

보샤트토마스비
미국위스콘신주53158플레슨트프레리에#107스트리트828630

캐로스말론브이
미국일리노이주60016데스플레인스프레먼트이스트71

데사이수브하쉬
미국일리노이주60091월메트그린우드애브뉴1011

페로레오나드제이
미국일리노이주60035하이랜드파크프리스실라애브뉴3055

고드헨리타
미국일리노이주60201에반스톤링컨스트리트2809

겐서스코트
미국일리노이주60085파크시티스트리트83312

리틀클레이알
미국일리노이주60046린덴허스트파밍톤드라이브2870

무디팔리파르타에스
미국일리노이주60077스코키에캐롤스트리트4800아파트먼트1에이

피에즈마크에이
미국일리노이주60030그레이슬레이크크리스펠드드라이브182

필리파우스카스다니엘알
미국일리노이주60025글렌뷰할렘317

싱유엔-롱엘
미국미주리주63141세인트루이스햄머밀로드466

스타홀글렌엘
미국일리노이주60089버팔로그로브체리우드로드230

위엑조레크요셉제이
미국일리노이주60013캐리서리지드라이브504

얀크리스와이
미국일리노이주60061버논힐스

(74) 대리인

김태홍
김진희
신정건

심사관 : 최원철

(54) 증가된 용해 속도를 나타내는 결정형 에플레레논

요약

본 발명은 수성 매질에서 비교적 신속한 용해 속도를 갖는 알도스테론 수용체 길항물질 약물 에플레레논의 신규한 결정형 (H형)을 제공한다. 본 발명은 또한 탈용매화될 때 H형 에플레레논을 생성할 수 있는 신규한 용매화된 결정형 에플레레논을 제공한다. 본 발명은 또한 무정형 에플레레논도 제공한다. 본 발명은 또한 H형 에플레레논, 임의로 1종 이상의 다른 고체 상태형을 에플레레논의 총 단위 투여량 약 10 내지 약 1000 mg으로 포함하고, 추가로 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물도 제공한다. 본 발명은 H형 에플레레논을 제조하는 방법 및 H형 에플레레논을 포함하는 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 존재하는 에플레레논의 적어도 일부가 H형 에플레레논인 에플레레논의 치료학적으로 유효한 양을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 알도스테론이 매개하는 상태 또는 질환의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

대표도

도 1

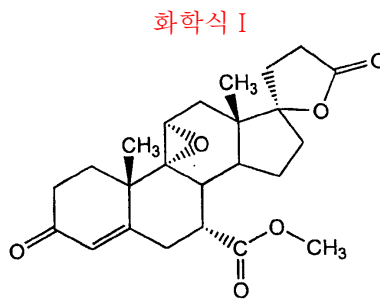
명세서

기술분야

본 발명은 알도스테론 수용체 길항물질, 더 구체적으로는 알도스테론 수용체 길항물질 에플레레논으로서 작용하는 약제 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 에플레레논의 신규한 결정형, 이 결정형을 제조하는 방법, 이 결정형을 포함하는 약학 조성물, 알도스테론에 의해 매개되는 상태 및/또는 질환(고혈압과 같은 과알도스테론증과 관련된 상태 및 질환을 포함)을 이 결정형을 사용하여 치료 및/또는 예방하는 방법 및 약의 제조에 이 결정형을 사용하는 용도에 관한 것이다.

배경기술

하기 화학식 I의 구조를 갖고, 에플레레논으로 알려진 γ -락톤인 화합물 메틸 수소 9,11-에폭시-17-히드록시-3-옥소프렌-4-엔-7,21-디카르복실레이트는 미국 특허 제4,559,332호(Grob 등)에 최초로 보고되었는데, 여기에는 9,11-에폭시 스테로이드 화합물 및 그 염이 개시되어 있다. 에플레레논은 알도스테론 수용체 길항물질이고, 알도스테론 수용체 길항물질의 사용이 처방되는 경우, 예컨대, 고혈압을 포함한 과알도스테론증, 심부전증을 포함한 심부전과 간의 경변증의 치료에 치료학적 유효량으로 투여될 수 있다.



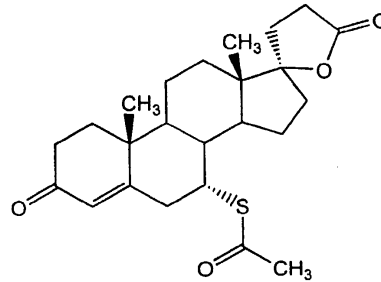
본원에 참고로 인용하는 상기 미국 특허 제4,559,332호는 일반적으로 에플레레논의 제조 및 에플레레논을 포함하는 약학 조성물의 제조에 대해 개시하고 있다. 에플레레논을 포함한 9,11-에폭시 스테로이드 화합물 및 그의 염의 또 다른 제조 방법은 국제 특허 공개 WO97/21720호 및 WO98/25948호에 개시되어 있다.

문헌[Grob 등(1997), "Steroidal aldosterone antagonists: increased selectivity of 9 α ,11-epoxy derivatives", *Helvetica Chimica Acta*, 80, 566-585]에는 염화메틸렌/디에틸 에테르 용매계로부터 에플레레논을 결정화하여 제조되는 에플레레논의 용매화물의 X-선 결정 구조 분석법이 개시되어 있다.

문헌[De Gasparo 등(1989), "Antialdosterones: incidence and prevention of sexual side effects", *Journal of Steroid Biochemistry*, 32(13), 223-227]에는 에플레레논의 단일 투여 연구에서 입자 크기가 20 μ m인 비제형화된 에플레레논의 용도가 개시되어 있다.

알도스테론 수용체 길항물질로서 작용하는 하기 화학식 II의 구조를 갖는 스피로노락톤 20-스피록산-스테로이드는 고혈압의 치료에 상업적으로 이용된다. 그러나, 스피로노락톤은 사람에게 여성형유방증 및 발기부전을 초래할 수 있는 항안드로젠 활성을 가진다. 스피로노락톤은 또한 여성에게 생리 불순을 초래할 수 있는 약한 황체호르몬 활성을 가진다. 따라서, 글루코코르티코이드, 프로그에스틴 및 안드로젠 스테로이드 수용체계와 같은 다른 스테로이드 수용체계와 상호작용하지 않고/않거나 더 넓은 치료 범위를 제공하는 에플레레논과 같은 또 다른 활성 알도스테론 수용체 길항물질의 개발에 관심이 기울여지고 있다.

화학식 II



문헌[Agafonov 등(1991), "Polymorphism of spironolactone", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(2), 181-185]에는 스피로노락톤의 아세토니트릴 용매화물, 에탄올 용매화물, 에틸 아세테이트 용매화물, 메탄올 용매화물 및 두 개의 비용매화된 동질이상(polymorphic) 결정형이 개시되어 있다. 문헌[Brittan(1999), *Polymorphism in Pharmaceutical Solids*, pp.114-116, 207, 235 및 261(Marcel Dekker)]에도 역시 스피로노락톤의 상기 고체 상태 형태가 개시되어 있다.

에플레레논은 수성 매질에서 매우 낮은 용해도를 갖고, 경구 투여형으로부터 위장관에서 약물의 방출은 종종 약물의 생체 이용성 및 보다 구체적으로는 경구 투여 이후의 치료 효과의 개시 속도에 대한 제한 인자이다.

발명의 상세한 설명

발명의 개요

수성 매질에서 비교적 신속한 용해 속도를 갖고, 에플레레논의 다른 고체 상태 형태에 비해 다른 특이한 성질을 갖는 에플레레논의 신규한 결정형이 본 발명에서 제공된다. 이 결정형은 이하에서 자세히 특징지어지지만, 편의상 "H 형태"로 언급된다.

본 발명은 제1 측면으로 에플레레논 자체의 상기 신규한 결정형 H를 제공한다. "L 형태"로 언급되는 또 다른 결정형과 H 형태를 구분하는 성질 중에서, H형은 사방정계, 12.0 ± 0.2 도 2θ 에서 피크를 갖는 X-선 분말 회절 패턴 및 약 247°C ~ 251°C 범위의 용점을 나타낸다.

제2 측면으로, 본 발명은 적어도 검출 가능한 양으로 H형 에플레레논을 포함하는 에플레레논 약물을 제공한다.

제3 측면으로, 본 발명은 실질적으로 상이 순수한 H형 에플레레논인 에플레레논 약물을 제공한다. 여기서, "상이 순수한 (phase pure)"이란 용어는 에플레레논의 다른 고체 상태 형태와 관련한 순도를 말하며, 반드시 다른 화합물과 관련하여 고도한 화학적 순도를 의미하는 것은 아니다.

제4의 측면으로, 본 발명은 탈용매화될 때 H형 에플레레논을 생성할 수 있는 에플레레논의 용매화된 결정형을 제공한다.

제5의 측면으로, 본 발명은 에플레레논 약 10~약 1000 mg의 총 단위 투여량으로 에플레레논의 하나 이상의 다른 고체 상태 형태를 수반할 수도 있는 H형 에플레레논을 포함하고, 추가로 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.

제6의 측면에서, 본 발명은 H형 에플레레논을 제조하는 방법 및 H형 에플레레논을 포함하는 조성물의 제조 방법을 제공한다.

제7의 측면에서, 본 발명은 존재하는 에플레레논의 적어도 한 분획이 H형 에플레레논인 치료학적 유효량의 에플레레논을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 알도스테론이 매개하는 상태 또는 질환의 예방 및/또는 치료 방법을 제공한다.

본 발명의 또 다른 측면은 본원의 명세서 전반에 걸쳐 논의된다.

도면의 간단한 설명

도 1은 H형 에플레레논의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 2는 L형 에플레레논의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 3은 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 4는 에플레레논의 n-프로필 알콜 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 5는 에플레레논의 테트라히드로퓨란 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 6은 에플레레논의 에틸 프로피오네이트 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 7은 에플레레논의 아세트산 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 8은 에플레레논의 아세톤 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 9는 에플레레논의 톨루엔 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 10은 에플레레논의 이소프로판올 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 11은 에플레레논의 에탄올 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 12는 에플레레논의 이소부틸 아세테이트 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 13은 에플레레논의 n-부틸 아세테이트 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 14는 에플레레논의 메틸 아세테이트 용매화물의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 15는 메틸 에틸 케톤으로부터 직접 결정화되는 비분쇄된 L형 에플레레논의 시차 주사 열계량법(DSC) 열분석도를 도시한 것이다.

