(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년10월18일
(11) 등록번호 10-1787784
(24) 등록일자 2017년10월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07D 239/48 (2006.01) *A61K 31/497* (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01) *C07D 403/10* (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-7017618
(22) 출원일자(국제) 2010년12월06일
심사청구일자 2015년12월01일
(85) 번역문제출일자 2012년07월06일
(65) 공개번호 10-2013-0028045
(43) 공개일자 2013년03월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2010/059108
(87) 국제공개번호 WO 2011/071821
국제공개일자 2011년06월16일
(30) 우선권주장
61/267,155 2009년12월07일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020070048139 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
(72) 발명자
베르크하우젠, 요르크
스위스 체하-4002 바젤 포스트파호 베르크 클라이벡 노파르티스 파마 아게
카파, 프라새드, 코테스와라
미국 07936 뉴저지주 이스트 하노버 원 헬쓰 플라자 노바티스
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 위혜숙

전체 청구항 수 : 총 17 항 심사관 : 이형준

(54) 발명의 명칭 **3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아의 결정질 형태 및 그의 염**

(57) 요 약

본 발명은 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아의 신규한 무수 및 수화된 결정질 형태, 그의 일인산 염의 무정형 및 무수 결정질 다형체, 및 그의 이수화물을 포함하는 히드로클로라이드 염을 제공한다. 본 발명은 추가로 다양한 형태의 제조 방법, 그들을 함유하는 조성물, 및 그들을 사용하는 치료 방법을 제공한다.

(72) 발명자

맥켄나, 조셉

미국 07936 뉴저지주 이스트 하노버 원 헬쓰 플라자 노바티스

슬레이드, 조엘

미국 07936 뉴저지주 이스트 하노버 원 헬쓰 플라자 노바티스

우, 래안

미국 07936 뉴저지주 이스트 하노버 원 헬쓰 플라자 노바티스

두, 젱밍

미국 07936 뉴저지주 이스트 하노버 원 헬쓰 플라자 노바티스

스토바써, 프랑크

스위스 체하-4002 바젤 포스트파호 베르크 클라이벡 노파르티스 파마 아게

명 세 서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

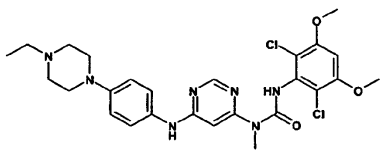
청구항 7

삭제

청구항 8

화학식 I의 화합물의 일인산 염.

<화학식 I>



청구항 9

제8항에 있어서, 무수 결정질 일인산 염인 일인산 염.

청구항 10

제9항에 있어서, 2Θ로 나타내어지는 15° ±0.4° 에서의 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 형태 A를 갖는 무수 결정질 일인산 염.

청구항 11

제10항에 있어서, X-선 분말 회절 패턴이 2Θ로 나타내어지는 13.7° ±0.4° , 16.8° ±0.4° , 21.3° ±0.4° 및 22.4° ±0.4° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로 포함하는 것인 형태 A의 무수 결정질 일인산 염.

청구항 12

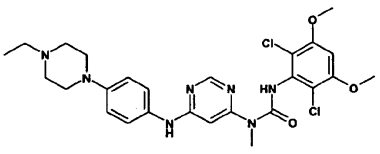
제11항에 있어서, X-선 분말 회절 패턴이 2Θ로 나타내어지는 9.2° ±0.4° , 9.6° ±0.4° , 18.7° ±0.4° , 20.0° ±0.4° , 22.9° ±0.4° 및 27.2° ±0.4° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로

포함하는 것인 형태 A의 무수 결정질 일인산 염.

청구항 13

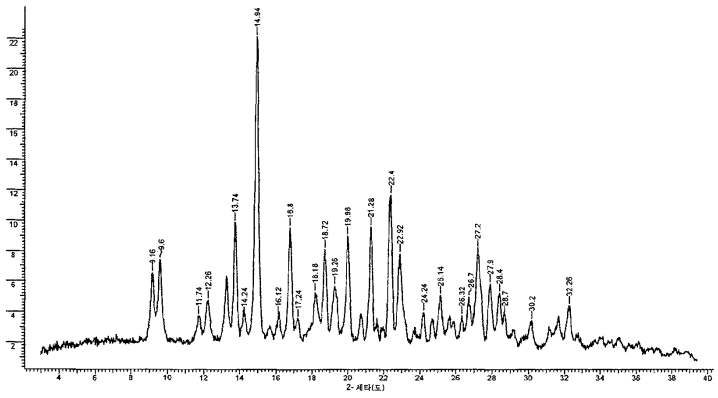
2Θ로 나타내어지는 13.7° ±0.4° , 15° ±0.4° , 16.8° ±0.4° , 21.3° ±0.4° 및 22.4° ±0.4° 에서의 피크로부터 선택된 3개 이상의 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는, 화학식 I의 화합물의 일인산 염의 무수 결정질 형태 (형태 A).

<화학식 I>



청구항 14

제13항에 있어서, 하기에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 무수 결정질 형태.

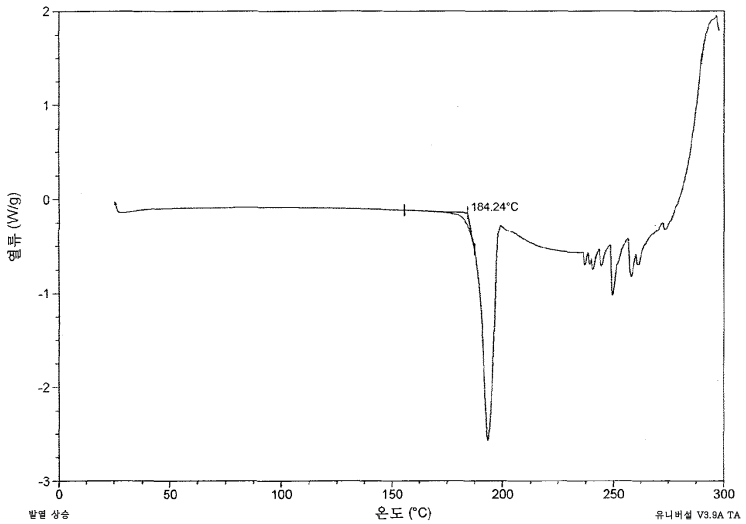


청구항 15

제13항에 있어서, 184℃에서 흡열의 개시를 나타내는 시차 주사 열량측정법 온도기록도를 갖는 무수 결정질 형태.

청구항 16

제9항에 있어서, 하기에 도시된 바와 같은 시차 주사 열량측정법 온도기록도를 갖는 무수 결정질 일인산 염.

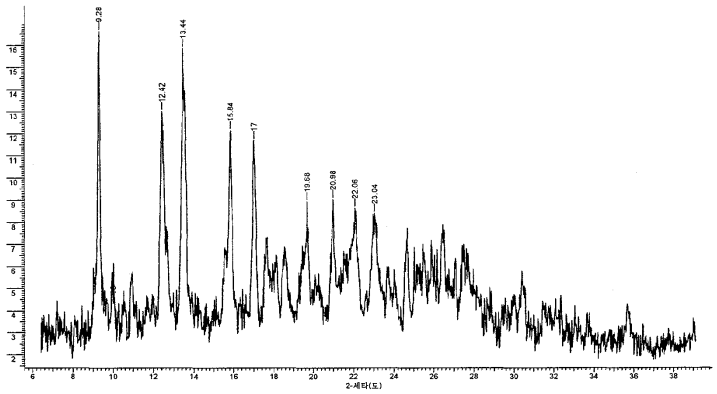


청구항 17

제9항에 있어서, 2Θ로 나타내어지는 9.3° ±0.4° , 12.5° ±0.4° , 13.4° ±0.4° , 15.8° ±0.4° 및 17° ±0.4° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 형태 B를 갖는 무수 결정질 일인산 염.

청구항 18

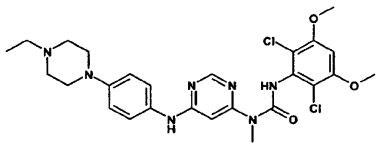
제17항에 있어서, 하기에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 무수 결정질 일인산 염.



청구항 19

화학식 I의 화합물의 일인산 염의 무정형 형태.

<화학식 I>



청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

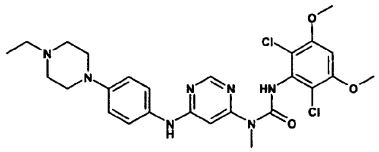
청구항 22

삭제

청구항 23

화학식 I의 화합물의 현탁액을 인산과 접촉시켜 무수 결정질 형태 A를 수득하는 것을 포함하는, 제10항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 무수 결정질 형태 A의 제조 방법.

<화학식 I>



청구항 24

제23항에 있어서, 무수 결정질 형태 A를 현탁액으로부터 결정화하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 화학식 I의 화합물의 현탁액이 이소프로판올을 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제23항에 있어서, 결정화된 무수 결정질 형태 A를 단리하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 27

치료 유효량의 제8항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 염 또는 결정질 또는 무정형 형태를 포함하는, 질환을 치료하기 위한 제약 조성물로서, 상기 질환의 병리상태 또는 증상은 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KDR, HER1, HER2, Bcr-Abl, Tie2, 및 Ret로 이루어진 군으로부터 선택되는 키나제 활성의 억제에 의해 예방, 억제 또는 호전될 수 있고, 상기 질환은 신장, 간, 부신, 방광, 유방, 위, 난소, 결장, 직장, 전립선, 췌장, 폐, 질 또는 갑상선의 암종; 육종; 교모세포종; 백혈병; 경부 또는 두부의 종양; 건선; 전립선 비대증; 및 신생물로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

발명의 설명

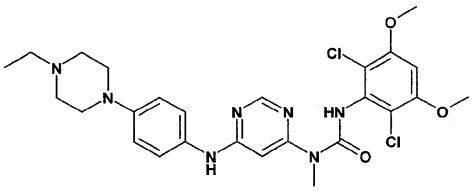
기 술 분 야

[0001] 본 발명은 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아의 무수 다형체, 수화된 다형체 및 무정형 형태, 그의 염, 그의 제조 방법, 그를 함유하는 조성물, 및 그를 사용하는 치료 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아 (2005년 6월 23일에 출원되고, 그 전문이 본원에 참고로 포함된 USSN 11/570983에 기재됨)는 화학식 I의 구조를 갖는다.

[0003] <화학식 I>

[0004] 

[0005] 화학식 I의 화합물은 단백질 키나제 억제제이고 단백질 키나제에 의해 매개된 증식성 질환의 치료에 유용하다. 특히, 화학식 I의 화합물은 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KDR, HER1, HER2, Bcr-Abl, Tie2, 및 Ret 키나제를 억제한다. 따라서 이는 AML, 멜라닌세포 신생물, 유방암, 결장암, 폐암 (특히 소세포 폐암), 전립선의 암 또는 카포시 육종을 포함하는 암의 치료에 유용하다.

[0006] 특정한 약물의 활성 제약 성분 (API)의 결정질 형태가 흔히 약물의 제조 용이성, 흡습성, 안정성, 용해도, 저장 안정성, 제형화의 용이성, 위장액에서의 용해 속도(dissolution rate) 및 생체내 생체이용률(bioavailability)의 중요한 결정인자라는 것은 주지된 사실이다. 결정질 형태는 동일한 조성의 물질이 상이한 격자 배열로 결정화하는 경우 일어나고 결과적으로 특정한 결정질 형태에 고유한 상이한 열역학적 특성 및 안정성이 생성된다. 결정질 형태는 또한 동일한 화합물의 상이한 수화물 또는 용매화물을 포함할 수 있다. 어떠한 형태가 바람직한지를 결정하는데 있어서, 형태의 수많은 특성이 비교되고 바람직한 형태는 다수의 물리적 특성 변수에 근거하여 선택된다. 특정 측면, 예컨대 제조의 용이성, 안정성 등이 중대하게 여겨지는 일부 상황에서 한 형태가 바람직할 수 있다는 것은 전적으로 가능하다. 다른 상황에서, 더 큰 용해 속도 및/또는 우수한 생체이용률 때문에 상이한 형태가 바람직할 수 있다. 특정한 화합물 또는 화합물의 염이 다형체를 형성할 것인지의 여부, 임의의 이러한 다형체가 치료용 조성물에서 상업적인 용도에 적합할 것인지의 여부, 또는 어떠한 다형체가 그러한 바람직한 특성을 나타낼 것인지를 예측하는 것은 아직 가능하지 않다.

발명의 내용

[0007] 개요

[0008] 본원은 화학식 I의 화합물의 결정 및 무정형 형태, 상기 결정 및 무정형 형태를 포함하는 조성물, 및 상기 결정 및 무정형 형태 및 조성물의 제조 방법을 제공한다. 본 발명은 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KDR, HER1, HER2, Bcr-Abl, Tie2, 및 Ret 키나제로부터 선택되는 키나제 활성의 억제에 의해 예방, 억제 또는 호전될 수 있는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는 다양한 질환을 치료하기 위하여 화학식 I의 화합물의 결정 또는 무정형 형태 및 그의 조성물을 사용하는 방법을 추가로 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0009] 도 1a 내지 e. 화학식 I의 화합물의 유리 염기 (도 1a) 및 그의 포스페이트 염: 형태 A (도 1b); 및 형태 B (도 1c), 유리 염기 일수화물 (도 1d), 및 히드로클로라이드 이수화물 (도 1e)의 XRPD.

도 2a 및 2b. 무수 유리 염기로서 (도 2a) 및 포스페이트 염으로서 (형태 A, 도 2b) 화학식 I의 화합물에 대한 DSC 온도기록도(thermogram).

도 3a 내지 3c. 무수 유리 염기로서 (도 3a), 포스페이트 염으로서 (형태 A, 도 3b), 및 히드로클로라이드 염으로서 (이수화물, 도 3c) 화학식 I의 화합물에 대한 TGA 온도기록도.

도 4a 내지 4c. DVS에 의해 25℃에서 수집된, 무수 유리 염기로서 (도 4a), 포스페이트 염으로서 (형태 A, 도 4b) 및 일수화물 유리 염기로서 (도 4c) 화학식 I의 화합물에 대한 흡착-탈착 등온선.

도 5a 및 5b. 결정질 유리 염기로서 (도 5a) 및 포스페이트 염으로서 (형태 A, 도 5b) 화학식 I의 화합물의 SEM 현미경 사진.

