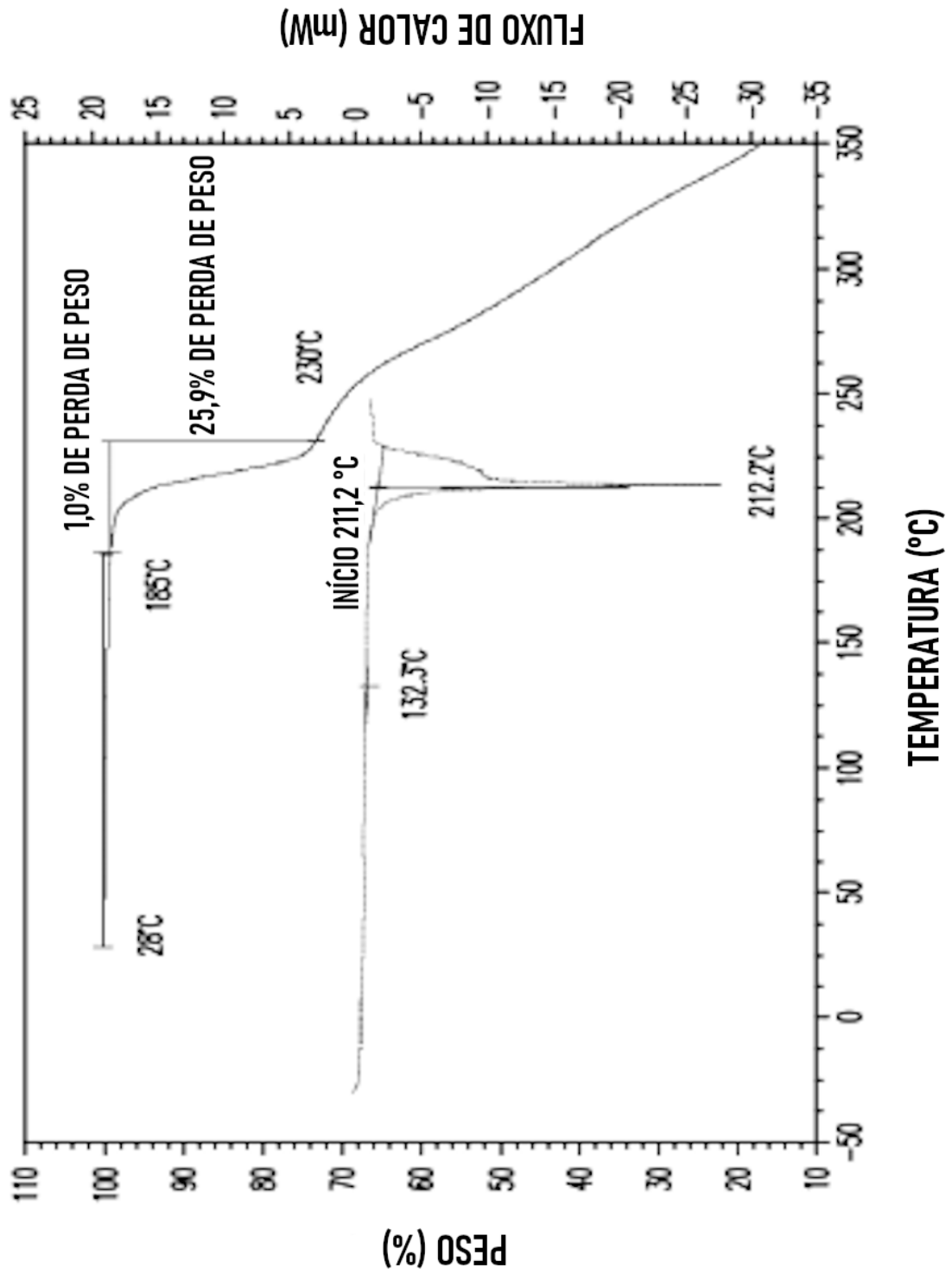


Fig. 15