삭제

도 16은 메틸 에틸 케톤으로부터 고순도 에플레레논의 결정화에 의해 얻어지는 용매화물의 탈용매화에 의해 제조되는 비분쇄된 L형 에플레레논의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 17은 메틸 에틸 케톤으로부터 고순도 에플레레논의 결정화에 의해 얻어지는 용매화물의 탈용매화 생성물을 분쇄하여 제조되는 L형 에플레레논의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 18은 적당한 용매로부터 저순도 에플레레논의 분해에 의해 얻어지는 용매화물의 탈용매화에 의해 제조되는 비분쇄된 H형 에플레레논의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 19는 에플레레논의 n-프로필 알콜 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 20은 에플레레논의 테트라히드로퓨란 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 21은 에플레레논의 에틸 프로피오네이트 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 22는 에플레레논의 아세트산 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 23은 에플레레논의 클로로포름 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 24는 에플레레논의 아세톤 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 25는 에플레레논의 톨루엔 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 26은 에플레레논의 이소프로판올 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 27은 에플레레논의 에탄올 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 28은 에플레레논의 t-부틸 아세테이트 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 29는 에플레레논의 이소부틸 아세테이트 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 30은 에플레레논의 n-부틸 아세테이트 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 31은 에플레레논의 메틸 아세테이트 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 32는 에플레레논의 프로필 아세테이트 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 33은 에플레레논의 n-부탄올 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 34는 에플레레논의 n-옥탄올 용매화물의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.
 도 35는 H형 에플레레논의 적외선(IR) 스펙트럼(DRIFT)을 도시한 것이다.

삭제

도 36은 L형 에플레레논의 IR 스펙트럼(DRIFT)을 도시한 것이다.

도 37은 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 IR 스펙트럼(DRIFT)을 도시한 것이다.

도 38은 클로로포름 용액에서의 에플레레논의 IR 스펙트럼(DRIFT)을 도시한 것이다.

도 39는 에플레레논의 n-프로필 알콜 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 40은 에플레레논의 테트라히드로푸란 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 41은 에플레레논의 에틸 프로피오네이트 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 42는 에플레레논의 아세톤 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 43은 에플레레논의 톨루엔 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 44는 에플레레논의 이소프로판올 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 45는 에플레레논의 에탄올 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 46은 에플레레논의 이소부틸 아세테이트 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 47은 에플레레논의 n-부틸 아세테이트 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 48은 에플레레논의 프로필 아세테이트 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 49는 에플레레논의 메틸 아세테이트 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 50은 에플레레논의 프로필렌 글리콜 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 51은 에플레레논의 t-부틸 아세테이트 용매화물의 IR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 52는 H형 에플레레논의 ¹³C NMR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 53은 L형 에플레레논의 ¹³C NMR 스펙트럼을 도시한 것이다.

도 54는 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 55는 에플레레논의 n-프로필 알콜 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 56은 에플레레논의 테트라히드로푸란 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 57은 에플레레논의 에틸 프로피오네이트 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 58은 에플레레논의 아세트산 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 59는 에플레레논의 클로로포름 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 60은 에플레레논의 아세톤 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 61은 에플레레논의 톨루엔 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 62는 에플레레논의 이소프로판올 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 63은 에플레레논의 에탄올 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 64는 에플레레논의 이소부틸 아세테이트 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 65는 에플레레논의 n-부틸 아세테이트 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 66은 에플레레논의 메틸 아세테이트 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 67은 에플레레논의 n-프로필 아세테이트 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 68은 에플레레논의 프로필렌 글리콜 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 69는 에플레레논의 n-부탄올 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 70은 에플레레논의 n-옥탄올 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 71은 에플레레논의 t-부틸 아세테이트 용매화물의 열무게 측정 분석 프로필을 도시한 것이다.

도 72는 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 탈용매화에 의해 제조된 L형 에플레레논의 주사 전자 현미경 사진이다.

도 73은 에틸 아세테이트로부터 직접 결정화에 의해 제조된 L형 에플레레논의 주사 전자 현미경 사진이다.

도 74는 메틸 에틸 케톤으로부터 분리된 7-메틸 수소 4a,5a;9a,11a-디에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그난-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤("디에폭사이드")의 결정형의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 75는 이소프로판올로부터 분리된 7-메틸 수소 11a,12a-에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그-4-엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤("11,12-에폭사이드")의 결정형의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 76은 n-부탄올로부터 분리된 7-메틸 수소 17-히드록시-3-옥소-17a-프레그나-4,9(11)-디엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤("9,11-올레핀")의 결정형의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 77은 서로 상이 바뀌는 것과 관련된 동질이상체에 대한 깃스 자유 에너지와 온도 사이의 관계를 예시한 것이다.

도 78은 (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% 및 (d) 5% 디에폭사이드가 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻어진 메틸 에틸 케톤 용매화물 흡윤 케이크의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 79는 (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% 및 (d) 5% 디에폭사이드가 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻어진 건조된 고체에 대한 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 80은 디에폭사이드가 3% 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 건조된 고체에 대한 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것으로서, (a)는 건조 전에 용매화물의 연마가 없는 경우이고, (b)는 그러한 연마가 있는 경우이다.

도 81은 (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% 및 (d) 10% 11,12-에폭사이드가 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻어진 메틸 에틸 케톤 용매화물 흡윤 케이크의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 82는 (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% 및 (d) 10% 11,12-에폭사이드가 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻어진 건조된 고체의 X-선 분말 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 83은 실시예 7의 표 7a에 보고된 데이터를 기준으로 생성물 순도, 출발 물질 순도, 냉각 속도 및 종말점 온도의 입방 플롯을 도시한 것이다.

도 84는 생성물 순도에 통계적으로 유의 수준의 효과를 미치는 변수들을 결정하기 위해 도 83의 입방 플롯을 사용하여 작성된 절반 정규분포 플롯을 도시한 것이다.

도 85는 생성물 순도에 미치는 효과에 있어서 출발 물질 순도와 냉각 속도 사이의 상호작용을 나타내는 실시예 7의 표 7a에 보고된 데이터를 기준으로 한 상호작용 그래프이다.

도 86은 실시예 7의 표 7a에 보고된 데이터를 기준으로 H형 중량 분율, 출발 물질 순도, 냉각 속도 및 종말점 온도의 입방 플롯을 도시한 것이다.

도 87은 H형 중량 분율에 통계적으로 유의 수준의 효과를 미치는 변수들을 결정하기 위해 도 86의 입방 플롯을 사용하여 작성된 절반 정규분포 플롯을 도시한 것이다.

도 88은 H형 중량 분율에 미치는 효과에 있어서 출발 물질 순도와 종말점 온도 사이의 상호작용을 나타내는 실시예 7의 표 7a에 보고된 데이터를 기준으로 한 상호작용 그래프이다.

도 89는 무정형 에플레레논의 X-선 회절 패턴을 도시한 것이다.

도 90은 무정형 에플레레논의 DSC 열분석도를 도시한 것이다.

도 91은 4개의 에플레레논 동질이상 샘플에 대해 측정된 용해 속도를 도시한 것이다.

발명의 상세한 설명

모든 약학 화합물 및 조성물의 경우와 같이, 에플레레논의 화학적 및 물리적 성질은 그 상업적 개발에 있어 중요하다. 그러한 성질로는 (1) 몰 부피, 밀도 및 흡습성과 같은 충전 성질, (2) 용점, 증기압 및 용해도와 같은 열역학적 성질, (3) 용해 속도 및 안정성(주변 온도에서, 특히 습기에 대해 및 보관 조건 하에서의 안정성을 포함)과 같은 역학적 성질, (4) 표면적, 습윤성, 계면 장력 및 형상과 같은 표면 성질, (5) 경도, 인장강도, 압축성, 취급, 유동 및 혼합과 같은 기계적 성질, 및 (6) 여과 성질을 들 수 있으나, 이에 국한되지 않는다. 이러한 성질들은 예컨대, 에플레레논을 포함하는 약학 조성물의 가공 및 보관에 영향을 끼칠 수 있다. 다른 고체 상태 에플레레논형에 비해 상기 성질 중의 하나 이상을 개선시키는 고체 상태형의 에플레레논이 바람직하다.

본 발명에 따르면, 에플레레논의 신규한 고체 상태 형태가 제공된다. 구체적으로, 그러한 형태로는 다양한 용매화된 결정성 형태, 2종 이상의 비용매화된 및 비수화된 결정성 형태("H형" 및 "L형"으로 명명함) 및 무정형의 에플레레논이 있다. 본원에 기재된 에플레레논의 각각의 고체 상태 형태는 본원에 기재되거나 다른 문헌에 개시된 다른 고체 상태 형태에 비해 유리한 전술한 화학적 및/또는 물리적 성질을 하나 이상 가진다. H형 및 L형은 본원에서 주장된 우선권 증명서류에 각각 "I형" 및 "II형"으로 언급되어 있고, 때로는 각각 "고용점 동질이상체" 및 "저용점 동질이상체"로 설명된다.

본 발명은 H형 에플레레논에 관한 것이다. H형은 예컨대, L형보다 호변성 전이 온도(아래에서 논의함) 이하의 온도에서 수성 매질에서 더 빠른 용해 속도(대략 30% 더 빠름)를 나타낸다. 위장관에서의 에플레레논의 용해가 표적 세포 또는 조직으로의 에플레레논의 전달을 위한 속도 제어 단계인 경우에는, 용해가 빠를수록 일반적으로 생체 이용성이 개선된다. 그러므로, H형은 L형에 비해 개선된 생체 이용성 프로필을 산출한다. 또한, 더 빠른 용해 속도를 가진 고체 상태형의 에플레레논을 선택하면, 더 느린 용해 속도를 가진 다른 고체 상태형에 비해 약학 조성물, 특히 에플레레논의 즉시 방출을 나타낼 것으로 의도된 약학 조성물에 대한 부형제의 선택에 있어서 및 그 조성물의 제형화에 있어 더 큰 융통성을 얻을 수 있다.

L형 에플레레논은 또한 다른 고체 상태형에 비해 장점을 가진다. 구체적으로, 그것은 예컨대, H형보다 호변성 전이 온도(후술함) 이하의 온도에서 더 큰 물리적 안정성을 보유한다. 특별한 가공 또는 보관 조건을 요하지 않고, 빈번한 재고 대체를 필요로 하지 않는 L형과 같은 고체 상태형의 에플레레논이 바람직하다. 예컨대, 제조 공정 중에(예컨대, 감소된 입자 크기 및 증가된 표면적을 얻기 위한 에플레레논의 분쇄 중에) 물리적으로 안정한 에플레레논의 고체 상태형을 선택함으로써, 특별한 가공 조건 및 그러한 특별한 가공 조건과 일반적으로 관련된 증가된 비용을 피할 수 있다. 유사하게, 광범위한 보관 조건(특히, 에플레레논 생성물의 수명 기간 중에 일어날 수 있는 상이한 가능한 보관 조건을 고려하여)에 걸쳐 물리적으로 안정한 고체 상태형의 에플레레논의 선택함으로써, 생성물 손실 또는 생성물 효능의 악화를 초래할 수 있는 에플레레논에서의 동질이상 또는 기타 분해성 변화를 피할 수 있다. 그러므로, 보다 큰 물리적 안정성을 가진 L형과 같은 고체 상태형의 에플레레논을 선택하면 덜 안정적인 에플레레논 형에 비해 의미 있는 이득을 얻을 수 있다.

