



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년11월28일
(11) 등록번호 10-2606643
(24) 등록일자 2023년11월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 471/04 (2006.01) A61K 31/4375 (2006.01)
C07C 51/41 (2006.01) C07C 59/265 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07D 471/04 (2022.08)
A61K 31/4375 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7026470
- (22) 출원일자(국제) 2016년03월23일
심사청구일자 2021년03월23일
- (85) 번역문제출일자 2017년09월20일
- (65) 공개번호 10-2017-0129758
- (43) 공개일자 2017년11월27일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2016/051633
- (87) 국제공개번호 WO 2016/151500
국제공개일자 2016년09월29일
- (30) 우선권주장
PCT/CN2015/000202 2015년03월25일 중국(CN)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2013061080 A1
JP2012524055 A
JP2012180344 A
JP2006511563 A

- (73) 특허권자
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
- (72) 발명자
부쉬만, 니콜
스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 인스티
튜츠 포 바이오메드. 리서치 엔아이비알 클라이백
노파르티스 파마 아게
페어허스트, 로빈 알렉
스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 인스티
튜츠 포 바이오메드. 리서치 엔아이비알 클라이백
노파르티스 파마 아게
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 22 항

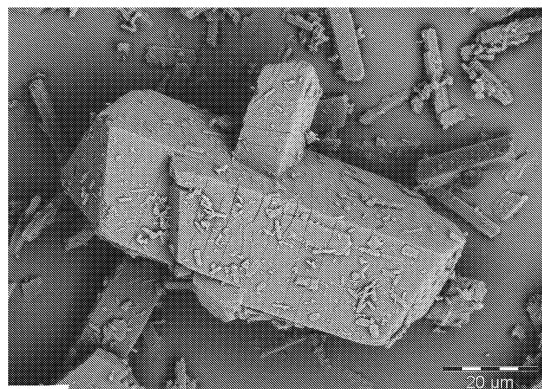
심사관 : 강신진

(54) 발명의 명칭 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자

(57) 요약

본 발명은 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자, 상기 입자를 제조하는 방법, 상기 입자를 포함하는 제약 조성물, 및 상기 제약 조성물을 사용하여 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

- C07C 51/412* (2013.01)
- C07C 59/265* (2013.01)
- C07B 2200/13* (2013.01)

(72) 발명자

푸레, 파스칼

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 인스티튜츠 포 바이오메드. 리서치 엔아이비알 클라이백 노파르티스 파마 아게

크뇌켈, 토마스

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 인스티튜츠 포 바이오메드. 리서치 엔아이비알 클라이백 노파르티스 파마 아게

르블랑, 캐서린

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 인스티튜츠 포 바이오메드. 리서치 엔아이비알 클라이백 노파르티스 파마 아게

마, 로버트

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 인스티튜츠 포 바이오메드. 리서치 엔아이비알 클라이백 노파르티스 파마 아게

말레, 프랑크

스위스 4002 바젤 포스트파흐 노파르티스 파마 아게

마츠, 줄리

스위스 4056 바젤 포스트파흐 노파르티스 파마 아게

리아오, 레브

중국 201203 상하이 상하이 장지양 하이-테크 파크 보운 로드 넘버 2 푸 루안 빌딩 룸 402 베이징 노바티스 파마 코. 엘티디.

시웅, 징

중국 201203 상하이 상하이 장지양 하이-테크 파크 보운 로드 넘버 2 푸 루안 빌딩 룸 402 베이징 노바티스 파마 코. 엘티디.

한, 보

중국 215537 지양수 창수 이코노믹 디벨롭먼트 존 창수 리버사이드 인더스트리얼 파크 퉁리안 로드 #18 수조우 노바티스 파마 테크놀로지, 코., 엘티디.

왕, 칸

중국 215537 지양수 창수 이코노믹 디벨롭먼트 존 창수 리버사이드 인더스트리얼 파크 퉁리안 로드 #18 수조우 노바티스 파마 테크놀로지, 코., 엘티디.

자오, 시양린

중국 215537 지양수 창수 이코노믹 디벨롭먼트 존 창수 리버사이드 인더스트리얼 파크 퉁리안 로드 #18 수조우 노바티스 파마 테크놀로지, 코., 엘티디.

명세서

청구범위

청구항 1

a. 프로피온산 중에 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 용해시키는 단계;

b. 단계 a)에서 수득된 용액에 시트르산을 첨가하여 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 포함하는 현탁액을 수득하는 단계; 및

c. 단계 b)에서 수득된 현탁액으로부터 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 단리하는 단계

를 포함하는, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자의 제조 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 단계 b) 후에, 단계 b)에서 수득된 용액에 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 시딩하여 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 포함하는 현탁액을 수득하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 b)에서 첨가되는 시트르산이 분취물로 첨가되는 것인 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 단계 b)에서 첨가되는 시트르산이 용액으로서 및/또는 고체 형태로 첨가되는 것인 방법.

청구항 5

제4항에 있어서, 시트르산이 헵탄, 메틸 tert-부틸 에테르, n-헥산, 에틸 아세테이트, n-프로필 아세테이트, 아세톤, 아세트니트릴, 톨루엔, 물 또는 그의 혼합물로부터 선택된 용매 중 시트르산의 용액으로서 첨가되는 것인 방법.

청구항 6

제1항에 따른 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 7

200 내지 300 마이크로미터의 중앙 입자 크기 x50을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 8

5 내지 10 마이크로미터의 입자 크기 x10을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미

드의 입자.

청구항 9

400 내지 500 마이크로미터의 입자 크기 x90을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 10

10 내지 20 마이크로미터의 중앙 입자 크기 x50을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자.

청구항 11

스캐닝 전자 현미경으로 관찰될 수 있는 원주 결정 형상을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자.

청구항 12

시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체이며, 여기서 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자가 제10항 또는 제11항에 따른 것인 응집체.

청구항 13

시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체이며, 300 내지 400 마이크로미터의 중앙 크기 x50을 갖는 응집체.

청구항 14

제6항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자 및 임의로 1종 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함하는, 암의 치료에 사용하기 위한 제약 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한 제약 조성물.

청구항 16

제14항에 있어서, 암이 간암, 유방암, 교모세포종, 전립선암, 횡문근육종, 위암, 난소암, 폐암, 결장암인 제약 조성물.

청구항 17

제2항에 따른 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 18

제3항에 따른 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 19

제4항에 따른 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 20

제5항에 따른 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자.

청구항 21

제3항에 있어서, 단계 b)에서 첨가되는 시트르산이 용액으로서 및/또는 고체 형태로 첨가되는 것인 방법.

청구항 22

제21항에 있어서, 시트르산이 헵탄, 메틸 tert-부틸 에테르, n-헥산, 에틸 아세테이트, n-프로필 아세테이트, 아세톤, 아세토니트릴, 톨루엔, 물 또는 그의 혼합물로부터 선택된 용매 중 시트르산의 용액으로서 첨가되는 것인 방법.

청구항 23

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자, 상기 입자를 제조하는 방법, 및 제약 조성물에서의 상기 입자의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드는 특허 출원 PCT/IB2014/065585에 기재된 선택적이면서 강력한 FGFR4 억제제이다. 이는 잠재적으로는 FGFR4에 의해 매개되는 질환, 예컨대 암, 특히 예컨대 간암의 치료에 유용하다.

[0003] PCT/IB2014/065585는 유리 형태 및 제약상 허용되는 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 제조하는 방법을 기재한다.

[0004] 약물 개발 동안에 약물 물질의 특성 및/또는 특징을 개선시키는 것을 목표로 하는 신규 방법을 개발하기 위한 계속적인 필요성이 존재한다. 예를 들어, 약물 물질은 약물 제품을 취급하고 약물 제품으로 가공하기에 용이한 형태이어야 한다. 약물 물질의 이러한 이상적인 특성은 규모조정가능하면서 재현가능한 방법에 의해 달성되어야 한다.

발명의 내용

[0005] 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자 및 상기 입자를 제조하는 방법을 제공한다. 입자는 제약 조성물의 제조에 사용될 수 있고, 암을 치료, 예방 또는 호전시키는 방법에 사용될 수 있다. 본원에 기재된 방법은 가공성의 용이함의 관점에서 유익한 특성을 갖는 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 제조하는 것을 가능하게 한다. 입자는 본원에 제공된 상세한 설명, 실험 섹션 및 도면에서 보다 상세하게 제시된 바와 같이 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 것과 비교하여 개선된 유동 특성을 갖는다.

[0006] 본 발명의 다양한 실시양태가 본원에 기재된다.

- [0007] 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자의 제조 방법이 본원에 제공된다. 방법은 하기 단계를 포함한다:
- [0008] a. 프로피온산 중에 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 용해시키는 단계;
- [0009] b. 단계 a)에서 수득된 용액에 시트르산을 첨가하여 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 포함하는 현탁액을 수득하는 단계; 및
- [0010] c. 단계 b)에서 수득된 현탁액으로부터 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 단리하는 단계.
- [0011] 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 제공한다.
- [0012] 또한 200 내지 300 마이크로미터의 중앙 입자 크기 (x50)를 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자가 본원에 제공된다.
- [0013] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 5 내지 10 마이크로미터의 입자 크기 분포 x10을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 제공한다.
- [0014] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 400 내지 500 마이크로미터의 입자 크기 분포 x90을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 제공한다.
- [0015] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 10 내지 20 마이크로미터의 입자 크기 분포 x50을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 제공한다.
- [0016] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 1 내지 5 마이크로미터의 입자 크기 분포 x10을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 제공한다.
- [0017] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 50 내지 70 마이크로미터의 입자 크기 분포 x90을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 제공한다.
- [0018] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 원주 결정 형상을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 결정질 1차 입자를 제공한다.
- [0019] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체이며, 300 내지 400 마이크로미터의 중앙 크기 (x50)를 갖는 응집체를 제공한다.
- [0020] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 및 임의로 1종 이상의 제약상 허용되는 담체(들)를 포함하는 제약 조성물의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자의 용도에 관한 것이다.
- [0021] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-

1(2H)-카르복스아미드의 입자 및 임의로 1종 이상의 제약상 허용되는 담체(들)를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.

[0022] 또 다른 실시양태에서, 본원에 기재된 제약 조성물은 의약으로서 사용하기 위한 것이다. 특정한 실시양태에서, 이는 암의 치료에 사용하기 위한 것이다. 보다 특히, 이는 간암, 유방암, 교모세포종, 전립선암, 횡문근육종, 위암, 난소암, 폐암, 결장암으로부터 선택된 적응증의 치료에 사용하기 위한 것이다. 보다 더 특히, 이는 간암의 치료에 사용하기 위한 것이다.

[0023] 한 실시양태에서, 본 발명은 대상체에게 치료 유효량의 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0024] 한 실시양태에서, 본 발명은 암의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본원에 기재된 바와 같은 제약 조성물의 용도에 관한 것이다. 보다 특히, 이는 간암, 유방암, 교모세포종, 전립선암, 횡문근육종, 위암, 난소암, 폐암, 결장암으로부터 선택된 적응증의 치료를 위한 것이다. 보다 더 특히, 이는 간암의 치료를 위한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0025] 도 1은 본 발명의 방법을 사용하여 수득된 입자의 스캐닝 전자 현미경 (SEM) 영상이다 (축척 20 마이크로미터). 수프라 40 현미경이 구비된 자이스(Zeiss)로부터의 SEM 장치를 사용하여 영상을 찍었다. 이는 원주 결정 형상을 갖는 1차 입자를 제시한다.

도 2는 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 입자의 스캐닝 전자 현미경사진 (SEM)이다 (축척 20 마이크로미터). 수프라 40 현미경이 구비된 자이스로부터의 SEM 장치를 사용하여 영상을 찍었다. 이는 바늘-형상 1차 입자의 무리를 제시한다.

도 3은 본 발명의 방법을 사용하여 수득된 입자의 스캐닝 전자 현미경사진 (SEM)이다 (축척 100 마이크로미터). 수프라 40 현미경이 구비된 자이스로부터의 SEM 장치를 사용하여 영상을 찍었다. 도면은 1차 입자의 응집체를 제시한다. 응집체에서, 원주 결정 형상을 갖는 1차 입자가 보인다.

도 4는 본 발명의 방법을 사용하여 수득된 입자의 스캐닝 전자 현미경사진 (SEM)이다 (축척 500 마이크로미터). 수프라 40 현미경이 구비된 자이스로부터의 SEM 장치를 사용하여 영상을 찍었다. 도면은 1차 입자의 응집체를 제시한다.

도 5는 본 발명의 방법을 사용하여 수득된 입자의 XRPD 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 입자의 XRPD의 오버레이를 제시한다. 오버레이는 본 발명의 입자 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 입자 둘 다에 대한 동일한 서명을 제시한다.

도 6은 본 발명의 방법을 사용하여 수득된 입자에 대한 입자 크기 분포를 제시한다. 도면은 분포 밀도 및 누적 분포 곡선을 입자 크기의 함수로서 제시한다. 이는 입자가 0.5 내지 150 마이크로미터의 입자 크기 범위를 갖는 1차 입자 및 150 내지 875 마이크로미터의 입자 크기 범위를 갖는 응집체의 믹스를 함유한다는 것을 제시한다.

도 7은 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 입자에 대한 입자 크기 분포를 제시한다. 도면은 분포 밀도 및 누적 분포 곡선을 입자 크기의 함수로서 제시한다. 이는 입자가 약 0.5 내지 30 마이크로미터의 입자 크기 범위를 갖는다는 것을 제시한다.

도 8은 본 발명의 방법 단계 a) 및 b)에 의해, 즉 단리 단계 전에 수득된 입자의 SEM (200 마이크로미터)이다. 카메라 DP25 (일련 번호 SN8K08782)가 구비된 올림푸스(Olympus) BX51 현미경 (일련 번호 SN8G30637)으로 영상을 찍었다. 영상화에 사용된 소프트웨어는 스트림스타트이다. 영상은 원주 결정 습성을 갖는 결정질 입자를 제시한다.

도 9는 실시예 1 및 1a에 기재된 바와 같은 본 발명의 입자 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)을 사용하여 수득된 입자의 기본 유동 에너지를 제시한다. 그래프는 본 발명의 입자가 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)에 의해 수득된 것과 비교하여 더 적은 유동 에너지를 요구한다는 것을 제시하며, 이는 개선된 유동성을 나타낸다.

도 10은 실시예 1 및 1a에 기재된 바와 같은 본 발명의 입자 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)을 사용하여 수득된 입자의 적용된 법선 응력의 함수로서의 압축성 백분율을 제시한다. 그래프는 본 발명의 입자가 더 높은 압축성 백분율을 갖는다는 것을 제시하며, 이는 최종 약물 제품에서의 더 높은 약물 부하가 본

발명의 입자를 사용하여 달성될 수 있다는 것을 시사한다.

