



\* B R 1 1 2 0 1 7 0 2 8 4 9 2 B 1 \*

**República Federativa do Brasil**

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) BR 112017028492-8 B1**

**(22) Data do Depósito:** 01/07/2016

**(45) Data de Concessão:** 26/12/2023

**(54) Título:** CITRATO DE (4-((3R,4R)-3-METOXITETRA-HIDRO-PIRAN-4-ILAMINO)PIPERIDIN-1-IL) (5-METIL-6-(((2R, 6S)-6-(P-TOLIL) TETRA-HIDRO-2H-PIRAN-2-IL)METILAMINO)PIRIMIDIN-4-IL) METANONA, SEU USO E SEU MÉTODO DE PREPARAÇÃO, E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA

**(51) Int.Cl.:** C07D 405/14; A61K 31/506; A61P 29/00.

**(30) Prioridade Unionista:** 02/07/2015 EP 15175066.8.

**(73) Titular(es):** CENTREXION THERAPEUTICS CORPORATION.

**(72) Inventor(es):** MARKUS OSTERMEIER; ULRIKE WERTHMANN; HEINER EBEL; RICCARDO GIOVANNINI; STEFAN SCHEURER; SARA FRATTINI.

**(86) Pedido PCT:** PCT US2016040728 de 01/07/2016

**(87) Publicação PCT:** WO 2017/004537 de 05/01/2017

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 28/12/2017

**(57) Resumo:** CITRATO DE (4-((3R, 4R)-3-METOXITETRAHIDRO-PIRAN-4-ILAMINO)PIPERIDIN-1-IL) (5-METIL-6-(((2R, 6S)-6-(P-TOLIL)TETRA-HIDRO-2H-PIRAN-2-IL)METILAMINO)PIRIMIDIN-4-IL) METANONA. A presente invenção refere-se a um sal de uma tetra-hidro-piranilmetilaminopirimidina amina, tal como o sal de citrato de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidropirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S) -6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona, composições farmacêuticas contendo o mesmo, processos para a preparação do mesmo e métodos de tratamento com medicação usando o mesmo.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para  
**"CITRATO DE (4-((3R,4R)-3-METOXITETRA-HIDRO-PIRAN-4-ILAMINO)PIPERIDIN-1-IL)(5-METIL-6-(((2R,6S)-6-(P-TOLIL)TETRA-HIDRO-2H-PIRAN-2-IL)METILAMINO)PIRIMIDIN-4-IL)METANONA, SEU USO E SEU MÉTODO DE PREPARAÇÃO, E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA".**

REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

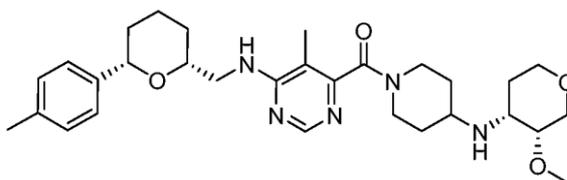
[0001] Este pedido reivindica o benefício e a prioridade do Pedido de Patente Nº de Série EP 15175066.8, depositado em 2 de julho de 2015, cujo conteúdo está aqui incorporado por referência.

CAMPO DE INVENÇÃO

[0002] A presente invenção fornece o sal de citrato de (4-((3R,4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona e a um processo para a sua fabricação. A presente invenção da mesma forma fornece o mesmo sal de citrato para uso no tratamento de condições médicas, tais como dor musculoesquelética leve a moderada, aguda e crônica, aguda e crônica, dor lombar, dor lombar crônica, dor relacionada à artrite reumatoide, dor no ombro, dor dental, sinais e sintomas de osteoartrite, osteoartrite do joelho, osteoartrite do quadril, osteoartrite da mão, dor associada à osteoartrite, dor de câncer, polineuropatia diabética, dor visceral, dor aguda, nefropatia diabética, dor neuropática, bem como a uma composição farmacêutica compreendendo o mesmo sal.

ANTECEDENTE

[0003] O documento WO 2011/073154 descreve uma série de tetra-hidropiranyl-metil-amino-(hetero)aryl-amidas sem divulgar qualquer forma de sal ou cristal específica dos compostos aqui exemplificados. Entre outros, WO 2011/073154 descreve o composto I



[0004] Os compostos descritos em WO 2011/073154 são potentes antagonistas de CCR2. No entanto, para provar ser desenvolvível para uso como fármaco em um ser humano, uma substância de fármaco e sua forma sólida devem, além de propriedades farmacocinéticas e farmacológicas *in vitro* e *in vivo* e perfil de segurança, cumprir uma série de critérios em relação aos requisitos de química, fabricação e controles (CMC), tais como características de formas sólidas, pureza, tempos de secagem, filtrabilidade, estabilidade, estabilidade térmica, higroscopicidade, reprodutibilidade e outras propriedades físico-químicas, incluindo solubilidade e taxa de dissolução intrínseca.

[0005] Um dos maiores desafios no decurso do desenvolvimento de um produto farmacológico para uso médico em seres humanos é identificar uma substância de fármaco que seja potente, eficaz, atende aos requisitos de segurança e, simultaneamente, possui uma forma sólida adequada ao desenvolvimento de fármacos humanos, ou seja, cumprindo todos os critérios acima mencionados cumulativamente. Isso ocorre porque toda e qualquer forma sólida, sal e sua forma polimórfica possuem propriedades físico-químicas e farmacocinéticas que são tão imprevisíveis quanto inesperadas.

[0006] Além disso, devido à natureza imprevisível e inesperada das formas sólidas, de sal e polimórficas, não há orientação genérica nem específica para a pessoa versada de como desenhar uma forma sólida com as características desejadas. Portanto, pesquisa e experimentação extensa e criativa é essencial para chegar à forma sólida específica de uma substância de fármaco selecionada que atende a todos os requisitos. A otimização de um parâmetro crucial geralmente resulta na deterioração de outro ou outro(s) parâmetro(s).

## SUMÁRIO

[0007] O problema técnico objetivo subjacente à presente invenção é fornecer uma substância de fármaco com atividade antagonista de CCR2 que é desenvolvível para uso como um fármaco em seres humanos, isto é, onde:

a) a substância de fármaco é caracterizada por alta potência farmacológica, eficácia, farmacocinéticas *in vitro* e *in vivo* e propriedades de segurança necessárias; e

b) a substância de fármaco e a sua forma sólida cumprem uma série de critérios em relação aos requisitos de química, fabricação e controles (CMC), tais como características de forma sólida, pureza, tempos de secagem, filtrabilidade, estabilidade, estabilidade térmica, higroscopicidade, reprodutibilidade e outras propriedades físico-químicas, incluindo solubilidade e taxa de dissolução intrínseca.

[0008] O Composto I foi surpreendentemente constatado cumprir a maioria dos critérios acima mencionados necessários para uso como medicamento em humanos conforme demonstrado (ver dados biológicos abaixo). Estes parâmetros incluem a ligação à proteína plasmática (relevante para farmacocinéticas e farmacodinâmicas), estabilidade metabólica *in vitro* (relevante para farmacocinéticas), farmacocinéticas e propriedades de segurança (hERG, relevante para a segurança cardiovascular e fosfolipidose induzida por fármaco).

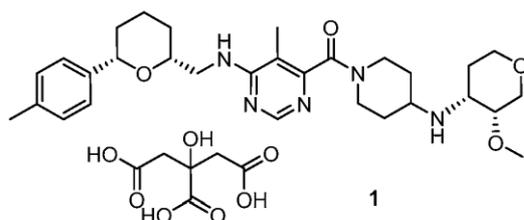
[0009] No entanto, a base livre do composto I, no entanto, revelou-se um material amorfo que estava em estado metaestável e, portanto, sujeito à metamorfose. Não foi adequado como uma substância de fármaco para o desenvolvimento porque não cumpria o requisito de poder ser fabricado reproduzivelmente.

[00010] As tentativas de obter o composto I em forma cristalina a partir de soluções em todos os solventes geralmente usados tais como etanol, etanol/água, 2-propanol, 2-propanol/água, acetona, acetato de

etila, 2-butanona ou tetra-hidrofurano falharam. Tais tentativas para obter o composto **1** em forma cristalina a partir de soluções em todos os solventes geralmente usados tais como etanol, etanol/água, 2-propanol, 2-propanol/água, acetona, acetato de etila, 2-butanona ou tetra-hidrofurano produziu apenas material amorfo. Devido a estas falhas, formas de sal do composto **1** com vários ácidos foram investigadas.

[00011] Para garantir a reprodutibilidade das propriedades físico-químicas no processo de fabricação farmacêutica, a substância de fármaco deve ser invariavelmente obtida em uma modificação cristalina bem definida. Quando uma forma cristalina de uma substância de fármaco ou seu sal existe em diferentes modificações polimórficas (polimorfismo), a conversão espontânea de uma forma polimórfica em outra pode ocorrer. Essa interconversão espontânea não pode ser tolerada e deve ser evitada por todos os meios. Portanto, é essencial para garantir a reprodutibilidade do processo de fabricação farmacêutica para identificar um sal de uma substância de fármaco que existe apenas em uma forma cristalina ou que pelo menos seja caracterizada por uma tendência reduzida em relação ao polimorfismo.

[00012] De acordo com a presente invenção, o problema técnico descrito acima foi resolvido pela experimentação e inovação que resultaram na identificação do composto específico sal de citrato **1** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-pirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona



[00013] O sal de citrato **1** é cristalino, isto é , definido por uma modificação de cristal específica, permitindo assim obter a substância

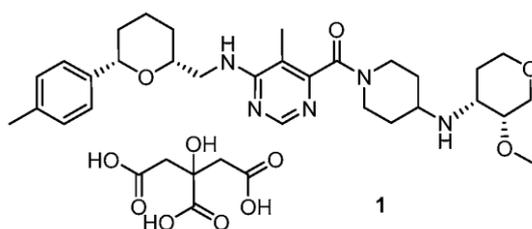
de fármaco com alta pureza e alta estabilidade reproduzível.

[00014] Vários sais formam-se do composto I, quando preparados e analisados. Por exemplo, as formas cristalinas do sal de citrato, bromidrato, cloridrato, esilato e metanossulfonato do composto I foram obtidas por cristalização. A análise destas formas de sal revelou inesperadamente que os sais de citrato, esilato e metanossulfonato do composto I apresentavam apenas uma forma polimórfica. Isso está em contraste com os sais de bromidrato e cloridrato do composto I, que foram obtidos em diferentes modificações polimórficas.

[00015] Outro parâmetro-chave de uma substância de fármaco é a higroscopicidade. A absorção de água de um sal de uma substância de fármaco por adsorção durante a fabricação leva a uma quantidade reduzida da substância de fármaco no fármaco e, portanto, a uma eficácia reduzida. Além disso, a absorção de água de um sal de uma substância de fármaco ou de um produto de fármaco pode levar à decomposição da substância de fármaco. Portanto, é essencial identificar uma substância de fármaco ou seu sal que não seja hidrocópico ou tenha apenas um caráter higroscópico muito pequeno.

[00016] Imediatamente, a forma cristalina do sal de citrato **1** do composto I é caracterizada por uma absorção de água baixa e reversível em uma umidade relativa de até 90% (2,6% de absorção de água com 80% de umidade relativa e 3,4% de absorção de água com 90% de umidade relativa). Pelo contrário, as formas cristalinas do bromidrato, cloridrato, esilato e metanossulfonato correspondentes do composto I absorvem facilmente quantidades significativas de água com uma umidade relativa tão baixa quanto 80% e tornam-se irreversivelmente deliquescentes.

[00017] De acordo, um aspecto da invenção fornece o composto apresentando a seguinte Fórmula 1:



[00018] Em certas modalidades, o composto é fornecido na forma cristalina.

[00019] Outro aspecto da invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo (i) um composto aqui descrito, tal como o sal de citrato **1** e (ii) um ou mais veículos e/ou diluentes. Em certas modalidades, a composição farmacêutica é formulada para administração oral.

[00020] Outro aspecto da invenção fornece o sal de citrato **1** ou uma composição farmacêutica compreendendo o referido sal de citrato **1** para uso no tratamento de uma condição médica. As condições médicas exemplares incluem, por exemplo, o tratamento da dor (por exemplo, dor inflamatória ou dor neuropática) e osteoartrite.

[00021] Outro aspecto da invenção fornece um método de tratamento de uma condição médica em um paciente, em que o método compreende a administração a um paciente com necessidade, uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto aqui descrito, tal como o sal de citrato **1**, para tratar a condição médica. As condições médicas exemplares incluem, por exemplo, dor (por exemplo, dor inflamatória ou dor neuropática) e osteoartrite.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS.

[00022] A **Figura 1** mostra o difratograma em pó de raios-X da base **amorfa** do composto (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00023] A **Figura 2** mostra o difratograma em pó de raios X de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5 -metil-6-

((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona.

[00024] A **Figura 3** mostra a termoanálise e a determinação do ponto de fusão (DSC/TG) de **citrato de** (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00025] A **Figura 4** mostra as isotermas de adsorção de **citrato de** (4-((3*R*,4*R*)-3- m4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6 -4-il)metanona.

[00026] A **Figura 5** mostra o difratograma em pó de raios X de **bromidrato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il) (5 -metil -6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00027] A **Figura 6** mostra a termoanálise e a determinação do ponto de fusão (DSC/TG) de **bromidrato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilainino)pirimidin-4-il)metanona.

[00028] A **Figura 7** mostra as isotermas de adsorção de **bromidrato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro- piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin -4-il)metanona.

[00029] A **Figura 8** mostra o difratograma em pó de raios X de **cloridrato** de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00030] A **Figura 9** mostra a termoanálise e determinação do ponto de fusão (DSC/TG) de **cloridrato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H -piran-2-il)metilainino)pirimidina -4-il)metanona.

[00031] A **Figura 10** mostra as isotermas de adsorção de **cloridrato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-

1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin -4-il)metanona.

[00032] A **Figura 11** mostra o difratograma em pó de raios X de **esilato** de (4-(3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00033] A **Figura 12** mostra a termoanálise e a determinação do ponto de fusão (DSC/TG) de **esilato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4 -il)metanona.

[00034] A **Figura 13** mostra as isotermas de adsorção de **esilato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-pirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino) pirimidin-4-il)metanona.

[00035] A **Figura 14** mostra o difratograma em pó de raios X de **metanossulfonato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino) piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2 -il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00036] A **Figura 15** mostra a termoanálise e a determinação do ponto de fusão (DSC/TG) do **metanossulfonato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-pirano-4 -ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*) -6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00037] A **Figura 16** mostra as isotermas de adsorção do **metanossulfonato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino) piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[00038] A **Figura 17** mostra o espectro de FT-RAMAN de **citrato** de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil -6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidina-4-il)metanona.

[00039] A **Figura 18** mostra o espectro de FT-RAMAN de **esilato** de 4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA

[00040] A invenção fornece formas de sal de 4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona, composições farmacêuticas contendo tais formas de sal, métodos para a preparação de formas de sal e métodos terapêuticos para o uso de tais formas de sal, tais como no tratamento de dor e outras condições médicas. Como aqui descrito, o sal de citrato de 4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona foi descrito surpreendentemente para fornecer múltiplos benefícios inesperados sobre outras formas de sal de 4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro- piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4- il)metanona. Por exemplo, o sal de citrato de 4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona apresentou uma absorção de água baixa e reversível a uma umidade relativa até 90%, o que está em contraste com as formas de sal do bromidrato, cloridrato, esilato e metanossulfonato correspondentes que absorvem facilmente quantidades significativas de água com uma umidade relativa tão baixa quanto 80% e se tornam irreversivelmente deliquescentes. Além disso ainda, o sal de citrato de 4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona foi constatado apresentar inesperadamente apenas uma forma cristalina polimórfica, o que está

em contraste com os correspondentes sais cristalinos formados a partir de ácido bromídrico e ácido clorídrico que exibiram diferentes modificações polimórficas. Por conseguinte, o sal de citrato de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona é surpreendentemente superior para o desenvolvimento como produto farmacêutico devido às múltiplas propriedades inesperadas que são benéficas.

[00041] Vários aspectos e modalidades da invenção são ainda descritos abaixo em seções. Os aspectos e modalidades da invenção descritos em uma seção particular não devem ser limitados a qualquer seção particular.

[00042] Para facilitar uma compreensão da presente invenção, uma série de termos e frases é definida abaixo.

[00043] Os termos "indivíduo" e "paciente" referem-se aos organismos a serem tratados pelos métodos da presente invenção. Tais organismos incluem mamíferos (por exemplo, murinos, símios, equinos, bovinos, porcinos, caninos, felinos e similares), e ainda mais preferencialmente são humanos.

[00044] O termo "quantidade efetiva" se refere à quantidade de um composto suficiente para realizar os efeitos benéficos ou resultados desejados. Uma quantidade efetiva pode ser administrada em uma ou mais administrações, aplicações ou dosagens e não se destina a ser limitada a uma formulação particular ou a uma rotina de administração.

[00045] O termo "tratando" inclui qualquer efeito, por exemplo, diminuição, redução, modulação, melhora ou eliminação, o que resulta na melhoria da condição, doença, transtorno e similares, ou melhora do seu sintoma.

[00046] Ao longo da descrição, onde as composições são descritas como tendo, incluindo ou compreendendo componentes específicos,

ou onde processos e métodos são descritos como tendo, incluindo ou compreendendo as etapas específicas, é considerado que, além disso, existem composições da presente invenção que consistem essencialmente, ou consistem, nos componentes citados, e que existem processos e métodos de acordo com a presente invenção que consistem essencialmente, ou consistem nas etapas de processamento citadas.

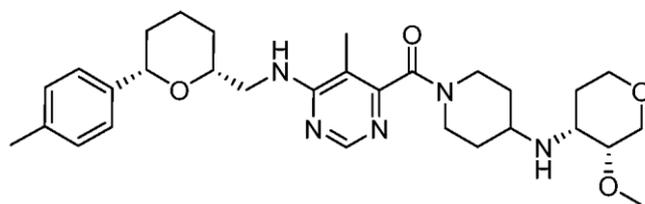
I. Formas de sal de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino) piperidin- 1-il)(5-metil-6-((2R, 6.S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il) metilamino)pirimidin-4-il)metanona

[00047] Um aspecto da invenção fornece formas de sal de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona. Conforme descrito abaixo e nos exemplos de trabalho, esta descrição descreve formas de sal de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona preparada por reação de 4-((3R,4R) 3-metoxitetra-hidro -piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona com um ácido selecionado de ácido cítrico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido etanossulfônico e ácido metanossulfônico.

[00048] O sal de citrato de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-pirano-4-ilamino)piperidina-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran -2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona foi surpreendentemente constatado fornecer múltiplos benefícios inesperados sobre outras formas de sal de 4-((3R,4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona. Por exemplo, o sal de citrato de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-

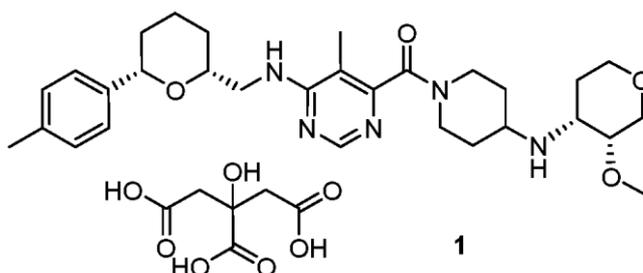
ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona foi encontrado para exibir uma absorção em água baixa e reversível a uma umidade relativa até 90%, o que está em contraste com as formas de sal dos hidrobrometo, cloridrato, esilato e metanossulfonato correspondentes que absorvem facilmente quantidades significativas de água com uma umidade relativa tão baixa quanto 80% e tornam-se irreversivelmente deliquescentes. Além disso ainda, o sal de citrato de 4-(((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona foi inesperadamente encontrado para exibir apenas uma forma cristalina polimórfica, o que está em contraste com os sais cristalinos correspondentes formados a partir de ácido bromídrico e ácido clorídrico que exibiram diferentes modificações polimórficas. Por conseguinte, o sal de citrato de 4-(((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona é surpreendentemente superior para o desenvolvimento como farmacêutico devido às múltiplas propriedades inesperadas que são benéficas.

