



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월28일
(11) 등록번호 10-2700233
(24) 등록일자 2024년08월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 487/04 (2006.01) A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 487/04 (2022.08)
A61K 31/519 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7017039(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2017년07월13일
심사청구일자 2023년05월19일
- (85) 번역문제출일자 2023년05월19일
- (65) 공개번호 10-2023-0074839
- (43) 공개일자 2023년05월31일
- (62) 원출원 특허 10-2019-7001829
원출원일자(국제) 2017년07월13일
심사청구일자 2020년07월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/CA2017/050848
- (87) 국제공개번호 WO 2018/014116
국제공개일자 2018년01월25일
- (30) 우선권주장
62/363,424 2016년07월18일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2014075168 A1
ACS Chemical Biology, 2016, Vol.11,
pp.2105-2111.

- (73) 특허권자
유니버시티 헬스 네트워크
캐나다 온타리오 엠5취 2췌4 토론토 엘리자베스
스트리트 190 알. 프레이저 엘리엇 빌딩-룸 1
에스-417
- (72) 발명자
리, 시즈-완
캐나다 토론토 온타리오 엠5엔 1케이2 로즈론 에
비뉴 509
폴스, 하인즈 더블유.
캐나다 온타리오 엘6엘 5에이4 오크빌 포쓰 라인
460
샘슨, 피터 브렌트
캐나다 온타리오 엘6엠 4에이5 오크빌 리지뱅크
드라이브 1320
- (74) 대리인
인비전 특허법인

전체 청구항 수 : 총 10 항

심사관 : 서휘민

(54) 발명의 명칭 고체 형태의 TTK 억제제

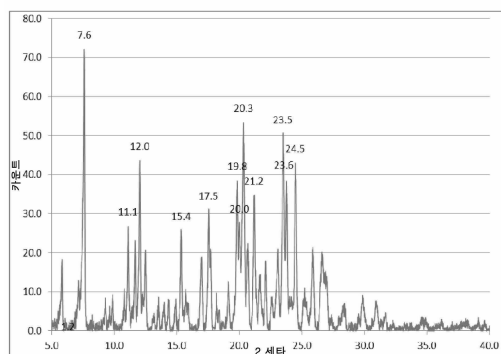
(57) 요약

본 발명은 화학식 I의 화합물의 신규한 공-결정,

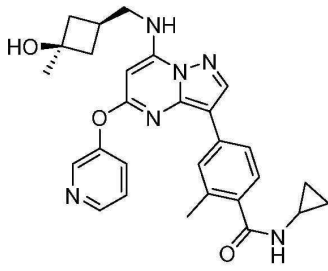
(뒷면에 계속)

대표도

화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 공-결정의 XRPD



화학식 I



(식 중, 상기 공-형성체 분자는 비스포스페이트 반수화물이다), 상기 공-결정의 제조 방법, 상기 공-결정을 함유하는 약제학적 조성물, 암의 치료에 사용하기 위한 약물의 제조에서 상기 공-결정의 용도 및 치료학적 유효량의 상기 공-결정을 투여함에 의해 인간 또는 동물 신체에서 상기 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

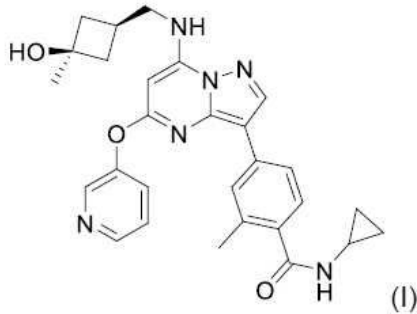
C07B 2200/13 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

다음 화학식으로 나타낸 화합물(I)의 브롬화수소산염 또는 이의 용매화물로서, 상기 화합물(I)과 브롬화수소산의 몰비가 1:1인 브롬화수소산염.



청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 염은 비용매화된 형태로 있는, 브롬화수소산염.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 브롬화수소산염이 결정질인, 브롬화수소산염.

청구항 4

청구항 3에 있어서, 상기 결정질 브롬화수소산염이 2θ 내 5.9° , 11.9° , 21.6° , 및 22.0° ± 0.2° 에서 3개 또는 4개의 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 하는, 브롬화수소산염.

청구항 5

청구항 3에 있어서, 상기 결정질 브롬화수소산염이 2θ 내 5.9° , 10.0° , 11.9° , 13.8° , 17.3° , 19.4° , 21.3° , 21.6° , 및 22.0° ± 0.2° 에서 임의의 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 하는, 브롬화수소산염.

청구항 6

청구항 3에 있어서, 상기 결정질 브롬화수소산염이 2θ 내 5.9° , 10.0° , 11.9° , 13.8° , 17.3° , 19.4° , 21.3° , 21.6° , 및 22.0° ± 0.2° 에서 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 하는, 브롬화수소산염.

청구항 7

청구항 3에 있어서, 상기 브롬화수소산염이 221 ± 2°C의 시차 주사 열량계(DSC) 피크 상 전이 온도를 특징으로 하는, 브롬화수소산염.

청구항 8

암을 치료하기 위한 약제학적 조성물에 있어서,

청구항 1 내지 청구항 7 중 어느 한 항에 따른 브롬화수소산염의 유효량을 포함하며,

상기 암은 췌장암, 전립선암, 폐암, 흑색종, 유방암, 결장암, 또는 난소암인, 약제학적 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 암이 폐암, 유방암 및 결장암인, 약제학적 조성물.

청구항 10

청구항 9에 있어서, 상기 암이 유방암인, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

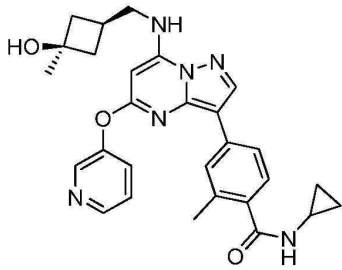
[0001] 본 출원은 2016년 7월 18일자로 출원된 미국 가출원 번호 제62/363,424호에 대한 우선권을 주장한다. 상기 언급된 출원의 전체 교시는 본원에 참조로 인용된다.

배경 기술

[0002] 인간 TTK 단백질 키나제(TTK)는 또한 티로신 트레오닌 키나제, 이원 특이성 단백질 키나제 TTK, 단극 스핀들(Monopolar Spindle) 1 (Mps1) 및 포스포티로신-픽크 트레오닌 키나제(PYT: Phosphotyrosine-Picked Threonine Kinase)로서 공지되어 있고, 이. 콜라이(*E. coli*)에서 발견되는 경우 세린, 트레오닌 및 티로신 잔기를 인산화시킬 수 있는 보존된 다중특이적 키나제이다(문헌참조: Mills *et al.*, *J. Biol. Chem.* 22(5): 16000-16006 (1992)). TTK mRNA는 인간에서 대다수의 생리학적 정상 조직에서는 발현되지 않는다(*Id.*). TTK mRNA는 일부 종양에서 뿐만 아니라 고환 및 흉선과 같은 일부 신속하게 증식하는 조직에서 발현된다(예를 들어, TTK mRNA는 신장 세포 암종에서 발현되지 않았고, 유방암 샘플의 50%에서 발현되었고, 고환 종양 및 난소 암 샘플에서 발현되었다) (*Id.*). TTK는 정상적인 대응물과 비교하여 일부 암 세포주 및 종양에서 발현된다(*Id.*; 또한 WO 02/068444 A1을 참조한다).

[0003] TTK를 저해하는 제제는 암을 치료하기 위한 잠재력을 갖는다. 다수의 강력한 TTK 억제제는 문헌(국제 특허 출원 공개 번호 WO 2014/075168 및 WO 2015/070349)에 기재되어 있다(상기 문헌의 전체 교시는 본원에 참조로 인용된다). 하나의 대표적인 TTK 억제제는 *N*-사이클로프로필-4-(7-(((1s,3s)-3-하이드록시-3-메틸사이클로부틸)메틸)아미노)-5-(피리딘-3-일옥시)피라졸로[1,5-a]피리미딘-3-일)-2-메틸벤즈아미드이고, 이의 구조는 화합물(I)로서 하기에 나타낸다:

[0004] 화학식 I



[0005] 결정질이고 다르게는 대량 제조에 적합할 수 있는 물리적 성질을 갖는 상기 화합물의 염 형태가 요구된다. 또한 약물 후보물이 안정하고 환자에게 효과적으로 전달되는 약제학적 제형이 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 고체 형태의 TTK 억제제를 제공하는 것을 목적으로 한다.

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 화합물(I)과 공-형성체 분자의 신규한 공-결정에 관한 것이고, 여기서, 상기 공-형성체 분자는 인산이다. 본 발명은 또한 화합물(I)의 브롬화수소산염에 관한 것이고, 여기서, 화합물(I)과 브롬화수소산 간의 물비는 1:1이다. 화합물(I)의 유리된 염기 및 다른 염 형태와 비교하여, 새로운 고체 형태는 증가된 수용해도, 용점 및 약동학적 노출을 포함하는, 상당히 개선된 성질을 나타낸다. 특히, 하기 실시예 5에 나타낸 바와 같이, 화합물(I)과 인산의 공-결정 및 결정질 형태의 화합물(I)의 브롬화수소산염은 경구 투여 후 래트 및 개들 다에서 유리된 염기의 화합물(I)에 상대적으로 상당히 증가된 혈장 농도를 유도한다. 이것은 새로운 고체

형태가 경구적으로 투여되어 약물의 효과적인 혈장 수준을 유도할 수 있기 때문에 주요 이점을 갖는다.