도 11은 실시예 1 및 1a에 기재된 바와 같은 본 발명의 입자 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)을 사용하여 수득된 입자의 적용된 법선 응력의 함수로서의 전단 응력의 플롯을 제시한다. 이는 벽 마찰 각도를 계산할 수 있게 한다. 그래프는 본 발명의 입자가 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)을 사용하여 수득된 것과 비교하여 더 낮은 벽 마찰 각도를 갖는다는 것을 제시하며, 이는 본 발명의 입자가 금속 표면에 대한 덜 점착성인 거동 및 이에 따른 개선된 가공성을 보인다는 것을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0026] 정의
- [0027] 용액 중 화합물의 농도를 정의하는 경우에, 용어 "%"는 w/w%, 즉 용액 (즉, 화합물 + 용매)의 중량 대비 화합물의 중량을 지칭한다.
- [0028] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 복수형의 용어 "입자"는 입자의 벌크를 지칭한다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 복수형의 용어 "결정"은 결정의 벌크를 지칭한다.
- [0029] 용어 "입자"는 1차 입자 및 응집체를 포괄하는 것으로 의도된다.
- [0030] 본원에 사용된 용어 "1차 입자"는 단순 물질을 지칭한다. 본 발명의 1차 입자는, 예를 들어 도 1 및 8에서 볼 수 있다.
- [0031] 본원에 사용된 용어 "응집체"는 1차 입자의 클러스터를 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "응집체"는 1차 입자 사이의 연결의 성질에 관해 제한되는 것으로 의도되지 않고, 예를 들어 용어 "집합체"와 상호교환가능하게 사용될 수 있다.
- [0032] 입자 크기는 레이저 광 회절에 의해 측정된 누적 언더사이즈 입자 크기 분포 (부피 기준)에 의해 결정된다. 예를 들어, 중앙 입자 크기 값 (x50 또는 d50)은 그 미만으로 샘플 중 입자의 50 중량%이 존재하는 것인 크기를 나타낸다. 예로서, 10 마이크로미터의 x50 값은 입자의 50 중량%이 10 마이크로미터 미만의 크기를 갖는다는 것을 나타낸다.
- [0033] 유사하게 x10 또는 d10의 입자 크기는 그 미만으로 샘플 중 입자의 10 중량%이 존재하는 것인 크기를 나타낸다.
- [0034] 유사하게 x90 또는 d90의 입자 크기는 그 미만으로 샘플 중 입자의 90 중량%이 존재하는 것인 크기를 나타낸다.
- [0035] 본원에 주어진 입자 크기는 사용된 장치 및 방법에 따른 변동에 적용되는 것으로 이해된다. 통상의 기술자는 이들 값이 절대값이 아니며 약 +/- 10% 달라질 수 있다는 것을 이해할 것이다.
- [0036] 본 명세서에서, 입자 크기는 레이저 광 회절에 의해 측정된다. 레이저 광 회절을 위해 사용된 장치는 심파텍 (Sympatec) 헬로스 장치이다. 사용된 장치 및 측정의 세부사항은 실시예 3 및 4에 주어진다.
- [0037] 본원에 사용된 약어 "마이크론"은 마이크로미터에 상응한다.
- [0038] 본원에 사용된, 본 발명의 입자의 결정 형상을 언급하는 경우의 용어 "원주"는, 예를 들어 도 1에 제시된 바와 같은 결정 형상을 기재한다. "원주" 결정 형상은 면깎이된 3차원 성장 결정이다. 원주 결정 형상은 또한 라스로서 정의될 수 있다. 이는 결정 성장이 단방향성인 바늘 결정 형상 (또는 침상 결정)과 구별가능하다.
- [0039] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 담체"는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 바와 같은 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 계면활성제, 항산화제, 보존제 (예를 들어, 항박테리아제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물 안정화제, 결합제, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료 등 및 그의 조합을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329] 참조). 임의의 통상적인 담체가 활성 성분과 비상용성인 경우를 제외하고는, 치료 또는 제약 조성물에서의 그의 용도가 고려된다.
- [0040] 본 발명의 화합물의 용어 "치료 유효량"은 대상체의 생물학적 또는 의학적 반응, 예를 들어 효소 또는 단백질 활성의 감소 또는 억제, 또는 증상의 호전, 상태의 완화, 질환 진행의 둔화 또는 지연, 또는 질환의 예방 등을 도출할 본 발명의 화합물의 양을 지칭한다. 한 비제한적 실시양태에서, 용어 "치료 유효량"은 대상체에게 투여되는 경우에, (1) (i) FGFR4에 의해 매개되거나 또는 (ii) FGFR4 활성화와 연관되거나 또는 (iii) FGFR4의 활성화 (정상적 또는 비정상적)를 특징으로 하는 상태 또는 장애 또는 질환을 적어도 부분적으로 완화, 억제, 예방 및/

또는 호전시키는데 효과적이거나, 또는 (2) FGFR4의 활성을 감소 또는 억제하는데 효과적이거나, 또는 (3) FGFR4의 발현을 감소 또는 억제하는데 효과적인 본 발명의 화합물의 양을 지칭한다. 또 다른 비제한적 실시양태에서, 용어 "치료 유효량"은 세포 또는 조직 또는 비-세포 생물학적 물질 또는 배지에 투여되는 경우에, FGFR4의 활성을 적어도 부분적으로 감소 또는 억제하는데 효과적인 본 발명의 화합물의 양을 지칭한다.

[0041] 본원에 사용된 용어 "대상체"는 동물을 지칭한다. 전형적으로 동물은 포유동물이다. 대상체는 또한 예를 들어, 영장류 (예를 들어, 인간, 남성 또는 여성), 소, 양, 염소, 말, 개, 고양이, 토끼, 래트, 마우스, 어류, 조류 등을 지칭한다. 특정 실시양태에서, 대상체는 영장류이다. 또 다른 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

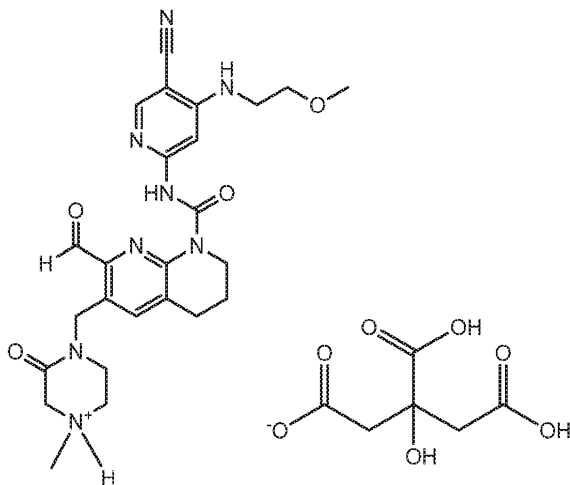
[0042] 본원에 사용된 용어 "억제하다", "억제" 또는 "억제하는"은 주어진 상태, 증상 또는 장애 또는 질환의 감소 또는 억제, 또는 생물학적 활성 또는 과정의 기저 활성의 상당한 감소를 지칭한다.

[0043] 본원에 사용된, 임의의 질환 또는 장애에 대한 용어 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는, 한 실시양태에서, 질환 또는 장애를 호전시키는 것 (즉, 질환 또는 그의 임상 증상 중 적어도 1종의 발달을 둔화 또는 정지 또는 감소시키는 것)을 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 환자에 의해 식별 가능하지 않을 수 있는 것을 포함한 적어도 1종의 물리적 파라미터를 완화 또는 호전시키는 것을 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질환 또는 장애를 물리적으로 (예를 들어, 식별 가능한 증상의 안정화), 생리학적으로 (예를 들어, 물리적 파라미터의 안정화), 또는 둘 다로 조정하는 것을 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질환 또는 장애의 발병 또는 발달 또는 진행을 예방 또는 지연시키는 것을 지칭한다.

[0044] 본원에 사용된 바와 같이, 대상체가 치료로부터 생물학적으로, 의학적으로 또는 삶의 질에 있어서 이익을 얻을 경우에, 이러한 대상체는 이러한 치료를 "필요로 한다".

[0045] 본원에 사용된 바와 같이, 본 발명의 문맥에서 (특히, 청구범위의 문맥에서) 사용된 단수 용어 및 유사한 용어는 본원에 달리 나타내지 않거나 또는 문맥상 명백히 모순되지 않는 한 단수형 및 복수형 둘 다를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.

[0046] 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자의 제조 방법에 관한 것이다. 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드는 하기 구조를 갖는다:



[0047]

[0048] 방법은 단계 a) 프로피온산 중 유리 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 용해시키는 것을 포함한다. 유리 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드는, 예를 들어 실시예 1에 기재된 방법 (단계 1 내지 14)에 의해 수득될 수 있다. 프로피온산 중 유리 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 농도는 5-15% (중량 기준), 바람직하게는 5-15%일 수 있다. 한 실시양태에서, 프로피온산 중 유리 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드

로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 농도는 약 5-10 중량%이다. 한 실시양태에서, 프로피온산 중 유리 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 농도는 약 10-15 중량%이다. 한 실시양태에서, 이는 약 12 중량%이다. 한 실시양태에서, 이는 약 13 중량%이다. 본 발명의 방법에 사용된 프로피온산은 바람직하게는 순수하다. "순수한"이란 프로피온산이 적어도 99% 순도라는 것을 의미한다. 바람직하게는, 프로피온산은 적어도 99.5% 순도이다. 전형적으로, 프로피온산 중에 유리 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 용해시키는데 사용되는 온도는 50°C 내지 80°C, 바람직하게는 약 70°C이다. 완전 용해에 필요한 시간은 사용되는 온도에 좌우된다. 전형적으로, 약 70°C에서, 필요한 시간은 10-30분, 바람직하게는 약 20분이다. 완전 용해는 통상의 기술자에 의해, 예를 들어 시각적 검사에 용이하게 결정될 수 있다.

[0049] 본 발명의 방법의 단계 b)에서, 단계 a)에서 수득된 용액에 시트르산을 첨가한다. 시트르산은 고체로서, 용액으로서 또는 현탁액으로서 첨가될 수 있다. 용액 또는 현탁액으로서 첨가되는 경우에, 농도는 1 내지 50 w/w%로 달라질 수 있다. 전형적으로, 이는 용액 또는 현탁액으로서 첨가된다. 시트르산 용액에 사용되는 용매는 전형적으로 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드가 난용성인 용매이다. 이러한 용매는, 예를 들어 헵탄, 메틸 tert-부틸 에테르, n-헥산, 에틸 아세테이트, n-프로필 아세테이트, 아세톤, 아세토니트릴, 톨루엔, 물 또는 그의 혼합물로부터 선택될 수 있다. 한 실시양태에서, 시트르산 용액/현탁액에 사용되는 용매는 아세톤이다. 한 실시양태에서, 시트르산 용액/현탁액에 사용되는 용매는 에틸 아세테이트이다. 한 실시양태에서, 시트르산은 단계 a)에서 수득된 용액에 아세톤 중 용액으로서 첨가된다. 한 실시양태에서, 아세톤 중 시트르산의 농도는 1-50%, 바람직하게는 20-30%, 보다 바람직하게는 약 23%이다. 또 다른 실시양태에서, 아세톤 중 시트르산의 농도는 1-10%, 바람직하게는 1-5%, 보다 바람직하게는 약 2.5%이다.

[0050] 한 실시양태에서, 시트르산은 단계 a)에서 수득된 용액에 에틸 아세테이트 중 용액으로서 첨가된다. 한 실시양태에서, 에틸 아세테이트 중 시트르산의 농도는 1-10%, 바람직하게는 1-5%, 보다 바람직하게는 약 1.3%이다.

[0051] 방법 동안 첨가되는 시트르산의 양은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 목적하는 화학량론에 좌우된다. 바람직한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 목적하는 화학량론은 1:1 (시트르산: N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드)이다. 또 다른 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 목적하는 화학량론은 0.5:1 (시트르산: N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드)이다. 통상의 기술자는 목적하는 화학량론을 수득하는데 요구되는 시트르산의 양을 결정할 수 있다. 요구되는 시트르산의 양은 한 번에 또는 여러 분취물로 첨가될 수 있다. 한 실시양태에서, 시트르산은 한 번에 첨가된다. 또 다른 실시양태에서, 시트르산은 여러 분취물로 첨가된다. 각각의 분취물은 형태에 관해 달라질 수 있거나 또는 동일할 수 있다. 예를 들어, 한 분취물에서, 시트르산은 고체 형태로 첨가될 수 있다. 또 다른 분취물에서, 시트르산은 용액으로서 첨가될 수 있다. 또 다른 분취물에서, 시트르산은 현탁액으로서 첨가될 수 있다. 시트르산의 각각의 분취물은 동일한 농도 또는 상이한 농도일 수 있다. 용액 또는 현탁액으로서 첨가되는 경우의 시트르산의 각각의 분취물에 사용되는 용매는 동일하거나 상이할 수 있다. 분취물은 1초 내지 10시간의 기간에 걸쳐 첨가될 수 있다. 시트르산이 첨가되는 온도는 20-80°C로 달라질 수 있다. 바람직하게는, 시트르산이 첨가되는 온도는 약 55°C이다. 시트르산 첨가시에, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 포함하는 현탁액이 형성된다.

[0052] 한 실시양태에서, 단계 b)에서 수득된 현탁액에 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 포함하는 시드 현탁액을 시딩하는 추가의 단계가 존재한다. 시드 현탁액은 본 발명의 방법에 의해 수득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함한다. 바람직하게는, 시드 현탁액에 사용된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥

소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 1:1 (시트르산: N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드)의 화학량론을 갖는다. 시드 현탁액을 위해, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 용매, 예컨대 아세톤 중에 현탁된다. 시드 현탁액은 시트르산 분취물의 첨가 사이에 또는 요구되는 시트르산의 총량이 반응 혼합물에 첨가된 후에 첨가될 수 있다. 시드 현탁액은 전형적으로 약 0.005-5%, 바람직하게는 0.01-1%의 본 발명의 방법에 의해 수득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함한다. 한 실시양태에서, 시드 현탁액은 0.5%의 본 발명의 방법에 의해 수득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함한다. 시드 현탁액의 온도는 전형적으로 약 20℃이다.

[0053] 본 발명의 방법의 단계 b)에서 수득된 현탁액은 전형적으로 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드가 용액으로부터 결정화되도록 하는 기간 동안 교반된다. 전형적으로, 현탁액은 1분 내지 20시간 동안 교반될 수 있다. 생성된 현탁액의 온도는, 선행 단계가 20℃보다 높은 온도 하에서 수행된 경우에 약 20℃로 하락하게 될 수 있다. 도 8은 단계 b) 후에 수득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자의 현미경 영상을 제시한다. 도 8에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자는 반응 매질에서 현탁액 중에 존재한다.

[0054] 본 발명의 방법에서의 단계 c)는 선행 단계 b)에서 수득된 현탁액으로부터 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 단리하는 것을 포함한다. 이는 전형적으로 여과, 세척 및 건조에 의해 행해진다. 따라서, 추가 실시양태에서, 본 발명의 방법에서의 단계 c)는 하기를 포함한다:

[0055] 단계 c1) 단계 b)에서 수득된 현탁액을 여과하여 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 수득하는 것;

[0056] 단계 c2) 여과 단계 c1) 후에 수득된 입자를 세척하는 것; 및

[0057] 단계 c3) 단계 c2)에서 수득된 입자를 건조시키는 것.

[0058] 여과는 표준 기술 및 장치를 사용하여 행해질 수 있다. 예를 들어, 여과는 유리 필터 / 소결을 사용하여 행해질 수 있다. 여과는 진공 하에, 예를 들어 500mbar 하에 행해질 수 있다. 여과는 실온에서 행해질 수 있다. 여과는 질소 분위기 하에 행해질 수 있다.

[0059] 세척은 한 용매 시스템으로 또는 여러 용매 시스템으로 행해질 수 있다. 예를 들어, 한 실시양태에서, 사용되는 용매 시스템은 실온에서의 프로피온산 및 아세톤의 1:1 혼합물일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 사용되는 용매 시스템은 또한 실온에서의 프로피온산 및 에틸 아세테이트의 1:1 혼합물 일 수 있다. 한 실시양태에서, 사용되는 용매 시스템은 또한 실온에서의 아세톤 단독일 수 있다. 한 실시양태에서, 제1 세척 단계는 실온에서 프로피온산 및 아세톤의 1:1 혼합물로 수행되며, 이어서 제2 세척 단계가 실온에서 아세톤 단독으로 수행된다. 한 실시양태에서, 제1 세척 단계는 실온에서 프로피온산 및 에틸 아세테이트의 1:1 혼합물로 수행되며, 이어서 제2 세척 단계가 실온에서 에틸 아세테이트 단독으로 수행된다.

[0060] 전형적으로, 건조는 표준 기술을 사용하여 수행된다. 예를 들어, 생성된 입자는 오븐에서, 임의로 진공 하에, 예를 들어 약 5mbar 하에 건조될 수 있다. 건조는 질소 분위기 하에 수행될 수 있다. 전형적으로, 건조는 약 40℃에서 수행된다.

[0061] 본 발명은 한 실시양태에서 본원에 기재된 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 입자를 포괄한다.

[0062] 본 발명의 입자의 입자 크기는 실시예 3에 기재된 바와 같이 레이저 광 회절을 사용하여 측정되고, 따라서 이와 같이 수득된 부피 가중된 입자 크기 분포를 기준으로 한다. 입자 크기 분포는, 예를 들어 도 6에 제시된 바와

같이 누적 (언더사이즈) 분포 곡선 (Q3(x) %) 및 밀도 분포 곡선 (q3lg(x))에 의해 나타내어진다.

- [0063] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 도 6에 제시된 것과 실질적으로 동일한 입자 크기 분포를 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 도 6에 제시된 것과 실질적으로 동일한 누적 언더사이즈 분포 곡선을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 발명은 도 6에 제시된 것과 실질적으로 동일한 밀도 분포 곡선을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다.
- [0064] 본 발명에서, x10, x50 및 x90 값을 포함한 입자 크기는 바람직하게는 레이저 광 회절에 의해 측정된다.
- [0065] 도 6에 제시된 입자 크기 분포 그래프에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 방법을 사용하여 획득된 입자는 하기 특징적 값을 갖는 누적 언더사이즈 입자 크기 분포 (부피 기준)를 갖는다:
- [0066] 5 내지 10 마이크로미터의 x10 값;
- [0067] 200 내지 300 마이크로미터의 x50 값;
- [0068] 400 내지 500 마이크로미터의 x90 값.
- [0069] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 5 내지 10 마이크로미터의 x10 값을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다. 바람직하게는, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 약 7 마이크로미터의 x10 값을 갖는다. 한 실시양태에서, x10 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 4.5 내지 11 마이크로미터의 x10 값을 갖는다. 비교로서, PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)에 의해 획득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드는 약 1 마이크로미터의 입자 크기 x10 또는 d10을 갖는다 (실시예 4 및 도 7 참조).
- [0070] 한 실시양태에서, 본 발명은 200 내지 300 마이크로미터의 x50 값을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다. 바람직하게는, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 약 265 마이크로미터의 x50 값을 갖는다. 한 실시양태에서, x50 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 180 내지 330 마이크로미터의 x50 값을 갖는다. 비교로서, PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)에 의해 획득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드는 약 3 마이크로미터의 중앙 입자 크기 (x50 또는 d50)를 갖는다 (실시예 4 및 도 7 참조).
- [0071] 한 실시양태에서, 본 발명은 400 내지 500 마이크로미터의 x90 값을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다. 바람직하게는, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 약 450 마이크로미터의 x90 값을 갖는다. 한 실시양태에서, x10 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 360 내지 550 마이크로미터의 x90 값을 갖는다. 비교로서, PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)에 의해 획득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-

7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드는 약 7 마이크로미터의 입자 크기 x90 또는 d90을 갖는다 (실시에 4 및 도 7 참조).

