(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0008559
(43) 공개일자 2011년01월27일

(51) Int. Cl.
C07F 9/6561 (2006.01) *A61K 31/662* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2009-0065959
(22) 출원일자 2009년07월20일
심사청구일자 2009년07월20일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제캠퍼스내
(72) 발명자
김우식
서울특별시 광진구 자양동 695-1 한양아파트 2-401
안 지 훈
경기도 수원시 팔달구 신풍동 121번지 440-040
최 아 름
경기도 안양시 동안구 평촌동 초원 대림아파트 204동 101호
(74) 대리인
이종우

전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 무수결정형 아데포비어 디피복실 및 이온성 액체를 사용한 이의 제조 방법

(57) 요 약

본 발명은 이온성 액체를 용매로 사용하고 유기 또는 무기 용매를 반 용매로 사용하여 용석결정화법을 통해 제조되는 새로운 형태의 무수결정형 아데포비어 디피복실(이하 AD라 한다) 및 이의 제조 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따라, 이온성 액체의 독특한 특성인 열 안정성, 비휘발성, 낮은 증기압 및 용매화물이 되지 않는 능력 등을 이용하여 용석결정화법을 통해 AD를 결정화하면, 새로운 무수결정형 AD, 즉 기존 결정형태 보다 물리화학적 및 약리적 안정성이 뛰어난 결정형태를 제조할 수 있게 된다.

대 표 도 - 도8



특허청구의 범위

청구항 1

분말 X-선 회절 패턴에서 2Θ로 표시된 특성 피크가 2.3 내지 2.8, 4 내지 4.5, 8 내지 8.5, 12.5 내지 12.9, 17 내지 17.3, 21.4 내지 21.5, 25.8 내지 25.9 및 30.2 내지 30.3에서 나타나는 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실.

청구항 2

DSC 열 그래프에 있어서 55℃ 내지 59℃의 흡열 전이 피크와 54℃ 내지 58℃의 발열 전이 피크를 가지는 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실.

청구항 3

퓨리에 변환 적외선 분광 스펙트럼(FT-IR)에서 3390 내지 3340cm^{-1}, 3113 내지 3110cm^{-1}, 3060 내지 3050cm^{-1}, 2980 내지 2950cm^{-1}, 2940 내지 2920cm^{-1}, 1750 내지 1740cm^{-1}, 1710 내지 1700cm^{-1}, 1600 내지 1590cm^{-1} 및 1100 내지 1060cm^{-1}에서 피크를 가지는 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실.

청구항 4

제 1항 내지 제 3항 중 어느 한 항의 무수결정형 아데포비어 디피복실 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

청구항 5

이온성 액체를 용매로 사용하고 유기 또는 무기 용매를 반 용매로 사용하여 용석결정화법을 통해 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법.

청구항 6

제 5항에 있어서, 상기 이온성 액체는 이미다졸륨을 기반으로 하고 양이온을 갖고 있으며 상온에서 액체인 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법.

청구항 7

제 5항에 있어서, 상기 이온성 액체는 1-알릴-3-에틸이미다졸륨 테트라플루오로보레이트인 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법.

청구항 8

제 5항에 있어서, 상기 무기 용매로 물을 사용하는 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법.

청구항 9

제 5항에 있어서, 상기 용석결정화법은 85 내지 95℃로 가열하여 이온성 액체와 유기 또는 무기 용매의 친화성을 높임으로써 이온성 액체에 용해되어 있던 아데포비어 디피복실이 결정화되게 하는 방법인 것을 특징으로 하는 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법.

명 세 서

발명의 상세한 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 무수결정형 아데포비어 디피복실 및 이온성 액체를 사용한 이의 제조 방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로 이온성 액체를 용매로 사용하고 유기 또는 무기 용매를 반 용매로 사용하여 용석결정화법을 통해 물리,

화학 및 약리적으로 안정성이 뛰어난 새로운 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 항 바이러스성 약물인 아데포비어 디피복실(이하, AD라 한다. 도 1)은 화합물 명명법상 9-[2-[비스(피발로일옥시)-메톡시]포스피닐]메톡시]에틸]아데닌(9-[2-[bis(pivaloyloxy)-methoxy]phosphinyl]methoxy]ethyl]adenine)으로 표기되며, 뉴클레오티드 역전사효소 저해제로서 HIV 및 B형 간염(HBV)에 대해 뛰어난 생체 내 항 바이러스 활성을 나타낸다.