- [0009] 제1 구현예에서, 본 발명은 화합물(I)과 공-형성체 분자의 공-결정, 또는 상기 공-결정의 용매화물에 관한 것이고, 여기서, 상기 공-형성체 분자는 인산이다.
- [0010] 제2 구현예에서, 본 발명은 제1 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 공-결정에서 화합물(I):인산의 몰비는 1:2이다.
- [0011] 제3 구현예에서, 본 발명은 제1 또는 제2 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 수화물이다.
- [0012] 제4 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2 또는 제3 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정에서 화합물(I):인산:H₂O의 몰비는 1:2:1/2이다.
- [0013] 제5 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3 또는 제4 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 2θ 내 7.6°, 12.0°, 20.3°, 23.5°, 및 24.5° ± 0.2에서 임의의 3개, 4개 또는 5개의 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 한다.
- [0014] 제6 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3 또는 제4 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 2θ 내 7.6°, 11.1°, 12.0°, 15.4°, 17.5°, 19.8°, 20.0°, 20.3°, 21.2°, 23.5°, 23.6°, 및 24.5° ± 0.2에서 임의의 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 11개의 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 한다.
- [0015] 제7 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3 또는 제4 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 2θ 내 7.6°, 11.1°, 12.0°, 15.4°, 17.5°, 19.8°, 20.0°, 20.3°, 21.2°, 23.5°, 23.6°, 및 24.5° ± 0.2에서 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 한다.
- [0016] 제8 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3 또는 제4 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 도 1에 나타난 X-선 분말 회절 패턴을 특징으로 한다.
- [0017] 제9 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7 또는 제8 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 160 ± 4 °C의 시차 주사 열량계(DSC) 피크 상 전이 온도를 특징으로 한다.
- [0018] 제10 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7, 제8, 또는 제9 구현예에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 수소 결합은 인산의 수소와 화합물(I)의 피리딘 환의 질소 원자 간에 형성되고 상기 수소 결합은 2.5-2.9 Å의 거리를 갖는다.
- [0019] 제11 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7, 제8, 제9, 또는 제10 양태에 따른 공-결정을 제공하고, 여기서, 상기 공-결정은 -122.5 ± 2 ppm에서 ¹⁵N-고체 상태 핵 자기 공명 분광측정(¹⁵N-ssNMR) 피크를 특징으로 하고, -122.5 ppm에서 상기 피크의 강도는 -302 ppm에서의 피크 보다 적어도 40 내지 70% 미만이다. 하나의 구현예에서, -122.5 ppm에서 피크 강도는 -302 ppm에서의 피크 보다 적어도 40%, 50%, 60%, 또는 70% 미만이다. 또 다른 구현예에서, 상기 공-결정은 도 3b에 나타난 ¹⁵N-고체 상태 핵 자기 공명 분광측정(¹⁵N-ssNMR) 피크를 특징으로 한다.
- [0020] 제12 구현예에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7, 제8, 제9, 제10 또는 제11 구현예에 따른 공-결정 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0021] 제13 구현예에서, 본 발명은 화합물(I)의 브롬화수소산염 또는 이의 용매화물을 제공하고, 여기서, 화합물(I)과 브롬화수소산 간의 몰비는 1:1이다.
- [0022] 제14 구현예에서, 본 발명은 제13 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 상기 염은 비용매화된 형태로 있다.
- [0023] 제15 구현예에서, 본 발명은 제13 또는 제14 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 본 발명의 브롬화수소산염은 결정질이다.
- [0024] 제16 구현예에서, 본 발명은 제15 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 상기 결정질 브롬화수소산염은 2θ 내 5.9°, 11.9°, 21.6°, 및 22.0° ± 0.2에서 3개 또는 4개의 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징

으로 한다.

- [0025] 제17 구현예에서, 본 발명은 제15 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 상기 결정질 브롬화수소산염은 2θ 내 5.9° , 10.0° , 11.9° , 13.8° , 17.3° , 19.4° , 21.3° , 21.6° , 및 $22.0^\circ \pm 0.2$ 에서 임의의 3개, 4개, 5개, 6개, 7개 또는 8개의 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 한다.
- [0026] 제18 구현예에서, 본 발명은 제15 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 상기 결정질 브롬화수소산염은 2θ 내 5.9° , 10.0° , 11.9° , 13.8° , 17.3° , 19.4° , 21.3° , 21.6° , 및 $22.0^\circ \pm 0.2$ 에서 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 한다.
- [0027] 제19 구현예에서, 본 발명은 제15, 제16, 제17 또는 제18 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 상기 브롬화수소산염은 도 7에 나타난 X-선 분말 회절 패턴 피크를 특징으로 한다.
- [0028] 제20 구현예에서, 본 발명은 제13, 제14, 제15, 제16, 제17, 제18 또는 제19 구현예에 따른 브롬화수소산염을 제공하고, 여기서, 상기 브롬화수소산염은 $221 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 시차 주사 열량계(DSC) 피크 상 전이 온도를 특징으로 한다.
- [0029] 제21 구현예에서, 본 발명은 제13, 제14, 제15, 제16, 제17, 제18, 제19 또는 제20 구현예에 따른 브롬화수소산염, 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0030] 하나의 양상에서, 본 발명은 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7, 제8, 제9, 제10, 또는 제11 구현예에 따른 유효량의 공-결정을 대상체에게 투여함을 포함하는, 암을 앓는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0031] 하나의 양상에서, 본 발명은 제13, 제14, 제15, 제16, 제17, 제18, 제19 또는 제20 구현예에 따른 유효량의 브롬화수소산염을 대상체에게 투여함을 포함하는, 암을 앓는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0032] 본 발명의 또 다른 양상은 암을 앓는 대상체 치료용 약물을 제조하기 위한 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7, 제8, 제9, 제10, 또는 제11 구현예에 따른 공-결정의 용도이다.
- [0033] 본 발명의 또 다른 양상은 암을 앓는 대상체 치료용 약물을 제조하기 위한 제13, 제14, 제15, 제16, 제17, 제18, 제19 또는 제20 구현예에 따른 브롬화수소산염의 용도이다.
- [0034] 본 발명의 또 다른 양상은 암을 치료하기 위한 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 제6, 제7, 제8, 제9, 제10, 또는 제11 구현예에 따른 공-결정이다.
- [0035] 본 발명의 또 다른 양상은 암을 치료하기 위한 제13, 제14, 제15, 제16, 제17, 제18, 제19 또는 제20 구현예에 따른 브롬화수소산염이다.

발명의 효과

- [0036] 본 발명에 따르면 고체 형태의 TTK 억제제가 제공된다.

도면의 간단한 설명

- [0037] 도 1은 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 공-결정의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 보여준다.
- 도 2는 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 공-결정의 시차 주사 열량측정 분석(DSC) 서모그램을 보여준다.
- 도 3a 및 3b는 화합물(I) 및 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 공-결정 각각의 고체 상태 ^{15}N -NMR 스펙트럼을 보여준다.
- 도 4는 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 공-결정의 ORTEP 구조를 보여준다.
- 도 5는 무정형 1:2 화합물(I)/인산의 XRPD 패턴을 보여준다.
- 도 6은 1:1 화합물(I)/브롬화수소산염의 DSC 서모그램을 보여준다.
- 도 7은 1:1 화합물(I)/브롬화수소산염의 XRPD 패턴을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0038] 본 발명은 *N*-사이클로프로필-4-(7-((((1s,3s)-3-하이드록시-3-메틸사이클로부틸)메틸)아미노)-5-(피리딘-3-일옥시)피라졸로[1,5-a]피리미딘-3-일)-2-메틸벤즈아미드인 화합물(I)의 신규한 고체 형태를 제공한다.

구체적으로, 화합물(I) 및 인산은 비-흡습성 결정질 형태를 제공하기 위해 잘-한정된 조건하에서 공-결정을 형성할 수 있는 것으로 밝혀졌다. 또한, 화합물(I)의 1:1 브롬화수소산염은 비-흡습성 결정질 형태를 제공하기 위해 잘-한정된 조건하에서 결정화될 수 있는 것으로 밝혀졌다. 고체 형태 둘 다는 경구로 투여되는 경우 높은 생물유용성을 제공한다.