- [0072] 또한, 도 6에 제시된 그래프로부터 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 방법에 의해 수득된 입자는 0.5 내지 150 마이크로미터의 입자 크기 범위를 갖는 1차 입자 및 150 내지 875 마이크로미터의 입자 크기 범위를 갖는 응집체로 구별될 수 있다.
- [0073] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 입자는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자 및 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자의 응집체를 포함한다.
- [0074] 1차 입자는, 예를 들어 체질과 같은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 방법에 의해 응집체로부터 분리될 수 있다.
- [0075] 한 실시양태에서, 본 발명은 따라서 본원에 기재된 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자에 관한 것이다.
- [0076] 한 실시양태에서, 본 발명은 0.5 내지 150 마이크로미터의 입자 크기 범위를 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자에 관한 것이다.
- [0077] 한 실시양태에서, 본 발명은 10 내지 20 마이크로미터, 바람직하게는 약 15 마이크로미터의 중앙 입자 크기 x50을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자에 관한 것이다 (실시에 3 및 도 6 참조). 한 실시양태에서, x50 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자는 9 내지 22 마이크로미터의 중앙 입자 크기 x50을 갖는다.
- [0078] 한 실시양태에서, 본 발명은 1 내지 5 마이크로미터, 바람직하게는 약 3 마이크로미터의 x10 입자 크기를 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자에 관한 것이다 (실시에 3 및 도 6 참조). 한 실시양태에서, x10 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 0.9 내지 5.5 마이크로미터의 x10 값을 갖는다.
- [0079] 한 실시양태에서, 본 발명은 50 내지 70 마이크로미터, 바람직하게는 약 60 마이크로미터의 입자 크기 x90을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자에 관한 것이다 (실시에 3 및 도 6 참조). 한 실시양태에서, x90 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자는 45 내지 77 마이크로미터의 입자 크기 x90을 갖는다.
- [0080] 본 발명의 1차 입자와 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 것 사이에 입자 크기의 차이는 또한 각각 도 1 및 도 2에 제시된 스캐닝 전자 현미경검사 영상에서 볼 수 있다.
- [0081] 한 실시양태에서, 본 발명의 1차 입자는 원주 결정 형상을 갖는다. 이는 도 1 및 도 8에서 볼 수 있다.
- [0082] 한 실시양태에서, 본 발명은 원주 결정 형상을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 결정질 1차 입자에 관한 것이다. 원주 결정 형상은, 예를 들어 도 1에 도시되어 있다. 본 발명의 1차 입자의 결정 형상은 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 입자의 결정 형상과 상이하고, 도 2에 제시되어 있다.
- [0083] 흥미롭게도, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥

소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 생성하기 위한 본 발명의 방법 또는 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 다형체 형태는 도 5에서 볼 수 있는 바와 같이 동일하다.

- [0084] 본 발명은 또한 또 다른 측면에서 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체에 관한 것이다. 본 발명의 응집체는 도 3 및 4에서 볼 수 있다.
- [0085] 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체이며, 본원에 기재된 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 응집체에 관한 것이다.
- [0086] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체이며, 1차 입자가 10 내지 20 마이크로미터, 바람직하게는 약 15 마이크로미터의 중앙 입자 크기 (x50 또는 d50)를 갖는 것인 응집체에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 1차 입자의 x50 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 9 내지 22 마이크로미터의 중앙 입자 크기 x50을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체에 관한 것이다. 응집체 자체는 300 내지 400 마이크로미터, 바람직하게는 약 340 마이크로미터의 중앙 크기 (x50 또는 d50)를 갖는다. 한 실시양태에서, 응집체의 x50 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체는 270 내지 440 마이크로미터의 중앙 크기 x50을 갖는다.
- [0087] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체이며, 1차 입자가 1 내지 5 마이크로미터, 바람직하게는 약 3 마이크로미터의 입자 크기 (x10 또는 d10)를 갖는 것인 응집체에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 1차 입자의 x10 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 0.9 내지 5.5 마이크로미터의 x10 값을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체에 관한 것이다. 응집체 자체는 200 내지 300 마이크로미터, 바람직하게는 약 230 마이크로미터의 크기 x10 또는 d10을 갖는다. 한 실시양태에서, 응집체의 x10 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체는 180 내지 330 마이크로미터의 크기 x10을 갖는다.
- [0088] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 50 내지 70 마이크로미터, 바람직하게는 약 60 마이크로미터의 입자 크기 x90 또는 d90을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 1차 입자의 x90 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 45 내지 77 마이크로미터의 입자 크기 x90을 갖는 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체에 관한 것이다.
- [0089] 응집체 자체는 450 내지 550 마이크로미터, 바람직하게는 약 490 마이크로미터의 크기 x90 또는 d90을 갖는다. 한 실시양태에서, 응집체의 x90 값은 +/- 10% 내에서 달라질 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 1차 입자를 포함하는 응집체는 405 내지 605 마이크로미터의 크기 x90을 갖는다.
- [0090] 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 응집체는 본 발명의 방법의 단계 b)에서 수득된 1차 입자의 건조시에 형성되는 것으로 생각된다. 응집체의 형성은 응집체의 형성을 유도할 수 있는 1차 입자의 표면 상의 잔류 용매

로 인한 것일 수 있다.

- [0091] 본원에 기재된 입자는 제약 조성물의 제조에 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 한 실시양태에서 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자 및 입자로 1종 이상의 제약상 허용되는 담체(들)를 포함하는 제약 조성물에 관한 것이다.
- [0092] 한 실시양태에서, 제약 조성물은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함하며, 제약상 허용되는 담체(들)는 포함하지 않는다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 치료 유효량의 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체를 포함한다.
- [0093] 또 다른 측면에서, 본 발명은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 추가 실시양태에서, 조성물은 적어도 2종의 제약상 허용되는 담체, 예컨대 본원에 기재된 것들을 포함한다. 본 발명의 목적상, 달리 지정되지 않는 한, 용매화물 및 수화물은 일반적으로 고려되는 조성물이다. 바람직하게는, 제약상 허용되는 담체는 멸균성이다. 제약 조성물은 특정한 투여 경로, 예컨대 경구 투여, 비경구 투여 및 직장 투여 등을 위해 제제화될 수 있다. 추가로, 본 발명의 제약 조성물은 고체 형태 (비제한적으로 캡슐, 정제, 환제, 과립, 분말 또는 좌제 포함) 또는 액체 형태 (비제한적으로 용액, 현탁액 또는 에멀전 포함)로 제조될 수 있다. 제약 조성물은 통상적인 제약 작업, 예컨대 멸균에 적용될 수 있고/거나 통상적인 불활성 희석제, 윤활제 또는 완충제, 뿐만 아니라 아주반트, 예컨대 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제 및 완충제 등을 함유할 수 있다.
- [0094] 전형적으로, 제약 조성물은 활성 성분을 하기 중 1종 이상과 함께 포함하는 정제 또는 젤라틴 캡슐이다:
- [0095] a) 희석제, 예를 들어 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 만니톨, 소르비톨, 셀룰로스 및/또는 글리신;
- [0096] b) 윤활제, 예를 들어 실리카, 활석, 스테아르산, 그의 마그네슘 또는 칼슘 염 및/또는 폴리에틸렌글리콜;
- [0097] c) 결합제, 예를 들어 규산알루미늄마그네슘, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라카칸트, 메틸셀룰로스, 소듐 카르복시메틸셀룰로스 및/또는 폴리비닐피롤리돈;
- [0098] d) 붕해제, 예를 들어 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염, 또는 발포성 혼합물; 및
- [0099] e) 흡수제, 착색제, 향미제 및 감미제.
- [0100] 한 실시양태에서, 제약 조성물은 단지 활성 성분만을 포함하는 캡슐 형태이다. 또 다른 실시양태에서, 제약 조성물은 활성 성분 및 부형제의 블렌드를 포함하는 캡슐 형태이다. 정제는 관련 기술분야에 공지된 방법에 따라 필름 코팅 또는 장용 코팅될 수 있다.
- [0101] 경구 투여에 적합한 조성물은 유효량의 본 발명의 화합물을 정제, 로젠지, 수성 또는 유성 현탁액, 분산성 분말 또는 과립, 에멀전, 경질 또는 연질 캡슐, 또는 시럽 또는 엘릭시르, 용액 또는 고체 분산물의 형태로 포함한다. 경구 사용을 위해 의도된 조성물은 제약 조성물의 제조를 위해 관련 기술분야에 공지된 입자의 방법에 따라 제조되고, 이러한 조성물은 제약상 우아하고 맛우수한 제제를 제공하기 위해 감미제, 향미제, 착색제 및 보존제로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 작용제를 함유할 수 있다. 정제는 활성 성분을 정제의 제조에 적합한 비독성 제약상 허용되는 부형제와의 혼합물로 함유할 수 있다. 이들 부형제는, 예를 들어 불활성 희석제, 예컨대 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제 및 붕해제, 예를 들어 옥수수 전분 또는 알긴산; 결합제, 예를 들어 전분, 젤라틴 또는 아카시아; 및 윤활제, 예를 들어 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 활석이다. 정제는 비코팅되거나 공지된 기술에 의해 코팅되어 위장관에서의 붕해 및 흡수를 지연시키고, 그에 의해 보다 오랜 기간에 걸쳐 지속된 작용을 제공한다. 예를 들어, 시간 지연 물질, 예컨대 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트가 사용될 수 있다. 경구 사용을 위한 제제는 활성 성분이 불활성 고체 희석제, 예를 들어 탄산칼슘, 인산칼슘 또는 카올린과 혼합된 것인 경질 젤라틴 캡슐로서, 또는 활성 성분이 물 또는 오일 매질, 예를 들어 땅콩 오일, 액체 파라핀 또는 올리브 오일과 혼합된 것인 연질 젤라틴 캡슐로서 존재할 수 있다.
- [0102] 본 발명의 입자는 가공성의 용이함의 관점에서 유익한 특성을 제공한다. 사실상, 본 발명의 입자의 유동 특성

은 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)을 사용하여 수득된 입자의 유동 특성과 비교하여 개선된다.

- [0103] 유동 특성은 분말 레올로지 측정에 의해 정량화될 수 있다. 분말 레올로지 측정은 약물 물질에 대한 다수의 파라미터, 예컨대 기본 유동 에너지, 압축성 백분율, 벽 마찰 각도를 측정하는 것을 가능하게 한다. 도 9에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 입자는 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법을 사용하여 수득된 것과 비교하여 기본 유동 에너지가 적어도 유의하게 상이하다. 이는 본 발명의 입자가 가공성의 관점에서 이점을 제공한다는 것을 시사한다. 또한, 도 10에서 볼 수 있는 바와 같이, 압축성 백분율은 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 것과 비교하여 본 발명의 입자에서 증가된다. 이는 약물 부하가 약물 제품 제조에서 개선될 수 있다는 것을 시사한다.
- [0104] 추가로, 도 11에서 볼 수 있는 바와 같이, 벽 마찰 각도는 본 발명의 입자와 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 것 사이에 상이하다. 이는 입자의 표면 특징이 상이하다는 것을 나타내고, 본 발명의 입자가 덜 점착성인 거동 (스테인레스 스틸과의 더 적은 상호작용)을 나타낸다는 것을 시사한다. 이는 다시 본 발명의 입자를 사용하는 경우에 가공성의 관점에서 이점을 제공한다.
- [0105] 본 발명의 입자의 사용은 약물 제품 제조, 예를 들어 캡슐 충전을 용이하게 하여, (PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 입자를 사용하는 것과 비교하여) 더 높은 수율을 제공한다. 추가로, 본 발명의 입자를 사용하여, 약물 제품 제조를 위해 필요한 부형제의 양을 감소시키는 것이 가능할 수 있어, 비용, 시간 및 방법 효율의 관점에서 이점을 제공한다. 사실상, 약물 물질이 점착성이거나 또는 용이하게 유동하지 않는 경우에, 상기 약물 물질의 취급을 개선시키는데 더 많은 부형제가 필요할 수 있다.
- [0106] 본 발명의 제약 조성물은 약 50-70 kg의 대상체에 대해 약 1-1000 mg의 활성 성분, 또는 약 1-500 mg 또는 약 1-250 mg 또는 약 1-150 mg 또는 약 0.5-100 mg, 또는 약 1-50 mg의 활성 성분의 단위 투여량일 수 있다. 한 실시양태에서, 약 50mg의 활성 성분이다. 또 다른 실시양태에서, 약 100mg의 활성 성분이다. 또 다른 실시양태에서, 약 200mg의 활성 성분이다. 또 다른 실시양태에서, 약 300mg의 활성 성분이다. 제약 조성물의 치료 유효 투여량은 대상체의 종, 체중, 연령 및 개별 상태, 치료될 장애 또는 질환 또는 그의 중증도에 좌우된다. 통상의 기술을 갖는 의사, 임상 또는 수의사는 장애 또는 질환의 진행을 예방, 치료 또는 억제하는데 필요한 활성 성분의 유효량을 용이하게 결정할 수 있다.
- [0107] N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 활성은 실시예 2에 제시된다.
- [0108] FGFR4 억제제로서의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 활성을 고려하여, 본 발명의 제약 조성물은 FGFR4 단백질의 활성에 의해 매개되는 상태, 예컨대 암, 및/또는 FGFR4의 억제에 반응성 (특히 치료상 유익한 방식으로 의미함)인 상태, 가장 특히 하기 본원에 언급된 바와 같은 질환 또는 장애의 치료에 유용할 수 있다.
- [0109] 본 발명의 제약 조성물은 암의 치료에 유용할 수 있다. 특히, 본 발명의 제약 조성물은 간암, 유방암, 교모세포종, 전립선암, 횡문근육종, 위암, 난소암, 폐암, 결장암으로부터 선택된 적응증의 치료에 유용할 수 있다.
- [0110] 따라서, 추가 실시양태로서, 본 발명은 요법에서, 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함하는 제약 조성물의 용도를 제공한다. 추가 실시양태에서, 요법은 FGFR4의 억제에 의해 치료될 수 있는 질환으로부터 선택된다. 또 다른 실시양태에서, 질환은 상기 언급된 목록으로부터 선택되고, 적합하게는 간암이다.
- [0111] 따라서, 추가 실시양태로서, 본 발명은 요법에서 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 추가 실시양태에서, 요법은 FGFR4의 억제에 의해 치료될 수 있는 질환을 위한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 질환은 상기 언급된 목록으로부터 선택되고, 적합하게는 간암이다.
- [0112] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자를 포함하는 제약 조성물의 치료 유효량의 투여를 포함하는, FGFR4의 억제에 의해

치료되는 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 추가 실시양태에서, 질환은 상기 언급된 목록으로부터 선택되고, 적합하게는 간암이다.