도 6. 화학식 I의 화합물의 포스페이트 염 (형태 A)의 FT-IR-스펙트럼.

도 7. 유리 염기 일수화물의 DSC 및 TGA 온도기록도.

도 8a 및 8b. 무수 유리 염기로서 (도 8a) 및 유리 염기의 일수화물로서 (도 8b) 화학식 I의 화합물의 라만 (Raman) 스펙트럼.

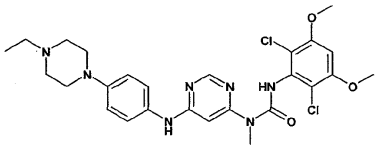
도 9. 화학식 I의 화합물의 유리 염기 일수화물 형태의 기본 셀(elementary cell)의 단결정 X-선 구조.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0010] 상세한 설명

[0011] 한 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 무수 및 수화된 결정질 형태 (유리 염기) 및 그의 포스페이트 염을 제공한다.

[0012] <화학식 I>

[0013] 

[0014] 한 실시양태에서, 본 발명은 2Θ 항에서 약 12° 에서 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 유리 염기의 무수 결정질 형태를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 10.5° , 약 15.2° , 약 19.5° , 및 약 21.0° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로 포함한다. 따라서, 유리 염기의 무수 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 10.5° , 약 12.0° , 약 15.2° , 약 19.5° , 및 약 21.0° 에서의 피크로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 특징적 피크를 포함할 수 있다. X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 11.9° , 약 21.3° , 및 약 22.6° 에서의 피크로부터 선택된 1, 2 또는 3개의 추가의 특징적 피크를 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 실질적으로 도 1a에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약" 및 "실질적으로"는, 2Θ의 값과 관련하여, 개별적인 피크에 대한 이러한 값이 ±0.4° 만큼 변할 수 있다는 것을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 개별적인 피크에 대한 2Θ의 값은 ±0.2° 만큼 변할 수 있다.

[0015] 유리 염기의 무수 결정질 형태는 열적으로 특성화될 수 있다. 한 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 약 217℃에서 흡열의 개시를 나타내는 시차 주사 열량측정법 (DSC) 온도기록도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 실질적으로 도 2a에 도시된 바와 같은 시차 주사 열량측정법 온도기록도를 갖는다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약" 및 "실질적으로"는 흡열, 발열, 기준선 변경 등과 같은 특질과 관련하여, 이들의 값이 ±2℃로 변할 수 있다는 것을 나타낸다. DSC의 경우, 관찰된 온도에서의 변동은 온도의 변화율 뿐만 아니라 샘플 제조 기법 및 사용된 특정한 기기에 의존할 것이다. 따라서, DSC 온도기록도와 관련하여 본원에 보고된 값은 ±4℃로 변할 수 있다.

[0016] 유리 염기의 무수 결정질 형태는 라만 분광분석법에 의해 또한 특성화될 수 있다. 한 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 약 2950, 약 1619, 약 1539, 약 1297, 약 1233, 약 1191, 및 약 998 cm^{-1}에서 특징적 라만 피크를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 약 3067, 약 2927, 약 2828, 약 1690, 약 1585, 약 1458, 약 1385, 약 1358, 약 1098, 약 1062, 약 819, 약 778, 약 695, 약 668, 약 637, 약 498, 약 468, 및 약 420 cm^{-1}에서 하나 이상의 추가의 특징적 라만 피크를 나타낸다. 또 다른 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 실질적으로 도 8a에 도시된 바와 같은 라만 스펙트럼을 갖는다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약" 및 "실질적으로"는, 파수 값과 관련하여, 개별적인 피크에 대한 이러한 값이 ±2 cm^{-1}만큼 변할 수 있다는 것을 나타낸다.

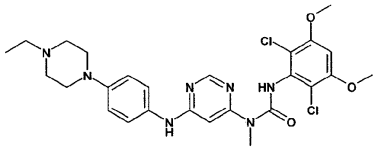
[0017] 한 측면에서, 본 발명은 2Θ 항에서 약 20.3° 에서 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 유리 염기의 결정질 일수화물을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 21.2° 및 19° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 4.7° , 약 9.4° , 및 약 11.0° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로 포함한다. 따라서, 유리 염기의 일수화물 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 4.7° , 약 9.4° , 약 11.0° , 약 18.8° , 약 20.3° , 및 약 21.2° 에서의 피크로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 특징적 피크를 포함할 수 있다. 유리 염기의 일수화물 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 11.8° , 약 15.3° , 약 16.2° , 약 19.1° , 약 22.3° , 약 22.8° , 및 약 25.3° 에서의 피크로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 특징적 피크를 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 유리 염기의 결정질 일수화물 형태는 실질적으로 도 1d에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는다.

[0018] 유리 염기의 결정질 일수화물 형태는 열적으로 특성화될 수 있다. 한 실시양태에서, 유리 염기의 결정질 일수화물 형태는 약 211℃에서 흡열의 개시를 나타내는 DSC 온도기록도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 유리 염기의 결정질 일수화물 형태는 실질적으로 도 7에 도시된 바와 같은 DSC 온도기록도 및/또는 TGA 온도기록도를 갖는다. 도 7의 TGA 온도기록도는, 샘플 질량 6.7 mg으로부터 약 0.2 mg의 감소, 또는 3.1%의 중량 감소를 기준으로, 물 분자 (분자량 18)가 일수화물로부터 손실된다는 것 (분자량 578; 및 18/578x100 = 3.1%)을 나타낸다.

[0019] 유리 염기의 일수화물 결정질 형태는 라만 분광분석법에 의해 또한 특성화될 수 있다. 한 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 약 2957, 약 2831, 약 1618, 약 1511, 약 1465, 약 1361, 약 1229, 약 1186, 및 약 994 cm^{-1}에서 특징적 라만 피크를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 유리 염기의 무수 결정질 형태는 약 1580, 약 1415, 약 1312, 약 1284, 약 1184, 약 1057, 약 854, 약 721, 약 661, 및 약 624 cm^{-1}에서 추가의 특징적 라만 피크를 나타낸다. 또 다른 실시양태에서, 유리 염기의 일수화물 결정질 형태는 실질적으로 도 8b에 도시된 바와 같은 라만 스펙트럼을 갖는다.

[0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 무수 결정질 일인산 염 (또는 포스페이트)을 제공한다.

[0021] <화학식 I>

[0022] 

[0023] 또 다른 실시양태에서, 무수 결정질 일인산 염은 2Θ 항에서 약 15° 에서 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 형태 A이다. 또 다른 실시양태에서, X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 13.7° , 약 16.8° , 약 21.3° 및 약 22.4° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 9.2° , 약 9.6° , 약 18.7° , 약 20.0° , 약 22.9° , 및 약 27.2° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 화학식 I의 화합물의 일인산 염 (또는 포스페이트 염)의 무수 결정질 형태 (형태 A)는 2Θ 항에서 약 13.7° , 약 15° , 약 16.8° , 약 21.3° 및 약 22.4° 에서의 피크로부터 선택된 3개 이상의 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는다. 따라서, 포스페이트 염의 형태 A에 대한 X-선 분말 회절 패턴은 2Θ 항에서 약 9.2° , 약 9.6° , 약 13.7° , 약 15° , 약 16.8° , 약 18.7° , 약 20.0° , 약 21.3° 및 약 22.4° , 약 22.9° , 및 약 27.2° 에서의 피크로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 11개의 특징적 피크를 추가로 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 포스페이트 염의 무수 결정질 형태 (형태 A)는 실질적으로 도 1b에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는다.

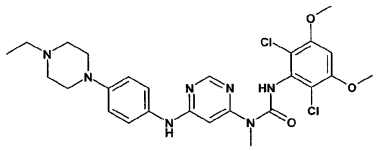
[0024] 포스페이트 염의 무수 결정질 형태 (형태 A)는 열적으로 특성화될 수 있다. 한 실시양태에서, 포스페이트 염의 무수 결정질 형태 (형태 A)는 약 184℃에서 흡열의 개시를 나타내는 시차 주사 열량측정법 온도기록도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 포스페이트 염의 무수 결정질 형태 (형태 A)는 실질적으로 도 2b에 도시된 바와 같은 시차 주사 열량측정법 온도기록도를 갖는다.

[0025] 또 다른 측면에서, 본 발명은 2Θ 항에서 약 9.3° , 약 12.5° , 약 13.4° , 약 15.8° , 및 약 17° 에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 갖는 형태 B의 무수 결정질 일인산

염을 제공한다. 한 실시양태에서, 포스페이트 염의 형태 B는 실질적으로 도 1c에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는다.

[0026] 한 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 일인산 염의 무정형 형태를 제공한다.

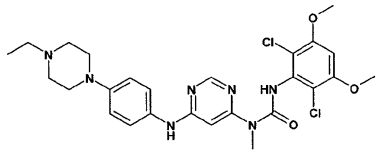
[0027] <화학식 I>

[0028] 

[0029] 화학식 I의 화합물의 일인산 염의 무정형 형태의 XRPD는 특징적 피크를 나타내지 않는다. 어떠한 겉보기(apparent) 유리 전이도 무정형 형태에 대한 DSC에 의해 관찰되지 않았지만, TGA 동안, 샘플은 결정질 포스페이트 염의 형태 A보다 훨씬 더 낮은 약 115℃에서 분해되기 시작하였다.

[0030] 또 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 염산 염 (또는 히드로클로라이드)을 제공한다:

[0031] <화학식 I>

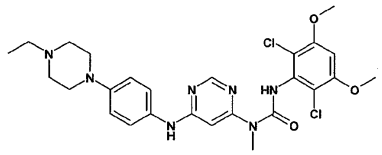
[0032] 

[0033] 한 실시양태에서, 히드로클로라이드 염은 결정질 이수화물이다. 이 이수화물은 2Θ 항에서 약 10.9°, 약 12.1°, 약 14.8°, 약 20.5°, 약 22°, 및 약 25.1°에서의 피크로부터 선택된 하나 이상의 특징적 피크를 포함하는 X-선 분말 회절 패턴을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 히드로클로라이드 염은 실질적으로 도 1e에 도시된 바와 같은 X-선 분말 회절 패턴을 갖는다.

[0034] 본 발명의 결정질 형태를 특성화하기 위한 상기 기재된 기법 이외에, XRPD, 단결정 X-선 회절, DSC, 동적 증기 흡착 (DVS), 결정 형태학, 고체 상태 핵 자기 공명, 라만 산란, 적외선 (IR) 분광분석법이 또한 본 발명의 다른 결정질 또는 무정형 형태의 특성화에 유용할 수 있다.

[0035] 또 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물 (유리 염기)의 현탁액을 인산과 접촉시켜 형태 A의 포스페이트 염의 무수 결정질 형태를 수득하는 것을 포함하는, 형태 A의 포스페이트 염의 무수 결정질 형태의 제조 방법을 제공한다.

[0036] <화학식 I>

[0037] 

[0038] 한 실시양태에서, 화학식 I의 화합물의 현탁액은 이소프로판올을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 형태 A의 포스페이트 염의 무수 결정질 형태를 현탁액으로부터 결정화하는 것을 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 방법은 결정화된 무수 결정질 형태 A를 단리하는 것을 추가로 포함한다.

[0039] 방법의 특정 실시양태에서, 접촉된 인산은 접촉된 유리 염기의 몰량에 대하여, 약 1 당량 내지 약 10 당량, 약 2 당량 내지 약 9 당량, 약 3 당량 내지 약 8 당량, 또는 약 4 당량 내지 약 7 당량의 양으로 존재한다. 다른 실시양태에서, 접촉된 인산은 접촉된 유리 염기의 몰량에 대하여 약 2 당량 내지 약 4 당량의 양으로 또는 약 3 당량으로 존재한다. 특정 실시양태에서, 유리 염기의 현탁액 및 인산을 약 2 h 내지 약 40 h, 약 4 h 내지 약 20 h, 또는 약 8 h 내지 약 10 h 반응시키거나 접촉시킨다. 특정 실시양태에서, 유리 염기 및 인산을 약 25℃ 내지 약 100℃, 약 40℃ 내지 약 85℃, 또는 약 55℃ 내지 약 70℃의 범위의 온도에서 반응시킨다. 특정 실시양태에서, 유리 염기 및 인산을 반응 환류에서 용매가 사용되는 온도에서 반응시킨다. 특정 실시양태에서, 반응을 실질적으로 물을 함유하지 않는 (즉, 거의 완전히 물을 함유하지 않는) 반응물 및 하나 이상의 용매를 사

용하여 수행한다.

[0040] 본 발명의 방법에 의해 수득된 형태 A의 포스페이트 염의 무수 결정질 형태를 예를 들어 건조, 정제 등과 같은 단계에 추가로 적용시킬 수 있다. 단리된 결정을 적합한 온도에서 건조에 적용시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 결정을 약 20℃ 내지 약 80℃의 범위의 온도에서 건조시킨다. 일부 실시양태에서, 결정을 약 30℃ 내지 약 70℃의 범위의 온도에서 건조시킨다. 일부 실시양태에서, 결정을 약 40℃ 내지 약 60℃의 범위의 온도에서 건조시킨다. 한 실시양태에서, 결정을, 예를 들어 약 10 mbar 내지 약 40 mbar의 범위로 감압하에 건조시킨다. 건조 단계를 적합한 시간의 기간 동안 수행할 수 있다. 따라서 한 실시양태에서, 결정을 약 1 내지 약 72시간, 약 2 내지 약 36시간 또는 약 4 내지 약 18시간의 기간 동안 건조시킨다. 일부 실시양태에서, 결정을 약 48 h 동안 건조시킨다.

[0041] 화학식 I의 화합물의 포스페이트 염을 사용하여 유리 염기의 일수화물을 제조할 수 있다. 예를 들어, 포스페이트 염을 수성 수산화암모늄과 같은 무기 염기의 수용액에 용해시킬 수 있다. 시간이 흐르면서, 유리 염기가 결정질 일수화물로서 침전된다. 임의로, 여과, 세척 및 건조와 같은 추가의 단계를 사용하여, 결정질 유리 염기 일수화물을, 포스페이트 염을 상기 기재된 바와 같이 단리하였던 그대로, 단리할 수 있다.