[0039] 용어 "공-결정" (또는 "공결정")은 숙주 활성 약제학적 성분 분자 또는 분자들(API, 예를 들어, 화합물(I)) 및 게스트 또는 공-형성체 분자 또는 분자들(예를 들어, 인산)이 존재하는 다중성분 시스템을 언급한다. 상기 API 및 공-형성체 분자는 수소 결합에 의해 상호작용하고 이온 상호작용 없이 그리고 상당한 또는 완전한 양성자 교환 없이 능히 다른 비-공유 상호작용이 API 분자와 게스트 분자 사이에 일어난다. 또한 개시된 공-결정의 수화물을 포함하는 용매화물이 본 발명에 포함된다. 공-결정에서, API 분자 및 게스트 (또는 공-형성체) 분자 둘 다는 단독으로 이들의 순수한 형태로 있는 경우 실온에서 고체로서 존재한다.

[0040] "용매화물 형태"는 유리 염기 또는 염 중에 화합물(I)의 고체 또는 결정질 형태를 언급하고, 여기서, 용매 분자는 고체 또는 결정의 통합 부분으로서 한정된 비율(예를 들어, 화합물(I):용매 1:1 또는 1:2의 몰비)로 화합물(I)의 유리 염기의 또는 상응하는 염과 조합된다. "비용매화된 형태"는 비용매화된, 즉, 용매 분자와 화합물(I)의 유리 염기 또는 화합물(I)의 상응하는 염 간에 어떠한 명확한 비율이 없는 형태를 언급하고 상기 용매 분자는 고체 형태 중에 실질적으로 (예를 들어, 10 중량% 미만) 존재하지 않는다. 널리 공지된 용매 분자는 물, 메탄올, 에탄올, n-프로판올, 및 이소프로판올을 포함한다. 본 발명에 개시된 새로운 고체 형태는 용매화된 형태 또는 비용매화된 형태를 포함한다.

[0041] 본원에 사용된 바와 같은 "결정질"은 결정 구조를 갖는 고체를 언급하고, 여기서, 상기 개별 분자들은 고도로 균일한 규칙적으로 고정된 화학적 배위를 갖는다. 화합물(I) 및 인산의 공-결정은 1:2 화합물(I):인산의 단결정질 형태의 결정, 또는 상이한 단결정질 형태의 결정의 혼합물일 수 있다. 단결정질 형태는 단결정 또는 각각의 결정이 동일한 결정 형태를 갖는 다수의 결정으로서 1:2 화합물(I) 인산을 의미한다.

[0042] *화합물(I)과 인산의 공-결정*

[0043] 본 발명의 하나의 구현예에서, 대략 1:2의 몰비로 화합물(I):인산 공-결정이 제공된다(본원의 실시예 참조). 본 발명은 또한 화합물(I):인산의 다른 몰비로 있는 공-결정을 포함한다.

[0044] 또 다른 구현예에서, 본 발명의 상기 공-결정은 용매화물 형태(예를 들어, 물)로 있다. 하나의 특정 구현예에서, 공-결정의 몰비는 다음과 같다: 화합물(I) (1) × 2 인산 × 1/2 H₂O.

[0045] 또 다른 구현예에서, 적어도 특정 중량 백분율의 화합물(I)과 인산의 공-결정은 단결정질 형태이다. 특정 중량 백분율은 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9%, 또는 70%-75%, 75%-80%, 80%-85%, 85%-90%, 90%-95%, 95%-100%, 70-80%, 80-90%, 90-100%의 중량 백분율을 포함한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 특정의 적어도 80 중량%(예를 들어, 적어도 90% 또는 99%)는 단결정질 형태로 있다. 모든 값 및 이들 값 사이의 범위가 본 발명에 의해 포괄되는 것으로 이해되어야 한다.

[0046] 특정 중량 백분율의 1:2 화합물(I)과 인산의 공-결정이 단결정질 형태인 경우, 상기 공-결정의 나머지는 무정형 화합물(I)/인산, 및/또는 단결정질 형태를 배제한 화합물(I)/인산의 하나 이상의 다른 결정질 형태의 일부 조합이다.

[0047] 1:2 화합물(I)과 인산 공-결정에서, 화합물(I)은 다른 입체이성질체에 상대적으로, 즉, 모든 입체이성질체의 중량에 대한 입체이성질체의 중량 비율로서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9 중량% 순수하다.

[0048] *1:1 화합물(I) 브롬화수소산염의 결정질 형태*

[0049] 본 발명의 하나의 구현예에서, 대략 1:1의 몰비로 화합물(I) 브롬화수소산염이 제공된다(본원의 실시예 참조). 하나의 구현예에서, 적어도 특정 중량 백분율의 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염은 결정질이다.

[0050] 또 다른 특정 구현예에서, 적어도 특정 중량 백분율의 1:1 화합물(I)과 브롬화수소산염은 단결정질 형태이다. 특정 중량 백분율은 70%, 72%, 75%, 77%, 80%, 82%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5%, 99.9%, 또는 70%-75%, 75%-80%, 80%-85%, 85%-90%, 90%-95%, 95%-100%, 70-80%, 80-90%, 90-100%의 중량 백분율을 포함한다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 적어도 80 중량%(예를 들어, 적어도 90% 또는 99%)의 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염은 단결정질 형태로 있다. 모든 값 및 이들 값 사이의

범위가 본 발명에 의해 포괄되는 것으로 이해되어야 한다.

- [0051] 결정질 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염은 1:1 화합물(I):브롬화수소산염의 단결정질 형태의 결정, 또는 상이한 단결정질 형태의 결정의 혼합물일 수 있다. 단결정질 형태는 단결정 또는 각각의 결정이 동일한 결정 형태를 갖는 다수의 결정으로서 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염을 의미한다.
- [0052] 특정 중량 백분율의 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염이 단결정질 형태인 경우, 상기 화합물(I) 브롬화수소산염의 나머지는 무정형 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염, 및/또는 단결정질 형태를 배제한 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염의 하나 이상의 다른 결정질 형태의 일부 조합이다.
- [0053] 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염에서, 화합물(I)은 다른 입체이성질체에 상대적으로, 즉, 모든 입체이성질체의 중량에 대한 입체이성질체의 중량 비율로서, 적어도 60%, 70%, 80%, 90%, 99% 또는 99.9 중량% 순수하다.
- [0054] *1:1 화합물(I) 브롬화수소산염의 결정질 형태 및 화합물(I)과 인산의 공-결정의 제조*
- [0055] 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염의 특정 고체 형태 및 화합물(I)과 인산의 공-결정은 예를 들어, 서행 증발, 서행 냉각 및 항용매 침전에 의해 제조될 수 있다.
- [0056] 본원에 사용된 바와 같은 "항-용매"는 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염 또는 화합물(I)과 인산의 공-결정이 저용해도를 갖고 브롬화물 염 또는 공-결정이 미세 분말 또는 결정 형태로 용액으로부터 침전되도록 하는 용매를 언급한다.
- [0057] 대안적으로, 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염 (또는 화합물(I) 및 인산 공-결정)이 씨드 결정의 첨가 또는 첨가 없이 적합한 용매로부터 재결정화될 수 있다.
- [0058] 하나의 구현예에서, 본 발명은 화합물(I)과 인산의 공-결정을 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은:
- [0059] 적합한 용매 중에서 화합물(I)과 인산의 현탁액을 혼합하고; 상기 용매를 제거함을 포함한다. 적합한 용매는 아세톤, 디에틸 에테르, MeOH/THF, 아세트산 및 1,4-디옥산을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. MeOH/THF가 상기 제조 방법에 사용되는 경우, 2종의 용매 간의 비율은 3:2 내지 2:3 (V:V)이다.
- [0060] 하나의 구현예에서, 상기 제조에 사용되는 화합물(I)과 인산 간의 몰비는 1:2 내지 1:8이다.
- [0061] 하나의 구현예에서, 본 발명은 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염을 제조하는 방법을 제공한다. 구체적으로, 적합한 용매(예를 들어, 부탄올 및/또는 MEK) 중에 화합물(I)의 현탁액에, HBr의 용액(예를 들어, 부탄올 및/또는 MEK의 용액 중에)을 첨가하고 상기 혼합물을 2시간 동안 60°C에서 가열하고 이어서 밤새 5°C에서 가열하였다. 고체를 이어서 여과에 의해 회수하였다. 적합한 용매는 부탄올 및/또는 MEK, 및/또는 물을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0062] 각각의 특이적 고체 형태의 제조는 하기의 실험 섹션에서 기재한다.
- [0063] *치료 방법*
- [0064] 본 발명의 교시의 또 다른 양상은 본원에 기재된 유효량의 화합물(I)과 인산 (또는 화합물(I)의 브롬화수소산염)을 대상체에게 투여함을 포함하는, 암을 앓는 대상체를 치료하는 방법에 관한 것이다. 하나의 구현예에서, 본원에 기재된 공-결정(또는 화합물(I)의 브롬화수소산염)은 종양의 성장을 저해한다. 예를 들어, 본원에 기재된 공-결정(또는 화합물(I)의 브롬화수소산염)은 TTK를 과발현하는 종양의 성장을 저해한다.
- [0065] 본 발명의 교시의 방법에 의해 치료될 수 있는 (재발 가능성에서의 감소를 포함하는) 암은 폐암, 유방암, 결장암, 뇌암, 신경모세포종, 전립선암, 흑색종, 다형성교아종, 난소암, 림프종, 백혈병, 흑색종, 육종, 부신생물, 골육종, 배아세포종, 신경교종 및 중피종을 포함한다. 하나의 구현예에서, 상기 암은 백혈병, 급성 골수 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 유방암, 뇌암, 결장암, 결장직장암, 두경부암, 간세포 암종, 폐 선암종, 전이성 흑색종, 췌장암, 전립선암, 난소암 및 신장암으로부터 선택된다. 하나의 구현예에서, 상기 암은 폐암, 결장암, 뇌암, 신경모세포종, 전립선암, 흑색종, 다형성교아종 또는 난소암이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 췌장암, 전립선암, 폐암, 흑색종, 유방암, 결장암, 또는 난소암이다. 여전히 또 다른 구현예에서, 상기 암은 유방암, 결장암 및 난소암이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 유방암이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 기저 서브타입 유방암 또는 내장 B 서브타입 유방암이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 TTK를 과발현하는 기저 서브타입 유방암이다. 또 다른 구현예에서, 상기 기저 서브타입 유방암은 ER (에스트로젠 수용체), HER2 및 PR(프로게스테론 수용체) 음성 유방암이다. 또 다른 구현예에서, 상기 암은 연조직암이다. "연조직암"은 신체의 임