- [0113] 따라서, 추가 실시양태로서, 본 발명은 의약의 제조를 위한 본원에 기재된 바와 같은 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자의 용도를 제공한다. 추가 실시양태에서, 의약은 FGFR4의 억제에 의해 치료될 수 있는 질환의 치료를 위한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 질환은 상기 언급된 목록으로부터 선택되고, 적합하게는 간암이다.
- [0114] 본 발명의 제약 조성물은 또한 양성 FGFR4 발현을 특징으로 하는 고형 악성종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0115] 본 발명의 제약 조성물은 또한 양성 KLB (베타-클로토) 발현을 특징으로 하는 고형 악성종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0116] 본 발명의 제약 조성물은 또한 양성 FGF19 발현을 특징으로 하는 고형 악성종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0117] 본 발명의 제약 조성물은 또한 양성 FGFR4 및 양성 KLB 발현을 특징으로 하는 고형 악성종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0118] 본 발명의 제약 조성물은 또한 양성 FGFR4 및 양성 FGF19 발현을 특징으로 하는 고형 악성종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0119] 본 발명의 제약 조성물은 또한 양성 FGFR4, 양성 KLB 및 양성 FGF19 발현을 특징으로 하는 고형 악성종양의 치료에 유용할 수 있다.
- [0120] 상기 기재된 바와 같은 FGFR4, KLB 및/또는 FGF19에서의 임의의 양성 발현은 통상의 기술자에게 공지된 방법, 예컨대 예를 들어 RT-qPCR, 웨스턴 블롯팅, ELISA, 면역조직화학에 의해 평가될 수 있다.
- [0121] 실시예
- [0122] 하기 실시예는 본 발명을 예시하도록 의도되며, 그에 대한 제한으로서 해석되어서는 안 된다. 온도는 섭씨 온도로 주어진다. 달리 언급되지 않는 한, 모든 증발은 감압, 전형적으로 약 15 mm Hg 내지 100 mm Hg (= 20-133 mbar) 하에 수행된다. 최종 생성물, 중간체 및 출발 물질의 구조는 표준 분석 방법, 예를 들어 미량분석 및 분광학적 특징, 예를 들어 MS, IR, NMR에 의해 확인한다. 사용된 약어는 관련 기술분야에 통상적인 것이다.
- [0123] 본 발명의 화합물을 합성하는데 이용되는 모든 출발 물질, 빌딩 블록, 시약, 산, 염기, 탈수제, 용매 및 촉매는 상업적으로 입수가능하거나, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 유기 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. 추가로, 본 발명의 화합물은 하기 실시예에 제시된 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 유기 합성 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0124] 약어

약어	설명
aq.	수성
conc.	진한
DAST	(디에틸아미노)황 트리플루오라이드
dba	디벤질리덴아세톤
DCC	디시클로헥실카르보디이미드
DCM	디클로로메탄
DIPEA	N,N-디이소프로필에틸아민, N-에틸-N-이소프로필프로판-2-아민
DMA	N,N-디메틸아세트아미드
DMAP	4-디메틸아미노피리딘
DME	1,2-디메톡시에탄
DMF	N,N-디메틸포름아미드
DMSO	디메틸술폰
DMSO-d ₆	헥사데루오디메틸 술폰
dppf	1,1'-비스(디페닐포스피노)페로센
DSC	시차 주사 열량측정
ESI-MS	전기분무 이온화 질량 분광분석법
h	시간
HPLC	고성능 액체 크로마토그래피
KHMDS	포타슘 헥사메틸디실라지드
L / mL	리터 / 밀리리터
LC-MS	액체 크로마토그래피 및 질량 분광측정법
LHMDS	리튬 헥사메틸디실라지드
M	몰
min	분
mp	융점
MW	마이크로웨이브
mw	분자량
m/z	질량 대 전하 비
NBS	N-브로모숙신이미드
NCS	N-클로로숙신이미드

[0125]

NIS	N-아이오도숙신이미드
NMP	N-메틸피롤리디논, 1-메틸-2-피롤리디논
NMR	핵 자기 공명
org.	유기
RP	역상
sat	포화
SFC	초임계 유체 크로마토그래피
TBAF	테트라부틸암모늄 플루오라이드
TFA	트리플루오로아세트산
THF	테트라히드로푸란
t _R 또는 Rt	체류 시간 (나타나 있지 않으면, 분)
UPLC	초고성능 액체 크로마토그래피

[0126]

[0127] 분석 세부사항

[0128] NMR: 측정은 내부 표준으로서 트리메틸실란을 사용하거나 사용하지 않고 브루커 울트라실드(Bruker

Ultrashield)TM 400 (400 MHz), 브루커 울트라셴트TM 600 (600 MHz), 400 MHz DRX 브루커 크리오프로브(Bruker CryoProbe) (400 MHz) 또는 500 MHz DRX 브루커 크리오프로브 (500 MHz) 분광계 상에서 수행하였다. 화학적 이동 (d-값)은 테트라메틸실란으로부터의 ppm 다운필드로 보고되고, 스펙트럼 분할 패턴은 단일선 (s), 이중선 (d), 삼중선 (t), 사중선 (q), 다중선, 미분해 또는 보다 중첩된 신호 (m), 넓은 신호 (br)로서 지정된다. 용매는 괄호 안에 주어진다.

[0129] DSC: DSC 측정은 DSC 냉장 냉각 시스템 (티에이 인스트루먼트(TA Instruments), 미국 델라웨어주 뉴캐슬)이 구비된 DSC Q2000 (티에이 인스트루먼트, 미국 델라웨어주 뉴캐슬)을 사용하여 수행하였다. 데이터는 상주 유니버설 어널리시스(Universal Analysis)® 소프트웨어를 사용하여 수학적으로 처리하였다. 온도 및 용융열에 대한 보정은 인듐을 참조 물질로서 사용하여 수행하였다. 샘플을 개방 알루미늄 팬에서 분석하고, 20 내지 300℃에서 10℃/분의 가열 속도로 질소 퍼지 하에 스캔하였다.

[0130] UPLC-MS 3:

[0131] 시스템: 워터스 SQ 검출기를 갖는 워터스 액쿼티 UPLC.

[0132] 칼럼: 액쿼티 HSS T3 1.8 μm 2.1x50mm.

[0133] 유량: 1.0 mL/분. 칼럼 온도: 60℃.

[0134] 구배: 1.4분 내 5에서 98% B, A = 물 + 0.05% 포름산 + 3.75 mM 아세트산암모늄, B = 아세토니트릴 + 0.04% 포름산.

[0135] UPLC-MS 6:

[0136] 시스템: 워터스 SQ 검출기를 갖는 워터스 액쿼티 울트라 퍼포먼스.

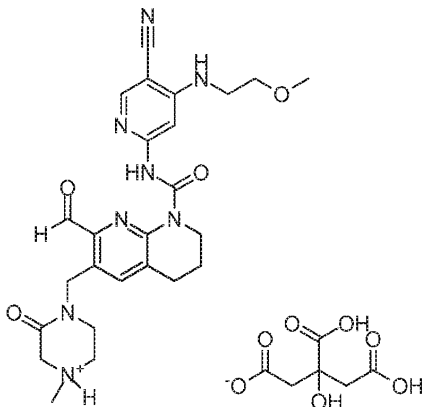
[0137] 칼럼: 액쿼티 HSS T3 1.8 μm 2.1x50mm.

[0138] 유량: 1.0 mL/분. 칼럼 온도: 60℃.

[0139] 구배: 1.4분 내 5에서 98% B, A = 물 + 0.05% 포름산 + 3.75 mM 아세트산암모늄, B = 아세토니트릴 + 0.04% 포름산.

[0140] ESI-MS: 워터스 액쿼티TM 울트라 퍼포먼스 LC

[0141] 실시예 1 - 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복사미드 (1:1).



[0142]

[0143] 단계 1: 2-(디메톡시메틸)-1,8-나프티리딘.

[0144] 문헌 [J. Org. Chem., 2004, 69 (6), pp 1959-1966]에 기재된 절차를 사용하였다. 20 L 4구 둥근 바닥 플라스크 내에 2-아미노피리딘-3-카르보알데히드 (1000 g, 8.19 mol), 1,1-디메톡시프로판-2-온 (1257 g, 10.64 mol), 에탄올 (10 L) 및 물 (2 L)을 넣었다. 이에 이어서 0-15℃에서 교반하면서 물 (1000 mL) 중 수산화나트륨 (409.8 g, 10.24 mol)의 용액을 적가하였다. 용액을 0-20℃에서 3시간 동안 교반한 다음, 진공 하에 농축시켰다. 생성된 용액을 에틸 아세테이트 3x1200 mL로 추출하고, 유기 층을 합하였다. 혼합물을 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켰다. 잔류물을 헥산 3x300 mL로 세척하고, 고체를 여과에 의해 수집하였다.

이로써 표제 화합물을 황색 고체로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.11 (dd, 1H), 8.53 (d, 1H), 8.50 (dd, 1H), 7.73 (d, 1H), 7.67 (dd, 1H), 5.44 (s, 1H), 3.41 (s, 6H).

[0145] 단계 2: 7-(디메톡시메틸)-1,2,3,4-테트라히드로-1,8-나프티리딘.

[0146] 문헌 [J. Org. Chem., 2004, 69 (6), pp 1959-1966]에 기재된 절차를 사용하였다. 5-L 압력 탱크 반응기 (5 atm) 내에 2-(디메톡시메틸)-1,8-나프티리딘 (200 g, 979 mmol), 에탄올 (3 L), PtO₂ (12 g)를 넣었다. 반응기를 배기시키고, 질소로 3회 플라싱하고, 이어서 수소로 플라싱하였다. 혼합물을 수소의 분위기 하에 23°C에서 밤새 교반하였다. 이 반응을 4회 반복하였다. 고체를 여과하고, 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시켜 표제 화합물을 황색 고체로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.14 (d, 1H), 6.51 (d, 1H), 6.47 - 6.41 (m, 1H), 4.98 (s, 1H), 3.28 - 3.19 (m, 2H), 3.23 (s, 6H), 2.64 (t, 2H), 1.73 - 1.79 (m, 2H).

[0147] 단계 3: 6-브로모-7-(디메톡시메틸)-1,2,3,4-테트라히드로-1,8-나프티리딘.

[0148] 3 L 4구 둥근 바닥 플라스크 내에 아세트니트릴 (2 L) 중 7-(디메톡시메틸)-1,2,3,4-테트라히드로-1,8-나프티리딘 (114.6 g, 550.3mmol)을 넣었다. 이에 이어서 25°C에서 교반하면서 NBS (103 g, 578 mol)를 여러 부분으로 첨가하였다. 생성된 용액을 25°C에서 30분 동안 교반하였다. 생성된 혼합물을 진공 하에 농축시키고, 잔류물을 디에틸에테르 1000 mL로 희석하였다. 혼합물을 얼음/물 3x100 mL로 세척하였다. 수성 상을 디에틸에테르 2x100 mL로 추출하고, 유기 층을 합하였다. 생성된 혼합물을 염수 1x100 mL로 세척하고, 황산나트륨 상에서 건조시키고, 진공 하에 농축시켜 표제 화합물을 담황색 고체로서 수득하였다. LC-MS: (ES, m/z): 286.03 [M+H]⁺. ^1H NMR: (300MHz, CDCl₃) δ 1.86 - 1.94 (2H, m), 2.70 - 2.74 (2H, m), 3.9 - 3.43 (2H, m), 3.47 (6H, s), 5.23 (1H, s), 5.58 (1H, s), 7.29 (1H, s).

[0149] 단계 4: 2-(디메톡시메틸)-5,6,7,8-테트라히드로-1,8-나프티리딘-3-카르보알데히드.

[0150] 아르곤 하에 -78°C에서 THF (400 mL) 중 6-브로모-7-(디메톡시메틸)-1,2,3,4-테트라히드로-1,8-나프티리딘 (15.0 g, 52.2 mmol)의 용액에 MeLi (Et₂O 32.6 mL 중 1.6 M, 52.2 mmol)를 첨가하고, 용액을 5분 동안 교반한 다음, n-BuLi (헥산 35.9 mL 중 1.6 M, 57.5 mmol)를 천천히 첨가하고, 용액을 20분 동안 교반하였다. THF (100 mL)를 -78°C에서 반응물에 첨가하였다. 후속적으로, n-BuLi (헥산 49.0 mL 중 1.6 M, 78 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 20분 동안 교반한 다음, 다시 n-BuLi (헥산 6.53 mL 중 1.6 M, 10.45 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 -78°C에서 10분 동안 교반하였다. DMF (2.10 mL, 27.2 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 -78°C에서 45분 동안 교반한 다음, 실온으로 가온되도록 하고, 포화 수성 NH₄Cl에 붓고, DCM으로 2회 추출하였다. 합한 유기 상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 증발시켜 표제 화합물을 오렌지색 오일로서 수득하였다. (UPLC-MS 3) t_R 0.63분; ESI-MS 237.2 [M+H]⁺.

[0151] 단계 5: 에틸 2-((2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에틸)(메틸)아미노)아세테이트.

[0152] 에틸 브로모아세테이트 (1.27 mL, 11.48 mmol)를 0°C에서 tert-부틸 (2-(메틸아미노)에틸)카르바메이트 (2.0 g, 11.48 mmol), 트리에틸아민 (4.81 mL) 및 THF (24 mL)의 혼합물에 첨가하였다. 실온에서 24시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃과 DCM 사이에 분배하고, DCM으로 2회 추출하고, 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 증발시켜 표제 화합물을 투명한 연황색 오일로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.20 (s, br, 1H), 4.18 (q, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.22 - 3.16 (m, 2H), 2.65 - 2.61 (m, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.42 (s, 9H), 1.24 (t, 3H).

[0153] 단계 6: 에틸 2-((2-아미노에틸)(메틸)아미노)아세테이트 디히드로클로라이드.

[0154] 진한 염산 (10 mL)을 실온에서 THF (20 mL) 및 EtOH (100 mL) 중 에틸 2-((2-((tert-부톡시카르보닐)아미노)에틸)(메틸)아미노)아세테이트 (3.05 g, 11.13 mmol)의 용액에 첨가하였다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 증발시키고, 에탄올 (20 mL)을 첨가하고, 증발시키고, 추가의 에탄올 (50 mL)을 첨가한 다음, 60°C에서 70분 동안 교반하였다. 이어서, 냉각된 반응 혼합물을 증발시켜 표제 화합물을 연황색 유리로서 수득하였다. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.58 (s, br, 3H), 4.19 (q, 2H), 4.26 - 4.15 (m, 2H), 3.44 (s, br,

2H), 3.21 (s, br, 2H), 2.88 (s, 3H), 1.21 (t, 3H).

[0155] 단계 7: 1-((2-(디메톡시메틸)-5,6,7,8-테트라히드로-1,8-나프티리딘-3-일)메틸)-4-메틸피페라진-2-온.

[0156] 소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (3.10 g, 14.61 mmol)를 실온에서 1,2-디클로로에탄 (20 mL) 중 2-(디메톡시메틸)-5,6,7,8-테트라히드로-1,8-나프티리딘-3-카르브알데히드 (단계 4에서 수득됨, 2.30 g, 9.74 mmol), 에틸 2-((2-아미노에틸)(메틸)아미노)아세테이트 디히드로클로라이드 (단계 6에서 수득됨, 2.6 g, 14.61 mmol) 및 트리에틸아민 (6.75 mL, 48.7 mmol)의 혼합물에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 21시간 동안 교반하고, 추가의 소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (2.6 g, 9.74 mmol)를 첨가하였다. 실온에서 추가로 4시간 교반한 후, 다시 추가의 소듐 트리아세톡시보로히드라이드 (1.3 g, 4.87 mmol)를 첨가하고, 반응물을 4°C에서 2.5일 동안 유지하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고, 포화 수성 NaHCO₃ 용액을 첨가하고, 혼합물을 DCM (3회)으로 추출하고, 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 증발시켰다. 잔류물을 DCM 용액으로서 120 g 레디셉(RediSep)® 실리카 칼럼에 적용하고, 정상 크로마토그래피에 의해 DCM에서 DCM 중 10% MeOH로의 구배로 용리시키면서 정제하였다. 생성물 함유 분획을 합하고, 증발시켜 표제 화합물을 오렌지색 발포체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.08 (s, 1H), 5.30 (s, br, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.69 (s, 2H), 3.44 - 3.34 (m, 2H), 3.40 (s, 6H), 3.22 - 3.15 (m, 2H), 3.24 (s, 2H), 2.71 - 2.64 (m, 2H), 2.58 - 2.50 (m, 2H), 2.31 (s, 3H), 1.98 - 1.82 (m, 2H). (UPLC-MS 6) t_R 0.33; ESI-MS 335.3 [M+H]⁺.

[0157] 단계 8: 4-플루오로-5-아이오도피리딘-2-아민.

[0158] MeCN (9 L) 중 4-플루오로피리딘-2-아민 (336 g, 2.5 mol) 및 NIS (745 g, 2.75 mol)의 현탁액을 TFA (114 g, 1 mol)로 처리하였다. 이어서, 반응 혼합물을 실온에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 EtOAc (10 L)로 희석하고, 포화 수성 Na₂S₂O₃ (2 x 5 L), 염수 (4 x 5 L)로 세척하였다. 합한 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 여과하고, 농축시켜 조 생성물을 수득하였다. 조 생성물을 EtOAc/헵탄 (1/10)으로부터의 재결정화에 의해 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.14 (d, 1H), 6.45 (s, 2H), 6.33 (d, 1H).

[0159] 단계 9: 6-아미노-4-플루오로니코티노니트릴.

