



등록특허 10-2561692



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년07월28일
(11) 등록번호 10-2561692
(24) 등록일자 2023년07월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) *A61K 31/437* (2006.01)
A61K 47/10 (2017.01) *A61K 47/26* (2017.01)
A61K 9/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2022.08)
A61K 31/437 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7019802
- (22) 출원일자(국제) 2015년12월17일
심사청구일자 2020년11월24일
- (85) 번역문제출일자 2017년07월17일
- (65) 공개번호 10-2017-0096160
- (43) 공개일자 2017년08월23일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/066396
- (87) 국제공개번호 WO 2016/100677
국제공개일자 2016년06월23일
- (30) 우선권주장
62/093,801 2014년12월18일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문현
WO2015089139 A1
WO2013176970 A1
US20150158847 A1
US20100204246 A1

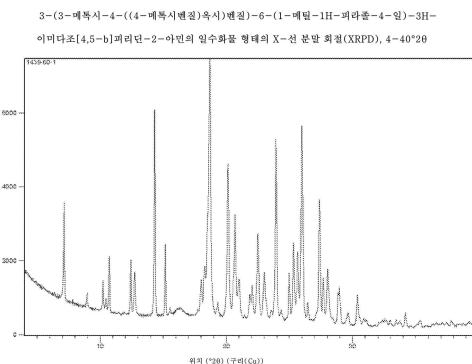
- (73) 특허권자
젠자임 코포레이션
미국 메사추세츠주 02141 캠브리지 워터 스트리트
450
- (72) 발명자
리버랜, 하비
미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에
이-505에이 코포레이트 드라이브 55 사노피 내
양, 등라이
미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에
이-505에이 코포레이트 드라이브 55 사노피 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 27 항

심사관 : 강신건

(54) 발명의 명칭 **트로포미오신-관련 키나제(TRK) 억제제의 약제학적 제형****(57) 요약**

트로포미오신-관련된 키나제 억제제("Trk 억제제")를 갖는 약제학적 제형이 개시된다. 약제학적 제형은 무수물 형태보다 개선된 특징을 나타내는 일수화물 형태로 미세결정성 혼탁 제형 중에, 및 연장 방출 제형 중에 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 포함한다. 연장 방출 약제학적 제형은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민-로딩된 미소구체를 포함한다.

대 표 도 - 도1

(52) CPC특허분류

A61K 47/10 (2013.01)

A61K 47/26 (2013.01)

A61K 9/0019 (2013.01)

C07B 2200/13 (2013.01)

(72) 발명자

필브룩, 씨. 마이클

미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에

이-505에이 코포레이트 드라이브 55 사노피 내

산토스, 마이클

미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에

이-505에이 코포레이트 드라이브 55 사노피 내

호, 크리스

미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에

이-505에이 코포레이트 드라이브 55 사노피 내

명세서

청구범위

청구항 1

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 결정형이며,

CuK_α 방사선을 사용하여 측정할 때 x-선 분말 회절 패턴이 하기 2θ 피크를 포함하는 결정형: 3.6, 7.1, 8.9, 10.4, 10.7, 12.4, 12.7 및 14.3.

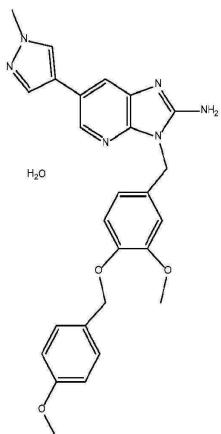
청구항 2

제1항에 따른 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 결정형 및

약제학적으로 허용되는 부형제

를 포함하는, 골관절염, 통증, 또는 골관절염과 관련된 통증을 치료하기 위한 약제학적 제형.

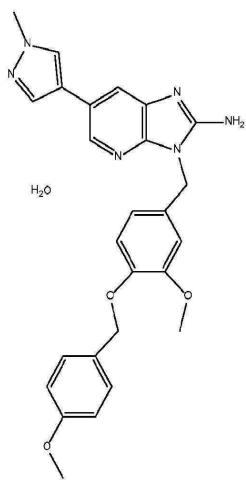
청구항 3



로 나타내어지는 화합물.

청구항 4

a. 하기 화학식에 따른 화합물:



, 및

b. 약제학적으로 허용되는 부형제

를 포함하는, 골관절염, 통증, 또는 골관절염과 관련된 통증을 치료하기 위한 약제학적 제형.

청구항 5

제4항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 부형제가 희석제를 포함하는 것인 약제학적 제형.

청구항 6

제5항에 있어서, 희석제가 말리톨, 해바라기 오일, 알긴산암모늄, 탄산칼슘, 락트산칼슘, 제이인산칼슘 무수물, 제이인산칼슘 이수화물, 제삼인산칼슘, 규산칼슘, 황산칼슘, 셀룰로오스(분말, 규화된 미세결정성), 셀룰로오스 아세테이트, 압축성 당, 정제 당(confectioner's sugar), 옥수수 전분 및 예비젤라틴화된 전분, 텍스트레이트, 텍스트린, 텍스트로스, 에리트리톨, 에틸셀룰로오스, 프력토스, 푸마르산, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 흡입 락토오스, 이소말트, 카올린, 락토오스(무수물, 일수화물 및 옥수수 전분, 일수화물 및 미세결정성 셀룰로오스, 분무 건조됨), 탄산마그네슘, 산화마그네슘, 말토덱스트린, 말토오스, 만니톨, 중간-쇄 트리글리세라이드, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리덱스트로스, 폴리메타크릴레이트, 시메티콘, 알긴산나트륨, 염화나트륨, 소르비톨, 전분(예비젤라틴화된, 살균 가능한 옥수수), 수크로오스, 당 스피어(sugar sphere), 설포부틸에테르 b-사이클로덱스트린, 활석, 트라가칸트, 트레할로오스, 및 자일리톨로부터 선택되는 것인 약제학적 제형.

청구항 7

제4항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 부형제가 혼탁제를 포함하는 것인 약제학적 제형.

청구항 8

제7항에 있어서, 혼탁제가 아카시아, 한천, 알긴산, 벤토나이트, 스테아르산칼슘, 카보머, 카복시메틸셀룰로오스(칼슘 및 나트륨), 카라기난, 셀룰로오스(미세결정성, 미세결정성 및 카복시메틸셀룰로오스 나트륨, 분말), 콜로이드성 이산화규소, 데스트린, 젤라틴, 구아검, 헥토라이트, 소수성 콜로이드 실리카, 하이드록시에틸 셀룰로오스, 하이드록시메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이프로멜로오스, 카올린, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 말티톨 용액, 중간-쇄 트리글리세라이드, 메틸셀룰로오스, 봉산페닐수은, 포스포리피드, 폴리카보필, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 포비돈 (폴리비닐파리돈), 프로필렌 글리콜 알기네이트, 사포나이트, 참깨유, 알긴산나트륨, 소르비탄 에스테르, 수크로오스, 트라가칸트, 비타민 E 폴리에틸렌 글리콜 석시네이트, 및 크산탄검으로부터 선택되는 것인 약제학적 제형.

청구항 9

제4항에 있어서, 약제학적으로 허용되는 부형제가 완충제를 포함하는 것인 약제학적 제형.

청구항 10

제9항에 있어서, 완충제가 아디프산, 암모니아 용액, 봉산, 탄산칼슘, 수산화칼슘, 락트산칼슘, 제삼인산칼슘, 시트르산 일수화물, 제이인산나트륨, 디에탄올아민, 글리신, 말레산, 말산, 메티오닌, 제일인산나트륨, 모노에탄올아민, 모노나트륨 글루타메이트, 인산, 시트르산칼륨, 아세트산나트륨, 탄산수소나트륨, 봉산나트륨, 탄산나트륨, 시트르산나트륨 이수화물, 수산화나트륨, 락트산나트륨, 및 트리에탄올아민으로부터 선택되는 것인 약제학적 제형.

청구항 11

제2항 및 제4항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 골관절염의 치료에 사용하기 위한 약제학적 제형.

청구항 12

제2항 및 제4항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 통증의 치료에 사용하기 위한 약제학적 제형.

청구항 13

제2항 및 제4항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 골관절염과 관련된 통증의 치료에 사용하기 위한 약제학적 제형.

청구항 14

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민-로딩된 미소구체

를 포함하는, 골관절염, 통증, 또는 골관절염과 관련된 통증을 치료하기 위한 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 15

제14항에 있어서, 미소구체가 중합체를 포함하는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 16

제15항에 있어서, 중합체가 폴리(D,L-락티드)를 포함하는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 17

제15항에 있어서, 중합체가 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 포함하는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 18

제15항에 있어서, 중합체가 폴리(D,L-락티드) 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 포함하는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 19

제16항에 있어서, 폴리(D,L-락티드)가 0.16 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 20

제17항에 있어서, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)가 0.14 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 21

제18항에 있어서,

폴리(D,L-락티드)가 0.16 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖고,

폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)가 0.14 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는 것인

연장 방출 약제학적 제형.

청구항 22

제18항에 있어서, 미소구체가 폴리(D,L-락티드) 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 9:1 비로 포함하는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 23

제18항에 있어서, 미소구체가 폴리(D,L-락티드) 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 9.5:0.5 비로 포함하는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 24

제14항에 있어서, 미소구체에 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민이 1% w/w 내지 99% w/w 로딩되는 것인 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 25

제14항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 골관절염의 치료에 사용하기 위한 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 26

제14항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 통증의 치료에 사용하기 위한 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 27

제14항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 골관절염과 관련된 통증의 치료에 사용하기 위한 연장 방출 약제학적 제형.

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민, 트로포미오신-관련 키나제 억제제("Trk 억제제"), 및 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태 - 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 일수화물의 양제학적 제형에 관한 것이다. 일수화물 형태는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 양제학적 제형으로 제조하는 것을 용이하게 하는 바람직한 특성을 갖는다.

- [0002] Trk 억제제 미세결정성 용액 약제학적 제형은 무수물 형태보다 개선된 특징을 나타내는 일수화물 형태로 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 포함한다.
- [0003] 본 발명은 또한 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민-로딩된 미소구체를 포함하는, Trk 억제제 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 연장 방출 약제학적 제형에 관한 것이다.
- [0004] 본 발명은 추가로 염증성 질환, 자가면역 질환, 골 대사 결합 및 암을 포함하는 질환의 치료, 뿐만 아니라 골관절염(OA), 통증, 수술후 통증 및 OA와 관련된 통증의 치료를 위한 이들 약제학적 제형의 용도에 관한 것이다.
- [0005] Trk 억제제 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민, 및 Trk 억제제의 제조 방법은, 본원에 참조로 포함된, 각각 명칭이 트로포미오신-관련 키나제(TRK) 억제제(Tropomyosin-Related Kinase (TRK) Inhibitors)인, 국제 특허 출원 제PCT/US14/69469호 및 미국 특허 출원 제14/564,773호에 개시되어 있다.
- [0006] 관련 분야
- [0007] 해당 없음.

발명의 내용

- [0008] 본 발명의 제1 양태는 Trk 억제제 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 결정형에 관한 것이며, 여기서 x-선 분말 회절 패턴은 CuK_a 방사선을 사용하여 측정된 다음의 2θ 피크를 포함한다: 7.14, 8.89, 10.22, 12.42, 12.73 및 14.31.
- [0009] 본 발명의 제2 양태는 Trk 억제제 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 결정형 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 제형에 관한 것이며, 여기서 x-선 분말 회절 패턴은 CuK_a 방사선을 사용하여 측정된 다음의 2θ 피크를 포함한다: 7.14, 8.89, 10.22, 12.42, 12.73 및 14.31.
- [0010] 본 발명의 제3 양태는 Trk 억제제 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태에 관한 것이다.
- [0011] 본 발명의 제4 양태는 Trk 억제제 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 제형에 관한 것이다.
- [0012] 본 발명의 제5 양태는 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민-로딩된 미소구체를 포함하는 연장 방출 약제학적 제형에 관한 것이다.

- [0013] 제6 양태에서, 본 발명은 하기를 포함하는 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 결정형의 제조 방법에 관한 것이다:
- 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 용매와 혼합하여 혼탁액을 형성하는 단계;
 - 현탁액을 교반시키는 단계;
 - 여과에 의해 혼탁액 중 고형물을 수집하는 단계; 및
 - 고형물을 건조시키는 단계.

- [0018] 제7 양태에서, 본 발명은 하기를 포함하는 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 제조 방법에 관한 것이다:
- 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 용매와 혼합하여 혼탁액을 형성하는 단계;

- [0020] b. 혼탁액을 교반시키는 단계;
- [0021] c. 여과에 의해 혼탁액 중 고형물을 수집하는 단계; 및
- [0022] d. 고형물을 건조시키는 단계.
- [0023] 제8 양태에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 용매 추출에 의해 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐을 제조하는 방법에 관한 것이다:
- [0024] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 용해시켜 약물 용액을 형성하는 단계;
- [0025] b. 약물 용액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 형성하는 단계;
- [0026] c. 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 수용액에 혼합하여 에멀젼을 형성하는 단계;
- [0027] d. 탈이온수를 에멀젼에 첨가하는 단계;
- [0028] e. 용매 추출에 의해 에멀젼으로부터 미소구체를 형성하는 단계; 및
- [0029] f. 계면활성제 용액을 사용하여 생성된 미소구체를 시빙(sieving)하는 단계.
- [0030] 그리고 제9 양태에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 용매 추출에 의해 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐을 제조하는 방법에 관한 것이다:
- [0031] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 분산시켜 약물 혼탁액을 형성하는 단계;
- [0032] b. 약물 혼탁액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 형성하는 단계;
- [0033] c. 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 수용액과 혼합하여 에멀젼을 형성하는 단계;
- [0034] d. 탈이온수를 에멀젼에 첨가하는 단계;
- [0035] e. 용매 추출에 의해 에멀젼으로부터 미소구체를 형성하는 단계; 및
- [0036] f. 계면활성제 용액을 사용하여 생성된 미소구체를 시빙하는 단계.
- [0037] 제11 양태에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 분무 건조에 의해 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐을 제조하는 방법에 관한 것이다:
- [0038] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 용해시켜 약물 용액을 형성하는 단계;
- [0039] b. 약물 용액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 형성하는 단계; 및
- [0040] c. 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 분무기를 거쳐 건조기로 펌핑하여 구형 입자를 형성하는 단계.
- [0041] 제12 양태에서, 본 발명은 하기를 포함하는, 분무 건조에 의해 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐을 제조하는 방법에 관한 것이다:
- [0042] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 분산시켜 약물 혼탁액을 형성하는 단계;
- [0043] b. 약물 혼탁액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 형성하는 단계; 및

[0044]

c. 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 분산물을 분무기를 거쳐 건조기로 펌핑하여 구형 입자를 형성하는 단계.

도면의 간단한 설명

[0045]

도 1: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 X-선 분말 회절(XRPD), 4° 2θ 내지 40° 2θ. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 XRPD는 CuK_α를 사용하여 측정된 7.14, 8.89, 10.22, 12.42, 12.73 및 14.31 2θ 피크의 독특한 피크를 나타낸다.

도 2: 10°C/분으로 가열된, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 시차 주사 열량계(DSC) 및 열 중량 분석(TGA) 서모그램. DSC 서모그램은 76.72°C, 160.13°C 및 195.78°C에서 3개의 열 이벤트를 나타내며, TGA 서모그램은 25°C 내지 100°C에서 3.7% 중량 손실을 나타낸다.

도 3: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 결정 구조. Trk 억제제의 일수화물 형태의 결정 구조를 보여준다.

도 4: 단결정 구조로부터 계산된 XRPD 패턴과 실험적 XRPD 패턴의 중첩. 이 도면은 단결정 구조로부터 계산된 분말 패턴과 실험적 분말 패턴의 중첩을 보여준다. 강력한 매칭도는 단결정 구조가 별크 물질임을 지시하는 것으로 시사된다.

도 5: IVR 프로파일에서 API 로딩 효과 - 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H 및 20% API/9:1 R202H:752H 미소구체. 이 도면은 다양한 조성의 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 로딩의 효과를 비교한다.

도 6: 16% API/9:1 R202H:752H 및 20% API/9:1 R202H:752H 미소구체의 DSC 서모그램. DSC 서모그램은, 20% 미소구체가 130°C 내지 150°C 사이에서 용융 흡열을 나타내어 표면 약물 결정의 존재가 확인된다는 것을 입증한다.

도 7: 16% API/9:1 R202H:752H 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1500X). 16% 약물-로딩된 미소구체는 약물 결정을 보여주지 않으며, 이는 약물이 무정형임을 나타낸다.

도 8: 20% API/9:1 R202H:752H 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1500X). 20% 약물-로딩된 미소구체는 표면 약물 결정을 보여준다.

도 9: IVR 프로파일에서 API 로딩 효과 - 15% API/R202H, 17% API/R202H 및 19% API/R202H 미소구체. 이 도면은 다양한 조성의 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 로딩의 효과를 비교한다.

도 10: IVR 프로파일에서 API 로딩 효과 - 16% API/9.5:0.5 R202H:752H, 18% API/9.5:0.5 R202H:752H 및 20% API/9.5:0.5 R202H:752H 미소구체. 이 도면은 다양한 조성의 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 로딩의 효과를 비교한다.

도 11: IVR 프로파일에서 중합체 블렌드 효과 - 16% API/R202H, 16% API/9.0:0.5 R202H:RG752H 및 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체. 이 도면은 다양한 조성의 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 중합체 블렌드의 효과를 비교한다.

도 12: IVR 프로파일에서 중합체 블렌드 효과 - 16% API/R202H, 16% API/9.5:0.5 R202H:RG502H 및 16% API/9:1 R202H:RG502H 미소구체. 이 도면은 다양한 조성의 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 중합체 블렌드의 효과를 비교한다.

도 13: 180일 동안 0차 IVR 프로파일을 나타내는 제형 - 15% API/9:1 R203H:RG752H 및 16% API/9.5:0.5 R202H:RG502H 미소구체. 9:1 비의 R203H:752H 중합체 중 15% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 사용하여 제조된 미소구체, 및 9.5:0.5 비의 R202H:RG502H 중합체 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 사용하여 제조된 미소구체는 6개월에 걸쳐 슈도(pseudo) 0차 방출 프로파일을 나타냈

다.

도 14: IVR 프로파일에서 제제 종 공-용매 시스템의 효과 - 16% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체 - 9:1 DCM:MeOH, 9:0.5:0.5 DCM:MeOH:BA, 9.5:0.05 DCM:BA, 9:1 DCM:BA. 이 도면은 16% 약물-로딩 및 9:1 R203H:RG752H의 중합체 블렌드를 갖는 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 미소구체의 제조에 사용된 공-용매 시스템의 효과를 비교한다.

도 15: IVR 프로파일에서 API 로딩 증가에 따른 DCM:BA 공-용매 시스템의 효과 - 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40% API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H 미소구체. 이 도면은 다양한 중합체 블렌드를 갖는 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 약물-로딩의 증가에 따른 미소구체의 제조에 사용된 공-용매 시스템의 효과를 비교한다.

도 16: 미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정으로 제조된 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1500X). 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 혼탁액을 캡슐화하여 제조된 미소구체는 표면에 포매된 약물 결정의 존재로 인해 거친 표면 질감을 갖는 구형이었다.

도 17: IVR 프로파일에서 미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정의 효과 - 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.6 mL EA, 25% API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 3.25 mL EA, 25% API/R203H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30% 미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 40% 미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30% 미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30% 미세유체화된 API/R202S 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30% 미세유체화된 API/R203S 39 mL 5% PVA + 2.0 mL 미소구체. 이 도면은 다양한 약물-로딩을 갖는 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 미소구체의 제조에 사용되는 미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정을 비교한다.

도 18: 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체, 용매 추출의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X). 용매 추출 미소구체는 매끈한 표면 질감을 갖는 구형이었다.

도 19: 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체, 분무 건조의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X). 분무 건조된 미소구체는 약간의 표면 질감을 갖는 구형이었다.

도 20: IVR 프로파일에서 미세캡슐화 공정의 효과 - 용매 추출에 의한 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체(OW), 분무 건조에 의한 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체(20% 및 22.5% 중합체) 및 분무 건조에 의한 16% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체(22.5% 중합체). 이 도면은 용매 추출 및 분무 건조에 의해 제조된 16% 약물-로딩된, 9:1 R202H:RG752H 미소구체의 시험관내 방출 프로파일을 비교한다.

도 20: IVR 프로파일에서 미세캡슐화 공정의 효과 - 용매 추출에 의한 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체(OW), 분무 건조에 의한 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체(20% 및 22.5% 중합체), 및 분무 건조에 의한 16% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체(22.5% 중합체). 이 도면은 다양한 제형의 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 미세캡슐화 공정의 효과를 나타낸다.

도 21: 분무 건조된 16% API/1:1 R202H:R203H/무 첨가제 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X). 16% API/1:1 R202H:R203H/무 첨가제의 분무 건조된 미소구체가 주어진다.

도 22: 분무 건조된 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg PEG 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X). 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25mg PEG의 분무 건조된 미소구체가 주어진다.

도 23: 분무 건조된 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사며 407 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X). 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사며 407의 분무 건조된 미소구체가 주어진다.

도 24: IVR 프로파일에서 % 10kDa PEG 또는 1% 폴록사며 407의 효과 - 16% API/1:1 R202H:R203H/무 첨가제, 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg PEG, 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사며 407. 이 도면은 분무 건조에 의해 제조된 16% API/1:1 R202H:R203H/무 첨가제 미소구체, 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg PEG 미소구체, 및 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사며 407의 시험관내 방출 프로파일을 비교한다.

도 25: 생체내(랫트) IVR 프로파일 - 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체. 이 도면은 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체에 대해 대략 3개월 내지 4개월 및 5개월 내지 6개월에 걸쳐 생체내에서 거의-0차 방출을 나타낸다.