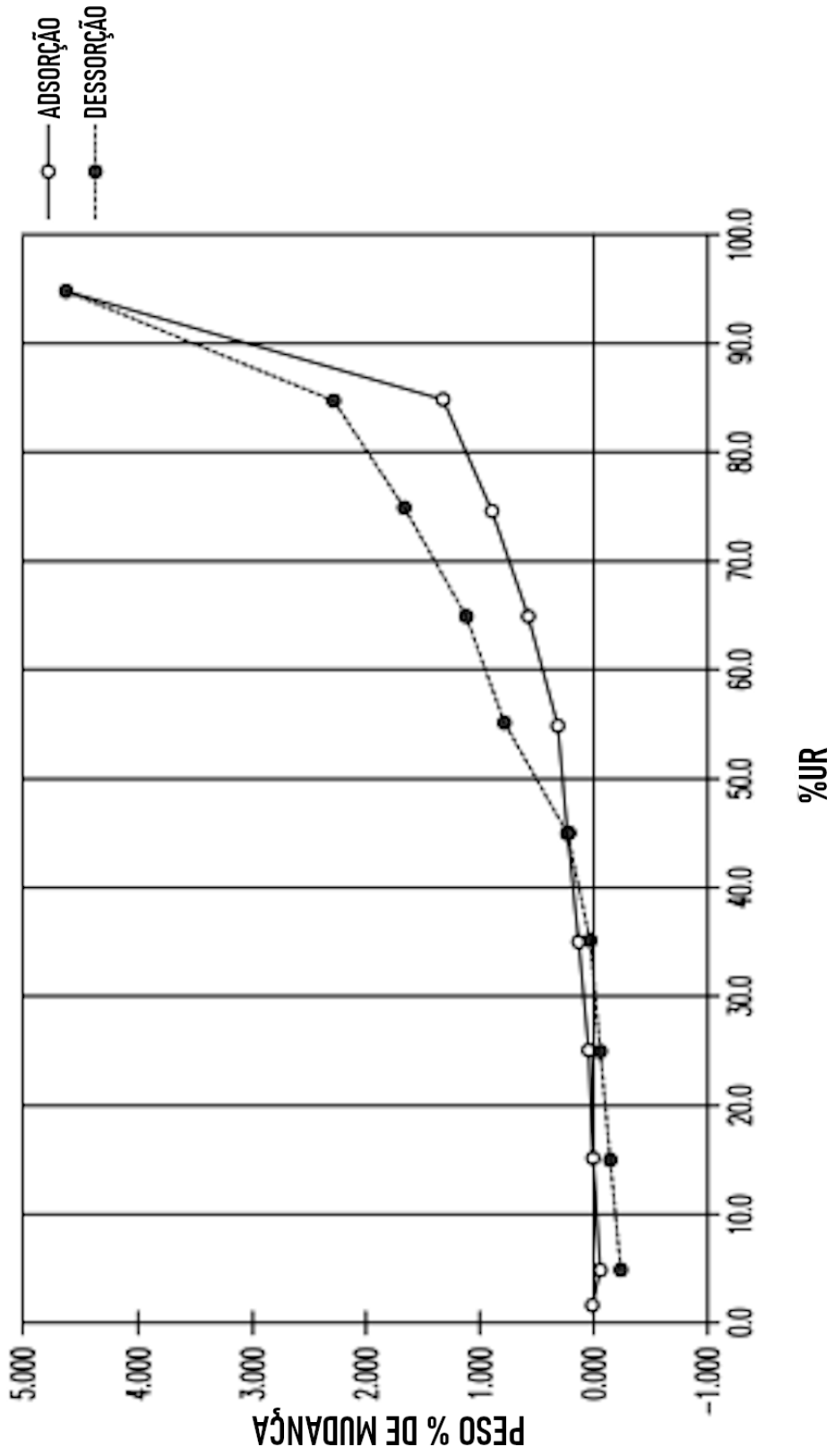
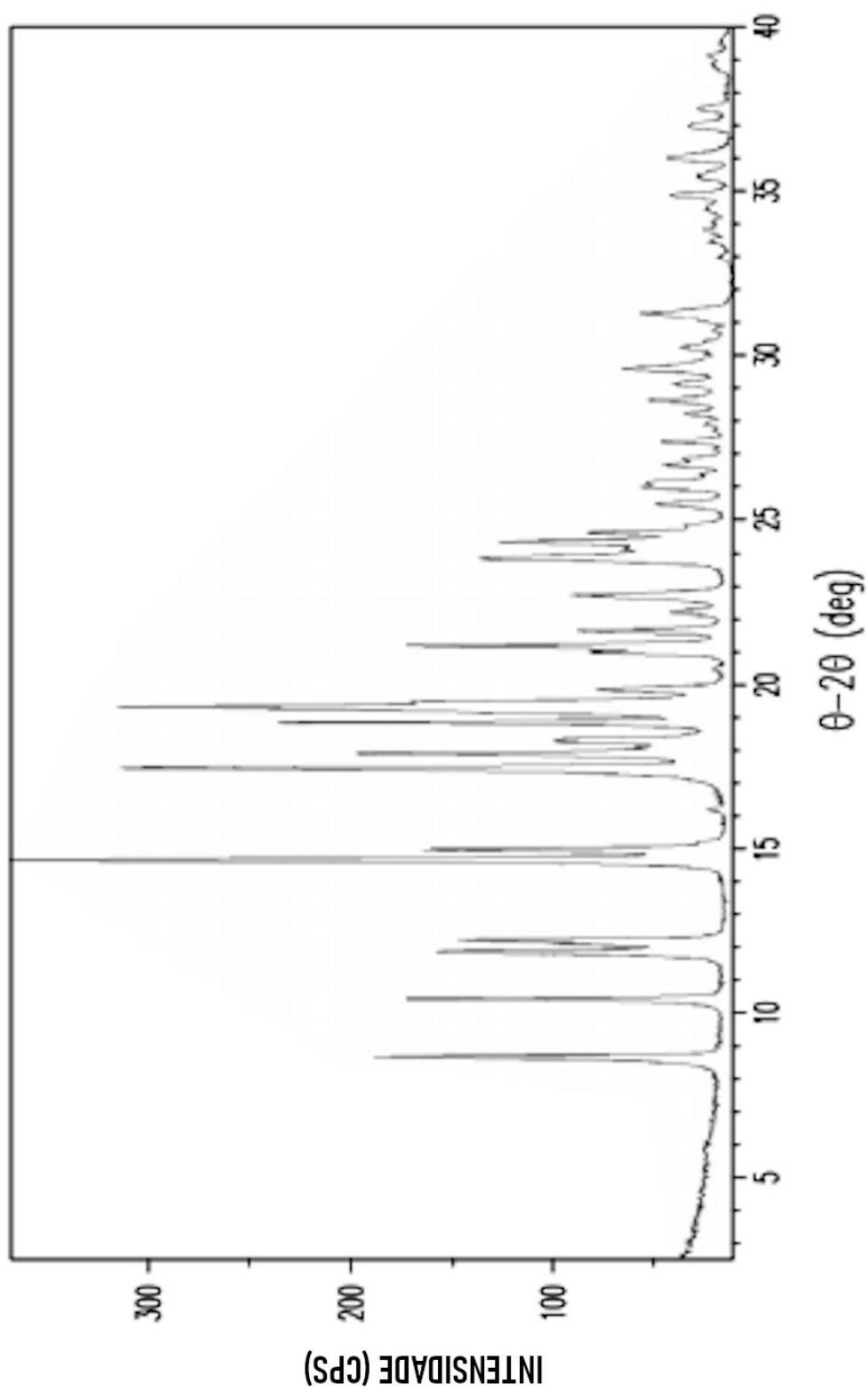