[00049] De acordo com um aspecto da invenção, o sal de citrato do composto I:



I

tendo a Fórmula



[00050] Em certas modalidades, o referido sal de citrato está em forma cristalina.

[00051] Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada por mostrar um padrão de difração de pó de raios X compreendendo picos nos seguintes valores de 2-teta medidos usando radiação de CuK $\alpha$ 1 monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40kV, 40mA: 19,1° e 22,4°. Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó de raios X compreende ainda um pico a 12,2°. Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó de raios X compreende ainda um pico a 13,7°. Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó de raios X compreende ainda um pico a 14,6°. Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó de raios X compreende ainda um pico a 18,7°. Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó de raios X ainda compreende um pico a 24,6°. Em certas modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo fato de que o padrão de difração de pó de raios X compreende ainda um pico a 26,3°.

[00052] Em certas modalidades, a forma cristalina exibe um padrão de difração de pó de raios X que compreende picos nos seguintes valores de 2-teta medidos usando a radiação de CuK $\alpha$ 1 monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40kV, 40mA: 12,2  $\pm$  0,2, 13,7  $\pm$  0,2, 14,6  $\pm$  0,2, 19,1  $\pm$  0,2 e 22,4  $\pm$  0,2. Em certas outras modalidades, a

forma cristalina exibe um padrão de difração de pó de raios X que compreende picos nos seguintes valores de 2 teta medidos usando a radiação de CuK $\alpha$ 1 monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40kV, 40mA:  $12,2 \pm 0,2$ ,  $13,7 \pm 0,2$ ,  $14,6 \pm 0,2$ ,  $18,7 \pm 0,2$ ,  $19,1 \pm 0,2$ ,  $22,4 \pm 0,2$ ,  $24,6 \pm 0,2$  e  $26,3 \pm 0,2$ .

[00053] Em certas modalidades, a intensidade relativa do pico nos referidos ângulos de difração 2-teta é pelo menos 10%. Em certas outras modalidades, a intensidade relativa do pico nos referidos ângulos de difração 2-teta é pelo menos 15%.

[00054] Em certas modalidades, a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X que é substancialmente como mostrado na Figura 2.

[00055] Em certos modalidades, a forma cristalina é caracterizada pelo seguinte padrão de difração de pó de raios X, expresso em termos de ângulo de difração  $2\theta$ , distâncias interplanares  $d$  e intensidade relativa (expressa em porcentagem em relação ao pico mais intenso):

<b>2-teta[°]</b>	<b>valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/I<sub>o</sub> [%]</b>
4,36	20,24	17
12,17	7,27	41
12,51	7,07	6
13,13	6,74	7
13,66	6,48	39
14,20	6,23	14
14,60	6,06	32
15,03	5,89	5
15,25	5,81	4
15,97	5,54	11
16,51	5,37	13
17,05	5,20	13
17,54	5,05	4
17,88	4,96	5

<b>2-teta[°]</b>	<b>valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/I<sub>o</sub> [%]</b>
18,65	4,75	22
19,05	4,66	100
19,68	4,51	11
20,42	4,35	6
20,84	4,26	4
21,25	4,18	3
21,90	4,06	5
22,42	3,96	92
23,19	3,83	9
23,70	3,75	16
24,34	3,65	4
24,56	3,62	23
24,89	3,57	16
25,20	3,53	7
25,36	3,51	7
25,67	3,47	6
26,26	3,39	23
26,59	3,35	12
27,51	3,24	6
27,71	3,22	6
28,01	3,18	7
28,23	3,16	5
28,57	3,12	3
29,44	3,03	12
30,15	2,96	4

[00056] A forma cristalina pode ser ainda caracterizada de acordo com o seu espectro de Raman. Consequentemente, em certas modalidades, a forma cristalina apresenta um espectro de Raman compreendendo picos em qualquer uma ou todas as seguintes mudanças de Raman expressas em números de onda em  $\text{cm}^{-1}$ : 1718, 1242, 731, 662, 553.

[00057] A forma cristalina pode ser ainda caracterizada de acordo com o seu ponto de fusão. Por conseguinte, em certas modalidades, a

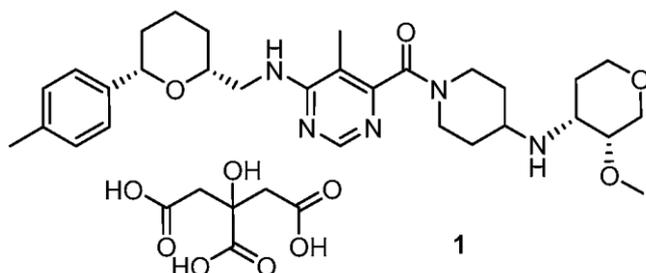
forma cristalina apresenta um ponto de fusão de  $212 \pm 5^\circ\text{C}$ .

[00058] A forma cristalina pode ser ainda caracterizada de acordo com a sua curva de calorimetria de varredura diferencial. Consequentemente, em certas modalidades, a forma cristalina apresenta uma curva de calorimetria de varredura diferencial substancialmente a mesma como mostrado na Figura 3.

[00059] Desejavelmente, a relação molar de ácido cítrico para 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il) (5 -metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona é cerca de 1:1 em um sal de citrato de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil) tetra-hidro-2H- piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona. Em certas modalidades, a relação molar de ácido cítrico para 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil) tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona está na faixa de 1,2: 1 para 1:1,2 em um sal de citrato de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil) tetra-hidro-2H-piran-2-il) metilamino)pirimidin-4-il)metanona. Em certas outras modalidades, a relação molar de ácido cítrico para 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona é 1:1 em um sal de citrato de 4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro- piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4- il)metanona.

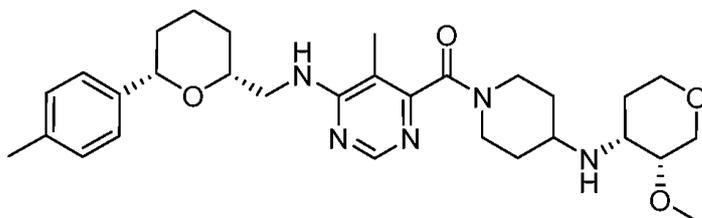
[00060] O composto (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-pirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il) metilamino)pirimidin-4-il)metanona (I) é especificamente descrita em WO 2011/073154, bem como um processo para a sua preparação. Para detalhes sobre um processo para fabricar este composto, faz-se assim referência ao WO 2011/073154 (exemplo 30, página 150).

[00061] Métodos para a preparação do sal de citrato **1** são da mesma forma fornecidos. Por exemplo, um aspecto da invenção fornece um método para a preparação do composto **1**



compreendendo as seguintes etapas:

a) adição de ácido cítrico a uma solução do composto **I**



em um solvente orgânico

b) isolamento do sal resultante **1** na forma pura.

[00062] Em certas modalidades, o método é ainda caracterizado pelo fato do solvente orgânico na etapa a) ser selecionado a partir do grupo que consiste em acetato de etilo, isopropanol e uma mistura de isopropanol e água.

## II. Aplicações Terapêuticas

[00063] Os compostos tais como aqueles descritos na Seção I (por exemplo, sal de citrato **1**) e composições farmacêuticas aqui descritas são úteis como um medicamento. O medicamento pode ser para o tratamento de um transtorno em que a inibição da atividade de CCR2 fornece um benefício terapêutico.

[00064] O receptor de Quimiocina CCR2 foi relatado como sendo um importante mediador de doenças e transtornos inflamatórios e imunorreguladores bem como patologias autoimunes tais como artrite reumatoide e aterosclerose. Veja, por exemplo, WO 2010/070032.

Assim, os agentes que modulam o receptor de quimioquina CCR2 são úteis no tratamento de tais transtornos e doenças.

[00065] Em geral, é amplamente aceito que numerosas condições e doenças envolvam os processos inflamatórios. Tais inflamações são criticamente alvejadas e/ou promovidas pela atividade de macrófagos, que são formados por diferenciação fora dos monócitos. Verificou-se ainda que os monócitos são caracterizados por, por exemplo, uma expressão elevada de CCR2 residente na membrana, enquanto que a expressão de CCR2 em macrófagos é menor. O CCR2 é um regulador crítico do tráfego de monócitos, que pode ser descrito como o movimento dos monócitos em direção a uma inflamação ao longo de um gradiente de proteínas quimioatrativas de monócitos (MCP-1, MCP-2, MCP-3, MCP-4).

[00066] Portanto, para reduzir a inflamação induzida por macrófagos, seria desejável bloquear o CCR2 de monócito por um antagonista, de modo que os monócitos possam ser menos alvejados para se moverem para uma área de inflamação para conversão em macrófagos.

[00067] De acordo com um aspecto da invenção, é fornecido um método de tratamento de uma condição relacionada ao CCR2 em um paciente, em que o método compreende administrar a um paciente em necessidade do mesmo uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto aqui descrito (por exemplo, o sal de citrato **1** ou uma forma cristalina do mesmo) para tratar a condição. Em certas modalidades, a condição relacionada ao CCR2 é uma condição relacionada ao MCP-1.

[00068] Em certas modalidades, a condição relacionada ao CCR2 é a dor. Tipos exemplares de dor considerados para o tratamento incluem, por exemplo, dor inflamatória, dor neuropática e dor visceral. Em certas modalidades, a dor é dor crônica. Em certas modalidades, a

dor é dor devido à osteoartrite. Outros tipos exemplares de dor considerados para o tratamento incluem, por exemplo, dor lombar, dor no quadril, dor nas pernas, neuralgia não herpética, neuralgia pós-herpética, neuropatia diabética, dor induzida por lesão nervosa, dor neuropática relacionada à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), traumatismo craniano, toxina e lesões no nervo causadas por quimioterapia, dor do membro fantasma, mononeuropatia traumática dolorosa, polineuropatia dolorosa, síndrome da dor talâmica, dor pós-acidente vascular cerebral, lesão do sistema nervoso central, dor pós-cirúrgica, síndrome do túnel do carpo, neuralgia do trigêmeo, síndrome pós-mastectomia, síndrome pós-coronariografia, dor de coto, dor de movimento repetitivo, hiperalgesia associada à dor neuropática e alodinia, alcoolismo e outras dores induzidas por fármacos.

[00069] Em certas outras modalidades, a condição relacionada ao CCR2 é uma doença relacionada à imunidade. As doenças relacionadas à imunidade exemplares incluem, por exemplo, artrite reumatoide, artrite reumatoide juvenil, artrite reumatoide juvenil de início sistêmico, artrite psoriática, espondilite anquilosante, úlcera gástrica, artropatias soronegativas, osteoartrite, doença intestinal inflamatória e colite ulcerativa.

[00070] Em certas outras modalidades, a condição relacionada ao CCR2 é uma condição fibrótica. Condições fibróticas exemplares incluem, por exemplo, fibrose hepática (incluindo, sem limitação, cirrose induzida por álcool, cirrose induzida por vírus, hepatite induzida autoimune); fibrose pulmonar (incluindo, porém, não limitada à esclerodermia, fibrose pulmonar idiopática); fibrose renal (incluindo, porém, não limitada à esclerodermia, nefrite diabética, nefrite glomerular, nefrite por lúpus); fibrose dérmica (incluindo, porém, não limitada à esclerodermia, cicatrizes hipertróficas e queloides, queimaduras); mielofibrose; neurofibromatose; fibroma; fibrose

intestinal; e adesões fibróticas resultantes de procedimentos cirúrgicos.

[00071] Em certas outras modalidades, a condição relacionada ao CCR2 é um transtorno inflamatório.

[00072] Outro aspecto da invenção fornece um método de tratamento de uma condição selecionada de dor, osteoartrite, nefropatia diabética e polineuropatia diabética, onde o método compreende administrar a um paciente em necessidade do mesmo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto aqui descrito (por exemplo, o sal de citrato **1** ou uma forma cristalina do mesmo) para tratar a condição.

[00073] Em certas modalidades, a condição é dor. Em certas modalidades, a condição é dor inflamatória. Em certas modalidades, a condição é dor crônica. Em certas modalidades, a condição é dor devido à osteoartrite. Em certas modalidades, a condição é dor neuropática ou dor visceral.

[00074] Em certas modalidades, a condição é selecionada a partir do grupo consistindo em dor musculoesquelética leve a moderada, aguda e crônica, dor lombar, dor lombar crônica, dor relacionada à artrite reumatoide, dor no ombro, dor dental, sinais e sintomas de osteoartrite, osteoartrite do joelho, osteoartrite do quadril, osteoartrite da mão, dor associada à osteoartrite, dor de câncer, polineuropatia diabética, dor visceral, dor aguda, nefropatia diabética e dor neuropática. Em certas modalidades, a condição é a dor selecionada de (a) neuralgia do trigêmeo e (b) dor devido à lesão no nervo causada por quimioterapia.

[00075] Em certas modalidades, a condição é a osteoartrite.

[00076] Em certas modalidades, o método compreende administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente efetiva de citrato de sal **1** para tratar a condição.

[00077] Em uma modalidade mais específica, a invenção fornece o uso de um composto aqui descrito para o tratamento de uma doença em que a inibição do receptor CCR2 é benéfica, tais como: (i) dor musculoesquelética leve a moderada, aguda e crônica (dor lombar, dor lombar crônica, dor relacionada à artrite reumatoide, dor no ombro, dor dental); (ii) sinais e sintomas de osteoartrite (osteoartrite do joelho e/ou quadril, osteoartrite da mão, dor associada à osteoartrite); (iii) dor de câncer; (iv) polineuropatia diabética; (v) dor visceral, (vi) dor aguda, (vii) nefropatia diabética; e (viii) dor neuropática.

### III. Composições Farmacêuticas

[00078] Outro aspecto da invenção fornece uma composição farmacêutica compreendendo um composto aqui descrito (por exemplo, sal de citrato 1) juntamente com um ou mais veículos e/ou diluentes inertes. As composições farmacêuticas podem ser formuladas para administração por meio de uma rotina particular, tal como administração oral.

[00079] Em geral, as formas adequadas para administração são, por exemplo, comprimidos, cápsulas, soluções, xaropes, emulsões ou pós ou aerossóis inaláveis. O teor do(s) composto(s) farmacêuticamente eficaz(s) em cada caso deve estar na faixa de 0,1 a 90% em peso, preferivelmente 0,5 a 50% em peso da composição total, isto é, em quantidades que são suficientes para atingir a faixa de dosagem especificada a seguir.

[00080] As preparações podem ser administradas oralmente na forma de um comprimido, como um pó, como um pó em uma cápsula (por exemplo, uma cápsula de gelatina dura), como uma solução ou suspensão. Quando administrada por inalação, a combinação da substância ativa pode ser administrada como um pó, como uma solução aquosa ou aquosa-etanólica ou usando uma formulação de gás propulsor.

[00081] Os comprimidos adequados podem ser obtidos, por exemplo, misturando-se a(s) substância(s) ativa(s) com excipientes conhecidos, por exemplo, diluentes inertes tal como carbonato de cálcio, fosfato de cálcio ou lactose, desintegrantes tal como amido de milho ou ácido algínico, aglutinantes tal como amido ou gelatina, lubrificantes tal como estearato de magnésio ou talco e/ou agentes para retardar a liberação, tal como carboximetil celulose, ftalato de acetato de celulose ou acetato de polivinila. Os comprimidos podem da mesma forma compreender várias camadas. Os comprimidos revestidos podem ser preparados de acordo com o revestimento de núcleos produzidos de forma análoga aos comprimidos com substâncias normalmente usadas para revestimentos de comprimidos, por exemplo, colidona ou goma-laca, goma arábica, talco, dióxido de titânio ou açúcar. Para obter a liberação retardada ou prevenir as incompatibilidades, o núcleo pode da mesma consistir em várias camadas. Similarmente, o revestimento do comprimido pode consistir em um número de camadas para obter a liberação retardada, possivelmente usando os excipientes mencionados acima para os comprimidos.

[00082] Os xaropes contendo as substâncias ativas ou as suas combinações de acordo com a invenção podem conter adicionalmente um adoçante tal como sacarina, ciclamato, glicerol ou açúcar e um realçador de sabor, por exemplo, um sabor tal como a vanilina ou extrato de laranja. Eles podem da mesma forma conter adjuvantes em suspensão ou espessantes tal como carboximetil celulose de sódio, agentes umectantes tal como, por exemplo, produtos de condensação de alcoóis graxos com óxido de etileno ou conservantes tal como *p*-hidroxibenzoatos.

[00083] As cápsulas contendo uma ou mais substâncias ativas ou combinações de substâncias ativas podem, por exemplo, ser

preparadas misturando-se as substâncias ativas com veículos inertes tal como lactose ou sorbitol e empacotando-os em cápsulas de gelatina.

[00084] Os supositórios adequados podem ser preparados, por exemplo, misturando-se com veículos fornecidos para este fim, tais como gorduras neutras ou polietilenoglicol ou os seus derivados.

[00085] Os excipientes que podem ser usados incluem, por exemplo, água, solventes orgânicos farmacologicamente aceitáveis tais como parafinas (por exemplo, frações de petróleo), óleos vegetais (por exemplo, amendoim ou óleo de gergelim), alcoóis mono- ou polifuncionais (por exemplo, etanol ou glicerol), transportadores tais como, por exemplo, pós minerais naturais (por exemplo, caulins, argilas, talco, giz), pós minerais sintéticos (por exemplo, ácido silícico e silicatos altamente dispersos), açúcares (por exemplo, açúcar de cana, lactose e glicose), emulsificantes (por exemplo, lignina, licores de sulfito gasto, metilcelulose, amido e polivilpirrolidona) e lubrificantes (por exemplo, estearato de magnésio, talco, ácido esteárico e laurilsulfato de sódio).

[00086] Para administração oral, os comprimidos podem, claro, conter, além dos veículos acima mencionados, aditivos tais como citrato de sódio, carbonato de cálcio e fosfato de dicálcio juntamente com vários aditivos tal como amido, preferivelmente amido de batata, gelatina e similares. Além disso, lubrificantes tais como estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio e talco podem ser usados ao mesmo tempo para o processo de formação de comprimidos. No caso de suspensões aquosas, as substâncias ativas podem ser combinadas com vários realçadores de sabor ou corantes além dos excipientes acima mencionados.

#### IV. Kits para Uso em Aplicações Médicas

[00087] Outro aspecto da invenção fornece um kit para tratar uma

condição médica. O kit compreende: i) instruções para o tratamento de uma condição médica, tal como dor, osteoartrite, nefropatia diabética ou polineuropatia diabética (por exemplo, dor tal como selecionada de dor musculoesquelética leve a moderada, aguda e crônica, dor lombar, dor lombar crônica, dor relacionada à artrite reumatoide, dor no ombro, dor dental, dor associada à osteoartrite, dor de câncer, dor visceral, dor aguda, nefropatia diabética e dor neuropática); e ii) um composto aqui descrito, tal como o sal de citrato **1**. O kit pode compreender uma ou mais formas de dosagem unitária contendo uma quantidade de sal de citrato **1** que é efetiva para tratar a referida condição médica, tal como a dor.

### EXEMPLOS

[00088] A invenção agora sendo geralmente descrita, será mais facilmente compreendida por referência aos seguintes exemplos, que são incluídos meramente para fins de ilustração de certos aspectos e modalidades da presente invenção e não se destinam a limitar a invenção.