[0003] 이러한 AD는 자연 상태에서 무정형(amorphous)과 결정형(crystal)의 두 가지 형태를 가지는 것으로 알려져 있는데, 국제공개특허 제WO 2000/035460호 "약물 제제"에는 무수결정형 AD, 이수화물 결정형 AD 및 알칼리성 부형제를 포함하는 보다 안정한 AD의 약학적 조제가 개시되어 있고, 다른 국제공개특허 제WO 1999/04774호에는 하나 이상의 결정형 AD를 포함한 조성물이 개시되어 있는 바, 무수 결정형, 수화물 형태, 용제화 형태 및 염 결정형태를 포함하고 있으며, 국제공개특허 제WO 2004/043972호에는 스프레이 건조 방법을 이용하여 하나의 새로운 무수결정형 AD를 수득한 것이 개시되어 있고, 국제공개특허 제WO 2009/015892호에는 하나의 물 분자가 결합된 1수화물 형태의 결정형이 개시되어 있다.

[0004] 상기에서 언급한, 국제공개특허 제WO 1999/04774호에 개시된 방법의 경우, 결정화온도 50℃ 이상에서는 수율이 감소되고, 불순물이 증가되며, 안정성이 떨어지는 단점을 나타내고 있다.

[0005] 이에, 본 발명자들은 상기 종래기술들의 방법에 의한 AD보다 안정적인 새로운 형태의 AD 결정을 획득하기 위하여 예의 연구 노력한 결과, 이온성 액체의 독특한 특성인 열 안정성, 비휘발성, 낮은 증기압 및 용매화물이 되지 않는 능력 등을 이용하여 용석결정화법을 통해 AD를 결정화하는 경우, 높은 온도에서 AD를 결정화 할 수 있게 되어 물리 화학적 및 약리적으로 안정한 새로운 무수결정형 AD를 제조할 수 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

[0006] 따라서, 본 발명의 주된 목적은 물리화학적 및 약리적으로 안정한 새로운 무수결정형 AD의 제조 방법을 제공하는데 있다.

과제 해결수단

[0007] 본 발명의 한 양태에 따르면, 본 발명은 이온성 액체를 용매로 사용하고 유기 또는 무기 용매를 반 용매로 사용하여 용석결정화법을 통해 무수결정형 아데포비어 디피복실을 제조하는 방법을 제공한다.

[0008] 본 발명의 무수결정형 AD를 제조하는 방법에서, 상기 이온성 액체로 이미다졸륨(imidazolium)을 기반으로 하고 양이온을 갖고 있으며 상온에서 액체인 것을 사용하는 것이 바람직하며, 더욱 바람직하게는 1-알릴-3-에틸이미다졸륨 테트라플루오로보레이트(1-allyl-3-ethylimidazolium tetrafluoroborate, AEImBF$_4$, 도 2)를 사용하는 것이 좋다.

[0009] 본 발명의 무수결정형 AD를 제조하는 방법에서, 상기 무기 용매로 물을 사용하는 것이 바람직하다.

[0010] 본 발명의 무수결정형 AD를 제조하는 방법에서, 상기 용석결정화법으로 85 내지 95℃로 가열하여 상기 이온성 액체와 물의 친화성을 높임으로써 이온성 액체에 용해되어 있던 AD가 결정화되게 하는 방법을 사용하는 것이 바람직하다.

[0011] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기의 방법으로 제조된 무수결정형 AD를 제공한다.

[0012] 본 발명의 무수결정형 AD는 분말 X-선 회절 패턴에서 2??로 표시된 특성 피크가 2.3 내지 2.8, 4 내지 4.5, 8 내지 8.5, 12.5 내지 12.9, 17 내지 17.3, 21.4 내지 21.5, 25.8 내지 25.9 및 30.2 내지 30.3에서 나타나는 것을 특징으로 하며, DSC 열 그래프에 있어서 55℃ 내지 59℃의 흡열 전이 피크와 54℃ 내지 58℃의 발열 전이 피크를 가지는 것을 특징으로 하고, 퓨리에 변환 적외선 분광 스펙트럼(FT-IR)에서 3390 내지 3340cm^{-1}, 3113

내지 3110cm^{-1}, 3060 내지 3050cm^{-1}, 2980 내지 2950cm^{-1}, 2940 내지 2920cm^{-1}, 1750 내지 1740cm^{-1}, 1710 내지 1700cm^{-1}, 1600 내지 1590cm^{-1} 및 1100 내지 1060cm^{-1}에서 피크를 가지는 것을 특징으로 한다.