[0042] 본 발명의 결정질 형태를 실질적으로 순수한 형태로 단리할 수 있다. "실질적으로 순수한"이란 50 중량% 초과의 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아가 본원에 개시된 결정질 형태 중 하나로 존재한다는 것을 의미한다. 본 발명의 단리되거나 실질적으로 순수한 결정질 형태의 일부 실시양태에서, 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아는 명시된 형태의 약 60 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상으로 존재한다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 발명은 유리 염기의 포스페이트 염을 제공하고 여기서 유리 염기의 전체 포스페이트 염의 약 50 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 형태 A, 형태 B 또는 무정형 형태로서 존재한다. 다른 실시양태에서, 본 발명은 유리 염기를 전체 유리 염기의 약 50 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80% 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 결정질 무수 유리 염기, 유리 염기의 결정질 일수화물, 또는 유리 염기의 무정형 형태로서 존재하는 정도로 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유리 염기의 히드로클로라이드 염을 제공하고 여기서 전체의 약 50 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 히드로클로라이드 염의 무정형 또는 결정질 이수화물 형태이다.

[0043] 본 발명은 본원에 기재된 바와 같은 특정 질환을 치료하기 위하여 본 발명의 (예를 들어, 그의 유리 염기, 포스페이트 염 또는 히드로클로라이드 염의) 하나 이상의 무수 또는 수화된 결정질 또는 무정형 형태를 제약상 허용되는 담체, 부형제, 결합제, 희석제 등과 혼합하여 제조될 수 있는 제약 조성물 및 의약을 또한 제공한다.

[0044] 따라서, 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 무수 또는 수화된 결정질 형태 또는 무정형 형태 및 제약상 허용되는 담체, 부형제, 및/또는 희석제를 포함하는 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 무수 결정 형태는 유리 염기로서의 화학식 I의 화합물이다. 한 실시양태에서, 수화된 결정 형태는 유리 염기로서의 화학식 I의 화합물의 일수화물이다. 또 다른 실시양태에서, 무수 결정질 형태는 화학식 I의 화합물의 일인산 염이다. 또 다른 실시양태에서, 일인산 염의 무수 결정질 형태는 형태 A이다. 또 다른 실시양태에서, 일인산 염의 무수 결정질 형태는 형태 B이다. 한 실시양태에서, 화학식 I의 화합물의 일인산 염은 무정형이다. 또 다른 실시양태에서, 형태는 화학식 I의 화합물의 히드로클로라이드 염이다. 실례가 되는 실시양태에서, 히드로클로라이드 염은 결정질 이수화물 또는 무정형 형태이다.

[0045] 이러한 조성물은, 예를 들어 과립, 분말, 정제, 캡슐, 시럽, 좌제, 주사액, 에멀젼, 엘릭시르, 현탁액 또는 용액의 형태일 수 있다. 한 실시양태에서, 조성물은 실질적으로 물을 함유하지 않는다. 본 조성물은 예를 들어 경구 및 비경구 투여에 의한 다양한 투여 경로를 위해 제형화될 수 있다. 비경구 또는 전신 투여는 피하, 정맥내, 복강내, 및 근육내 주사를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 하기 투여 형태는 예로서 제시되고 본 발명을 제한하는 것으로서 해석되어서는 안된다.

[0046] 주사용 투여 형태는 일반적으로, 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 제조할 수 있는 오일 현탁액 또는 수성 현탁액을 포함한다. 주사가능 형태는 용매 또는 희석제를 사용하여 제조되는, 용액 상이거나 현탁액의 형태일 수 있다. 허용되는 용매 또는 비히클은 멸균수, 링거액, 또는 등장성 생리식염 수용액을 포함한

다. 특정 실시양태에서, 이러한 수성 주사가능 형태는 대상체에게 투여하기 직전에 제조된다 (또는 재구성된다). 별법으로, 멸균 오일을 용매 또는 현탁화제로서 사용할 수 있다. 전형적으로, 오일 또는 지방산은 비-휘발성이고, 이는 천연 또는 합성 오일, 지방산, 모노-, 디- 또는 트리-글리세리드를 포함한다.

[0047] 주사용으로, 제약 조성물 및/또는 의약은 상기 기재된 바와 같이 적절한 용액을 사용한 재구성에 적합한 분말일 수 있다. 이들의 예는, 동결 건조된, 회전식 건조된 또는 분무 건조된 분말, 무정형 분말, 과립, 침전물, 또는 미립자를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 주사용으로, 제약 조성물은 임의로 안정화제, pH 조절제, 계면활성제, 생체이용률 조절제 및 이들의 조합물을 함유할 수 있다.

[0048] 경구, 협측, 및 설하 투여용으로, 분말, 현탁액, 과립, 정제, 환제, 캡슐, 젤캡, 및 캐플릿이 고체 투여 형태로서 허용된다. 이들은, 예를 들어 본 발명의 하나 이상의 무수 결정질 형태를 하나 이상의 첨가제, 예컨대 전분 또는 기타첨가제와 혼합하여 제조될 수 있다. 적합한 첨가제는 수크로스, 락토스, 셀룰로스 당, 만니톨, 말티톨, 덱스트란, 전분, 한천, 알기네이트, 키틴, 키토산, 펙틴, 트라가칸트 고무, 아라비아 고무, 젤라틴, 콜라겐, 카제인, 알부민, 합성 또는 반-합성 중합체 또는 글리세리드이다. 임의로, 경구 투여 형태는 투여를 보조하는 기타 성분, 예컨대, 비활성 희석제, 또는 윤활제, 예컨대 스테아르산마그네슘, 또는 보존제, 예컨대 파라벤 또는 소르브산, 또는 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 토코페롤 또는 시스테인, 붕해제, 결합제, 증점제, 완충제, 감미제, 향미제 또는 방향제를 함유할 수 있다. 정제 및 환제는 당 분야에 알려진 적합한 코팅 물질로 추가로 처리될 수 있다.

[0049] 경구 투여용 액체 투여 형태는, 불활성 희석제, 예컨대 물을 함유할 수 있는, 제약상 허용되는 에멀젼, 시럽, 엘릭시르, 현탁액, 및 용액의 형태일 수 있다. 제약 조성물 및 의약은, 멸균 액체, 예컨대 이로 제한되지 않지만 오일, 물, 알콜, 및 이들의 조합물을 사용하는 액체 현탁액 또는 용액으로서 제조될 수 있다. 제약상 적합한 계면활성제, 현탁화제, 유화제를 경구 또는 비경구 투여용으로 가할 수 있다. 특정 실시양태에서, 특히 유리 염기 모노포스페이트 염의 결정질 형태의 액체 투여 형태는 실질적으로 물을 함유하지 않는다.

[0050] 상술한 바와 같이, 현탁액은 오일을 포함할 수 있다. 이러한 오일은 땅콩 오일, 참깨 오일, 목화씨 오일, 옥수수 오일 및 올리브 오일을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 현탁액 제제는 또한 지방산의 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트, 이소프로필 미리스테이트, 지방산 글리세리드 및 아세틸화 지방산 글리세리드를 함유할 수 있다. 제약 조성물의 현탁액은 알콜, 예컨대 에탄올, 이소프로필 알콜, 헥사데실 알콜, 글리세롤 및 프로필렌 글리콜을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지 않는다. 에테르, 예컨대 이에 제한되지 않지만 폴리(에틸렌글리콜), 석유 탄화수소, 예컨대 광유 및 페트롤라텀; 및 물을 또한 현탁액 제약 조성물에 사용할 수 있다.

[0051] 상기 기재된 그러한 대표적인 투여 형태 이외에, 제약상 허용되는 부형제 및 담체는 당업자에게 일반적으로 알려져 있고 따라서 본 발명에 포함된다. 이러한 부형제 및 담체는 예를 들어, 문헌 ["Remingtons Pharmaceutical Sciences" Mack Pub. Co., New Jersey (1991)]에 기재되어 있고, 이 문헌은 본원에 참고로 포함된다.

[0052] 본 발명의 제약 조성물은 하기 기재된 바와 같이 단기 작용형, 신속 방출형, 장기 작용형, 및 지속 방출형으로 고안될 수 있다. 따라서, 제약 조성물은 조절 방출용 또는 서방출용으로 또한 제조될 수 있다.

[0053] 본 조성물은 장기(prolonged) 저장 및/또는 전달 효과를 제공하는 연장 방출성(extended release) 형태로 투여될 수 있다. 따라서, 제약 조성물 및 의약은 펠릿 또는 실린더 내로 압축되고 근육내 또는 피하로 데포 주사(depot injection)로서 또는 스텐트와 같은 이식물(implant)로서 이식될 수 있다. 이러한 이식물은 공지된 불활성 물질, 예컨대 실리콘 및 생분해성 중합체를 사용할 수 있다.

[0054] 구체적인 투여량은 대상체의 질환의 상태, 연령, 체중, 일반적인 건강 상태, 성별, 및 식이, 용량 간격, 투여 경로, 배출 속도, 및 약물의 조합에 의존하여 조정할 수 있다. 치료 유효량을 함유하는 상기 투여 형태의 어느 것이든 통상적인 실험의 영역 내에 충분히 속하고 따라서, 본 발명의 범주 내에 충분히 속한다.

[0055] 특정 다른 실시양태에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물의 유리 염기를 포함하는 조성물을 제공하고, 여기서 조성물 중 전체 유리 염기의 약 50 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80% 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 무수 형태로서, 또는 일수화물 형태로서 존재한다. 추가 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 유리 염기로 본질적으로 이루어지고, 여기서 유리 염기의 약 95% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이 조성물 중 무수 형태로서, 또는 일수화물 형태로서 존재한다.

[0056] 특정 다른 실시양태에서, 본 발명은 유리 염기의 포스페이트 염을 포함하는 조성물을 제공하고 여기서 조성물

중 유리 염기의 전체 포스페이트 염의 약 50 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80% 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 형태 A로서, 형태 B로서, 또는 무정형 형태로서 존재한다. 추가 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 유리 염기의 포스페이트 염으로 본질적으로 이루어지고, 여기서 유리 염기의 포스페이트 염의 약 95% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이 조성물 중 형태 A로서, 형태 B로서, 또는 무정형 형태로서 존재한다.

[0057] 일부 실시양태에서, 본 발명은 유리 염기의 히드로클로라이드 염을 포함하는 조성물을 제공하고 여기서 조성물 중 유리 염기의 전체 히드로클로라이드 염의 약 50 중량% 이상, 약 70 중량% 이상, 약 80% 중량% 이상, 약 90 중량% 이상, 약 95 중량% 이상, 약 97 중량% 이상, 약 98 중량% 이상, 또는 약 99 중량% 이상이 이수화물로서, 또는 무정형 형태로서 존재한다. 추가 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 유리 염기의 히드로클로라이드 염으로 본질적으로 이루어지고, 여기서 유리 염기의 포스페이트 염의 약 95% 이상, 약 97% 이상, 약 98% 이상, 또는 약 99% 이상이 조성물 중 이수화물로서, 또는 무정형 형태로서 존재한다.

[0058] 또 다른 측면에서, 본 발명은 질환의 병리상태 및/또는 증상이 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KDR, HER1, HER2, Bcr-Abl, Tie2, 및 Ret로 이루어진 군으로부터 선택되는 키나제 활성의 억제에 의해 예방, 억제 또는 호전될 수 있는 질환을 앓는 대상체에게 치료 유효량의 본 발명의 무수 또는 수화된 결정질 형태 또는 무정형 형태 또는 무수 또는 수화된 결정질 형태 또는 무정형 형태를 포함하는 조성물을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 대상체에서 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, KDR, HER1, HER2, Bcr-Abl, Tie2, 및 Ret의 키나제 활성이 질환의 병리상태 및/또는 증상의 원인이 되는 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 무수 또는 수화된 결정질 형태, 무정형 형태 또는 무수 또는 수화된 결정질 형태 또는 무정형 형태를 포함하는 조성물의 용도를 제공한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, 키나제는 FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0059] 본 발명의 맥락 내에서의 치료는 장애 또는 질환과 관련된 증상을 전반적으로 또는 부분적으로 경감시키거나, 그러한 증상의 추가적인 진행 또는 악화를 지연 또는 중단시키거나, 질환 또는 장애가 발병할 위험이 있는 대상체에서 질환 또는 장애를 예방 또는 방지하는 것을 의미한다. 이러한 질환 또는 장애는 신장, 간, 부신, 방광, 유방, 위, 난소, 결장, 직장, 전립선, 췌장, 폐, 질 또는 갑상선의 암종; 육종; 교모세포종; 백혈병; 경부 또는 두부의 종양; 건선; 전립선 비대증; 또는 신생물을 포함하지만, 이에 제한되지 않는다.

[0060] 예를 들어, 상기 기재된 바와 같은 키나제 매개 장애를 포함하는 질환을 치료하는 맥락 내에서, 성공적인 치료는 하나 이상의 상응하는 키나제의 수준 또는 활성을 감소시키는 것에 의해 측정된 바와 같이, 증상의 경감 또는 질환의 진행의 지연 또는 중단을 포함할 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "치료 유효량"은 치료되는 장애 또는 질환과 관련된 증상을 전반적으로 또는 부분적으로 경감시키거나,그 증상의 추가적인 진행 또는 악화를 지연 또는 중단시키거나, 질환 또는 장애가 발병할 위험이 있는 대상체에서 질환 또는 장애를 예방하거나 예방을 제공하는, 화학식 I의 화합물 (유리 염기 포함)의 무수 또는 수화된 결정질 형태 또는 무정형 형태, 또는 화학식 I의 화합물의 포스페이트 염의 무수 결정질 형태 또는 무정형 형태, 화학식 I의 화합물의 히드로클로라이드 염 (이수화물 또는 무정형 형태 포함) 또는 이들을 포함하는 조성물의 양을 지칭하는 것이다. 대상체는 본원에 개시된 바와 같은, 화학식 I의 화합물의 임의의 형태 또는 그를 포함하는 조성물의 투여로 인해 이익을 얻을 수 있는 임의의 동물이다. 일부 실시양태에서, 대상체는 포유동물, 예를 들어 인간, 영장류, 개, 고양이, 말, 소, 돼지, 예를 들어 래트 또는 마우스와 같은 설치류이다. 전형적으로, 포유동물은 인간이다.