H형 에플레레논은 또한 다른 고체 상태형에 비해 장점을 가진다. 구체적으로, 그것은 호변성 전이 온도(아래에서 논의함) 이하의 온도에서 예컨대, L형 에플레레논보다 수성 매질에서 더 빠른 용해 속도(약 30% 더 빠름)를 나타낸다.

본 발명은 또한 용매화된 결정형의 에플레레논에 관한 것이다. 이러한 용매화된 형태는 H형 및 L형 에플레레논의 제조에 있어 중간체로서 유용하고; 본 발명에서 특별한 관심이 있는 것은 탈용매화될 때 H형 에플레레논을 생성할 수 있는 용매화된 결정형의 에플레레논이다. 중간체로서 용매화된 결정형을 사용하는 것에서 얻는 구체적인 이득은 본원에서 나중에 논의되는 바와 같이 탈용매화시에 초래되는 결정의 "고유의 초미분쇄(intrinsic micronizing)"이다. 그러한 "고유의 초미분쇄"는 분쇄 요건을 감소 또는 제거할 수 있다. 또한, 추가의 분쇄가 여전히 요구되는 경우에, 용매화된 결정형의 탈용매화 후에 H형 또는 L형을 분쇄하는 것보다 탈용매화 단계 전에 특정 용매화물을 분쇄하기가 더 용이하다.

에플레레논의 약학적으로 허용 가능한 용매화된 결정형은 약학 조성물에 직접 사용할 수도 있다. 일 양태로, 그러한 조성물의 직접 제조에 유용한 용매화된 결정형은 염화메틸렌, 이소프로판올 또는 에틸 에테르를 포함하지 않으며; 또 다른 양태에서는 염화메틸렌, 이소프로판올, 에틸 에테르, 메틸 에틸 케톤 또는 에탄올을 포함하지 않으며; 또 다른 양태에서는 염화메틸렌, 이소프로판올, 에틸 에테르, 메틸 에틸 케톤, 에탄올, 에틸 아세테이트 또는 아세톤을 포함하지 않는다. 이 용도로 가장 바람직하게는 용매화된 결정형의 에플레레논이 약학적으로 허용 가능한 용매가 아닌 용매를 실질적으로 배제한다.

약학 조성물에 사용되는 용매화된 결정형은 일반적으로 및 바람직하게는 부탄올(이에 국한하지 않음)과 같은 약학적으로 허용 가능한 고비등점 및/또는 수소 결합 용매를 포함한다. 용매화된 결정형은 총괄적으로 일정 범위의 상이한 용해 속도를 제공할 수 있고, 위장관에서의 에플레레논의 용해가 표적 세포 또는 조직으로의 에플레레논의 전달을 위한 속도 제어 단계인 경우에는, H형 또는 L형에 비해 일정 범위의 상이한 생체 이용성을 제공할 수 있는 것으로 생각된다.

본 발명은 또한 무정형 에플레레논에 관한 것이다. 무정형 에플레레논은 H형 및 L형 에플레레논의 제조에 있어 중간체로서 유용하다. 또한, 무정형 에플레레논은 상이한 용해 속도를 가지며, 무정형 에플레레논이 약학 조성물에 존재하는 경우 및 위장관에서의 에플레레논의 용해가 표적 세포로의 에플레레논의 전달을 위한 속도 제어 단계인 경우에는 그러한 무정형 에플레레논이 H형 및 L형에 비해 상이한 생체 이용성을 제공할 수 있는 것으로 생각된다.

H형 에플레레논, L형 에플레레논, 용매화된 결정형 에플레레논 및 무정형 에플레레논으로 구성되는 군에서 선택된 고체 상태형의 조합물에도 관심이 기울여진다. 그러한 조합물은 예컨대, 제어 방출형 조성물을 비롯하여 다양한 용해 프로필을 가진 약학 조성물의 제조에 유용하다. 본 발명의 일 양태에서, 고체 상태형의 조합물은 H형 에플레레논을 적어도 검출 가능한 양으로 포함하고, 나머지는 L형 에플레레논, 용매화된 결정형 에플레레논 및 무정형 에플레레논으로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 고체 상태형을 포함하는 것으로 제공된다.

고체 상태형 에플레레논의 의도된 용도에 따라, 가공 조건은 특정 고체 상태형 또는 그러한 고체 상태형의 특이적 조합의 선택을 선호할 수 있다. 예컨대, 상이 순수한 L형은 일반적으로 상이 순수한 H형보다 더 용이하게 제조된다. 그러나, H형 및 L형의 혼합물은 일반적으로 상이 순수한 L형보다 더 용이하게 제조되며, 비교적 낮은 화학적 순도를 가진 에플레레논 출발 물질의 사용을 허용한다. 조성물에 H형 또는 L형 대신에 용매화된 결정형을 사용하면, 용매화된 결정형의 탈용매화에 의해 진행되는 그러한 공정에 대해 가공 단계, 즉 탈용매화 단계가 생략된다. 한편, 탈용매화 단계는 예컨대, L형이 중간체 용매화된 결정형의 제조 및 탈용매화를 간섭하지 않고 적당한 용매로부터 직접 결정화되면 생략할 수 있다. 그러한 공정은 아래에서 더 상세히 설명한다.

정의

본원에서 에플레레논에 적용되는 "무정형(amorphous)"이란 용어는 에플레레논 분자가 무질서한 배열로 존재하고, 구별 가능한 결정 격자 또는 단위 셀을 형성하지 않는 고체 상태를 의미한다. X-선 분말 회절에 적용될 때, 무정형 에플레레논은 어떠한 특징적인 결정성 피크를 나타내지 않는다.

본원에서 물질 또는 용액의 비등점과 관련하여 언급되는 경우, "비등점"이란 적용 가능한 공정 조건 하에 물질 또는 용액의 비등점을 의미한다.

본원에서 에플레레논에 적용되는 "결정형(crystalline form)"이란 용어는 에플레레논 분자가 (i) 구별 가능한 단위 셀을 포함하고, (ii) X-선을 조사시킬 때 회절 피크를 산출하는 구별 가능한 결정 격자를 형성하도록 배열되는 고체 상태를 의미한다.

본원에 사용된 "결정화"란 용어는 에플레레논 출발 물질의 제조와 관련한 적용 가능한 환경에 따라 결정화 및/또는 재결정화를 의미할 수 있다.

본원에서 "분해(digestion)"란 용어는 용매 또는 용매 혼합물 중의 고체 에플레레논의 슬러리가 적용 가능한 공정 조건 하에 용매 또는 용매 혼합물의 비등점에서 가열되는 공정을 의미한다.

본원에 사용된 "직접 결정화"란 용어는 에플레레논의 중간체 용매화된 결정성 고체 상태형의 형성 및 탈용매화 없이 적당한 용매로부터 에플레레논이 직접 결정화되는 것을 의미한다.

본원에 사용된 "에플레레논 약물"은 이 용어가 사용되는 문맥에 의해 한정되는 바와 같은 그대로의 에플레레논을 의미하고, 약학 조성물의 성분으로서 존재하는 에플레레논 또는 비제형화된 에플레레논을 의미할 수 있다.

본원에 사용된 "입자 크기"란 용어는 레이저 광 산란, 침강 장 흐름분획법, 광자 상관 분광법 또는 디스크 원심분리와 같이 당해 분야에 널리 알려진 통상의 입자 크기 측정 기법으로 측정되는 입자 크기를 의미한다. "D₉₀ 입자 크기"란 입자의 90 중량%가 그러한 통상의 입자 크기 측정 기법으로 측정되는 D₉₀ 입자 크기보다 더 작게 되도록 하는 입자 크기이다.

"DSC"란 시차 주사 열계량법을 의미한다.

"HPLC"란 고압 액체 크로마토그래피를 의미한다.

"IR"이란 적외선을 의미한다.

본원에서 "순도"란 달리 한정하지 않는 한 통상의 HPLC 분석에 따른 에플레레논의 화학적 순도를 의미한다. 본원에 사용된 "저순도 에플레레논"이란 일반적으로 H형 결정 성장 촉진자 및/또는 L형 결정 성장 억제자의 유효량을 함유하는 에플레레논을 의미한다. 본원에 사용된 "고순도 에플레레논"이란 일반적으로 H형 결정 성장 촉진자 및/또는 L형 결정 성장 억제자의 유효량 미만을 함유하거나, 이들을 함유하지 않는 에플레레논을 의미한다.

"상 순도(phase purity)"란 용어는 본원에 기술하는 적외선 분광 분석 방법으로 측정되는 에플레레논의 구체적인 결정형 또는 무정형과 관련한 에플레레논의 고체 상태 순도를 의미한다.

"XRPD"란 X-선 분말 회절을 의미한다.

"rpm"이란 분당 회전수를 의미한다.

"TGA"란 열무게 측정 분석을 의미한다.

" T_m "이란 용점 온도를 의미한다.

결정형의 특성

1. 분자 형태

단결정 X-선 분석은 에플레레논의 분자 형태가 H형과 L형이 특히, 스테로이드 고리의 7-위치에서 에스테르 기의 배향과 관련하여 상이함을 나타낸다. 에스테르 기의 배향은 C8-C7-C23-O1 비틀림각에 의해 한정될 수 있다.

H형 결정 격자에서, 에플레레논 분자는 에스테르의 메톡시 기가 7-위치에서 C-H 결합으로 대략 정렬되고, 카르보닐 기가 B-스테로이드 고리 중앙에 걸쳐 대략 위치하는 형태를 취한다. C8-C7-C23-O1 비틀림각은 이 형태에서 대략 -73.0° 이다. 이 배향에서, 에스테르 기의 카르보닐 산소 원자(O1)는 9,11-에폭사이드 고리의 산소 원자(O4)와 가까이 접촉하고 있다. O1-O4 거리는 약 2.97\AA 인데, 이것은 반 데르 발스 접촉 거리 3.0\AA (산소 원자에 대한 반 데르 발스 반경이 1.5\AA 으로 가정하면) 바로 아래의 값이다.

L형 결정 격자에서, 에플레레논 분자는 에스테르 기가 H형의 그것에 비해 약 150° 회전되고, C8-C7-C23-O1 비틀림각이 대략 $+76.9^\circ$ 인 형태를 취한다. 이 배향에서, 에스테르의 메톡시 기는 A-스테로이드 고리의 4,5-알켄 분절을 향해 있다. 이 배향에서, 에스테르 기의 산소 원자(O1,O2)와 9,11-에폭사이드 고리의 산소 원자(O4) 사이의 거리는 H형에 대해 측정된 거리에 비해 증가된다. O2-O4 거리는 반 데르 발스 접촉 거리 바로 위에 속하는 대략 3.04\AA 이다. O1-O4 거리는 약 3.45\AA 이다.