[0013] 이하, 본 발명에 대해 단계별로 보다 구체적으로 설명한다.

[0014] 본 발명에서 사용되는 이온성 액체는 100℃ 이하에서 녹는염을 총칭하며, 특징으로는 높은 열 안정성, 비휘발성 낮은 증기압, 유기 및 무기물질에 대한 높은 용매화 능력, 용매화물이 되지 않는 능력, 400℃ 까지의 넓은 액체 범위 등 독특한 특성을 갖는다. 이온성 액체의 가장 큰 특징은 앞서 언급한 이온성 액체의 독특한 물성들이 양이온과 음이온의 크기 및 구조에 따라 달라진다는 것이다. 즉 사용목적에 따라 적절한 이온성 액체를 설계할 수도 있다. 예를 들어 음이온과 양이온의 크기가 커짐에 따라 이온성 액체의 용융점은 낮아지고, 양이온의 대칭성과 가교도가 커질수록 용융점은 올라간다. 또한 양이온의 크기가 커질수록 이온성 액체의 밀도는 작아지고, 음이온의 질량이 증가할수록 밀도는 증가한다. 이런 의미에서 이온성 액체를 "Designer Solvent"라고 한다. 이온성 액체를 융점에 따라 분류할 수 있는데 상온에서 액체로 존재하는 이온성 액체를 상온 이온성 액체(Room Temperature Ionic liquids), 상온 이하에서 액체로 존재하는 이온성 액체를 저온 이온성 액체(Low Temperature Ionic liquids)라 명명하고 있으며, 갖가지 연구 목적에 따라 이온성 액체를 설계 할 수 있는데 이것을 목적 특이적 이온성 액체(Task Specific Ionic Liquids, TSILs)라 명명하고 있다.

[0015] 상기와 같은 이온성 액체 중 본 발명의 무수결정형 AD의 제조 방법에 사용할 이온성 액체는 물과의 친화성이 좋아야 하며, 우선적으로 AD를 녹일 수 있어야 한다. 이러한 이온성 액체로 이미다졸륨을 기반으로 하고 양이온을 갖고 있는 것들을 선택할 수 있으며, 융점 또한 상온에서 액체인 상온 이온성 액체를 선택하는 것이 바람직하다. 이 중 1-알릴-3-에틸이미다졸륨 테트라플루오로보레이트(1-Allyl-3-ethylimidazolium Tetrafluoroborate, AEImBF_4)는 융점이 낮아 상온에서 액체로 존재하며, 점성이 낮고, 열안정성이 좋으며, 낮은 증기압을 가지고 있고, 액체로 존재 할 수 있는 온도 범위가 300℃에 달하며, 물과 친화력이 높고, 높은 용매화 능력을 갖고 있어 유기 및 무기물질을 잘 녹일 수 있는 특성이 있기에 높은 온도에서의 AD 용석결정화를 위해 바람직하다.

[0016] 용석(drowning-out)결정화는 분리 효과를 내는 제 3물질의 첨가에 의한 분리로, 증발이나 온도변화에 의존하는 다른 결정화 기술에 비해 열에 민감한 물질이나, 그의 용해도가 온도에 크게 의존하지 않는 물질들의 분리에 특히 적당하여 정밀화학, 식품, 제약, 생화학 산업 등에 널리 사용되는 방법 중 하나이다. 용석결정화에서 외부물질로 쓰이는 성분들은 기체, 액체, 초임계 유체 또는 고체이며, 이들은 antisolvent, diluent, drowning-out agent, precipitant, salting-out, solventing-out 또는 watering-out agent로써 사용된다. 일반적으로 물에 잘 용해되나 알코올(alcohol) 등의 유기용매에서는 그 용해도가 현저히 감소되는 성질을 이용해 결정화 대상 용액에 외부물질인 알코올을 첨가해 침전 분리시키는 공정이 널리 사용되고 있다.