### Listas de abreviaturas

AUC	área sob a curva de concentração de plasma-tempo
BR	bromidrato (sal com ácido bromídrico)
BS	base (nenhum sal definido)
C <sub>max</sub>	concentração de pico
CI	citrato (sal com ácido cítrico)
CL	depuração
CL	cloridrato (sal com ácido clorídrico)
ES	esilato (sal com um mol de ácido etanossulfônico)
d.b.	(em) base seca
DSC	Calorímetro de Varredura Diferencial
DMSO	dimetil sulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	DMSO deuterado

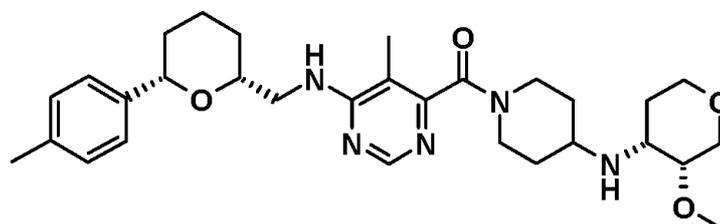
DVS	Sorção de vapor dinâmico
EDTA	Ácido etilenodiaminatetraacético
EGTA	Ácido tetraacético de etileno glicol
ESI	ionização por eletrovaporização
f	sexo feminino
F	biodisponibilidade oral
FCS	soro de bezerro fetal
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanossulfônico
hERG	gene relacionado ao éter-a-go-go humano
HR	alta resolução
IV, i.v.	intravenoso
m	sexo masculino
M	mol/L
Mcllvaine buffer	tampão de citrato/fosfato
MRT <sub>disp</sub>	tempo de residência médio seguindo dosagem intravenosa
MRT <sub>tot</sub>	tempo de residência médio seguindo dosagem oral
MS	espectrometria de massa
MS	metanossulfonato (sal com um mol de ácido metanossulfônico)
m/z	relação de massa para carga
RMN	ressonância magnética nuclear
PBS	solução salina tamponada por fosfato
PK	farmacocinéticas
PO, p.o.	peroral
r.h.	umidade relativa
RT	temperatura ambiente
Sorensen buffer	tampão de NaOH/NaCL/Glicina
tmax	tempo de concentração plasmática máxima
TG	ThermoGravimetry
V <sub>ss</sub>	volume de distribuição em estado estável

VLE endotoxina muito baixa

XRPD difração de pó de raios X

EXEMPLO 1- Preparação e caracterização Físico-química de Sais do Composto I

[00089] Múltiplos sais do composto I foram preparados e caracterizados, incluindo o sal de citrato do composto I. Procedimentos experimentais e os resultados são fornecidos abaixo. O Composto I apresenta a seguinte Fórmula:



Parte I: Descrição dos Métodos Analíticos Usados

[00090] Fornecido abaixo é uma descrição dos métodos analíticos usados para caracterizar os sais do composto I.

Espectrometria de Massa por ESI (ESI+)

<b>Instrumento</b>	QTOF 2 (Micromass, Manchester, UK)
<b>Software de controle de instrumento</b>	Masslynx 4,1
<b>Fonte de Íon</b>	ESI+ (fonte Lockspray)
<b>Lockspray/DXC</b>	on/off
<b>Calibração</b>	0,1 % de Ácido fosfórico em acetonitrila/água (1:1), calibração de lockmass
<b>MS1 de resolução (LM/HM)</b>	5/5
<b>Poder de resolução (FWHM)</b>	16000 em m/z 491 (modo W)
<b>Voltagem de MCP</b>	2200 V
<b>Voltagem capilar</b>	+ 2,8kV
<b>Voltagem do cone</b>	25 V
<b>Energia de colisão</b>	5V
<b>Gás de colisão</b>	Argônio
<b>Temperatura da fonte</b>	120°C
<b>Temperatura de dessolvatação</b>	150°C
<b>Gás do cone</b>	nitrogênio 75 L/h
<b>Gás de dessolvatação</b>	nitrogênio 450 L/h

<b>Solvente de atomização</b>	acetonitrila/água 9:1
<b>Bomba de seringa</b>	Aparato de Harvard 55-2222
<b>Taxa de fluxo de solvente de atomização</b>	5 µL/min
<b>Concentração da amostra</b>	5 ng/µL de solvente de atomização
<b>Reagentes</b>	acetonitrila (ULC/MS, Biosolve) água (purificada por Milli-Q-system)
<b>Faixa de varredura</b>	50 - 1000 u (varredura de TOF, dados de perfil)
<b>Tempo de varredura</b>	2,9 s
<b>No. de varreduras combinadas</b>	20
<b>Determinação da massa precisa</b>	5 Pontos centrais/80%, Np=0,35, lockmass: 588,8692
<b>Limite de dados</b>	1,0%

### Espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN

<b>Instrumento</b>	Bruker DRX 400
<b>Frequência</b>	400,13 MHz
<b>Software</b>	TopSpin® versão 1.3 PL8
<b>Programa de pulso</b>	zg30
<b>Solvente</b>	DMSO-d <sub>6</sub>
<b>Concentração</b>	10,3 mg/ 0,6 mL
<b>Temperatura</b>	30°C
<b>Calibração</b>	TMS (δ = 0,00 ppm)
<b>Largura da varredura</b>	8013 Hz
<b>Tamanho</b>	Pontos de dados de 64 K
<b>Largura do pulso</b>	30 graus
<b>Atraso do relaxamento</b>	10 s
<b>Número de varreduras</b>	32
<b>Varreduras simuladas</b>	8
<b>Apodização</b>	Zero preenchimento para os pontos de dados de 128 K Gaussian multiplication (GB: 0,25, LB: -0,25 Hz)

### Espectroscopia de <sup>13</sup>C RMN

<b>Instrumento</b>	Bruker DRX 400
<b>Frequência</b>	100,61 MHz
<b>Software</b>	TopSpin® versão 1,3 PL8
<b>Programa de pulso</b>	Zgpg

<b>Solvente</b>	DMSO-d <sub>6</sub>
<b>Concentração</b>	10,3 mg/0,6 mL
<b>Temperatura</b>	30°C
<b>Calibração</b>	DMSO-d <sub>6</sub> ( $\delta = 39,5$ ppm)
<b>Largura da varredura</b>	27778 Hz
<b>Tamanho</b>	pontos de dados de 64 K
<b>Largura do pulso</b>	90 graus
<b>Atraso do relaxamento</b>	4s
<b>Número de varreduras</b>	4096
<b>Varreduras simuladas</b>	32
<b>Apodização</b>	Zero preenchimento para pontos de dados de 128 K Multiplicação exponencial (LB: 2,5 Hz)

#### Diagrama de Pó de Raios-X (XRPD)

[00091] Os diagramas de pó de raios X foram gerados usando um difractômetro STOE – STADI P no modo de transmissão equipado com um detector MYTHEN e um ânodo de Cu como fonte de raios X com radiação de CuK $\alpha$ 1 monocromática ( $\lambda = 1,54056$  Å, 40kV, 40mA).

#### Espectroscopia de FT-RAMAN

[00092] As amostras foram medidas em tubos de ponto de ebulição usando um instrumento de Módulo Bruker RAM II FT-Raman, resolução 2 cm<sup>-1</sup>, 64 varreduras, potência de laser 500 mW (laser focalizado).

[00093] Análise: dimensionamento do vetor na faixa espectral 3500 cm<sup>-1</sup> - 50 cm<sup>-1</sup>.

#### Calorimetria de Varredura Diferencial - ponto de fusão

[00094] Os compostos são caracterizados por um ponto de fusão determinado pela Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC), avaliados pelo pico máximo ou temperatura de início. A taxa de aquecimento da experiência é de 10°C/min. Os valores dados foram determinados usando um instrumento de DSC de Q-series™ de TA Instruments.

#### Termogravimetria (TG)

[00095] Os dados de gravimetria térmica foram coletados com um instrumento TG da série Q de TA Instruments. Este método mede as mudanças de peso em um material como uma função da temperatura sob uma atmosfera controlada.

#### Adsorção de Vapor Dinâmico (DVS)

[00096] As isotermas de íons foram geradas usando um monitor de adsorção de água IGAcorp de Hiden Isochema. As isotermas de adsorção e dessorção foram obtidas a 25°C com intervalos de etapa de 10% de r.h. variando de 10% de r.h. a 90% de Rh.

[00097] Para a forma de sal de BR apenas: as isotermas de adsorção foram registradas em um monitor de adsorção de água DVS-1 de Surface Measurement Systems.

#### Solubilidade

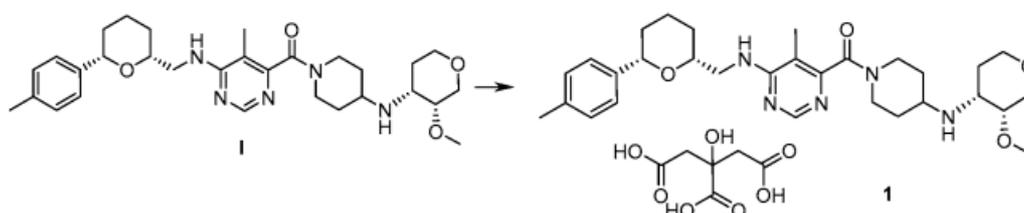
[00098] A solubilidade foi determinada utilizando um método de frasco de agitação automatizado (em temperatura ambiente) e a quantificação da substância de fármaco dissolvido foi determinada por espectroscopia de UV dentro desta configuração automatizada.

Parte II: Preparação de citrato de (4-((3R,4R)-3-metoxitetra-hidropirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 61S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-pirano-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona (1)

[00099] Procedimentos exemplares para produzir o composto título são proporcionados a seguir, juntamente com dados de caracterização física. Os procedimentos de preparação incluem duas rotinas diferentes para preparar o composto título.

#### Opção de preparação a) Preparação de sal de citrato a partir da base

##### livre I:



[000100] A uma solução da base livre I (200 mg, 0,372 mmol) em acetato de etila (2 mL) é adicionado hidrato de mono-hidrato de ácido cítrico (78,2 mg; 0,372 mmol). A solução é agitada durante a noite (18 h). A suspensão é filtrada, e o produto é secado a 40°C sob vácuo para produzir 140 mg de 0,192 mmol (52 %) de cristais incolores. Os dados de caracterização física para o sal de citrato **1** são fornecidos abaixo.

RMN ( $^1\text{H}$ , 400 MHz, DMSO- $d_6$ ): 11,7 - 8,5 (2 H, amplo), 8,34 (1 H, s), 7,22 (2 H, m), 7,12 (2 H, m), 7,08 (1 H, t), 4,49 (1 H, m), 4,31 (1 H, d), 4,09 (1 H, m), 3,85 (1 H, m), 3,74 (1H, m), 3,57 - 3,44 (2 H, m), 3,48 (1 H, m), 3,47 (1 H, m), 3,35 (3 H, s), 3,35 (1 H, m), 3,33 (1 H, m), 3,29 (1 H, m), 3,27 (1 H, m), 3,04 (1 H, m), 2,84 (1 H, m), 2,58 (2 H, d), 2,50 (2 H, d), 2,28 (3 H, s), 2,12 (1 H, m), 1,94 (1 H, m) , 1,91 (3 H, s), 1,88 (1 H, m), 1,78 (1 H, m), 1,76 (1 H, m), 1,70 (1 H, m), 1,66 (1 H, m), 1,63 (1 H, m), 1,40 (1 H, m), 1,40 (1 H, m), 1,37 (1 H, m), 1,24 (1 H, m)(inclui rotâmeros).

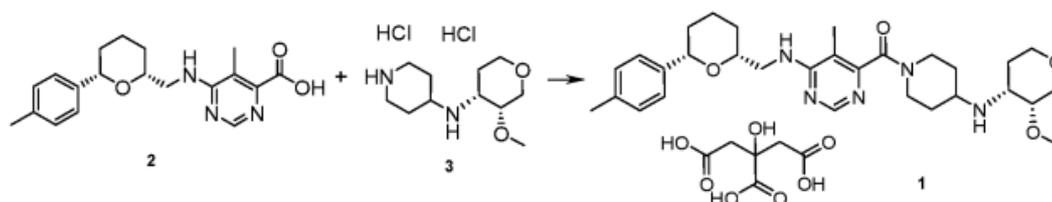
RMN ( $^{13}\text{C}$ , 100 MHz, DMSO- $d_6$ ): 176,6, 171, 165,4, 161,0, 156,6, 155,4, 140,3, 136,0, 128,5, 125,6, 109,3, 78,5, 75,4, 72,4, 72,2, 71,2, 64,8, 64,4, 64,4, 55,5, 55,5, 51,5, 51,4, 50,2, 45,6, 44,1, 44,1, 38,8, 33,3, 29,6, 28,7, 28,7, 25,1, 23,1, 20,6, 11,7 (inclui rotâmeros).

HRMS (ESI): m/z 538,3400 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ;  $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_4$ ).

Espectro de RAMAM (faixas características) [ $\text{cm}^{-1}$ ]: 1718, 1242, 731, 662, 553.

[000101] Veja a tabela II abaixo e as Figuras 2-4 e 17 para dados de caracterização adicionais.

Opção de preparação b) Acoplamento de amida seguido de preparação de sal de citrato:



[000102] 4,99 kg (30,75 mol) de 1,1-carbonildiimidazol são adicionados a uma suspensão de 10,0 kg (29,29 mol) de **2** em 75 L de 2-metiltetra-hidrofurano a 50°C. O funil de pó é enxaguado com 5 L de 2-metiltetra-hidrofurano. A mistura de reação é agitada durante 70 min a 50°C. Em seguida, são adicionados 8,83 kg (30,75 mol) de **3** à mistura de reação, e o funil é enxaguado com 5 L de 2-metiltetra-hidrofurano. Em seguida, foram adicionados 7,41 kg (73,23 mol) de trietilamina e 10 L de 2-metiltetra-hidrofurano, e a mistura de reação é agitada durante 1 h sob refluxo. Em seguida, a mistura é resfriada a 60°C e é adicionada uma solução de 6,07 kg (43,94 mol) de carbonato de potássio em 55 L de água, e as fases são separadas a 55°C. A camada orgânica é lavada com 60 L de água e 80 L de solvente são removidos por destilação sob vácuo. O resíduo resultante é diluído com 80 L de álcool isopropílico e 55 L de solvente são removidos por destilação sob vácuo. O resíduo resultante é diluído com 40 L de álcool isopropílico e 40 L de solvente são removidos por destilação sob vácuo. Em seguida, foram adicionados 5,85 kg (27,83 mol) de ácido cítrico mono-hidratado em 11 L de água, e o funil de gotejamento é enxaguado com 30 L de álcool isopropílico. A mistura de reação é aquecida a 75°C, agitada até formar uma solução e depois filtrada. O filtro é enxaguado com uma mistura de 2 L de água e 20 L de álcool isopropílico. Em seguida, o filtrado é diluído com 30 L de álcool isopropílico e semeado com 100 g de **1** como obtido na opção a) a 65°C. Em seguida, a mistura é resfriada a 55°C dentro de 30 minutos e depois agitada novamente durante 1 h a 55°C. A suspensão resultante é diluída com 60 L de álcool isopropílico dentro de 1 h a

55°C e depois resfriada a 20°C dentro de 3 h. Em seguida, a suspensão é agitada durante 17 h a 20°C e isolada por filtração. A massa filtrante é lavada duas vezes com uma mistura de 19 L de álcool isopropílico e 1 L de água, cada um. O produto é secado a 50°C sob vácuo para produzir 17,76 kg de composto (83 %). Os dados de caracterização física para o sal de citrato **1** são fornecidos abaixo.

RMN (<sup>1</sup>H, 400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 11,7 - 8,5 (2H, amplo), 8,34 (1H, s), 7,22 (2H, m), 7,12 (2H, m), 7,08 (1H, t), 4,49 (1H, m), 4,31 (1H, d), 4,09 (1H, m), 3,85 (1H, m), 3,74 (1H, m), 3,57-3,44 (2H, m), 3,48 (1H, m), 3,47 (1H, m), 3,35 (3H, s), 3,35 (1H, m), 3,33 (1H, m), 3,29 (1H, m), 3,27 (1H, m), 3,04 (1H, m), 2,84 (1H, m), 2,58 (2H, d), 2,50 (2H, d), 2,28 (3H, s), 2,12 (1H, m), 1,94 (1H, m), 1,91 (3H, s), 1,88 (1H, m), 1,78 (1H, m), 1,76 (1H, m), 1,70 (1H, m), 1,66 (1H, m), 1,63 (1H, m), 1,40 (1H, m), 1,40 (1H, m), 1,37 (1H, m), 1,24 (1H, m) (inclui rotâmeros).

RMN (<sup>13</sup>C, 100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 176,6, 171, 165,4, 161,0, 156,6, 155,4, 140,3, 136,0, 128,5, 125,6, 109,3, 78,5, 75,4, 72,4, 72,2, 71,2, 64,8, 64,4, 64,4, 55,5, 55,5, 51,5, 51,4, 50,2, 45,6, 44,1, 44,1, 38,8, 33,3, 29,6, 28,7, 28,7, 25,1, 23,1, 20,6, 11,7 (inclui rotâmeros).

HRMS (ESI): m/z 538,3400 ([M + H]<sup>+</sup>; C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>).

Espectro de FT-RAMAN (faixas características) [cm<sup>-1</sup>]: 1718, 1242, 731, 662, 553.

[000103] Veja a tabela II abaixo e as Figuras 2-4 e 17 para dados de caracterização adicionais.

Parte III: Preparação de Sais Adicionais de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona

[000104] Adicionou-se sais adicionais de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona foram

preparados e caracterizados como descrito abaixo.

Preparação de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona

[000105] 1,916 mL (0,1 M) de ácido bromídrico são adicionados a uma solução de 103 mg (0,1916 mmol) de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-pirano-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona em 2 mL de metanol e agitou-se durante 2 h a 50°C. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo a 40°C. Em seguida, adiciona-se 4 mL de tetra-hidrofurano ao resíduo. A mistura é sonicada, depois agitada durante 2 h a 40°C e depois armazenada durante 4 h em temperatura ambiente. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo para produzir o bromidrato de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[000106] Veja a tabela III abaixo e as Figuras 5-7 para caracterizar os dados.

Preparação de cloridrato de (4-((3R,4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R,6S)-6-(p-tolilo) tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona

[000107] 0,558 mL (0,1 M) de ácido clorídrico é adicionado a uma solução de 30 mg (0,0557 mmol) de (4-((3R 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran -4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2- il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona em 1 mL de metanol e agitou-se durante 2 h a 50°C. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo a 40°C. Em seguida, adiciona-se ao resíduo 1,2 mL de tetra-hidrofurano. A mistura é sonicada, depois agitada durante 2 h a 40°C e depois armazenada durante 4 h em temperatura ambiente. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo

para produzir o cloridrato de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino) piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[000108] Veja a Tabela IV abaixo e as Figuras 8-10 para caracterizar os dados.

Preparação de Esilato de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R,6S)-6-(p-tolilo) tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona

[000109] 1,860 mL (0,1 M) de ácido etanossulfônico são adicionados a uma solução de 100 mg (0,126 mmol) de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona em 2 mL de metanol e agitou-se durante 2 h a 50°C. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo a 40°C. Em seguida, adiciona-se 4 mL de acetona ao resíduo. A mistura é sonicada, depois agitada durante 2 h a 40°C e depois armazenada durante 4 h em temperatura ambiente. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo para produzir o esilato de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino) piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[000110] O espectro de RAMAM (faixas características) [cm<sup>-1</sup>]: 1637, 1253, 1014, 740, 719, 534, 525, 219.

[000111] Veja a tabela V abaixo e as Figuras 11 a 13 e 18 para caracterizar os dados.

Preparação de metanossulfonato de (4-((3R,4R) 3-metoxitetra-hidro-pirano-4- ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona

[000112] 0,558 mL (0,1 M) de ácido metanossulfônico foi adicionado a uma solução de 30 mg (0,0557 mmol) de (4-((3R,4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-

hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona em 1 mL de metanol e agitou-se durante 2 h a 50°C. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo a 40°C. Em seguida, adiciona-se 1,2 mL de tolueno ao resíduo. A mistura é sonicada, em seguida agitada durante 2 h a 50°C e depois armazenada durante a noite em temperatura ambiente. Em seguida, o solvente é removido em um secador a vácuo para produzir o metanossulfonato de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R, 6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona.