의의 연조직으로부터 유래된 종양을 포함하는 당업계 인지된 용어이다. 상기 연조직은 신체의 다양한 구조물 및 기관을 연결하거나, 지지하거나 둘러싸고, 이는 평활근, 골격근, 건, 섬유성 조직, 지방 조직, 혈관 및 림프관, 혈관 주변 조직, 신경 조직, 간엽 세포 및 활액 조직을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 따라서, 연조직암은 지방 조직, 근육 조직, 신경 조직, 관절 조직, 혈관, 림프관 및 섬유성 조직의 암일 수 있다. 연조직암은 양성 또는 악성일 수 있다. 일반적으로, 악성 연조직암은 육종 또는 연조직 육종으로서 언급된다. 많은 유형의 연조직 종양이 있고, 이는 림프종, 지방모세포종, 동면선종, 지방육종, 평활근종, 평활근육종, 횡문근종, 횡문근육종, 신경섬유종, 신경초종(섬유초종), 신경종, 악성 신경초종, 신경섬유육종, 신경성 육종, 결절성 결막염, 활액 육종, 혈관종, 사구체 종양, 혈관주위세포종, 혈관내피종, 혈관육종, 카포시 육종, 림프관종, 섬유종, 탄력섬유종, 표피상 섬유종증, 섬유성 조직구종, 섬유육종, 섬유종증, 용기성 피부섬유육종(DFSP), 악성 섬유성 조직구종(MFH), 점액종, 과립 세포 종양, 악성 간엽종, 폐포 연결부 육종, 상피 육종, 투명 세포 육종, 및 결체 조직 소세포 종양을 포함한다. 특정 구현예에서, 연조직 암은 섬유육종, 위장 육종, 평활근육종, 탈분화된 지방육종, 다형성 지방육종, 악성 섬유 조직구종, 원형 세포 육종 및 활액 육종으로 이루어진 그룹으로부터 선택되는 육종이다.

- [0066] 본원에 사용된 바와 같은 "암을 앓는 대상체를 치료하는"은 하기 중 하나 이상을 부분적으로 또는 실질적으로 성취함을 포함한다: 성장을 중지시키는 것, 암의 정도를 감소시키는 것(예를 들어, 종양의 크기를 감소시키는 것), 암의 성장 속도를 저해하는 것, 암과 관련된 임상 증상 또는 징후(예를 들어, 조직 또는 혈청 성분들)를 완화시키거나 개선시키는 것 또는 대상체의 수명을 증가시키는 것; 및 암의 재발 가능성을 감소시키는 것.
- [0067] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "암의 재발 가능성을 감소시키는"은 1차 부위에서 또는 이의 근처에서 및/또는 차도 기간 후 2차 부위에서 암의 재발을 부분적으로 또는 완전히 저해하거나, 지연시키는 것을 의미한다. 이것은 또한 암이 치료 부재 시 보다 본원에 기재된 치료로 재발할 가능성이 적음을 의미한다.
- [0068] 본원에 사용된 바와 같은 용어 "차도"는 전형적으로 대상체가 항암 치료요법으로 성공적으로 치료받은 후, 암과 관련된 임상 증상 또는 징후가 소멸되거나 검출될 수 없는 암의 상태를 언급한다.
- [0069] 일반적으로, 본원에 교시된 화합물의 유효량은 다양한 인자들, 예를 들어, 소정의 약물 또는 화합물, 약제학적 제형, 투여 경로, 질환 또는 장애의 유형, 치료받는 대상체 또는 숙주의 정체성 등에 따라 다양하지만 그럼에도 불구하고 당업자에 의해 통상적으로 결정될 수 있다. 본 발명에 교시된 화합물의 유효량은 당업계에 공지된 통상적인 방법에 의해 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.
- [0070] 용어 "유효량"은 대상체에게 투여되는 경우 임상적 결과를 포함하는 이롭거나 목적하는 결과를 유도하는, 예를 들어, 대조군과 비교하여, 대상체에서 암을 저해하거나, 억제하거나 감소시키는 양(예를 들어, 임상 증상 또는 암 세포의 양에 의해 결정됨)을 의미한다.
- [0071] 하나의 구현예에서, 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염 (또는 화합물(I) 및 인산 공-결정)의 유효량은 약 0.01 내지 약 1000 mg/kg 체중 범위이다. 당업자는 특정 인자들이 암을 앓는 대상체를 효과적으로 치료하기 위해 요구되는 용량에 영향을 미칠 수 있고 이들 인자들은 질환 또는 장애의 중증도, 이전의 치료, 대상체의 일반 건강 및/또는 연령 및 존재하는 다른 질환을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0072] 더욱이, 본 발명의 유효량의 화합물을 사용한 대상체의 "치료" 용법은 단일 투여로 이루어질 수 있거나 대안적으로 일련의 적용을 포함할 수 있다. 예를 들어, 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염 (또는 화합물(I)과 인산 공-결정)은 적어도 1주 1회 투여될 수 있다. 그러나, 또 다른 구현예에서, 상기 화합물은 소정의 치료를 위해 주당 약 1회 내지 하루 1회로 대상체에게 투여될 수 있다. 치료 기간의 길이는 질환의 중증도, 환자 연령, 본 발명의 화합물의 농도 및 활성 또는 이의 조합과 같은 다양한 인자들에 의존한다. 또한, 치료 또는 예방을 위해 사용되는 화합물의 유효량은 특정 치료 또는 예방 용법의 과정 상에서 증가하거나 감소할 수 있음을 인지할 것이다. 용량에서의 변화가 유도될 수 있고 당업계에 공지된 표준 진단 검정에 의해 명백해질 수 있다. 일부 경우에, 만성 투여가 요구될 수 있다.
- [0073] "대상체"는 포유동물, 바람직하게 인간이지만, 또한 수의과 치료가 필요한 동물, 예를 들어, 반려 동물(예를 들어, 개, 고양이 등), 가축(예를 들어, 소, 양, 돼지, 말 등) 및 연구 동물(예를 들어, 래트, 마우스, 기니아 피그 등)일 수 있다.
- [0074] 본 발명의 화합물은 당업자에 의해 인지되는 바와 같이 선택된 투여 경로에 의존하여 다양한 형태로 환자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 예를 들어, 경구, 비경구, 협측, 설하, 비강, 직장, 패치, 펌프 또는 경피 투여에 의해 투여될 수 있고 약제학적 조성물은 이에 따라 제형화된다. 비경구 투여는 정맥내, 복막내, 피

하, 근육내, 경상피, 비강, 폐내, 척추강내, 직장 및 국소 투여 경로를 포함한다. 비경구 투여는 선택된 기간에 따른 연속 주입에 의한 것일 수 있다.