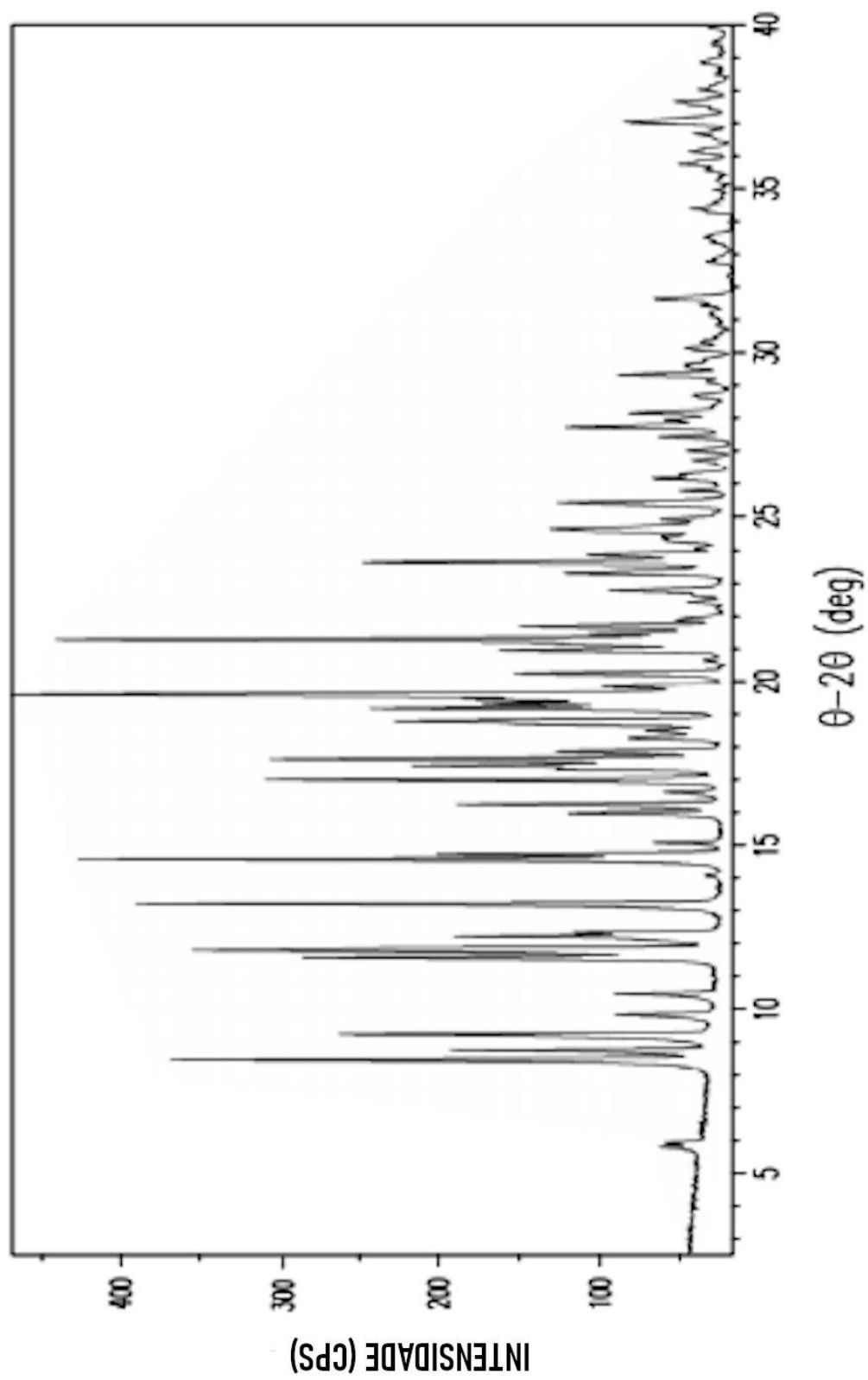