[000113] Veja a tabela VI abaixo e as Figuras 14-16 para caracterizar os dados.

Parte IV: Dados de Caracterização Física para Sais de (4-((3R,4R)-3-Metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona

[000114] Dados de caracterização física preliminares para sais de (4-((3R, 4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona são fornecidos abaixo.

#### Solubilidade em Meio Aquoso

[000115] A Tabela I mostra a solubilidade de (4-((3R,4R)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il) metilamino)pirimidin-4-il)metanona em diferentes meios aquosos a 2, 4 e 6 h.

Tabela I.

Meio	2 h [mg/mL]	4 h [mg/mL]	6 h [mg/mL]
Água	>1	>1	>1
HCl a 0,1N	>1	>1	>1
HCl a 0,01 N	>1	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 2,2	>1	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 3,0	>1	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 4,0	>1	>1	>1

Tampão de McIlvaine pH 4,5	Não	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 5,0	>1	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 6,0	>1	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 6,8	>1	>1	>1
Tampão de McIlvaine pH 7,4	>1	>1	>1
tampão de KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> pH 7,4	>1	>1	>1
Sörensen pH 10	>1	>1	>1
NaOH a 0,1N	>1	>1	>1
EtOH	9,2	9,8	10

[000116] Os dados na tabela I demonstram que citrato de (4-((3*R*, 4*R*) 3-metoxitetra-hidro-pirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il) metanona é altamente solúvel em meios aquosos ácidos, neutros e básicos.

#### Propriedades em Estado Sólido do Sal de Citrato 1

[000117] Várias propriedades em estado sólido do sal de citrato 1 estão descritas abaixo.

#### Aparência

[000118] No estado sólido, (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*, 6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilainino)pirimidin-4-il)metanona é um material branco microcristalino.

#### Comportamento de Adsorção

[000119] Apenas citrato de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona mostra estabilidade contra umidade relativa até 80 %. É observada uma absorção de 2,6 % de água. A absorção de água é reversível e, após a experiência de adsorção, o composto ainda permanece como material sólido. Todos os outros sais transformaram-se em fase líquida em maior umidade relativa (dependendo da forma de sal a partir de 60-70 % de umidade

relativa).

### Cristalinidade e Polimorfismo

#### Sal de Citrato 1

[000120] **Sal de citrato 1** é altamente cristalino como pode ser visto no diagrama de difração de pó de raios X na Figura 2. As intensidades (padronizadas) e reflexão de pó de raios X são mostradas na Tabela II.

Tabela II.

<b>2-teta[°]</b>	<b>Valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/I<sub>o</sub> [%]</b>
4,36	20,24	17
12,17	7,27	41
12,51	7,07	6
13,13	6,74	7
13,66	6,48	39
14,20	6,23	14
14,60	6,06	32
15,03	5,89	5
15,25	5,81	4
15,97	5,54	11
16,51	5,37	13
17,05	5,20	13
17,54	5,05	4
17,88	4,96	5
18,65	4,75	22
19,05	4,66	100
19,68	4,51	11
20,42	4,35	6
20,84	4,26	4
21,25	4,18	3
21,90	4,06	5

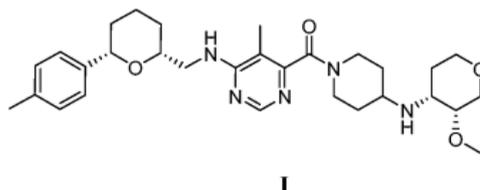
<b>2-teta[°]</b>	<b>Valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/I<sub>o</sub> [%]</b>
22,42	3,96	92
23,19	3,83	9
23,70	3,75	16
24,34	3,65	4
24,56	3,62	23
24,89	3,57	16
25,20	3,53	7
25,36	3,51	7
25,67	3,47	6
26,26	3,39	23
26,59	3,35	12
27,51	3,24	6
27,71	3,22	6
28,01	3,18	7
28,23	3,16	5
28,57	3,12	3
29,44	3,03	12
30,15	2,96	4

[000121] Na Tabela II acima, o valor "2-theta [°]" denota o ângulo de difração em graus, e o valor de d [Å] denota as distâncias especificadas em Å entre os planos de treliça.

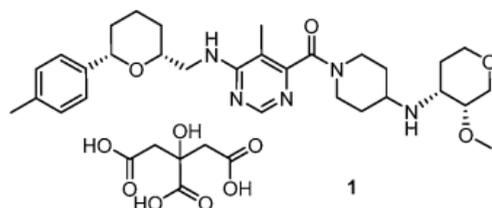
[000122] O sal de citrato cristalino de (4-((3*R*,4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona é caracterizado pelo fato de que o diagrama de pó de raios X tem, inter alia, os valores característicos 2-teta = 19,1 ° (100 % de intensidade relativa), 22,4 ° (92 % de intensidade relativa), 12,2 ° (41 % de intensidade relativa), 13,7 ° (39 % de intensidade relativa) e 14,6 ° (32 % de intensidade relativa)

(que são os picos mais proeminentes no diagrama da Figura 2, Tabela II)

[000123] Por conseguinte, de acordo com um primeiro aspecto, a invenção proporciona um sal de citrato do composto I



tendo a Fórmula.



[000124] Em uma segunda modalidade, o sal **1** está na forma cristalina.

[000125] Em uma terceira modalidade, de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina do composto **1** mostra um padrão de difração em pó de raios X, compreendendo picos nos seguintes valores de 2-teta medidos usando radiação de  $\text{CuK}\alpha 1$  monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40kV, 40mA:  $19,1^\circ$  e  $22,4^\circ$ .

[000126] Em uma modalidade adicional de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um padrão de difração de pó de raios X, compreendendo ainda um pico a  $12,2^\circ$ .

[000127] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um padrão de difração de pó de raios X compreendendo ainda um pico a  $13,7^\circ$ .

[000128] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um padrão de difração de pó de raios X compreendendo ainda um pico a  $14,6^\circ$ .

[000129] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um padrão de

difração de pó de raios X compreendendo ainda um pico a 18,7 °.

[000130] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um padrão de difração de pó de raios X compreendendo ainda um pico a 24,6 °.

[000131] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um padrão de difração de pó de raios X compreendendo ainda um pico a 26,3 °.

[000132] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um espectro de Raman que compreende picos em qualquer um ou todos os seguintes movimentos de Raman expressos em números de ondas em  $\text{cm}^{-1}$ : 1718, 1242, 731, 662, 553.

[000133] Em uma outra modalidade de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores, a forma cristalina mostra um ponto de fusão de  $212 \pm 5^\circ\text{C}$ .

[000134] O sal de citrato **1** pode ser proporcionado em uma composição farmacêutica. Conseqüentemente, outro aspecto da presente invenção é uma composição farmacêutica contendo o sal de acordo com qualquer uma das modalidades anteriores juntamente com um ou mais veículos inertes e/ou diluentes.

[000135] Apenas uma forma cristalina foi obtida a partir de várias experiências para citrato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-pirano-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2*H*-piran-2-il)metilamino)pirirnidin-4-il)metanona.

*Sal de bromidrato do Composto de Fórmula (I)*

[000136] O **sal de bromidrato** do composto de Fórmula (I) é de cristalinidade média como demonstrado no diagrama de difração de pó de raios X na Figura 5. As intensidades (padronizadas) e reflexão de pó de raios X são mostradas na Tabela III.

Tabela III.

2-teta [°]	Valor de d [Å]	Intensidade I/I <sub>0</sub> [%]
4,73	18,67	100
7,60	11,62	37
9,48	9,32	15
12,74	6,94	34
14,46	6,12	78
15,25	5,81	62
17,38	5,10	56
18,16	4,88	17
19,36	4,58	62
20,39	4,35	83
22,01	4,03	17
22,72	3,91	25
24,05	3,70	37
24,94	3,57	26
25,23	3,53	41
25,65	3,47	27
26,35	3,38	19
27,25	3,27	19
28,00	3,18	15
28,92	3,08	21
29,49	3,02	15
29,59	3,02	16

[000137] Na Tabela III acima, o valor "2-teta [°]" denota o ângulo de difração em graus, e o valor de d [Å] denota as distâncias especificadas em Å entre os planos de treliça.

[000138] Bromidrato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2*H*-piran-2-il)metilamino)pirinddin-4-il)metanona é caracterizado pelo fato de que o diagrama de pó de raios X tem, inter alia, os valores característicos 2-teta = 4,7 ° (100 % de intensidade relativa), 20,4 ° (83 % de intensidade relativa), 14,5 ° (78 % de intensidade relativa), 15,3 °

(62 % de intensidade relativa) e 19,4 ° (62 % de intensidade relativa) (que são os picos mais proeminentes no diagrama da Figura 5, Tabela III).

[000139] Diferentes modificações polimórficas de bromidrato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona foram identificados por difração de raios X.

Sal de cloridrato do composto de Fórmula (I)

[000140] O **sal de cloridrato** do composto de Fórmula (I) é de cristalinidade média, como pode ser visto no diagrama de difração de pó de raios X na Figura 8. As intensidades (padronizadas) e reflexão de pó de raios X são mostradas na Tabela IV.

Tabela IV.

2-teta[°]	Valor de d[Å]	Intensidade/I <sub>o</sub> [%]
4,05	21,78	24
4,74	18,63	93
7,68	11,50	28
9,49	9,31	19
10,17	8,69	17
12,27	7,21	16
12,85	6,88	29
13,55	6,53	19
14,05	6,30	22
14,55	6,08	64
15,37	5,76	98
16,09	5,51	23
16,58	5,34	19
17,52	5,06	100
18,14	4,89	25

2-teta[°]	Valor de d[Å]	Intensidade/I <sub>o</sub> [%]
19,12	4,64	23
19,53	4,54	39
20,46	4,34	77
22,16	4,01	23
22,79	3,90	26
23,22	3,83	20
24,13	3,69	44
25,02	3,56	23
25,42	3,50	24
25,87	3,44	18
26,57	3,35	15
27,39	3,25	18
28,06	3,18	16
29,07	3,07	18
29,85	3,00	12

[000141] Na Tabela IV acima, o valor "2-teta [°]" denota o ângulo de difração em graus, e o valor de d [Å] denota as distâncias especificadas em Å entre os planos de treliça.

[000142] Cloridrato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2*H*-piran-2-il)metilamino)pirindin-4-il)metanona é caracterizado pelo fato de que o diagrama de pó de raios X tem, inter alia, os valores característicos 2-teta = 17,5 ° (100 % de intensidade relativa), 15,4 (98 % de intensidade relativa), 4,7 ° (93 % de intensidade relativa), 20,5 ° (77 % de intensidade relativa) e 14,6 ° (64 % de intensidade relativa) (que são os picos mais proeminentes no diagrama da Figura 8, Tabela IV).

[000143] Diferentes modificações polimórficas de cloridrato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-

((2R,6S)-6-(p-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona foram identificadas por difração em pó de raios X.

Sal de Esilato do composto de Fórmula (I)

[000144] O **sal de esilato** do composto de Fórmula (I) é de alta cristalinidade, como pode ser visto no diagrama de difração de pó de raios X na Figura 11. As intensidades (padronizadas) e reflexão de pó de raios X são mostradas na Tabela V.

Tabela V.

2-teta[°]	Valor de d[Å]	Intensidade/I <sub>o</sub> [%]
5,33	16,56	66
7,87	11,23	48
9,14	9,67	7
9,97	8,87	24
10,93	8,09	23
12,23	7,23	9
12,43	7,12	11
13,26	6,67	83
14,55	6,08	48
14,83	5,97	18
15,07	5,88	10
15,29	5,79	17
15,77	5,61	51
16,05	5,52	25
16,18	5,47	19
16,46	5,38	12
16,88	5,25	10
17,90	4,95	100
18,32	4,84	34
18,49	4,79	22

<b>2-teta[°]</b>	<b>Valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/I<sub>o</sub> [%]</b>
19,29	4,60	36
19,44	4,56	40
20,03	4,43	63
20,14	4,41	45
20,85	4,26	66
21,08	4,21	11
21,37	4,15	12
21,92	4,05	18
22,22	4,00	21
22,49	3,95	16
22,71	3,91	7
23,33	3,81	10
23,53	3,78	9
23,79	3,73	8
23,98	3,71	20
24,43	3,64	15
24,68	3,60	14
25,00	3,56	17

[000145] Na Tabela V acima, o valor "2-teta [°]" denota o ângulo de difração em graus, e o valor de d [Å] denota as distâncias especificadas em Å entre os planos de treliça.

[000146] Esilato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino) piperidin-1-il)(5-metil-6-((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2H-piran-2-il)metilamino)pirimidin-4-il)metanona é caracterizado pelo fato de que o diagrama de pó de raios X tem, inter alia, os valores característicos 2-teta = 17,9 ° (100 % de intensidade relativa), 13,3 (83 % de intensidade relativa), 5,3 ° (66 % de intensidade relativa), 20,9 ° (66 % de intensidade relativa) e 20,0 ° (63 % de intensidade relativa) (que

são os picos mais proeminentes no diagrama da Figura 11, Tabela V).

Sal de metanossulfonato do Composto de Fórmula (I)

[000147] O **sal de metanossulfonato** do composto de Fórmula (I) é de cristalinidade média, como pode ser visto no diagrama de difração de pó de raios X na Figura 14. As intensidades (padronizadas) e reflexão de pó de raios X são mostradas na Tabela VI.

Tabela VI.

<b>2-teta [°]</b>	<b>Valor de d [Å]</b>	<b>Intensidade I/I<sub>o</sub> [%]</b>
5,36	16,48	30
5,57	15,85	27
7,84	11,27	43
9,91	8,92	51
11,05	8,00	21
12,33	7,17	77
13,26	6,67	26
14,69	6,03	100
14,95	5,92	50
15,78	5,61	20
16,47	5,38	23
17,74	4,99	53
18,42	4,81	38
19,09	4,65	33
19,29	4,60	41
19,91	4,46	32
20,67	4,29	55
21,23	4,18	21
22,28	3,99	28
23,74	3,74	16
24,33	3,66	23

2-teta [°]	Valor de d [Å]	Intensidade I/I <sub>o</sub> [%]
24,84	3,58	15
25,60	3,48	21
29,79	3,00	16
17,74	16,48	30
18,42	15,85	27

[000148] Na Tabela VI acima, o valor "2-teta [°]" denota o ângulo de difração em graus, e o valor de d [Å] denota as distâncias especificadas em Å entre os planos de treliça.

[000149] Metanossulfonato de (4-((3*R*, 4*R*)-3-metoxitetra-hidro-piran-4-ilamino)piperidin-1-il)(5-metil-6-(((2*R*,6*S*)-6-(*p*-tolil)tetra-hidro-2*H*-piran-2-il)metilamino)pirinddin-4-il)metanona é caracterizado pelo fato de que o diagrama de pó de raios X tem, inter alia, os valores característicos 2-teta = 14,7 ° (100 % de intensidade relativa), 12,3 (77 % de intensidade relativa), 20,7 ° (55 % de intensidade relativa), 17,7 ° (53 % de intensidade relativa) e 9,9 ° (51 % de intensidade relativa) (que são os picos mais proeminentes no diagrama da Figura 14, Tabela VI).

### Termoanálise

[000150] A termoanálise do **sal de citrato 1** cristalino mostra um ponto de fusão = 212 ± 5°C (início, DSC: taxa de aquecimento de 10 K·min<sup>-1</sup>, o diagrama de DSC/TG é mostrado na Figura 3). Na secagem, ocorre perda de peso de 1,6 %. Consequentemente, o sal de citrato apresenta uma baixa tendência a absorver solventes (no caso da água significar baixa higroscopia).

[000151] A termoanálise do **sal de bromidrato** cristalino do composto I mostra um ponto de fusão = 248 ± 5°C (início, DSC: taxa de aquecimento de 10 K·min<sup>-1</sup>, o diagrama de DSC/TG é mostrado na Figura 6). Um amplo efeito endotérmico ocorre entre 40 a 110°C com perda de peso concomitante (2,9 % de perda de peso por secagem).

[000152] A termoanálise do sal de **cloridrato** cristalino do composto I mostra um ponto de fusão =  $233 \pm 5^\circ\text{C}$  (início, DSC: taxa de aquecimento de  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ ; o diagrama de DSC/TG é mostrado na Figura 9). Um amplo efeito endotérmico ocorre entre  $40$  e  $80^\circ\text{C}$ . Um fraco efeito endotérmico ocorre entre  $130$  a  $150^\circ\text{C}$  (perda de peso de  $2,8 \%$  por secagem).

[000153] A termoanálise do **sal de esilato** cristalino do composto I mostra um ponto de fusão =  $199 \pm 5^\circ\text{C}$  (início, DSC: taxa de aquecimento  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ , o diagrama de DSC/TG é mostrado na Figura 12). Um amplo efeito endotérmico e fraco ocorre entre  $40$  e  $100^\circ\text{C}$ . A perda de  $2,4 \%$  na secagem está correlacionada com o efeito endotérmico.

[000154] A termoanálise do sal de metanossulfonato cristalino do composto I mostra um ponto de fusão =  $226 \pm 5^\circ\text{C}$  (início, DSC: taxa de aquecimento  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ ; o diagrama de DSC/TG é mostrado na Figura 15). Um amplo efeito endotérmico e fraco ocorre entre  $30$  a  $110^\circ\text{C}$ .

#### Isotermas de Adsorção

[000155] A isoterma de adsorção do **sal de citrato 1** cristalino mostra uma absorção de água de  $2,6 \%$  na faixa de umidade de  $10$ - $80 \%$  (diagrama mostrado na Figura 4).

[000156] A isoterma de adsorção do **sal de bromidrato** cristalino do composto I mostra uma absorção de água de  $4,5 \%$  na faixa de umidade de  $10$ - $80 \%$  (diagrama mostrado na Figura 7).

[000157] A isoterma de adsorção do **sal de cloridrato** cristalino do composto I mostra uma absorção de água de  $15 \%$  na faixa de umidade de  $10$ - $80 \%$  (diagrama mostrado na Figura 10).

[000158] A isoterma de adsorção do **sal de esilato** cristalino do composto I mostra uma absorção de água de  $20 \%$  na faixa de umidade de  $10$ - $80 \%$  (diagrama mostrado na Figura 13).

[000159] A isoterma de adsorção do **sal de metanossulfonato** cristalino do composto I mostra uma absorção de água de 30 % na faixa de umidade de 10-80 % (diagrama mostrado na Figura 16).

Sumário de Propriedades Físicas Seleccionadas para Sais do Composto I

[000160] As propriedades seleccionadas dos sais de citrato, bromidrato, cloridrato e silato e metanossulfonato do composto I são apresentados na Tabela VII.

Tabela VII.

Parâmetro	Forma de Sal do Composto I				
	Sal de citrato	Sal de bromidrato	Sal de bromidrato	Sal de Esilato	Sal de Metanossulfonato
crystalinidade	Alta	média	média	alta	Média
Ponto de fusão [°C] (início)	212 ± 5	248 ± 5	233 ± 5	199 ± 5	226 ± 5
comportamento térmico	Nenhum efeito adicional antes da fusão	amplo efeito endotérmico 40-110°C	amplo efeito endotérmico 40 - 80°C fraco efeito endotérmico 130- 150°C	fraco/amplo efeito endotérmico 40-100°C	fraco/amplo efeito endotérmico 30-110°C
perda na secagem [%]	1,6	2,9	2,8	2,4	
comportamento higroscópico (até 80% de r.h.)	2,6% de adsorção de água	4,5% de adsorção de água deliquescente	15% de adsorção de água deliquescente	20% de adsorção de água deliquescente	30% de adsorção de água
comportamento higroscópico (até 90% de r.h.)	3,4 % de adsorção de água	20% de adsorção de água deliquescente	40% de adsorção de água deliquescente	45% de adsorção de água deliquescente	45% de adsorção de água
indicações para polimorfismo	não	Sim	sim	não	Não

EXEMPLO 2 - Dados de Atividade Biológica que Caracterizam o Composto I, e seu Sal de Citrato 1

[000161] Foram realizadas experiências para avaliar a atividade biológica do composto I e seu sal de citrato 1. Uma descrição dos procedimentos e resultados experimentais são fornecidos abaixo.