[0061] 본 발명의 무수 또는 수화된 결정질 형태, 또는 무정형 형태, 또는 임의의 이러한 형태를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여 경로 및 투여 형태에 의존하여 변할 수 있다. 화학식 I의 화합물의 무수 또는 수화된 결정질 형태 또는 무정형 형태의 유효량은 전형적으로 약 0.01 내지 100 mg/kg/일의 범위, 더 전형적으로약 0.05 내지 25 mg/kg/일의 범위에 있다. 전형적으로, 본 발명의 무수 또는 수화된 결정질 형태, 무정형 형태 및 이러한 형태를 포함하는 조성물을 선택하여 높은 치료 지수를 나타내는 제약 조성물을 제공한다. 치료 지수는 LD_{50}과 ED_{50} 간의 비로서 표시될 수 있는 독성 효과와 치료 효과 간의 용량 비이다. LD_{50}은 개체군의 50%가 사망하는 용량이고 ED_{50}은 개체군의 50%에서 치료 효과가 있는 용량이다. LD_{50} 및 ED_{50}은 동물 세포 배양물 또는 실험 동물에서 표준 제약 절차에 의해 결정된다.

[0062] 본 명세서에서 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 허여된 특허, 및 기타 문서는, 각각의 개별 간행물, 특허 출원, 허여된 특허, 또는 기타 문서가 구체적으로 및 개별적으로 그 전문이 참고로 포함되는 것으로 명시된 것처럼 본원에 참고로 포함된다. 참고로 포함된 문헌에 포함된 정의는 이들이 본 발명 내용에서의 정의와 모순되는 한

배제된다.

[0063] 이렇게 일반적으로 기재된 본 발명은, 실례로서 제공되고 본 발명을 제한하고자 하는 것이 아닌 하기 실시예를 참조로 더 용이하게 이해될 것이다.

[0064] **실시예**

[0065] 화학 및 생물학 전문 용어에 대하여 하기 약어를 본 발명 내용 전반에 걸쳐 사용한다:

[0066] DCM: 디클로로메탄

[0067] DMSO: 디메틸술폭시드

[0068] DSC: 시차 주사 열량측정법

[0069] DVS: 동적 증기 흡착

[0070] ESI-MS: 정전 분무(Electrospray) 이온화-질량 분광분석법

[0071] FT-IR: 푸리에 변환-적외선

[0072] HPLC: 고성능 액체 크로마토그래피

[0073] IPA: 이소프로판올

[0074] M: 몰농도

[0075] MeOH: 메탄올

[0076] N HCl: 노르말 HCl

[0077] NMR: 핵 자기 공명 분광분석법

[0078] RH: 상대 습도

[0079] RT: 실온

[0080] SEM: 주사 전자 현미경검사

[0081] TGA: 열중량 분석

[0082] UV: 자외선

[0083] XRPD: X-선 분말 회절

[0084] **사용된 일반적인 방법, 기기, 및 표준**

[0085] **pH 값**

[0086] 용액의 pH를 예시한 바와 같이 결정하였다: 대략 10 mg의 유리 염기 또는 그의 염을 20 ml 바이알에 옮기고 10 ml의 상응하는 완충제 또는 물을 거기에 가하였다. pH를 측정하는 동안 용액을 계속 교반하였다. pH 측정을 다양한 방법, 예컨대 마이크로 pH 전극을 사용하여 수행할 수 있다.

[0087] **용해도의 결정**

[0088] 과잉 유리 염기 (화학식 I의 유리 염기), 그의 포스페이트 염 (유리 염기의 일인산 염), 또는 또 다른 산 염을 용매 중에서 1일 동안 25±0.5℃에서 평형화하였다. 생성된 슬러리를 여과하고 여과물을 HPLC에 의한 용해도 결정용으로 사용하였다.

[0089] **고유 용해**

[0090] 고유 용해 속도 측정을 0.5 cm^2 반켈(VanKel) 펀치 및 다이 어셈블리 중에서 2000 파운드의 펠릿 압력에서 수행하였다. 용해는 파이버 옵틱스 (fiber optics) 용해 시스템 (씨 테크놀로지 인코포레이티드(C technologies Inc.)) 및 캐리(Cary) UV/VIS 분광광도계를 사용하여 200 rpm의 교반 속도로 측정하였다. 용액 매질을 37±0.5℃에서 보유시키고 농도 측정을 260 nm에서 행하였다.

[0091] **흡습성**

[0092] 흡습성은 표면 측정 시스템 DVS-1을 사용하여 25±0.5℃에서 흡착/탈착 등온선으로부터 측정하였다. 샘플은 75%, 85%, 및 95%를 포함하는 다양한 습도에서 평가하였다.

[0093] **다형성 거동**

[0094] 샘플의 슬러리를 고속으로 24시간 동안 25±0.5℃에서 교반하고, 여과하고, 고체를 수집하고 XRPD에 의해 분석하였다.

[0095] **HPLC 방법**

[0096] 기기: 워터스(Waters); 칼럼: 대칭 C18, 3.5 마이크로미터 입자 직경, 4.6 x 75 mm; 칼럼 온도: 35도; 유량: 1 mL/분; 이동상: A = 물 중 0.1% TFA 및 B = 아세토니트릴; 검출: UV 254 nm; 주입량: 약 2 마이크로그램; 희석제: 60:40 (v/v) 아세토니트릴/0.2% 수성 인산; 및 구배: 10분에 걸쳐 10 내지 70% B.

[0097] **TG 방법**

[0098] 기기: TA 인스트루먼트(TA instrument) Q500; 온도 범위: 실온 내지 300℃; 스캔 속도: 10℃/분; 질소 흐름(nitrogen flow): 60 ml/분. 메틀러(Mettler) TGA 850; 온도 범위: 실온 내지 300℃; 스캔 속도: 20℃/분; 질소 흐름: 40 ml/분.

[0099] **SEM 방법**

[0100] 기기: 지올(Jeol) JSM 6300.

[0101] **DSC 방법**

[0102] 기기: TA 인스트루먼트 Q1000; 온도 범위: 실온 내지 210℃; 스캔 속도: 10℃/분; 질소 흐름: 60 mL/분.

[0103] **X-선 결정학적 방법**

[0104] 파인 포커스(fine focus) 밀폐 튜브 발생기(tube generator)로부터 흑연-단색화된 Cu(K_α)-방사선을 사용하고 스마트(SMART) 소프트웨어를 사용하는 스마트 6000 CCD 검출기를 갖춘 브루커(Bruker) AXS 3-써클 회절계. 데이터 프로세싱 및 셀 전체 정밀화(global cell refinement)를 세인트(Saint)로 수행하였다. 상이한 각도 설정에서 측정된 대칭-관련 반사의 강도를 기준으로, 반-실험적(semi-empirical) 흡수 보정을 적용하였다. 구조물을 쌍대 공간-재생 방법(dual space-recycling method) 및 후속 DF 합성에 의해 해결하고 SHELXTL 프로그램 스위트를 사용하여 F^2에 대한 풀-매트릭스(full-matrix) 최소 제곱법에 근거하여 정밀화하였다.

[0105] **XRPD 방법**

[0106] 기기: 브루커 D8 어드밴스(Advance); 조사: Cu Kα (30 kV, 40 mA); 가변 슬릿(varible slit) V12 mm; 스캔 범위 2 내지 40° (2 세타 값); 스캔 속도: 단계 당 0.3초. 별법으로, XDS2000 (신태그, 인코포레이티드(Scintag, Inc.) 공급)을 사용함; 조사: Cu Kα (45 kV, 40 mA); 발산 슬라이스(divergence slice): 3 mm 및 2 mm; 측정 슬라이스: 0.3 mm 및 0.2 mm; 초퍼 0.02 grd; 스캔 시간: 6분 (프레임 당 3분); 스캔 범위: 2° 내지 35° 또는 40° (2 세타 값); 스캔 속도: 0.5° /분 (2 세타 값).

[0107] **IR 방법**

[0108] 기기: 써모 마그나(Thermo Magna) 560; 방식: 투과; 스캔 범위: 4000 cm^{-1} 내지 600 cm^{-1}.

[0109] **라만 방법**

[0110] 기기: 브루커 버텍스(Bruker Vertex) 70 FTIR; APT: 3.5 mm; 64회 스캔; RES 2.

[0111] <u>염 스크리닝</u>

[0112] **실시예 1: 화학식 I의 유리 염기의 산 염 스크리닝.**

[0113] 염 스크리닝 실험을 화학식 I의 유리 염기 (하기 실시예 2에 기재된 바와 같이 제조) 및 다양한 상이한 산: 아세트산, 벤조산, 시트르산, 푸마르산, 히푸르산, 브로민화수소산, 염산, 락트산 (D,L), 말레산, 말산 (L), 말론산, 메탄술폰산, 인산, 나프탈렌-1,5-디술폰산, 인산, 숙신산, 황산, 타르타르산 (D), 및 타르타르산 (L)을 사용하여 수행하였다. 유리 염기 (30 mg)를 12 mL THF에 용해시켰다. 이 용액의 0.1 ml의 분취액을 96 웰 포맷 (진서 크리시 블록(Zinsser Crissy block)) 결정화 블록으로 분배하였다. 약 0.25 mg의 유리 염기를 각각의 웰

에 전달하였고; 아세톤 중 상응하는 산의 0.01 M 용액 0.044 ml를 또한 각각의 웰에 가하였다. 블록을 프리-슬릿 덮개(pre-slit lid)로 덮은 후 용매 혼합물을 약 10시간 동안 실온에서 증발시켰다.

[0114] 아세트산, 벤조산, 시트르산, 히푸르산, 락트산, 말레산, 및 말산을 사용한 시도에 의해 유리 염기 또는 무정형 고체의 것과 동일한 XRPD 패턴을 갖는 고체가 생성되었다. 푸마르산, 브로민화수소산, 나프탈렌-1,5-디술폰산, 황산, 또는 타르타르산을 사용한 경우 낮은 결정화도 고체가 수득되었다. 인산의 경우, 190 프루프 에탄올로부터 결정질 염 형태가 수득되었다. 결정화도 또는 궁극적인 합성 용이성으로 인해, 인산, 염산, 말론산, 메탄술폰산, 및 숙신산으로부터 형성된 고체를 결정화도 및 흡습성에 대하여 추가로 평가하였다.

[0115] 포스페이트 염은 매우 결정질인 것으로 밝혀졌다. DVS 흡착/탈착 등온선에 의해 평가된 바와 같은 흡습성은 95% RH에서 조차, 수분 흡수로 인한 중량 증가 (weight gain)가 2% 미만으로 관찰되는 것으로 나타냈다. 75% 및 85% RH에서는, 1% 미만의 중량 증가가 관찰되었다.

[0116] 히드로클로라이드 염의 경우, 하나 초과의 다형체의 존재를 나타내는 수개의 XRPD 패턴이 관찰되었다. 이들 염의 대부분은 낮은 결정화도를 가졌다. 이수화물이 가장 결정질인 것으로 확인되었다. 히드로클로라이드 염은 포스페이트 염 보다 더 흡습성이었다. 히드로클로라이드 염의 한 형태에서, 약 4.1% (75% RH) 내지 약 16.9% (95% RH)의 중량 증가가 DVS에 의해 관찰되었다.

[0117] 말로네이트 염의 경우, 그들의 관찰된 XRPD 패턴에 근거하여 4개의 형태가 확인되었다. 평가된 것 하나는 추가로, 부서지기 쉬운 결정이 단지 한번 제조되고, 습윤 패턴을 가지고, 흡습성이라는 것을 입증하였다 (시험된 모든 습도에서 약 10% 중량 증가).

[0118] 메탄 술폰산(또는 메실레이트) 염의 경우, 수개의 XRPD 패턴이 관찰되었고 그 중 단지 하나가 일관되게 제조될 수 있었지만 흡습성이었다 (DVS에 의해 약 2.6% 내지 10% 중량 증가를 나타냄). 유사하게, 숙시네이트 염도 흡습성이었다 (DVS에 의해 약 4.1% 내지 10% 중량 증가를 나타냄).

[0119] pH 3 완충제 및 물에서의 초기 용해도 시험의 결과를 표 1에 하기에 나타내었다. 포스페이트 염은 pH 3 완충제 및 물에서 메탄술포네이트, 말로네이트, 및 숙시네이트 염보다 더 가용성이었다. 포스페이트 염은 또한 유리 염기보다 물에 더 가용성이었다.

[0120] <표 1>

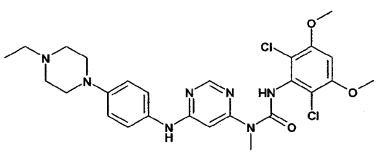
[0121]

염 유형/유리 염기	매질/용매	용해도 (mg/ml)
메탄술포네이트	pH3 완충제	0.003
말로네이트	pH3 완충제	0.003
숙시네이트	pH3 완충제	0.002
포스페이트	pH3 완충제	0.039
메탄술포네이트	물	0.87
말로네이트	물	0.92
숙시네이트	물	0.27
포스페이트	물	1.7
유리 염기	pH3 완충제	0.20
유리 염기	물	0.001

[0122] **화학적 합성**

[0123] **실시예 2: 화학식 I의 화합물의 유리 염기의 제조**

[0124] <화학식 I>

[0125] 

[0126] A. N-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐]-N'-메틸-피리미딘-4,6-디아민

[0127] 4-(4-에틸피페라진-1-일)-아닐린 (1 g, 4.88 mmol), (6-클로로-피리미딘-4-일)-메틸-아민 (1.81 g, 12.68

mmol, 1.3 당량), 및 디옥산 중 4 N HCl (15 ml)의 혼합물을 밀봉된 튜브 중에서 5 h 동안 150℃로 가열하였다. 반응 혼합물을 농축하고, DCM 및 중탄산나트륨의 포화 수용액으로 희석하였다. 수성 층을 분리하고 DCM으로 추출하였다. 유기 상을 염수로 세척하고, 건조시키고 (황산나트륨), 여과하고 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM/MeOH, 93:7)로 정제한 다음, 디에틸 에테르에서 연화처리하여 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다: ESI-MS: 313.2 $[MH]^+$; t_R= 1.10분 (구배 J); TLC: R_f = 0.21 (DCM/MeOH, 93:7).

[0128] B. 4-(4-에틸피페라진-1-일)-아닐린

[0129] MeOH (120 mL) 중 1-에틸-4-(4-니트로-페닐)-피페라진 (6.2 g, 26.35 mmol) 및 라니 니켈 (2 g)의 현탁액을 7 h 동안 실온에서 수소 분위기 하에 교반하였다. 반응 혼합물을 셀라이트의 패드를 통해 여과하고 농축하여 5.3 g의 표제 화합물을 보라색 고체로서 수득하였다: ESI-MS: 206.1 $[MH]^+$; TLC: R_f = 0.15 (DCM/MeOH + 1% NH_3^{aq}, 9:1).