Fig. 16

**Fig. 17**

**Fig. 18**

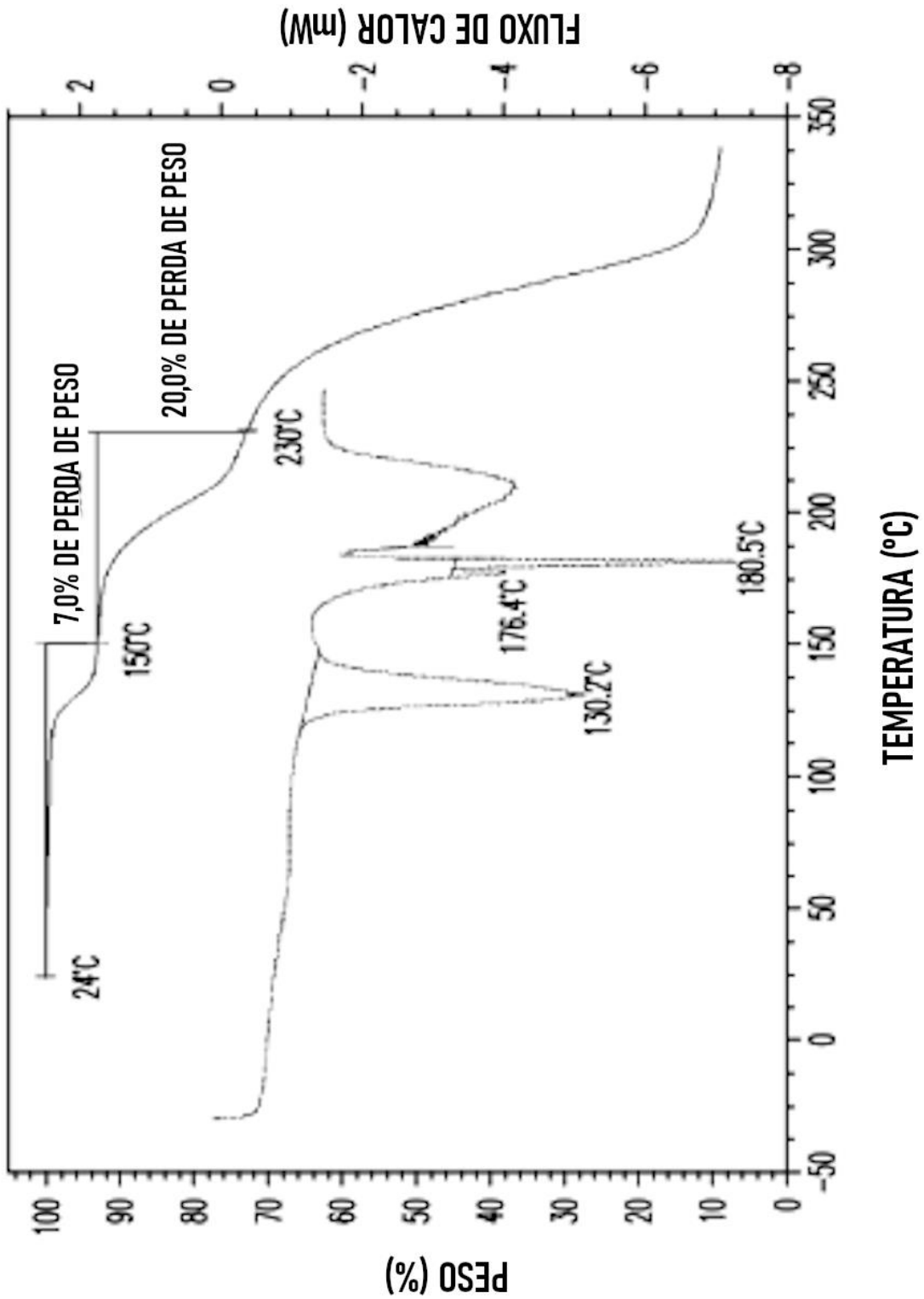


Fig. 19