- [0075] 약제학적 조성물
- [0076] 본원에 개시된 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염 (또는 화합물(I)과 인산 공-결정)은 적합하게 대상체에게 투여하기 위한 약제학적 조성물로 제형화될 수 있다.
- [0077] 하나의 구현예에서, 본 발명은 상기된 바와 같이 1:1 화합물(I) 브롬화수소산염 (또는 화합물(I)과 인산 공-결정), 및 약제학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0078] 본원에 교시된 약제학적 조성물은 임의로 이에 대한 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 및/또는 희석제, 예를 들어, 락토스, 전분, 셀룰로스 및 텍스트로스를 포함한다. 다른 부형제, 예를 들어, 향제; 감미제; 및 방부제, 예를 들어, 메틸, 에틸, 프로필 및 부틸 파라벤이 또한 포함될 수 있다. 적합한 부형제의 보다 완전한 목록은 문헌(*Handbook of Pharmaceutical Excipients* (5th Ed., Pharmaceutical Press (2005))에서 찾을 수 있다. 당업자는 다양한 유형의 투여 경로를 위해 적합한 제형을 제조하는 방법을 알 것이다. 적합한 제형의 선택 및 제조를 위한 통상적인 과정 및 성분들은 예를 들어, 문헌(참조: *Remington's Pharmaceutical Sciences* (2003 - 20th edition) 및 미국 약전 (1999년에 공개된 *The National Formulary* (USP 24 NF19))에 기재되어 있다. 담체, 희석제 및/또는 부형제는 약제학적 조성물의 다른 성분들과 상용성이고 이의 수용자에게 해롭지 않다는 의미에서 "허용되는"이다.
- [0079] 전형적으로, 경구 치료학적 투여를 위해, 본원에 교시된 화합물은 부형제와 함께 혼입되고 삼킬 수 있는 정제, 협측 정제, 트로키제, 캡슐, 엘릭시르제, 현탁제, 시럽, 웨이퍼 등의 형태로 사용될 수 있다.
- [0080] 전형적으로 비경구 투여를 위해, 본원에 교시된 화합물의 용액은 일반적으로 하이드록시프로필셀룰로스와 같은 계면활성제와 적합하게 혼합된 물에서 제조될 수 있다. 분산제는 또한 알콜의 존재 또는 부재하에, 글리세롤, 액체 폴리에틸렌 글리콜, DMSO 및 이의 혼합물 중에서 및 오일 중에서 제조될 수 있다. 통상적인 저장 및 사용 조건 하에서, 이들 제제는 미생물의 성장을 예방하기 위한 방부제를 함유한다.
- [0081] 전형적으로, 주사가능한 용도를 위해, 멸균 주사가능한 용액 또는 분산제의 즉석 제제를 위해 본원에 기재된 화합물의 멸균 수용액 또는 분산액 및 멸균 분말이 적당하다.
- [0082] 본 발명은 하기의 실시예에 의해 설명되고 임의의 방식으로 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0083] 실험
- [0084] **약어:**
- [0085] BSA 벤젠 실폰산
- [0086] DSC 시차 주사 열량측정
- [0087] Equiv 당량
- [0088] NA 가용하지 않음
- [0089] NMP N-메틸-2-피롤리돈
- [0090] pTSA 파라-톨루엔설폰산
- [0091] RH 상대 습도
- [0092] RT 실온
- [0093] temp 온도
- [0094] TGA 열중량 분석
- [0095] THF 테트라하이드로푸란
- [0096] wt% 중량%
- [0097] XRPD X-선 분말 회절

- [0098] **분석 조건**
- [0099] **X-선 분말 회절(XRPD)**
- [0100] XRPD 분석은 DAVINCI 구성과 함께 Bruker D8 디스커버 회절계를 사용하여 수행되었고, 1.5 및 45° 2θ 각도 사이에서 샘플을 스캐닝한다. 대략적으로, 각각 1-2 mg의 스크리닝 샘플을 사용하였다.
- [0101] **단결정 X-선 회절(SC-XRD)**
- [0102] SC-XRD 분석은 Mo Kα 공급원 및 흑연 단색기(monochromator)와 함께 옥스포드 회절로부터의 X-칼리버 회절기 상에 293 K에서 수행하였다. 구조 용액 및 정제는 각각 SHELXS-97 및 SHELXL-97을 각각 사용하여 수행하였다.
- [0103] **열-중량측정/시차 주사 열량측정 분석(TGA/DSC)**
- [0104] 3-10 mg의 물질을 개방 알루미늄 팬 상으로 칭량하고, 로봇을 사용한 동시 Setaram LABSYS EVO 열-중량측정기/시차 주사 열량측정기(TGA-DTA/DSC) 상에 로딩하고 실온에서 유지시켰다. 이어서 샘플은 30℃에서 350℃로 10℃/분의 속도로 가열하고 이 시간 동안에 샘플 중량의 변화를 임의의 시차 열적 이벤트와 함께 기록하였다. 질소는 100 cm³/분의 유속으로 세정 가스로서 사용하였다. 분석 전에, 장비를 칭량하고 온도는 각각 100 mg 참조 중량 및 인듐 참조 중량을 사용하여 보정하였다. 샘플 분석은 CALISTO 소프트웨어의 도움으로 수행하였고, 여기서, 열적 이벤트의 상기 상응하는 질량 손실 및 온도는 제조업자의 세부항목에 따라 측정되는, 개시 온도로서 언급되었다. 모든 분석은 10℃/분의 가열 속도로 수행하였고 배경을 공제하였다.
- [0105] **시차 주사 열량계(DSC)**
- [0106] 1-4 mg의 물질은 알루미늄 DSC 팬으로 칭량하고 알루미늄 리드(lid)로 비-밀폐적으로 밀봉하였다. 샘플 팬은 이어서 TA 장비 Q2000(냉각기를 장착한)에 로딩하였다. 안정한 열류 반응이 35℃에서 측정되면, 샘플 및 참조 물을 10℃/분의 속도로 300℃로 가열하고 수득한 열류 반응을 모니터링하였다. 분석 전에, 장비는 인듐 참조 표준을 사용하여 온도 및 열류 보정하였다. 샘플 분석은 TA 범용 분석 2000 소프트웨어의 도움으로 수행하였고, 여기서, 열적 이벤트의 온도는 제조업자의 세부항목에 따라 측정되는, 개시 및 피크 온도로서 언급되었다.
- [0107] **¹H-핵 자기 공명 분광측정(¹H-NMR)**
- [0108] 핵 자기 공명 측정은 내부 표준물 없이 용매로서 DMSO-d₆ 또는 CD₃OD를 사용하여, 400 MHz 및 rt에서 Bruker Avance DRX 400 장비 상에서 기록하였다.
- [0109] **¹⁵N-고체 상태 핵 자기 공명 분광측정(¹⁵N-ssNMR)**
- [0110] ¹⁵N 고체 상태 핵 자기 공명 분석은 500 MHz Bruker Avance III 고체-상태 분광측정기 상에서 수행하였다. ¹⁵N 스펙트럼은 Bruker 4 mm 프로브 헤드, 2개의 RF 채널 상에 CP-MAS(매직 각 스피닝 하에 교차 편파)에 의해 획득하고 샘플 회전 주파수는 7 kHz였다.
- [0111] **실시예 1: 조합 염 스크리닝**
- [0112] 염 스크리닝은 6개 용매(H₂O, DMSO, 1,4-디옥산, 아세트산, MeOH/THF (1:1), 1-BuOH/MEK 1:1, 및 NMP) 및 12개의 약제학적으로 허용되는 산(HCl, HBr, H₃PO₄, H₂SO₄, pTSA, BSA, 나프탈렌 설펡산, 에탄 설펡산, 메탄 설펡산, 에탄 디설펡산, L-말레산, 및 2-아미노설펡산)을 사용하여 수행하였다.
- [0113] 산은 적당한 용매 중에서 고체로서 또는 10% 용액으로서 화합물(I)(소정의 용매 중에 15 mg 용액 또는 슬러리)에 충전하였다. NMP를 제외한 모든 용매에 대해, 1.05:1 및 2.2:1의 산-염기 비율을 사용하였다. 예를 들어, NMP 실험과 함께, 2.2:1 몰비 만을 사용하였다. 수득한 용액은 RT에서 밤새 숙성시켰다. 고체를 수거하고 분석하였다. 나머지 용액은 냉각시키거나 항-용매로 처리하였다. 냉각/항-용매 처리 후 어떠한 침전도 일어나지 않은 경우, 용액은 진공 건조시켰다. 최종적으로, 모든 회수된 고체는 5일 동안 40℃ 및 75% RH에서, 인공 챔버에 놓고 재분석하였다. 적합한 용매 및 반대 이온 조합은 이어서 증가된 스케일로 화합물(I)과의 염 형성에 대해 재평가하였다.
- [0114] 결정질 물질은 조사된 12개 반대 이온 중 11개를 사용하여 수득하였다. 2-아미노설펡산을 사용한 실험은 단지 유리된 염기 물질의 회수를 유도하였다. 다중 결정질 형태는 HCl, 메탄설펡산, 에탄 디설펡산 및 p-TSA 실험으

로부터 수득하였다. 스트레스 시험은 추가의 결정질 형태로의 전환을 유도하였고 이는 다형태에 대한 경향을 지적한다. 말레산 실험으로부터 수득된 염은 용매화되고, 낮은 결정화도를 갖고 DSC 분석 동안에 분해되었다. 나프탈렌 설펜산, 벤젠 설펜산 및 설펜산으로부터 수득된 염은 고도로 흡습성이다.

[0115] 브롬화수소산 및 인산을 사용한 실험으로부터 수득한 결정질 물질은 유래된 염기에 비해 증가된 용해도, 낮은 흡습성을 갖는 것으로 나타났고 스트레스된 조건 (40°C/75%, RH, 80°C, 7일 동안 주변 광)하에서 안정하였다. 2개의 고체 형태는 산화 스트레스 하에 분해시켰다(3% 수성 H₂O₂). 각각의 단리된 결정질 형태의 성질은 표 1에 명시한다.