도 26: 시간 경과에 따라 남아있는 [¹⁴C] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-

일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민(랫트 무릎 관절) - 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 203H:RG752H 미소구체. 뱃트 무릎 관절에 관절내 투여 후, 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체는 5개월 내지 6개월에 걸쳐 약물 방출을 나타내었으며; 16% API/9:1 202H:RG502H는 5개월 후 관절에 12%가 남아있음을 나타내었고, 15% API/9:1 R203H:RG752H는 6개월 후 30%의 약물이 남아있음을 나타내었다.

도 27: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 농도-시간 프로파일(랫트 혈액) - 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체. 이 도면은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 미소구체의 관절내 투여 후 혈중 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

도 28: IVR 프로파일 - 16% API/9:1 202H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H 및 40% API/203H 미소구체

도 29: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 농도-시간 프로파일 - 16% API/9:1 202H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H 및 40% API/203H 미소구체

도 30: 형태 1 내지 4(무수 및 수화물)의 측정되거나 모의된 XRPD. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 무수 및 수화물 형태의 XRPD가 주어진다.

도 31: 형태 5(에탄올)의 XRPD. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 형태 5(에탄올)의 XRPD가 주어진다.

도 32: 형태 9(아세톤)의 XRPD. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 형태 9(아세톤)의 XRPD가 주어진다.

도 33: 형태 10(아세톤) 및 형태 9(아세톤)의 XRPD 비교. 이 도면은 아세톤에서 얻어진 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 2개의 형태의 비교를 제공한다.

도 34: 형태 11(아세토니트릴)의 XRPD. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 형태 11(아세토니트릴)의 XRPD가 주어진다.

도 35: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 고체 결정상. 이 도면은 실험에서 얻어진 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 10개의 결정형의 비교를 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046]

본 발명은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민, 트로포미오신-관련 키나제 억제제("Trk 억제제"), 및 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태의 약제학적 제형에 관한 것이다.

[0047]

Trk 억제제 미세결정성 용액 약제학적 제형은 무수물 형태보다 개선된 특징을 나타내는 일수화물 형태로 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 포함한다.

[0048]

본 발명은 또한 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 미소구체를 포함하는, Trk 억제제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 연장 방출 약제학적 제형에 관한 것이다.

[0049]

본 발명은 추가로 염증성 질환, 자가면역 질환, 골 대사 결합 및 암을 포함하는 질환의 치료, 뿐만 아니라 골관절염(OA), 통증, 수술후 통증 및 OA와 관련된 통증의 치료를 위한 이들 약제학적 제형의 용도에 관한 것이다.

[0050]

본 발명의 Trk 억제제의 약제학적 제형은 트로포미오신-관련 키나제 A(TrkA), 트로포미오신-관련 키나제 B(TrkB), 트로포미오신-관련 키나제 C(TrkC) 및 c-FMS(집락 자극 인자-1(CSF-1)에 대한 세포 수용체)를 억제한다. 트로포미오신-관련 키나제(Trk)는 뉴트로핀(NT)이라 불리는 가용성 성장 인자에 의해 활성화되는 고친화성 수용체이다. 1형 신경영양 티로신 키나제 수용체로도 불리는 TrkA는 신경 성장 인자(NGF)에 의해 활성화된다. TrkB는 뇌 유래 성장 인자 및 NT-4/5에 의해 활성화된다. TrkC는 NT3에 의해 활성화된다. Trk의 활성화는 세포 증식, 생존, 혈관형성 및 전이를 포함하는 세포 신호전달에 연루되는 하류 키나제의 활성화로 이어진다. Trk는

OA를 포함하는 다수의 질환에 연루되어 있었다.

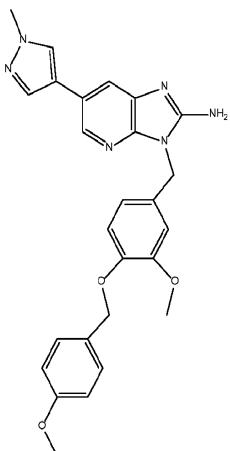
[0051] 본 발명의 Trk 억제제의 약제학적 제형은 또한 c-FMS(집락 자극 인자-1(CSF-1)에 대한 세포 수용체)를 억제할 수 있다. c-FMS는 대식세포 기능의 조절에서 역할을 하고, 염증성 질환, 자가면역 질환, 골 대사 결함 및 암에서 역할을 하는 것으로 여겨진다(Burns and Wilks, 2011, *Informa Healthcare*).

[0052] OA는 만성 통증 및 관절 연골의 파괴를 특징으로 하는 만연된 쇠약성 관절 질환이다. 최근의 임상 시험은 OA 무릎 통증에서 NGF를 차단하는 역할을 확인했으며, 이는 항-NGF 차단 항체로의 정맥내 주입에 의해 치료된 환자에서의 유의미한 통증 완화 및 높은 반응자율(responder rate)을 입증했다(Lane, 2010, *N Engl J Med*). 그러나, 이러한 양상은 NGF 신호전달의 전신적 억제로 인해 부작용 위험을 증가시킬 수 있다(항-신경 성장 인자 제제와 관련된 안전성 사안을 논의하기 위한 FDA 관절염 자문 위원회(FDA Arthritis Advisory Committee Meeting to Discuss Safety Issues Related to the Anti-Nerve Growth Factor Agents); <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/Calendar/ucm286556.htm>) 따라서, NGF-매개된 OA 통증의 표적화에 대한 신규한 접근법은 NGF에 대한 고-친화성 수용체인, Trk 억제제, 구체적으로 TrkA 억제제의 개발에 의해 채용되었다(Nicol, 2007, *Molecular Interv*). 본 발명의 Trk 억제제는 국소로 전달되어 정맥내 항-NGF 투여에서 관찰되는 전신성 분포를 피한다. 이러한 치료 전략은 향상된 투약 편리성, 뿐만 아니라 비-국소 부위에서 생리적으로 필요한 NGF 신호전달의 유지(즉, 감각/교감 신경 유지, 혈관형성)를 가능하게 함으로써 더 큰 안정성을 제공한다.

[0053] 본 발명은 Trk 억제제의 약제학적 제형, 및 Trk 억제제의 약제학적 제형으로 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 더 특히, 본 발명은 Trk 억제제의 약제학적 제형으로 통증, OA, OA와 관련된 통증, 수술후 통증, 염증성 질환, 자가면역 질환, 골 대사 결함 및 암을 치료하는 방법에 관한 것이다. Trk 억제제의 약제학적 조성물은 미세 결정성 혼탁액으로서 및 연장 방출 제형으로의 국소 전달을 위한 주사를 포함하는, 다수의 투여 형태로 투여될 수 있다. Trk 억제제는 Trk 억제제를 포함하는 약제학적 조성물 중의 활성 약제학적 성분이다. Trk 억제제는 또한 통증, OA 및 OA와 관련된 통증의 치료를 포함하는, 질환의 치료를 위한 다른 활성 성분과 함께 공-투여되고 그리고/또는 공-제형화될 수 있다.

[0054] 본 발명의 Trk 억제제의 약제학적 제형은 활성 약제학적 성분으로서 하기 화학식 I로 표시되는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 포함한다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민은 GZ389988로도 공지되어 있다.

[화학식 I]



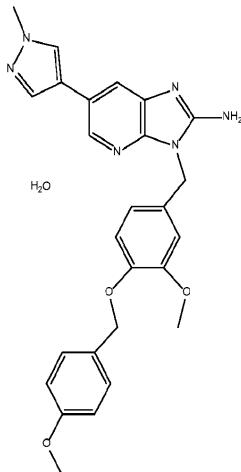
[0056]

[0057] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민(GZ389988)

[0058] 본 발명이 해결해야 할 문제는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 포함하는 조성물을 제형화하는데 있어서의 어려움이다. 이러한 문제에 대한 해결책은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태가 무수물 형태와 비교하여 더 우수한 물리적 안정성 및 더 느린 수성 용해를 포함하는, 개선된 물리적 및 화학적 특성을 갖는다는 발견에 있다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-

일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 무수물 형태는 용액에서 비교적 불안정하여 약제학적 조성물로 제형화될 때 문제가 발생했다. 무수물 형태는 수화물로의 전환을 포함하여, 특정 조건 하에 다양한 고체 형태 변화를 나타낸다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태는 추가적인 안정성을 허용하며, 장기간 저장시 및 가공 동안 다형성 전환을 피하고 물리적 안정성을 향상시키는데 필수적이다. 추가로, 일수화물 형태에 의해 수용액 중에서 느린 용해가 관찰되었다. GZ389988A로도 공지된, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태는 하기 화학식 II로 표시된다.

[0059] [화학식 II]



[0060]

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태 (GZ389988A)

[0062]

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 분자량은 470.54 g/mol이며, 원소식은 $C_{26}H_{26}N_6O_3$ 이다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태는 황백색(off-white) 분말이며, 편광 현미경 하에 미세 바늘 또는 섬유-유사 입자인 것으로 보인다.

[0063]

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태는 실시예 1에 따라서 합성된다.

[0064]

본 발명의 특정 구현예는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 결정형이며, 여기서 x-선 분말 회절 패턴(XRPD)은 CuK_{α} 방사선을 사용하여 측정된 다음의 2θ 피크를 포함한다: 7.14, 8.89, 10.22, 12.42, 12.73 및 14.31. XRPD 계산치를 얻는 방법에 대한 상세한 내용은 실시예 1에 제공된다. 본 발명의 또 다른 구현예는 Trk 억제제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 결정형 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 제형이다.

[0065]

본 발명의 또 다른 구현예는 에탄올, 아세톤, 아세토니트릴 및 혼합 용매를 포함하는 다른 용매 중 Trk 억제제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 다른 결정 형태에 관한 것이다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 다른 형태 및 XRPD 계산치를 얻는 방법에 대한 상세한 내용은 실시예 4에서 제공된다.

[0066]

본 발명은 또한 화학식 I로 표시되는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태를 포함하는 조성물, 및 Trk 억제제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 약제학적 제형에 관한 것이다.

[0067]

Trk 억제제의 약제학적 제형은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함할 수 있다. Trk 억제제의 약제학적 제형의 투여 방식은 경구, 설하, 정맥내, 피하, 근육내, 관절내, 경피, 직장, 흡입, 경막내/뇌실내, 및 국소를 포함한다. 따라서, Trk 억제제의 약제학적 제형은, 예를 들면, 캡슐, 정제, 분말, 용액, 혼탁액,

예멀젼, 동결건조 분말, 또는 주사 가능한 마이크로캡슐을 포함하는 연장 방출 제형으로 제형화될 수 있다. Trk 억제제의 약제학적 제형에 사용되는 부형제는 Trk 억제제의 약제학적 제형이 의도되는 투여 경로에 의존적일 것이다.

[0068] 적합한 부형제는 무기 물질 또는 유기 물질, 예를 들면, 희석제, 용매, 젤라틴, 알부민, 락토오스, 전분, 안정화제, 용융제(melting agent), 유화제, 혼탁제, 염 및 버퍼를 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다. 용액 또는 혼탁액과 같이 관절내 제형에 적합한 약제학적으로 허용되는 부형제는 상업적으로 이용가능한 불활성 젤 또는 액체를 포함하지만, 이들에 제한되지 않는다.

[0069] 낮은 용해도의 Trk 억제제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민, 및 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태가 주어진다면, 혼탁제가 활성 약제학적 성분으로서 Trk 억제제를 포함하는 관절내 주사를 위한 미세결정성 혼탁 제형을 제조하는데 필요하다. 흔히 사용되는 약제학적으로 허용되는 혼탁제는 다음을 포함한다: 아카시아, 한천, 알긴산, 벤투나이트, 스테아르산칼슘, 카보머, 카복시메틸셀룰로오스(칼슘 및 나트륨), 카라기난, 셀룰로오스(미세결정성, 미세결정성 및 카복시메틸셀룰로오스 나트륨, 분말), 콜로이드성 이산화규소, 데스트린, 젤라틴, 구아검, 헥토라이트, 소수성 콜로이드 실리카, 하이드록시에틸 셀룰로오스, 하이드록시메틸 셀룰로오스, 하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이프로멜로오스, 카올린, 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 말티톨 용액, 중간-쇄 트리글리세라이드, 메틸셀룰로오스, 봉산페닐수은, 포스포리피드, 폴리카보필, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 지방산 에스테르, 포비돈(폴리비닐파롤리돈), 프로필렌 글리콜 알기네이트, 사포나이트, 참깨유, 알긴산나트륨, 소르비탄 에스테르, 수크로오스, 트라가칸트, 비타민 E 폴리에틸렌 글리콜 석시네이트, 및 크산탄검(Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition).

[0070] 완충제가 또한 관절내 투여를 위한 용액의 제형에 사용되며, 여기서 활성 성분은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민, Trk 억제제의 일수화물 형태이다. 약제학적으로 허용되는 완충제는 다음을 포함한다: 아디프산, 암모니아 용액, 봉산, 탄산칼슘, 수산화칼슘, 락트산칼슘, 제삼인산칼슘, 시트르산 일수화물, 제이인산나트륨, 디에탄올아민, 글리신, 말레산, 말산, 메티오닌, 제일인산나트륨, 모노에탄올아민, 모노나트륨 글루타메이트, 인산, 시트르산칼륨, 아세트산나트륨, 탄산수소나트륨, 봉산나트륨, 탄산나트륨, 시트르산나트륨 이수화물, 수산화나트륨, 락트산나트륨, 및 트리에탄올아민(Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition).

[0071] 본 발명의 Trk 억제제의 약제학적 제형이 관절내 투여를 위한 제형이므로, 이는 또한 희석제를 함유할 수 있다. 본 발명에서와 같은 적용을 위해 적합한 희석제는 다음을 포함한다: 말리톨, 해바라기 오일, 알긴산암모늄, 탄산칼슘, 락트산칼슘, 제이인산칼슘 무수물, 제이인산칼슘 이수화물, 제삼인산칼슘, 규산칼슘, 황산칼슘, 셀룰로오스(분말, 규화된 미세결정성), 셀룰로오스 아세테이트, 압축성 당, 정제 당(confectioner's sugar), 옥수수 전분 및 예비젤라틴화된 전분, 엑스트레이트, 엑스트린, 엑스트로스, 에리트리톨, 에틸셀룰로오스, 프력토스, 푸마르산, 글리세릴 팔미토스테아레이트, 흡입 락토오스, 이소말트, 카올린, 락티톨, 락토오스(무수물, 일수화물 및 옥수수 전분, 일수화물 및 미세결정성 셀룰로오스, 분무 건조됨), 탄산마그네슘, 산화마그네슘, 말토덱스터린, 말토오스, 만니톨, 중간-쇄 트리글리세라이드, 미세결정성 셀룰로오스, 폴리덱스터로스, 폴리메타크릴레이트, 시메티콘, 알긴산나트륨, 염화나트륨, 소르비톨, 전분(예비젤라틴화된, 살균 가능한 옥수수), 수크로오스, 당 스파어(sugar sphere), 설포부틸에테르 b-사이클로덱스트린, 활석, 트라가칸트, 트레할로오스, 자일리톨(Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th Edition).

[0072] 활성 성분으로서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태를 갖는 Trk 억제제의 미세결정성 혼탁 약제학적 제형은 실시예 2에 기재된다.

[0073] 본 발명은 또한 하기를 포함하는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 결정형을 제조하고, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태를 제조하는 방법에 관한 것이다:

[0074] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 용매와 혼합하여 혼탁액을 형성하는 단계;

[0075] b. 혼탁액을 교반시키는 단계;

[0076] c. 여과에 의해 혼탁액 중 고형물을 수집하는 단계; 및

- [0077] d. 고형물을 건조시키는 단계.
- [0078] 이 방법에서, 혼탁액의 형성에 사용된 용매는 아세톤과 물의 혼합물일 수 있다. 추가로, 혼탁액은 밤새 교반될 수 있으며, 수집된 고형물은 공기 건조될 수 있다.
- [0079] Trk 억제제의 연장 방출 약제학적 제형은, 약물 용액으로부터 생성된 제형의 경우에, Trk 억제제는 미세캡슐화 및 제형화 전에 용매에 용해되며, 약물 혼탁액으로부터 생성된 제형의 경우에, Trk 억제제는 미세캡슐화 및 제형화 전에 용매에 혼탁되므로, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 또는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태를 포함할 수 있다. 이후 실시예 3에 제시된 바와 같이, 활성 성분을 함유하는 용액 또는 혼탁액을 다양한 중합체와 배합하여 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 미세캡슐화한다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 미세캡슐화는 지속기간이 최대 3개월 및 3개월 초과인 연장된 효과를 갖는 제형을 제공하고, 환자에게 지속적인 치료 효과를 제공하는 것을 돋는다.
- [0080] 본 발명의 특정 구현예에서, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태를 포함하는 약제학적 제형은 약제학적으로 허용되는 희석제, 약제학적으로 허용되는 혼탁제 및 약제학적으로 허용되는 완충제를 포함한다. 본 발명의 약제학적 제형의 특정 구현예에서, 희석제는 소르비톨이고, 혼탁제는 포비돈이고, 완충제는 인산이다.
- [0081] 본 발명은 또한 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민-로딩된 미소구체를 포함하는 연장 방출 약제학적 제형에 관한 것이다. 이들 연장 방출 제형에서, Trk 억제제는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 또는 상기 화합물의 일수화물 형태일 수 있다. 약물-로딩된 미소구체는 중합체를 추가로 포함할 수 있다.
- [0082] 중합체를 포함하는 Trk 억제제-로딩된 미소구체의 특정 구현예에서, 중합체는 폴리(D,L-락티드), 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드) 및 폴리(D,L-락티드)와 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드) 둘 모두의 조합으로부터 선택된다. 본 발명의 특정 구현예에서, 연장 방출 제형에 사용되는 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 또 다른 구현예에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 또 다른 구현예에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.25 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 본 발명의 특정 구현예에서, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 일 구현예에서, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.22 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 또 다른 구현예에서, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.16 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다.
- [0083] 폴리(D,L-락티드) 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드) 둘 모두를 포함하는 연장 방출 제형에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 일 구현예에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.22 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 또 다른 구현예에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.16 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 또 다른 구현예에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.25 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.22 dL/g의 고유 점도를 갖는다. 그리고 또 다른 구현예에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.25 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.16 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다.
- [0084] 또 다른 구현예에서, Trk 억제제-로딩된 미소구체를 포함하는 연장 방출 약제학적 제형은 9:1 비의 폴리(D,L-락티드) 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 포함한다. 이들 연장 방출 제형에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다.
- [0085] 또 다른 구현예에서, Trk 억제제-로딩된 미소구체를 포함하는 연장 방출 약제학적 제형은 9.5:0.5 비의 폴리(D,L-락티드) 및 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 포함한다. 이들 제형에서, 폴리(D,L-락티드)는 0.16 dL/g 내지 0.35 dL/g의 고유 점도를 갖고, 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)는 0.14 dL/g 내지 0.24 dL/g의 고유 점도를 갖는다.
- [0086] Trk 억제제-로딩된 미소구체를 포함하는 연장 방출 약제학적 제형에서, 미소구체는 1% w/w 내지 99% w/w의 3-

(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민으로 로딩된다. 더 구체적인 구현예에서, 미소구체는 12% w/w 내지 50% w/w의 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민으로 로딩된다. 또 다른 구현예에서, 미소구체는 12% w/w 내지 50% w/w의 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민으로 로딩된다. 더 구체적인 구현예에서, 미소구체는 12% w/w, 15% w/w, 16% w/w, 17% w/w, 18% w/w, 19% w/w, 20% w/w, 25% w/w, 30% w/w, 40% w/w 또는 심지어 50% w/w의 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민으로 로딩된다.

[0087] 본 발명은 또한 용매 추출 및 분무 건조에 의해 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0088] 본 발명의 한 가지 용매 추출 방법은 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액으로부터 Trk 억제제-로딩된 미소구체를 형성하는 것에 관한 것이다. 이 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0089] a. 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 용해시켜 약물 용액을 형성하는 단계;

[0090] b. 약물 용액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 형성하는 단계;

[0091] c. 중합체/3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 수용액에 혼합하여 에멀젼을 형성하는 단계;

[0092] d. 탈이온수를 에멀젼에 첨가하는 단계;

[0093] e. 용매 추출에 의해 에멀젼으로부터 미소구체를 형성하는 단계; 및

[0094] f. 계면활성제 용액을 사용하여 생성된 미소구체를 시빙하는 단계.

[0095] 이 방법에서, 유기 용매는 (i) 디클로로메탄 및 메탄올, (ii) 디클로로메탄, (iii) 벤질 알코올 및 메탄올, (iv) 디클로로메탄 및 벤질 알코올, (v) 클로로포름, (vi) 클로로포름 및 메탄올, 또는 (vii) 클로로포름 및 벤질 알코올을 포함할 수 있다. 이 방법에서 중합체는 폴리(D,L-락티드), 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드), 또는 폴리(D,L-락티드)와 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)의 조합일 수 있다. 이 방법에서 수용액은 수중 폴리비닐 알코올일 수 있다. 이 방법에서 계면활성제 용액은 수중 폴록사며 407, 수중 폴리소르베이트 80, 또는 수중 폴리소르베이트 20일 수 있다.

[0096] 본 발명의 또 다른 용매 추출 방법은 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 혼탁액으로부터 Trk 억제제-로딩된 미소구체를 형성하는 것에 관한 것이다. 이 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0097] a. 3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 분산시켜 약물 혼탁액을 형성하는 단계;

[0098] b. 약물 혼탁액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 형성하는 단계;

[0099] c. 중합체/3-(3-메톡시)-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 수용액과 혼합하여 에멀젼을 형성하는 단계;

[0100] d. 탈이온수를 에멀젼에 첨가하는 단계;

[0101] e. 용매 추출에 의해 에멀젼으로부터 미소구체를 형성하는 단계; 및

[0102] f. 계면활성제 용액을 사용하여 생성된 미소구체를 시빙하는 단계.