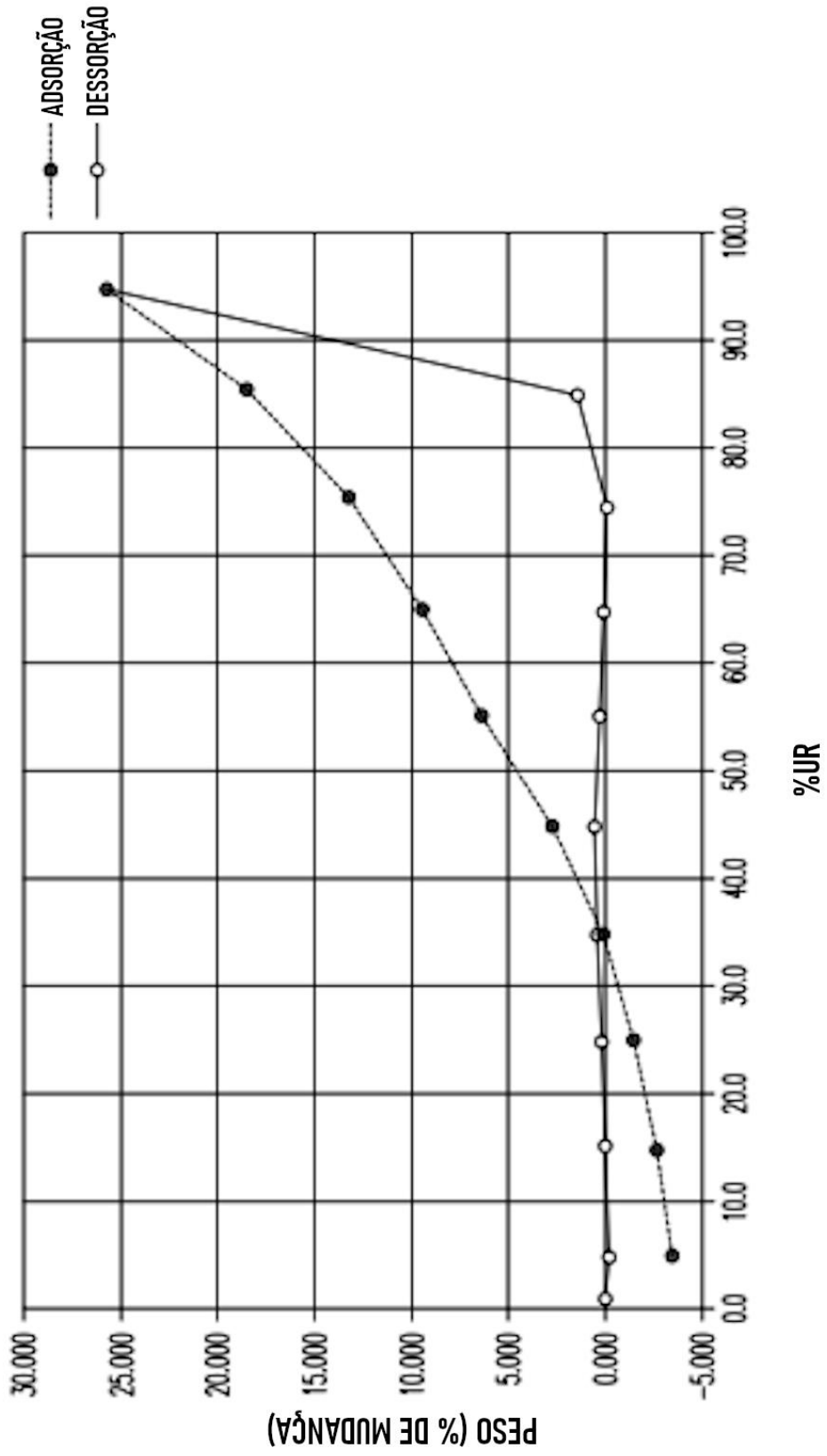
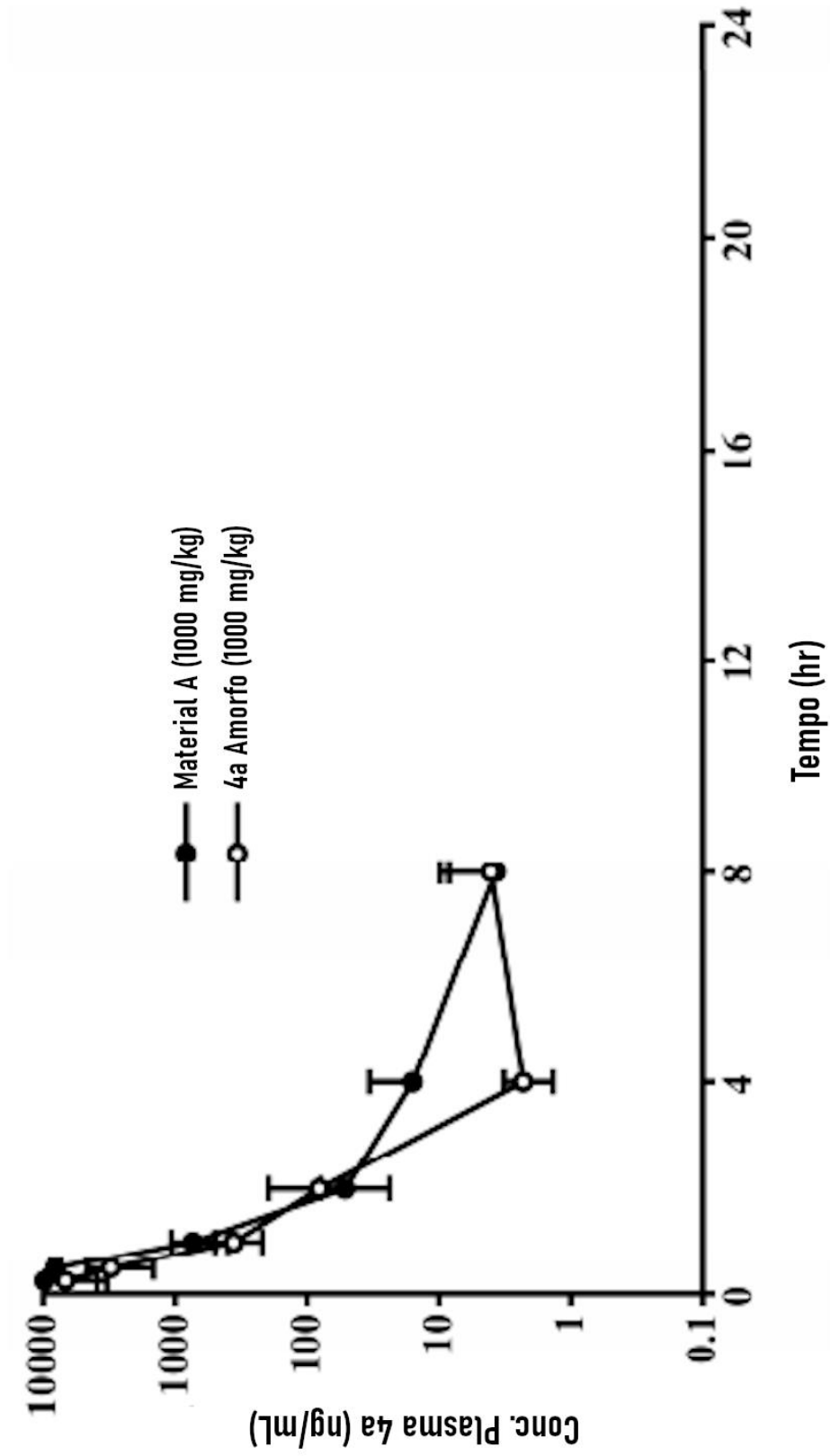