[0160] DMA (800 mL) 중 4-플루오로-5-아이오도피리딘-2-아민 (단계 8에서 수득됨, 240 g, 1 mol), 시안화아연 (125 g, 1.05 mol), 아연 (13 g, 0.2 mol), Pd₂(dba)₃ (25 g, 25 mmol) 및 dppf (55 g, 0.1 mol)를 탈기하고, 질소 하에 둥근 바닥 플라스크 내로 채웠다. 혼합물을 100°C에서 3시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 5% NaHCO₃ (2 L)으로 희석하고, EtOAc (4 x 600 mL)로 추출하였다. 합한 유기 층을 5% NaOH (1 L)로 세척하고, Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 700 mL로 농축시켰다. 생성된 유기 상을 EtOAc (1.7 L)로 실리카 겔 칼럼을 통해 용리시켰다. 합한 유기 여과물을 2 M HCl (3 x 800 mL)로 세척하였다. 수성 상의 pH를 포화 NaHCO₃을 사용하여 10으로 조정하였다. 수성 상을 DCM (3 x 500 mL)으로 추출하였다. 합한 DCM을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 농축시켰다. 잔류물을 칼럼 크로마토그래피 (헵탄: EtOAc 10:1에서 3:2로 용리시킴)에 이어서 헵탄/EtOAc 3/1로부터의 재결정화에 의해 추가로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.40 (d, 1H), 7.40 (s, 2H), 6.34 (d, 1H).

[0161] 단계 10: tert-부틸 (4-클로로-5-시아노피리딘-2-일)카르바메이트.

[0162] THF (150 mL) 중 2,4-디클로로-5-시아노피리딘 (10g, 57.8 mmol), tert-부틸 카르바메이트 (8.2 g, 70.5 mmol), Pd(OAc)₂ (0.26 g, 1.1 mmol), Xantphos (1.34 g, 2.3mmol) 및 K₂CO₃ (12 g, 87 mmol)의 혼합물을 질소로 3회 탈기시켰다. 이어서, 혼합물을 70°C에서 4-5시간 동안 가열하고, 완전한 전환까지 크로마토그래피에 의해 모니터링하였다. 반응의 완결 후, 추가의 THF (100 mL)를 첨가하고, 혼합물을 70°C에서 추가로 1시간 동안 가열한 다음, 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 현탁액을 셀라이트의 패드를 통해 여과하여 고체를 제거하였다. 이어서, 여과물을 농축시키고, 에틸 아세테이트로 공비 증류시킨 후에 여과하여 표제 화합물을 수득하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10.82 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 1.49 (s, 9H).

- [0163] 단계 11: tert-부틸 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)카르바메이트.
- [0164] DMSO (80 mL) 중 tert-부틸 (4-클로로-5-시아노피리딘-2-일)카르바메이트 (단계 10에서 수득됨, 9.8 g, 38.6 mmol), 2-메톡시에틸아민 (5.8 g, 77.3 mmol) 및 DIPEA (6 g, 46.4 mmol)의 혼합물을 65-70°C에서 24시간 동안 가열하고, 완전한 전환까지 크로마토그래피에 의해 모니터링하였다. 이어서, 용액을 실온으로 냉각시켰으며, 백색 고체가 서서히 침전되었다. 이어서, 물 (20 mL)을 1시간 이내에 천천히 첨가하였다. 현탁액을 추가로 1시간 동안 교반하고, 여과하고, 건조시켜 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 9.87 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 6.86 (s, 9H), 3.51 (t, 2H), 3.36 (t, 2H), 3.28 (s, 3H), 1.47 (s, 9H).
- [0165] 단계 12: 6-아미노-4-((2-메톡시에틸)아미노)니코티노니트릴.
- [0166] DMA (20 mL) 중 6-아미노-4-플루오로니코티노니트릴 (단계 9에서 수득됨, 1.10 g, 8.02 mmol)의 용액을 2-메톡시에틸아민 (2.07 mL, 24.1 mmol) 및 DIPEA (4.20 mL, 24.1 mmol)로 처리하고, 50°C로 가열하고, 15시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 농축시켰다. 조 물질을 정상 크로마토그래피 (24 g 실리카 겔 카트리지, 헵탄/EtOAc 100:0에서 0:100)에 의해 정제하였다. 생성물 함유 분획을 농축시키고, 진공 하에 건조시켜 표제 화합물을 회백색 고체로서 수득하였다.
- [0167] 6-아미노-4-((2-메톡시에틸)아미노)니코티노니트릴의 대안적 합성이 하기에 약술된다:
- [0168] tert-부틸 N-{5-시아노-4-[(2-메톡시에틸)아미노]피리딘-2-일}카르바메이트 (단계 11에서 수득됨, 7g)에 30-36% 수성 HCl (40 mL)을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 30분 동안 교반하고, 완전한 전환까지 크로마토그래피에 의해 모니터링하였다. 이어서, 용액을 20-30% NaOH 용액을 사용하여 pH=9-10으로 염기성화시키고, 여과하여 백색 고체를 수득하였다. 고체를 에틸 아세테이트 (15 mL)에 첨가하고, 50-55°C로 가열하여 투명한 용액이 형성되었다. 이어서, 용액을 3-6°C로 냉각시키고, 2-3시간 동안 교반하고, 여과하였다. 이어서, 습윤 케이크를 건조시켜 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.92 (s, 1H), 6.39 (s, 2H), 6.15 (t, 1H), 5.61 (s, 1H), 3.46 (t, 2H), 3.27 (s, 3H), 3.24 (q, 2H). (UPLC-MS 3) t_R 0.62; ESI-MS 193.1 [M+H]⁺.
- [0169] 단계 13: N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-(디메톡시메틸)-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드.
- [0170] 무수 DMF (1.5 mL) 중 6-아미노-4-((2-메톡시에틸)아미노)니코티노니트릴 (단계 12에서 수득됨, 481 mg, 2.50 mmol)의 용액을 0°C에서 냉각시킨 디(1H-1,2,4-트리아졸-1-일)메탄 (410 mg, 2.50 mmol) 및 DMF (1.5 mL)의 혼합물에 10분에 걸쳐 적가하였다. 0°C에서 45분 동안 교반한 후, 반응 혼합물을 실온으로 가온되도록 하고, 추가로 실온에서 90분 후, DMF (2 mL) 중 1-((2-(디메톡시메틸)-5,6,7,8-테트라히드로-1,8-나프티리딘-3-일)메틸)-4-메틸피페라진-2-온 (단계 7에서 수득됨, 418 mg, 1.00 mmol)의 용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 17.5시간 동안 교반하고, MeOH를 첨가하여 퀀칭하고, 증발시켰다. 잔류물을 DCM 용액으로서 80 g 레디캡® 실리카 칼럼에 적용하고, 정상 크로마토그래피에 의해 DCM에서 DCM 중 2% MeOH로의 구배로 용리시키면서 정제하였다. 생성물 함유 분획을 합하고, 증발시켜 표제 화합물을 오렌지색 발포체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.50 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 6.93 (t, 1H), 5.45 (s, 1H), 4.65 (s, 2H), 3.94 - 3.89 (m, 2H), 3.54 - 3.50 (m, 2H), 3.40 - 3.35 (m, 2H), 3.38 (s, 6H), 3.29 (s, 3H), 3.20 - 3.16 (m, 2H), 3.05 (s, 2H), 2.86 - 2.80 (m, 2H), 2.61 - 2.55 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.94 - 1.88 (m, 2H). (UPLC-MS 6) t_R 0.72; ESI-MS 553.3 [M+H]⁺.
- [0171] 단계 14: N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드
- [0172] 진한 염산 (0.40 mL)을 실온에서 THF (3 mL) 및 물 (1 mL) 중 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-(디메톡시메틸)-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (단계 13에서 수득됨, 470 mg, 0.808 mmol)의 용액에 첨가하였다. 실온에서 3시간 동안 교반한 후, 포화 수성 NaHCO₃를 첨가하고, 혼합물을 DCM (3회)으로 추출하고, 유기 층을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 증발시켰다.

잔류물을 EtOAc (6 mL) 및 헵탄 (6 mL)으로 초음파처리한 다음, 여과하였다. 이어서, 수득된 백색 고체를 DCM (6 mL) 중에 용해시키고, EtOAc (3 mL)를 첨가하고, 용액을 가온하고, 밀봉하고, 실온에서 2시간 동안 정치하도록 하였다. 여과하고 건조시켜 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드를 백색 고체로서 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.43 (s, 1H), 10.06 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 6.96 (t, br, 1H), 4.86 (s, 2H), 3.96 - 3.90 (m, 2H), 3.52 - 3.46 (m, 2H), 3.39 - 3.33 (m, 2H), 3.30 - 3.21 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.02 (s, 2H), 2.93 - 2.86 (m, 2H), 2.61 - 2.56 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 1.95 - 1.85 (m, 2H). (UPLC-MS 6) t_R 0.70, ESI-MS 507.2, [M+H]⁺.

[0173] 단계 15: 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1).

[0174] N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (단계 14에서 수득됨, 4g, 7.896 mmol)를 용해가 완결될 때까지 (20분) 70°C에서 프로피온산 (29.3 g, 29.60mL) 중에서 교반하였다. 용액을 55°C로 냉각시키고, 아세톤 중 시트르산의 용액 (23% w/w)을 여기에 첨가하였다. 개별적으로, 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (0.0185 g, 0.026 mmol)에 아세톤 (0.2 g, 0.252mL)을 첨가하여 시드 현탁액을 제조하였다. 시드 현탁액을 50°C에서 용액에 첨가하고, 생성된 현탁액을 50°C에서 40분 동안 교반되게 두었다. 추가로 아세톤 중 시트르산의 용액 (26.6g, 2.51% w/w, 33.63 mL)을 380분에 걸쳐 반응물에 첨가하였다. 생성된 현탁액을 추가로 120분 동안 교반하고, 4시간에 걸쳐 교반하면서 20°C로 냉각시켰다. 현탁액을 추가로 12시간 동안 교반한 후에, 현탁액을 진공 하에 여과하고, 생성된 고체를 실온에서 프로피온산: 아세톤 용액 (1:1, 7g, 7.96mL)으로 세척하였다. 고체를 추가로 실온에서 아세톤 (7g, 8.85mL)으로 세척하였다. 생성된 고체를 오븐에서 40°C 및 5mbar에서 건조시켜 표제 화합물을 담오렌지색 고체 (5.2g, 7.443 mmol)로서 수득하였다. (mw 698.70), mp (DSC) 168.8°C (개시).

[0175] XRPD 분석은 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)에 의해 수득된 입자와 동일한 패턴을 나타냈다 - 도 5 참조.

[0176] 실시예 1a

[0177] 단계 1 내지 14를 실시예 1에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0178] 단계 15a: 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1)

[0179] N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (단계 14에서 수득됨, 5g, 9.930 mmol)를 60°C에서 프로피온산 (33.5 g, 33.84mL) 중에서 교반하였다. N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드가 용해되었으면, 무수 시트르산 분말 (0.19g, 0.9889 mmol)을 첨가하였다. 생성된 현탁액을 70°C로 가열하고, 5분 동안 초음파처리하여 완전한 용해를 보장하였다. 생성된 용액을 50°C로 냉각시키고, 에틸 아세테이트 중 시트르산의 용액 (3.7 g, 에틸 아세테이트 중 1.3% 시트르산)을 20분에 걸쳐 첨가하였다. 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 시드 (0.02 g)를 용액에 첨가하고, 현탁액을 15분 동안 숙성시켰다. 에틸 아세테이트 중 시트르산의 또 다른 분취물 (128g, 에틸 아세테이트 중 1.3% 시트르산)을 11.85시간에 걸쳐 현탁액에 첨가하였다. 현탁액을 4시간 초과 동안 교반되게 두었다. 이어서, 현탁액을 진공 (500mbar) 하에 여과하고, 생성된 고체를 먼저 실온에서 프로피온산: 에틸 아세테이트 용액 (1:1, 7g, 7.44mL)으로 세척한 다음, 실온에서 아세테이트 (12g, 13.38mL)로 세척하였다. 생성된 고체를 오븐에서 40°C 및 5mbar에서 건조시켜 표제 화합물을 담오렌지색 고체 (6.3 g, 9.074 mmol)로서 수득하였다.

[0180] XRPD 분석은 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법 (참조 실시예 1)에 의해 수득된 입자와 동일한 패턴을 나타냈다 - 도 5 참조.

[0181] 참조 실시예 1 (PCT/IB2014/065585에 기재됨) - 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-

2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1)

- [0182] 단계 1 내지 14를 실시예 1에 기재된 바와 같이 수행하였다.
- [0183] 참조 단계 15 - 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1)
- [0184] 아세톤 (5 mL) 중 시트르산 (96.9 mg)의 용액을 실온에서 제조하였다 (0.1 M). 이어서, 아세톤 중 0.1 M 시트르산 용액의 일부분 (2 mL)을 아세톤 (4 mL) 중 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (100 mg)의 현탁액에 첨가하고, 혼합물을 1분 동안 초음파처리한 다음, 2시간 동안 교반하면서 55°C로 가열한 후에, 실온으로 냉각시켰다. 이어서, 백색 고체를 여과에 의해 수집하고, 아세톤 (2 mL)으로 2회 세척하고, 진공 하에 40°C에서 18시간 동안 건조시켜 표제 염을 수득하였다.
- [0185] 대안적으로, N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (6.5 g, 12.83 mmol)를 500ml 4-플라스크 반응기에 넣었다. 빙초산 49 mL를 첨가하고, 생성된 현탁액을 투명한 혼합물이 수득될 때까지 23°C에서 교반하였다. 분리형 플라스크에서, 무수 2-히드록시프로판-1,2,3-트리카르복실산 (2.59 g, 13.47 mmol, 1.05 당량)을 투명한 용액이 수득될 때까지 50°C에서 빙초산 49 mL 중에 용해시켰다. 이어서, 이 용액을 미리 제조된 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 용액에 23°C에서 첨가하였다. 이 혼합물을 23°C에서 30분 동안 교반한 다음, 75°C로 가온한 에틸 아세테이트 192 mL에 1시간에 걸쳐 적가하였다. 온도는 첨가에 걸쳐 일정하게 유지하였다. 첨가의 종료 시에, 혼합물의 온도를 23°C로 천천히 냉각시키고, 이 온도에서 완만한 교반 하에 16시간 유지하였다. 현탁액을 5-10°C로 냉각시키고, 여과하였다. 케이크를 에틸 아세테이트 15 mL 및 아세톤 15 mL로 세척하였다. 습윤 케이크 (약 8.5g)를 건조 아세톤 192 mL가 든 500 mL 플라스크에 옮겼다. 생성된 현탁액을 24시간 동안 환류하였다. 현탁액을 여과하고, 케이크를 건조 아세톤 15 mL로 2회 세척한 다음, 진공 하에 50°C에서 수시간 동안 건조시켜 표제 염을 수득하였다.
- [0186] 실시예 2 - FGFR4에 대한 시험관내 생화학적 키나제 검정
- [0187] 모든 검정을 384 웰 마이크로타이터 플레이트에서 수행하였다. 각각의 검정 플레이트는 40개의 시험 화합물에 대한 8-포인트 연속 희석물, 뿐만 아니라 참조 화합물로서의 스타우로스포린의 4개의 8-포인트 연속 희석물, 플러스 16개의 고대조군 및 16개의 저대조군을 함유하였다.
- [0188] 액체 취급 및 인큐베이션 단계를 로봇 팔 (써모 캣엑스, 캘리퍼 트위스터 II) 및 인큐베이터 (리코닉 STX40, 써모 시토마트 2C450)가 구비된 이노바딘 나노드롭 익스프레스 상에서 수행하였다. 검정 플레이트를 웰당 50 nL의 90% DMSO 중 화합물 용액의 첨가에 의해 제조하였다. 키나제 반응을 웰당 4.5 µL의 펩티드/ATP-용액 (50mM HEPES, pH 7.5, 1mM DTT, 0.02% 트윈20, 0.02% BSA, 0.6% DMSO, 10mM 베타-글리세로포스페이트, 및 10 µM 오르토바나듐산나트륨, 16 mM MgCl₂, 1122 µM ATP, 4 µM 펩티드 (5-플루오-Ahx-KKKKKEIYFFFG-NH₂, 바이오신탄 게엠베하(Biosyntan GmbH)) 및 웰당 4.5 µL의 효소 용액 (50 mM HEPES, pH 7.5, 1 mM DTT, 0.02% 트윈20, 0.02% BSA, 0.6% DMSO, 10 mM 베타-글리세로포스페이트, 및 10 µM 오르토바나듐산나트륨, 16 mM MgCl₂, 6 mM FGFR4 (GST-FGFR4(388-802), 곤충 세포에서의 발현 및 친화성 크로마토그래피에 의해 사내 제조됨))의 단계적 첨가에 의해 시작하였다. 키나제 반응을 30°C에서 60분 동안 인큐베이션하고, 후속적으로 웰당 16 µL의 정지 용액 (100 mM HEPES pH 7.5, 5%DMSO, 0.1% 캘리퍼 코팅 시약, 10 mM EDTA, 및 0.015% 브리즈35)의 첨가에 의해 종결시켰다. 종결된 키나제 반응을 갖는 플레이트를 판독을 위해 캘리퍼 LC3000 워크스테이션으로 옮겼다. 인산화 및 비인산화 펩티드를 캘리퍼 마이크로유체 이동성 변화 기술을 사용하여 분리하였다. 간략하게, 종결된 키나제 반응으로부터의 샘플을 칩에 적용하였다. 분석물을 칩을 통해 일정한 완충제 유동에 의해 수송하고, 기질 펩티드의 이동을 그의 표지의 형광 신호에 의해 모니터링하였다. 인산화 펩티드 (생성물) 및 비인산화 펩티드 (기질)를 전기장에서 그의 전하/질량 비에 의해 분리하였다. 키나제 활성을 형성된 포스포-펩티드의 양으로부터 계산하였다. IC₅₀ 값을 상이한 화합물 농도에서의 퍼센트 억제 값으로부터 비-선형 회귀 분석에 의해 결정하였다.
- [0189] 화합물 희석물의 제조
- [0190] 시험 화합물을 DMSO (10mM) 중에 용해시키고, 고유 2D 매트릭스를 보유하는 1.4 mL 편평 바닥 또는 V형 매트릭

스 튜브로 옮겼다. 원액은 즉시 사용되지 않는 경우에 +2℃에서 보관하였다. 시험 절차를 위해, 바이알을 해동시키고, 스캐너에 의해 확인하였으며, 여기서 후속 작업 단계를 안내하는 작업 시트를 생성하였다.