현재까지의 단결정 X-선 회절에 의해 분석되는 용매화된 결정형에서, 에플레레논 분자는 L형의 형태 특성을 취하는 것으로 보인다.

2. X-선 분말 회절

에플레레논의 다양한 결정형을 시멘스(Siemens) D5000 분말 회절기 또는 이벨 다목적 회절기로 분석하였다. 시멘스 D5000 분말 회절기의 경우, 초기 데이터가 $2\theta(2\text{ 세타})$ 값에 대해 단계 0.020 및 단계 기간 $2\text{ 초로 } 2$ 내지 50 으로 측정되었다. 이벨 다목적 회절기의 경우는, 샘플을 알루미늄 샘플 홀더에 배치하고, 모든 2θ 값에서 30분 동안 동시에 초기 데이터를 수집하였다.

표 1A, 1B 및 1C는 각각 H형(저순도 에플레레논의 분해에 의해 얻어지는 에탄올 용매화물의 탈용매화에 의해 제조), L형(고순도 에플레레논의 결정화에 의해 얻어지는 메틸 에틸 케톤 용매화물의 탈용매화에 의해 제조) 및 메틸 에틸 케톤 용매화물(메틸 에틸 케톤 중에서 고순도 에플레레논의 실온 슬러리 전환에 의해 제조) 결정형의 에플레레논에 대한 2θ 값 및 강도에서의 주 피크의 중요한 매개변수를 제시한다(파장 1.54056\AA 의 X-선).

피크 위치 설정에서의 작은 이동이 H형 및 L형 제조 경로와 관련된 결정 회절판의 간격에서의 불완전(즉, 용매화물의 탈용매화)의 결과로서 H형 및 L형의 회절 패턴에 존재할 수 있다. 또한, H형은 미정제 에플레레논의 분해에 의해 제조된 용매화물로부터 분리된다. 이 방법은 H형의 전체 화학적 순도가 더 낮아지게 한다(대략 90%). 마지막으로, 에플레레논의 용매화된 형태는 결정 격자에서 용매 채널 내의 용매 분자의 증가된 이동성으로 인해 회절 피크의 위치 설정에서 약간의 이동을 나타낼 것으로 예상된다.

[표 1A]

X-선 회절 데이터, H형

각도 2θ	d-간격 Å	강도 Cps	강도 %
6.994	12.628	1188	7.2
8.291	10.655	2137	13.0
10.012	8.827	577	3.5
11.264	7.849	1854	11.3
12.040	7.344	7707	46.8
14.115	6.269	3121	19.0
14.438	6.130	15935	96.8
15.524	5.703	637	3.9
16.169	5.477	1349	8.2
16.699	5.305	1663	10.1
16.940	5.230	1692	10.3
17.147	5.167	2139	13.0
17.660	5.018	6883	41.8
17.910	4.949	16455	100.0
18.379	4.823	3106	18.9
18.658	4.752	1216	7.4
19.799	4.480	1499	9.1
20.235	4.385	383	2.3
21.707	4.091	1267	7.7
21.800	4.073	1260	7.7
21.959	4.044	1279	7.8
22.461	3.955	4264	25.9
23.191	3.832	1026	6.2
23.879	3.723	1000	6.1

각도 2θ	d-간격 Å	강도 Cps	강도 %
24.599	3.616	1688	10.3
25.837	3.445	931	5.7
26.034	3.420	686	4.2
26.868	3.316	912	5.5
27.093	3.288	1322	8.0
27.782	3.209	1236	7.5
28.340	3.147	1845	11.2
28.861	3.091	957	5.8
29.866	2.9892	745	4.5
30.627	2.9166	992	6.0
31.108	2.8726	1205	7.3
33.215	2.6951	1287	7.8
33.718	2.6560	802	4.9
34.434	2.6024	914	5.6

[표 1B]

X-선 회절 데이터, L형

각도 2θ	d-간격 Å	강도 Cps	강도 %
7.992	11.054	11596	26.6
10.044	8.799	12048	27.6
11.206	7.889	4929	11.3
12.441	7.109	1747	4.0
12.752	6.936	4340	9.9
13.257	6.673	2444	5.6
14.705	6.019	43646	100
15.460	5.727	2670	6.1
15.727	5.630	7982	18.3
16.016	5.529	3519	8.1
17.671	5.015	8897	20.4
17.900	4.951	2873	6.6
18.352	4.830	612	1.4
18.703	4.740	689	1.6
19.524	4.543	1126	2.6
20.103	4.413	3753	8.6
20.630	4.302	1451	3.3
21.067	4.214	876	2.0
21.675	4.097	2760	6.3
22.232	3.995	1951	4.5
22.652	3.922	1657	3.8
23.624	3.763	827	1.9
24.279	3.663	1242	2.8
25.021	3.556	5144	11.8
25.485	3.492	1702	3.9
25.707	3.463	2493	5.7

각도 2θ	d-간격 Å	강도 Cps	강도 %
26.251	3.392	1371	3.1
26.850	3.318	1970	4.5
27.319	3.262	1029	2.4
27.931	3.192	440	1.0
27.969	3.187	440	1.0
28.937	3.083	1128	2.6
29.703	3.005	1211	2.8
30.173	2.9594	1506	3.5
30.584	2.9206	1602	3.7
30.885	2.8928	1550	3.6
31.217	2.8628	1068	2.4
31.605	2.8285	1038	2.4
32.059	2.7895	1211	2.8
32.640	2.7412	684	1.6
32.747	2.7324	758	1.7
33.460	2.6759	506	1.2
34.194	2.6201	1085	2.5
34.545	2.5943	915	2.1

[표 1C]

X-선 회절 데이터, 메틸 에틸 케톤 용매화물

각도 2θ	d-간격 Å	강도 Cps	강도 %
7.584	11.648	5629	32.6
7.753	11.393	15929	92.3
10.151	8.707	2877	16.7
11.310	7.817	701	4.1
12.646	6.994	1027	5.9
13.193	6.705	15188	88.0
13.556	6.526	14225	82.4
14.074	6.287	1966	11.4
14.746	6.002	2759	16.0
15.165	5.837	801	4.6
15.548	5.694	1896	11.0
17.031	5.202	7980	46.2
17.280	5.127	17267	100.0
17.706	5.005	6873	39.8
18.555	4.778	545	3.2
18.871	4.699	1112	6.4
19.766	4.488	1704	9.9
20.158	4.401	1396	8.1
20.725	4.282	2644	15.3
21.787	4.076	1127	6.5
22.060	4.026	451	2.6
22.864	3.886	1542	8.9

각도 2θ	d-간격 Å	강도 Cps	강도 %
23.412	3.796	14185	82.2
23.750	3.743	1154	6.7
24.288	3.662	3063	17.7
25.253	3.524	1318	7.6
25.503	3.490	1736	10.1
25.761	3.455	1225	7.1
26.176	3.402	1346	7.8
26.548	3.355	1098	6.4
27.357	3.257	1944	11.3
27.605	3.229	2116	12.3
27.900	3.195	858	5.0
28.378	3.142	583	3.4
28.749	3.103	763	4.4
29.300	3.046	1182	6.8
29.679	3.008	2606	15.1
30.402	2.9377	2184	12.6
30.739	2.9063	648	3.8

에플레레논의 H형, L형 및 메틸 에틸 케톤 용매화물 결정형에 대한 X-선 회절 패턴의 그래프의 예가 각각 도 1, 2 및 3에 도시되어 있다. H형은 7.0 ± 0.2 , 8.3 ± 0.2 및 12.0 ± 0.2 도 2θ에서 구별되는 피크를 나타낸다. L형은 8.0 ± 0.2 , 12.4 ± 0.2 , 12.8 ± 0.2 및 13.3 ± 0.2 도 2θ에서 구별되는 피크를 나타낸다. 메틸 에틸 케톤 용매화된 결정형은 7.6 ± 0.2 , 7.8 ± 0.2 및 13.6 ± 0.2 도 2θ에서 구별되는 피크를 나타낸다.

X-선 회절 패턴의 예는 에플레레논의 다음 용매화물 결정형에 대해 도 1 내지 14에 도시되어 있다: 각각 n-프로필 알콜 용매화물, 테트라히드로퓨란 용매화물, 에틸 프로피오네이트 용매화물, 아세트산 용매화물, 아세톤 용매화물, 톨루엔 용매화물, 이소프로판올 용매화물, 에탄올 용매화물, 이소부틸 아세테이트 용매화물, n-부틸 아세테이트 용매화물, 및 메틸 아세테이트 용매화물.

3. 용점/분해 온도

비용매화된 에플레레논 결정형의 용점 및/또는 분해 온도는 TA 장치 2920 시차 주사 열계량법을 사용하여 측정하였다. 각 샘플은 1~2 mg의 양으로 밀봉 또는 비밀봉 알루미늄 팬에 넣고 가열하여 약 10°C/분의 온도 증가율을 얻었다. 용점/분해 온도 범위는 용점/분해 흡열 반응의 외삽된 개시치로부터 최대치까지 규정되었다.

H형 및 L형 에플레레논의 용융은 결정 격자로부터 포집된 용매의 손실 및 화학적 분해와 관련이 있었다. 용점/분해 온도는 또한 분석 전에 고체의 처리에 의해 영향을 받았다. 예컨대, 적당한 용매로부터 직접 결정화에 의해 제조되거나 또는 적당한 용매나 용매 혼합물 중에서 고순도 에플레레논의 결정화로부터 얻어진 용매화물의 탈용매화로부터 제조된 D₉₀ 입자 크

기가 약 180~450 μm 인 비분쇄된 L형은 일반적으로 용점/분해 온도 범위가 약 237 $^{\circ}\text{C}$ 내지 약 242 $^{\circ}\text{C}$ 였다. 적당한 용매나 용매 혼합물 중에서 고순도 에플레레논 용액으로부터 용매화물을 결정화하고, 용매화물을 탈용매화하고, 생성되는 L형을 분쇄함으로써 제조된 D_{90} 입자 크기가 약 80~100 μm 인 분쇄된 L형은 일반적으로 용점/분해 온도 범위가 약 223 $^{\circ}\text{C}$ 내지 약 234 $^{\circ}\text{C}$ 로 더 낮고 더 넓었다. 저순도 에플레레논의 분해에 의해 얻어진 용매화물의 탈용매화에 의해 제조된 D_{90} 입자 크기가 약 180~450 μm 인 비분쇄된 H형은 일반적으로 용점/분해 온도 범위가 약 247 $^{\circ}\text{C}$ 내지 약 251 $^{\circ}\text{C}$ 였다. (a) 메틸 에틸 케톤으로부터 직접 결정화된 비분쇄된 L형, (b) 메틸 에틸 케톤으로부터 고순도 에플레레논의 결정화에 의해 얻어진 용매화물의 탈용매화에 의해 제조된 비분쇄된 L형, (c) 메틸 에틸 케톤으로부터 고순도 에플레레논의 결정화에 의해 얻어진 탈용매화된 용매화물을 분쇄하여 제조된 L형 및 (d) 메틸 에틸 케톤으로부터 저순도 에플레레논의 분해에 의해 얻어진 용매화물의 탈용매화에 의해 제조된 비분쇄된 H형의 DSC 열분석도는 각각 도 15, 16, 17 및 18에 도시되어 있다.