[0017] 본 발명에서는 상기와 같은 용석결정화법을 적용하기 위해 결정화 대상 물질의 용매로 이온성 액체, 이 중에서도 1-알릴-3-에틸이미다졸륨 테트라플루오로보레이트를 사용하는 것이 좋고, 제 3물질, 즉 반 용매로 물을 사용하는 것이 바람직하며, 85 내지 95℃로 가열하여 결정화가 이루어질 때까지 유지시켜주는 것이 필요한데, 이때 사용되는 가열장치는 온도를 조절할 수 있고 온도를 확인 할 수 있도록 프로그램 되어 있는 것이 적당하며, 반응기 안에 물을 넣고 그 안에 AD 용액이 담긴 용기를 넣어 온도를 유지시키는 방법, 즉 중탕을 하는 것이 좋다.

[0018] 본 발명으로 제조된 AD 결정의 특성을 분석하기 위하여 시차 주사 열량계법(Differential Scanning Calorimetry, DSC), 적외선 분광법(Fourier Transform Infrared spectrometry, FT-IR), 열 중량 분석법(Thermogravimetric Analysis, TGA) 및 X-선 회절법(X-Ray Diffraction, XRD)을 사용하였는데, 본 발명에 따르면 분말 X-선 회절 패턴에서 2Θ로 표시된 특성 피크가 약 2.5, 약 4.27, 약 8.56, 약 12.83, 약 17.15, 약 21.48, 약 25.86 및 약 30.27에서 나타나며, DSC 열 그래프에 있어서 약 58℃ 내지 59℃의 흡열 전이 피크와 55℃ 내지 57℃의 발열 전이 피크를 가지고, 퓨리에 변환 적외선 분광 스펙트럼(FT-IR)에서 약 3390cm^{-1}, 약 3113cm^{-1}, 약 3058cm^{-1}, 약 2970cm^{-1}, 약 2930cm^{-1}, 약 1746cm^{-1}, 약 1702cm^{-1}, 약 1599cm^{-1} 및 약 1070cm^{-1}에서 피크를 가지는 것으로 나타났다.

[0019] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하기로 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 예시하기 위한

것이므로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것으로 해석되지는 않는다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0020] **실시예 1. 이온성 액체를 이용한 무수결정형 AD의 제조**

[0021] 본 실시예의 원료인 AD는 국제공개특허 제WO 1999/04774호에 기재 되어 있는 AD 무수결정형 결정형 1(C_{20}, H_{32}, N_5, O_8, P)의 제조 방법에 의해 제조하였고, 신규한 무수결정성 AD는 하기 방법에 따라 이온성 액체의 독특한 특성을 이용하여 결정화온도 90℃에서 반 용매인 물과 혼합하여 제조하였다.

[0022] 5㎖ 바이엘 병을 이용하여 이온성 액체 1-Allyl-3-ethylimidazolium tetrafluoroborate(AEImBF_4) 0.5㎖ 에 AD 32mg을 녹인 후 물 0.5mg을 혼합하여 총량이 32mg/㎖이 될 수 있도록 용액을 제조하였다.

[0023] 온도가 조절되는 가열 장치 위에 반응기를 올린 후 반응기 안에 물 100㎖을 채우고 그 위에 상기 바이엘 병을 넣어 고정시킨 다음 90℃로 12시간 이상 유지시켰다. 이후 석출된 결정을 수집하였다.

[0024] 이때, 가열 장치의 온도는 85℃ 내지 90℃ 상태로 유지시켰으며, AD가 들어있는 바이엘 병은 테프론 테입을 이용하여 물이 빠져나가지 않도록 단단히 고정하였다.

[0025] **실시예 2. HPLC를 이용한 본 발명 신규 무수결정형 AD의 순도측정**

[0026] 상기 실시예 1에서 수득한 결정(본 발명의 무수결정형 AD)의 순도를 측정하기 위하여 HPLC를 이용하여 분석하였다. 분석을 위해 상기 실시예 1에서 수득한 결정 5mg을 HPLC 이동상 10㎖에 녹여 분석용 샘플을 준비하였다.

[0027] HPLC를 이용한 AD의 분석 조건은 다음과 같다.