표 1. 화합물(I)의 결정질 형태의 성질

고체 형태	성질			
	pH _{max}	용해도 _{max} (mg/mL)	용융 범위 (DSC)	흡습성 (90% RH에서 물 흡수)
화합물 I	NA	<0.001	206-210°C	0.8%
화합물 I-1 수화물	NA	<0.001	185-190°C	NA
브롬화수소산염	0.79	0.63	218-221°C	2.3%
비스포스페이트 반수화물	<1.14	0.10	156-163°C	3.9%

[0116]

[0117] 실시예 2: 1:2 화합물(I)/인산의 공-결정의 제조

[0118] 방법 A: 화합물(I)(605.5 mg, 1당량)은 아세톤(14 mL) 중에서 슬러리화하였다. 상기 슬러리는 5분 동안 실온에서 교반하여 균질화되도록 하였다. 이어서, 아세톤(6 mL) 중에 H₃PO₄(459.46 mg, 4당량) 용액을 신속하게 첨가하였다. 황색 겔을 수득하고 혼합물을 2일 동안 교반하에 실온에서 유지하였다. 이어서 침전물을 여과하고 아세톤(20 mL)으로 세척하고 4°C/10 mbar에서 건조시켰다. 수득된 고체는 TGA, XRPD, DSC, ¹H NMR, 고체 상태 ¹⁵N NMR, IR, 라만, 및 단결정 X-선 결정학에 의해 비스포스페이트 반수화물로서 추가로 특징 분석하였다.

[0119] 방법 B: MeOH/THF(10.5 ml, 1:1 v/v) 중에 H₃PO₄(494.7 g, 4당량) 용액을 화합물(I)(506.88 mg, 1당량)을 함유하는 바이알에 첨가하였다. 수득한 혼합물을 황색 용액이 수득될 때까지 실온에서 교반하였다. 상기 용액은 와류의 도움으로 교반하에 50°C 및 기압에서 증발되도록 하였다. 황색 겔을 수득하고 이어서 아세톤을 첨가(15 mL)하고 실온에서 1일 동안 와류되도록 하였다. 슬러리는 추가로 3일 동안 교반되도록 하였다. 결정질 고체를 이어서 여과하고 추가로 방법 A에서 수득된 물질과 결정 형태에서 동일한 것으로서 특징 분석되었다.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.53-8.58 (m, 1H), 8.46-8.50 (m, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.80-7.86 (m, 1H), 7.72-7.76 (m, 1H), 7.55-7.61 (m, 2H), 7.18 (d, J=8.0 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 3.52 (d, J=6.8 Hz, 2H), 2.77-2.86 (m, 1H), 2.28-2.38 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.18-2.24 (m, 2H), 1.88-1.99 (m, 2H), 1.37 (s, 3H), 0.75-0.84 (m, 2H), 0.54-0.64 (m, 2H).

[0120]

표 2. 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물의 XRPD

2θ 각도	상대 강도 (%)
7.6	100
11.1	38
12.0	57
15.4	36
17.5	43
19.8	53
20.0	36
20.3	74
21.2	49
23.5	71
23.6	54
24.5	60

[0121]

[0122]

화합물(I)의 포스페이트 착염 단결정 X-선 결정학 데이터는 각각의 유닛 셀이 2분자의 화합물(I), 4분자의 인산 및 1분자의 물을 함유함을 지적한다. 착물 내 수소 결합 모두는 2.5-2.9 Å인 것으로 측정되고, 이는 인산 양성자와 피리딘 환의 염기성 질소 간에 어떠한 이온 특징도 관찰되지 않음을 지적한다. 상기 결과는 고체 상태 ¹⁵N-NMR로부터의 관찰과 일치한다. 함께 종합하면, 이들 결과는 공-결정 착물로서 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 형태를 확인시킨다. 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물에 대한 결정학 데이터는 표 3에 나타낸다. ORTEP 제공은 도 4에 나타낸다.

표 3. 화합물 I 비스포스페이트 반수화물에 대한 결정학 데이터

화학식	(C ₂₈ H ₃₀ N ₆ O ₃)- 2(H ₃ PO ₄)-0.5H ₂ O
결정 시스템	삼사정계
공간 그룹	P-1
a (Å)	9.2631(4)
b (Å)	15.1919(6)
c (Å)	23.4073(10)
α (°)	86.408(3)
β (°)	82.589(3)
γ (°)	87.818(3)
V (Å ³)	3258.54
Z	2
R-인자 (%)	5.51

[0123]

[0124]

고체 상태 ¹⁵N-NMR 분석은 화합물(I) 유리 염기 및 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물에 대해 수행하였다. 중첩 스펙트럼은 도 3에 나타낸다. 유리 염기에 상대적으로 포스페이트 화합물 내 피리딘 질소 피크의 쉬프트 및 상대적 강도는 원자들 간의 상호작용 특성이 수소 결합이고 이온 특징을 갖지 않음을 지적한다. 피리딘 질소로 어떠한 양성자 전달도 포착되지 않았고 따라서 포스페이트가 공-결정임을 확인시켜 준다.

[0125]

화합물(I) 비스포스페이트 반수화물은 또한 표 4에 나타낸 조건을 사용하여 화합물(I)과 H₃PO₄의 무정형 또는 반-결정질 공-결정의 결정화에 의해 생성될 수 있다. 대안적으로, 점성 겔의 결정화가 유도되어 보다 큰 유리 표면 상에 소량의 고체와 함께 겔을 침적시키고 이를 주격으로 굽어내어 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물을 수득할 수 있다. 또한, 상기 겔은 초음파에 의해 결정화될 수 있다.

표 4. 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물의 결정화

용매 시스템	온도 (도씨)	RH (%)
MeOH/THF (1:1 V/V)	40	75
아세톤	실온	-
디에틸 에테르	30	-

[0126]

[0127]

실시예 3: 무정형 1:2 화합물(I)/인산의 제조

[0128]

MeOH/THF(9.7 mL, 1:1 V/V)의 혼합물에 실온에서 유리 바이알 중 화합물(I) (500 mg, 1당량)을 첨가하였다. H₃PO₄(238 mg, 2당량)를 이어서 첨가하고 수득한 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 용액의 색을 변화시키지만 어떠한 침전도 일어나지 않았다. 이어서 투명한 용액이 5℃에서 1일 동안 및 이어서 -20℃에서 1일 동안 방치되도록 하였다. 어떠한 고체도 수득되지 않았다. 용매는 이어서 30℃/10 mbar에서 제거하였고, 수득한 고체는 XRPD에 의해 분석하였고 무정형 고체인 것으로 나타났다.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ

8.53-8.58 (m, 1H), 8.46-8.50 (m, 1H), 8.36 (s, 1H), 7.80-7.86 (m, 1H), 7.72-7.76 (m, 1H), 7.55-7.61 (m, 2H), 7.18 (d, J=8.0 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 3.52 (d, J=6.8 Hz, 2H), 2.77-2.86 (m, 1H), 2.28-2.38 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.18-2.24 (m, 2H), 1.88-1.99 (m, 2H), 1.37 (s, 3H), 0.75-0.84 (m, 2H), 0.54-0.64 (m, 2H).

[0129]

[0130]

무정형 물질은 또한 화합물(I)을 1,4-디옥산에 용해시키고 항용매로서 에틸 아세테이트 또는 아세톤을 첨가하거나 화합물(I)을 1-에톡시에탄올로 용해시키고 항용매로서 에틸 아세테이트를 첨가하여 수득될 수 있다.

[0131]

실시예 4: 1:1 화합물(I)/HBr 결정질 염의 제조

[0132]

1-부탄올 및 MEK(60 mL, 1:1 V/V)의 혼합물에 화합물(I) (502 mg, 1당량)을 첨가하였다. 상기 슬러리는 60℃에서 가열하였고 HBr(1-부탄올 중 4.8% 용액) 및 MEK(2.5 mL, 2당량)를 첨가하였다. 상기 혼합물을 2시간 동안 60℃에서 및 밤새 5℃에서 교반하였다. 고체는 이어서 여과에 의해 회수하고, 디에틸 에테르로 세척하고 XRPD, TGA, IR, 라만 및 DSC에 의해 브롬화수소산염으로서 특징 분석하였다.

표 5. 화합물(I) 브롬화수소산염의 XRPD

2θ 각도	상대 강도 (%)
5.9	100
10.0	27
11.9	41
13.8	30
17.3	29
19.4	25
21.3	29
21.6	56
22.0	41

[0133]

[0134]

실시예 5: 약동학적 분석

[0135]

방법 A:

[0136]

각각의 형태의 캡슐 용량 중 단일 경구 분말은 3마리(n=3) 암컷 스프라그-돌리 래트 및 3마리 수컷 비글 개(n=3)에 kg 체중 당 5 mg의 활성 약제학적 성분으로 투여하였다. 이어서 혈장은 LC/MS에 의해 화합물 혈장 수준에 대해 분석하였다.