- [0191] 화합물 희석물을 96 웰 플레이트에서 제조하였다. 이 포맷은 4개의 참조 화합물을 포함하는 8개 농도 (단일 포인트)에서의 최대 40개의 개별 시험 화합물의 검정을 가능하게 하였다. 희석 프로토콜은 "사전-희석 플레이트", "마스터 플레이트" 및 "검정 플레이트"의 제조를 포함하였다.
- [0192] 사전-희석 플레이트: 96 폴리프로필렌 웰 플레이트를 사전-희석 플레이트로서 사용하였다. 플레이트 위치 A1-A10 상에서 각각 10개의 시험 화합물, A11에서 1개의 표준 화합물 및 A12에서 1개의 DMSO 대조군을 포함하는 총 4개의 사전-희석 플레이트를 제조하였다. 모든 희석 단계를 해밀턴스타 로봇 상에서 수행하였다.
- [0193] 마스터 플레이트: 4개의 "사전-희석 플레이트"의 표준 화합물 및 대조군을 포함하는 개별 화합물 희석물 30 μL를 90% DMSO 중 하기 농도 1,810, 362, 72.5, 54.6, 14.5, 2.9, 0.58 및 0.12 μM을 각각 포함하는 384 "마스터 플레이트"로 옮겼다.
- [0194] 검정 플레이트: 이어서, "마스터 플레이트"의 각각의 화합물 희석액 50 nL를 허밍버드 384-채널 분배기에 의해 384-웰 "검정 플레이트" 내로 피펫팅함으로써 동일한 "검정 플레이트"를 제조하였다. 이들 플레이트를 총 부피 9.05 μL로 수행되는 검정에 직접 사용하였다. 이는 검정에서 10, 2.0, 0.4, 0.08, 0.016, 0.0032, 0.00064 및 0.000128 μM의 최종 화합물 농도 및 0.5%의 최종 DMSO 농도를 유도하였다.
- [0195] FGFR4에 대한 시험관내 세포 키나제 검정
- [0196] 세포 FGFR4 키나제 활성화에 대한 관독으로서, FGFR4에 대한 티로신 인산화 함량을 측정하는 검정을 개발하였다. 이를 위해, BaF3-Tel-FGFR4 세포주를 생성하였다: BaF3 세포에 막근접 도메인을 포함하는 FGFR4의 세포질 도메인에 융합된 TEL의 아미노 말단 부분 (aa1-337)으로 이루어진 융합 단백질을 코딩하는 레트로바이러스를 안정하게 형질도입하였다. TEL 도메인의 존재는 올리고머화에 의한 융합된 FGFR4 키나제의 구성적 활성화를 매개하고, 따라서 티로신 부위 상의 자가인산화를 매개한다.
- [0197] MSD (메조 스케일 디스커버리)-기반 포획 ELISA를 하기와 같이 개발하고 사용하였다:
- [0198] - 세포 처리: 웰당 250000개의 BaF3-Tel-FGFR4 세포를 96-웰 조직 배양 플레이트 (코닝(Corning) Cat# 3359)에서 40uL의 성장 배지 (10% 소 태아 혈청, 10mM HEPES, 1mM 피루브산나트륨, 2mM 안정한 글루타민 및 1x 페니실린-스트렙토마이신이 보충된 RPMI-1640 (아미메드(Amimed) Cat#1-41F01-I)) 중에 시딩하였다. 액체 취급 장치 (벨로시티 11 브라보, 애질런트(Agilent))를 사용하여, 화합물의 연속 3배 희석물을 성장 배지 중에 사전희석된 DMSO 중에서 제조하고, 이어서 10 uL/웰을 세포 플레이트로 옮겼다. 37℃/5%CO2에서 1시간 동안 인큐베이션 후, 50uL의 용해 완충제 (프로테아제 억제제 (킴플릿 미니, 로슈(Roche) Cat# 11836153001) 및 포스파타제 억제제 (공급업체 지침서에 따른 포스파타제 Inhib I, 시그마(SIGMA) Cat# P2850; 포스파타제 Inhib II, 시그마 Cat# P5726)가 보완된 150 mM NaCl, 20 mM 트리스 (pH 7.5), 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1% 트리톤 X-100, 10 mM NaF)를 첨가하고, 300 rpm으로의 진탕 하에 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 샘플 플레이트를 동결시키고, -70℃에서 보관하였다. 얼음 상에서 해동시킨 후, 샘플 플레이트를 6℃에서 1200rpm으로 15분 동안 원심분리하였다.
- [0199] - ELISA 검정: 멀티 어레이 96 웰 플레이트 (MSD, Cat# L15XB-3)를 실온에서 1시간 동안 PBS/O 중에 1:400 희석된 마우스 항-H-TEL 항체 (산타 크루즈(Santa Cruz), Cat#sc-166835) 25uL/웰로 코팅하였다. TBS-T (50mM 트리스, 150mM NaCl, 0.02%트윈-20) 중 3% MSD-차단제 A (Cat# R93BA-1) 150uL의 첨가 후, 플레이트를 진탕 하에 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트를 TBS-T 200uL/웰로 3회 세척하였다. 이어서, 세포 용해물 50uL를 코팅된 플레이트로 옮기고, 4℃에서 15시간 동안 인큐베이션하고, 이어서 200 μl TBS-T/웰로 3회 세척하고, TBS-T + 1% MSD 차단제 A 중에 1:250 희석된 MSD 술포태그부착된 PY20 항체 (MSD Cat# R32AP-5) 25 μl/웰을 첨가하였다. 진탕 하에 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 후, 웰을 200 μl TBS-T/웰로 3회 세척하였다. 나노수로 1:4 희석된 150 μl MSD 판독 완충제 (MSD, Cat# R92TC-2) 원액의 첨가 후, 전기-화학발광 신호 생성을 섹터이미저 6000 (MSD) 상에서 즉시 정량화하였다. IC50 계산: 데이터 분석을 위해, 배지 및 용해 완충제를 함유하지만 세포는 함유하지 않는 웰에서 검정 배경을 결정하고, 상응하는 값을 모든 데이터 포인트로부터 차감하였다. FGFR4 인산화에 대한 특정한 시험 화합물 농도의 효과는 단지 비히클 (DMSO, 0.2% f.c.)로만 처리된 세포에 대해 수득된 배경-보정된 전기-화학발광 판독치의 백분율로서 표현되며, 이는 100으로서 설정된다. 절반-최대 신호 억제를 유도하는 화합물 농도 (IC50)는 표준 4 파라미터 곡선 피팅 (XL피트 5.4, IDBS)에 의해 결정하였다.

[0200] 세포 증식 검정

[0201] 메틸렌 블루 염색 증식 검정 (MBS): 세포 증식에 대한 화합물의 효과는 재패니즈 콜렉션 오브 리서치 바이오리소시스 셀 뱅크(Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank)로부터 수득된 HuH-7 간세포성 암종 세포 (Cat# JCRB0403)를 사용하여 평가하고, 가습 5% CO₂ 인큐베이터 내 37°C에서 판매업체-권장 배지 (DMEM 고 글루코스 (아미메드 Cat# 1-26F01-I), 10% 소 태아 혈청 (인비트로젠(Invitrogen) Cat# 16140-071), 1 mM 피루브산나트륨 (아미메드 Cat# 5-60F00-H), 1x 페니실린/스트렙토마이신 (아미메드 Cat# 4-01F00-H)) 중에서 배양하였다. 구체적으로, 5000개 세포/웰을 96-웰 조직 배양 플레이트 (TPP Cat# 92696)에서 총 배지 부피 100 μl/웰에 시딩하고, 증가하는 화합물 희석물 또는 DMSO를 24시간 후에 삼중으로 첨가하였다. 화합물 첨가 72시간 후에, 세포를 20% 글루타르알데히드 (시그마 알드리치(Sigma Aldrich) Cat# G400-4) 25 μL/웰을 첨가함으로써 고정하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 H₂O, 200 μL/웰로 3회 세척하고, 실온에서 10분 동안 100 μL/웰 0.05% 메틸렌 블루 (에이비씨알 게엠베하(ABCR GmbH) Cat# AB117904)로 염색하였다. 세포를 H₂O, 200 μL/웰로 3회 세척한 다음, 진탕 하에 실온에서 30분 동안 3% HCl (플루카(Fluka) Cat# 84422) 200 μL/웰을 첨가함으로써 용해시켰다. 광학 밀도를 A650nm에서 측정하였다. DMSO-처리된 세포에 관한 증식 억제 50%를 제공하는 화합물의 농도 (IC₅₀)는 XL피트 소프트웨어를 사용하여 결정하였다.

[0202] 셀타이터 글로 (CTG) 검정: 세포 증식에 대한 화합물의 기능적 효과는 재패니즈 콜렉션 오브 리서치 바이오리소시스 셀 뱅크로부터 수득된 HuH-7 간세포성 암종 세포 (Cat# JCRB0403)를 사용하여 평가하고, 가습 5% CO₂ 인큐베이터 내 37°C에서 판매업체-권장 배지 (DMEM 고 글루코스 (아미메드 Cat# 1-26F01-I), 10% 소 태아 혈청 (인비트로젠 Cat# 16140-071), 1 mM 피루브산나트륨 (아미메드 Cat# 5-60F00-H), 1x 페니실린/스트렙토마이신 (아미메드 Cat# 4-01F00-H)) 중에서 배양하였다. 세포 증식/생존율의 화합물-매개된 억제는 셀타이터-글로 (CTG) 시약 (프로메가(Promega), Cat# G7573)를 사용하여 세포 ATP 수준의 정량화에 의해 평가하였다. 간략하게, 세포를 조직-배양-처리된 96-웰 플레이트 (코스타(Costar) Cat#3904) 내로 3,000개 세포/웰/80 μl 신선한 배지로 시딩하고, 이어서 그의 최종 의도된 농도의 5배의 화합물 희석물을 함유하는 20 μl 배지를 첨가하였다. 용량-반응 효과를 10 μM에서 시작하여 시험 화합물의 3배 연속 희석물에 의해 평가하였다. 세포를 37°C 및 5% CO₂ 에서 3일 동안 인큐베이션한 후, 세포 생존율에 대한 억제제의 효과를 50 μl CTG의 첨가 및 판매업체 매뉴얼에 따라 상응하게 구비된 다중-모드 플레이트 판독기 (M200프로, 테칸(TECAN), 스위스)를 사용하는 발광 측정 (통합 시간: 500ms) 후에 정량화하였다. 데이터 분석을 위해, 배지를 함유하지만 세포는 함유하지 않는 웰에서 결정된 검정 배경 값을 모든 데이터 포인트로부터 차감하였다. 세포증식억제성 화합물로부터 세포독성의 구별을 가능하게 하기 위해, 생존 세포의 수를 개별 세포 플레이트를 사용하여 화합물 첨가 시간 (제0일)에 관찰된 것에 비해 평가하였다. 세포 증식/생존율에 대한 특정한 시험 화합물 농도의 효과는 단지 비히클 (DMSO, 0.1% f.c.)로만 처리된 세포에 대해 수득된 배경- 및 제0일-보정된 발광 판독치의 백분율로서 표현되며, 이는 100%로서 설정되는 한편, 단지 배지만을 함유하고 세포는 함유하지 않는 웰에 대한 발광 판독치는 -100%로서 설정된다. 절반-최대 성장 억제를 유도하는 화합물 농도 (GI50)는 표준 4 파라미터 곡선 피팅 (XL피트 5.2., IDBS, 영국)을 사용하여 결정하였다.

[0203]

실시에	생화학적 FGFR4 IC ₅₀ (nM)	세포 BaF ₃ FGFR4 IC ₅₀ (nM)	HUH7 증식 (nM)	
			MBS	CTG
1	1.9	4.3	12	60.9

[0204] 비교 데이터

[0205] FGFR1 (407-822), FGFR2 (406-821) 및 FGFR3 (411-806)에 대한 시험관내 생화학적 검정은 상기 기재된 FGFR4에 대한 시험관내 생화학적 검정과 유사한 방식으로, 키나제 도메인의 나타낸 부분을 사용하여 수행하였다. 실시 예 1은 생화학적 FGFR1, FGFR2 및 FGFR3 검정에서 IC₅₀ 값 > 10000 nM을 가져왔다.

[0206] 실시예 3 - 실시예 1에서 수득된 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복사미드의 입자의 레이저 회절 측정.

[0207] 실시예 1에서 수득된 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복사미드 (1:1)의 입자 크기 분포를 레이저 광 회절에 의해 유럽 약전 캡터 2.9.31 입자 크기 분석에 기재된 방법에 따라 분석하였다.

- [0208] 측정을 위해, 독일 소재 심파텍 게엠베하(Sympatec GmbH)로부터의 습윤 분산 장치 큐벳이 구비된, 독일 소재 심파텍 게엠베하로부터의 500 mm의 초점 길이를 갖는 심파텍 헬로스 장치를 사용하였다. 시험 물질을 스위스 소재 브렌태그 슈바이체랄 아게(Brenntag Schweizerhall AG)의 화이트 스프릿 (카탈로그 번호 12200-150) 중에 분산 보조제 (예를 들어 스타트세이프(Statsafe)TM 6000, 이노스펙 리미티드(INNOSPEC Limited), 화이트 스프릿 중 대략 1%)를 사용하여 분산시켰다.
- [0209] 절차: 분산 보조제 액적을 실시예 1에서 수득된 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1)의 분말 샘플에 수동 혼합 하에 첨가하였다. 입자를, 예를 들어 볼텍스 혼합기 상에서 강력하게 혼합하여, 물질을 철저히 습윤시키고 평활하면서 균질한 페이스트를 형성시켰다. 페이스트를 화이트 스프릿을 사용하여 여러 밀리리터의 최종 부피로 희석하고, 스톱 분산액을 다시 혼합하였다.
- [0210] 측정: 시험 분산액은 스톱 분산액을 화이트 스프릿을 사용하여 적절한 광학 농도로 희석함으로써 제조하고, 누적 부피 분포는 레이저 광 회절 기기를 사용하여 지시 매뉴얼에 따라 결정하였다. 10초, 20초, 30초 초음파처리 전후에 측정을 수행하였다. 파라미터는 하기와 같이 설정하였다: 반델린 일렉트로닉 게엠베하 운트 코. 카게(Bandelin electronic GmbH & Co. KG)로부터의 초음파처리 장치 GM70에서의 30% 진폭 및 80% 사이클 시간, 및 약 20초의 측정 지속기간.
- [0211] 10%, 50% 및 90% (x10, x50, x90)의 언더사이즈 값에서의 입자 크기는 초음파처리 없이 누적 부피 분포로부터 평가하였다. 초음파처리는 측정된 입자 크기에 대해 어떠한 유의한 영향도 갖지 않았다.
- [0212] 생성된 입자 크기 분포는 도 6에 제시되어 있다.
- [0213] 실시예 4 - 참조 실시예 1 (PCT/IB2014/065585에 기재됨)에서 수득된 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드의 입자의 레이저 회절 측정.
- [0214] 참조 실시예 1에서 수득된 시트르산 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1)의 입자 크기 분포를 레이저 광 회절에 의해 유럽 약전 첩터 2.9.31 입자 크기 분석에 기재된 방법에 따라 분석하였다.
- [0215] 측정을 위해, 독일 소재 심파텍 게엠베하로부터의 습윤 분산 장치 큐벳이 구비된, 독일 소재 심파텍 게엠베하로부터의 100 mm의 초점 길이를 갖는 심파텍 헬로스 장치를 사용하였다. 시험 물질을 스위스 소재 브렌태그 슈바이체랄 아게의 화이트 스프릿 (카탈로그 번호 12200-150) 중에 분산 보조제 (예를 들어 스타트세이프TM 6000, 이노스펙 리미티드, 화이트 스프릿 중 대략 1%)를 사용하여 분산시켰다.
- [0216] 절차: 분산 보조제 액적을 실시예 1에서 수득된 시트르산 염 형태의 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카르복스아미드 (1:1)의 분말 샘플에 수동 혼합 하에 첨가하였다. 입자를, 예를 들어 볼텍스 혼합기 상에서 강력하게 혼합하여, 물질을 철저히 습윤시키고 평활하면서 균질한 페이스트를 형성시켰다. 페이스트를 화이트 스프릿을 사용하여 여러 밀리리터의 최종 부피로 희석하고, 스톱 분산액을 다시 혼합하였다.
- [0217] 측정: 시험 분산액은 스톱 분산액을 화이트 스프릿을 사용하여 적절한 광학 농도로 희석함으로써 제조하고, 누적 부피 분포는 레이저 광 회절 기기를 사용하여 지시 매뉴얼에 따라 결정하였다. 초음파처리 전 및 최대 600 초 동안의 초음파처리 후에 측정을 수행하였다. 파라미터는 하기와 같이 설정하였다: 텔소닉 아게(Telsonic AG)로부터의 초음파처리 장치 USGD-100에서의 50% 진폭, 및 약 20초의 측정 지속기간. 측정은 2회 수행하였다.
- [0218] 10%, 50% 및 90% (x10, x50, x90)의 언더사이즈 값에서의 입자 크기는 240초 초음파처리 후에 누적 부피 분포로부터 평가하였다. 이는 1차 입자 크기를 나타내는 것으로 결정되었다.
- [0219] 생성된 입자 크기 분포는 도 7에 제시되어 있다.
- [0220] 실시예 5 - 기본 유동 에너지 측정
- [0221] 기본 유동 에너지 (BFE)는 컨디셔닝된 정확한 부피의 분말 중에 특정한 유동 패턴을 확립하는데 요구되는 에너지이다. 이 유동 패턴은 블레이드의 하향 반시계방향 운동으로, 분말 중에 압축성인 비교적 높은 응력 유동 모드를 생성한다. BFE는 블레이드가 분말을 통해 용기 상부에서 하부로 이동하는데, 즉 하향 횡단 동안에 행해진 작업으로부터 계산된다.