[0103] 이 방법에서, 유기 용매는 (i) 에틸 아세테이트, (ii) 디클로로메탄, (iii) 클로로포름, (iv) 에틸 아세테이트 및 디클로로메탄, (v) 에틸 아세테이트 및 클로로포름, (vi) 디클로로메탄 및 클로로포름 또는 (vii) 에틸 아세테이트, 디클로로메탄 및 클로로포름을 포함할 수 있다. 이 방법에서 중합체는 폴리(D,L-락티드), 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드), 또는 폴리(D,L-락티드)와 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)의 조합일 수 있다. 이 방법에서 수용액은 수중 폴리비닐 알코올일 수 있다. 이 방법에서 계면활성제 용액은 수중 폴록사며 407, 수중 폴리소

르베이트 80, 또는 수중 폴리소르베이트 20일 수 있다.

[0104] 또 다른 양태에서, 본 발명은 분무 건조에 의해 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐 용액으로부터 Trk 억제제-로딩된 미소구체를 형성하는 방법에 관한 것이다: 이 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0105] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 용해시켜 약물 용액을 형성하는 단계;

[0106] b. 약물 용액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 형성하는 단계; 및

[0107] c. 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 용액을 분무기를 거쳐 건조기로 펌핑하여 구형 입자를 형성하는 단계.

[0108] 이 방법에서, 유기 용매는 (i) 디클로로메탄 및 메탄올, (ii) 디클로로메탄, (iii) 벤질 알코올 및 메탄올, (iv) 디클로로메탄 및 벤질 알코올, (v) 클로로포름, (vi) 클로로포름 및 메탄올, 또는 (vii) 클로로포름 및 벤질 알코올을 포함할 수 있다. 이 방법에서 중합체는 폴리(D,L-락티드), 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드), 또는 폴리(D,L-락티드)와 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)의 조합일 수 있다. 이 방법의 추가 파라미터는 분무 속도 및 분무기의 아토마이징(atomizing) 질소 유동과 관련된다. 분무 속도는 0.7 mL/분일 수 있으며; 아토마이징 질소 유동은 4 L/분일 수 있다. 건조기 내 다양한 지점에서의 온도가 또한 생성된 미소구체 크기에 영향을 주도록 조절될 수 있는 요소이다. 이 방법에서, 건조기는 50°C의 유입구 온도, 40°C 내지 45°C의 챔버 온도, 및 20°C 내지 30°C의 배기구 온도를 가질 수 있다. 더 구체적인 구현예에서, 챔버 온도는 40°C 내지 43°C이고; 더 구체적으로는 챔버 온도는 41°C 내지 43°C이다. 또 다른 구현예에서, 배기구 온도는 22°C 내지 28°C이다.

[0109] 또 다른 양태에서 본 발명은 분무 건조에 의해 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 마이크로캡슐 혼탁액으로부터 Trk 억제제-로딩된 미소구체를 형성하는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 하기 단계를 포함한다:

[0110] a. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 유기 용매에 분산시켜 약물 혼탁액을 형성하는 단계;

[0111] b. 약물 혼탁액에 중합체를 첨가하여 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 형성하는 단계; 및

[0112] c. 중합체/3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 분산물을 분무기를 거쳐 건조기로 펌핑하여 구형 입자를 형성하는 단계.

[0113] 이 방법에서, 유기 용매는 (i) 에틸 아세테이트, (ii) 디클로로메탄, (iii) 클로로포름, (iv) 에틸 아세테이트 및 디클로로메탄, (v) 에틸 아세테이트 및 클로로포름, (vi) 디클로로메탄 및 클로로포름 또는 (vii) 에틸 아세테이트, 디클로로메탄 및 클로로포름을 포함할 수 있다. 이 방법에서 중합체는 폴리(D,L-락티드), 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드), 또는 폴리(D,L-락티드)와 폴리(D,L-락ти드-코-글리콜리드)의 조합일 수 있다. 이 방법의 추가 파라미터는 분무 속도 및 분무기의 아토마이징 질소 유동과 관련된다. 분무 속도는 0.7 mL/분일 수 있으며; 아토마이징 질소 유동은 4 L/분일 수 있다. 건조기 내 다양한 지점에서의 온도가 또한 생성된 미소구체 크기에 영향을 주도록 조절될 수 있는 요소이다. 이 방법에서, 건조기는 50°C의 유입구 온도, 40°C 내지 45°C의 챔버 온도, 및 20°C 내지 30°C의 배기구 온도를 가질 수 있다. 더 구체적인 구현예에서, 챔버 온도는 40°C 내지 43°C이고; 더 구체적으로는 챔버 온도는 41°C 내지 43°C이다. 또 다른 구현예에서, 배기구 온도는 22°C 내지 28°C이다.

[0114] 하기 비제한적인 실시예는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태의 제조 방법, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태를 갖는 약제학적 제형, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 연장 방출 약제학적 제형 및 이들 연장 방출 제형의 제조 방법을 포함하는, 본 발명의 다양한 구현예를 예시한다.

[0115] 실시예

[0116] 실시예 1: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-

아민의 일수화물 형태

[0117] 실시예 1- 1: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 합성

[0118] 아세토니트릴(50 mL) 중 3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)페닐)메탄아민 (2.00 g, 7.32 mmol) 및 5-브로모-2-클로로-3-니트로피리딘(1.66 g, 6.97 mmol)의 교반 용액에 *N,N*-디이소프로필에틸아민(1.13 g, 8.71 mmol)을 첨가했다. 생성된 혼합물을 가열하여 환류시키고 교반시켰다. 64시간 후, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물로 희석했다. 혼합물을 디클로로메탄으로 2회 추출했다. 합한 유기 상을 황산마그네슘에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 3.34 g(100% 초과)의 5-브로모-*N*-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-3-니트로피리딘-2-아민을 황갈색 고체로서 제공했다.

[0119] 테트라하이드로푸란(40 mL), 에탄올(40 mL) 및 물(40 mL) 중 5-브로모-*N*-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-3-니트로피리딘-2-아민의 교반 용액에 차아황산나트륨(6.09 g, 34.99 mmol)을 첨가했다. 생성된 혼합물을 가열하여 환류시키고 교반시켰다. 4시간 후, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물로 희석했다. 황색 혼합물을 디클로로메탄으로 3회 추출했다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, 건조시키고(황산마그네슘), 여과하고, 농축시켜 3.10 g의 황갈색 고체를 제공했다. 크로마토그래피 정제(콤비-플래시(Combi-Flash) 40 g SiO₂ 골드 컬럼, 1% 내지 2.5% 메탄올/디클로로메탄)에 의해 1.28 g(51%)의 5-브로모-*N*²-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)피리딘-2,3-디아민이 황색 고체로서 제공되었다.

[0120] 디클로로메탄 (30 mL) 및 메탄올 (30 mL) 중 5-브로모-*N*²-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)피리딘-2,3-디아민 (0.850 g, 1.91 mmol)의 교반 용액에 브롬화시안(아세토니트릴 중 5.0 M, 573 μL, 2.87 mmol)을 첨가했다. 생성된 용액을 실온에서 교반시켰다. 24시간 후, 브롬화시안 용액의 제2 분취액(600 μL)을 첨가하고, 교반을 계속했다. 48시간 후, 브롬화시안 용액의 제3 분취액(600 μL)을 첨가하고, 교반을 계속했다. 총 72시간 후, 반응 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 디클로로메탄에 용해시켰다. 용액을 1N 수산화나트륨 용액으로 세척하고, 황산마그네슘에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 1.17 g의 갈색 고체를 제공했다. 크로마토그래피 정제(콤비-플래시 40 g SiO₂ 골드 컬럼, 1% 내지 10% 메탄올 중 2M 암모니아/디클로로메탄)에 의해 0.28 g(32%)의 6-브로모-3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민이 갈색 고체로서 제공되었다.

[0121] 1,4-디옥산 (10 mL) 및 물 (4 mL) 중 6-브로모-3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민(0.25 g, 0.53 mmol)의 교반 용액에 1-메틸-4-((4,4,5,5-테트라메틸-1,3,2-디옥사보를란-2-일)-1H-피라졸(0.14 g, 0.66 mmol), 제삼인산칼륨(0.39 g, 1.84 mmol), 트리사이클로헥실포스핀(0.015 g, 0.052 mmol), 팔라듐(II) 아세테이트(0.005 g, 0.026 mmol)를 첨가했다. 반응 혼합물을 마이크로파 반응기에서 125°C 까지 가열했다. 15분 후, 반응 혼합물을 실온까지 냉각시키고, 물로 희석했다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 2회 추출했다. 합한 유기 상을 염수로 세척하고, 황산마그네슘에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 0.36 g의 녹갈색 고체를 제공했다. 크로마토그래피 정제(콤비-플래시 12 g SiO₂ 골드 컬럼, 1% 내지 10% 메탄올 중 2M 암모니아/디클로로메탄)에 의해 0.10 g(41%)의 생성물이 밝은 녹색 고체로서 제공되었다.

[0122] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 아세톤(2 mL) 및 물(0.1 mL)의 혼합물에 첨가했다. 혼탁액을 실온에서 밤새 마그네틱 교반 바로 교반시켰다. 고형물을 여과로 수집하고 공기 중에서 건조시켰다. 구조는 양성자 NMR에 의해 확인되었다. 시차 주사 열량계(DSC) 서모그램은 76.72°C, 160.13°C 및 195.78°C에서 3개의 열 이벤트를 나타내며, 열 중량 분석(TGA) 서모그램은 25°C 내지 100°C에서 3.7% 중량 손실을 나타내며, X-선 분말 회절 분석(XRPD)은 CuK_α를 사용하여 측정된 3.6, 7.1, 8.9, 10.4, 10.7, 12.4, 12.7 및 14.3 2θ 피크에서의 독특한 피크를 보여준다. (정확도 ±0.2°).

[0123] 실시예 1- 2: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 결정 구조 확인

[0124] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 결정 구조가 또한 해명되었다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 일수화물 형태의 결정을 아세톤/물로부터 재결정화시켰다. 0.20 * 0.08 * 0.03 mm 크기의 결정은, 이를 마이테젠 마이크로마운트(MiTeGen MicroMount)의 상단에 두었을 때 적합한 회절 프레임으로 산출되었다. X-선 회절 데이터는, 스마트 아펙스(SMART APEX) 면적-검출기, 저온 디바이스(모델 LT 2) 및 45 kV/650 μA에서 작동되는 구리-K 마이크로포커스 발생기, 및 이미지 포커스 스폿 직경이 약 250

μm인 포커싱 빔 몬텔 멀티레이어 옵틱(focusing beam Montel multilayer optic)이 장착된 브루커(Bruker)/AXS 3원 회절계(three circle diffractometer)에서 수집되었다(Wiesmann et al., 2007). 데이터는 프로그램 패키지 스마트 V 5.628(브루커 AXS, 2001)을 사용하여 수집되었고, 프로그램 세인트(SAINT) + 릴리즈(Release) 6.45(브루커 AXS, 2003)로 처리되었다. 이러한 분석은 2459개의 반사를 산출했으며($\Theta_{\min} = 1.78$, $\Theta_{\max} = 50.21$; $0 < h < 24$, $-4 < k < 0$, $-19 < l < 19$), 이를 2459개 반사 모두는 독특했다($R_{\text{int}} = \text{n.a.}$, $R_o = 0.1583$). 셀 파라미터의 정밀화(refinement)는 1405개의 반사를 사용하여 수행되었다. 실험적 흡수 보정이 적용되었고, 상(phase) 문제는 APEX2 스위트(suite)의 "구조-솔루션" 모듈로 해결되었다.

[0125] 구조는 APEX2 스위트의 XL 모듈(브루커 AXS, 2011)을 사용하여 최소자승법($(F_o^2 - F_c^2)^2$ 의 최소화)에 의해 정밀화되었다. 모든 수소 원자의 위치가 계산되었고, $S_{\text{적합도}} = 1.085$, $R_{\text{모든 데이터}} = 0.1329$ ($|F_{\text{obs}}| > 4\sigma$ 를 갖는 1614 개의 반사에 대해 $R_{\text{관측 데이터}} = 0.0920$, $WR2_{\text{모든 데이터}} = 0.2710$, $WR2_{\text{관측 데이터}} = 0.2377$)이다. 차이 맵(difference map)에서 가장 큰 비활당 피크는 Å³당 -0.348 대 +0.386 전자에 상응한다. C-C 결합의 평균 추정된 표준 편차(e.s.d.)는 0.009 Å이고, O-C 결합의 평균 e.s.d.는 0.009 Å이고, N-C 결합의 평균 e.s.d.는 0.009 Å이다. C-C-C 결합각의 평균 e.s.d.는 0.7이고, C-C-C-C 비틀림각의 평균 e.s.d.는 1.004°이다.

[0126] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태의 결정 구조는 도 3에 제공된다. 도 4는 단결정 구조로부터 계산된 분말 패턴과 실험적 분말 패턴의 중첩을 보여준다. 강력한 매칭도는 단결정 구조가 별크 물질임을 지시하는 것으로 시사된다.

[0127] 실시예 2: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 미세결정성 혼탁 제형

[0128] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태가 활성 성분인 Trk 억제제의 미세결정성 혼탁 약제학적 제형이 개발되었다. 이를 제형은 시간 경과에 따른 Trk 억제제의 신체로의 전달을 지속시키기 위한 불용성 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 입자의 혼탁액으로서 개발되었다. 이러한 접근법은 활성 성분의 불량한 용해도 및 방출 지속기간을 조절하기 위한 용량에 의존하며; 이는 또한 생체내에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 대략 1개월의 지속된 전달을 나타낸다.

[0129] 실시예 2- 1: 주사용 20 mg/mL 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 미세결정성 혼탁액

[0130] 용액 mL당 20 mg의 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태를 포함하는 약제학적 제형을 제조했다. 20 mg/mL 미세결정성 혼탁액 조성은 하기 표 1에 제공된다.

표 1

20 mg/mL 미세결정성 혼탁 제형

성분	단위당 조성	기능
3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태	72 mg	활성 성분
소르비톨	162 mg	회석제
포비돈 K17 발열원 비함유	72 mg	혼탁제
포스페이트 버퍼 (10 mM, pH 7.4)	3.6 mL†	완충제

† 10%의 과충전이 적용된다

[0131] 실시예 2- 2: 20 mg/mL 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조

[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 미세결정성 혼탁 제형의 제조 방법

- [0133] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태의 20 mg/mL 용액을 하기 단계에 따라 제조했다.
- [0134] 1. 적절한 양의 주사용 수(WFI) 및 인산이수소나트륨을 합하고, 완전히 용해될 때까지 교반시킨 후 수산화나트륨 1N 용액으로 pH를 7.4(± 0.2)로 조정하여 포스페이트 버퍼 10 mM pH 7.4를 제조한다.
- [0135] 2. 적절한 양의 소르비톨 및 포비돈 K17 발열원을 합하고, 포스페이트 버퍼 10 mM pH 7.4를 첨가하고, 완전히 용해될 때까지 교반시켜 비히클을 제조한다.
- [0136] 3. 이후 생성된 비히클을 0.22 μm PVDF[폴리비닐리덴 플루오라이드] 친수성 필터를 통해 여과한다.
- [0137] 4. 농축된 혼탁액은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태를 거의 비히클과 혼합하여 30 mg/mL 농축된 혼탁액을 얻음으로써 수득된다.
- [0138] 5. 교반 하에 유지된 농축된 혼탁액을 75 μm 스테인리스강 체 상에서 여과한다.
- [0139] 6. 예비-여과된 혼탁액을 교반 하에 유지시키고, 40 μm 스테인리스강 체 상에서 여과하여 농축된 혼탁액을 수득한다.
- [0140] 7. 농축된 혼탁액을 여과된 비히클로 조정하여 20 mg/mL 혼탁액을 얻는다.
- [0141] 8. 최종 혼탁액을 3.6 mL의 충전 용적까지 멸균되고 발열원 제거된(depyrogenated) 무색 I형 유리 바이알 내에 충전한다. 바이알을 멸균되고 발열원 제거된 ETFE 코팅된 브로모-부틸 마개로 닫는다. 마개는 멸균된 알루미늄 캡 및 멸균된 백색 플라스틱 뚜껑으로 바이알 상에 크리밍(crimping)된다.
- [0142] 9. 충전된 바이알을 고압살균 장비로 멸균한다.
- [0143] 실시예 2- 3: 20 mg/mL 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 미세결정성 혼탁 제형의 임상적 용량
- [0144] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태의 20 mg/mL 미세결정성 혼탁액을 추가로 변형시켜 완성된 의약품 구성에서 환자에게 투여되는 용량 및 용적을 달성한다. 표적 용량은 20 mg/mL 미세결정성 혼탁액으로부터 필요에 따라 재구성된다. 다양한 투여량 및 용적 포맷의 요약은 표 2에서 제공된다.

표 2

20 mg/mL 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 미세결정성 혼탁액의 임상적 양상

표적 용량 (mg)	재구성된 바이알의 총 용적 (mL)	바이알 내 최종 농도 (mg/mL)	환자에게 투여되는 용적 (mL)
3	3.47	0.98	3.2
10	3.95	3.29	3.2
30	6.60	10	3.2
60	n/a [†]	20	3.2
100	n/a [†]	20	5.4 [‡]

[†] 목적하는 최종 농도를 달성하는데 재구성이 요구되지 않음.

[‡] 2 x 2.7 mL 바이알

[0145]

[0146] 실시예 3: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 연장 방출 제형

[0147] 일부 경우에, 약물 방출 지속기간은, 예를 들면, 3개월 초과의 노출 시간까지 연장되는 것이 바람직하다. 따라서, 활성 성분으로서 Trk 억제제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미

다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 연장 방출 제형이 제조되고, 상기 화합물의 무수물 또는 일수화물 형태를 사용하여 제형화된다. 연장 방출 제형 접근법은 폴리(D,L-락티드)(PLA), 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)(PLGA) 중합체 또는 PLA-PLGA 중합체의 조합을 사용하여 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민(활성 약제학적 성분[API] 또는 약물 물질[DS])을 캡슐화하여 주사 가능한 마이크로캡슐의 의약품[DP] 용액을 생성한다. 이들 제형은 체내에 지속되거나 3개월 초과의 약물 노출을 제공할 수 있다. 이 실시예의 연장 방출 제형의 제조에 사용된 상이한 중합체의 요약은 표 3에 제공된다.

표 3

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-

이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 연장 방출 제형에 사용되는 중합체

에보닉 중합체 참조 코드	중합체명	일반 구조식	고유 점도* (g/mol)	말단 그룹
R202H	폴리(D,L-락티드) [PLA]		0.16-0.24	산
R202S	폴리(D,L-락티드) [PLA]		0.16-0.24	에스테르
R203H	폴리(D,L-락티드) [PLA]		0.25-0.35	산
R203S	폴리(D,L-락티드) [PLA]		0.25-0.35	에스테르
RG502H	폴리(D,L-락티드- 코-글리콜리드) 50:50 [PLGA]		0.16-0.24	산
RG752H	폴리(D,L-락티드- 코-글리콜리드) 75:25 [PLGA]		0.14-0.22	산

* 고유 점도는 우벨로데(Ubbelhode) 크기 0c 유리 모세관 점도계로 25°C에서 CHCl₃ 중 0.1% w/v에서 측정된다.

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

[0148]

활성 성분으로서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 갖는 Trk 억제제의 연장 방출 약제학적 제형은 생침식성(bioerodible) 중합체, 폴리(D,L-락티드) 및/또는 폴리(D,L-락티드-코-글리콜리드)를 사용하여 약물 입자 용해부터 중합체 가수분해까지 활성 성분의 방출 조절을 변경시킨다. 중합체 및 활성 약물 로딩의 적절한 조합을 사용하여, 약물 방출 속도는 3개월 이상 노출되도록 조절될 수 있다. PLGA/PLA 중합체, 및 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 특정 조합은 약물 방출의 지속기간을 3개월 초과까지 연장시키는 방식으로 조합되며; 이들 제형은 이 실시예에서 추가로 논의된다.

[0150] 실시예 3- 시험관내 방출 프로파일에서
3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 로딩의

효과

[0151]

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 미소구체를 포함하는 약제학적 조성물을 용매 추출로 제조했다. 각각의 배치를 제조하기 위해 사용된 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 및 PLA/PGLA 중합체 매스의 양은 표 4에서 제공된다. 이를 다양한 제형의 시험관내 방출(IVR) 동력학을 조사했다.

표 4

미소구체 조성물[‡] – 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H 및 20% API/9:1 R202H:752H

배치#	GZ389988 [†] 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*
1	12%	36	9:1 R202H:752H	234:26
2	16%	50	9:1 R202H:752H	234:26
3	20%	65	9:1 R202H:752H	234:26

[‡] 용매 추출에 의해 제조됨

[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민

* 총 중합체 양 = 260mg

[0152]

[0153]

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 온화하게 가열(약 30분)하면서 2 mL의 9:1 디클로로메탄(DCM):메탄올(MeOH)에 용해시켰다. 중합체를 첨가하고, 30분에 걸쳐 용해시켰다. 별도로, 39 mL의 차가운, 멸균-여과된 폴리비닐아민(PVA) 용액(수중 5% w/v)을 7.9 x 38.1 mm 테플론(Teflon) 마그네티 교반 바가 구비된 250 mL 비이커에 넣었다. 비이커를 500 rpm으로 설정된 IKA RCT 기본 교반 플레이트 상의 빙욕에 넣었다. 중합체/약물 용액을 5 cc 유리 해밀턴 주사기(Hamilton syringe)에 부착된 팔 아크로디스크(Pall Acrodisc) 0.2 μ m PTFE 주사기 필터를 사용하여 PVA 용액 내로 여과했다. 첨가시, 중합체/약물 용액은 애멸전을 형성했다. 1분 후, 160 mL의 차가운 탈이온수를 첨가했다. 5분 후, 교반 속도를 300 rpm으로 감소시켰다. 3시간에 걸친 용매 추출에 의해 미소구체가 형성되었다. 미소구체는 탈이온수 중 차가운 0.1% 콜리포르(Kolliphor) P 407을 사용하여 75 μ m 및 38 μ m 적층된 체를 통해 시빙되고; 38 μ m 내지 75 μ m 분획이 수집되었고, 과잉의 행굼 용액이 제거되었다. 미소구체를 -80°C에서 냉동시키고 동결건조했다.