Fig. 20

**Fig. 21**

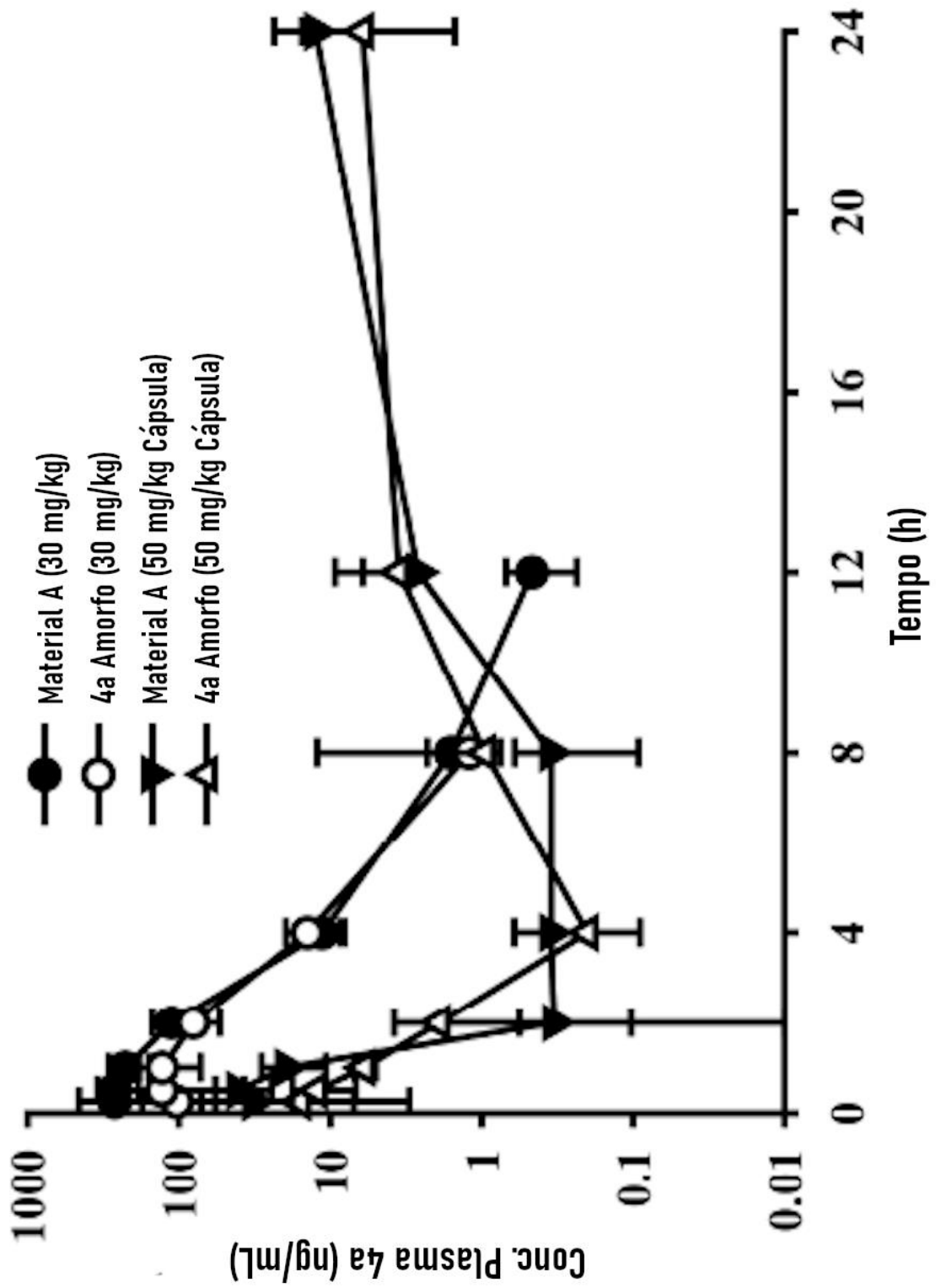
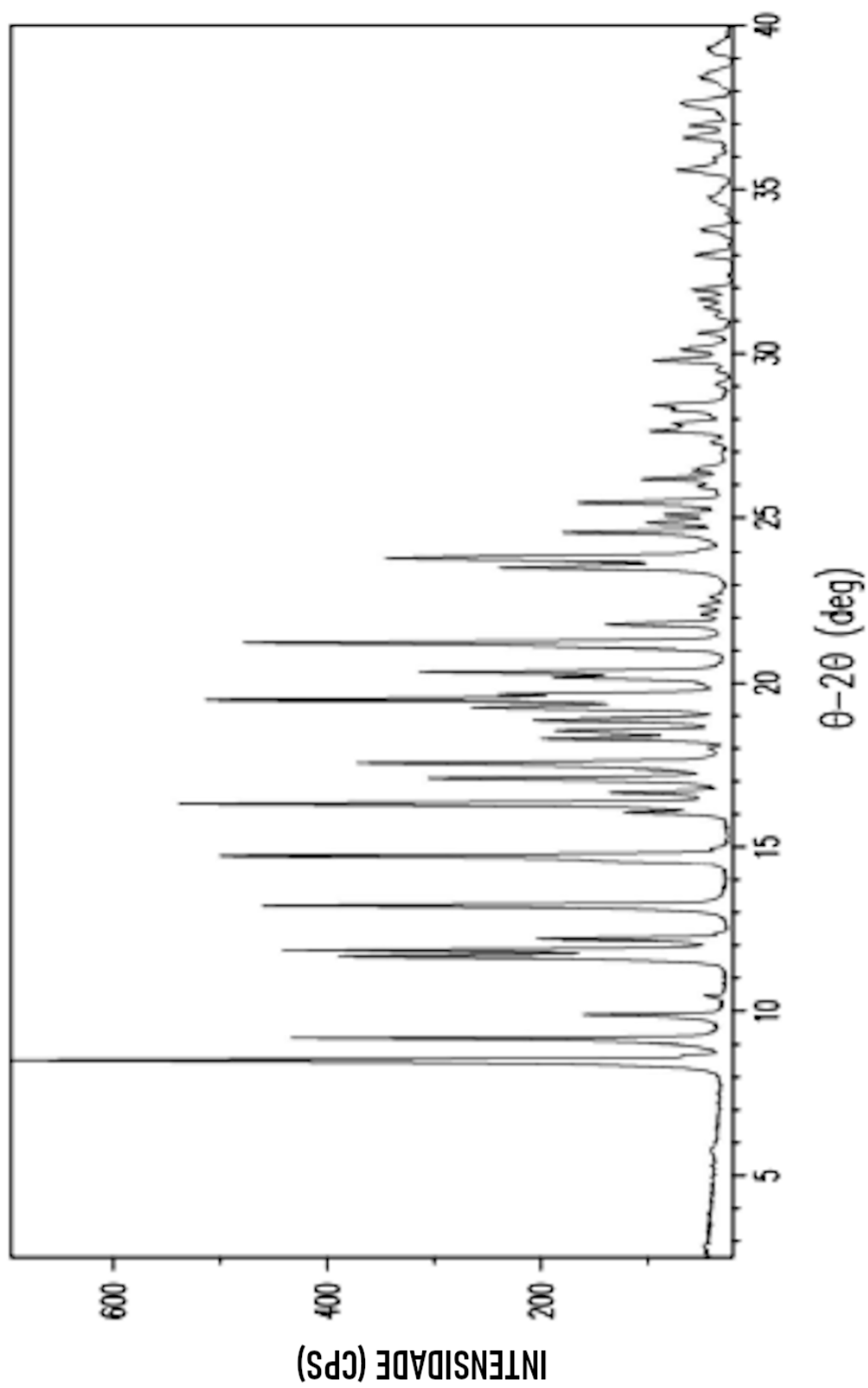