[0137]

래트 및 개에서 캡슐 투여를 위한 시험 제품의 제조:

[0138]

화합물을 모르타르(mortar) 및 페슬(pebble)을 사용하여 분쇄하고 분석적 발란스 상에 천칭된 젤라틴 캡슐 내에

주의깊게 분배하였다. 목적하는 화합물이 성취될 때까지 계속 로딩하였다. 사이즈 9 캡슐을 래트 투여를 위해 사용하였고 사이즈 3 캡슐은 개를 위해 사용하였다. 주지사향: 화합물 로드는 각각의 형태에 대한 생물등가 비율로 보정하였다.

[0139] 경구 투여 후, 지정된 시점에서 측면 복재 정맥으로부터 혈액을 리튬 헤파린 코팅된 튜브(래트) 또는 K₂EDTA 코팅된 튜브(개)에 채취하였다. 혈장을 수거하고 분석때까지 -80℃에서 동결 저장하였다.

[0140] **래트 혈장 분석:**

[0141] 혈장 샘플(20 µL) 및 스파이킹된 혈장 표준 샘플은 내부 표준으로서 100 ng/mL 베라파밀을 함유하는 빙냉 아세트니트릴로 5배 희석시켰다. 샘플 및 표준물은 96-웰 포맷의 0.22 µm 막을 통해 여과하였다. 여과물은 이어서 물을 사용하여 30% 아세트니트릴로 희석하였다.

[0142] 10 µL의 각각의 샘플 및 표준물은 Acquity UPLC에 의해 0.6 mL/분으로 Waters Acquity BEH 1.7 µm 2.1×100 mm 컬럼에 주사하였다. C18 컬럼은 물 중 5% 아세트니트릴로 평형화시켰다. 화합물은 99% 아세트니트릴까지의 농도 구배로 용출시켰다. 모든 이동상은 0.1% (v/v) 포름산을 함유하였다.

[0143] HPLC 용출 농도구배:

시간(분)	% (v/v) 이동상 B
0	5
0.75	5
1	20
4.5	99.9
5	99.9
5.4	5
6	5

[0144] 컬럼 용출물은 전기분무 이온화 탠덤 사중극자 질량 분광측정 시스템(ESI-MS/MS, a Waters Xevo TQ)에 의해 분석하였다. 용출물 조성은 내부 표준에 특이적인 3개의 이온-쌍 및 분석물에 특이적인 3개의 이온-쌍에 대해 분석하였다. 실험 샘플은 표준 곡선 샘플과 비교하여 화합물 농도를 결정하였다. 약동학 파라미터는 엑셀 플러그-인 "PKfit"를 사용하여 결정하였다.

[0146] **개 혈장 분석:**

[0147] 혈장 샘플(20 µL) 및 스파이킹된 혈장 표준 샘플은 내부 표준으로서 40 ng/mL 디클로페낙을 함유하는 빙냉 아세트니트릴로 11배 희석시켰다. 상기 혼합물은 2분 동안 와류시키고 원심분리하였다. 0.5 µL의 상등액은 Acquity UPLC에 의해 0.6 mL/분으로 Waters Acquity BEH 1.7 µm 2.1x50 mm 컬럼에 주사하였다. 상기 컬럼은 물 중 10% 메탄올로 평형화시켰다. 화합물은 95% 메탄올까지의 농도 구배로 용출시켰다. 이동상은 0.025% (v/v) 포름산 및 1 mM NH₄OAc를 함유하였다.

[0148] HPLC 용출 농도구배:

시간(분)	% (v/v) 이동상 B
0	10
0.4	10
0.5	75
0.8	90
1.3	95
1.31	10
1.8	10

[0149] 컬럼 용출물은 전기분무 이온화 탠덤 사중극자 질량 분광측정 시스템 (ESI-MS/MS, API-6500)에 의해 분석하였다. 용출물 조성은 내부 표준에 특이적인 1개의 이온-쌍 및 분석물에 특이적인 1개의 이온-쌍에 대해 분석하였다. 실험 샘플은 표준 곡선 샘플과 비교하여 화합물 농도를 결정하였다. 약동학 파라미터는 WinNonlin Professional 6.2를 사용하여 결정하였다.

[0151] 화합물(I)의 공-결정 비스포스페이트 반수화물 및 브롬화수소산염은 유기 염기 보다 우수한 약동학을 나타낸다.

상기 화합물은 캡슐 내 분말로서 스프라그 돌리 래트(Sprague Dawley rats) 및 비글 개에 경구로 투여하였다. 표 6에 나타난 바와 같이, 화합물(I)의 비스포스페이트 반수화물 공-결정 및 결정질 브롬화수소산염은 유리된 염기 화합물(I)에 비해 증가된 혈장 농도를 나타낸다.

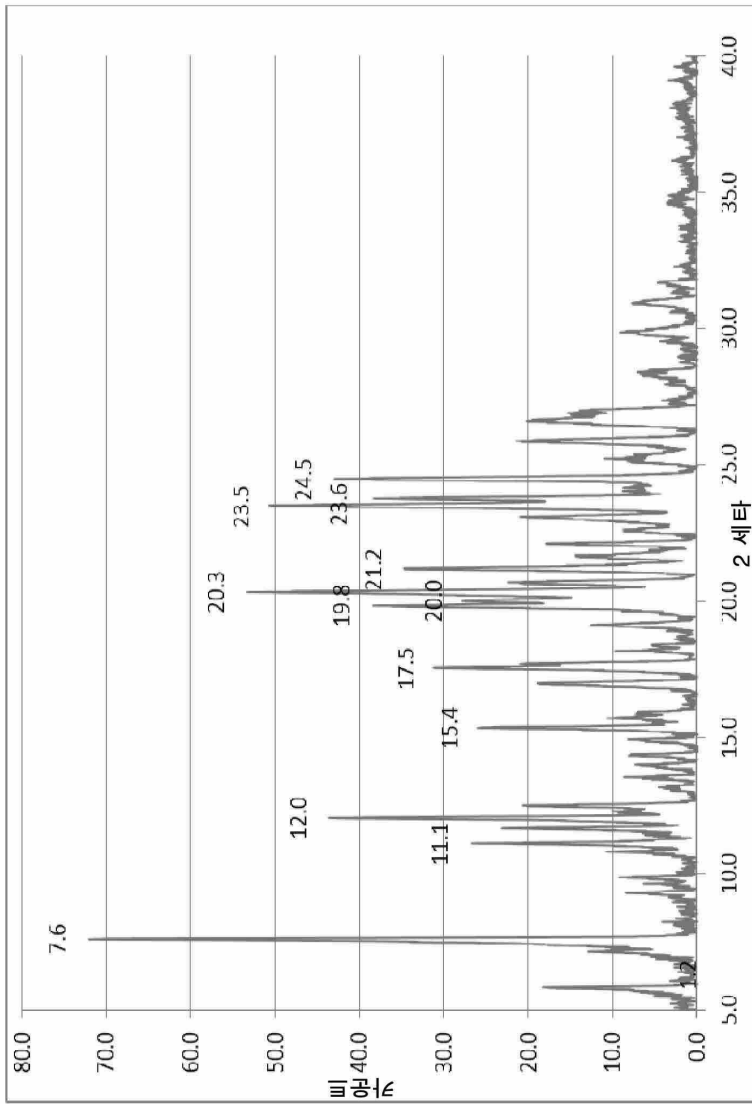
표 6. 캡슐 내 분말의 스프라그-돌리 래트 및 비글 개로 PO 투여 후 비스포스페이트 반수화물 공-결정, 브롬화수소산염 및 유리 염기 화합물(I)의 약동학 파라미터

	C _{max} (ng/mL)		AUC _{0-last} (ng.h/mL)	
	래트	개	래트	개
화합물(I) (5 mg/kg)	11	8	140	40
화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 (5 mg/kg)	1120	830	2100	4000
화합물(I) 브롬화수소산염 (5 mg/kg)	260	570	1640	2760

[0152]