[0154]

미소구체 제형으로부터 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 방출의 IVR 동력학은 무릎의 관절내 환경을 모방하는 것으로 의도된, 0.2% 히알루론산 + 0.2% 콜리포르 P 407 중 미소구체의 2% (w/v) 수성 혼탁액을 제조함으로써 결정되었다. 3회로, 500 μ g 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 이론적 로딩을 함유하는 혼탁액의 용적을 PBS, pH 7.4 방출 매질 중 0.5% 나트륨 도데실 살레이트를 함유하는 별개의 50 mL 유리 원심분리 투브 내로 퍼펫팅했다. 투브를 37°C의 상호 진탕기 항온배양기에서 옆으로 놓았다. 각각의 시점에서, 미소구체를 침강되게 하였고, 1 mL의 방출 매질을 샘플링하고 대체했다. IVR 샘플 중 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 실제 총 질량을 측정하기 위해, 방출 연구에 사용된 동일한 용적의 혼탁액을 샘플링하고(3회), 10 mL 디메틸 살폭사이드를 첨가했다. 샘플을 초음파 처리하고, 온화하게 가열하고, 용해되도록 실온에서 로커(rocker) 상에 두었다. 이를 샘플은 HPLC-UV를 사용하여 총 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 함량에 대해 분석되었다. 누적 IVR 프로파일을 실제 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 로딩 백분율 대 시간으로 플롯팅했다.

[0155]

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 캡슐화 효율은 실제 약물 로딩을 이론적 로딩으로 나누어 결정되었다. 실제 로딩을 결정하기 위해, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 로딩된 미소구체의 정확히 계량된 질량을 디메틸 살폭사이드에 용해시키고, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 농도를 HPLC-UV로 측정했다.

[0156] IVR 프로파일은, 16%(w/w)를 초과하는 약물 로딩 수준이 버스트 방출(burst release)을 나타냈음을 보여주었다 (도 5). 이러한 버스트에 대한 원인은 시차 주사 열량계(DSC) 및 주사 전자 현미경법(SEM)에 의해 확인되었다. DSC 분석은, 16%(w/w)를 초과하는 약물 로딩 수준이 130°C 내지 150°C에서의 용융 흡열에 의해 입증된 바와 같이 미소구체에서 약물 결정화를 보여준다는 것을 나타내었다(도 6). 약물 결정화는 또한 SEM에 의해 확인되었으며, 여기서 16% 초과의 약물 로딩 수준은 미소구체 표면 상에 약물 결정을 나타냈다(도 7).

[0157] 도 6은 20% 미소구체가 130°C 내지 150°C 사이에서 용융 흡열을 나타내어 표면 약물 결정의 존재가 확인된다는 것을 입증한다. 도 7 및 도 8은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민-로딩된 미소구체의 1500X에서의 SEM을 보여준다. 도 7, 16% 약물-로딩된 미소구체는 약물 결정이 없음을 보여주며(약물은 무정형이다); 도 8, 20% 약물-로딩된 미소구체는 표면 약물 결정을 보여준다.

[0158] IVR에 대한 약물 결정의 효과는 또한 관련된 미소구체 조성물을 사용하여 입증되었다. 도 9는 R202H 중합체로 제조된 미소구체로부터의 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 IVR을 보여준다. 도 10은 9.5:0.5 비의 R202H 및 RG752H 중합체로 제조된 미소구체로부터의 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 IVR을 도시한다. 이러한 실시예에서, 16%(w/w)를 초과하는 약물 로딩 수준은 버스트 방출을 나타내며; 약물 버스트 정도는 약물 로딩 수준에 직접적으로 관련되었다.

[0159] 실시예 3- 2: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 시험관내 방출 프로파일에서 폴리-락티드 및 폴리-락티드-코-글리콜리드 중합체 블렌드의 효과

[0160] 실시예 3-2- 1: 16% API/R202H, 16% API/9.0:0.5 R202H:RG752H 및 16% API/9:1 R202H:752H 미소구체

[0161] R202H, 9.0:0.5 R202H:RG752H 및 9:1 R202H:752H 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민, 및 R202H, 9.0:0.5 R202H:RG502H 및 9:1 R202H:RG502H 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 포함하는 약제학적 조성물을 제조하여 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 시험관내 방출 동력학에서 상이한 중합체 블렌드의 효과를 평가했다. 표 5는 각각의 배치를 제조하기 위해 사용된 약물 및 중합체 질량을 나타낸다. 이들 제형의 제조에 사용된 방법은 실시예 3-1에 기재되어 있다.

표 5

폴리-락티드 및 폴리-락티드-코-글리콜리드 중합체 블렌드 (16% API/R202H, 16% API/9.0:0.5 R202H:RG752H 및 16% API/9:1 R202H:RG752H)를 갖는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민 미소구체 제형

배치#	GZ389988† 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*
4	16%	50mg	R202H	260
5	16%	50mg	9.5:0.5 R202H:RG752H	247:13
6	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26

† 용매 추출에 의해 제조됨

† GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민

* 총 중합체 양 = 260mg

[0162]

[0163] 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 제형 4, 5 및 6에 대한 캡슐화 효율은 각각 96.1 ± 2.6%, 87.8 ± 6.3%, 및 77.7 ± 8.6%였다.

[0164] R202H 중합체 중에서 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조

[4,5-b]피리딘-2-아민을 사용하여 제조된 미소구체는 0일 내지 70일의 느린 초기 방출 속도에 이어서 70일 내지 110일의 신속한 2차 방출 속도를 갖는 이상(biphasic) 방출 속도를 나타냈다(도 11). 더 친수성 중합체, RG752H(75:25 PLGA)의 PLA 미소구체 제형으로의 블렌딩은 초기 방출 속도를 증가시켰다. 이러한 PLGA 중합체는 속도 증가를 야기하는 미소구체로의 더 신속한 물 흡수를 가능하게 했다. 9:1 R202H:RG752H의 비에서, 초기 방출은 2차 방출 속도와 일치하여 3개월에 걸쳐 슈도 0차 방출 프로파일을 산출했다(도 11).

[0165] **실시예 3-2- 2: 16% API/R202H, 16% API/9.5:0.5 R202H:RG502H 및 16% API/9:1 R202H:RG502H 미소구체**

R202H, 9.0:0.5 R202H:RG502H 및 9:1 R202H:RG502H 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 포함하는 약제학적 조성물을 제조하여 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민의 시험관내 방출 동력학에서 상이한 중합체 블렌드의 효과를 평가했다. 표 6은 각각의 배치를 제조하기 위해 사용된 약물 및 중합체 질량을 나타낸다. 이들 제형의 제조에 사용된 방법은 실시예 3-1에 기재되어 있다.

표 6

미소구체 조성물[‡] – 16% API/R202H, 16% API/9.5:0.5 R202H:RG502H 및 16% API/9:1 R202H:RG502H

배치#	GZ389988 [†] 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*
7	16%	50mg	R202H	260
8	16%	50mg	9.5:0.5 R202H:RG502H	247:13
9	16%	50mg	9:1 R202H:RG502H	234:26

[‡] 용매 추출에 의해 제조됨

[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민

* 총 중합체 양 = 260mg

[0167]

[0168] 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 제형 7, 8 및 9에 대한 캡슐화 효율은 각각 96.1 ± 2.6%, 91.7 ± 3.3%, 및 94.2 ± 2.5%였다.

[0169] R202H 중합체 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 사용하여 제조된 미소구체는 0일 내지 70일의 느린 초기 방출 속도에 이어서 70일 내지 110일의 신속한 2차 방출 속도를 갖는 이상 방출 속도를 나타냈다(도 12). 더 친수성 50:50 PLGA 중합체(RG752H)의 PLA 미소구체 제형으로의 블렌딩은 초기 방출 속도를 증가시켰다. RG752H는 이러한 속도 증가를 야기하는 미소구체로의 더 신속한 물 흡수를 가능하게 했다. 9.5:0.5 R202H:RG502H의 비에서, 초기 방출은 2차 방출 속도와 일치하여 6개월에 걸쳐 슈도 0차 방출 프로파일을 산출했다(도 12).

[0170] **실시예 3- 3: 180일에 걸쳐 0차 시험관내 방출 동력학을 나타내는 미소구체 제형의 제조 및 특성화**

[0171] 9:1 R203H:RG752H 중 15% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민, 및 9.0:0.5 R202H:RG502H 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]피리딘-2-아민을 포함하는 약제학적 조성물이 제조되고, 시험관내 방출 동력학에 대해 분석되었다. 표 7은 각각의 배치를 제조하기 위해 사용된 약물 및 중합체 질량을 나타낸다.

표 7

미소구체 조성물[‡] – 15% API/9:1 R203H:RG502H 및 16% API/9.5:0.5 R202H:RG502H)

배치#	GZ389988 [†] 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*
10	15%	46mg	9:1 R203H:RG752H	234:26
11	16%	50mg	9.5:0.5 R202H:RG502H	247:13

[‡] 용매 추출에 의해 제조됨[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민^{*} 총 중합체 양 = 260mg

[0172]

[0173] 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 제형 10 및 11에 대한 캡슐화 효율은 각각 89.7 ± 2.1% 및 91.7 ± 3.3%였다.

[0174] 9:1 비의 R203H:752H 중합체 중 15% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 사용하여 제조된 미소구체, 및 9.5:0.5 비의 R202H:RG502H 중합체 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 사용하여 제조된 미소구체는 6개월에 걸쳐 슈도 0차 방출 프로파일을 나타냈다(도 13).

[0175] 실시예 3- 4: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 시험관내 방출 프로파일에서 제제 내 공-용매 시스템의 효과

[0176] 실시예 3-4- 1: 9:1 DCM:MeOH, 9:0.5:0.5 DCM:MeOH:BA, 9:5 DCM:BA 및 9:1 DCM:BA에서 제조된 16% API/9:1 R202H:RG752H

[0177] 9:1 R202H:RG752H 중 16% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 로딩된 미소구체를 포함하는 약제학적 조성물을, 상이한 비의 용매 디클로로메탄(DCM), 메탄올(MeOH) 및 벤질 알코올(BA)을 포함하는 다양한 공-용매 용액을 사용하여 제조했다. 사용된 비는 9:1 DCM:MeOH, 9:0.5:0.5 DCM:MeOH:BA, 9.5:0.5 DCM:BA 및 9:1 DCM:BA였다. 각각의 배치의 제조에 사용된 약물, 중합체 및 공-용매에 대해서는 표 8을 참조한다. 이들 제형의 제조에 사용된 방법은 실시예 3-1에 기재되어 있다.

표 8

다양한 공-용매 시스템으로 제조된 미소구체 조성물[‡] – 16% API/9:1 R203H:RG752H

배치#	GZ389988 [†] 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*	공-용매 시스템
12	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:1 DCM:MeOH
13	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:0.5:0.5 DCM:MeOH:BA
14	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9.5:0.5 DCM:BA
15	16%	50mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	9:1 DCM:BA

[‡] 용매 추출에 의해 제조됨(다양한 공-용매 시스템)[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민^{*} 총 중합체 양 = 260mg

[0178]

[0179] 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 배치 12, 13, 14 및 15에 대한 캡슐화 효율은 각각 77.7 ± 8.6%, 94.9 ± 2.0%, 90.5 ± 2.6% 및 94.4 ± 1.5%였다. 벤질 알코올은 3-(3-메톡시-4-

((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 용해시키는 이의 향상된 능력으로 인해 공-용매 시스템에 도입되도록 선택되었다. 도 14 및 도 15는, 벤질 알코올이 방출 속도에 영향을 주지 않으면서 미소구체를 생성하기 위해 디클로로메탄 또는 디클로로메탄과 메탄올과의 공-용매 시스템의 일부로서 사용될 수 있음을 보여준다. 이는 미소구체 생성 동안 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 잠재적 재결정화를 감소시키는데 유용할 수 있다.

[0180] 실시예 3-4- 2: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 로딩을 증가시키기 위한 DCM:BA의 사용

[0181] 9:1 R202H:RG752H 중 16% 및 25% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민, R202H 중 30% 및 40% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민, 및 R203H 중 25%, 30%, 40% 및 50% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 포함하는 약제학적 조성물을 다양한 용적의 디클로로메탄(DCM) 및 벤질 알코올(BA)을 사용하여 제조했다. 각각의 배치의 제조에 사용된 약물 및 중합체 질량, 및 용매 용적에 대해서는 표 9를 참조한다. 이들 제형의 제조에 사용된 방법은 실시예 3-1에 기재되어 있다.

표 9

DCM:BA 공-용매 시스템으로 제조된 미소구체 조성물[‡] – 16% API/9:1

R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40%

API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

배치#	GZ389988 [†] 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*	공-용매 시스템 [용매의 용적 + 용매의 용적 (mL)]
16	16%	50 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	0.2 mL BA + 1.8 mL DCM
17	25%	84 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	0.2 mL BA + 1.8 mL DCM
18	30%	112 mg	R202H	260	0.26 mL BA + 1.2 mL DCM
19	40%	174 mg	R202H	260	0.4 mL BA + 1.2 mL DCM
20	40%	174 mg	R202H	260	0.5 mL BA + 1.2 mL DCM
21	25%	84 mg	R203H	260	0.2 mL BA + 1.8 mL DCM
22	30%	112 mg	R203H	260	0.2 mL BA + 1.8 mL DCM
23	40%	174 mg	R203H	260	0.4 mL BA + 1.2 mL DCM
24	40%	174 mg	R203H	260	0.5 mL BA + 1.2 mL DCM
25	50%	260 mg	R203H	260	0.5 mL BA + 1.2 mL DCM
26	50%	26 mg	R203H	260	0.61 mL BA + 1.2 mL DCM

[‡] 용매 추출에 의해 제조됨

[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민

* 총 중합체 양 = 260mg

[0182]

[0183] 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 다양한 용적의 디클로로메탄(DCM) 및 벤질 알코올(BA)로 제조된 제형에 대한 캡슐화 효율은 하기와 같다:

배치	캡슐화 효율
16	94.4 ± 1.5%
17	96.0 ± 1.8%
18	99.2 ± 3.6%
19	94.0 ± 1.0%
20	100.5 ± 1.0%
21	91.2 ± 0.5%
22	90.2 ± 2.8%
23	95.5 ± 6.8%
24	95.4 ± 3.1%
25	95.0 ± 0.8%
26	94.7 ± 1.7%

[0184]

[0185]

벤질 알코올은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 용해시키는 이의 향상된 능력으로 인해 공-용매 시스템에 도입되도록 선택되었다. 도 10은, 벤질 알코올이 50%(w/w)만큼 높은 로딩을 갖는 미소구체를 생성하기 위해 디클로로메탄과의 공-용매 시스템의 일부로서 사용될 수 있음을 보여준다. 도시된 일부 방출 프로파일은 3개월 내지 6개월의 지속기간을 달성해야 하는 최소 버스트 방출 및 동력학을 갖는다. 공정에 사용되는 벤질 알코올의 용적은 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 버스트 방출에 영향을 미친다. 중합체 용액 중 API, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 용해도를 여전히 유지시키면서 용매 시스템에서 벤질 알코올의 양을 감소시켜 버스트 효과를 감소시킨다. API 로딩 증가는 환자에게 투여되는 중합체의 양을 감소시켜 이점을 제공한다. 이는 이식물의 생체적합성을 개선시키고 반복 투여 후 중합체 축적의 잠재력을 감소시키는 것으로 예상된다. 또한, 증가된 API 로딩은 낮아진 제조 단가로 해석될 수 있다.

[0186]

실시예 3- 5: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 시험관내 방출 프로파일에서 미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정의 효과

[0187]

9:1 R202H:RG752H 중 25% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민(일수화물 형태), 9:1 R203H:RG752H 중 30% 및 40% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민, R202H 중 25% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민, R202S 중 30% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민, 및 R203S 중 30% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 포함하는 약제학적 조성물을 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태로 제조했다. 각각의 배치의 제조에 사용된 약물 및 중합체 질량에 대해서는 표 10을 참조한다. 배치 27, 28 및 29는 제조 배치로부터 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 사용하여 제조되었으며, 한편 배치 30, 31, 32, 33, 34 및 35는, 입자 크기가 10 μm 미만의 직경이었음을 보장하도록 미세유체화 공정을 사용하여 미분화된 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민을 사용하여 제조되었다. 이러한 예는, 중합체가 에틸 아세테이트(EA)의 존재 또는 부재 하에 폴리비닐 알코올(PVA) 용액에 분산될 때 얻어진 미소구체에서의 차이, 뿐만 아니라 API 로딩, 중합체 조성 및 다양한 중합체 용액 농도(EA 용적 변화에 의해)의 차이를 비교한다.

표 10

미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정으로 제조된 미소구체 조성물[‡] – 16% API/9:1

R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40%

API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

배치#	GZ389988† 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg)*	분산 용액의 용적 및 조성 (mL)	에틸 아세테이트 용적(mL)
27	25%	84 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	39 mL의 5% PVA	2.6
28	25%	84 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	39 mL의 5% PVA	3.25
29	25%	84 mg	R203H	260	39 mL의 5% PVA	2.0
30	30%	112 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL의 5% PVA + 2.5% 에틸 아세테이트	2.0
31	40%	174 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL의 5% PVA + 2.5% 에틸 아세테이트	2.0
32	30%	112 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL의 5% PVA + 2.5% 에틸 아세테이트	2.0
33	30%	112 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26	39 mL의 5% PVA + 2.5% 에틸 아세테이트	2.3
34	30%	112 mg	R202S	260	39 mL의 5% PVA + 2.5% 에틸 아세테이트	2.0
35	30%	112 mg	R203S	260	39 mL의 5% PVA + 2.5% 에틸 아세테이트	2.0

‡ 용매 추출에 의해 제조됨

† GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민

* 총 중합체 양 = 260mg

[0188]

SEM 분석에 의해, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 혼탁액을 캡슐화하여 제조된 미소구체는 표면에 포매된 약물 결정의 존재로 인해 거친 표면 질감을 갖는 구형이었음이 관찰되었다(도 16). 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 배치 번호 30, 31, 32, 33, 34 및 35에 대한 캡슐화 효율은 각각 103.3 ± 3.8%, 101.6 ± 5.3%, 94.7 ± 4.0%, 97.1 ± 0.2%, 35.6 ± 0.8% 및 62.5 ± 3.0%였다. 캡슐화 효율은 배치 27, 28 또는 29에서 수행되지 않았다.

[0189]

IVR 프로파일은 25% 내지 47% 범위의 버스트 방출에 이어서 4일 후 방출의 결핍을 나타냈다(도 17). 배치는 최대 21일 동안 평가되었다.

[0190]

실시예 3- 6: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 시험관내 방출 프로파일에서 미세캡슐화 공정의 효과

[0191]

9:1 R202H:RG752H 중 16% 및 25% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민, 및 R203H 중 25% 및 30% 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 포함하는 약제학적 조성물을 9:1 비의 디클로로메탄(DCM):벤질 알코올(BA)을 사용하여 제조했다. 각각의 배치의 제조에 사용된 약물 및 중합체 질량에 대해서는 표 11을 참조한다. 배치 23의 제조에 사용된 방법은 실시예 3-1, 배치 2에 기재되어 있다. 배치 24는 온화하게 초음파 처리하면서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 5.016 g의 9:1 DCM/MeOH에 용해시켜 제조되었다. 이후 2개의 중합체를 첨가하고 용해시켰다.

표 11

용매 추출 및 분무 건조에 의해 제조된 미소구체 조성물 - 16% API/9:1

R202H:RG752H 및 API 없음/9:1 R202H:RG752H

배치#	GZ389988† 로딩	GZ389988 중량 (mg)	종합체 비	종합체 양 (mg)*	미세캡슐화 공정
36	16%	50 mg	9:1 R202H:RG752H	234:26	용매 추출
37	16%	238.8 mg	9:1 R202H:RG752H	1140:114	분무 건조
38	16%	238.8 mg	9:1 R202H:RG752H	1140:114	분무 건조
39	16%	238.8 mg	9:1 R203H:RG752H	1140:114	분무 건조

† GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민

* 총 종합체 양 = 배치 23 에 대해 260mg 및 배치 24 에 대해 1254mg

[0193]

[0194] 분무 건조는 0.4 mm 개구부를 갖는 2개의 유체 노즐이 장착된 4M8 유닛인 프로셉티(ProCepT)를 사용하여 수행되었다. 분무 건조 조건 및 파라미터는 하기 열거되어 있다:

배치#	37	38	39
GZ389988 로드 (%), w/w)	16	16	16
용매 (메틸렌 클로라이드:메탄올 (v/v))	90:10	90:10	90:10
PLGA 용액 농도 (%), w/v):	20	22.5	22.5
분무 속도 (mL/분):	0.7	0.7	0.7
아토마이징 질소 유동 (L/분):	4	4	4
분무량 (g):	6.4	5.8	5.8
유입구 온도 (°C):	50	50	50
챔버 온도 (°C):	41-43	40.7	40.0
배기구 온도 (°C):	27.4	22.0	22.1
질소 유동 (m ³ /분):	0.35	0.35	0.35
전달 투브 압력 (mBar):	31-32	31 - 32	32
수율 (%), w/w)	72.8	76.7	51.6

[0195]

[0196] SEM 분석에 의해, 용매 추출 미소구체는 매끈한 표면 질감을 갖는 구형이었고, 분무 건조된 미소구체는 약간의 표면 질감을 갖는 구형이었음이 확인되었다(18 및 도 19). 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 용매 추출 배치 36 및 분무 건조 배치 37 및 38에 대한 캡슐화 효율은 각각 107.4 ± 11.6%, 91.4 ± 4.3% 및 92.6 ± 3.6%였다.