에플레레논의 용매화된 형태의 DSC 열분석도는 퍼킨 엘머 피리스 1 시차 주사 열량계를 사용하여 측정하였다. 각 샘플은 1~2 mg의 양으로 비밀봉된 알루미늄 팬에 넣고 가열하여 약 10 $^{\circ}\text{C}/\text{분}$ 의 온도 증가율을 얻었다. 더 저온에서의 1회 이상의 흡열 현상은 용매가 용매화물 결정 격자로부터 상실됨에 따라 일어나는 엔탈피 변화와 관련이 있었다. 최고 온도 흡열반응(들)은 L형 또는 H형 에플레레논의 용점/분해와 관련이 있었다. DSC 열분석도의 예는 에플레레논의 다음 용매화된 결정형에 대해 도 19 내지 34에 도시되어 있다: 각각 n-프로필 알콜 용매화물, 테트라히드로퓨란 용매화물, 에틸 프로피오네이트 용매화물, 아세트산 용매화물, 클로로포름 용매화물, 아세톤 용매화물, 톨루엔 용매화물, 이소프로판올 용매화물, 에탄올 용매화물, t-부틸 아세테이트 용매화물, 이소부틸 아세테이트 용매화물, 부틸 아세테이트 용매화물, 메틸 아세테이트 용매화물, 프로필 아세테이트 용매화물, n-부탄올 용매화물 및 n-옥탄올 용매화물.

4. 적외선 흡수 분광법

비용매화된 에플레레논 H형 및 L형의 적외선 흡수 스펙트럼은 니콜렛 DRIFT(확산 반사 적외선 푸리에 변형) 마그나 시스템 550 분광계를 사용하여 얻었다. 스펙트라-테크 컬렉터 시스템 및 마이크로샘플 컵을 사용하였다. 샘플(5%)을 브롬화 칼륨에서 분석하고, 400 내지 4000 cm^{-1} 으로 스캐닝하였다. 희석 클로로포름 용액(3%) 또는 용매화된 결정형 중의 에플레레논의 적외선 흡수 스펙트럼은 바이오라드 FTS-45 분광계를 사용하여 얻었다. 클로로포름 용액 샘플은 염화나트륨염 평판과 함께 경로 길이 0.2 mm의 용액 셀을 사용하여 분석하였다. 용매화물 FTIR 스펙트럼은 IBM 마이크로-MIR(다중 내부 반사)을 사용하여 수집하였다. 샘플들을 400 내지 4000 cm^{-1} 으로 스캐닝하였다. (a) H형, (b) L형, (c) 메틸 에틸 케톤 용매화물 및 (d) 클로로포름 용액 중의 에플레레논의 적외선 흡수 스펙트럼의 예는 각각 도 35, 36, 37 및 38에 도시되어 있다.

표 2는 H형, L형 및 메틸 에틸 케톤 용매화물 결정형 중에서 에플레레논에 대한 예시적인 흡수 밴드를 개시한다. 클로로포름 용액 중의 에플레레논에 대한 예시적인 흡수 밴드 역시 비교를 위해 개시한다. H형과 L형 또는 메틸 에틸 케톤 용매화물 사이의 차이가 예컨대, 스펙트럼의 카르보닐 영역에서 관찰되었다. H형은 대략 1739 cm^{-1} 의 에스테르 카르보닐 스트레치를 가진 반면, L형 및 메틸 에틸 케톤 용매화물은 각각 대략 1724 및 1722 cm^{-1} 에서 상응하는 스트레치를 가진다. 에스테르 카르보닐 스트레치는 클로로포름 용액 중의 에플레레논에서 대략 1727 cm^{-1} 에서 생긴다. H형과 L형 사이의 에스테르 카르보닐의 스트레칭 빈도의 변화는 두 결정형 사이의 에스테르 기의 배향의 변화를 반영한다. 또한, A-스테로이드 고리에서의 공액 케톤의 에스테르의 스트레치는 H형 또는 메틸 에틸 케톤 용매화물에서의 대략 1664~1667 cm^{-1} 로부터 L형에서의 대략 1655 cm^{-1} 까지 이동한다. 상응하는 카르보닐 스트레치는 클로로포름 용액에서 대략 1665 cm^{-1} 에서 생긴다.

H형과 L형 사이의 또 다른 차이는 C-H 굴곡 영역에서 나타났다. H형은 클로로포름 용액 중에서의 L형, 메틸 에틸 케톤 용매화물 또는 에플레레논에서는 관찰되지 않는 대략 1399 cm^{-1} 에서 흡수를 나타낸다. 1399 cm^{-1} 스트레치는 카르보닐 기에 인접한 C2 및 C21 메틸렌 기에 대한 CH_2 가위형 영역에서 생긴다.

[표 2]
에플레레논형에 대한 IR 흡수 밴드(cm^{-1})

흡수 영역	H형	L형	메틸 에틸 케톤 용매화물	클로로포름 용액
$\nu\text{C}=\text{O}$ (락톤)	1773	1775	1767	1768
$\nu\text{C}=\text{O}$ (에스테르)	1739	1724	1722	1727

vC=O(3-케토)	1664	1655	1667	1665
vC=C(3,4-올레핀)	1619	1619	1622	1623
$\delta_{as}CH_3$, δCH_2 , δCH_2 (카르보닐에 대해 α)	1460, 1444, 1426	1467, 1438, 1422, 1399	1467, 1438, 1422	1464, 1438, 1422
δ_sCH_3	1380	1381	~1380	1378

적외선 흡수 스펙트럼의 예는 에플레레논의 다음 용매화된 결정형에 대해 도 39 내지 51에 도시되어 있다: 각각 n-프로필 알콜 용매화물, 테트라히드로퓨란 용매화물, 에틸 프로피오네이트 용매화물, 아세톤 용매화물, 톨루엔 용매화물, 이소프로판올 용매화물, 에탄올 용매화물, 이소부틸 아세테이트 용매화물, 부틸 아세테이트 용매화물, 프로필 아세테이트 용매화물, 메틸 아세테이트 용매화물, 프로필렌 글리콜 용매화물 및 t-부틸 아세테이트 용매화물.

5. 핵자기 공명(NMR) 분광법

¹³C NMR 스펙트럼을 31.94 MHz 장에서 얻었다. H형 및 L형 에플레레논의 ¹³C NMR 스펙트럼의 예는 각각 도 52 및 53에 도시되어 있다. 도 52에 반영된 데이터를 얻기 위해 분석된 H형 에플레레논은 상이 순수하지 않았으며, L형 에플레레논 소량을 포함하였다. H형은 64.8 ppm, 24.7 ppm 및 19.2 ppm 부근에서 탄소 공명에 의해 가장 명백히 구별된다. L형은 67.1 ppm 및 16.0 ppm 부근에서 탄소 공명에 의해 가장 명백히 구별된다.

6. 열무게 측정법

열무게 측정 분석은 TA 장치 TGA 2950 열무게 측정 분석기를 사용하여 수행하였다. 샘플들은 질소 정화하에 비밀봉 알루미늄 팬에 넣었다. 출발 온도는 25°C였고, 약 10°C/분의 비율로 온도를 증가시켰다.

열무게 측정 분석 프로필의 예는 에플레레논의 다음 용매화된 결정형에 대해 도 54 내지 71에 도시되어 있다: 각각 메틸 에틸 케톤 용매화물, n-프로필 알콜 용매화물, 테트라히드로퓨란 용매화물, 에틸 프로피오네이트 용매화물, 아세트산 용매화물, 클로로포름 용매화물, 아세톤 용매화물, 톨루엔 용매화물, 이소프로판올 용매화물, 에탄올 용매화물, 이소부틸 아세테이트 용매화물, n-부틸 아세테이트 용매화물, 메틸 아세테이트 용매화물, 프로필 아세테이트 용매화물, 프로필렌 글리콜 용매화물, n-부탄올 용매화물, n-옥탄올 용매화물 및 t-부틸 아세테이트 용매화물.

7. 현미경 분석

핫-스테이지(hot-stage) 현미경 분석은 자이스 유니버설 편광 현미경과 함께 링캠 THMS 600 핫 스테이지를 사용하여 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 단결정 상에서 수행하였다. 실온에서 편광 하에 용매화물 결정은 복굴절성이고 반투명이었다, 이는 결정 격자가 고도로 규칙적임을 나타내는 것이다. 약 60°C로 온도가 증가함에 따라, 긴 결정 차원을 따라 현저한 결함이 나타나기 시작하였다. 메틸 에틸 케톤 용매화물의 탈용매화에 의해 얻어진 L형 에플레레논의 주사 전자 현미경 사진은 도 72에 도시되어 있고, 결정 격자 내에 표면 결함, 소공, 균열 및 파열을 나타낸다. 에틸 아세테이트로부터 직접 결정화에 의해 얻어진 L형 에플레레논의 주사 전자 현미경 사진은 도 73에 도시되어 있고, 결정 격자 내에 유사한 표면 결함, 소공, 균열 및 파열을 나타내지 않는다.

8. 단위 셀 매개변수

하기 표 3A, 3B 및 3C는 에플레레논의 H형, L형 및 여러 가지 용매화된 결정형에 대해 측정된 단위 셀 매개변수를 요약한 것이다.

[표 3A]

에플레레논 결정형에 대한 단위 셀 매개변수

매개변수	H형	L형	메틸 에틸 케톤 용매화물
결정계	사방정계	단사정계	사방정계
스페이스 그룹	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁

a	21.22 Å	8.78 Å	23.53 Å
b	15.40 Å	11.14 Å	8.16 Å
c	6.34 Å	11.06 Å	13.08 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	93.52°	90°
γ	90°	90°	90°
Z	4	2	4
부피 (Å ³)	2071.3	1081.8	2511.4
ρ (계산치)	1.329 g/cm ³	1.275 g/cm ³	1.287 g/cm ³
R	0.0667	0.062	0.088

[표 3B]

에플레레논 결정형에 대한 단위 셀 매개변수

매개변수	아세톤 용매화물	톨루엔 용매화물	부틸 아세테이트 용매화물 ¹
결정계	사방정계	사방정계	사방정계
스페이스 그룹	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a	23.31 Å	23.64 Å	23.07 Å
b	13.13 Å	13.46 Å	13.10 Å
c	8.28 Å	8.16 Å	8.24 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°
Z	4	4	4
부피 (Å ³)	2533.7	2596.6	2490.0
ρ (계산치)	1.239 g/cm ³	1.296 g/cm ³	1.334 g/cm ³
R	0.058	0.089	0.093

1. 부틸 아세테이트 용매화물 분자는 채널에서 용매 분자의 무질서로 인해 완전히 정제되지는 않았다.