Fig. 22

**Fig. 23**

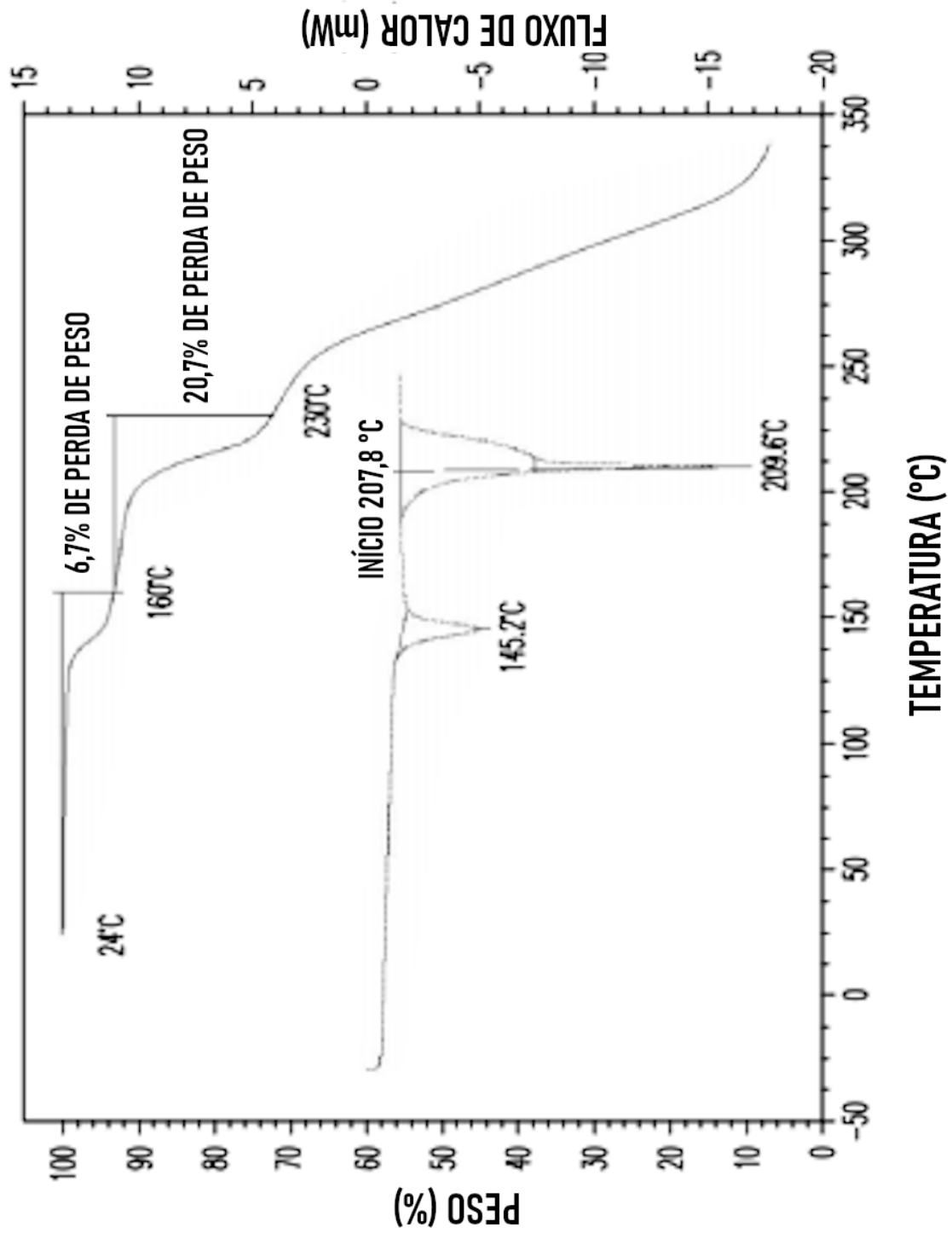


Fig. 24

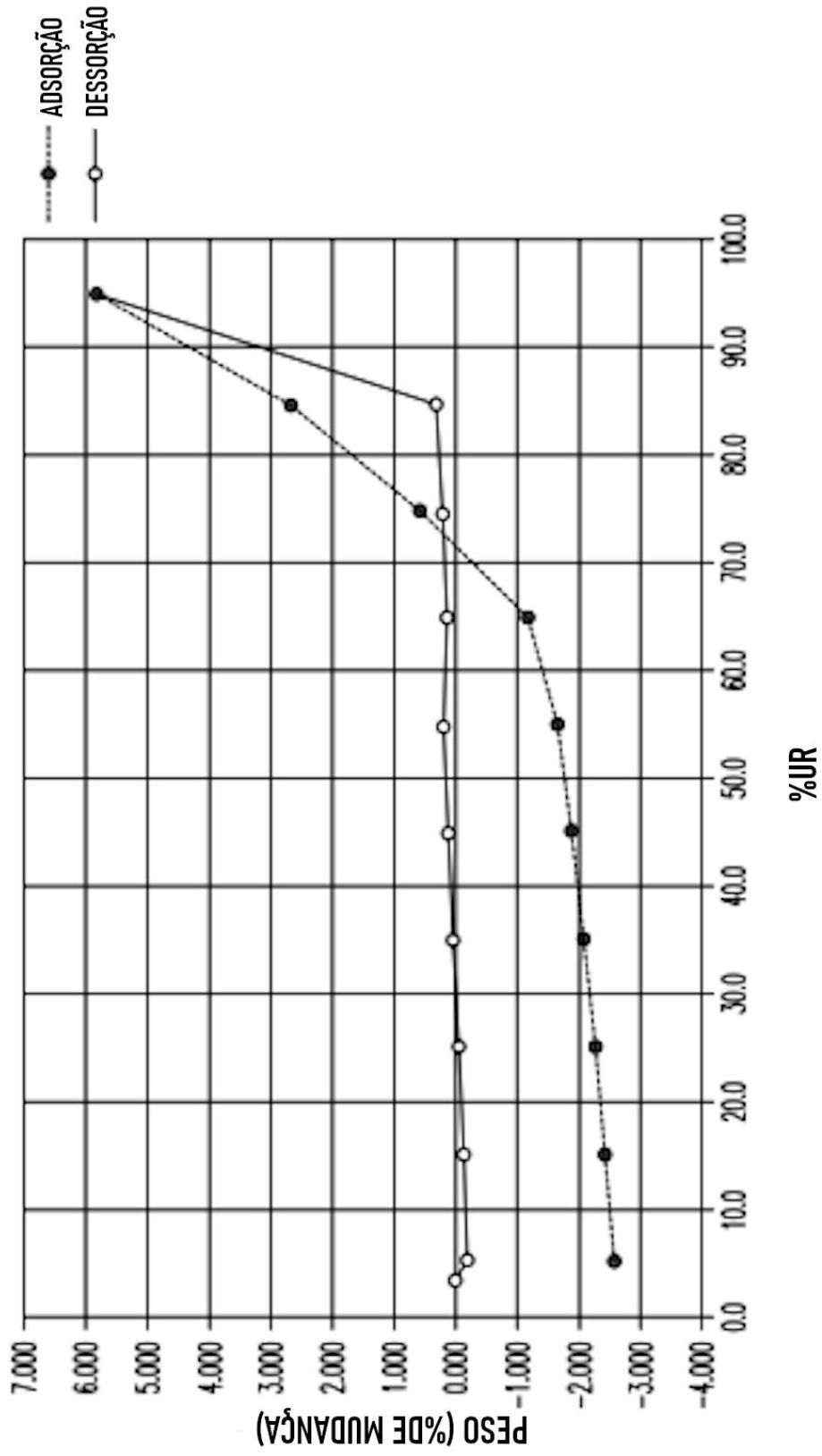


Fig. 25

RESUMO

São reveladas formas cocrystalinas de N-(2-(5-((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-3,4-di-hidroxi-5-metoxi-6,6-dimetiltetra-hidro-2H-pirano-2-il)oxi)-3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-2-il)etil)-acetamida e L-prolina ou D-prolina, suas composições farmacêuticas, processos de fabricação e métodos de uso para tratamento de doenças neurodegenerativas, como neuropatia periférica diabética.