[0197]

2개의 미세캡슐화 공정에 의해 거의-0차 방출 프로파일을 갖는 미소구체를 생성했다. 도 18 및 도 19는 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 미소구체의 1000X에서의 SEM을 보여준다. IVR 프로파일은 상이한 방출 속도(도 20)를 보여주며; 분무 건조된 제형은 3개월 내지 6개월의 원하는 전달 지속기간을 달성한다.

[0198]

실시예 3- 7: 16% (w/w) 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 분무 건조된 미소구체의 시험관내 방출 프로파일에서 1% 10kDa PEG 또는 1% 폴록사미 407의 효과

[0199]

이 실험은 친수성 첨가제의 첨가가 PLA/PGA 미소구체로부터 GZ389988의 시험관내 방출 속도를 측정시키는데 사용될 수 있는지 여부를 결정하기 위해 수행되었다. 이 실험에서, 미소구체(무 첨가제)를 1% 10kDa PEG 또는 1%

폴록사머 407로 제조된 미소구체와 비교했다. 표 12는 각각의 배치를 제조하기 위해 사용된 약물 및 중합체 질량을 상세히 열거한다.

표 12

1% 10kDa PEG 또는 1% 폴록사머 407로 제조된 미소구체 조성물[‡]– 16% API/1:1

R202H:R203H/무 첨가제, 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg PEG, 16%

API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사머 407

배치#	GZ389988 [†] 로딩	GZ389988 중량 (mg)	중합체 비	중합체 양 (mg:mg)	첨가제 양 (mg)
40	16%	500 mg	1:1 R202H:R203H	1310:1310	N/A
41	16%	500 mg	1:1 R202H:R203H	1297:1297	31.25 10 kDa PEG
42	16%	500 mg	1:1 R202H:R203H	1297:1297	31.25 폴록사머 407

[‡] 분무 건조에 의해 제조됨

[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민

[0200]

[0201] 분무 건조는 0.4 mm 개구부를 갖는 이중-유체 노즐이 장착된 4M8 유닛인 프로셉터를 사용하여 수행되었다. 분무 건조 조건 및 파라미터는 하기 열거되어 있다:

배치#	40	41	42
GZ389988 로드 (%), w/w)	16	16	16
PLGA 용액 농도 (%), w/v):	22.5	22.5	22.5
분무 속도 (mL/분):	0.7	0.7	0.7
기류 (L/분):	0.35	0.35	0.35
아토마이징 질소 유동 (L/분):	4	4	4
칠러(Chiller) 온도 (°C):	-4	-4	-4
유입구 온도 (°C):	50	50	50
챔버 온도 (°C):	40	40	40
배기구 온도 (°C):	29	29	29
프리-사이클론(Pre-Cyclone) 압력 (mBar):	27-30	27-30	27-30

[0202]

[0203] SEM 분석에 의해, 친수성 첨가제의 존재 또는 부재 하에 제조된 분무 건조된 미소구체는 유사한 크기 분포 및 표면 질감을 나타냈으며; 모든 분무 건조된 미소구체는 약간의 표면 질감을 갖는 구형이었음이 관찰되었다(도 21, 도 22 및 도 23). 캡슐화 효율 및 IVR 분석은 실시예 3-1에 기재된 바와 같이 수행되었다. 분무 건조된 배치 번호 40, 41 및 42에 대한 캡슐화 효율은 각각 102.0 ± 16.3%, 101.7 ± 16.3% 및 100.5 ± 16.1%였다.

[0204]

첨가제 없이 제조된 미소구체는 GZ389988의 느린, 거의 0차 방출을 나타냈으며, 이때 대략 20%의 활성 화합물이 35일에 걸쳐 방출되었다(도 24). 1% 10kDa PEG 또는 1% 폴록사머 407의 첨가는 방출 속도를 증가시켰으며; 대략 42%의 활성 화합물은 35일에 걸쳐 방출되었다. 이 실시예는, 친수성 부형제의 도입이 PLA/PGA 미소구체로부터 GZ389988의 시험관내 방출 속도를 촉진시켰음을 입증한다.

[0205]

실시예 4: 생체내 연구

[0206]

실시예 4- 1: 랫트 무릎 관절에 관절내 주사 후 [¹⁴C]-3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민-로딩된 미소구체의 생체내 성능

[0207]

시험관내 방출 동력학을 랫트 무릎 관절에서의 생체내 약물 지속성과 비교하기 위해 2개의 제형을 선택했다. 제

형은 표 13에서 제공된다.

[0208] 시험관내 방출 시험은 실시예 3-1에 기재된 방법을 사용하여 수행되었다. 생체내 약물 지속성 시험은 [¹⁴C]-3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민, 및 미표지된 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 사용하여 수행되었으며; 2개의 약물 형태는 미소구체 내 균일한 약물 분포를 보장하기 위해 미세캡슐화 공정 동안 동시 가용화되었다. 각각의 랫트 관절에 투여되는 방사능의 총량은 약 1.2 MBq였다.

[0209] 랫트 무릎 관절에 남아있는 약물의 평가는, 각각의 시점에 2마리 내지 3마리의 랫트를 희생시키고, 무릎 관절을 극저온 분쇄(cryomilling)하고, 분쇄된 조직으로부터 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민을 추출하여 수행되었다. 정량은 액체 섬광 계수로 수행되었다. 관절에서 회수된 방사능의 양은 각각의 시점에서의 방사능 계수를 처리 후 0.1시간에 희생된 랫트에서의 방사능 계수로 나누어 계산되었다. 랫트 혈중 방사성 약물의 농도(nEq/g로 표시됨)는 시간에 대해 플롯팅되었고, 화합물에 대해 공지된 IC₅₀ 값과 비교했다.

표 13

생체내 시험된 미소구체 조성물 - 16% API/9:1 202:H:RG502H 및 15% API/9:1 R203H:RG752H

배치#	GZ389988† + [¹⁴ C] GZ389988 로딩	GZ389988 중량 (mg)	증합체 비	증합체 양 (mg)*
43	16%	50 mg	9:1 R202H:RG502H	234:26
44	15%	47 mg	9:1 R203H:RG752H	234:26

† GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민

* 총 증합체 양 = 260mg

[0210]

[0211] 배치 40 및 41에 대한 IVR 프로파일은 각각 대략 3개월 내지 4개월 및 5개월 내지 6개월에 걸쳐 거의-0차 방출을 나타낸다(도 25). 랫트 무릎 관절 내로의 관절내 투여 후, 배치 43 및 44는 5개월 내지 6개월에 걸쳐 약물 방출을 나타냈으며; 배치 43은 5개월 후 12%가 관절에 남아있음을 보여주었고, 배치 44는 6개월 후 30%의 약물이 남아있음을 보여주었다(도 26). 생체내 약물 방출 속도는 윤활막 내 미소구체의 국재화로 인해 IVR 속도와 비교하여 약간 더 낮았다.

[0212] 도 27은 혈중 약물 농도-시간 프로파일을 보여준다. 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 미소구체의 관절내 투여 후, 전신 구획에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 농도는 첫 주 동안 EC₅₀ 값(세포 기반)을 약간 초과하였지만, 실험 지속기간(5개월 내지 6개월) 동안 EC₅₀ 값 미만으로 떨어졌다. 이 실험은, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 미소구체가 낮은 전신(즉, 치료 이하(sub-therapeutic)) 약물 노출로 무릎 관절에 지속적인 국소 약물 전달을 제공함을 입증한다.

[0213] 실시예 4- 2: 3개의 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민-로딩된 미소구체 연장 방출 미소구체 제형의 단일, 관절내 주사 후 GZ389988의 약동학 평가

[0214] 랫트 무릎 관절에 관절내 주사 후 전신 구획에서 시험관내 및 생체내 약동학을 비교하기 위해 3개의 제형을 선택했다. 제형은 표 14에서 제공된다.

[0215] 시험관내 방출 시험은 실시예 3-1에 기재된 방법을 사용하여 수행되었다. 생체내 성능은 3마리의 수컷 위스터(Wistar) 랫트에게 0.1 mg 또는 1 mg의 GZ389988을 무릎 관절에 전달하는 주어진 미소구체 제형으로 주사하여 측정되었다. 각각의 시점에서, 혈액 샘플(약 0.25 mL)을 경정맥 캐뉼러를 통해 수집하고, 항응고제로서 K₂EDTA

를 함유하는 냉각된 투브에 넣고, 혼합하고, 원심분리할 때까지 얼음 위에서 보관했다. 샘플을 4°C의 온도에서의 수집 1시간 내에 3,000 x g에서 5분 내지 10분 동안 원심분리했다. 혈액 샘플을 폴리프로필렌 투브 내로 원심분리한 후 혈장을 수집했다. 혈장 샘플을 드라이 아이스 상에서 냉동시키고, LC-MS/MS 분석 전에 -60°C 내지 -80°C에서 냉동된 채로 저장했다. 랫트 혈장에서 GZ389988의 농도(ng/mL로 표시됨)를 시간 경과에 따라 플롯팅 했다(총 28일).

표 14

GZ389988 의 약동학 평가에서 시험된 미소구체의 조성 및 용량

제형	배치#	GZ389988 [†] 로딩	중합체 비	투여된 용량 (mg)
A	45	16%	9:1 R202H:RG752H	0.1
	46	16%	9:1 R202H:RG752H	1
B	47	15%	9:1 R203H:RG752H	0.1
	48	15%	9:1 R203H:RG752H	1
C	49	40%	R203H	0.1
	50	40%	R203H	1

[†] GZ389988 = 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민

[0216]

[0217] 제형 및 제형 B에 대한 IVR 프로파일은 느린 방출을 나타내며, 이때 대략 10%의 활성 화합물이 28일에 걸쳐 방출된다. 제형 C는 처음 5일에 걸쳐 약간 높은 초기 방출에 이어서 남아있는 23일에 걸쳐 감소된 방출 속도를 나타내며; 대략 22%의 활성 화합물이 28일에 걸쳐 방출되었다.

[0218]

랫트 무릎 관절에 관절내 투여 후, 제형 A 및 B는 28일에 걸쳐 유사한 혈장-약물 노출 프로파일을 나타냈으며; 두 제형 모두 실험 지속기간 내내 정상-상태 혈장 수준(각각 0.1 mg 및 1.0 mg 용량에 대해 0.08 ng/mL 및 0.8 ng/mL)으로 1시간 내지 1.5시간의 T_{max} 값을 나타냈다. 제형 A 및 B와 비교하여, 제형 C는 실험 지속기간 내내 높은 C_{max} 값 및 높은 정상-상태 혈장 수준(각각 0.1 mg 및 1.0 mg 용량에 대해 1.2 ng/mL 내지 12 ng/mL)을 나타냈다(도 29). 이들 결과는 IVR 실험 결과와 매우 일치했다.

[0219]

실시예 4- 3: 무릎에 동통성 골관절염을 앓는 환자에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 안전성, 내약성 및 약동학을 평가하기 위한 임상 연구

[0220]

사람에서 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태의 안전성 및 효능은 무릎에 동통성 골관절염을 앓는 환자에서 단일 상승 관절내 용량의 안정성, 내약성, 및 약동학을 평가하고 이어서 단일 관절내 용량의 효능, 안전성, 내약성 및 약동학을 평가하는 2파트 이중 맹검 플라세보-제어된 임상 연구로 시험되었다. 연구의 파트 1에서, 상기 실시예 2에 따라 생성된, 다양한 용량의 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민 일수화물 미세결정성 혼탁액의 무릎으로의 단일 관절내 주사는 3 mL 및 5 mL의 플라세보 용량에 대해 시험된다.

용량

3 mg/3 mL
10 mg/3 mL
30 mg/3 mL
60 mg/3 mL
100 mg/5 mL

[0221]

[0222] 원발성 무릎 골관절염으로 진단된 성인 남성 및 여성이 연구 참여 자격이 있다. 환자는 6개월이 넘는 기간 동안 증상을 나타내며, 연구와 관련된 임의의 절차에 앞서 고지에 입각한 서면 동의를 제공한다. 효능은 주사후 12주에 안전성 및 내약성(부작용, 신체 검사, 체중, 체온, 임상 검사실 시험, 혈압, 심박수, 12-유도 심전도, 국소 내성(local tolerance))에 기초하여 평가된다. 약동학(혈장 및, 가능한 경우, 윤활액에서) 및 약력학이 또한 평가된다.

[0223] 장기간 안전성 및 효능을 평가하기 위해 추가의 연구 약물 투여 없이 장기간 관찰 안전성 연구를 계속한다는 옵션으로 환자를 연구 약물 또는 플라세보 투여 후 84일 ± 7일 동안 추적한다.

[0224] 실시예 5: 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 다형성 연구

[0225] 순수한 용매 및 용매와 물의 조절된 혼합물 중 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-피라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 결정 형태를 확인하기 위해 GZ389988의 다형성 연구를 수행했다. 다형체의 특성화 툴로 사용되는 기술은 X-선 분말 회절(XRPD), 고-분해능 X-선 분말 회절(HR-XRPD) 및 단결정 X-선 회절(XRSCD), 적외선 분광법(FT-IR) 또는 질량 분석법(MS)과 커플링된 열무게 분석(TGA), 물과 용매의 동적 증기 흡착(DVS), 및 광학 현미경검사(OM)를 포함했다. 이를 기술은 하기 더 상세히 기재되어 있다.

[0226] 고분해능 X-선 분말 회절(HR-XRPD)

[0227] 고-분해능 다이아그램은 엑스'셀러레이터(X'Celerator) 검출기와 커플링된 브래그-브렌타노(Bragg-Brentano)(수직 θ-2θ 배치) 파라포커싱 기하 구조(parafocusing geometry)를 사용하여 파날리티칼 엑스'퍼트 프로(Panalytical X'Pert Pro) MPD 분말 회절계 상에서 주위 조건에서 기록되었다. 45 kV 및 40 mA 수준에서 작동하는, 밀봉된 구리 애노드 X-선 튜브를 사용했다. 입사 빔 모노크로메이터(요한슨(Johansson) 유형 : 대칭적으로 절단된 곡선형 게르마늄 (111) 결정)는 순수한 Cu Kα 1 방사선($\lambda = 1.54060 \text{ \AA}$)을 생성했다.

[0228] 각각의 세트의 실험에 대해, 단결정 실리콘 웨이퍼로 커버된 샘플 홀더의 표면 상에 박층의 생성물을 침착시켰다. 웨이퍼는 체계적 소멸(systematic extinction)에 의해 실리콘으로부터의 임의의 브래그 반사를 방해하는 Si (510) 결정학적 배향에 따라 절단되었다. 이용 가능한 각도 범위는 2θ에서 0.017° 단계 크기로 2θ에서 2° 부터 50° 까지 확장되었다. 단계당 100초 내지 2500초의 가변적인 계수 시간이 사용되었다.

[0229] X-선 분말 회절(XRPD)

[0230] 다른 XRPD 분석이 또한 브래그-브렌타노(수직 θ-θ 배치) 파라포커싱 기하 구조와 안톤-파르(Anton-Paar) TTK450 온도 챔버를 사용하여 지멘스-브루커 D8 어드밴스(Siemens-Brucker D8 Advance) 분말 회절계에서 수행되었다. 박층의 생성물을, 체계적 소멸에 의해 웨이퍼로부터의 임의의 브래그 반사를 방해하는 Si (510) 결정학적 배향에 따라 절단된 단결정 실리콘 웨이퍼 상에 침착시켰다. 40 kV 및 35 mA 수준에서 작동하는 밀봉된 구리 애노드 X-선 튜브를 사용했다. 2개의 라인이 전형적으로 방출되었다: CuK α1($\lambda = 1.5405 \text{ \AA}$) 및 CuK α2($\lambda = 1.5443 \text{ \AA}$). 검출기와 시료 사이에 배치된 니켈 β-필터는 CuKβ($\lambda = 1.3922 \text{ \AA}$) 방사선을 완전히 제거하지 못했으며, 이는 여전히 검출기에서 회절된 빔의 약 1%에서 나타난다(제조자의 데이터). 빔은 이의 평행도를 개선하기 위해 솔라 슬릿(Soller slit)을 통해 전송되었다. 가변 발산 슬릿은 샘플 영역의 조사를 일정하게 유지시켰다. 시준기(collimator)는 튜브와 샘플 사이의 확산을 제한했다. 린크스아이(LynxEye) 선형 검출기는 설정을 완료했다. 이는 각도 2θ에서 3.5° -폭 검출 윈도우(detection window)를 갖췄다. 하기 조건에서 다이아그램이 기록되었다: 주위 온도에서, 각도 2θ에서 2° 부터 40° 까지 스캔. 통합 시간(integration time)은 실험 조건에 의존적이었다. 전개 연구(evolution study)와 대부분의 스캔은 2θ에서 단계당 0.1초의 계수 시간을 사용하여 수행되었다. 보다 긴 통합 시간(최대 5초)은 안정한 형태를 확인하기 위해 사용될 수 있었다.

[0231] X-선 단결정 회절(XRSCD, SCXRD로도 지칭됨)

[0232] XRSCD 데이터를 브루커 스마트 아펙스(Bruker Smart Apex) 단결정 회절계 상에서 기록했다. 50 kV 및 0.6 mA에서 작동하고, Mo-K α 방사선($\lambda = 0.710731 \text{ \AA}$)을 방출하는 몰리브덴 $1 \mu \text{S}$ 마이크로포커스 X-선 공급원을 사용했다. 전하-결합 소자(CCD 칩 : 4K, 62 mm) 면적 검출기를 6.0 cm에 위치시켰다. 옥스포드 크라이오시스템즈(Oxford Cryosystems) 질소 크라이오스탯(cryostat)(크라이오스트림 플러스(Cryostream Plus))에 의해 XRSCD 실험을 100 K에서 수행할 수 있었다.

[0233] 결정은 모두 파라톤(Paratone) NTM 오일 드롭으로부터 낮은 배경 마일러 미토젠(MiTegen) 루프 상에 탑재되었다. 전체 에벌트(Ewald) 반사 영역이 수집되었다(프레임 폭이 0.3° 인 680 프레임의 3회 오메가 스캔). 누적 시간은 결정에 의존적이었다.

[0234] 배향 매트릭스 및 단위 셀은 아펙스2(v2014.11-0) 프로그램 스위트를 사용하여 확립되었다. 3D 반사 프로파일 및 모든 반사의 통합은 세인트(v8.34A) 프로그램을 사용하여 수행되었다. SADABS(v2014/5) 프로그램을 사용하여 로렌츠 및 편광 효과 및 샘플에 의한 흡수를 보정하였다. 잠정적인 공간 그룹은 XPREP(v2014/2) 프로그램을 사용하여 결정되었다. 셀엑스티엘(SHELXTL)(v2014/7) 스위트는 고유의 페이징 방법(intrinsic phasing method)으로 구조를 밝혀내고 F^2 에서 완전-매트릭스 최소 제곱 계산에 의해 솔루션을 정밀화하는데 사용되었다.

[0235] 다형체 식별 및 특성화

[0236] 상기 기재된 기술을 사용하여, 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 결정 형태를 식별했다. 이들 형태, CuK α 방사선을 사용하여 측정된 XRPD 2 Θ 피크 및 형성 조건은 하기 표 15에 제시되어 있다.

표 15

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-
이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 형태

무수물, 수화물 또는 용매화물	다형체 수	형태 번호	CuK_α 방사선을 사용하여 측정된 XRPD 20 피크	형성 조건
무수물	1	형태 2	3.8, 7.6, 11.0, 11.5, 13.3, 13.9 및 15.3	일수화물 1의 탈수에 의해 얻어진 형태
무수물	1	형태 3	6.0, 6.9, 10.9, 12.4, 12.7, 13.7 및 15.3	고온에서 수득됨(일수화물 1의 경우 160°C, 용매화물의 경우 약 120°C)
무수물	3	형태 6/7	5.6, 8.1, 12.1, 14.0, 16.2 및 20.7	일수화물 2 및 에탄올, 아세토나트릴 및 아세톤 2 용매화물의 탈용매화에 의해 얻어진 형태
일수화물	1	형태 1	3.6, 7.1, 8.9, 10.4, 10.7, 12.4, 12.7 및 14.3	실시예 1 참조
일수화물	2	형태 8	5.5, 6.4, 8.2, 12.5, 12.8 및 16.5	에탄올, 아세토나트릴 및 아세톤 2 용매화물로부터 유도된 형태 ("N ₂ H ₂ O 증기" 사이클로부터)
세스퀴수화 물		형태 4	3.5, 7.1, 9.3, 10.3, 10.6, 12.4, 13.0 및 14.1	아세톤/물로부터의 결정화에 의해 얻어진 형태
에탄올 용매화물		형태 5	5.3, 6.3, 7.5, 11.4, 12.6, 12.8 및 15.1	에탄올 중 일수화물 1의 재결정화에 의해 또는 무수 형태 3의 에탄올 용매화로부터 얻어진 형태
아세톤 용매화물	1	형태 9	6.1, 8.9, 12.1, 15.3, 16.4, 18.2 및 21.2	순수한 아세톤 및 아세톤/물 99:1 중 일수화물 1의 재결정화에 의해 얻어진 형태
아세톤 용매화물	2	형태 10	5.4, 6.2, 7.4, 11.4, 12.6 및 14.8	순수한 아세톤 중 일수화물 1의 재결정화에 의해 또는 무수 형태 3의 아세톤 용매화로부터 얻어진 형태
아세토나트 릴 용매화물		형태 11	5.3, 6.4, 7.7, 11.6, 12.8, 13.2 및 15.5	아세토나트릴 중 일수화물 1의 재결정화에 의해 또는 무수 형태 3의 아세토나트릴 용매화로부터 얻어진 형태

[0237]

[0238] 일수화물 형태 1, 무수 형태 2 및 3의 측정된 HR-XRPD 다이아그램, 뿐만 아니라 세스퀴수화물 형태 4의 모의된 XRPD 다이아그램이 도 30에서 함께 플롯팅된다.