[표 3C]

에플레레논 결정형에 대한 단위 셀 매개변수

매개변수	이소부틸 아세테이트 용매화물 ¹	이소프로판올 용매화물 ¹	에탄올 용매화물 ¹
결정계	사방정계	사방정계	사방정계
스페이스 그룹	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a	23.19 Å	23.15 Å	23.51 Å
b	12.95 Å	12.73 Å	13.11 Å
c	8.25 Å	8.25 Å	8.27 Å
α	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°
Z	4	4	4
부피 (Å ³)	2476.4	2433.2	2548.6
ρ (계산치)	1.337 g/cm ³	1.296 g/cm ³	1.234 g/cm ³
R	0.098	0.152	0.067

1. 용매화물 분자는 채널에서 용매 분자의 무질서로 인해 완전히 정제되지는 않았다.

에플레레논의 선택되는 용매화된 결정형에 대한 추가 정보는 하기 표 4에 보고한다. 메틸 에틸 케톤 용매화물에 대한 상기 표 3A에 보고된 단위 셀 데이터 역시 상기 다수의 추가 에플레레논 결정성 용매화물에 대한 단위 셀 매개변수를 대표하는

것이다. 시험된 대부분의 에플레레논 결정성 용매화물은 실질적으로 서로 구조가 동일하다. 도입된 용매 분자의 크기로 인해 하나의 용매화된 결정형으로부터 다음 형으로 X-선 분말 회절 피크에 약간의 작은 이동이 있을 수 있지만, 전체 회절 패턴은 실질적으로 동일하며, 단위 셀 매개변수 및 분자 위치는 시험된 대부분의 용매화물에 대해 실질적으로 동일하다.

[표 4]
에플레레논 용매화물에 대한 추가 정보

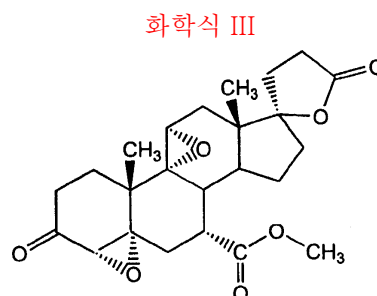
용매	화학량론 용매: 에플레레논	메틸 에틸 케톤 용매화물과 구조가 동일한가?	탈용매화 온도(°C) ¹
메틸 에틸 케톤	1:1		89
아세트산	1:2	예	203
아세톤	1:1	예	117
메틸 아세테이트	1:1	예	103
프로필 아세테이트	1:1	예	130
부틸 아세테이트	1:2	예	108
이소부틸 아세테이트	1:2	예	112
t-부틸 아세테이트	---	예	109
클로로포름	---	예	125
에탄올	1:1	예	166
n-프로판올	1:1	예	129
이소프로판올	1:1	예	121
n-부탄올	1:1	예	103
n-옥탄올	---	예	116
에틸 프로피오네이트	1:1	예	122
프로필렌 글리콜	---	예	188
테트라히드로퓨란	1:1	예	136
톨루엔	1:1	예	83

1. 질소 정화 하에 10°C/분의 가열률로 열무게 측정 분석에 의해 측정되는 최종 용매 중량 손실로부터 외삽된 탈용매화 온도로 정의됨. 그러나, 탈용매화 온도는 용매화물의 제조 방법에 의해 영향을 받을 수 있다. 상이한 방법은 더 저온에서 용매화물에서 탈용매화를 개시할 수 있는 상이한 수의 핵형성 부위를 생성할 수 있다.

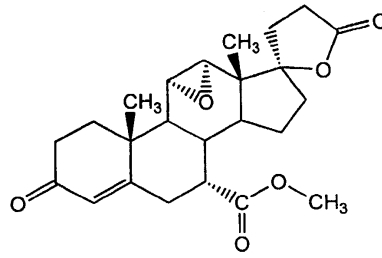
용매화물의 단위 셀은 4개의 에플레레논 분자로 이루어진다. 단위 셀 중의 에플레레논 분자 및 용매 분자의 화학량론은 또한 다수의 용매화물에 대해 상기 표 4에 보고되어 있다. H형의 단위 셀은 4개의 에플레레논 분자로 이루어진다. L형의 단위 셀은 두 개의 에플레레논 분자로 이루어진다. 용매화물 단위 셀은 에플레레논 분자가 병진 및 회전을 일으켜 용매 분자에 의해 남겨진 공간을 채울 때 H형 및/또는 L형으로 탈용매화 중에 전환된다. 표 4는 또한 다수의 상이한 용매화물에 대한 탈용매화 온도를 보고하고 있다.

9. 불순물의 결정 성질

에플레레논 중의 선택된 불순물은 용매화물의 탈용매화 중에 H형의 형성을 유도할 수 있다. 구체적으로, 다음 두 개의 불순물 분자의 효과가 평가되었다: 7-메틸 수소 4a,5a;9a,11a-디에폭시-17 히드록시-3-옥소-17a-프레그난-7a,21-디카르복실레이트, γ-락톤(III)("디에폭사이드"); 및 7-메틸 수소 11a,12a-에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a,프레그-4-엔-7a,21-디카르복실레이트, γ-락톤(IV)("11,12-에폭사이드").



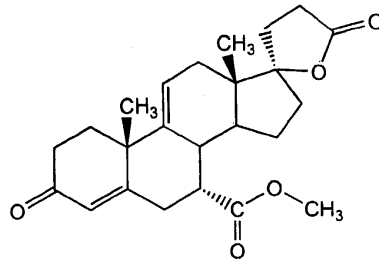
화학식 IV



탈용매화로부터 생성되는 에플레레논 결정형에 미치는 상기 불순물의 효과는 본원의 실시예에서 더 상세히 기술한다.

7-메틸 수소 17-히드록시-3-옥소-17 α -프레그나-4,9(11)-디엔-7 α ,21-디카르복실레이트, γ -락톤(V)("9,11-올레핀") 및 H형 에플레레논의 단결정 구조에서의 유사성이 제시되기 때문에, 9,11-올레핀 역시 용매화물의 탈용매화 중에 H형의 형성을 유도할 수 있는 것으로 가정된다.

화학식 V



단결정 형태는 각 불순물 화합물에 대해 분리되었다. 디에폭사이드, 11,12-에폭사이드 및 9,11-올레핀에 대해 분리된 결정형에 대한 대표적인 X-선 분말 회절 패턴은 각각 도 74, 75 및 76에 제시되어 있다. 각 불순물 분자의 X-선 분말 회절 패턴은 H형의 X-선 분말 회절 패턴과 유사한데, 이는 H형 및 3개의 불순물 화합물이 유사한 단결정 구조를 가짐을 시사하는 것이다.

각 불순물 화합물의 단결정 역시 분리하고, X-선 구조 측정을 실시하여 이들 3종의 화합물이 H형의 그것과 유사한 단결정 구조를 취함을 입증하였다. 디에폭사이드의 단결정은 메틸 에틸 케톤으로부터 분리하였다. 11,12-에폭사이드의 단결정은 이소프로판올로부터 분리하였다. 9,11-올레핀의 단결정은 n-부탄올로부터 분리하였다. 각 불순물 화합물의 결정형에 대해 측정된 결정 구조 데이터는 표 5에 제시한다. 생성되는 결정계 및 셀 매개변수는 H형, 디에폭사이드, 11,12-에폭사이드 및 9,11-올레핀 결정형에 대해 실질적으로 동일하였다.

[표 5]

H형 에플레레논과 비교한 불순물의 결정에 대한 단위 셀 매개변수

매개변수	H형	디에폭사이드	11,12-에폭사이드	9,11-올레핀
결정계	사방정계	사방정계	사방정계	사방정계
스페이스 그룹	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
a	21.22 Å	21.328 Å	20.90 Å	20.90 Å
b	15.40 Å	16.16 Å	15.55 Å	15.74 Å
c	6.34 Å	6.15 Å	6.38 Å	6.29 Å
α	90°	90°	90°	90°
β	90°	90°	90°	90°
γ	90°	90°	90°	90°
Z	4	4	4	4
부피 (Å ³)	2071.3	2119.0	2073.2	2069.3
ρ (계산치)	1.329 g/cm ³	1.349 g/cm ³	1.328 g/cm ³	1.279 g/cm ³
R	0.0667	0.0762	0.0865	0.0764

표 5에 보고된 4종의 화합물은 동일한 스페이스 그룹으로 결정화되고, 유사한 셀 매개변수를 가진다(즉, 그들은 구조가 동일하다). 디에폭사이드, 11,12-에폭사이드 및 9,11-올레핀은 H형 형태를 취하는 것으로 가정된다. 각 불순물 화합물에 대한 H형 패킹의 분리(용액으로부터 직접)의 상대적인 용이성은 H형 격자가 구조적으로 유사한 화합물의 상기 시리즈에 대해 안정한 패킹 양식이라는 것을 시사한다. H형 에플레레논과 실질적으로 결정학적으로 구조가 동일한 모든 화합물이 용액으로부터 H형 에플레레논을 결정화함에 있어서 도판트로서 유용할 수 있는 것으로 고려된다.

따라서, 구체적인 양태로, 용매 또는 용매 혼합물 중의 에플레레논 용액으로부터 H형 에플레레논의 결정화를 촉진하는 방법이 제공되는데, 이 방법은 결정화하기 전에 H형 에플레레논과 결정학적으로 구조가 실질적으로 동일한 화합물의 유효량으로 용액을 도핑(doping)하는 것을 포함한다. 본원에서 "도핑"은 적극적인 의미, 즉 용액에 도핑 화합물의 신중한 첨가를, 소극적인 의미, 즉 용액 중의 불순물로서 도핑 화합물의 존재에서 기인하는 것이라고 이해된다.

상기 양태에 따른 바람직한 도핑 화합물은 디에폭사이드, 11,12-에폭사이드 및 9,11-올레핀, 즉 각각 상기 화합물 (III), (IV) 및 (V)이다.

에플레레논의 제조

본 발명의 신규한 결정형을 제조하는 데 사용되는 에플레레논 출발 물질은 자체 공지된 방법으로 제조할 수 있는데, 그 방법은 상기 인용한 국제특허공개 WO97/21720호 및 WO98/25948호에 제시된 방법, 특히 이들 공보 각각에 제시된 반응식 1을 포함한다.