[0028] - 이동상 : KH_2PO_4 20g을 H_2O 1ℓ에 녹이고 pH를 조절하여 pH6의 인산칼슘 완충액을 제조한 후, 완충액과 아세토니트릴을 60:40의 비율로 혼합한다. 그 후 만들어진 이동상을 여과 한 후 초음파 세척기를 이용하여 세척한다.

[0029] - 유속 : 1.2㎖/min

[0030] - 유지시간 : 30min

[0031] - 온도 : 실온

[0032] - 검출기 : 자외부 흡광광도계(측정파장: 254nm)

[0033] - 고정상 : 안지름 약 4.6㎜, 길이 약 250㎜인 스테인레스관 안에 5㎛의 액체크로마토그래프용 옥틸실릴화한 실리카겔이 충진된 컬럼

[0034] - 분석 샘플 주입량 : 50㎕

[0035] 상기와 같은 조건으로 실시예 1에서 수득한 결정을 분석한 결과, 97%의 순도를 갖는 AD 결정인 것으로 확인되었다.

[0036] **실시예 3. 본 발명 신규 무수결정형 AD의 특성 분석**

[0037] 상기 실시예 1에서 제조된 본 발명 AD 결정의 특성을 분석하기 위하여 시차 주사 열량계법(Differential Scanning Calorimetry, DSC), 적외선 분광법(Fourier Transform Infrared spectrometry, FT-IR), 열 중량 분석법(Thermogravimetric Analysis, TGA) 및 X-선 회절법(X-Ray Diffraction, XRD)을 사용하였다.

[0038] 이의 결과, DSC 열 그래프에서 흡열 전이 온도는 58℃ 내지 59℃로 나타났고, 가열-냉각-가열 일 때 결정화 온도는 57℃로 나타났다(도 3 및 도 4). TGA에서는 수화물 및 용매화물에서 나타나는 질량감소 구간은 확인되지 않았고, 110℃ 이후에서 분해되었을 때 나타나는 질량감소 구간만이 확인되었으며(도 5), XRD 패턴은 2Θ로 표시 하였을 경우, 약 2.5, 4.27, 8.56, 12.83, 17.15, 21.48, 25.86 및 30.27에서 피크가 확인되었고(도 6), 퓨리에 변환 적외선 분광 스펙트럼(FT-IR)은 약 3390cm^{-1}, 3113cm^{-1}, 3058cm^{-1}, 2970cm^{-1}, 2930cm^{-1}, 1746cm^{-1},

$1702cm^{-1}$, $1599cm^{-1}$, $1070cm^{-1}$의 위치에서 피크가 나타났다(도 7).

[0039] 이는 본 발명의 신규 AD 결정이 기존 AD 결정과 상이한 무수 결정형이라는 것을 의미한다.

산업이용 가능성

[0040] 이상 설명한 바와 같이, 본 발명에 따라 이온성 액체의 독특한 특성인 열 안정성, 비휘발성, 낮은 증기압 및 용매화물이 되지 않는 능력 등을 이용하여 용석결정화법을 통해 AD를 결정화하면, 새로운 무수결정형 AD, 즉 기존 결정형태 보다 물리화학적 및 약리적 안정성이 뛰어난 결정형태를 제조할 수 있게 된다.

도면의 간단한 설명

[0041] 도 1은 AD의 분자 구조를 나타내는 그림이다.

[0042] 도 2는 본 발명의 실시예에서 이온성 액체로 사용한 1-Allyl-3-ethylimidazolium Tetrafluoroborate($AEImBF_4$) 분자 구조를 나타내는 그림이다.

[0043] 도 3은 본 발명에 따른 무수결정형 AD에 대한 DSC의 가열-냉각-가열에 의한 흡열, 발열 전이 그래프이다.

[0044] 도 4는 본 발명에 따른 무수결정형 AD에 대한 DSC의 열 그래프이다.

[0045] 도 5는 본 발명에 따른 무수결정형 AD에 대한 TGA의 질량 감소 그래프이다.