[0239]

혼합 용매 에탄올/물(99/1) 중 일수화물로부터의 20 mg/ml의 GZ389988A 혼탁액을 80°C에서 1시간 동안 가열했다. 이후 혼탁액을 여과했다. 다음에, 용액을 실온에서 밤새 유지시켰다. 하룻밤 후, 결정을 관찰했고, 이후 에탄올 용매화물 형태에 상응하는 것으로 식별되었다(형태 5로 표지됨). 에탄올 및 물(99/1)의 혼합물의 느린 증발에 의해 얻어진 결정의 물리적 품질은 단결정 X-선 회절로 분석하기에 적절했다. 측정은 5 x 50 x 200 μm^3 결정 상에서 100K에서 수행되었으며, 이때 누적 시간은 프레임당 300s였다. 회절도(diffractogram)는 분석된 입자의 결정도를 확증했다. 도 31은 100K에서 측정된 XRSCD 데이터로부터 모의된 XRPD 다이아그램(상단)과 비교하여 실온에서 측정된 에탄올 용매화물 분말의 HR-XRPD 다이아그램(하단)을 도시한다.

[0240]

일수화물 1(형태 1)로부터 20 mg/ml의 GZ389988A 혼탁액을 용매 아세톤/물(99/1)의 혼합물 중에서 또는 순수한 아세톤 중에서 제조하고, 80°C에서 1시간 동안 가열하여 완전히 용해시켰다. 다음에, 혼탁액을 여과했다. 이후 용액을 실온에서 또는 5°C에서 유지시켰다. 하룻밤 후, 육안으로 결정을 관찰했고, 이후 아세톤 용매화물 형태에 상응하는 것으로 식별되었다(형태 9로 표지됨). 아세톤 및 물(99/1)의 혼합물의 느린 증발에 의해 얻어진 결정의 물리적 품질은 단결정 XR 회절로 분석하기에 적절했다. 측정은 100 x 200 x 2000 μm^3 결정 상에서 100K에서 수행되었으며, 이때 누적 시간은 프레임당 300s였다. 도 32는 실온에서 측정된 아세톤 용매화물 분말에 대한 XRPD 다이아그램(하단) 및 100K에서 XRSCD로부터 모의된 아세톤 용매화물 분말에 대한 XRPD 다이아그램(상단)을

도시한다.

[0241] 또 다른 실험에서, 일수화물 1(형태 1)로부터의 20 mg/ml의 GZ389988A 혼탁액을 순수한 아세톤에서 제조하고, 80°C에서 1시간 동안 가열했다. 다음에, 혼탁액을 여과하고, 이후 5°C까지 바로 냉각시키고, 이 온도에서 저장했다. 하룻밤 후, 육안으로 결정을 관찰했고, 아세톤 용매화물 1, 형태 9에 대해 얻어진 결정과 유사했다. 막자 사발에서 이를 혼탁액에서 분쇄한 후, 이는 또 다른 아세톤 용매화물, 형태 10에 상응하는 것으로 식별되었다. 도 33은 2개의 아세톤 용매화물 형태, 형태 9(하단) 및 형태 10(상단)에 대한 XRPD를 비교한다.

[0242] 아세토니트릴(ACN) 중 일수화물로부터의 20 mg/ml의 GZ389988A 혼탁액을 80°C에서 4시간 동안 가열했다. 이후 혼탁액을 여과했다. 다음에, 용액을 40°C에서 밤새 유지시키고, 이후 2시간 동안 실온까지 냉각시켰다. 하룻밤 후, 결정 클러스터가 바이알 바닥에 형성되었다. 아세토니트릴(ACN) 용매화물 형태(형태 11)의 HR-XRPD 다이아그램은 도 34에 기록된다.

[0243] 아세톤/물 및 아세토니트릴/물 혼합물 용매 중에서 형성된 고체 결정상의 식별

[0244] 50 mg의 GZ389988A 일수화물 1은 하기 3개의 상이한 중량 비의 용매(아세톤 또는 아세토니트릴) 및 탈염수의 혼합물 2 mL로 보충되었다. 50/50, 80/20 및 95/5. 아세톤의 경우, 99/1 및 98/2 비의 추가의 혼합물이 조사되었다. 80°C에서 2시간 후, 샘플을 0.45 μm의 명목 기공 크기를 갖는 PTFE 주사기 필터 상에서 여과하고, 여과 후 다시 80°C에서 15분 동안 저장했다.

[0245] 이후 샘플을 40°C에서 밤새 냉각시킨 후 실온에서 또 24시간 동안 냉각시켰다.

[0246] 이후 샘플을 상응하는 용매로 포화된 챔버에서 XRPD로 분석했다. 필요에 따라, 거대 결정을 바이알에서 스패츌러로 부숴 미세 분말로 만들었다. "습윤" 분말 샘플은 이후 샘플 훌더 상에서 가능한 한 편평하게 침적되었다. 이들 분석 결과는 하기 표 16에서 제공된다.

표 16

아세톤/물 및 아세토니트릴/물 혼합물 중 GZ389988A 의 고체 결정상

용매	용매/물 중량비	결정상(들)
아세톤	99/1	아세톤 용매화물 형태 9
	98/2	일수화물 1
	97/3	일수화물 1
	95/5	일수화물 1
	80/20	일수화물 1
	50/50	일수화물 1
아세토니트릴	95/5	일수화물 1
	80/20	일수화물 1
	50/50	일수화물 1

[0247]

[0248] 에탄올, 아세톤, 아세토니트릴 및 아세톤/물 및 아세토니트릴/물 혼합물 중 일수화물 1의 결정화로부터의 용매화물 및 수화물의 형성이 이 실시예에서 연구되고 제공되었다. 10개의 결정상이 식별되었다:

[0249] 무수상 1(형태 2)

[0250] 무수상 2(형태 3)

[0251] 무수상 3(형태 6/7)

[0252] 일수화물 1(형태 1)

[0253] 일수화물 2(형태 8)

[0254] 세스퀴수화물(형태 4)

[0255] 에탄올 용매화물(형태 5)

- [0256] · 아세톤 용매화물 1(형태 9)
- [0257] · 아세톤 용매화물 2(형태 10)
- [0258] · 아세토니트릴 용매화물(형태 11)

[0259] 상응하는 회절도는 도 35에서 함께 플롯팅된다.

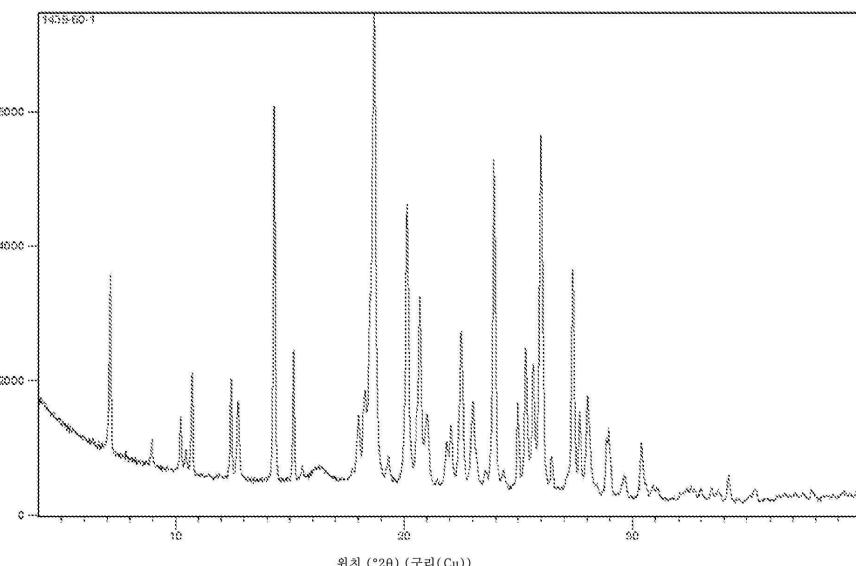
[0260] 에탄올, 아세톤 및 아세토니트릴, 뿐만 아니라 용매 혼합물(아세톤/물 및 아세토니트릴/물)에서 수행된 다형성 연구로부터, 몇 가지 결론이 도출될 수 있다. 3개의 모든 순수한 용매는 고체 결정성 용매화물 상의 형성을 초래한다. 에탄올 및 아세토니트릴 중 GZ389988A의 재결정화는 각각 하나의 용매화물 형태를 초래한다. 2개의 용매화물 형태는 아세톤 중의 재결정화로부터 얻어졌다. 98:2, 97:3 95:5, 80:20 및 50:50의 중량비로 아세톤/물 혼합 용매 시스템에서 형성된 결정은 모두 일수화물 1 결정상이다. 95:5, 80:20 및 50:50의 중량비로 아세토니트릴/물 혼합 용매 시스템에서 형성된 결정도 또한 모두 일수화물 1 결정이다. 아세톤 용매화물 1은 탈용매화시 주로 무정형 고체로 변환되는 것으로 관찰되었다. 분자 이동도가 혼합된 아세톤 및 물의 증기의 존재에 의해 증가되는 경우, 초기 아세톤 용매화물 1 결정 및 무정형 고체 둘 모두 일수화물 1로 재구성된다. 질소 하에 120°C의 온도로 노출된 에탄올, 아세토니트릴 및 아세톤 용매화물 1은 동일한 무수 결정상 2로 탈용매화된다. 동형(isomorphism)은 에탄올, 아세토니트릴 및 아세톤 용매화물 2 형태에서 관찰된다(단결정 X-선 회절에 의해 확인됨). 이들은 모두 가역적으로 동일한 무수상 3으로 탈용매화된다. 무수상 3은 일수화물 1과 상이한 "일수화물 2"인, 일수화물 형태로 수화된다.

도면

도면1

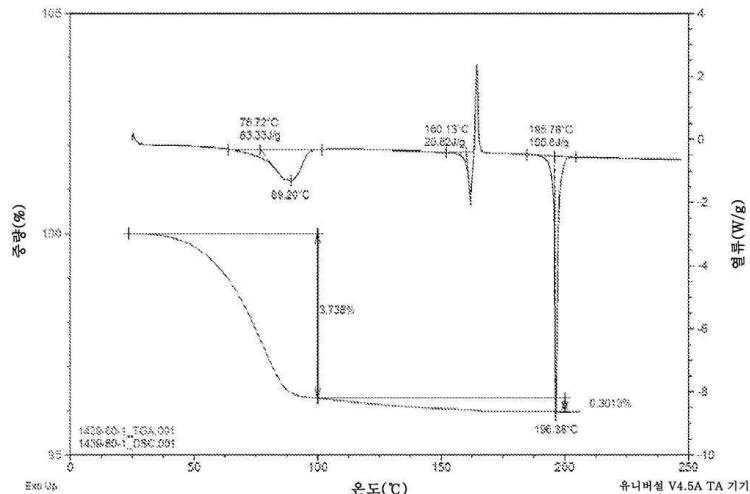
3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-

이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 일수화물 형태의 X-선 분밀 회절(XRPD), 4-40°2θ



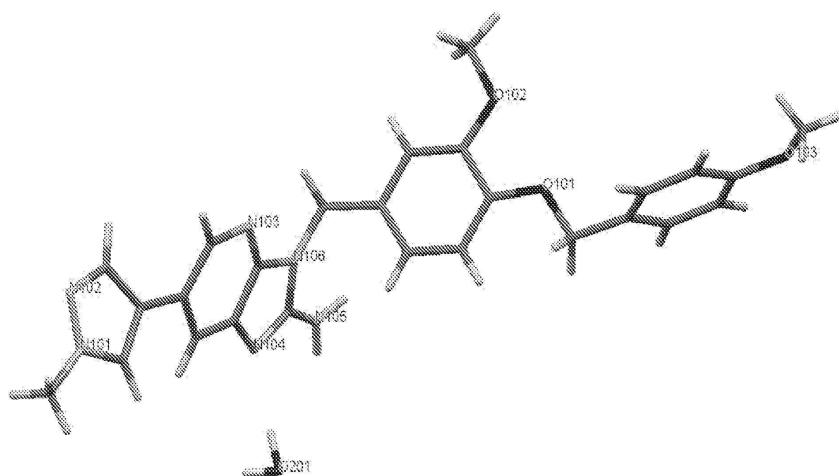
도면2

10°C/분으로 가열됨, 3-(3-메톡시-4-(((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태의 시차 주사 열량계(DSC) 및 열중량 분석(TGA) 서모그램



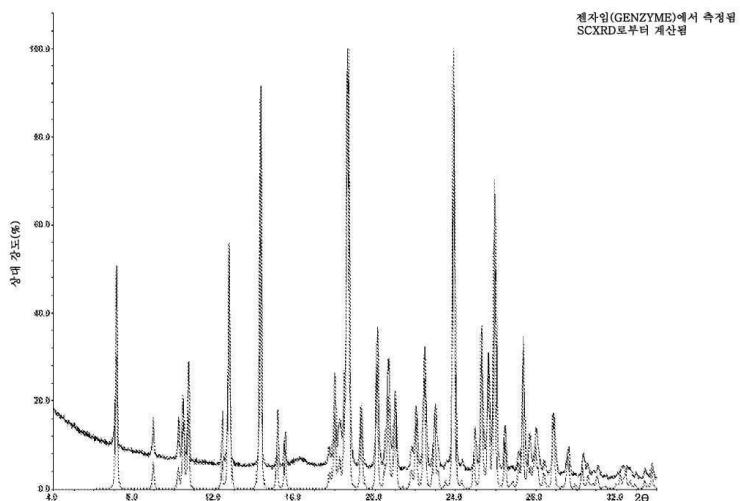
도면3

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-페라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]페리딘-2-아민의 일수화물 형태의 결정 구조



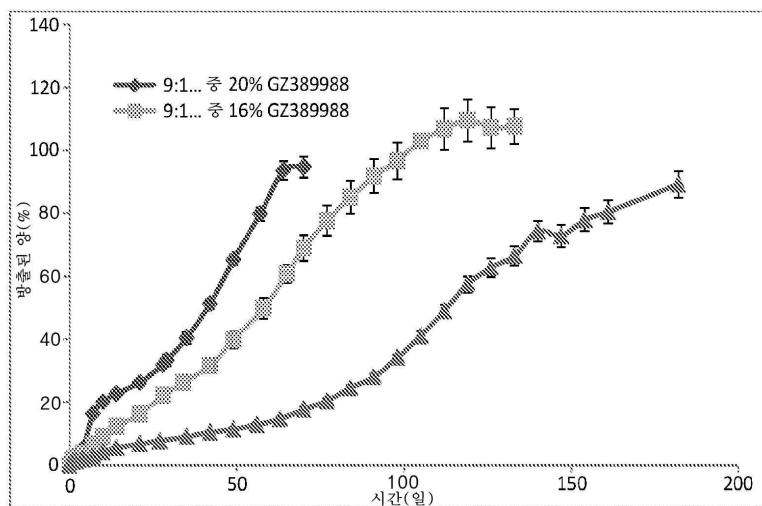
도면4

단결정 구조로부터 계산된 XRPD 패턴과 실험적 XRPD 패턴의 중첩



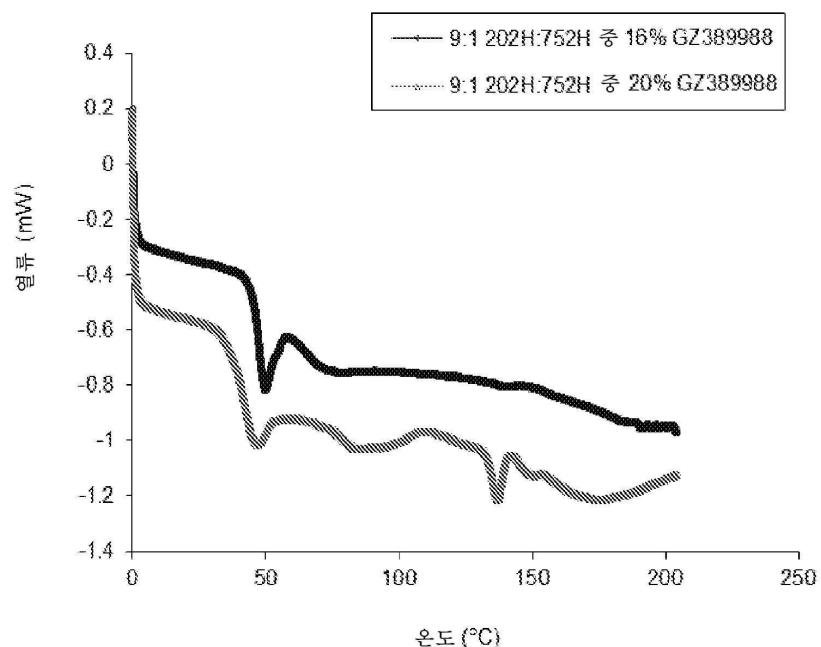
도면5

IVR 프로파일에서 API 로딩 효과 – 12% API/9:1 R202H:752H, 16% API/9:1 R202H:752H 및 20% API/9:1 R202H:752H 미소구체



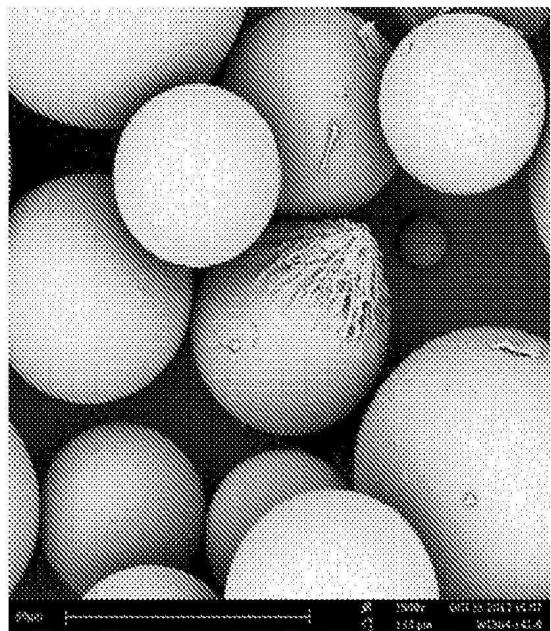
도면6

16% API/9:1 R202H:752H 및 20% API/9:1 R202H:752H 미소구체의 DSC 서모그램



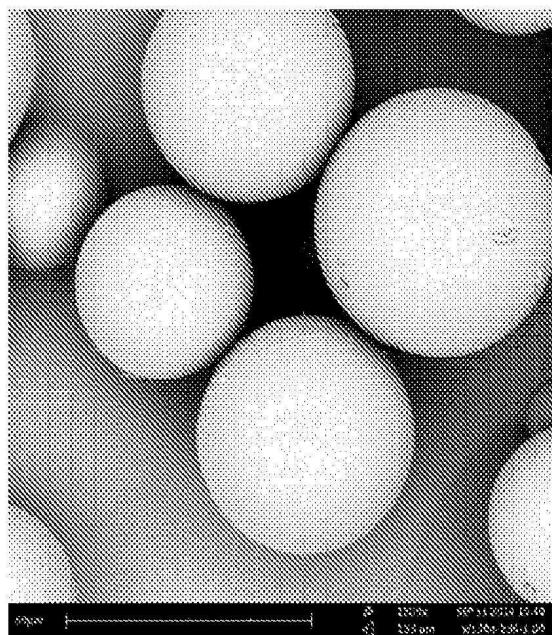
도면7

16% API/9:1 R202H:752H 미소구체의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1500X)



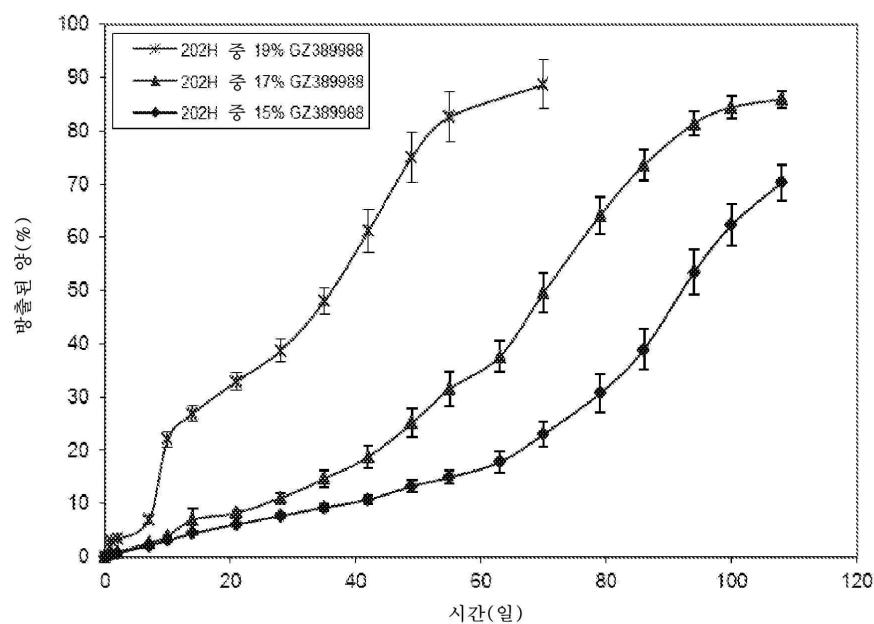
도면8

20% API/9:1 R202H:752H 미소구체의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1500X)