[0130] C. 1-에틸-4-(4-니트로-페닐)-피페라진

[0131] 1-브로모-4-니트로벤젠 (6 g, 29.7 mmol) 및 1-에틸피페라진 (7.6 ml, 59.4 mmol, 2 당량)의 혼합물을 15 h 동안 80℃에서 가열하였다. 실온으로 냉각한 후, 반응 혼합물을 물 및 DCM/MeOH, 9:1로 희석하였다. 수성 층을 분리하고 DCM/MeOH, 9:1로 추출하였다. 유기 상을 염수로 세척하고, 건조시키고 (황산나트륨), 여과하고 농축하였다. 잔류물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM/MeOH + 1% NH_3^{aq}, 9:1)로 정제하여 6.2 g의 표제 화합물을 황색 고체로서 수득하였다: ESI-MS: 236.0 $[MH]^+$; t_R= 2.35분 (순도: 100%, 구배 J); TLC: R_f = 0.50 (DCM/MeOH + 1% NH_3^{aq}, 9:1).

[0132] D. (6-클로로-피리미딘-4-일)-메틸-아민

[0133] 당해 물질을 문헌 (*J. Appl. Chem.* **1955**, *5*, 358)에 게재된 변형된 절차에 의해 제조하였다: 이소프로판올 (60 ml) 중 상업적으로 입수가능한 4,6-디클로로피리미딘 (20 g, 131.6 mmol, 1.0 당량)의 현탁액에 에탄올 중 33% 메틸아민 (40.1 ml, 328.9 mmol, 2.5 당량)을 내부 온도가 50℃를 초과하지 않는 속도로 가하였다. 첨가의 완료 후 반응 혼합물을 1 h 동안 실온에서 교반하였다. 그 다음, 물 (50 ml)을 가하고 형성된 현탁액을 얼음조에서 5℃로 냉각하였다. 침전된 생성물을 여과해 내고, 저온의 이소프로판올/물 2:1 (45 ml) 및 물로 세척하였다. 수집된 물질을 45℃에서 밤새 진공 건조시켜 표제 화합물을 무색 분말로서 수득하였다: t_R = 3.57 분 (순도: >99%, 구배 A), ESI-MS: 144.3 / 146.2 $[MH]^+$.

[0134] E. (3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시-페닐)-1-{6-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아)

[0135] 2,6-디클로로-3,5-디메톡시페닐-이소시아네이트 (1.25 당량)를 톨루엔 중 N-[4-(4-에틸-피페라진-1-일)-페닐]-N'-메틸-피리미딘-4,6-디아민 (2.39 g, 7.7 mmol, 1 당량)의 용액에 가하고 반응 혼합물을 환류로 1.5 h 동안 교반함으로써 표제 화합물을 제조하였다. 조 생성물을 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 (DCM/MeOH + 1% NH_3^{aq}, 95:5)로 정제하여 표제 화합물을 백색 고체로서 수득하였다: ESI-MS: 560.0 / 561.9 $[MH]^+$; t_R= 3.54분 (순도: 100%, 구배 J); TLC: R_f = 0.28 (DCM/MeOH + 1% NH_3^{aq}, 95:5). 분석: $C_{26}H_{31}N_7O_3Cl_2$, 계산치: C 55.72% H 5.57% N 17.49% O 8.56% Cl 12.65%; 실측치 C 55.96% H 5.84% N 17.17% O 8.46% Cl 12.57%. 표제 화합물을 하기 기재된 바와 같이 XRPD, 열적 및 기타 방법으로 특성화하였다.

[0136] **실시예 3: 화학식 I의 화합물의 일인산 염 형태 A의 제조.**

[0137] 둥근 바닥 플라스크에 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시페닐)-1-{6-[4-(4-에틸피페라진-1-일)페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아 (134 g, 240 mmol) 및 IPA (2000 ml)를 가하였다. 현탁액을 교반하고 50℃로 가열하고 물 (2000 ml) 중 인산 (73.5 g, 750 mmol)의 용액을 거기에 조금씩 가하였다. 혼합물을 60℃에서 30분 동안 교반하고 폴리프로필렌 패드를 통하여 여과하였다. 패드를 따뜻한 IPA/물 (1:1, 200 ml)로 세척하고 여과물을 합하였다. 이 투명한 용액에, IPA (6000 ml)를 가하고 혼합물을 20분 동안 환류하에 교반하고, 실온 (25℃)으

로 서서히 냉각하고, 24시간 동안 교반하였다. 백색 염 생성물을 여과로 수집하고, IPA (2 × 500 ml)로 세척하고 60℃에서 오븐에서 감압하에 2일 동안 건조시켜 포스페이트 염 (형태 A) 110 g을 수득하였다. 수율 70%. 순도 >98% (HPLC에 의함). 분석: $C_{26}H_{34}N_7O_7Cl_2P$, 계산치 C 47.42% H 5.20% N 14.89% O 17.01% Cl 10.77% P 4.70%; 실측치 C 47.40% H 5.11% N 14.71% O 17.18% Cl 10.73% P 4.87%. 표제 화합물을 하기 기재된 바와 같이 XRPD, 열적 및 기타 방법으로 특성화하였다.

[0138] **실시예 4: 화학식 I의 화합물의 유리 염기 일수화물 형태의 제조.**

[0139] 18℃에서 질소 분위기하에 22 l 4-구 둥근 바닥 플라스크에 15 M 수산화암모늄 (10 L, 15 몰)을 도입하였다. 당해 용액에 고체로서 3-(2,6-디클로로-3,5-디메톡시페닐)-1-{6-[4-(4-에틸피페라진-1-일)페닐아미노]-피리미딘-4-일}-1-메틸-우레아의 포스페이트 염 (660 g, 1.002 몰; 실시예 3의 방법으로 제조됨)을 18℃에서 1시간에 걸쳐 조금씩 가하였다. 생성된 백색 현탁액을 18℃에서 16시간 동안 교반하였다. 샘플을 제거하고 ^{1}H NMR로 점검하여 포스페이트 염의 유리 염기로의 완전한 전환을 확인하였다. NMR은 유리 염기로의 완전한 전환을 나타내었다. 혼합물을 조악한 프릿 (40-60 ASTM)을 갖는 3 L 소결 유리 깔때기를 통해 여과하였다. 여과는 고체 유리 염기의 미세 입자 크기로 인해 지체되었고 약 3시간이 소요되었다. 고체를 탈이온수 (1 L)로 세척하였다. 이러한 세척 또한 매우 지체되었다 (1.5시간 소요됨). 고체를 60℃에서 진공하에 (5 torr) 16시간 동안 건조시켜 642 g의 유리 염기 (이론치의 114%, 이론치 = 561.1 g)를 수득하였다. 건조된 고체를 탈이온수 (10.5 L)에서 18℃에서 3시간 동안 재슬러리화하였다. 고체를 조악한 프릿 (40-60 ASTM)을 갖는 3 L 조악한 프릿 소결 유리 깔때기를 통해 여과하였다. 여과 케이크를 탈이온수 (2 L)로 세정하였다. 고체를 60℃에서 진공하에 (5 torr) 16시간 동안 건조시키고 유리 염기를 일수화물 (559 g, 일수화물에 대한 이론치의 96.7%)로서 수득하였다.

[0140] **결정 형태의 특성화**

[0141] **실시예 5: 유리 염기, 포스페이트 염 (형태 A), 및 히드로클로라이드의 물리화학적 특성.**

[0142] **A. 유리 염기**

[0143] 무수 유리 염기는 양호한 결정화도를 나타내었다 (XRPD 스펙트럼에 대해, 도 1a 참조). 이는 약간 흡습성이었고, 10℃/분으로 가열시, 217℃ (개시)에서 용융되고 후속적으로 분해되었다 (DSC 온도기록도에 대해, 도 2a 참조). 무수 염기에 대한 TGA를 도 3a에 나타내었고, 관찰된 중량 감소는 무수 형태와 일치하였다. 이는 높은 pH에서 수성 매질 (pH 6.8 완충제 중 약 0.00004 mg/mL 및 물 중 pH 6.67을 갖는 약 0.00009 mg/mL)에 가용성이지 않았고 통상의 유기 용매에 난용성 내지 약간 가용성이었다. 0.1-N HCl 중에서, 무수 유리 염기는 또 다른 형태 (예컨대 히드로클로라이드 형태)로 변화하였다. 유리 염기의 일수화물 형태도 또한 양호한 결정화도를 나타내었다 (XRPD 스펙트럼에 대해, 도 1d 참조). 무수 유리 염기의 SEM 현미경 사진을 도 5a에 나타내었다.

[0144] **B. 포스페이트 염 (형태 A)**

[0145] 포스페이트 염은 양호한 결정화도를 나타내었다 (XRPD 스펙트럼에 대해, 도 1b 참조 (포스페이트 염 (형태 A)). 이는 약간 흡습성이고, 10℃/분으로 가열시, 184.0℃ (개시)에서 용융되고 후속적으로 분해되었다 (도 2b 참조 (포스페이트 염 (형태 A)). 포스페이트 염의 TGA는 도 3b에 나타내었고, 관찰된 중량 감소는 무수 형태와 일치하였다. 이는 pH 6.8 완충제 (약 0.00009 mg/mL)에 가용성이지 않았지만, 유리 염기와 달리, 물 (1.3 mg mL)에 가용성이었다. 이는 통상의 유기 용매에 난용성이었다. 추가의 용해도 연구를 하기에 제시하였다. 포스페이트 염 (형태 A)의 FT-IR 스펙트럼을 도 6에 나타내었다. 0.6% 이하의 잔류 용매 (이소프로판올)가 포스페이트 염에서 검출되었다. 포스페이트 염, 형태 A의 SEM 현미경 사진을 도 5b에 나타내었다.

[0146] **C. 유리 염기의 히드로클로라이드염**

[0147] 히드로클로라이드 염은 이수화물 형태로 중간 정도의 결정화도를 나타내었다 (XRPD 스펙트럼에 대해, 도 1e 참조). TGA는 도 3c에 나타내었고, 관찰된 중량 감소는 이수화물 형태와 일치하였다. 히드로클로라이드는 흡습성이고 본 형태는 이수화물이었다. 용해도 연구를 실시예 8, 표 3D에 제시하였다.

[0148] **실시예 6: 유리 염기의 포스페이트 염의 무정형 형태.**

[0149] 약 40 mg의 포스페이트 염 (형태 A)을 4 ml의 테트라히드로푸란/물 (1:1)과25℃에서 혼합하였다. 밤새 교반한 후, 용액을 여과하였다. 어떠한 교반도 없이, 투명한 여과물을 질소 흐름 하에 위치시키고 건조시켰다. 용매 증발 후 수득된 고체를 DSC 및 TGA에 의해 추가로 평가하였다. 어떠한 겉보기 유리 전이도 -40℃에서 140℃로

가열에 적용시킬 경우 DSC 온도기록계(thermograph)에 의해 관찰되지 않았다. TGA 온도기록계 상에서, 샘플은 결정질 포스페이트 염의 형태 A보다 훨씬 더 낮은 약 115℃에서 분해되기 시작한 것으로 관찰되었다. 하기 실시예 15를 또한 참조한다.

[0150] **실시예 7: 고유 용해 속도의 결정.**

[0151] 고유 용해 속도는, 포스페이트 염에 대해서는 물, pH=6.8 및 0.1 N HCl에서, 및 유리 염기 일수화물에 대해서는 pH=6.8, 4.5 및 0.1 N HCl에서 결정하였다. 캐리 UV/VIS 분광광도계를 사용하여 반켈 기기 상에서 측정을 수행하였다 (표 2). 포스페이트 염은 물 및 0.1 N HCl에서 유리 염기보다 더 신속한 고유 용해 속도를 나타내었다.

[0152] <표 2>

고유 용해 속도

샘플	포스페이트 염 (형태 A)	유리 염기 (일수화물)
샘플 질량	약100 mg	약100 mg
검출용 파장	290 nm	290.2 nm
디스크 회전	200 rpm	50 rpm
온도	37°C	37°C
측정 시간	20-60 Min	400 Min
용해 매질	고유 DR 값 mg/min/cm²	
HCl 0.1 N	1.0661 (무수 유리 염기: 0.28)	0.3132
pH = 6.8	0.0056	0.0026
pH = 4.5	n.d.	0.0001
물	0.3279 (무수 유리 염기: 0.01)	n.d.

[0153] n.d. – 결정되지 않음

[0154] **실시예 8: 수성 매질에서의 용해도**

[0155] 무수 및 일수화물 유리 염기의 일수화물의 용해도를 모의 및 실제 인간 체액을 포함하는 다양한 수성 매질 (예를 들어, pH 6.8 완충제, pH 4.5 완충제, pH 1 완충제)에서 측정하였다. 모의 체액 조성물을 하기 표 3A 내지 3C에 나타내었다.

[0156] <표 3A>

SGF pH 2.0	
부형제	목표량/1 리터당 용적
NaCl	2 g
트리톤(Triton)X-100	1 g
HCl 0.1M	100 ml
정제수	충분량

[0157]

[0158] <표 3B>

FaSSIF pH 6.5		
부형제	몰량 [mM]	목표량 [g/ 1l]
인산 (85%)	28.6 (100%로서)	3.30 (85%로서)
나트륨 타우로콜레이트	3	1.65
레시틴	0.75	0.59
NaCl	105.8	6.186
NaOH		충분량
정제수		충분량

[0159]

[0160] <표 3C>

FeSSIF pH 6.5		
부형제	몰량 [mM]	목표량 [g/ 1l]
빙초산	144	8.65
나트륨 타우로콜레이트	15	8.25
레시틴	3.75	2.954
NaCl	202	11.87
NaOH		충분량
정제수		충분량

[0161]

[0162] 12명의 인간 대상체로부터 인간 체액을 수집하였다. 24시간 후 용해도를 상기 기재된 바와 같이 평가하였다.

결과를 하기에 표 4A 및 4B에 표로 작성하였다.

[0163] <표 4A>

무수 유리 염기의 용해도

매질	24 h 후 용해도 (mg/ml)
모의 위액 (SGF)	0.0497
단식 상태의 모의 장액 (FaSSIF)	0.001
식후 모의 장액 (FeSSIF)	0.148
pH 1 HCl	0.052
pH 4.5 아세테이트	0.008
pH 6.8 포스페이트	<LOQ*
인간 위액 (HGF)	0.001
단식된 인간 장액 (HIF)	0.002
식후 HIF	0.004

[0164] *<LOQ:정량 한계 미만.