- [0222] 본 발명의 경우에서, 기본 유동 에너지는 하기 조건 하에 프리만 테크놀로지(Freeman Technology)로부터의 FT4 분말 레오미터를 사용하여 측정하였다: 용기 크기: 25mm; 표준 프로그램 명칭: 25mm_1C_Split_1T; 시작 부속품: 23.5 mm 블레이드; 용기: 25mm x 25 mL 분할 용기. 결과를 도 9에 플롯팅하였다.
- [0223] 본 발명의 입자의 2개의 샘플에 대해 측정된 기본 유동 에너지는 실시예 1a에 기재된 방법에 의해 수득된 입자의 경우 39.17 mJ이고; 실시예 1에 기재된 방법에 의해 수득된 입자의 경우 65.07 mJ였다.
- [0224] PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 입자의 샘플에 대해 측정된 기본 유동 에너지는 185.20 mJ였다.
- [0225] 이들 결과는 본 발명의 입자가 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 입자의 것에 비해 개선된 유동 특성을 갖는다는 것을 시사한다.
- [0226] 실시예 6 - 압축성 측정
- [0227] 압축성은 적용된 법선 응력의 함수로서 어느 정도의 밀도가 변화하는지의 척도이다. 정의하면, 압축성은 압축 후 부피의 퍼센트 변화 (%)이다. 측정은 프리만 테크놀로지로부터의 FT-4 분말 레오미터를 사용하여 수행하였다.
- [0228] 본 발명의 방법에 의해 수득된 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카복사미드 입자 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 입자를 용기에 넣고, 환기식 피스톤을 사용하여 입자를 압축시켰다. 환기식 피스톤은 압축면이 우븐 스테인레스 스틸 메쉬로 구성되어 있으며 분말 층의 연행 공기가 분말층의 표면을 가로질러 균일하게 빠져나가도록 설계되어 있다. 법선 응력은 0.5 kPa에서 시작하여 15 kPa로 종료되는 8개의 순차적 압축 단계로 적용하였다. 각각의 단계에서, 법선 응력은 60초 동안 일정하게 유지하였으며, 압축성은 부피의 백분율 변화로서 자동적으로 계산되었다. 결과를 도 10에 플롯팅하였다.
- [0229] 15 kPa에서 측정된 압축성 백분율은 본 발명의 입자의 경우 54.14% 및 54.63%였다. PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 입자의 경우, 15 kPa에서 측정된 압축성 백분율은 49.93%였다.
- [0230] 이들 결과는 본 발명의 입자가 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 것과 비교하여 더 압축성이어서, 최종 약물 제품에서의 더 높은 약물 부하가 본 발명의 입자를 사용하여 달성될 수 있다는 것을 시사한다.
- [0231] 실시예 7 - 벽 마찰 각도 측정
- [0232] 벽 마찰 시험 방법은 약물 물질과 스테인레스 스틸 사이의 상호작용을 평가하기 위해 개발되었다. 사용된 장치는 프리만 테크놀로지로부터의 FT-4 분말 레오미터이다.
- [0233] 본 발명의 방법에 의해 수득된 N-(5-시아노-4-((2-메톡시에틸)아미노)피리딘-2-일)-7-포르밀-6-((4-메틸-2-옥소피페라진-1-일)메틸)-3,4-디히드로-1,8-나프티리딘-1(2H)-카복사미드 입자 및 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 입자를 수직 및 회전 응력 둘 다를 유도하기 위한 벽 마찰 헤드 및 샘플을 함유하는 용기에 넣었다. 분말 샘플은 컨디셔닝 및 이어서 표준 FT4 블레이드 및 환기식 피스톤을 사용하는 사전-압밀에 의해 제조된다.
- [0234] 1.2 마이크로미터 평균 조도의 316개의 스테인레스 스틸 디스크가 구비된 벽 마찰 헤드는 샘플의 표면으로 하향 이동하고, 디스크가 샘플의 상부와 접촉할 때 법선 응력을 유도한다. 헤드는 요구되는 법선 응력이 확립될 때까지 계속 하향 이동한다. 이어서, 벽 마찰 헤드의 느린 회전이 시작되어, 전단 응력을 유도한다. 전단 평면이 디스크와 샘플 표면 사이에 확립된다. 분말층이 벽 마찰 헤드의 회전에 저항하기 때문에, 저항성이 결국 극복될 때까지 토크가 증가한다. 이 시점에서, 최대 토크가 관찰된다. 벽 마찰 헤드는 5분 동안 18도/분으로 계속 회전한다. 이 회전을 유지하는데 요구되는 토크가 측정되며, 이는 "정상-상태" 전단 응력이 계산될 수 있도록 한다. 법선 응력은 각각의 단계에 대해 그 단계 전반에 걸쳐 표적 적용된 응력으로 일정하게 유지된다. 일련의 전단 응력 값이 표적 적용된 응력의 범위에 대해 측정된다. 샘플의 성질 및 정확하면서 일정한 회전 토크가 달성될 가능성이 없다는 사실로 인해, 소프트웨어는 전단 시간의 10% 동안의 평균 값을 결정한다. 이어서, 벽 마찰 각도는 그래프 상에서 데이터 포인트를 통해 최적 피트 라인을 그리고 이 최적 피트 라인과 수평선 사이에 대향되는 각도를 측정함으로써 계산된다. 결과를 도 11에 플롯팅하였다.
- [0235] 측정된 벽 마찰 각도는 본 발명의 입자의 경우 34.58° 및 35.85° 였다. PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에

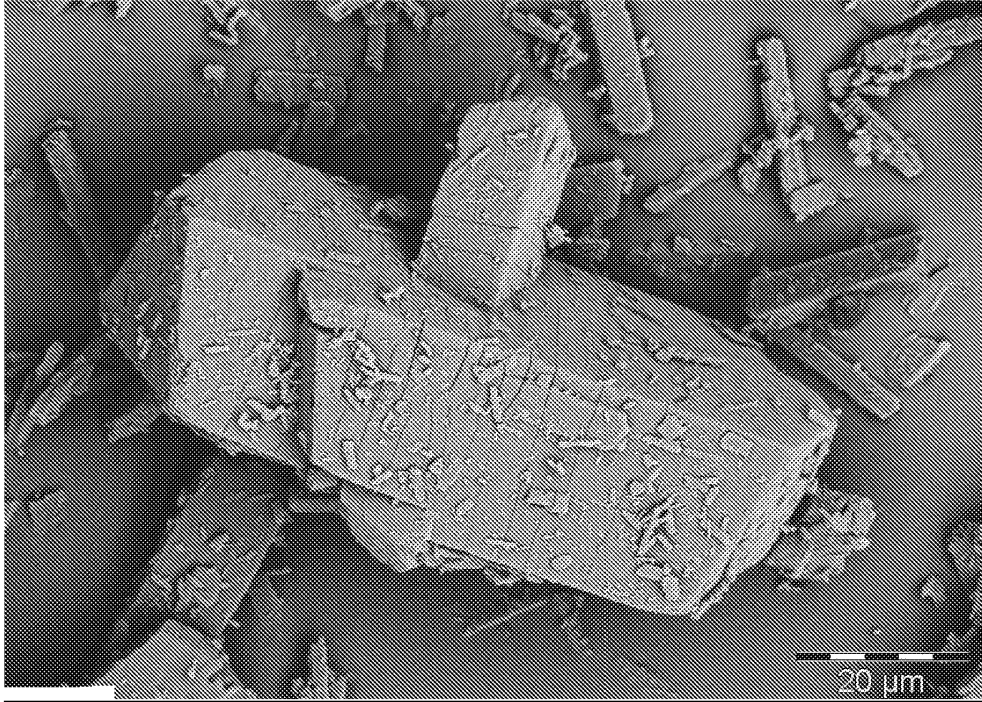
의해 수득된 입자의 경우, 벽 마찰 각도는 43.18° 였다.

[0236]

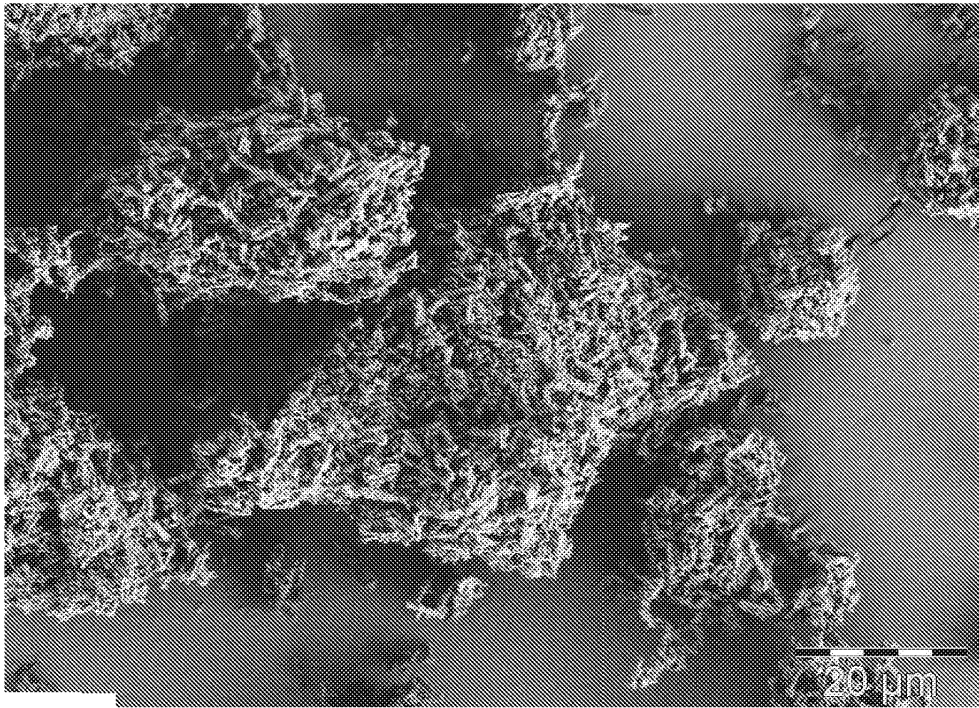
이들 결과는 본 발명의 입자가 PCT/IB2014/065585에 기재된 방법에 의해 수득된 것과 비교하여 금속 표면에 대한 덜 점착성인 거동을 나타내고, 따라서 개선된 가공성을 갖는다는 것을 시사한다.