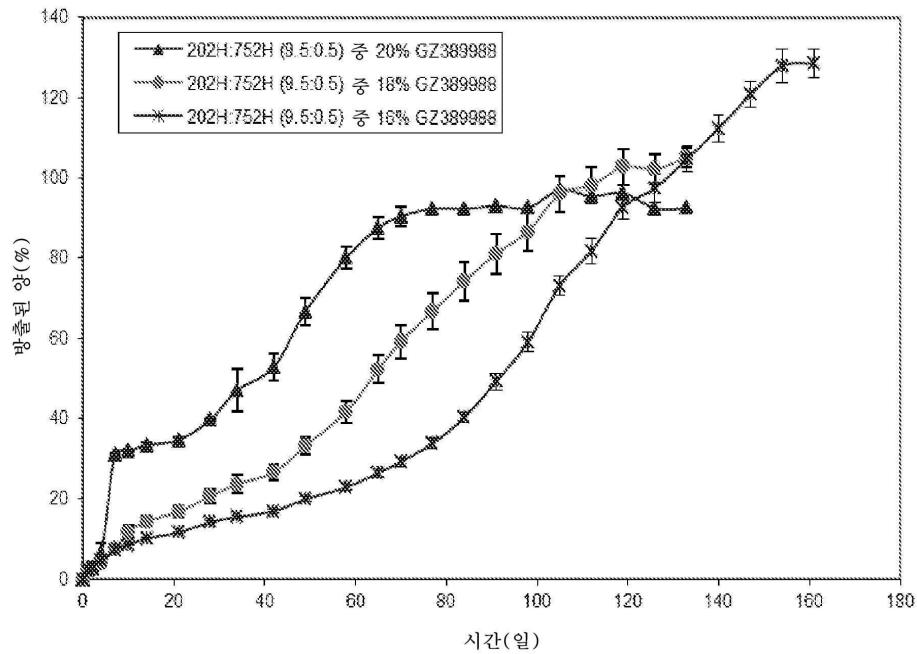
도면9

IVR 프로파일에서 API 로딩 효과 – 15% API/R202H, 17% API/R202H
및 19% API/R202H 미소구체



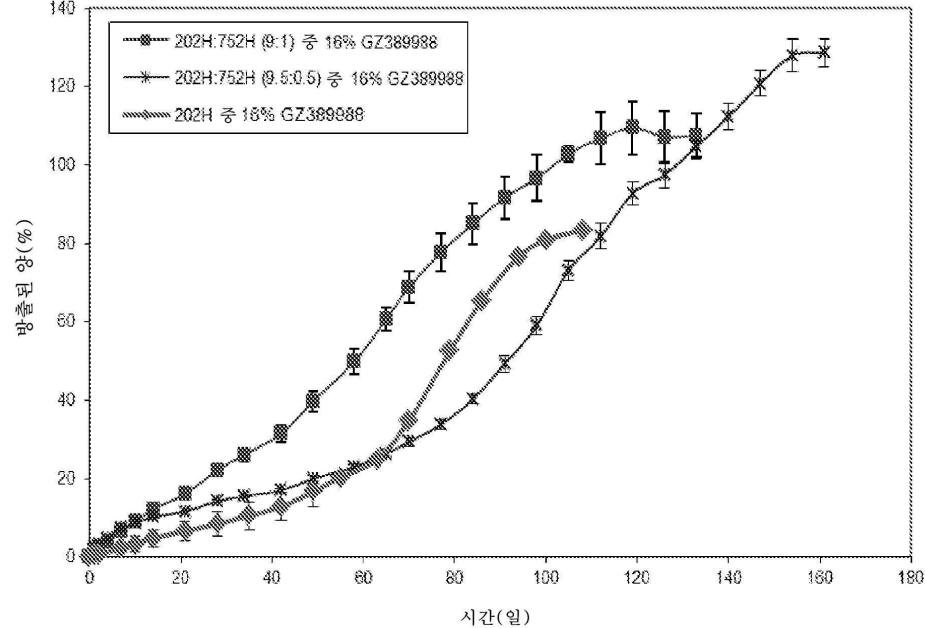
도면10

IVR 프로파일에서 API 로딩 효과 – 16% API/9.5:0.5 R202H:752H, 18% API/9.5:0.5 R202H:752H 및 20% API/9.5:0.5 R202H:752H 미소구체

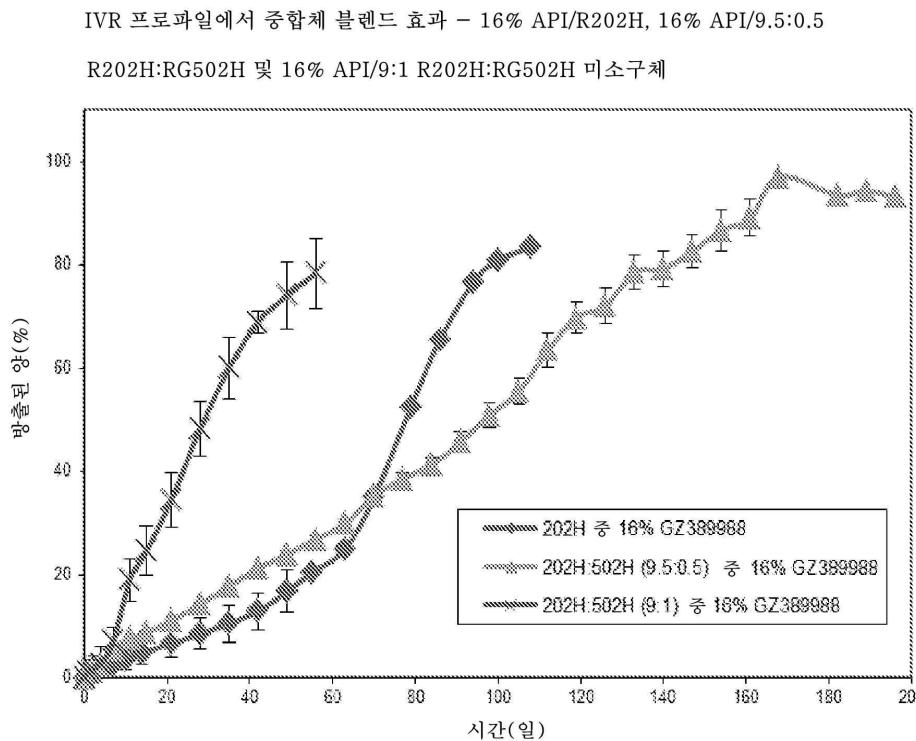


도면11

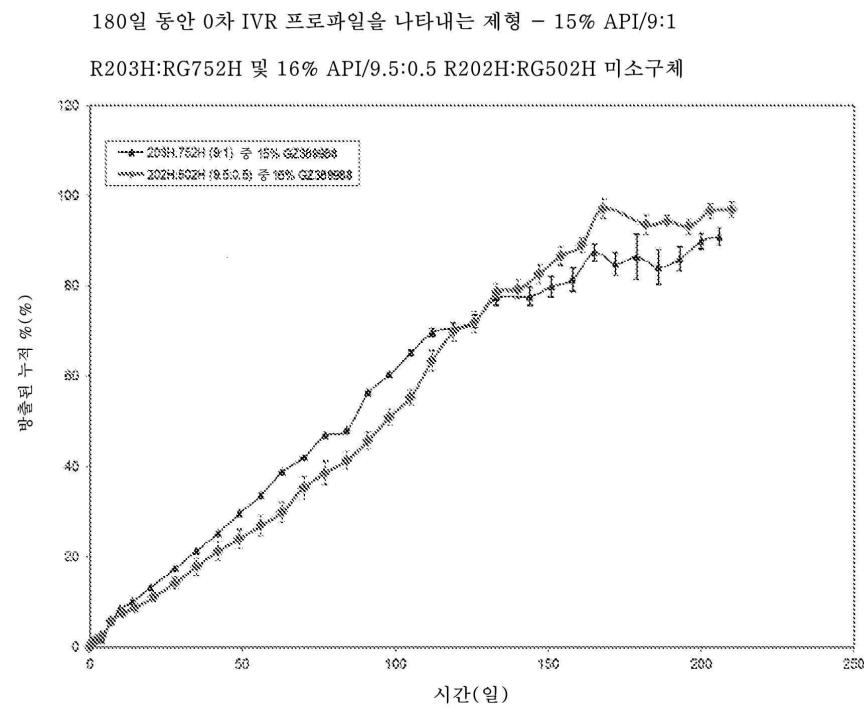
IVR 프로파일에서 중합체 블렌드 효과 – 16% API/R202H, 16% API/9.0:0.5 R202H:RG752H 및 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체



도면12



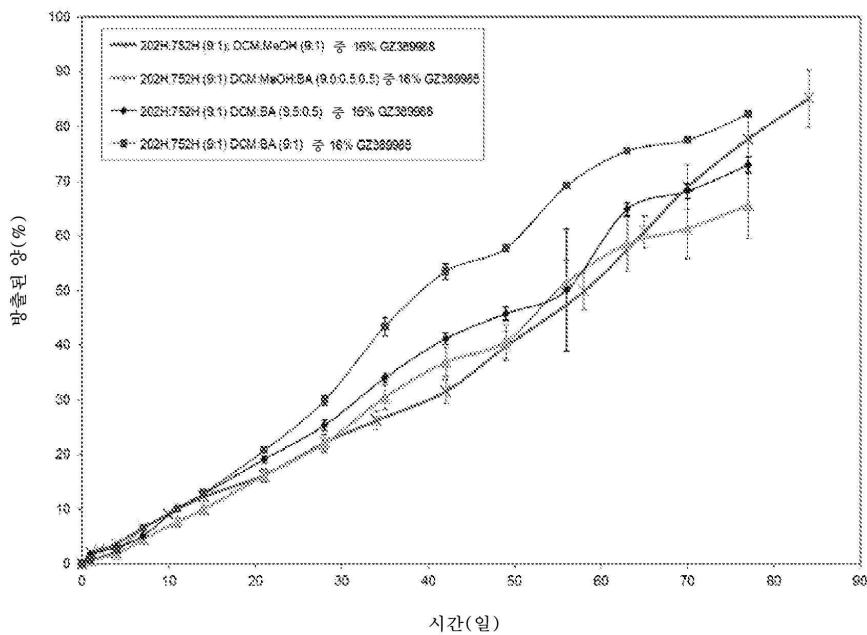
도면13



도면14

IVR 프로파일에서 제제 중 공-용매 시스템의 효과 – 16% API/9:1 R203H:RG752H

미소구체 – 9:1 DCM:MeOH, 9:0.5:0.5 DCM:MeOH:BA, 9.5:0.5 DCM:BA, 9:1 DCM:BA



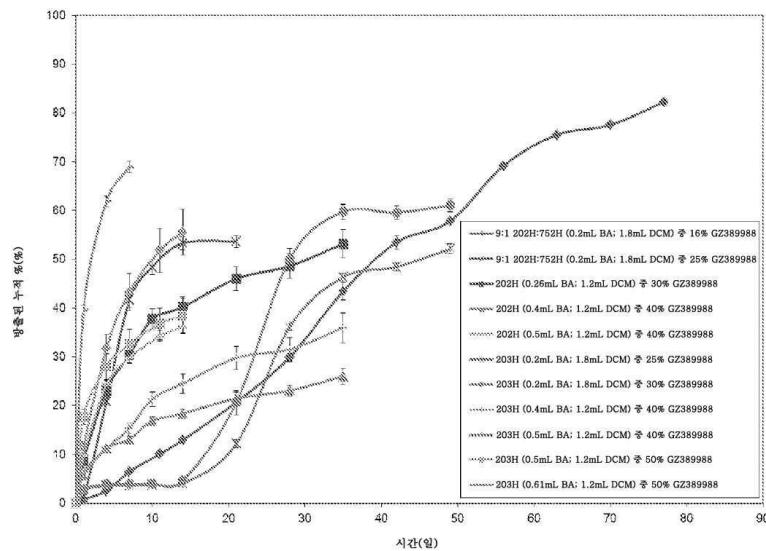
도면15

IVR 프로파일에서 API 로딩 증가에 대한 DCM:BA 공-용매 시스템의 효과

– 16% API/9:1 R202H:RG752H, 25% API/9:1 R202H:RG752H, 30% API/R202H, 40%

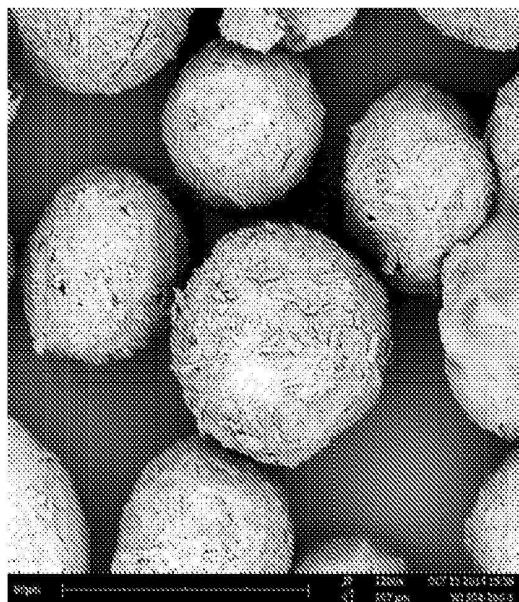
API/R202H, 25% API/R203H, 30% API/R203H, 40% API/R203H, 50% API/R203H

미소구체



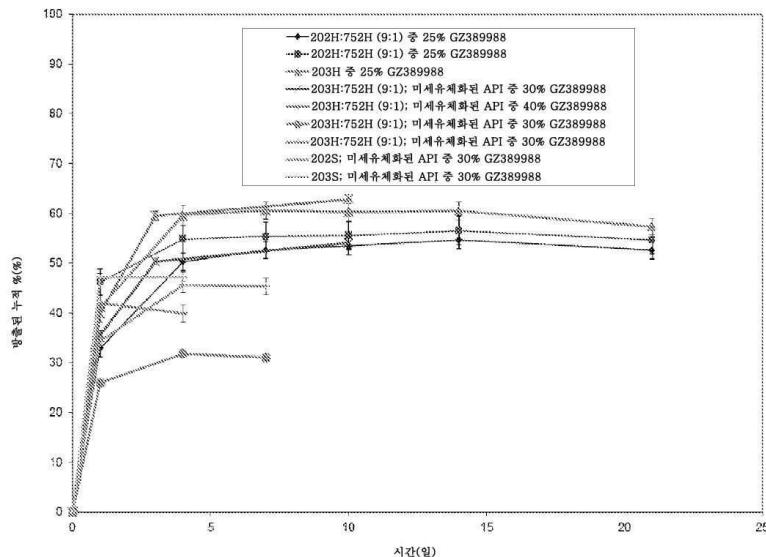
도면16

미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정으로 제조된 미소구체의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1500X)



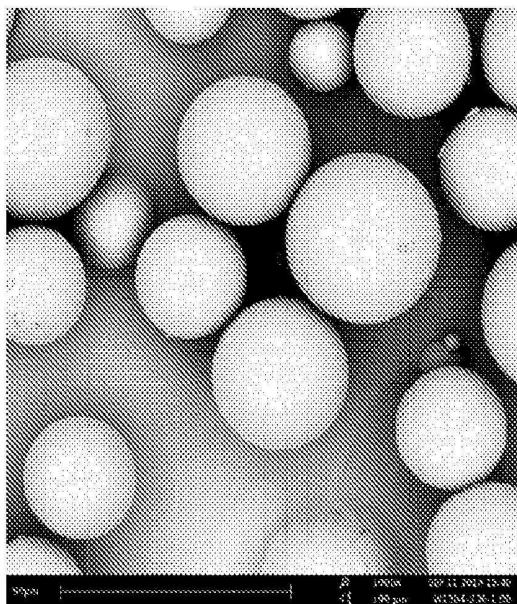
도면17

IVR 프로파일에서 미분화된 혼탁 미세캡슐화 공정의 효과 -
25% API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.6 mL EA, 25% API/9:1
R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 3.25 mL EA, 25% API/R203H 39 mL 5% PVA + 2.0
mL EA, 30% 미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 40%
미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30%
미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30%
미세유체화된 API/9:1 R202H:RG752H 39 mL 5% PVA + 2.3 mL EA, 30%
미세유체화된 API/R202S 39 mL 5% PVA + 2.0 mL EA, 30% 미세유체화된 API/R203S
39 mL 5% PVA + 2.0 mL 미소구체



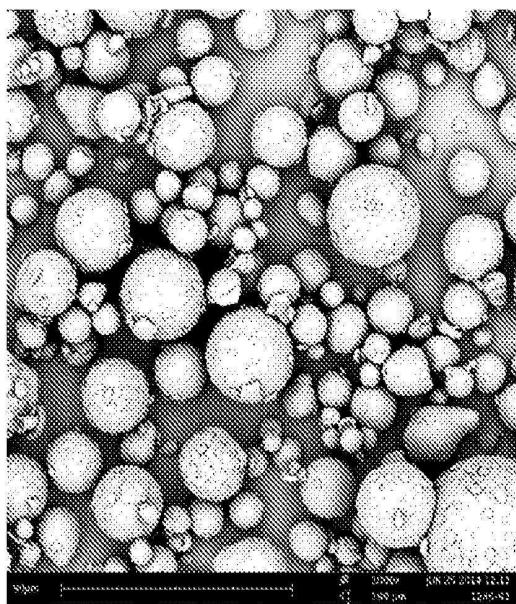
도면18

16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체, 용매 추출의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X)



도면19

16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체, 분무 건조의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X)



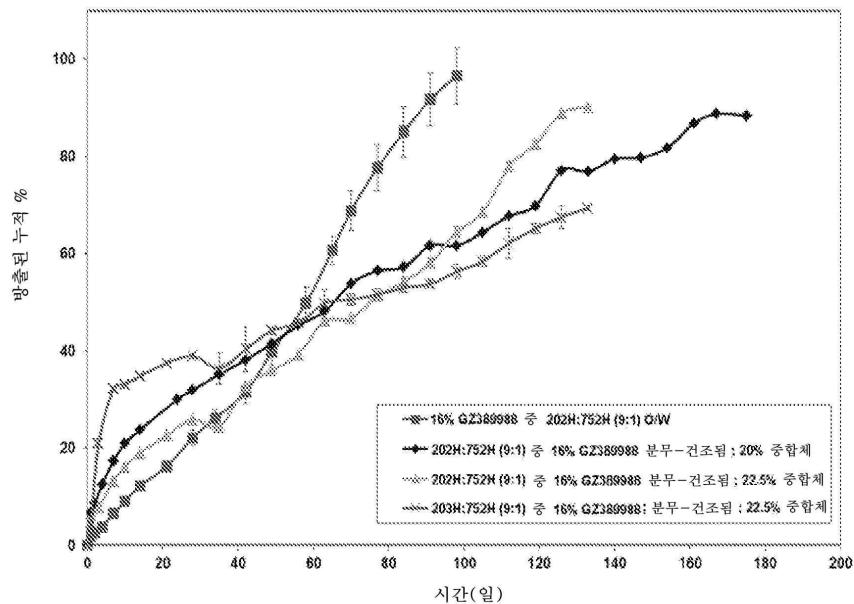
도면20

IVR 프로파일에서 미세캡슐화 공정의 효과 -

용매 추출에 의한 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체(OW),

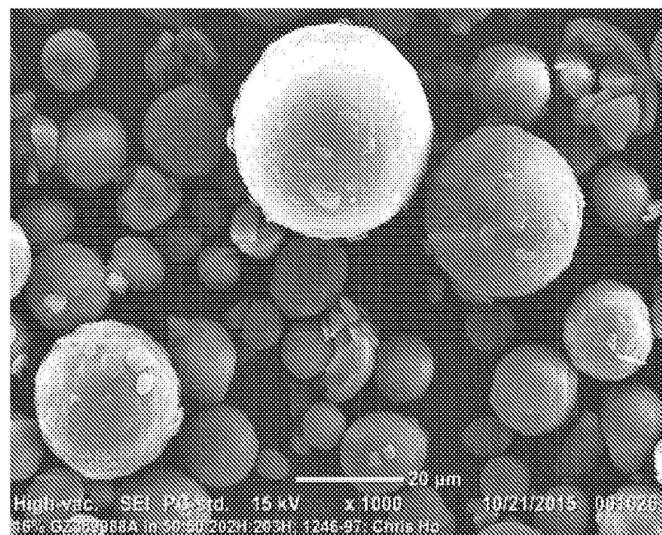
분무 건조에 의한 16% API/9:1 R202H:RG752H 미소구체(20% 및 22.5% 중합체) 및

분무 건조에 의한 16% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체(22.5% 중합체)



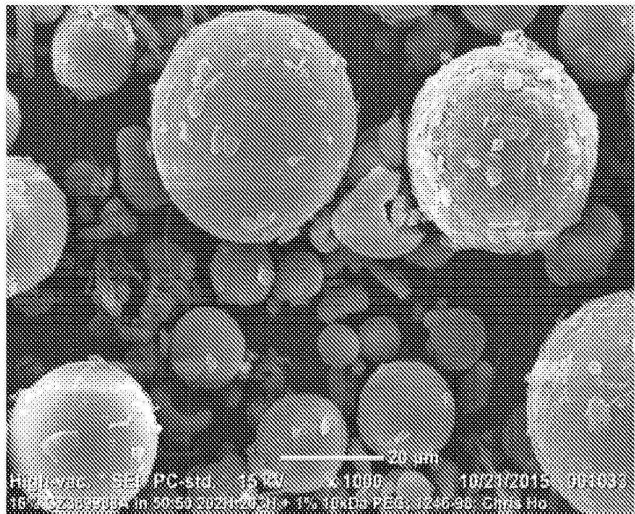
도면21

분무 건조된 16% API/1:1 R202H:R203H/무 첨가제 미소구체의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X)