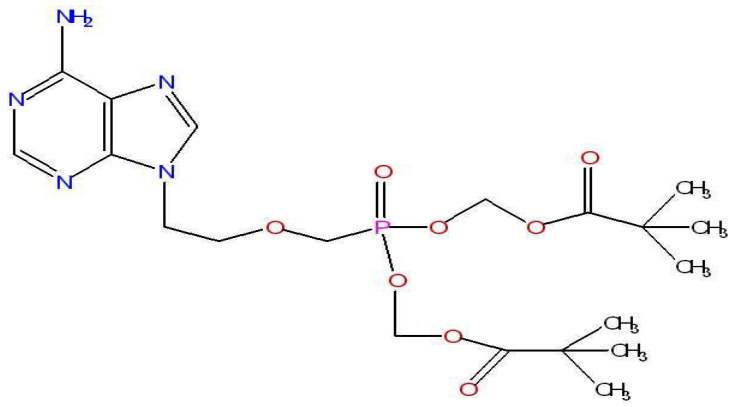
[0046] 도 6은 본 발명에 따른 무수결정형 AD에 대한 X-선 회절 패턴 그래프이다.

[0047] 도 7은 본 발명에 따른 무수결정형 AD에 대한 퓨리에 변환 스펙트럼이다.

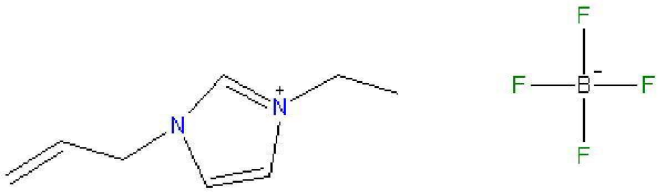
[0048] 도 8은 본 발명에 따른 무수결정형 AD를 현미경으로 관찰한 사진이다.