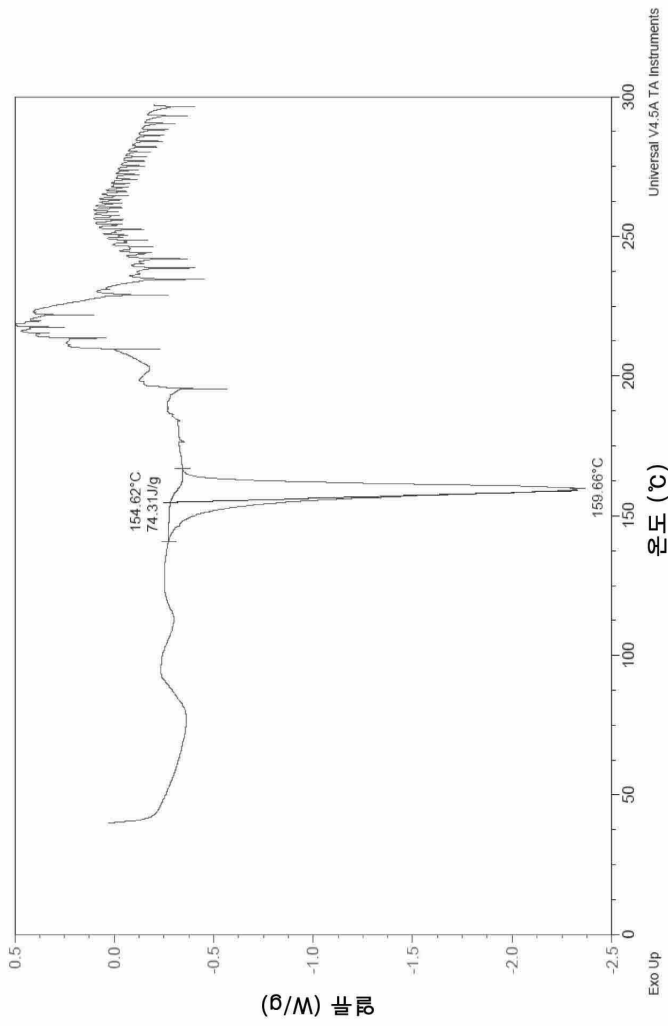
도면
도면1

화합물(1) 비스포스페이트 반수화물 공-결정의 XRPD



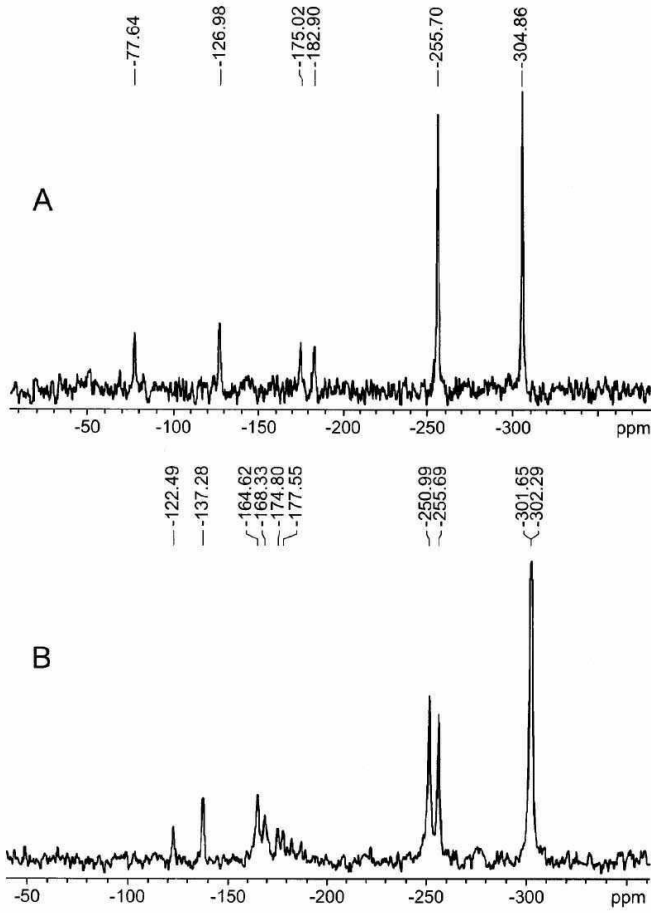
도면2

화합물 (I) 비스포스페이트 반수화물 공-결정의 DSC 써모그램



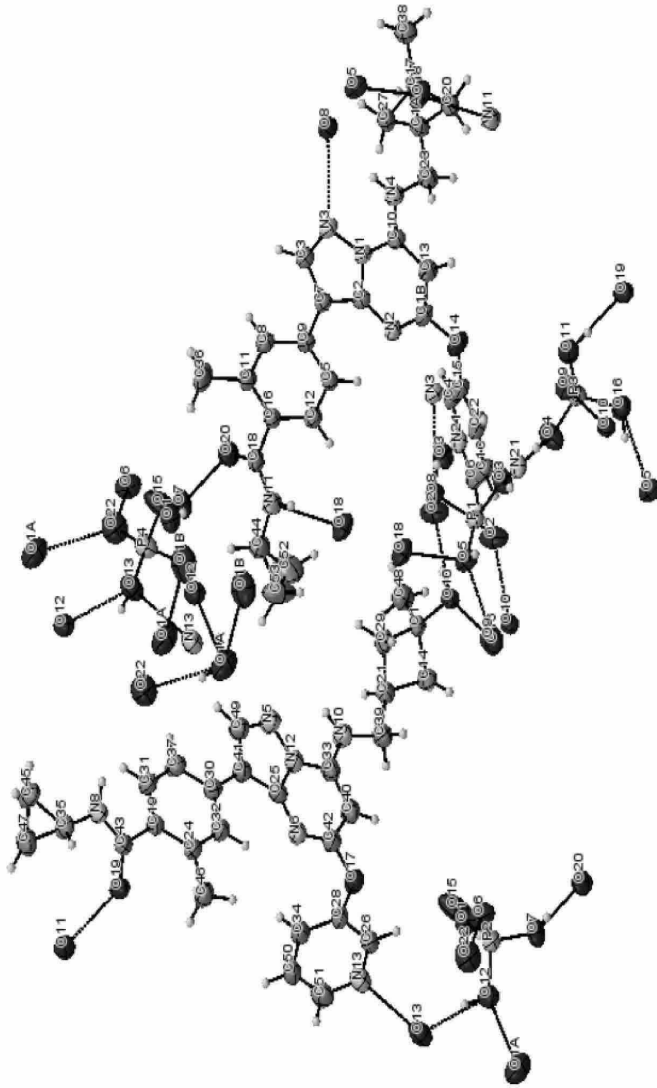
도면3

A) 화합물(I) 및 B) 화합물(I) 비스포스페이트 반수화물 결정의 고체 상태 ^{15}N -NMR 스펙트럼



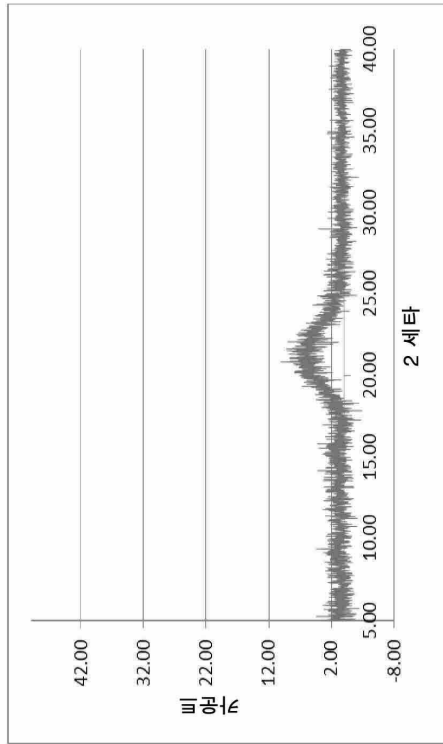
도면4

화합물(I) 비스포스페이트 배수화물 공-결정의 ORTEP 구조



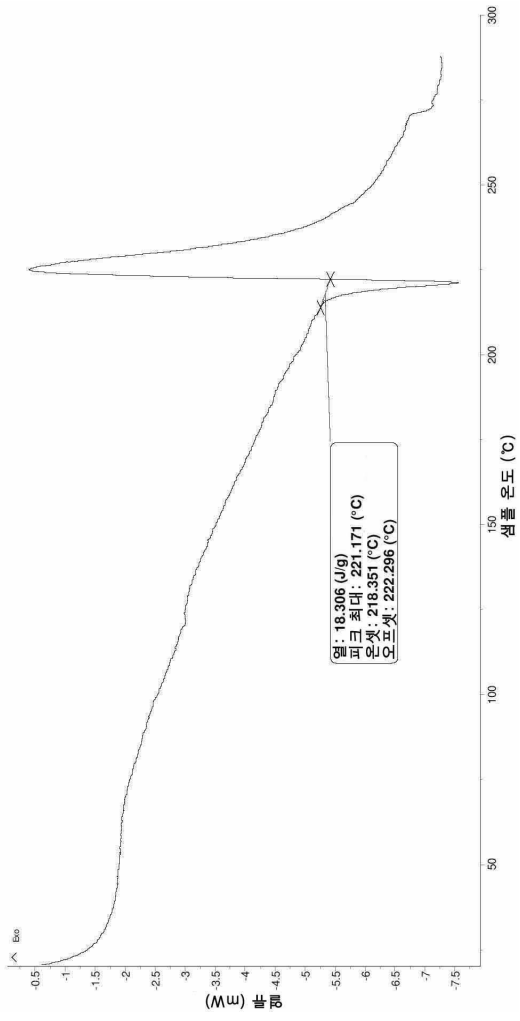
도면5

무정형 1:2 화합물(I)/인산의 XRPD



도면6

화합물(I) 브롬화수소산염의 DSC



도면7

화합물 (I) 브롬화수소산염의 XRPD