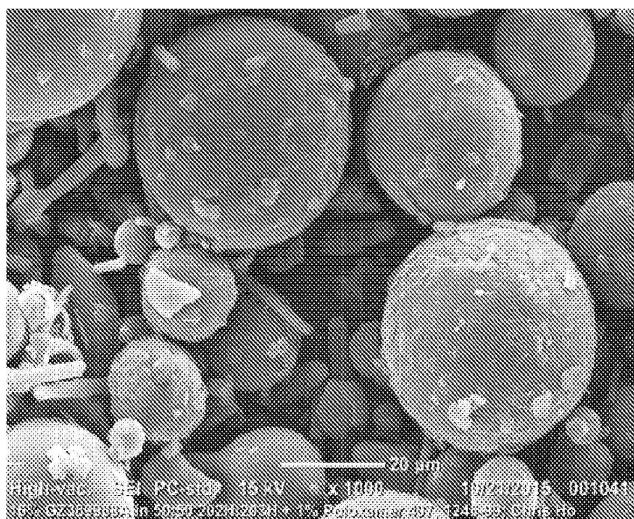
도면22

분무 건조된 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg PEG 미소구체의
주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X)



도면23

분무 견조된 16% API 1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사며 407 미소구체의 주사 전자 현미경(SEM) 사진(1000X)

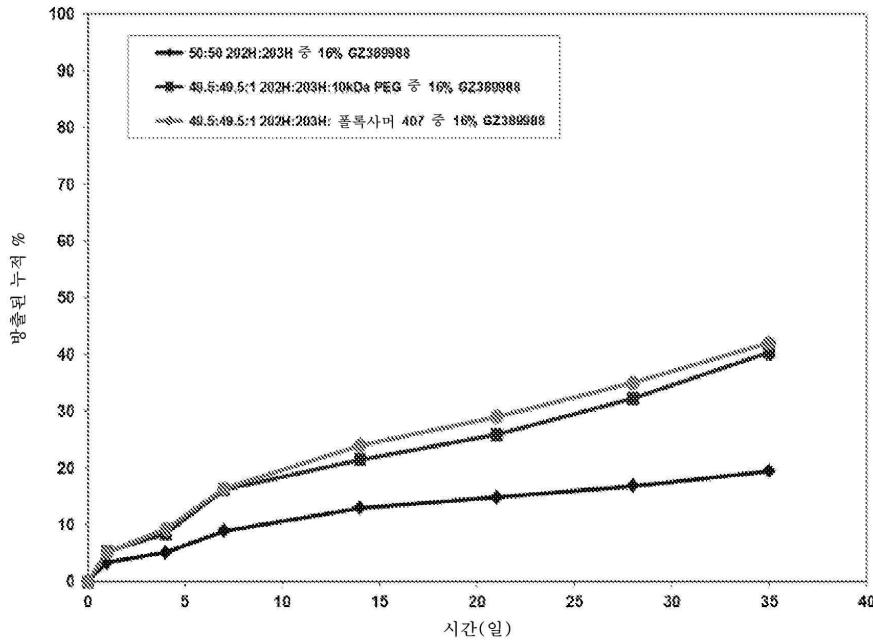


도면24

IVR 프로파일에서 % 10kDa PEG 또는 1% 폴록사미 407의 효과 -

16% API/1:1 R202H:R203H/무 첨가제, 16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg PEG,

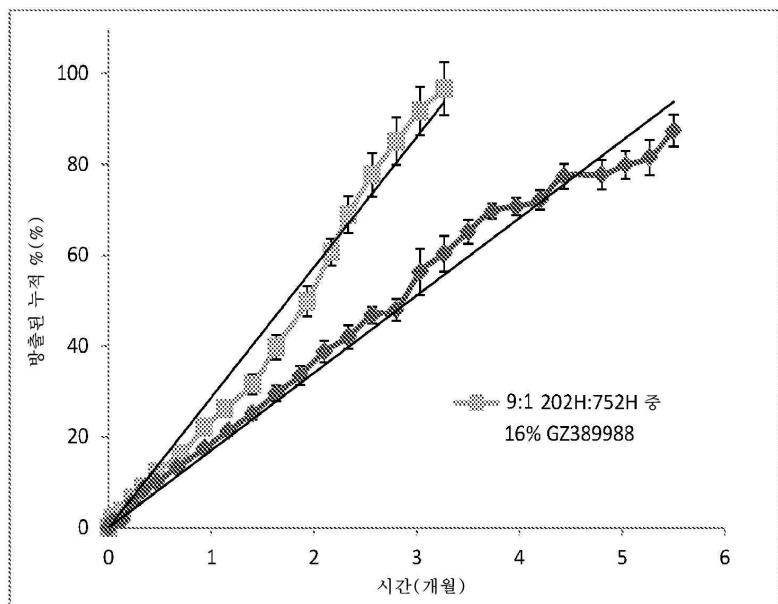
16% API/1:1 R202H:R203H/31.25 mg 폴록사미 407



도면25

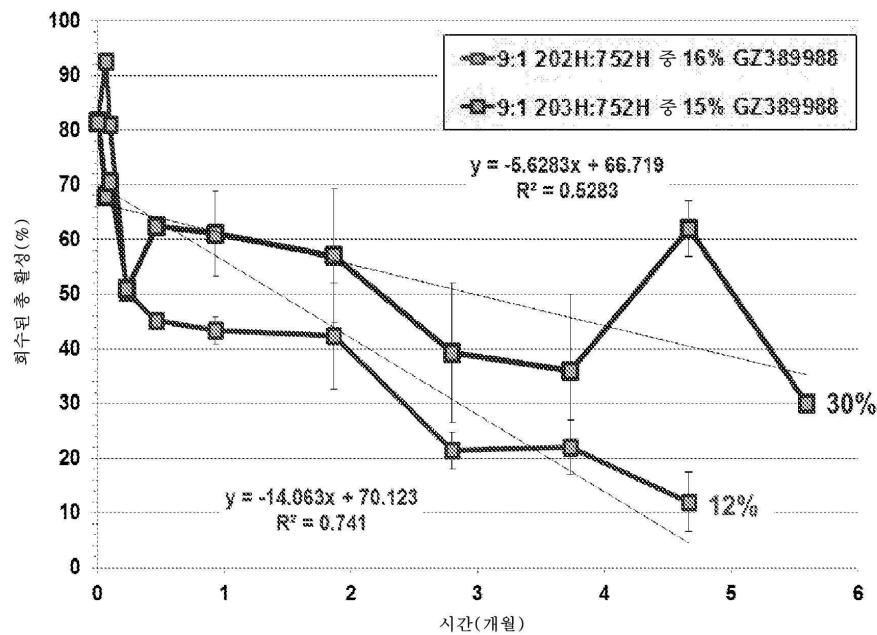
생체내(랫트) IVR 프로파일 - 16% API/9:1 202H:RG502H 및

15% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체



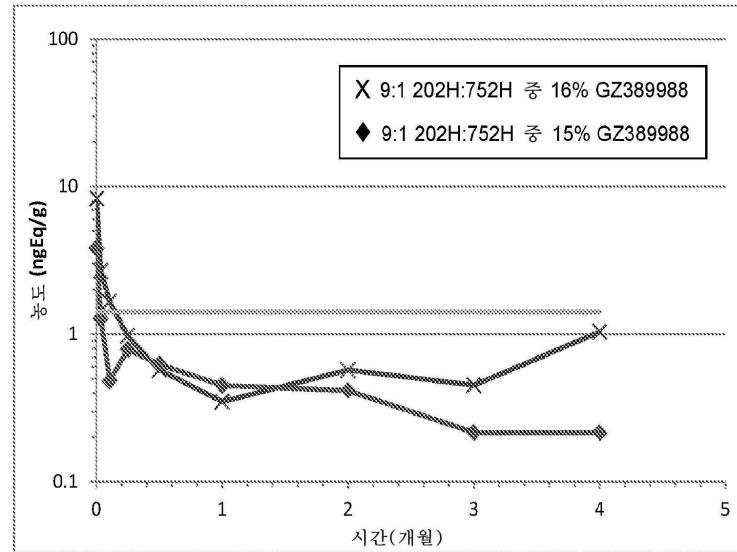
도면26

시간 경과에 따라 남아있는 [¹⁴C] 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민(랫트 무릎 관절) – 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 203H:RG752H 미소구체



도면27

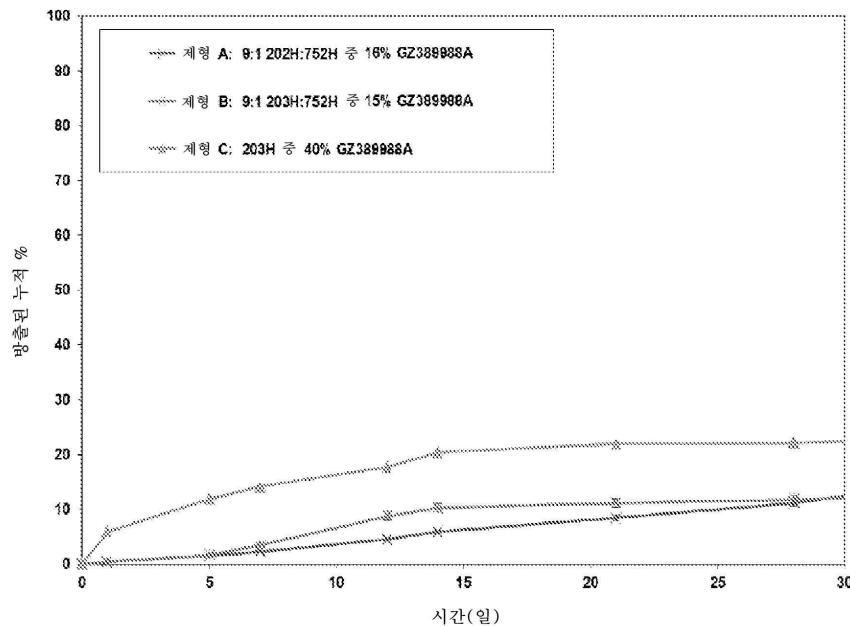
3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 농도-시간 프로파일(랫트 혈액) – 16% API/9:1 202H:RG502H 및 15% API/9:1 R203H:RG752H 미소구체



— 는 1.4 ng/mL의 3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 EC₅₀ 값을 나타낸다.

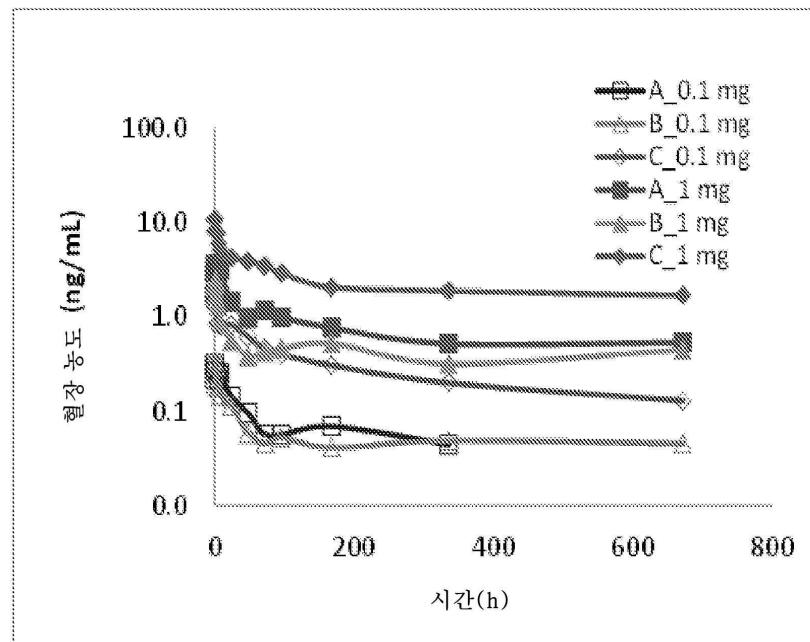
도면28

IVR 프로파일 – 16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H 및 40% API/203H 미소구체



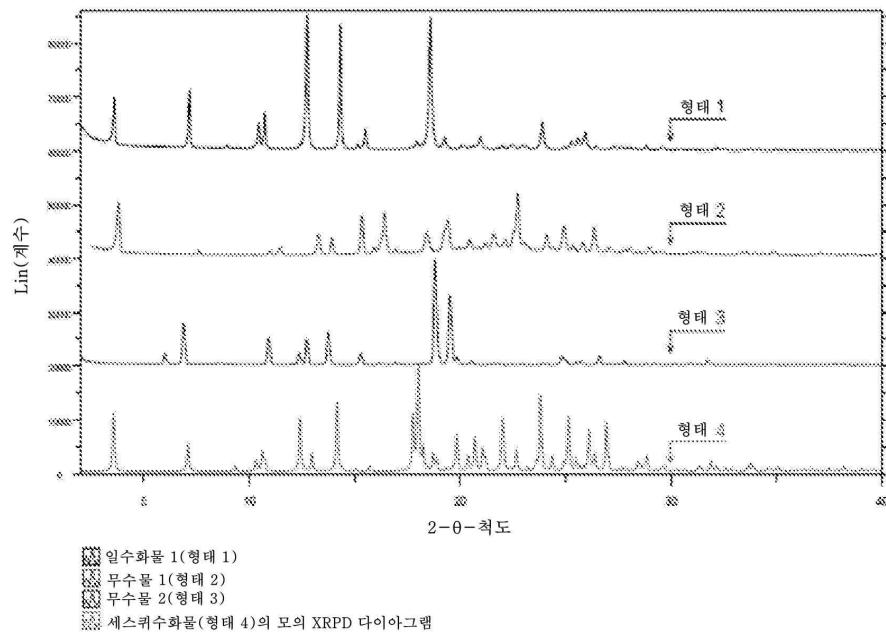
도면29

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-아미다조[4,5-b]파리딘-2-아민 농도-시간 프로파일 –
16% API/9:1 202:H:RG752H, 15% API/9:1 R203H:RG752H 및 40% API/203H 미소구체



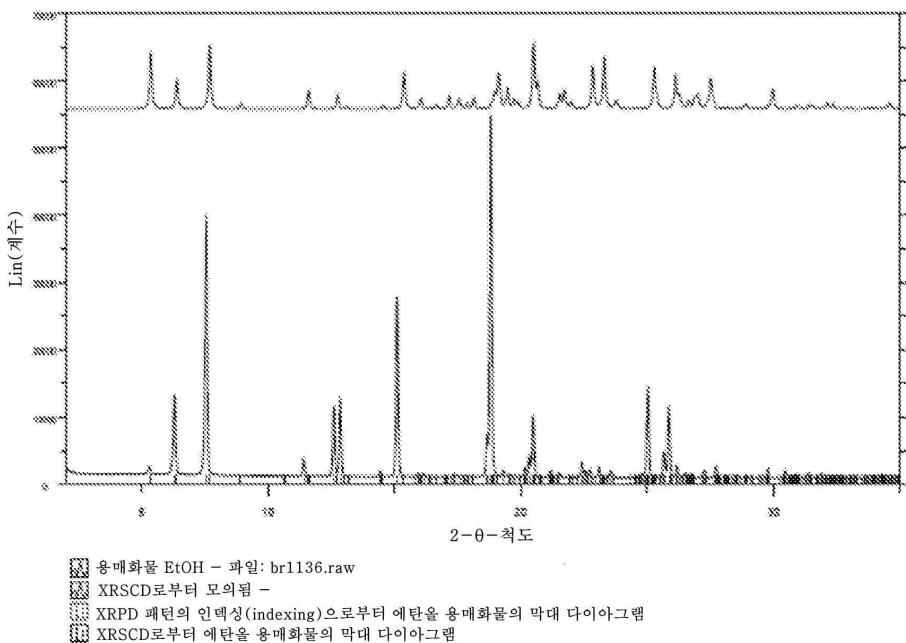
도면30

형태 1 내지 4(무수물 및 수화물)의 측정되거나 모의된 XRPD



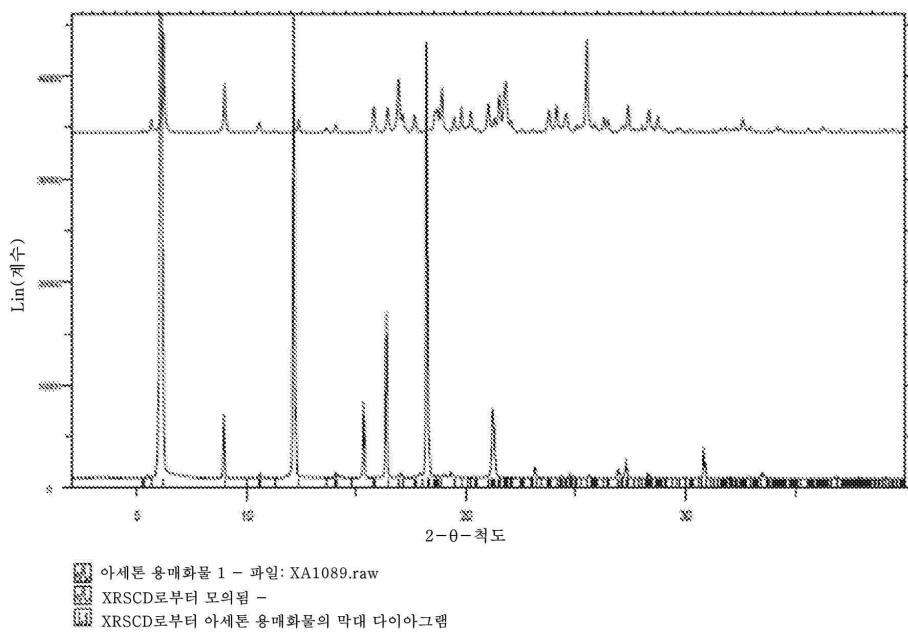
도면31

형태 5(에탄올)의 XRPD



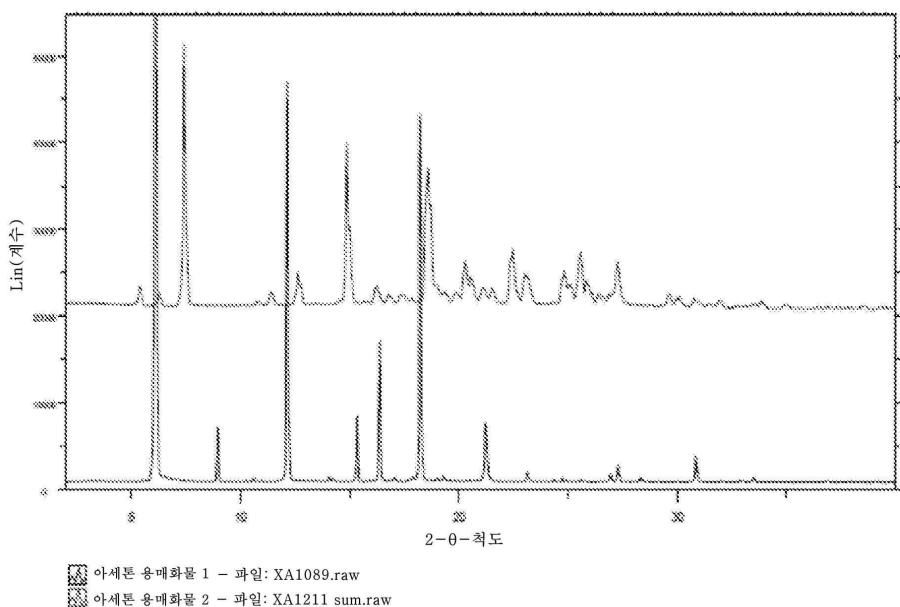
도면32

형태 9(아세톤)의 XRPD



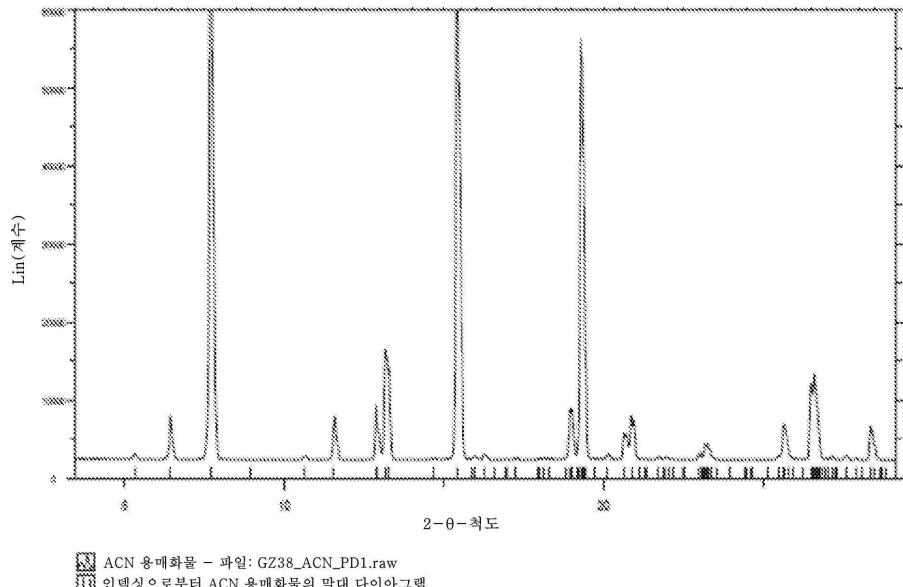
도면33

형태 10(아세톤) 및 형태 9(아세톤)의 XRPD 비교



도면34

형태 11(아세토니트릴)의 XRPD



도면35

3-(3-메톡시-4-((4-메톡시벤질)옥시)벤질)-6-(1-메틸-1H-파라졸-4-일)-3H-이미다조[4,5-b]파리딘-2-아민의 고체 결정상