[0165] <표 4B>

일수화물 유리 염기의 용해도

매질	24 h 후 용해도 (mg/ml)
SGF	0.020
FaSSIF	0.003
FeSSIF	0.459
pH 1 HCl	0.103
pH 4.5 아세테이트	0.054
pH 6.8 포스페이트	<LOQ*
HGF	0.002
단식된 HIF	0.019
식후 HIF	0.040

[0166] *<LOQ:정량 한계 미만.

[0167] 포스페이트 염의 용해도 연구를 수성 매질 및 인간 체액에서 24시간으로 수행하였다. 사전 평형화 없이 (표 4C) 및 pH 1 HCl에서 24시간에 걸쳐 평형화된 (표 4D) 포스페이트 염에 대한 결과. 후자의 조건은 포스페이트 염이 시간이 흐르면서 HCl 염으로 전환되었음을 나타내었다.

[0168] <표 4C>

포스페이트 염의 용해도

매질	24 h 후 용해도 (mg/ml)
SGF	0.088
FaSSIF	0.003
FeSSIF	1.067
pH 1 HCl	0.089
pH 4.5아세테이트	0.731
pH 6.8 포스페이트	<LOQ*
HGF	0.0115
단식된 HIF	0.00223
식후 HIF	0.00141

[0169] *<LOQ:정량 한계 미만.

[0170] <표 4D>

pH 1, HCl에서 포스페이트 염의 평형화로부터 생성된 히드로클로라이드 염의 용해도

매질	24 h 후 용해도 (mg/ml)
SGF	0.073
FaSSIF	0.003
FeSSIF	0.248
pH 1 HCl	0.075
pH 4.5아세테이트	0.822
pH 6.8 포스페이트	<LOQ*
HGF	0.0348
단식된 HIF	0.0154
식후 HIF	0.0109

[0171] *<LOQ:정량 한계 미만.

[0172] **실시예 9: 화학식 I의 화합물의 유리 염기의 FT-라만 분광분석법**

[0173] 화학식 I의 화합물의 일수화물 및 무수 결정질 유리 염기 형태의 FT-라만 분광분석법을 상기 기재된 바와 같이 수행하였다. 화학식 I의 화합물의 무수 유리 염기 형태에 대한 라만 스펙트럼을 도 8a에 나타내었다. 도 8a에서의 피크는 3067, 2950, 2927, 2854, 2828, 1690, 1619, 1585, 1539, 1458, 1409, 1385, 1358, 1297, 1233, 1191, 1098, 1062, 998, 819, 778, 742, 695, 668, 637, 498, 468, 420 cm^{-1}를 포함한다. 일수화물 유리 염기에 대한 라만 스펙트럼을 도 8b에 나타내었다. 도 8b에서의 피크는 2957, 2831, 1618, 1580, 1511, 1465, 1415, 1361, 1312, 1284, 1229, 1186, 1148, 1057, 994, 854, 721, 661, 624 cm^{-1}를 포함한다.

[0174] **실시예 10: 화학식 I의 화합물의 유리 염기의 결정질 일수화물 형태의 단결정 X-선 결정학적 분석**

[0175] 화학식 I의 화합물의 유리 염기의 결정질 일수화물 형태의 단결정 X-선 결정학적 분석을 상기 기재된 바와 같이 수행하였다. 분석 결과를 하기 표 5에 및 도 9에 나타내었다.

[0176] <표 5>

결정 크기 (mm)	0.16 × 0.08 × 0.06
옹스트롬 (Å) 및 도 (°)로의 셀 치수	a = 7.7615(2) Å b = 9.3168(2) Å c = 37.8111(8) Å α = 90° β = 91.439(2)° γ = 90° V = 2733.35(11) $Å^3$
공간 군	P21/c
분자/단위 셀	4
밀도	1.362

[0177]

[0178] **결정 형태의 안정성의 입증**

[0179] **실시예 11: 용액 안정성.**

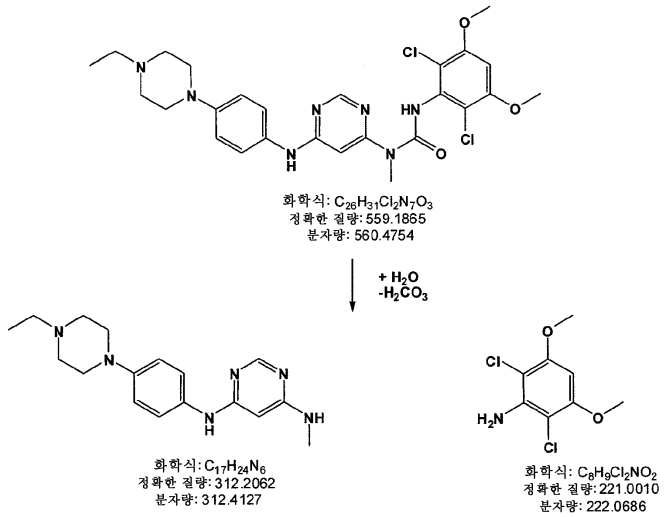
[0180] 유리 염기의 용액 안정성을 pH 1 내지 pH 9 범위의 완충제에서 1주 동안 50℃에서 시험하였다. pH 5 이상에서, 유리 염기는 안정하였고, 소량의 초기 불순물을 확인한 후, 분해(degradation)는 2% 미만이었다. pH 3에서, 분해는 약 4%이었고 pH 1에서, 분해는 약 15%이었다. 안정성을 또한 물 및 여러 유기 용매 중에서 (50℃에서 1주) 시험하였다. 유리 염기는 이소프로판올에서 안정하였고 아세토니트릴 및 메탄올에서 약 6 내지 7% 분해를 나타냈다.

[0181] 포스페이트 염, 형태 A는 이소프로판올 및 아세토니트릴에서 안정하였고, 메탄올에서 약 8% 분해를 나타내었다. 물에서, 유리 염기는 안정하였지만, 포스페이트 염은 약 45% 분해를 나타내었다. 이는 포스페이트 염을 경구

투여하는데 영향을 주지 않았고; 사실상, 하기 입증된 바와 같이, 포스페이트 염은 유리 염기보다 약 2배 높은 생체이용률을 갖는다. 메카니즘에 구속되지 않고, 유리 염기와 포스페이트 염 간의 안정성 차이는 유리 염기에 비해 포스페이트 염의 더 높은 수용성, 뿐만 아니라 물의 pH를 감소시키는 포스페이트 염의 경향으로 인한 것일 수 있고, 이는 분해 속도를 증가시킬 수 있다. 유리 염기 및 포스페이트 염 둘 다 1:1 아세토니트릴/물에서 가장 높은 분해를 나타내었다 (각각 약 8% 및 70%).

[0182] HPLC-MS 분석에 근거하여, 유리 염기의 우레아 관능기가 하기 나타낸 바와 같이 가수분해되고 이로써 2개의 주요 가수분해 생성물이 생성되는 것으로 보인다. HPLC-MS에 의한 2개의 주요 분해 피크는 기대되는 분자 이온을 나타내었다 (2.1분에서 HPLC 피크에 대하여 MH^+ = 313, 및 8.6분에서 HPLC 피크에 대하여 MH^+ = 222). 추가의 확인으로서, 2,6-디클로로-3,5-디메톡시아닐린의 표준 샘플(authentic sample)을 또한 HPLC로 주입하였고 체류 시간 및 UV 스펙트럼은 추후 용리 HPLC 분해 피크와 충분한 일치를 나타내었다.

[0183] <반응식 1> 물에서의 제안된 분해 경로



[0184]

[0185] **실시예 12: 고체 상태 안정성**

[0186] 고체 상태에서, 샘플을 밀봉된 용기 및 75% 상대 습도 하에 1주 동안 80℃에서 응력 처리(stress)하였다. 결정 형태의 무수 유리 염기 및 포스페이트 염 (형태 A)은 고체 상태 단독으로 및 1% 혼합물로서 부형제의 존재하에 안정한 것으로 입증되었다. HPLC에 의해 평가된 바와 같은 무수 유리 염기의 분해 생성물의 양은 1% 이하 (피크 면적을 기준으로)인 반면, 포스페이트 염의 분해는 1.4% 이하로 확인되었다. 각각의 다형체의 XRPD는 어떠한 형태의 변화도 나타내지 않았다.

[0187] **실시예 13: 용매를 사용한 평형화의 영향**

[0188] **A. 실온**

[0189] 약 20 mg의 포스페이트 염 (형태 A)를 2 ml의 다양한 용매로 24 h 이상 동안 실온에서 평형화하였다. 그 다음 용액을 여과하고 잔류물을 50℃에서 하우스 진공 (house vacuum) 하에 밤새 건조시켰다. 수득된 고체를 XRPD에 의해 조사하였다. 표 6에 기재된 용매에 대해 어떠한 새로운 XRPD 패턴도 관찰되지 않았다. 이들 결과는 포스페이트 염 (형태 A)의 다형체 안정성을 입증하는 것이다.

[0190] 유리 염기를 물, 에탄올, 이소프로판올, 에틸 아세테이트, 및 아세톤에서 평형화하고, 상기한 바와 같이 XRPD에 의해 분석하였다. 어떠한 새로운 XRPD 패턴도 관찰되지 않았다.

[0191] <표 6>

25℃에서 평형화 실험용으로 사용된 용매

용매
메탄올
무수 에탄올
에탄올 95%
2-프로판올
아세토니트릴
아세톤
테트라히드로푸란
톨루엔
메틸렌 클로라이드
디옥산
DMF
DMSO
물
메탄올/물 9:1
메탄올/물 1:1
메탄올/물 1:9
에탄올/물 50:50
에탄올/물 10:90
2-프로판올/물 90:10
2-프로판올/물 50:50
2-프로판올/물 10:90
아세톤/물 50:50
아세톤/물 10:90
아세토니트릴/물 90:10
아세토니트릴/물 50:50
아세토니트릴/물 10:90
테트라히드로푸란/물 1:1
테트라히드로푸란/물 1:9

[0192]

[0193] B. 50℃

[0194] 약 20 mg의 포스페이트 염 (형태 A)를 또한 2 ml의 용매로 24 h 이상 동안 약 50℃에서 평형화하였다. 그 다음 용액을 여과하고 잔류물을 50℃에서 하우스 진공 하에 밤새 건조시켰다. 수득된 고체를 XRPD에 의해 조사하였다. 표 7에 열거된 어떠한 용매에 대해서도 새로운 XRPD 패턴이 관찰되지 않았다. 이들 결과는 포스페이트 염 (형태 A)의 다형체 안정성을 입증하는 것이다.

[0195] <표 7>

50℃에서 평형화 실험용으로 사용된 용매

용매
메탄올
무수 에탄올
에탄올 95%
2-프로판올
아세토니트릴
아세톤
에틸 아세테이트
프로필 아세테이트
테트라히드로푸란
톨루엔
디옥산
메틸 t-부틸 에테르
DMSO
물
메탄올/물 90:10
메탄올/물 50:50
메탄올/물 10:90
에탄올/물 50:50
에탄올/물 10:90
2-프로판올/물 90:10
2-프로판올/물 50:50
2-프로판올/물 10:90
아세톤/물 90:10
아세톤/물 50:50
아세톤/물 10:90
아세토니트릴/물 90:10
아세토니트릴/물 50:50
아세토니트릴/물 10:90
테트라히드로푸란/물 90:10
테트라히드로푸란/물 50:50
테트라히드로푸란/물 10:90

[0196]

[0197] **실시예 14: 고온의 포화 용액으로부터의 결정화의 영향**

[0198] 약 20 mg의 포스페이트 염 (형태 A)를 60℃에서 2 ml의 용매에 용해시켰다. 용액을 여과하였다. 수득된 투명한 여과물을 얼음조에서 냉각시키고 교반하였다. 침전물을 필터 상에서 수집하고, 건조시키고 XRPD에 의해 조사하였다. 물과 메탄올, 에탄올, 2-프로판올, 아세톤, 및 테트라히드로푸란의 1:1 용액으로부터의 결정화시 어떠한 다형체 형태의 변화도 관찰되지 않았다. 단지 DMSO를 사용한 경우에만 XRPD에 의해 주목된 형태 변화가 있었다. 이들 결과는 포스페이트 염 (형태 A)의 다형체 안정성을 입증하는 것이다.

[0199] **실시예 15: 증발에 의한 결정화의 영향**

[0200] A. 25℃

[0201] 약 20 mg의 포스페이트 염 (형태 A)를 25℃에서 2 ml 용매와 혼합하였다. 밤새 교반한 후, 용액을 여과하였다. 여과물을 질소 흐름 하에 위치시키고 용매를 증발시켰다. 잔류 고체를 수집하고 조사하였다. 상기 증발을 교반 없이 수행하였다. 교반 없이 THF/물 (1:1)을 증발시키자, B 형태의 것 (도 1c 참조)과 유사한 XRPD 패턴을 갖는 고체가 즉시 수득되었다. 후속적으로, 이러한 조건하에, 형태 B보다는 무정형 물질을 수득하였다. 유사하게, 물과 에탄올, 2-프로판올, 아세톤, 및 테트라히드로푸란의 1:1 용액으로부터의 증발성 결정화로부터 무정형 물질을 수득하였다. 용액을 증발 도중에 교반한 경우, 형태 A가 일관되게 수득되었고; 이는 포스페이트 염의 결정질 형태 (형태 A)의 다형체 안정성을 입증하는 것이다.

[0202] B. 50℃

[0203] 동일한 실험 (25℃ 증발에 대해 상기 기재된 바와 같은)을 50℃에서 수행하였다. 이러한 조건 하에, 무정형 물질을 단지 미교반(unstirred) 용액의 일부로부터 수득하였다. 표 8에 나타낸 바와 같이, 다른 미교반 용액은

형태 A를 생성시켰다. 용액을 교반한 경우 형태 A가 또한 수득되었고, 이는 포스페이트 염의 결정질 형태 (형태 A)의 다형체 안정성을 입증하는 것이다.

[0204] <표 8>

50℃에서 증발에 의한 결정화의 영향

용매	XRPD 결과
메탄올/물 1:1	-
에탄올/물 1:1	무정형
2-프로판올/물 1:1	-
아세톤/물 1:1	-
아세토니트릴/물 1:1	무정형
테트라히드로푸란/물 1:1	-

[0205] "-": 어떠한 변화도 검출되지 않음.