Parte I: Descrição dos Ensaios Biológicos

Ligação de proteína de plasma

[000162] Células de diálise Dianorm Teflon (micro 0,2) são utilizadas. Cada célula consiste em um doador (isto é, câmara de tampão) e uma câmara aceptora (isto é, câmara de plasma), separados por uma membrana semipermeável ultra fina com um corte de peso molecular de 5 kDa. As soluções mãe para cada composto teste são preparadas em DMSO a 1 mM e diluídas até uma concentração final de 1,0 µM. As alíquotas de 200 µL de tampão de diálise (fosfato de potássio 100 mM, pH 7,4) são distribuídas na câmara de tampão. Alíquotas de 200 µL de solução de diálise de composto teste são distribuídas nas câmaras de plasma. A incubação é realizada durante 2 horas sob rotação a 37°C. Em seguida, o dialisado é transferido para tubos de reação. Os tubos para a fração de tampão contém 0,2 mL de acetonitrila/água (80/20 volume/volume). As alíquotas de 25 µl do dialisato de plasma são transferidas para placas de poços profundos e misturadas com 25 µl de acetonitrila/água (80/20 volume/volume), 25 µl de tampão, 25 µl de solução de calibração e 25 µl de solução padrão interna. A precipitação de proteína é feita adicionando 200 µl de acetonitrila. Alíquotas de 50 µl do dialisado de tampão são transferidas para placas de poços profundos e são misturadas com 25 µl de plasma em branco, 25 µl de solução Padrão Interna e 200 µl de acetonitrila. O limite percentual é calculado com a Fórmula: % ligado = (concentração plasmática - concentração de tampão/concentração plasmática) x 100.

### Estabilidade metabólica *in vitro*

[000163] A degradação metabólica do composto teste é analisada em uma suspensão de hepatócitos. Os hepatócitos são incubados em um sistema de tampão apropriado. Após uma pré-incubação (tipicamente) de 30 min em uma incubadora (37°C, 10 % de CO<sub>2</sub>), foram adicionados 5 µl de solução de composto teste (1 µM) em 395 µl de suspensão de hepatócitos (densidade celular na faixa de 0,25-5 Mio células/mL , tipicamente 1 Mio célula/mL, concentração final de DMSO 0,05 %). As células são incubadas durante seis horas (incubadora, agitador orbital) e as amostras (25 µL) são tomadas a 0, 0,5, 1, 2, 4 e 6 horas. As amostras são transferidas para acetonitrila e sedimentadas por centrifugação (5 min). O sobrenadante é transferido para uma nova placa de 96 poços profundos, evaporado sob nitrogênio e ressuspenso. O declínio do composto de origem é analisado por HPLC-MS/MS. CL<sub>INTRINSIC</sub> é calculado da seguinte forma,  $CL_{INTRINSIC} = Dose/AUC = (CO/CD)/(AUD + clasto/k) \times 1000/60$ . CO: concentração inicial na incubação [µM], CD: densidade celular das células vitais [10e6células/mL], AUD: área sob os dados [µM x h], clasto: concentração do último ponto de dados [µM], k: inclinação da linha de regressão para o declínio de origem [h<sup>-1</sup>]. A depuração intrínseca hepática *in vitro* calculada pode ser ampliada para a depuração hepática intrínseca *in vivo* e usada para prever a depuração sanguínea hepática *in vivo* (CL) pelo uso de um modelo de fígado (modelo bem agitado)

- $CL_{INTRINSIC\_INVIVO} [mL/min/kg] = (CL_{INTRINSIC} [\mu L/min/10e6células] \times hepatocelularidade [10e6 células/g de fígado] \times fator hepático [g/kg de peso corporal])/1000$   
 $CL [mL/min/kg] = CL_{INTRINSIC\_INVIVO} [mL/min/kg] \times fluxo sanguíneo hepático [mL/min/kg] / (CL_{INTRINSIC\_INVIVO} [mL/min/kg] + fluxo sanguíneo hepático [mL/min/kg])$

### Farmacocinética (experiências com animais)

[000164] A farmacocinética do composto teste após as doses intravenosas únicas (IV) ou orais (PO) foi examinada em

- camundongos do sexo femininos BALB/c (peso médio: 25 g)
- camundongos Wistar (Han) do sexo masculino (peso médio: 260 g)
- Miniporcões do sexo masculino e do sexo feminino Gottingen (peso médio: 24kg)
- cães beagle do sexo masculino (peso médio: 15kg)

[000165] Todos as espécies não roedoras foram submetidas a jejum durante a noite antes da dosagem, enquanto camundongos e ratos tinham comida e água disponíveis ad libitum. A dose p.o. do composto foi usualmente administrada como suspensão em 0,5 % de Natrosol ou como uma suspensão de Natrosol a 0,5 %/Tween 80 a 0,015 %. Para propósitos de dosagem i.v., as doses foram aplicadas como uma solução em NaCl a 0,9 %, ou como uma solução contendo 9,1 % de Ciclodextrina HP-beta em água.

[000166] A coleta foi realizada por amostragem venosa e imersão do sangue em tubos revestidos com EDTA. As amostras foram recolhidas durante até 48 h após a administração do composto teste. O plasma foi então separado por centrifugação (5 min por aproximadamente 9000 g a 4°C). Para a determinação do composto teste, o plasma foi transferido para placas de PCR. Todas as amostras foram armazenadas a aproximadamente -20°C até bioanalíticas. As concentrações do composto teste no plasma foram determinadas por HPLC MS/MS. O limite inferior de quantificação foi entre 0,5 nmol/L e 1 nmol/L.

#### Ensaio de canal de HERG

##### Células:

[000167] 293 células HEK (de rim embrionária humana) foram

transfectadas de forma estável com cADN de hERG. As células determinadas para uso em experiências de grampo de emplastro foram cultivadas sem antibiótico.

#### Pipetas e Soluções

[000168] As células e as soluções foram superfundidas com uma solução de banho contendo (mM): NaCl (137), KCl (4,0), MgCl<sub>2</sub> (1,0), CaCl<sub>2</sub> (1,8), Glicose (10), HEPES (10), pH 7,4 com NaOH. As pipetas de emplastro foram feitas de tubos de vidro de borossilicato (Hilgenberg, Malsfeld, Germany) usando um extrator horizontal (DMZ – Universal Puller, Zeitz-Instrumente, Martinsried, Germany) e carregado com solução de pipeta contendo (mM): K-aspartato (130), MgCl<sub>2</sub> (5,0), EGTA (5,0), K<sub>2</sub>ATP (4,0), HEPES (10,0), pH 7,2 com KOH. A resistência dos microeletrodos estava na faixa entre 2 e 5 MΩ.

#### Estimulação e Registro:

[000169] As correntes da membrana foram registradas usando um amplificador de grampo de emplastro EPC-10 (HEKA Electronics, Lambrecht, Germany), e o software PatchMaster (HEKA). Os sinais atuais foram filtrados por Bessel a 2,5 kHz antes de serem digitalizados a 5 kHz.

[000170] As correntes de membrana mediadas por hERG foram registradas tipicamente a 28°C, usando a configuração de células inteiras da técnica de grampo de emplastro. As células HEK293 transfectadas foram grampeadas com um potencial de retenção de -60 mV e as correntes de cauda de inativação mediadas por hERG foram estimuladas usando um padrão de pulso com amplitudes fixas (ativação/inativação: 40 mV para 2000 ms; recuperação: 120 mV por 2 ms; elevação para 40 mV em 2 ms, corrente de cauda de inativação: 40 mV por 50 ms) repetidas em intervalos de 15 s. Durante cada intervalo de inter-pulso, 4 pulsos reduzidos por um fator de 0,2 foram registrados para um procedimento de subtração de vazamento P/n. A

compensação de  $R_s$  foi empregada até um nível que permitiu com segurança o registro sem toque. A  $R_s$  não compensada restante foi registrada, bem como a temperatura real e corrente de manutenção.

#### Aplicação e Preparação do Composto:

[000171] As concentrações do item de teste foram aplicadas sequencialmente em cada uma das diferentes células investigadas. Um nível de estado estável da corrente de linha de base foi medido por pelo menos 90 s antes da aplicação da primeira concentração de artigo de teste.

[000172] O item de teste foi dissolvido em DMSO para produzir uma solução mãe de 1000 vezes a concentração final mais alta. Esta matéria-prima foi diluída adicionalmente em DMSO para armazenar soluções de 1000 vezes as demais concentrações finais. As diluições finais em tampão extracelular foram preparadas recentemente a partir dessas matérias-primas por uma etapa de diluição de 1:1000, cada qual antes de iniciar as experiências.

#### Análise de Dados:

[000173] As amplitudes de corrente de pico foram medidas 3 ms após a elevação para +40 mV. Para a linha de base e cada concentração, as correntes de pico das três últimas varreduras antes da aplicação da próxima concentração foram calculadas em média. As correntes residuais ( $I/I_0$ ) foram calculadas para cada célula como a fração da corrente de pico média atual e da corrente de pico da linha de base média. A inibição atual foi expressa como  $(1 - I/I_0) * 100 \%$ . A inibição atual para todas as células é relatada como média  $\pm$  DP. A partir dos dados de inibição da corrente média, a  $IC_{50}$  é estimada com base na equação de Hill usando um procedimento de mínimos quadrados.

#### Ensaio de Fosfolipidose *In vitro*

##### 1. Cultura de células:

[000174] Linhagem de células: U937. Densidade celular: 0,5 Mio. células/mL. Quantidade de meio: 3 mL/poço.

## 2. Materiais e dispositivos:

- Frasco de Cultura de Tecido Falcon 175 cm<sup>2</sup>
- tubos de teste Sarstedt
- microplacas de 6 poços
- fluxo laminar
- centrífuga refrigerada
- pipetas
- Citômetro de fluxo: Coulter Epics XL/MCL (Beckman Coulter Inc., Bullerton, Califórnia, USA)

## 3. Meio e aditivos:

### 3.1 Preparação de RPMI1640 com 10 % de FCS e 0,005 % de gentamicina:

#### Meios:

- meio de VLE RPMI 1640 (1x), Armazenar a 2-8°C.

#### Aditivos:

- soro bovino fetal, armazenar a -20°C
- Gentamicina, Gibco® Invitrogen, conc. 10 mg/mL (= solução a 1 %)

[000175] Adicionar 56 mL de FCS e 2,6 mL de gentamicina a 500 mL de RPMI1640. Armazenar o meio pronto para o uso a 2 - 8°C.

### 3.2 Preparação da solução de trabalho de formaldeído (conc. 3,7 %):

[000176] Diluir Formaldeído 37 % em 1 x PBS (taxa de diluição 1:10) para produzir uma solução de trabalho de 3,7 %, que é armazenada entre 2 e 8°C.

### 3.3 Tampão

[000177] PBS-Dulbecco (1x) w/o Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>. Armazenar em RT.

## 4. Corantes para manchamento celular

### 4.1 manchamento de células vivas:

#### 4.1.1 Iodeto de propídio (PI, Molecular Probes, Eugene, Oregon, USA)

[000178] Solução mãe de PI: 1 mg/mL de PBS (armazenada a 4°C no escuro).

[000179] Solução pronta para o uso de PI: solução mãe diluída 1:100 com PBS (preparada para cada experiência).

#### 4.1.2 Nilo Vermelho (NR; Molecular Probes, Eugene, Oregon)

[000180] Solução mãe de NR: 1 mg/mL de DMSO (armazenada a 4°C no escuro) . Solução pronta para o uso de NR para o manchamento de células vivas: solução mãe de NR diluída 1:100 com PBS (preparada recentemente para cada experiência).

#### 4.2 manchamento de células fixas

[000181] Preparação de solução mãe de Nilo Vermelho (conc. 1 mg/mL): resolver 1 mg de Nilo Vermelho em 1 mL de DMSO a 100 %, armazenar a 2 - 8°C.

[000182] Preparação da solução de trabalho do Nilo Vermelho para manchamento celular fixo (conc. 1 µg/mL): solução mãe de Nilo Vermelho diluída em 1 x PBS (relação de diluição 1: 1000). A solução de trabalho deve ser preparada e usada imediatamente antes do manchamento das células.

#### 5. Semeadura e tratamento de células:

[000183] A semeadura e o tratamento de células podem ser realizados da seguinte forma:

- resolver os compostos teste em 100 % de DMSO até a concentração final de 100 vezes e diluí-los de acordo com a experiência planejada.

- Primeiro carregar 30 µL da solução mãe no poço relevante da placa de 6 poços e ressuspender com 3 mL de suspensão celular/poço contendo 0,5 Mio. células/mL (concentração final de DMSO = 1 %).

- usar um poço por composto e concentração

- incubar 48 horas sem alterar o meio a 37°C, 5 % de CO<sub>2</sub> e 95 % de umidade relativa

#### 6. Colheita de células:

[000184] A colheita de células pode ser realizada da seguinte forma:

- transferir a suspensão celular em tubos Sarstedt (no gelo):
- centrifugação: 4 min a 130 x g, 4°C; descartar o sobrenadante
- ressuspender em 3 mL de PBS por tubo (resfriado com gelo)
- carregar 1 mL da suspensão celular em um tubo Sarstedt (no gelo) para determinação de citometria de fluxo (0,5 mL para iodeto de propídio e 0,5 mL para manchamento de células vivas com Nilo Vermelho)
- centrifugação do resíduo: 4 min. a 130 x g, 4°C; descartar o sobrenadante
- adicionar 1 mL de solução de formaldeído a 3,7 % por tubo
- fixação durante 30 minutos (células após fixação em RT)
- centrifugação: 4 min a 130 x g, RT; descartar o sobrenadante
- ressuspender cada tubo em 1,3 mL de solução de trabalho de Nilo Vermelho para manchamento celular fixo
- incubar o corante durante 5 min.
- centrifugação: 4 min a 130 x g, RT; descartar o sobrenadante
- ressuspender em 3 mL de PBS
- centrifugação: 4 min a 130 x g, RT; descartar o sobrenadante
- ressuspender em 0,5 mL de PBS (= fração de células fixas manchadas com Nilo Vermelho), determinação de fosfolipidose usando um método de citometria de fluxo

## 7. Manchamento celular e medição citométrica de fluxo

[000185] Suspensões de 3 x 0,5 mL de células são preparadas a partir de cada amostra para medição de citometria de fluxo (células não fixas para determinação da viabilidade, células não fixas e células fixas para análises de fosfolipidose).

### 7.1 Manchamento com PI e medição de citometria de fluxo para determinação da viabilidade

[000186] Imediatamente antes da medição, 12,5 µL da solução pronto para o uso de PI são adicionados por amostra (0,5 mL de suspensão celular não fixa), os quais são mantidos em gelo por mais 15 minutos antes da medição.

[000187] Por amostra, dez mil (10 000) células são analisadas a uma taxa de fluxo elevada quanto ao seguinte parâmetro:

- tempo para medir 10.000 células, não controladas
- dispersão anterógrada (linear) versus dispersão lateral (linear), não controlada
- fluorescência amarela ( $\lambda = 568-590$  nm; logarítmico) versus número de célula (linear), não controlada.

[000188] O tempo para medir 10 000 células correlaciona-se à densidade celular na amostra.

[000189] Os portões de corte para a diferenciação dependente da fluorescência entre as células vivas e mortas são definidos com base na análise de meio de cultura celular mais células de controle expostas ao veículo. As células com uma fluorescência inferior ao corte são definidas como viáveis. A viabilidade absoluta de uma amostra é a relação de células viáveis com o número total de células e expressa em porcentagem.

### 7.2 Manchamento com Nilo Vermelho e medição de citometria de fluxo para determinação de PL

#### 7.2.1 Manchamento de células vivas com Nilo Vermelho

[000190] Imediatamente antes da medição, 50 µL da solução pronta para o uso de NR para manchamento de células vivas são adicionados por amostra (0,5 mL de suspensão celular não fixa). As amostras são mantidas em gelo por mais 5 min. Depois disso, elas são lavadas uma vez com 4 mL de PBS (4°C, 250xG durante 8 min) e finalmente ressuspensas em 400 PBS.

### 7.2.2 Manchamento de células fixas com Nilo Vermelho

[000191] Descrição veja acima (6. Colheita de células). Tanto as células não fixas manchadas com Nilo Vermelho, quanto as células fixas manchadas com Nilo Vermelho são medidas de acordo com o seguinte procedimento.

[000192] Por amostra, 10.000 células são analisadas a uma taxa de fluxo elevada quanto o seguinte parâmetro:

- dispersão anterógrada (linear) versus dispersão lateral (linear), fluorescência, não controlada

- fluorescência verde ( $\lambda = 504 - 541$  nm; logarítmica) versus número de célula (linear), não controlada

- fluorescência vermelho intenso ( $\lambda = 660 - 680$  nm; logarítmico) versus número de célula (linear), não controlada

### 8. Análise de Sinal

[000193] As amostras de viabilidade relativa inferior a 90 % são excluídas da análise do potencial fosfolipidogênico de um composto teste. As amostras com uma viabilidade entre 90 a 95 % são selecionadas para avaliação caso a caso, dependendo da consistência de todos os parâmetros analisados e da intensidade absoluta de fluorescência.

[000194] Para todas as amostras com viabilidade relativa ao Controle de > 90 % (com base na exclusão de PI) a intensidade absoluta de fluorescência média após o manchamento com NR é calculada quanto à fluorescência verde, bem como quanto à fluorescência vermelho

intenso.

[000195] Para cada canal, a intensidade de fluorescência absoluta de uma amostra específica está correlacionada com a intensidade de fluorescência absoluta média de todo o meio de cultura de células mais células de controle expostas ao veículo da respectiva experiência. Por canal, a intensidade relativa de fluorescência de uma amostra é a relação da intensidade de fluorescência absoluta desta amostra com a intensidade de fluorescência absoluta média dos Controles, que é definida em 100 e é expressa como porcentagem da intensidade de fluorescência das células de controle.

#### 9. Avaliação da fosfolipidose

[000196] A avaliação do potencial fosfolipidogênica de um composto teste é feita manualmente com base nas intensidades do sinal em ambos os comprimentos de onda para as células fixas, bem como para as células não fixas.

*Parte II: Resultados dos Ensaios de Atividades Biológicas para o Composto I (base livre), e o seu sal de citrato 1*

[000197] As tabelas abaixo resumem os dados biológicos sobre o composto I, e o seu sal de citrato 1, conforme determinado nos ensaios como descrito acima.

#### Ligação de proteína plasmática *in vitro* do composto I.

<b>Espécie</b>	<b>Camundongo</b>	<b>Rato</b>	<b>Cachorro</b>	<b>miniporco</b>	<b>Humano</b>
<b>Fração ligada [%]</b>	95,1	68,9	70,4	60,8	84,7
<b>Fração não ligada [%]</b>	4,9	31,1	29,6	39,2	15,3

#### Estabilidade metabólica *in vitro* do composto I em incubações de hepatócitos.

<b>Espécie</b>	<b>Camundongo</b>	<b>Rato</b>	<b>Cachorro</b>	<b>Miniporco</b>	<b>Humano</b>
<b>CL intrínseca, <i>in vitro</i> [µL/min/células 10e6]</b>	16,4	8,77	3,15	2,73	4,11
<b>CL, <i>in vivo</i> [mL/min/kg]</b>	49	26	14	6,8	7,9

#### Farmacocinética intravenosa do composto I em animais.

Espécie	Camundongo	Rato	Cachorro	Miniporco
Número de animais/gênero	$n=2f$	$n = 2m$	$n = 3m$	$n = 1m/1f$
<b>Parâmetros PK intravenosos (valores médios)</b>				
dose IV ( $\mu\text{mol/kg}$ )	10	5	5	5
AUC(O-inf) ( $\text{nM}\cdot\text{h}$ )	1990	1490	5990	4310
CL ( $\text{mL/min/kg}$ )	86,0	56,1	14,0	20,0
$V_{ss}$ (L/kg)	3,29	5,04	4,94	5,07
MRT <sub>disp</sub> (h)	0,623	1,49	6,40	4,15

Farmacocinéticos orais de composto I em animais.