결정형의 제조

1. 용매화된 결정형의 제조

용매화된 결정형 에플레레논은 적당한 용매 또는 적당한 용매 혼합물로부터 에플레레논을 결정화하여 제조할 수 있다. 적당한 용매 또는 적당한 용매 혼합물은 일반적으로 승온에서 임의의 불순물과 함께 에플레레논을 용해시키지만, 냉각시에는 우선적으로 용매화물을 결정화하는 유기 용매 또는 유기 용매 혼합물을 포함한다. 그러한 용매 또는 용매 혼합물에서의 에플레레논의 용해도는 일반적으로 실온에서 약 5 내지 약 200 mg/ml이다. 용매 또는 용매 혼합물은 에플레레논 출발 물질의 제조 방법에 이미 사용된 용매들, 특히 에플레레논 결정형을 포함하는 최종 약학 조성물에 함유되면 약학적으로 허용 가능한 용매들로부터 선택되는 것이 바람직하다. 예컨대, 염화메틸렌을 일반적으로 포함하는 용매화물을 생성하는 염화메틸렌을 포함하는 용매계는 바람직하지 않다.

사용된 각 용매는 약학적으로 허용 가능한 용매, 특히 인간용 약제의 등록에 대한 기술적 요건의 통일화에 관한 국제 회의의 "불순물: 잔류 용매에 대한 지침"(ICH 조종 위원회에 의해 1997년 7월 17일자로 ICH 진행의 4 단계에서 적용하도록 추천됨)에 정의된 2류 또는 3류 용매가 바람직하다. 용매 또는 용매 혼합물은 메틸 에틸 케톤, 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 에탄올, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 이소프로판올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트로 구성된 군에서 선택되는 것이 더 바람직하다. 용매는 메틸 에틸 케톤 및 에탄올로 구성된 군에서 선택되는 것이 더욱 바람직하다.

본 방법의 또 다른 양태에서, 용매 또는 용매 혼합물은 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트로 구성된 군에서 선택된다.

본 방법의 또 다른 양태에서, 용매 또는 용매 혼합물은 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, n-프로판올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트로 구성된 군에서 선택된다.

에플레레논의 용매화된 결정형을 제조하기 위해서는 일정량의 에플레레논 출발 물질을 용매 일정 부피에 용해시키고, 결정이 형성될 때까지 냉각시킨다. 에플레레논이 용매에 첨가되는 용매 온도는 일반적으로 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 기초하여 선택된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 예컨대, 이 용매 온도는 통상 약 25°C 이상이고, 약 30°C 내지 용매의 비등점 온도가 바람직하며, 용매의 비등점 25°C 이하로부터 용매의 비등점 온도가 더 바람직하다.

한편, 고온 용매를 에플레레논에 첨가할 수도 있고, 혼합물을 결정이 형성될 때까지 냉각시킬 수 있다. 그것이 에플레레논에 첨가되는 용매 온도는 일반적으로 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 기초하여 선택된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 예컨대, 용매 온도는 통상 25°C 이상이고, 약 50°C 내지 용매의 비등점 온도가 바람직하며, 용매의 비등점 15°C 이하로부터 용매의 비등점 온도가 더 바람직하다.

주어진 부피의 용매와 혼합된 에플레레논 출발 물질의 양은 역시 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 의해 좌우된다. 통상, 용매에 첨가되는 에플레레논의 양은 실온에서의 그 용매 부피에 완전히 용해되지 않는 것이다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 예컨대, 주어진 부피의 용매와 혼합된 에플레레논 출발 물질의 양은 보통 약 1.5 내지 약 4.0배 이상, 바람직하게는 약 2.0 내지 약 3.5배, 더 바람직하게는 약 2.5배이고, 에플레레논의 이 양은 실온에서 그 부피의 용매에 용해되는 양이다.

에플레레논 출발 물질이 용매에 완전히 용해된 후에, 용액은 통상 서서히 냉각되어 에플레레논의 용매화된 결정형을 결정화한다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 예컨대, 용액은 약 20°C/분보다 더 느린 속도로, 바람직하게는 약 10°C/분 이하의 속도로, 더 바람직하게는 약 5°C/분 이하의 속도로, 더욱 바람직하게는 약 1°C/분 이하의 속도로 냉각된다.

용매화된 결정형이 수집되는 종말점 온도는 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 의해 좌우된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 예컨대, 종말점 온도는 통상 약 25°C 미만, 바람직하게는 약 5°C 미만, 더 바람직하게는 약 -5°C 미만이다. 종말점 온도를 감소시키면 일반적으로 용매화된 결정형의 형성이 용이해진다.

한편, 다른 기법을 사용하여 용매화물을 제조할 수도 있다. 그러한 기법의 예로는 (i) 하나의 용매에 에플레레논 출발 물질을 용해시키고, 용매화물 결정형의 결정화를 돕는 보조 용매를 첨가하는 방법, (ii) 용매화물의 증기 확산 성장, (iii) 증발, 예컨대, 회전식 증발에 의한 용매화물의 분리 및 (iv) 슬러리 전환을 들 수 있으나, 이에 국한되지 않는다.

전술한 대로 제조한 용매화된 결정형의 결정은 여과 또는 원심분리와 같은 임의의 적당한 통상의 수단에 의해 용매로부터 분리할 수 있다. 결정화 중에 용매계의 증가된 진탕은 일반적으로 결정 입자 크기를 더 작게 만든다.

2. 용매화물로부터 L형의 제조

L형 에플레레논은 탈용매화에 의해 용매화된 결정형으로부터 직접 제조할 수 있다. 탈용매화는 임의의 적당한 탈용매화 수단, 예컨대, 용매화물의 가열, 용매화물 주위 압력의 감소 또는 이의 조합(이에 국한되지 않음)에 의해 수행할 수 있다. 용매화물을 예컨대, 오븐에서 가열하여 용매를 제거하면, 이 공정 중의 용매화물의 온도는 통상 H형 및 L형에 대한 호변성 전이 온도를 초과하지 않는다. 이 온도는 약 150°C를 초과하지 않는 것이 바람직하다.

탈용매화 압력 및 탈용매화 시간이 엄밀히 중요한 것은 아니다. 탈용매화 압력은 약 1 기압 이하가 바람직하다. 그러나, 탈용매화 압력이 감소됨에 따라, 탈용매화가 수행될 수 있는 온도 및/또는 탈용매화 시간 역시 감소된다. 더 높은 탈용매화 온도를 갖는 용매화물의 경우에 특히 진공 하의 건조가 더 낮은 건조 온도의 사용을 허용할 것이다. 탈용매화 시간은 단지 탈용매화 및 따라서 L형의 형성을 허용하여 완료시키기 위해 충분할 만큼만 필요하다.

거의 모두 L형을 포함하는 생성물의 제조를 위해서, 에플레레논 출발 물질은 통상 고순도 에플레레논, 바람직하게는 실질적으로 순수한 에플레레논이다. L형 에플레레논을 제조하는 데 사용되는 에플레레논 출발 물질은 일반적으로 순도 90% 이상, 바람직하게는 순도 95% 이상, 더 바람직하게는 순도 99% 이상이다. 본원의 다른 부분에서 더 상세히 논의하는 바와 같이, 에플레레논 출발 물질의 특정 불순물은 수율 및 공정에서 얻어지는 생성물의 L형 함량에 악영향을 끼칠 수 있다.

고순도 에플레레논 출발 물질로부터 이런 방식으로 제조되는 결정화된 에플레레논 생성물은 일반적으로 10% 이상의 L형, 바람직하게는 50% 이상의 L형, 더 바람직하게는 75% 이상의 L형, 더욱 바람직하게는 90% 이상의 L형, 더욱 더 바람직하게는 95% 이상의 L형 및 더 바람직하게는 실질적으로 상이 순수한 L형을 포함한다.

3. 용매화물로부터 H형의 제조

H형을 포함하는 생성물은 (i) 고순도 에플레레논 출발 물질 대신에 저순도 에플레레논 출발 물질을 사용하고, (ii) 용매계를 상이 순수한 H형 결정으로 식정(seeding)하거나 (iii) 상기 (i)과 (ii)의 조합을 사용하여 L형 제조에 대해 상기 제시한 것과 실질적으로 동일한 방법으로 제조할 수 있다.

3.1. 결정 성장 촉진자 및 억제자로서의 불순물의 용도

에플레레논 출발 물질 중의 모든 불순물의 총량보다는 에플레레논 출발 물질 중의 선택된 불순물의 존재 및 양이 용매화물의 탈용매화 중에 H형 결정 형성력에 영향을 끼친다. 선택된 불순물은 일반적으로 H형 성장 촉진자 또는 L형 성장 억제자이다. 그것은 에플레레논 출발 물질에 함유되거나, 에플레레논 출발 물질이 첨가되기 전에 용매 또는 용매 혼합물에 함유되고/되거나, 에플레레논 출발 물질이 첨가된 후에 용매 또는 용매 혼합물에 첨가될 수 있다. 본원에 참고로 인용하는 문헌 [Bonafede 등(1995), "Selective nucleation and growth of an organic polymorph by ledge-directed epitaxy on a molecular crystal substrate", *J. Amer. Chem. Soc.*, 117(30)]에는 동질이상계에서의 성장 촉진자 및 성장 억제자의 사용에 대해 논의되어 있다. 본 발명의 경우, 적당한 불순물은 일반적으로 H형 에플레레논의 단결정 구조와 실질적으로 동일한 단결정 구조를 갖는 화합물을 포함한다. 불순물은 H형 에플레레논의 X-선 분말 회절 패턴과 실질적으로 동일한 X-선 분말 회절 패턴을 가진 화합물이 바람직하고, 디에폭사이드, 11,12-에폭사이드, 9,11-올레핀 및 그 조합으로 구성되는 군에서 선택되는 것이 더 바람직하다.

H형 결정의 제조에 필요한 불순물의 양은 통상 용매 또는 용매 혼합물 및 에플레레논에 상대적인 불순물의 용해도에 의해 일부분 좌우된다. 메틸 에틸 케톤 용매로부터 H형의 결정화 시에, 예컨대, 디에폭사이드 대 저순도 에플레레논 출발 물질의 중량비는 통상 약 1:100 이상, 바람직하게는 약 3:100 이상, 더 바람직하게는 약 3:100 내지 약 1:5, 더욱 바람직하게는 약 3:100 내지 약 1:10이다. 11,12-에폭사이드는 디에폭사이드보다 더 높은 메틸 에틸 케톤에서의 용해도를 가지며, 일반적으로 H형 에플레레논 결정의 제조에 더 다량의 11,12-에폭사이드를 필요로 한다. 불순물이 11,12-에폭사이드를 포함하는 경우, 디에폭사이드 대 저순도 에플레레논 출발 물질의 중량비는 통상 약 1:5 이상, 바람직하게는 약 3:25 이상, 더 바람직하게는 약 3:25 내지 약 1:5이다. H형 결정의 제조에 디에폭사이드 및 11,12-에폭사이드를 둘다 사용하는 경우에, 각 불순물 대 에플레레논 출발 물질의 중량비는 그 불순물만을 H형 결정의 제조에 사용할 때 상응하는 비보다 더 낮을 수 있다.