도면

도면1

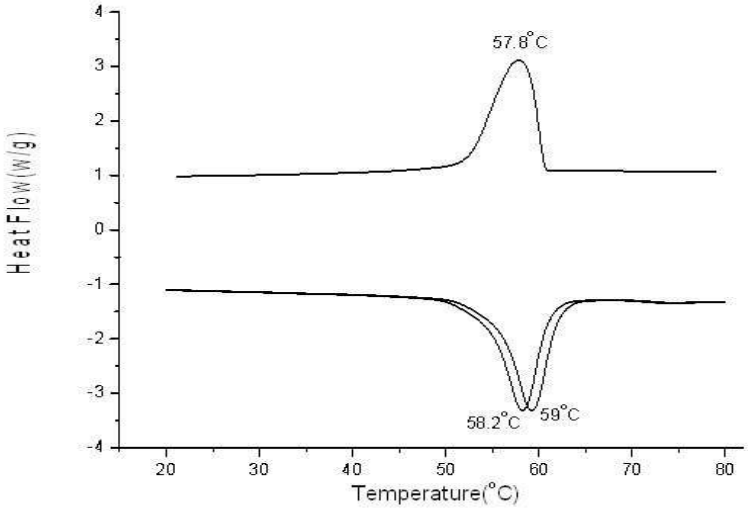


도면2

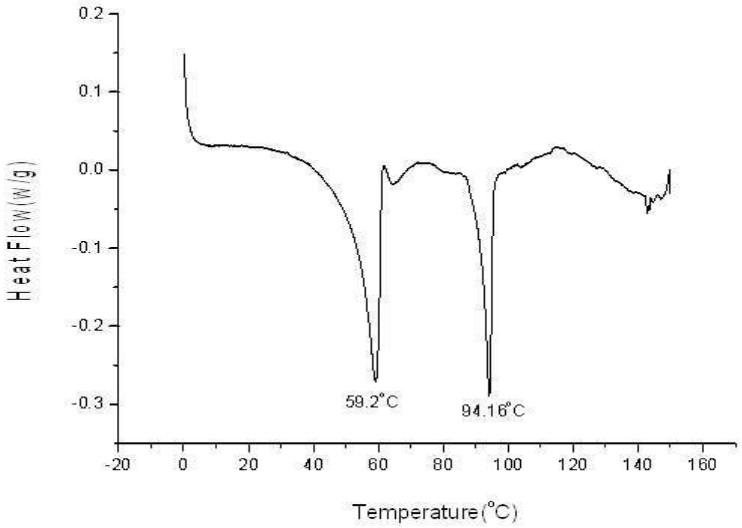


1-Allyl-3-ethylimidazolium tetrafluoroborate

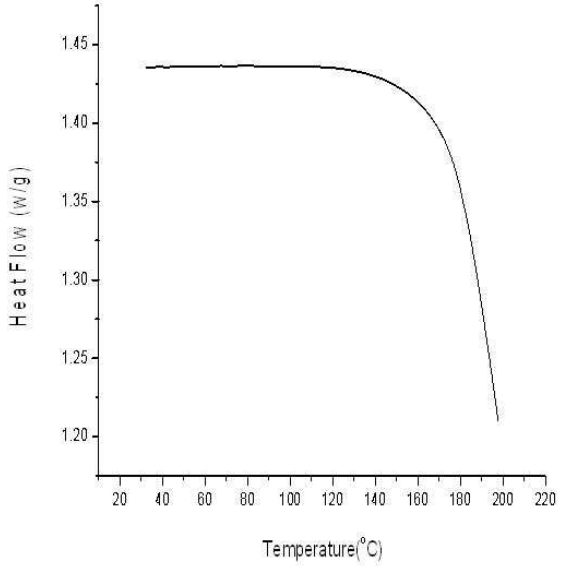
도면3



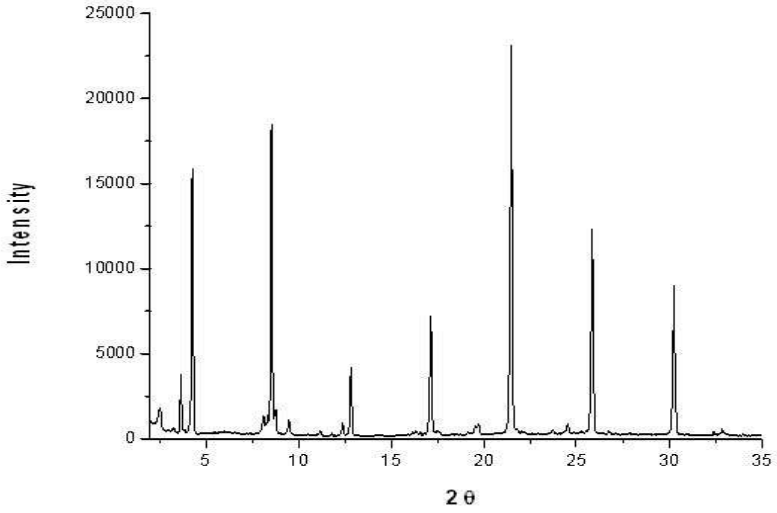
도면4


Heat Flow (W/g)
0.2
0.1
0.0
-0.1
-0.2
-0.3
59.2°C
94.16°C
-20
0
20
40
60
80
100
120
140
160
Temperature(°C)

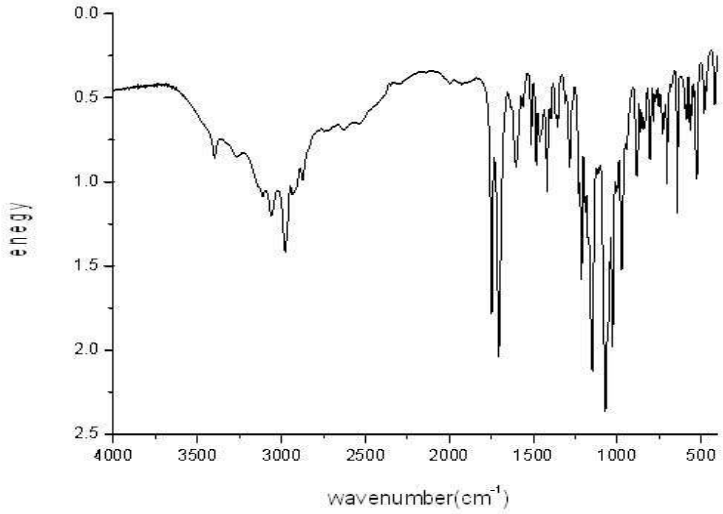
도면5


Heat Flow (W/g)
1.45
1.40
1.35
1.30
1.25
1.20
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
220
Temperature(°C)

도면6


Intensity
25000
20000
15000
10000
5000
0
5
10
15
20
25
30
35
2θ

도면7


enegy
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
wavenumber(cm-1)

도면8