Espécie	Camundongo	Rato	Cachorro	Miniporco
Número/gênero do animal	$n = 3m/0f$	$n = 3m/0f$	$n = 3m/0f$	$n = 3m/0f$
<b>Parâmetros PK Oraís (valores médios)</b>				
Dose Oral ( $\mu\text{mol/kg}$ )	20	20	5	não realizado
$C_{\text{máx}}$ (nM)	974	580	317	não realizada
$t_{\text{máx}}$ (h)	1,00	1,50	0,917	não realizado
AUC(0-inf) ( $\text{nM}\cdot\text{h}$ )	3160	2270	1500	não realizado
MRT <sub>tot</sub> (h)	3,99	5,49	5,77	não realizado
F (%)	79	38	25	Não calculado

Farmacocinéticos orais do sal de citrato 1 em ratos.

Espécies	Rato
Número/gênero de animal	$n = 3m/0f$
<b>Parâmetros PK Oraís<sup>c</sup> (valores médios)</b>	
Dose Oral ( $\mu\text{mol/kg}$ )	20
$C_{\text{máx}}$ (nM)	454
$t_{\text{máx}}$ (h)	1,08
AUC(0-inf) ( $\text{nM}\cdot\text{h}$ )	1710
MRT <sub>tot</sub> (h)	3,3

Inibição da corrente de potássio mediada por hERG

[000198] Comprimido I inibiu a corrente de potássio mediada por hERG com  $IC_{50} > 30 \mu\text{M}$  (12% de inibição em  $10 \mu\text{M}$ , 28% de inibição em  $30 \mu\text{M}$ ).

Ensaio de Fosfolipidose *in vitro*

[000199] Composto I mostra a propensão de ser fosfolipidogênica no ensaio de Fosfolipidose *in vitro*; a menor concentração fosfolipidogênica do composto I neste ensaio *in vitro* é de 200 µM.

#### INFORMAÇÃO POR REFERÊNCIA

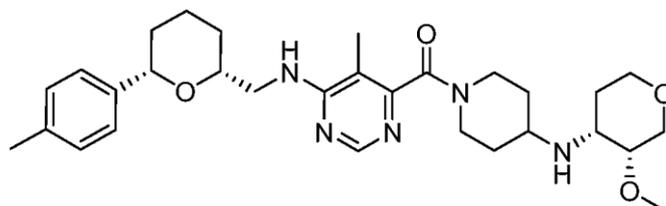
[000200] A descrição completa de cada um dos documentos de patente e artigos científicos aqui referidos é incorporada por referência para todos os fins.

#### EQUIVALENTES

[000201] A invenção pode ser incorporada em outras formas específicas sem se afastar do espírito ou das suas características essenciais. As modalidades anteriores são, portanto, consideradas em todos os aspectos ilustrativas em vez de limitar a invenção aqui descrita. O escopo da invenção é assim indicado pelas reivindicações anexas e não pela descrição anterior, e todas as alterações que se enquadram no significado e faixa de equivalência das reivindicações são destinadas a serem incluídas no mesmo.

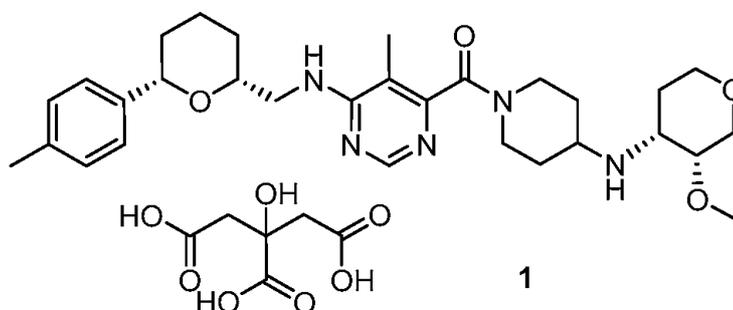
## REIVINDICAÇÕES

1. Sal de citrato, caracterizado pelo fato de que é do composto I:



I

apresentando a Fórmula



1

2. Sal, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que está em forma cristalina.

3. Sal, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende picos nos seguintes valores de 2-teta medidos usando radiação CuK $\alpha$ 1 monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40kV, 40mA: 19,1° e 22,4°.

4. Sal, de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende ainda um pico a 12,2°.

5. Sal, de acordo com a reivindicação 3 ou 4, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende ainda um pico a 13,7°.

6. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 5, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende ainda um pico a 14,6°.

7. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 6, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende ainda um pico a  $18,7^\circ$ .

8. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 7, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende ainda um pico a  $24,6^\circ$ .

9. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 8, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende ainda um pico a  $26,3^\circ$ .

10. Sal, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende picos nos seguintes valores de 2-teta medidos usando radiação de  $\text{CuK}\alpha 1$  monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40kV, 40mA:  $12,2 \pm 0,2$ ,  $13,7 \pm 0,2$ ,  $14,6 \pm 0,2$ ,  $19,1 \pm 0,2$  e  $22,4 \pm 0,2$ .

11. Sal, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um padrão de difração de pó de raios X, que compreende picos nos seguintes valores de 2-teta medidos usando radiação de  $\text{CuK}\alpha 1$  monocromática de  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$ , 40 kV , 40mA:  $12,2 \pm 0,2$ ,  $13,7 \pm 0,2$ ,  $14,6 \pm 0,2$ ,  $18,7 \pm 0,2$ ,  $19,1 \pm 0,2$ ,  $22,4 \pm 0,2$ ,  $24,6 \pm 0,2$  e  $26,3 \pm 0,2$ .

12. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 11, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta uma intensidade relativa do pico nos referidos ângulos de difração 2-teta de pelo menos 10%.

13. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 3 a 11, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta uma intensidade relativa do pico nos referidos ângulos de difração 2-teta de

pelo menos 15%.

14. Sal, de acordo com a reivindicação 2, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta o seguinte padrão de difração de pó de raios X expresso em termos do ângulo de difração  $2\theta$ , distâncias interplanares  $d$  e intensidade relativa (expressa como porcentagem em relação ao pico mais intenso):

<b>2-teta[°]</b>	<b>Valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/<math>I_0</math> [%]</b>
4,36	20,24	17
12,17	7,27	41
12,51	7,07	6
13,13	6,74	7
13,66	6,48	39
14,20	6,23	14
14,60	6,06	32
15,03	5,89	5
15,25	5,81	4
15,97	5,54	11
16,51	5,37	13
17,05	5,20	13
17,54	5,05	4
17,88	4,96	5
18,65	4,75	22
19,05	4,66	100
19,68	4,51	11
20,42	4,35	6
20,84	4,26	4
21,25	4,18	3
21,90	4,06	5
22,42	3,96	92
23,19	3,83	9
23,70	3,75	16
24,34	3,65	4
24,56	3,62	23
24,89	3,57	16

<b>2-teta[°]</b>	<b>Valor de d[Å]</b>	<b>Intensidade/I<sub>o</sub> [%]</b>
25,20	3,53	7
25,36	3,51	7
25,67	3,47	6
26,26	3,39	23
26,59	3,35	12
27,51	3,24	6
27,71	3,22	6
28,01	3,18	7
28,23	3,16	5
28,57	3,12	3
29,44	3,03	12
30,15	2,96	4

15. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 14, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um espectro de Raman, que compreende picos em qualquer uma ou todas as seguintes mudanças de Raman, expressas em números de ondas em  $\text{cm}^{-1}$ : 1718, 1242, 731, 662, 553.

16. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 a 15, caracterizada pelo fato de que a forma cristalina apresenta um ponto de fusão de  $212 \pm 5^\circ\text{C}$ .

17. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende um sal, como definido na reivindicação 1, juntamente com um ou mais veículos e/ou diluentes inertes.

18. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma forma cristalina, como definido em qualquer uma das reivindicações 2 a 9, juntamente com um ou mais veículos e/ou diluentes inertes.

19. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende uma forma cristalina, como definida na reivindicação 10, juntamente com um ou mais veículos e/ou diluentes inertes.

20. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de

que compreende uma forma cristalina, como definida em qualquer uma das reivindicações 11 a 16, juntamente com um ou mais veículos e/ou diluentes inertes.

21. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para uso como um fármaco.

22. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar uma condição selecionada de dor, osteoartrite, nefropatia diabética e polineuropatia diabética.

23. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar dor.

24. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar dor inflamatória.

25. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar dor crônica.

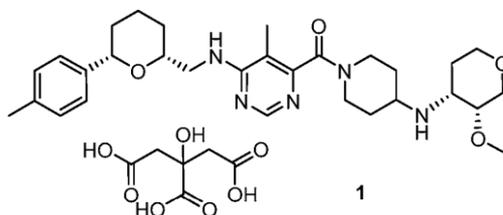
26. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar dor devido à osteoartrite.

27. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar dor neuropática ou dor visceral.

28. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar uma condição selecionada a partir do grupo consistindo em dor musculoesquelética leve a moderada, aguda e crônica, dor lombar, dor lombar crônica, dor relacionada à artrite reumatoide, dor no ombro, dor dental, sinais e sintomas de osteoartrite, osteoartrite do joelho, osteoartrite do quadril, osteoartrite da mão, dor associada à osteoartrite, dor de câncer, polineuropatia diabética, dor visceral, dor aguda, nefropatia diabética, neuralgia do trigêmeo e dor devido à lesão no nervo causada por quimioterapia.

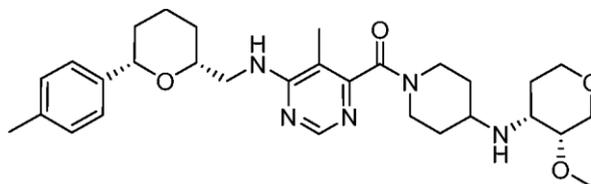
29. Sal, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para tratar osteoartrite.

30. Método para preparação do composto **1**



caracterizado pelo fato de que compreende as seguintes etapas:

(a) adição de ácido cítrico a uma solução do composto I



em um solvente orgânico; e

(b) isolamento do sal resultante **1** na forma pura.

31. Método, de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que o solvente orgânico na etapa (a) é selecionado a partir do grupo que consiste em acetato de etila, isopropanol e uma mistura de isopropanol e água.

32. Uso de um sal, como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado pelo fato de que é para preparação de uma composição farmacêutica e/ou medicamento para tratar dor, osteoartrite, nefropatia diabética ou polineuropatia diabética.