[0206] **실시예 16: 용매의 첨가에 의한 침전의 영향**

[0207] 2개의 상이한 용매 조합물을 시험하였다. 포스페이트 염 (형태 A)를 그의 용해도가 높은 DMSO에 용해시켰다. 형태 A가 매우 불용성인 용매 (항-용매(anti-solvent))를 당해 용액에 가하였다. 침전물을 필터 상에 수집하고, 건조시키고, XRPD에 의해 조사하였다. 하기 용매 중 어느 것에 대해서도 형태 변화가 관찰되지 않았다: 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 아세톤, 아세토니트릴, THF, 에틸 아세테이트, 프로필 아세테이트, 톨루엔, 메틸 t-부틸 에테르, 1,4-디옥산, 메틸렌 클로라이드. 이들 결과는 포스페이트 염의 결정질 형태 (형태 A)의 다형체 안정성을 입증하였다.

[0208] **실시예 17: 압축 하의 안정성**

[0209] 포스페이트 염 (형태 A, 300 mg)을 5분 동안 4000 파운드에서 수압 프레스 를 사용하여 압축하였다 (정제의 직경 8 mm). 결정질 변형의 변화는 XRPD에 의해 관찰되지 않았다. 이들 결과는 포스페이트 염의 결정질 형태 (형태 A)의 안정성을 입증하였다.

[0210] **실시예 18: 과립화 하의 안정성**

[0211] 막자사발에 위치시킨 포스페이트 염 (형태 A)에 용매 (물 또는 에탄올)를 막자사발 내에 고체가 충분히 젖을 때까지 적가하고, 페이스트-유사 조도(paste-like consistency)가 수득될 때까지 막자를 사용하여 분쇄하였다. 페이스트를 약 40℃에서 및 감압하에 > 8시간 동안 건조시켰다. 고체를 XRPD에 의해 평가하였고, XRPD 스펙트럼에서 어떠한 변화도 관찰되지 않았다. 이들 결과는 포스페이트 염 의 결정질 형태 (형태 A)의 안정성을 입증하였다.

[0212] **실시예 19: 가열 및 냉각 하의 안정성**

[0213] 용융물 켄칭 후 제2 DSC 시행 후에 이를 관찰하였다. 용융의 개시는 183.2℃에서 주목되었다. 샘플은 용융 개시 직후 185.9℃에서 분해되기 시작하였다. 추가적 시험은 수행하지 않았다.

[0214] **실시예 20: 물 흡착 및 탈착 실험**

[0215] 유리 염기 (무수 및 일수화물) 및 그의 포스페이트 염 (형태 A)를 VTI 브랜드(brand) 기기를 사용하여 흡착 및 탈착 주기에 적용시켰다. 고체를 실험 후 수집하고 분석하였다. 도 3a (유리 염기) 및 3b (포스페이트 염 (형태 A))는 TGA 기기 상에 기록된 물 흡착-탈착 등온선을 도시한다. DVS 플롯은 도 4a (유리 염기, 무수), 4b (포스페이트 염 (형태 A)) 및 4c (유리 염기, 일수화물)에 도시되어 있다. 포스페이트 염 (형태 A)에 대하여 최대 물 흡수는 25℃ 95% 이하 상대 습도 (rh)에서 2% 미만 (즉 0.7%)이었다 (표 9 참조). 일수화물에 대하여 최대 물 흡수는 25℃ 95% 이하 RH에서 1.4% 미만이었다. 3%의 근사 수분 함량을 갖는 일수화물은 실험 도중 완전히 건조될 수 없었고, 오히려 제거될 수 있었던 물이 가역적으로 재흡수되었다. 일수화물 형태의 존재의 정체기(plateau)는 제2 탈착 주기에서 약간의 이력현상과 함께 10% 및 95% RH 내인 것으로 발견되었다.

[0216] <표 9>

포스페이트 염에 대한 DVS 시험

상대 습도 (%)	탈착 중량 증가 (%)	흡착 중량 증가 (%)
0	0.000	0.000
5	0.091	0.016
25	0.507	0.165
50	0.738	0.309
75	1.022	0.437
85	1.245	0.495
95	1.547	0.653
85	1.421	0.520
75	1.275	0.467
50	0.705	0.334
25	0.447	0.177
5	0.048	0.000

[0217]

[0218] **포스페이트 염의 우수한 치료 특성**

[0219] **실시예 21: 포스페이트 염의 약동학적 특성**

[0220] 유리 염기 (및 다른 산 염, 상기 기재된 바와 같음)에 비해 포스페이트 염의 더 높은 수용성은 용액 제형 (또는 조성물)의 개발을 초래하였고, 이는 용해도 제한으로 인해 유리 염기로는 실현가능할 수 없었을 것이다. 이러한 실험용으로, 포스페이트 염을 하기와 같이 제조하였다: 유리 바이알에서, 10.7 mg의 유리 염기를 4 ml THF에 용해시켰다. 아세톤 (0.01 M) 중 인산 (1.76 ml)을 가하였다. 혼합물을 약 2분 동안 50℃로 가온하였다. 바이알을 개방한 채로 두어 실온에서 부분 증발시켰다. 밤새, 현탁액이 형성되었고, 이를 여과하여 약 5.5 mg의 회백색 분말을 수득하였다. 다양하게 제형화된 활성제 (유리 염기 및 그의 포스페이트 염)의 래트에서의 생체이용률을 하기에 표로 나타내었다 (표 10).

[0221] <표 10>

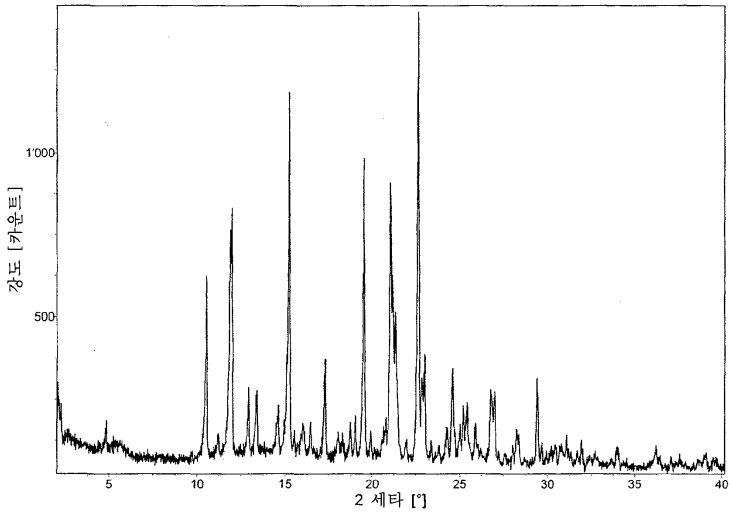
약동학적 파라미터	유리 염기 정맥내 [5 mg/kg]	유리 염기 경구, 콜로이드성 용액* [10 mg/kg]	유리 염기 경구, 현탁액** [8.57 mg/kg]	포스페이트 염 경구, 용액*** [10 mg/kg]	포스페이트 염 경구, 현탁액** [8.57 mg/kg]
$C_{5분}$ [μmol/L ± SE]	0.972 ± 0.404	--	--	--	--
$C_{최대}$ [μmol/L ± SE]	--	0.154 ± 0.026	0.202 ± 0.021	0.263 ± 0.083	0.150 ± 0.031
$C_{최후}$ [μmol/L ± SE]	0.003 ± 0.003	0.010 ± 0.005	0.077 ± 0.038	0.148 ± 0.018	0.062 ± 0.006
$t_{최대}$ [h]	--	3.0	2.0	4.0	3.0
$t_{최후}$ [h]	24	24	8	8	8
$t_{1/2}$ 말단 제거[h]	4.5	5.2	4.3	4.8	4.4
Cl [L/h/kg]	3.6	--	--	--	--
V_{ss} [L/kg]	9.6	--	--	--	--
AUC (0 - ∞) [h·μmol/L]	2.47	1.44	1.55	2.52	1.23
AUC (0 - ∞) 용량 ^{A} [(h·μmol/L)/(mg/kg)]	0.49	0.14	0.18	0.25	0.14
BAV f [%]		29	37 ± 11	51	29 ± 3

*유리 염기 용액은 물, 에탄올 및 크레모포르 EL을 기재로 한다.
**현탁액은 0.5% HPMC를 함유하는 물에서 제조하였다.
*** 포스페이트 염 용액은 PEG300/아세테이트 완충제 pH 4.7 (1:1 용적)에서 제조하였다.

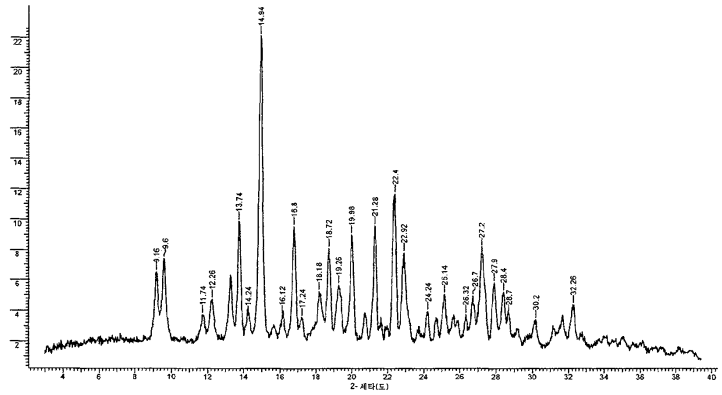
[0222]