도면

도면1



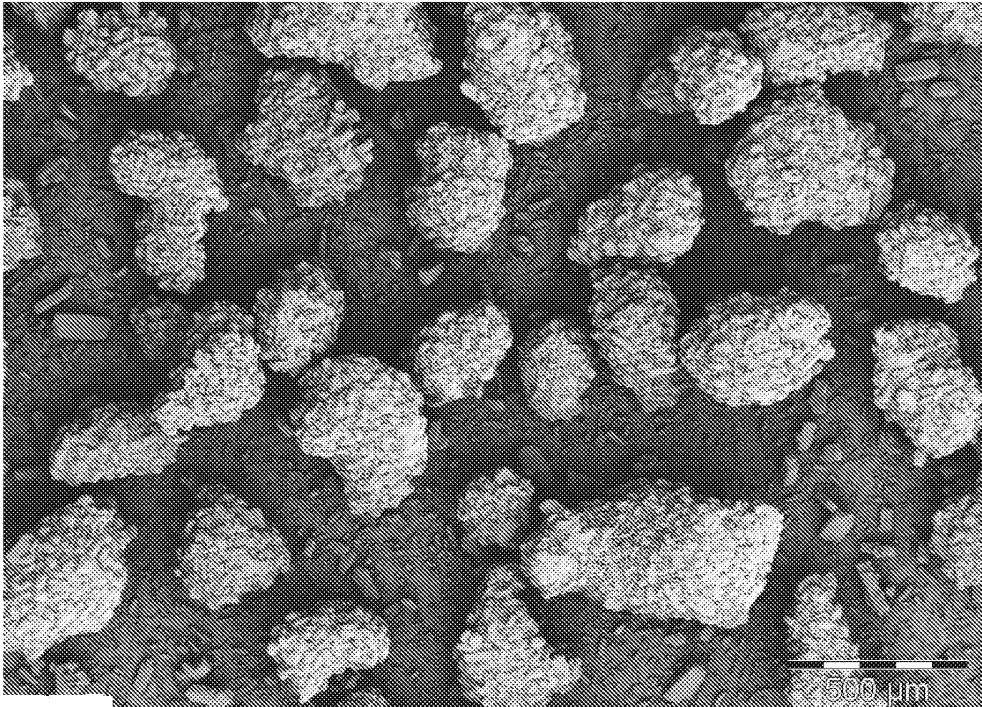
도면2



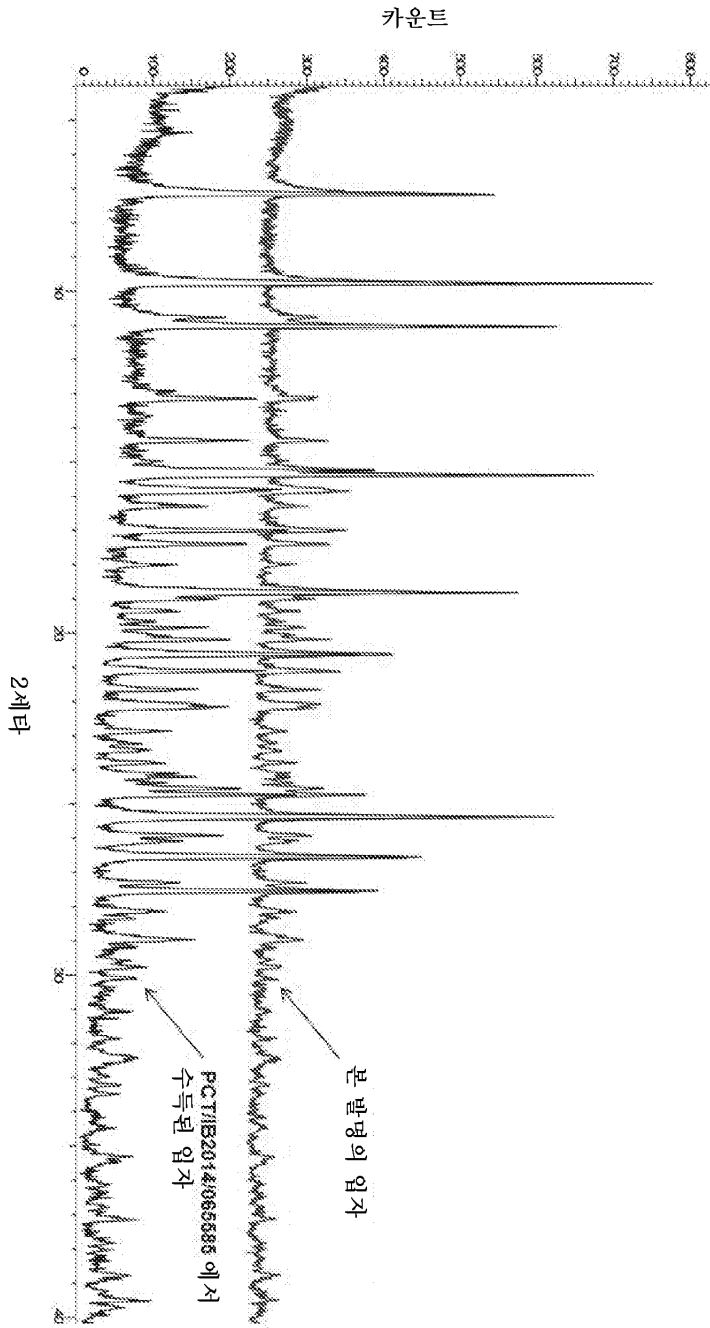
도면3



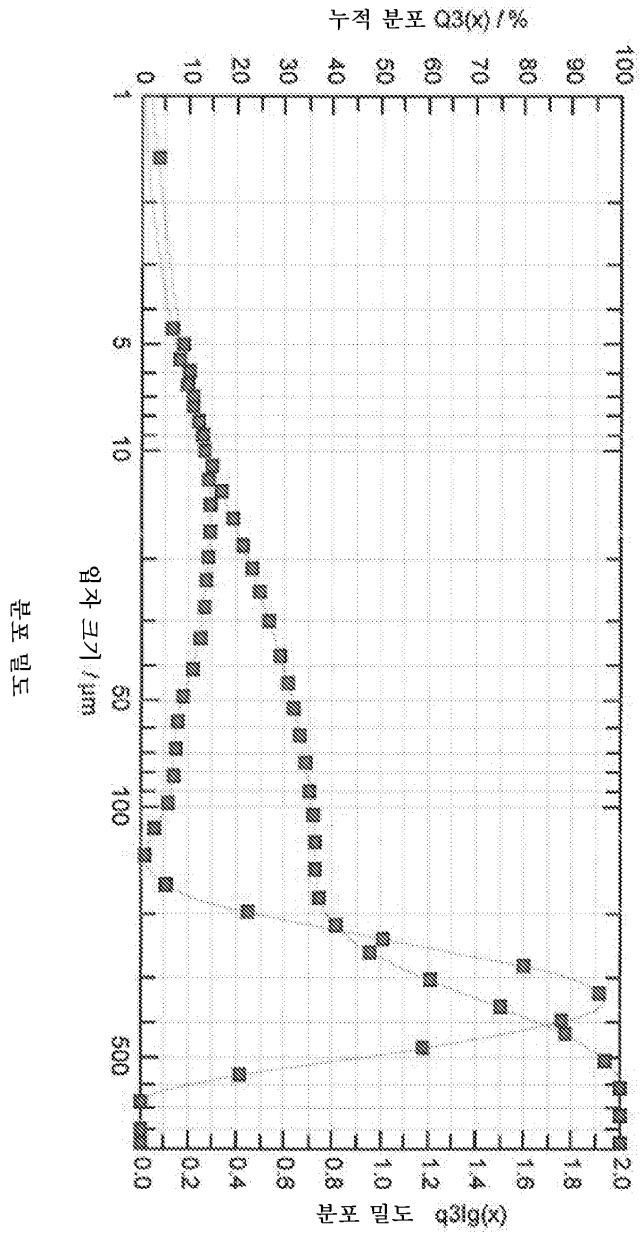
도면4



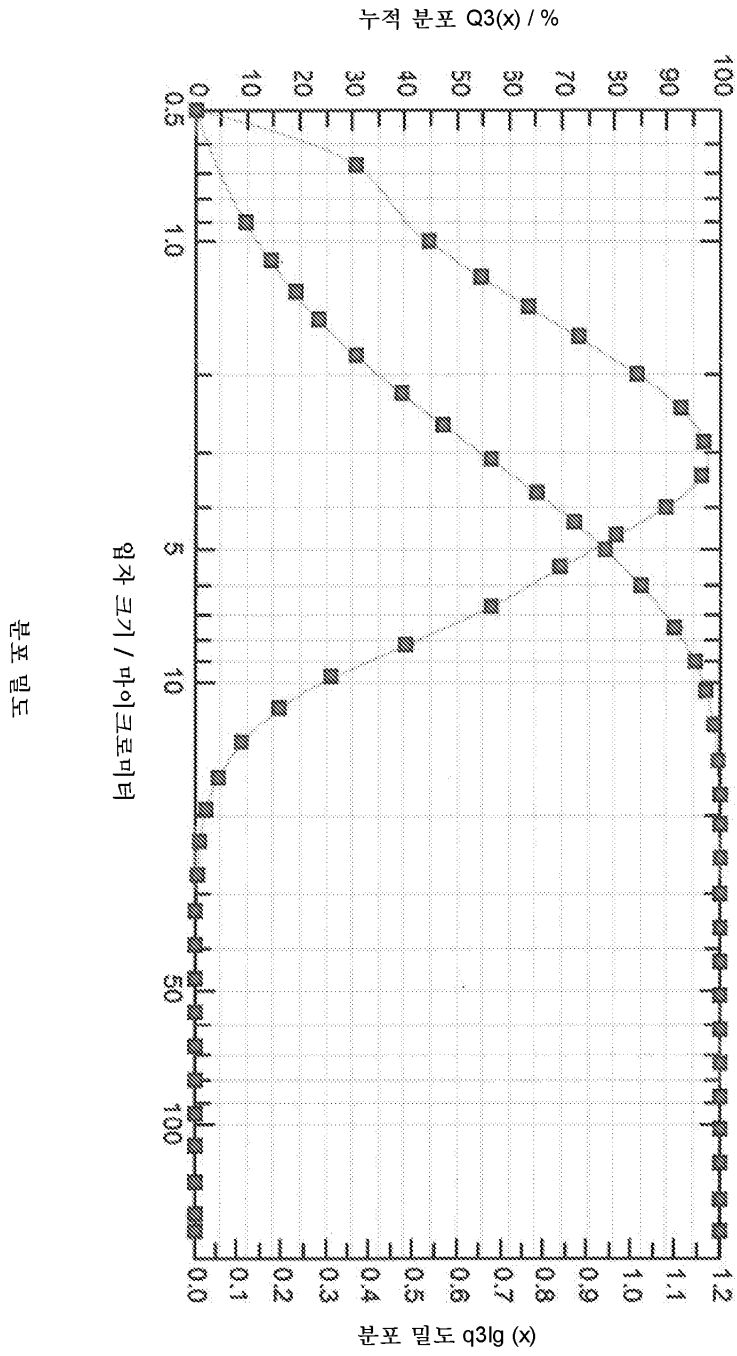
도면5



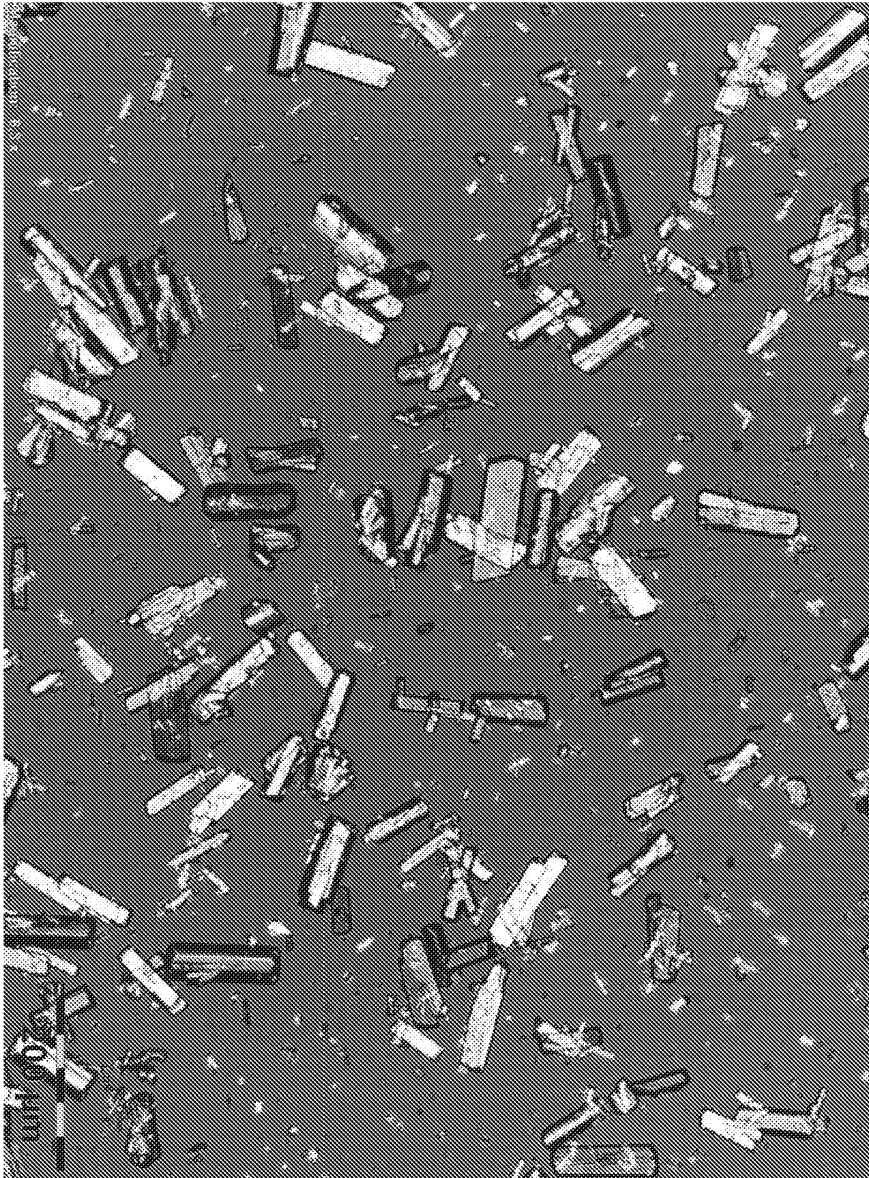
도면6



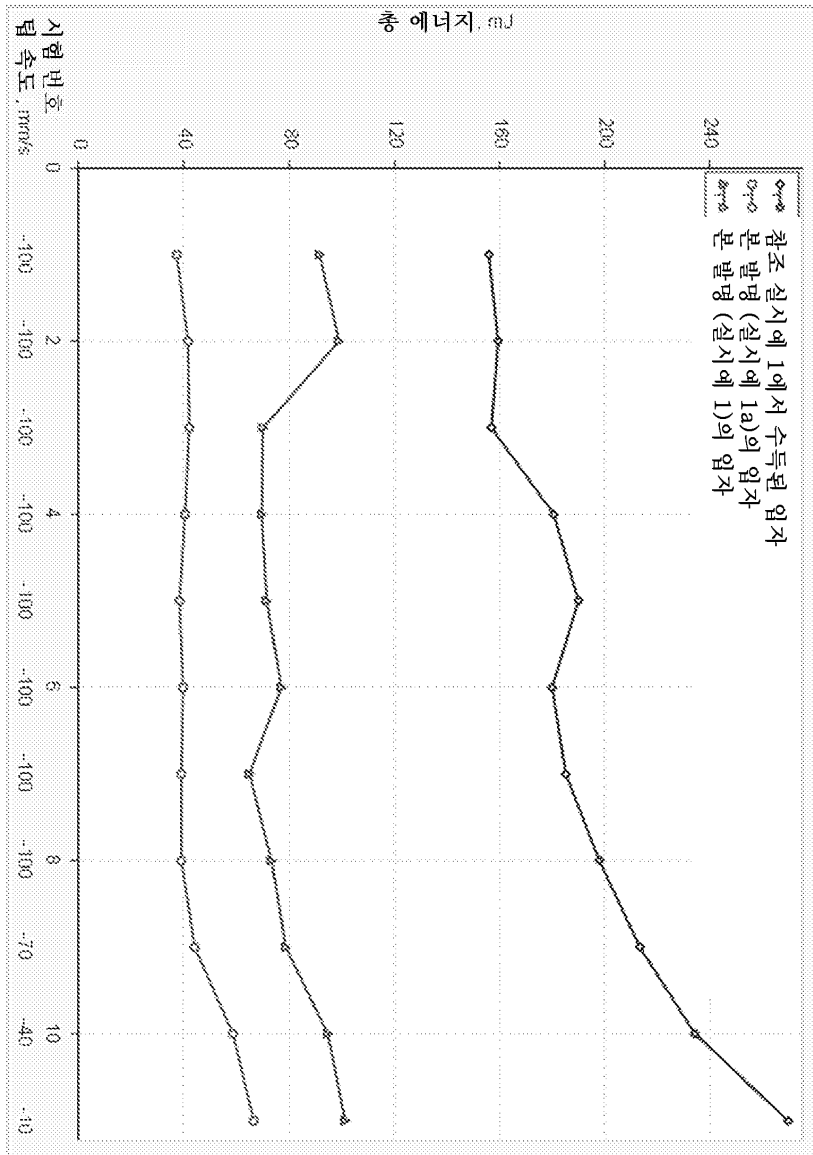
도면7



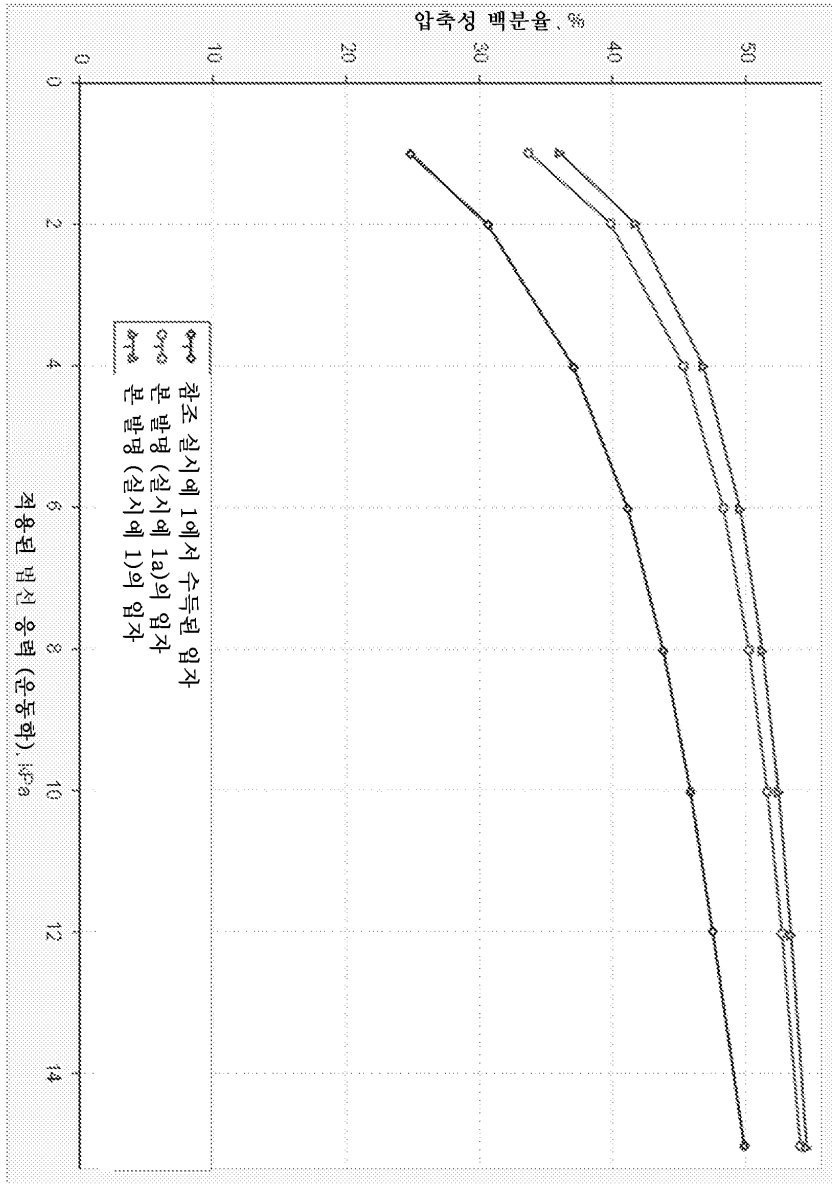
도면8



도면9



도면10



도면11