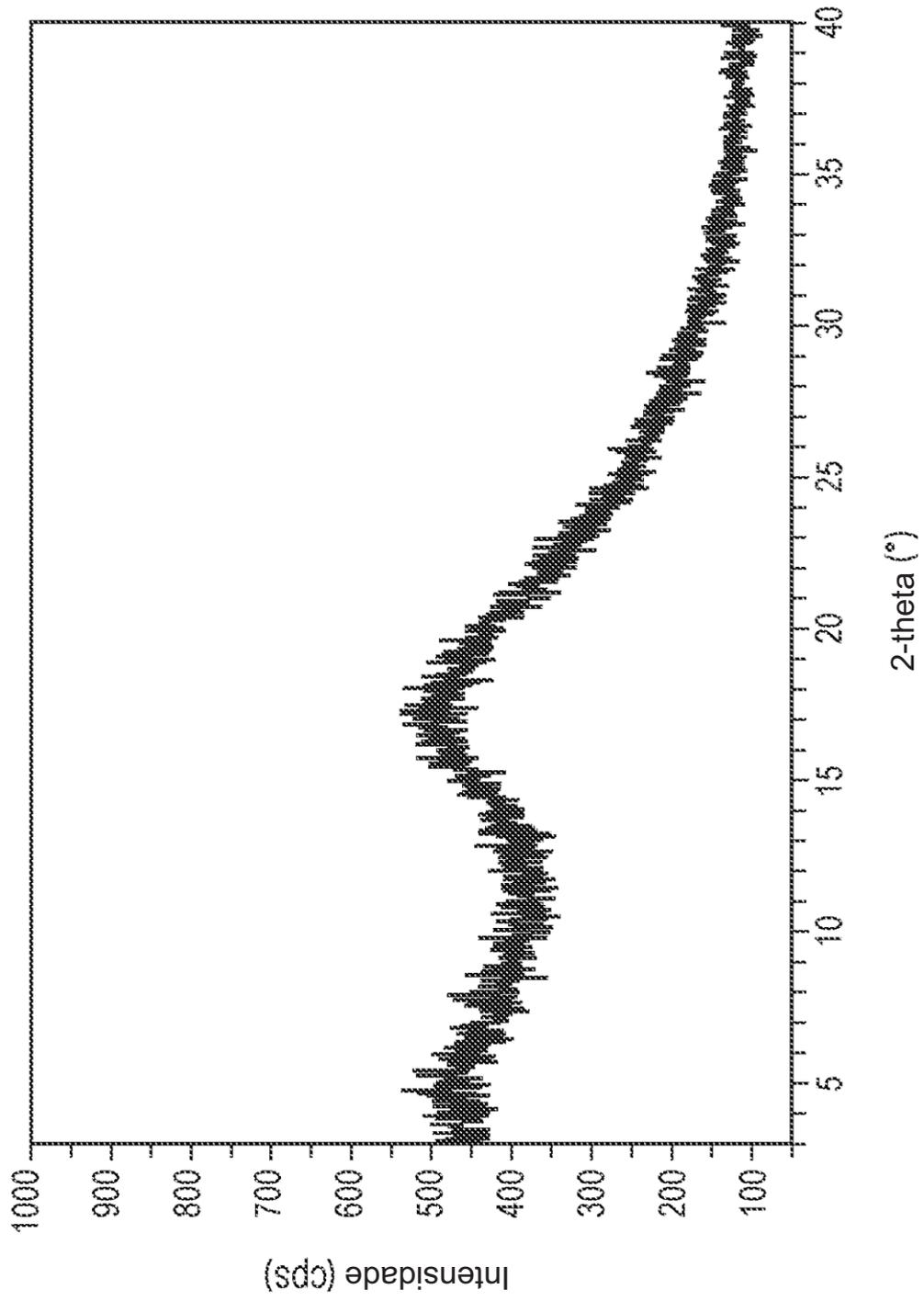


FIG. 1

FIG. 2

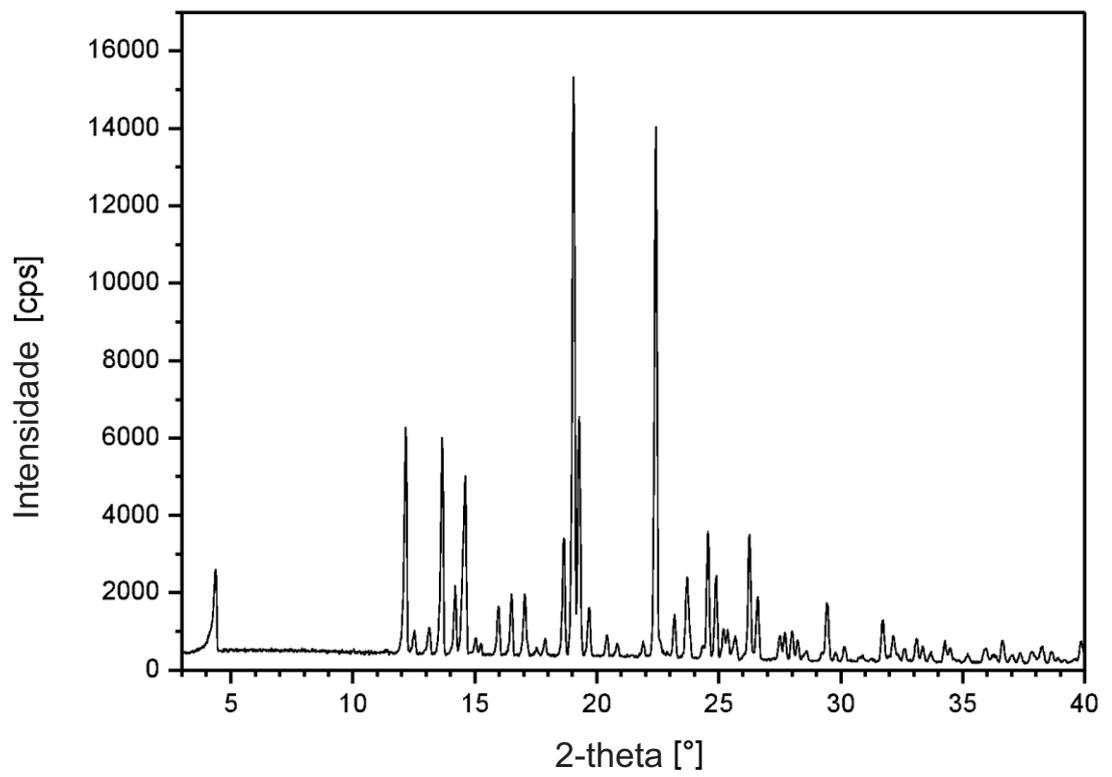


FIG. 3

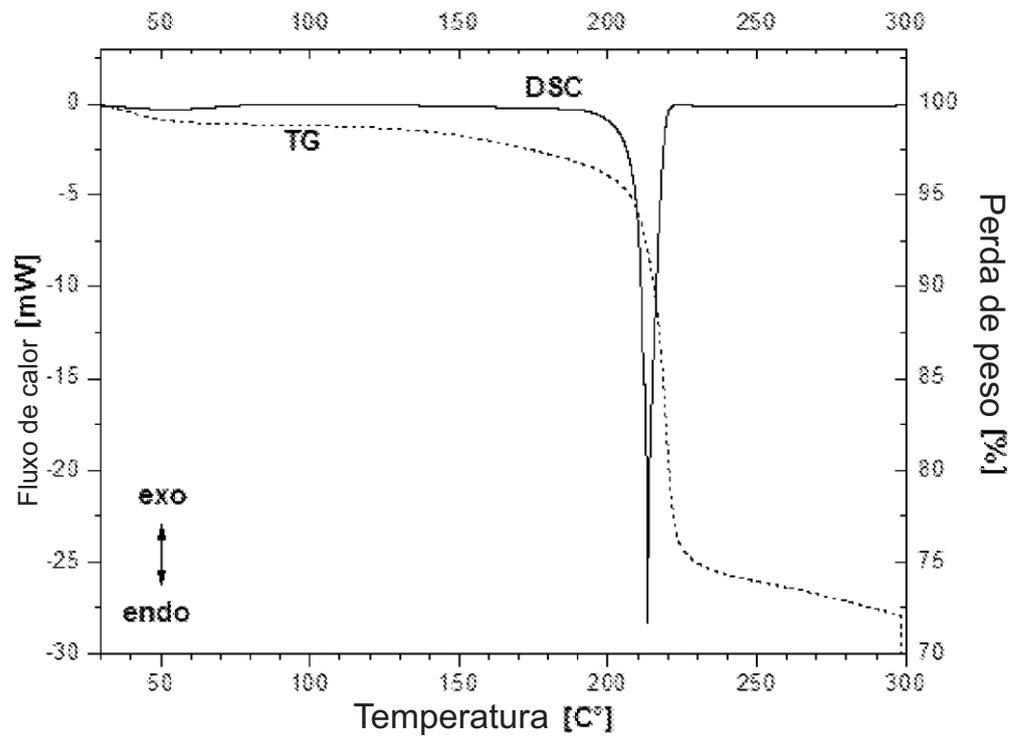


FIG. 4

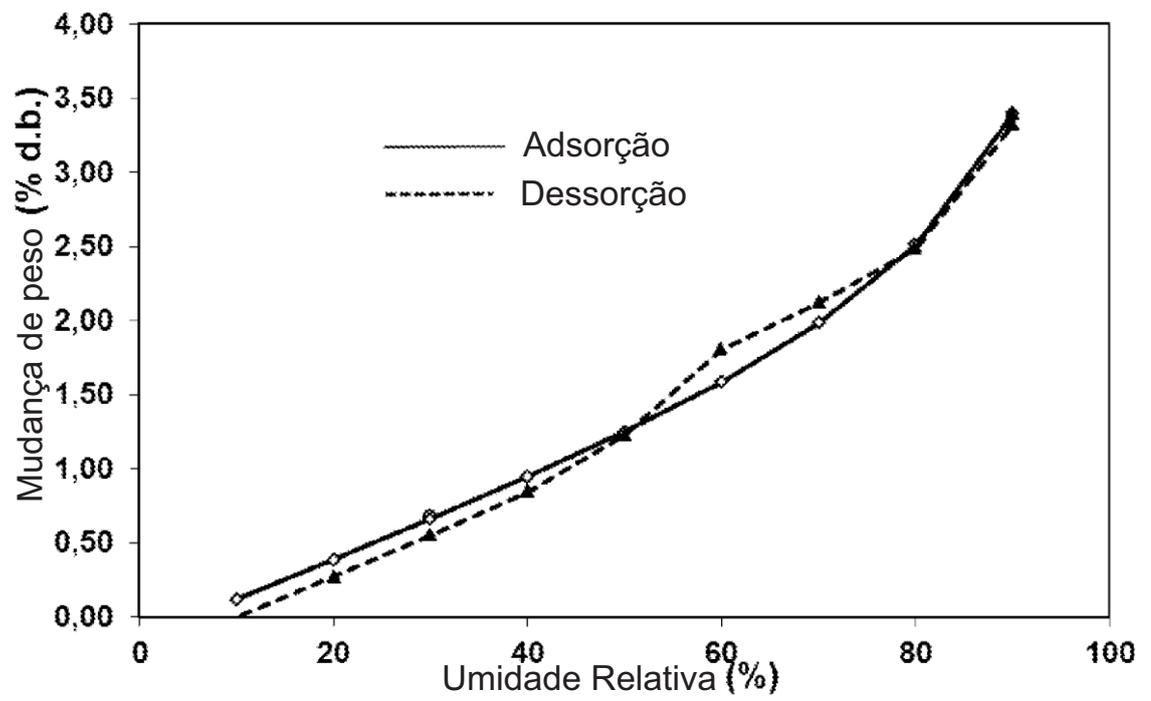


FIG. 5

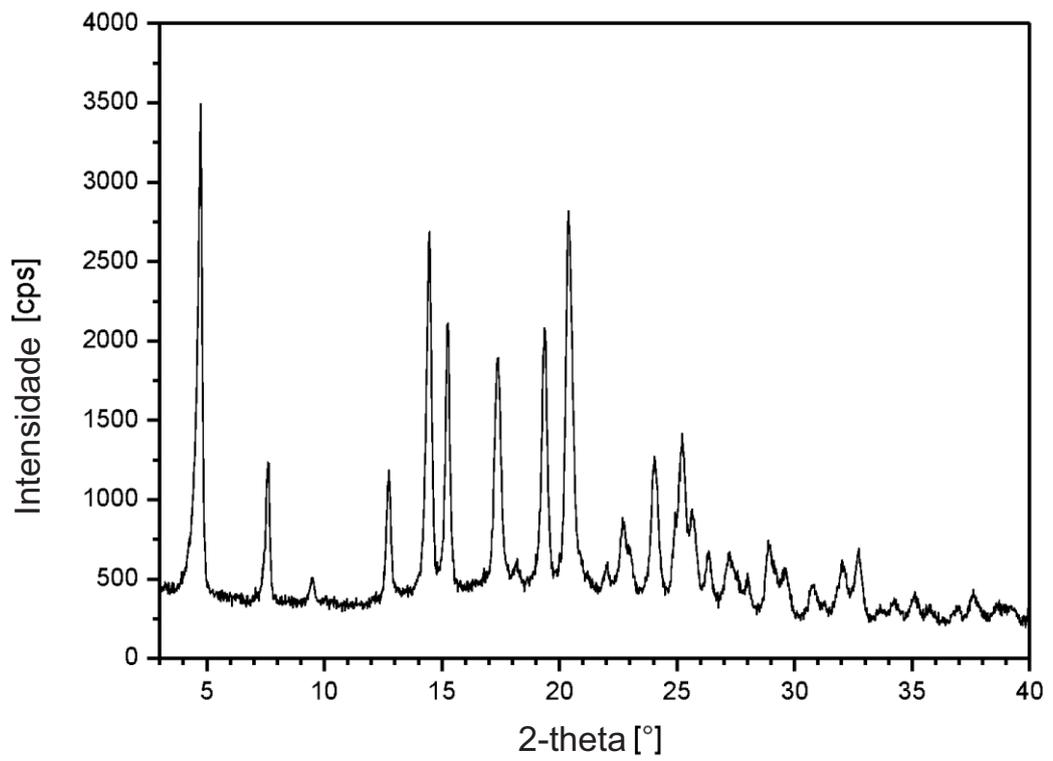


FIG. 6

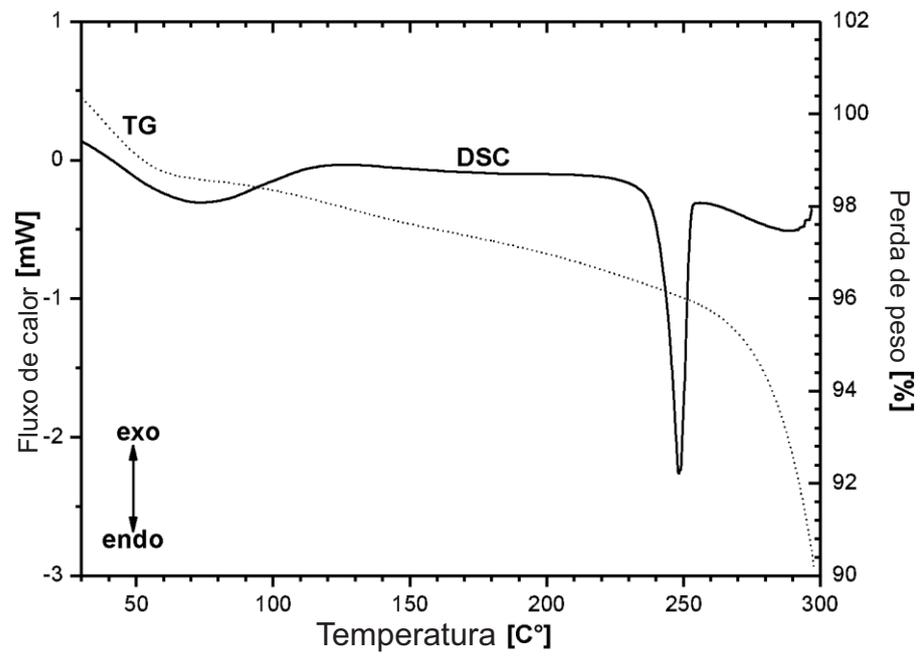


FIG. 7

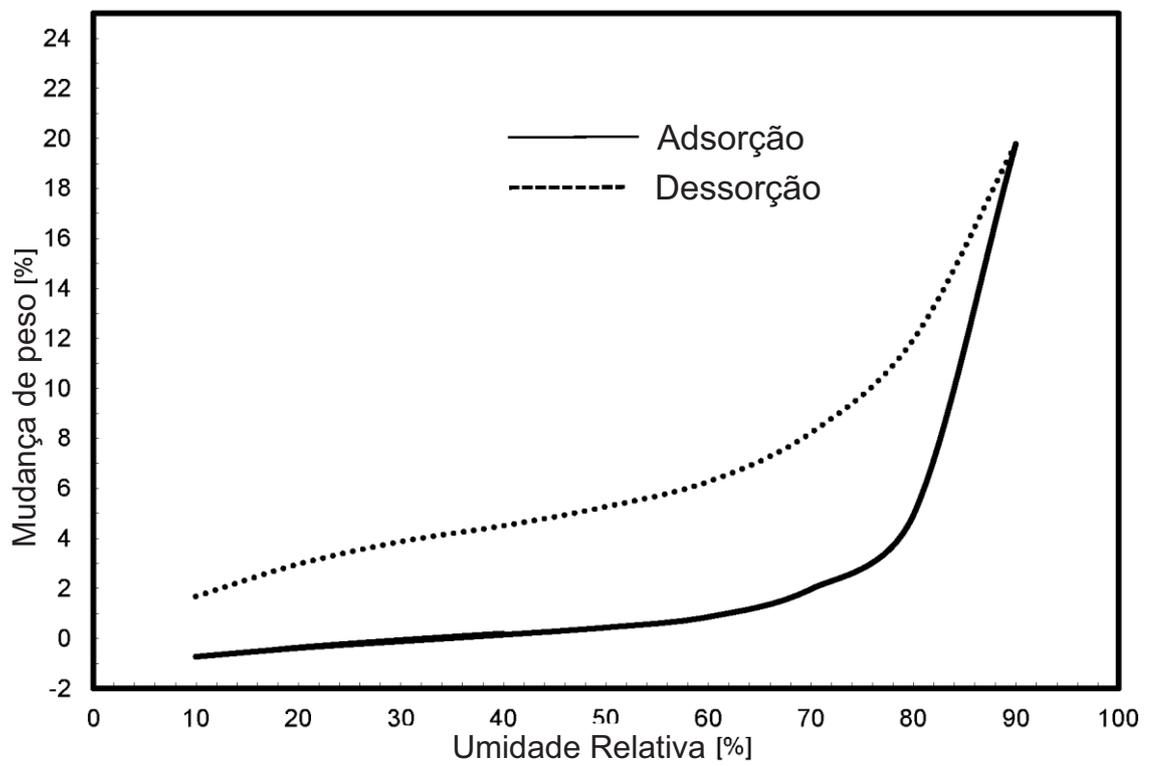


FIG. 8

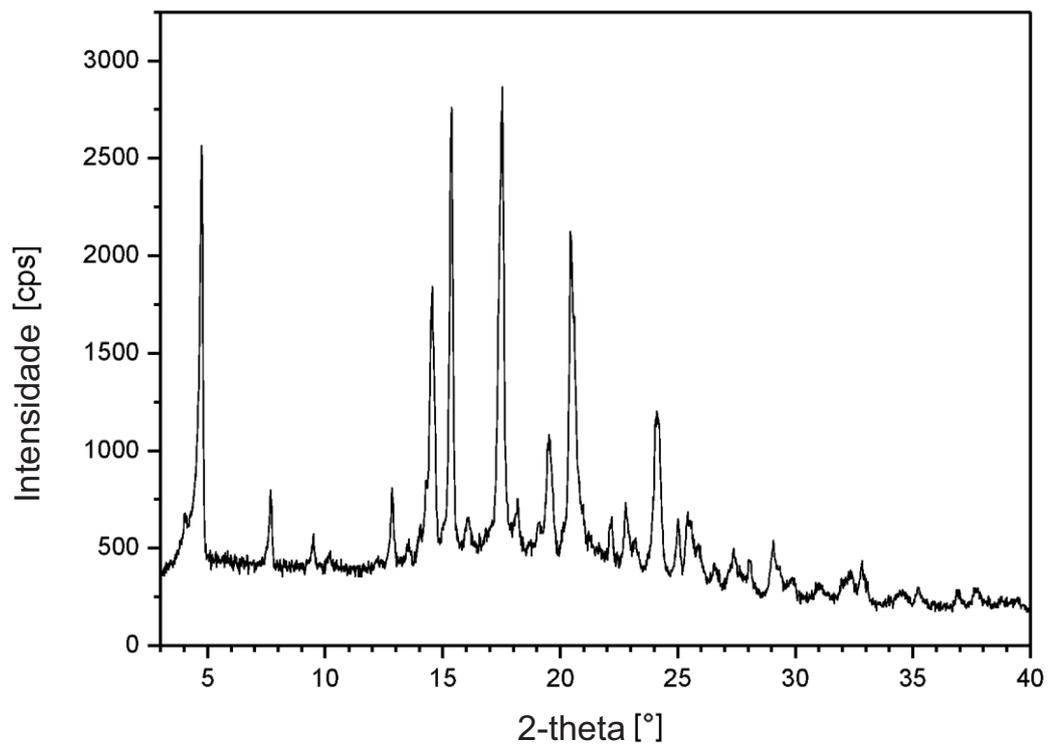


FIG. 9

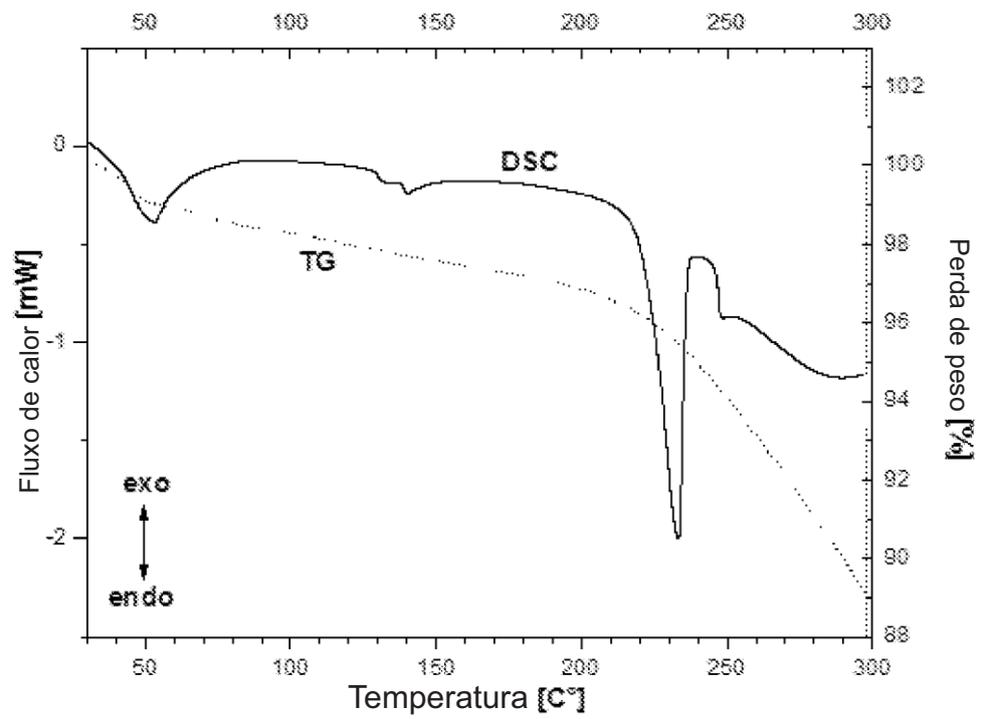