도면

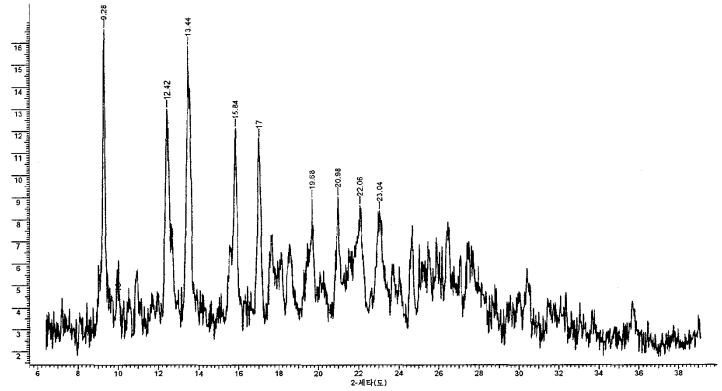
도면1a



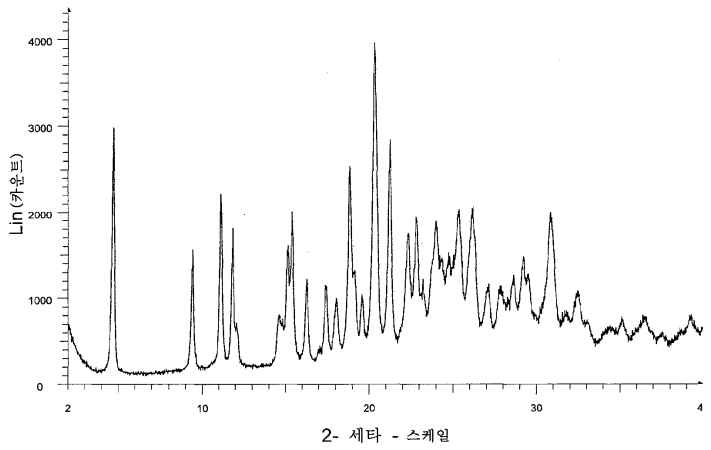
도면1b



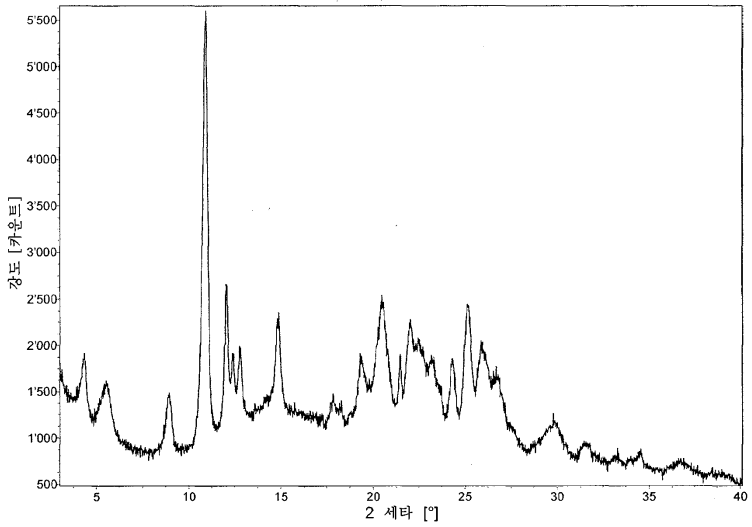
도면1c



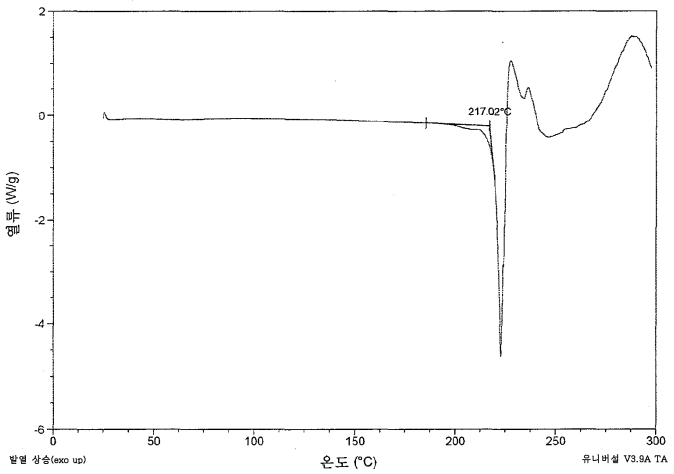
도면1d



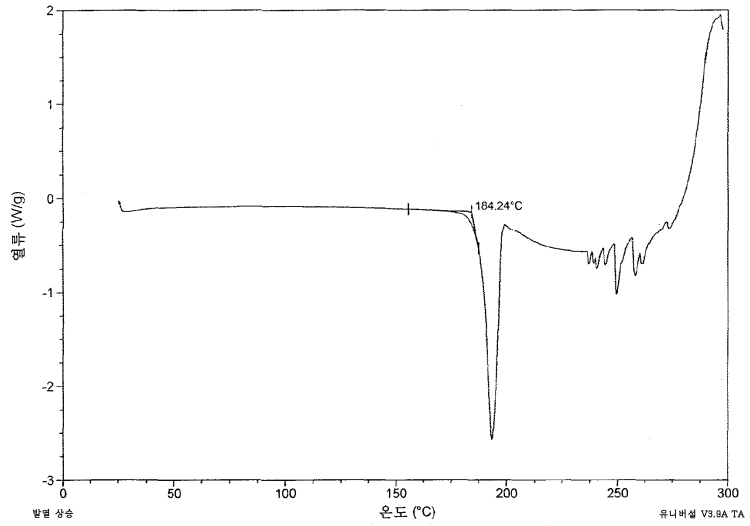
도면1e



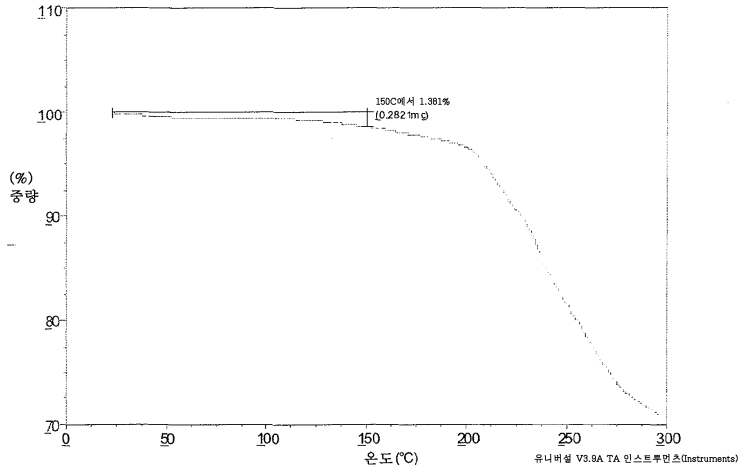
도면2a



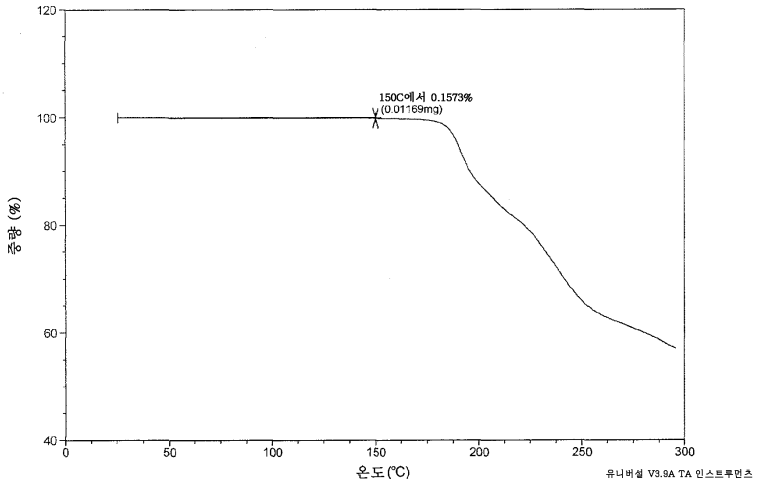
도면2b



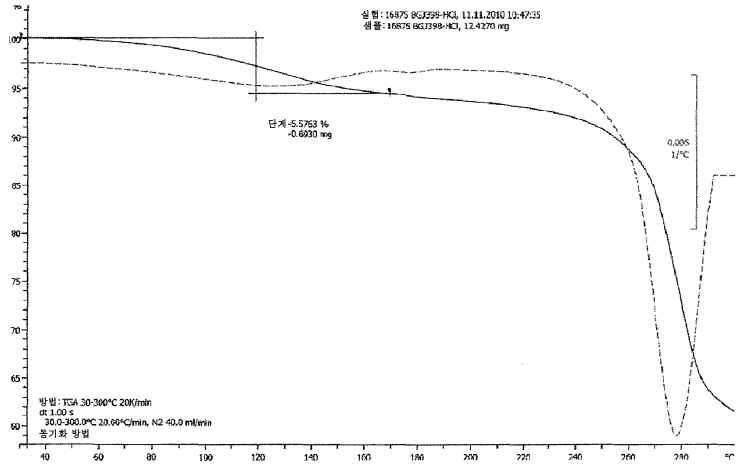
도면3a



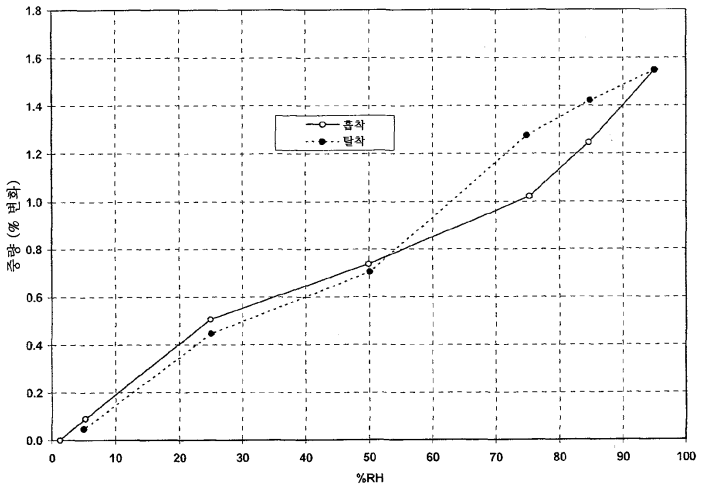
도면3b



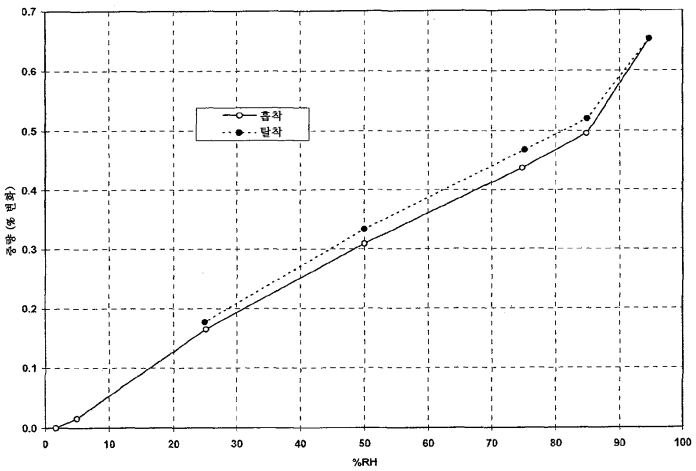
도면3c



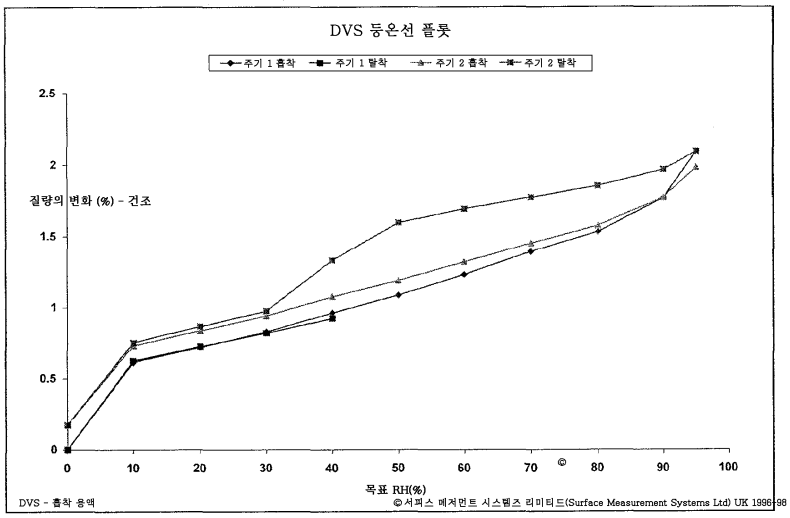
도면4a



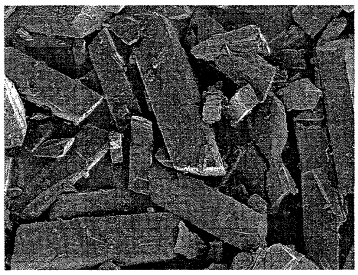
도면4b



도면4c

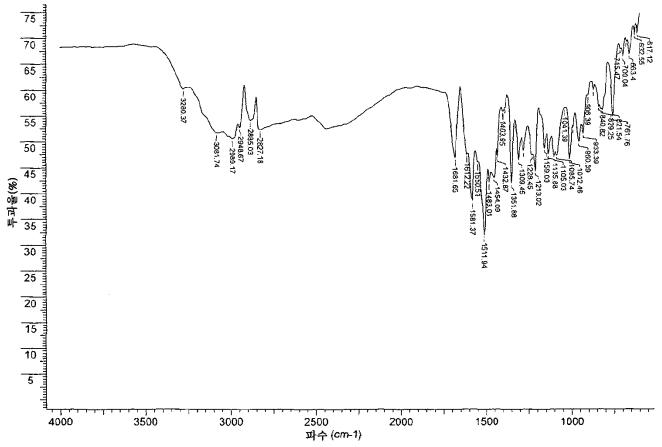


도면5a

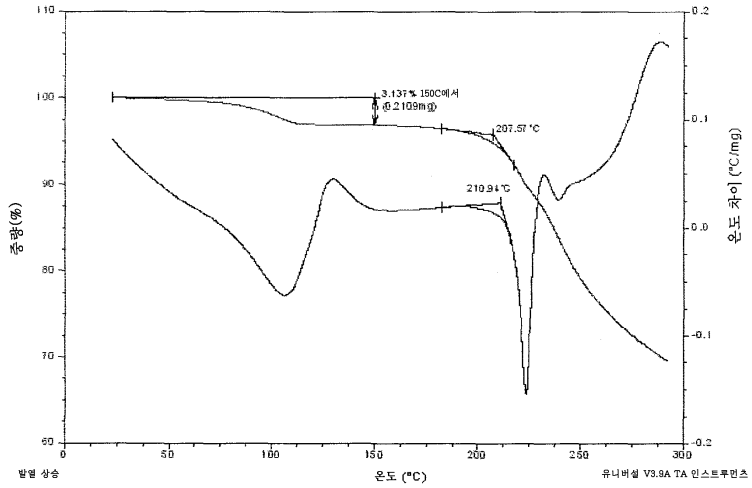


도면5b

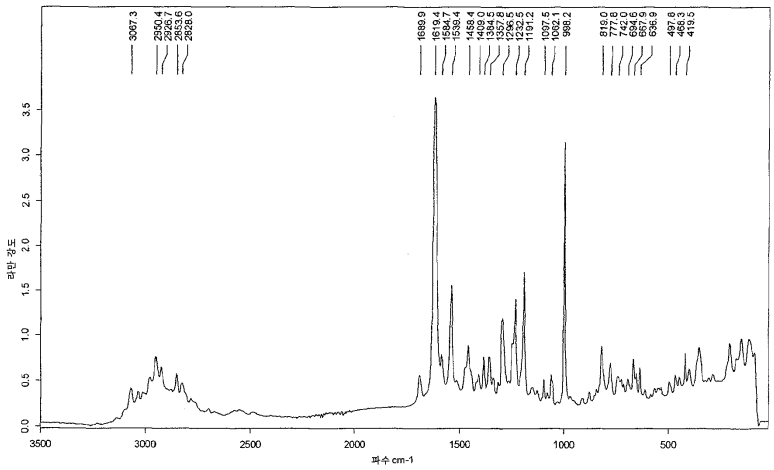
도면6


투과율(%)
파수 (cm-1)

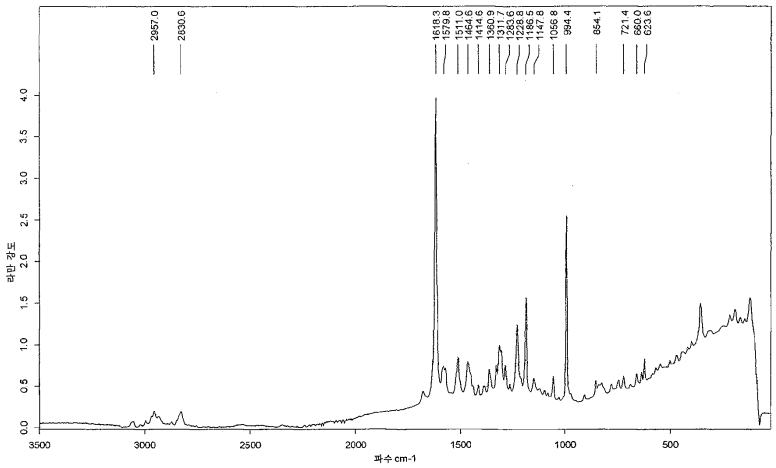
도면7


중량(%)
온도 차이 (°C/mg)
온도 (°C)
3.137% 150C에서
0.2109mg
207.57 °C
210.94 °C
발열 상승
유니버셜 V3.9A TA 인스트루먼츠

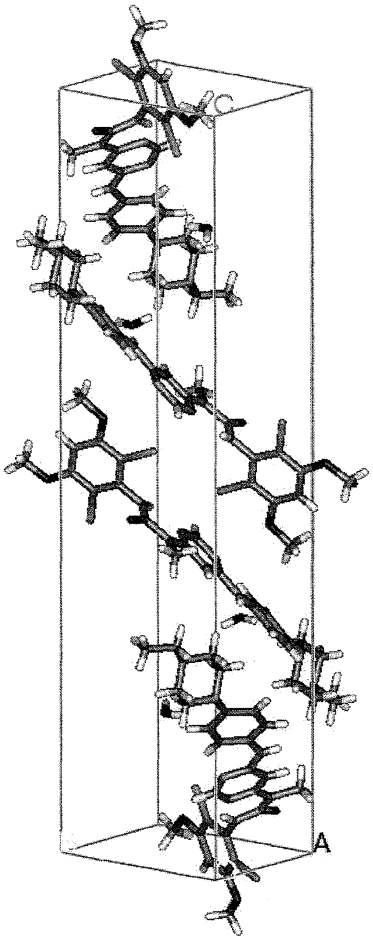
도면8a


라만 강도
파수 cm-1

도면8b


2957.0
2630.6
1618.3
1579.8
1511.0
1464.6
1414.6
1380.9
1311.7
1283.6
1226.8
1166.5
1147.8
1056.8
994.4
854.1
721.4
680.0
623.6
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
파수 cm-1

도면9


C
A