FIG. 10

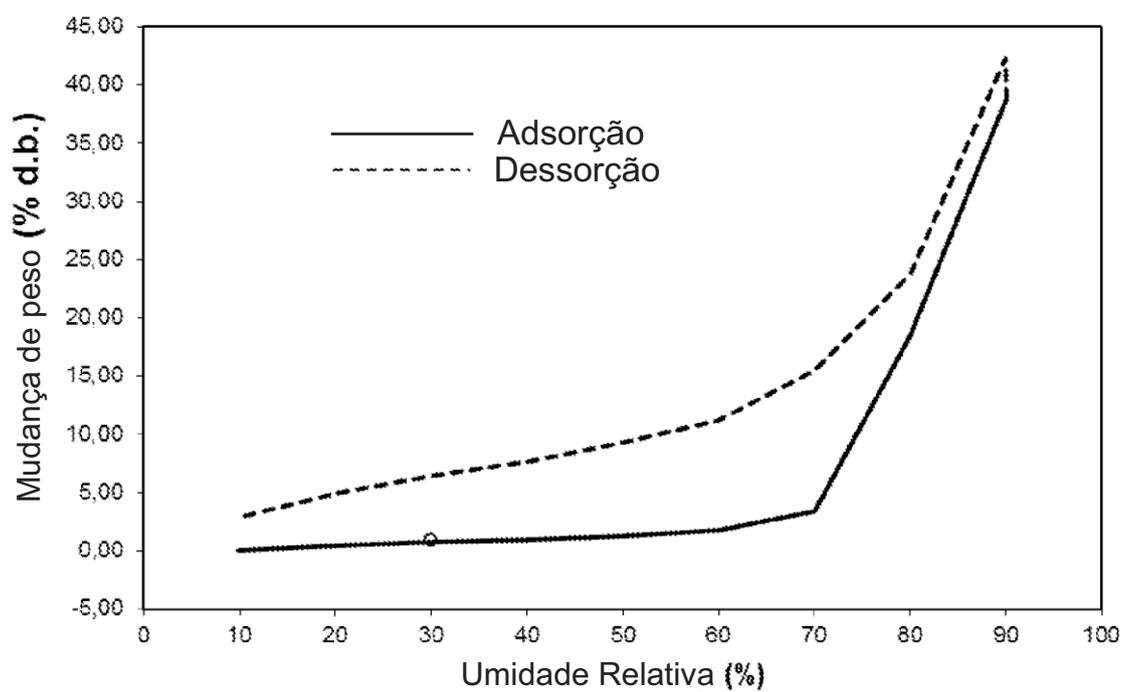


FIG. 11

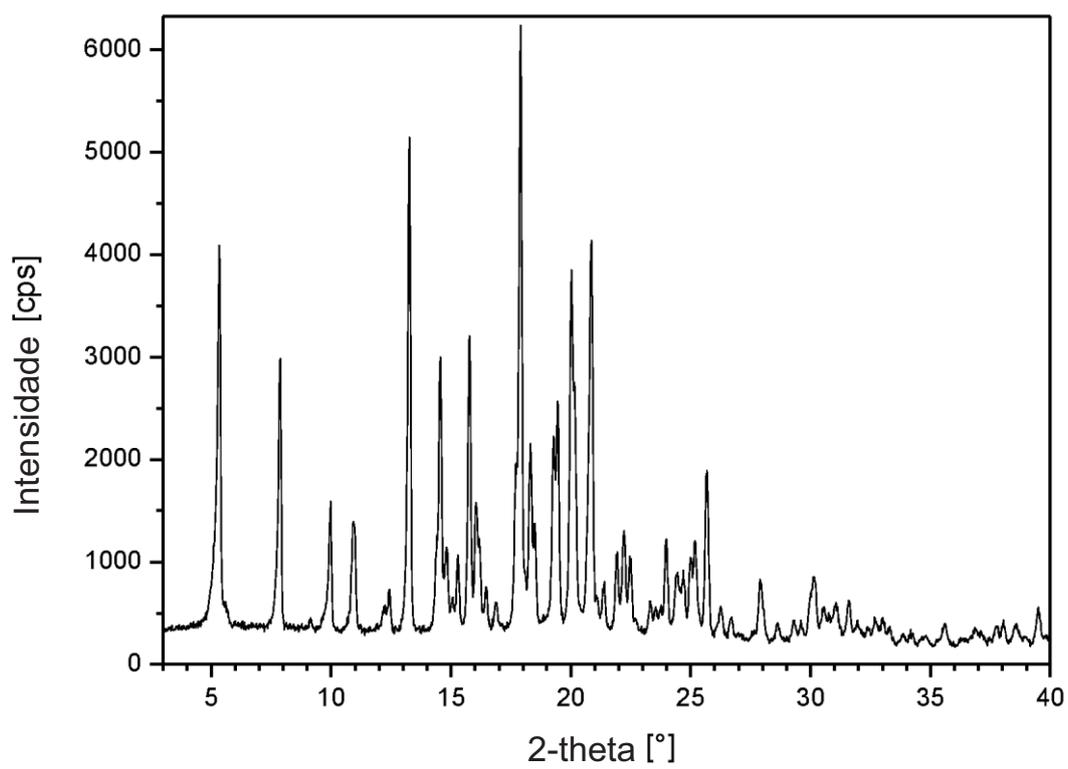


FIG. 12

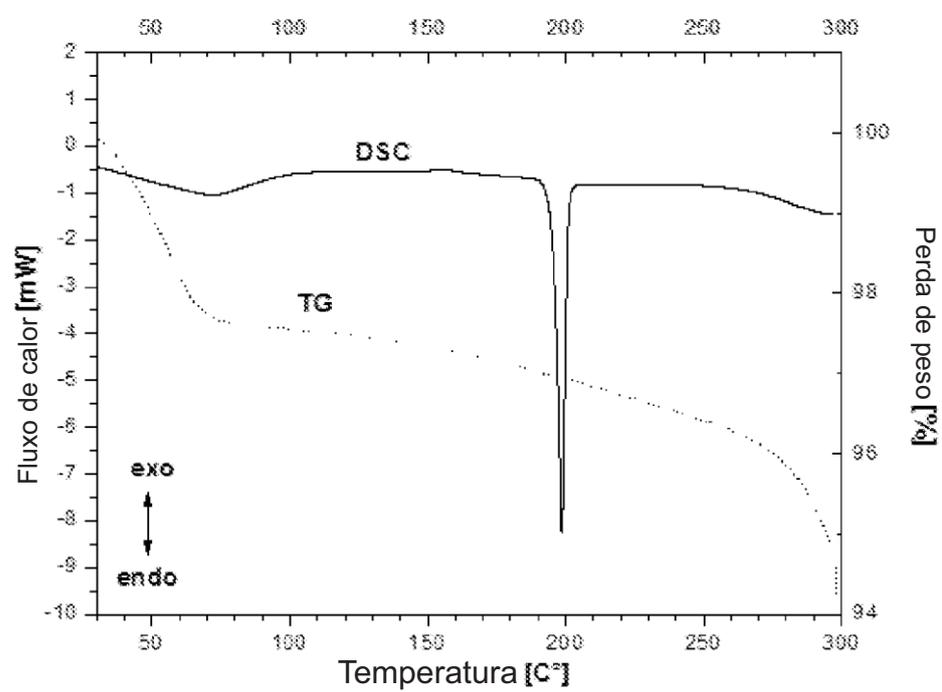


FIG. 13

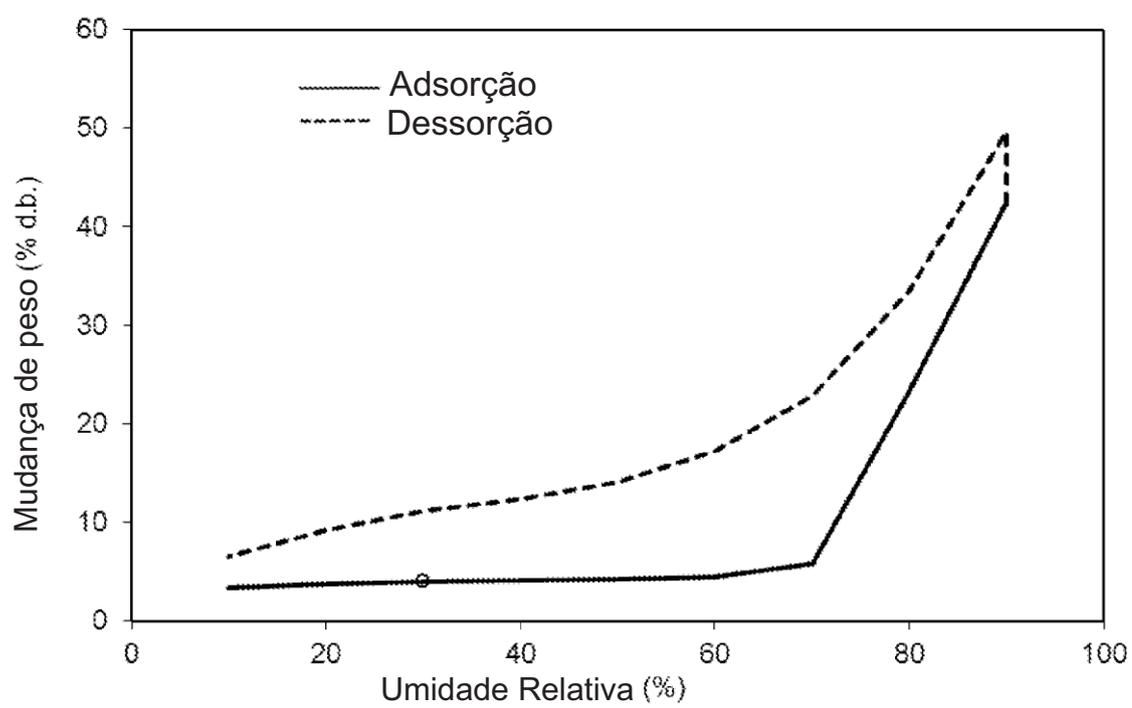


FIG. 14

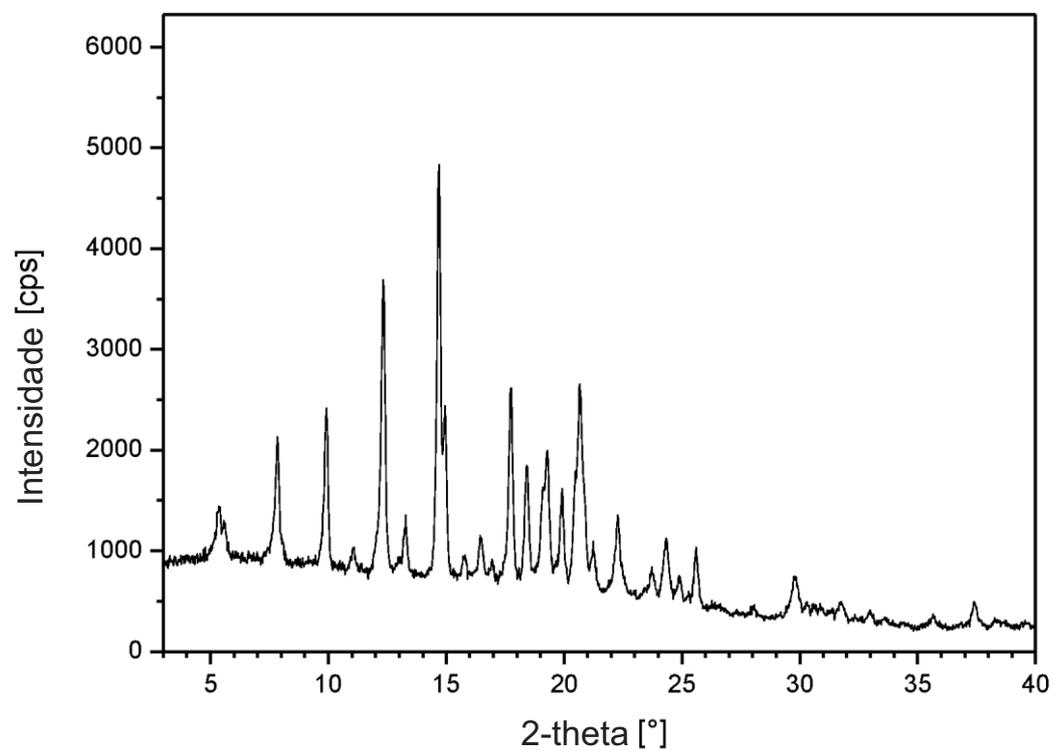


FIG. 15

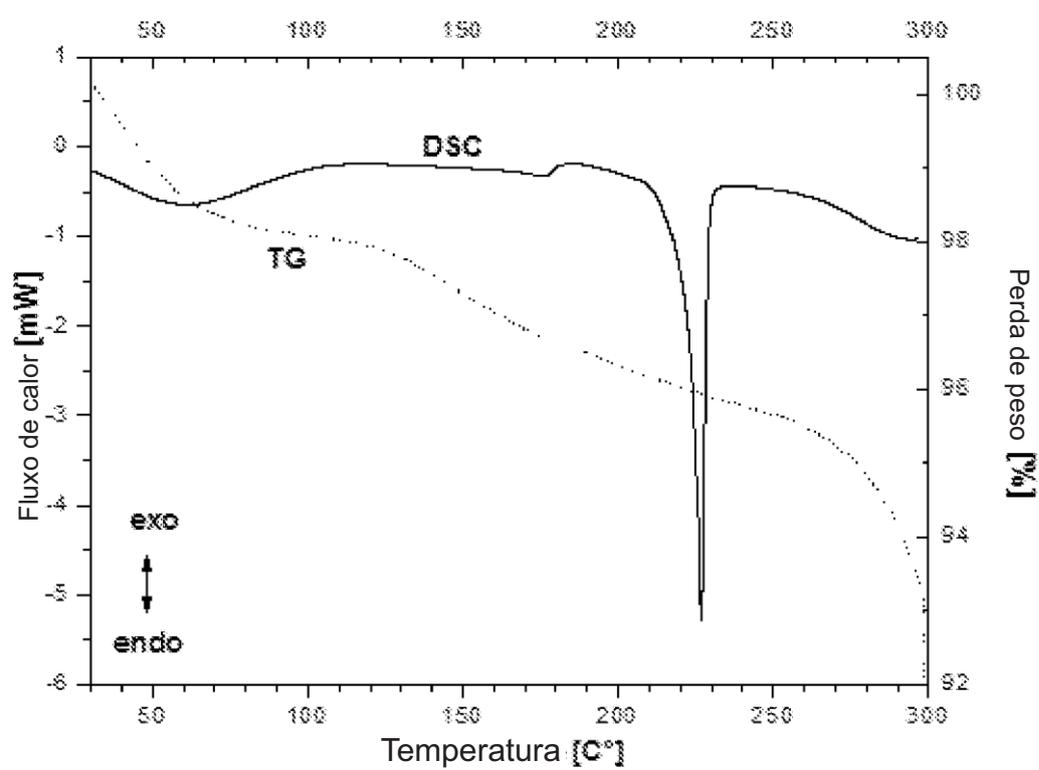
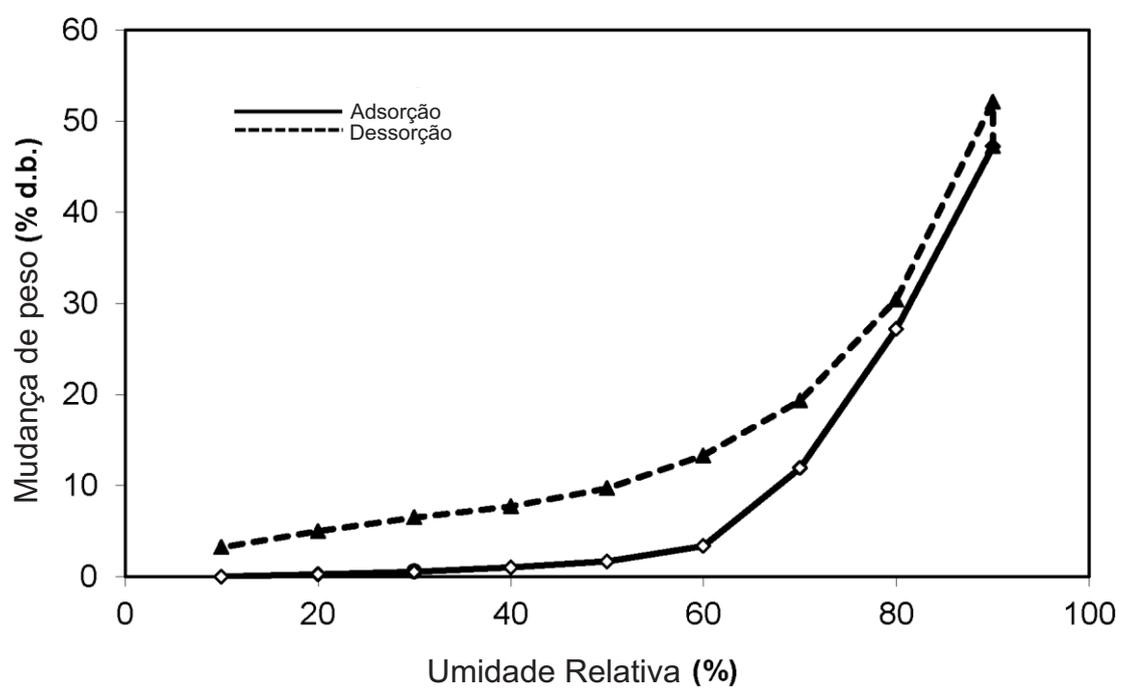


FIG. 16



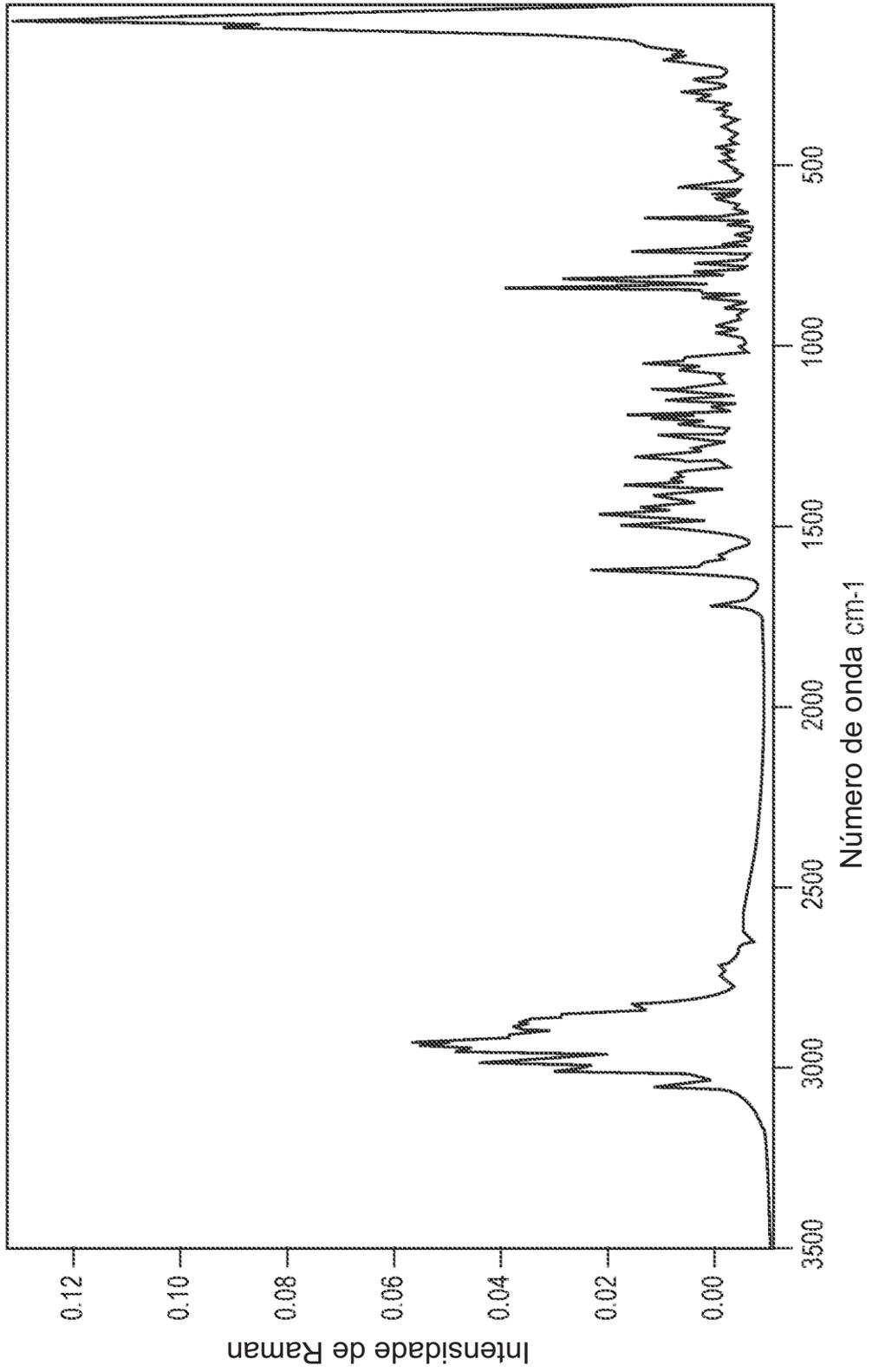


FIG. 17

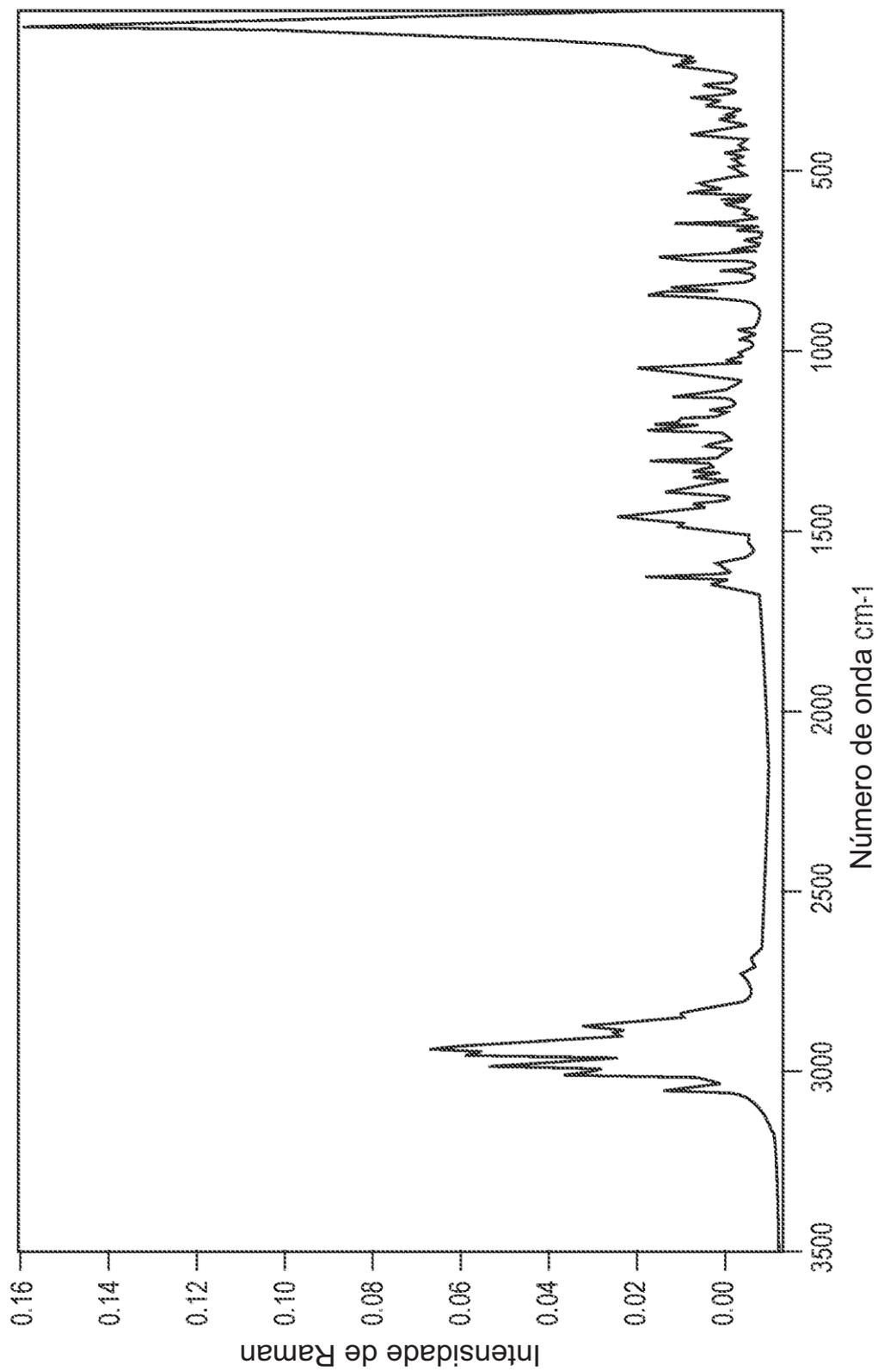


FIG. 18