H형 및 L형 에플레레논의 혼합물은 일반적으로 선택된 불순물을 포함하는 용매화물이 탈용매화될 때 얻어진다. 용매화물의 초기 탈용매화로부터 생성되는 생성물에서 H형의 중량 비율은 약 50% 미만이다. 후술하는 바와 같이 결정화 또는 분해에 의한 상기 생성물의 추가 처리는 일반적으로 생성물 중의 L형의 중량 비율을 증가시킬 것이다.

3.2 식정(seeding)

H형 결정은 또한 에플레레논의 결정화 전에 상이 순수한 H형 결정(또는 전술한 바와 같이 H형 성장 촉진자 및/또는 L형 성장 억제자)으로 용매계에 식정하여 제조할 수 있다. 에플레레논 출발 물질은 저순도 에플레레논 또는 고순도 에플레레논일 수 있다. 출발 물질로부터 제조된 생성 용매화물이 탈용매화될 때, 생성물 중의 H형의 중량 비율은 통상 약 70% 이상이고, 약 100%만큼 클 수도 있다.

용매계에 첨가된 H형 시드 결정 대 용매계에 첨가된 에플레레논 출발 물질의 중량비는 일반적으로 약 0.75:100, 바람직하게는 약 0.75:100 내지 약 1:20, 더 바람직하게는 약 1:100 내지 약 1:50이다. H형 시드 결정은 H형 결정의 제조, 특히 후술하는 바와 같은 분해에 의한 H형 결정의 제조에 대해 본원에서 논의한 방법 중 하나에 의해 제조할 수 있다.

H형 시드 결정은 한번에, 다중 첨가로 또는 일정 시간에 걸쳐 실질적으로 연속해서 첨가할 수 있다. 그러나, H형 시드 결정의 첨가는 일반적으로 에플레레논이 용액으로부터 결정화되기 시작하기 전에 완료된다. 즉, 식정은 운점(cloud point)(상전이 대역의 하단)에 도달하기 전에 완료된다. 식정은 통상 용액 온도가 운점 약 5°C 이상으로부터 운점 약 10°C 이상까지의 범위를 가질 때, 바람직하게는 운점 약 2°C 내지 약 3°C 범위내에서 수행한다. 시드가 첨가되는 운점 이상으로 온도가 증가함에 따라, H형 결정의 결정화에 필요한 식정량은 일반적으로 증가한다.

식정은 운점 이상에서 뿐만 아니라, 상전이 대역 내에서 일어나는 것이 바람직하다. 운점 및 상전이 대역은 용매 또는 용매 혼합물에서의 에플레레논 용해도 및 농도에 의존한다. 메틸 에틸 케톤의 12 부피 회석의 경우, 예컨대, 상전이 대역의 상단은 일반적으로 약 70°C 내지 약 73°C이며, 상전이 대역의 하단(즉, 운점)은 약 57°C 내지 약 63°C이다. 메틸 에틸 케톤의 8

부피의 농도의 경우, 상전이 대역은 용액이 과포화되기 때문에 훨씬 더 좁다. 이 농도에서 용액의 온점은 약 75°C 내지 약 76°C에서 생긴다. 메틸 에틸 케톤의 비등점이 주위 조건 하에서 약 80°C이기 때문에, 상기 용액에 대한 식정은 약 76.5°C와 비등점 사이에서 일어난다.

H형을 사용한 식정의 비제한적인 실시예는 본원 실시예7에 제시되어 있다.

결정화된 에플레레논 생성물은 H형 성장 촉진자 또는 L형 성장 억제자를 사용하여 얻고/얻거나, H형 식정은 일반적으로 2% 이상의 H형, 바람직하게는 5% 이상의 H형, 더 바람직하게는 7% 이상의 H형, 더욱 바람직하게는 약 10% 이상의 H형을 포함한다. 나머지 결정화된 에플레레논 생성물 일반적으로 L형이다.

3.3. 연마 에플레레논에 의한 H형의 제조

또 다른 대안으로, 소량의 H형은 적당한 연마 에플레레논에 의해 제조할 수 있다는 것이 발견되었다. 연마된 에플레레논 중의 H형의 농도가 약 3%처럼 높게 관찰되었다.

4. 저순도 에플레레논으로부터 제조된 L형의 제조

상기 논의한 바와 같이, 저순도 에플레레논을 결정화하여 용매화물을 형성한 다음, 용매화물을 탈용매화하면 H형 및 L형 둘다를 포함하는 생성물이 생성된다. 더 큰 L형 함량을 가진 생성물은 용매계를 상이 순수한 L형 결정으로 식정하거나 또는 L형 성장 촉진자 및/또는 H형 성장 억제자를 사용하여, H형의 제조에 대해 상기 제시한 것과 실질적으로 동일한 방법으로 저순도 에플레레논으로부터 제조할 수 있다. 용매계에 첨가되는 L형 결정의 양 대 용매계에 첨가되는 에플레레논 출발 물질의 양의 중량비 및 식정 프로토콜은 일반적으로 상이 순수한 H형 결정으로 식정함으로써 H형 에플레레논의 제조에 대해 전술한 비와 유사하다.

이러한 방식으로 제조되는 결정화된 에플레레논 생성물은 일반적으로 10% 이상의 L형, 바람직하게는 50% 이상의 L형, 더 바람직하게는 75% 이상의 L형, 더욱 바람직하게는 약 90% 이상의 L형, 더 바람직하게는 95% 이상의 L형 및 더욱 바람직하게는 실질적으로 상이 순수한 L형을 포함한다.

H형 에플레레논의 제조와 관련하여 본원에 기술하는 식정 프로토콜은 또한 결정화된 에플레레논의 입자 크기의 개선된 제어 허용할 수 있다.

5. 용액으로부터 직접 L형의 결정화

L형 에플레레논은 또한 중간체 용매화물의 형성 및 수반되는 탈용매화 필요성 없이 적당한 용매 또는 용매 혼합물로부터 에플레레논의 직접 결정화에 의해 제조할 수 있다. 통상, (i) 용매는 용매화물 결정 격자에서 이용 가능한 채널 공간에 부적합한 분자 크기를 가지고, (ii) 에플레레논 및 존재하는 임의의 불순물은 승온에서 용매에 용해되며, (iii) 냉각은 비용매화된 L형 에플레레논의 결정화를 초래한다. 용매 또는 용매 혼합물에서의 에플레레논의 용해도는 일반적으로 실온에서 약 5 내지 약 200 mg/ml이다. 용매 또는 용매 혼합물은 메탄올, 에틸 아세테이트, 이소프로필 아세테이트, 아세토니트릴, 니트로벤젠, 물 및 에틸 벤젠으로 구성되는 군에서 선택된 1종 이상의 용매를 포함하는 것이 바람직하다.

용액으로부터 L형 에플레레논을 직접 결정화하기 위해서는, 일정량의 에플레레논 출발 물질을 일정 부피의 용매에 용해시키고, 결정이 형성될 때까지 냉각시킨다. 에플레레논이 용매에 첨가되는 용매 온도는 일반적으로 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 기초하여 선택된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 이 용매 온도는 통상 약 25°C 이상, 바람직하게는 약 30°C 내지 용매의 비등점, 더 바람직하게는 용매의 비등점 약 25°C 이하로부터 용매의 비등점까지이다.

한편, 고온 용매를 에플레레논에 첨가하고 결정이 형성될 때까지 혼합물을 냉각시킬 수 있다. 그것이 에플레레논에 첨가되는 용매 온도는 일반적으로 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 기초하여 선택된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 이 용매 온도는 통상 25°C 이상, 바람직하게는 약 50°C 내지 용매의 비등점, 더 바람직하게는 용매의 비등점 약 15°C 이하로부터 용매의 비등점까지이다.

주어진 부피의 용매와 혼합된 에플레레논 출발 물질의 양은 역시 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 의해 좌우된다. 통상, 용매에 첨가되는 에플레레논의 양은 실온에서의 그 용매 부피에 완전히 용해되지 않는 것이다. 본원에 기술하는

대부분의 용매의 경우, 예컨대, 주어진 부피의 용매와 혼합된 에플레레논 출발 물질의 양은 보통 약 1.5 내지 약 4.0배, 바람직하게는 약 2.0 내지 약 3.5배, 예컨대, 약 2.5배이고, 에플레레논의 이 양은 실온에서 그 부피의 용매에 용해되는 양이다.

실질적으로 상이 순수한 L형을 포함하는 생성물을 제조하기 위해서는, 에플레레논 출발 물질이 일반적으로 고순도 에플레레논이다. 에플레레논 출발 물질은 바람직하게는 순도 약 65% 이상, 더 바람직하게는 순도 약 90% 이상, 더 바람직하게는 순도 약 98% 이상, 가장 바람직하게는 순도 약 99% 이상이다.

에플레레논 출발 물질이 용매에 완전히 용해된 후에, 용액은 통상 서서히 냉각되어 L형 에플레레논을 결정화한다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 예컨대, 용액은 약 1°C/분보다 더 느린 속도로, 바람직하게는 약 0.2°C/분 이하의 속도로, 더 바람직하게는 약 0.05°C/분 내지 약 0.1°C/분 이하의 속도로 냉각된다.

L형 결정이 수집되는 종말점 온도는 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 의해 좌우된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 종말점 온도는 통상 약 25°C 미만, 바람직하게는 약 5°C 미만, 더 바람직하게는 약 -5°C 미만이다.

한편, 다른 기법을 사용하여 L형 에플레레논 결정을 제조할 수도 있다. 그러한 기법의 예로는 (i) 하나의 용매에 에플레레논 출발 물질을 용해시키고, L형 에플레레논의 결정화를 돕는 보조 용매를 첨가하는 방법, (ii) L형 에플레레논의 증기 확산 성장, (iii) 증발, 예컨대, 회전식 증발에 의한 L형 에플레레논의 분리 및 (iv) 슬러리 전환을 들 수 있으나, 이에 국한되지 않는다.

전술한 대로 제조한 L형 에플레레논의 결정은 여과 또는 원심분리와 같은 임의의 적당한 통상의 수단에 의해 용매로부터 분리할 수 있다.

또한, L형 에플레레논은 메틸 에틸 케톤 중의 고순도 에플레레논의 슬러리를 분해하고(후술함), 분해된 에플레레논을 슬러리의 비등점에서 여과하여 제조할 수 있다.

6. 용액으로부터 직접 H형의 제조

결정화가 H형 및 L형에 대한 호변성 전이 온도(T_c) 이상에서 수행되는 경우, 특히 H형 성장 촉진자 또는 L형 성장 억제자가 존재하거나 또는 용매가 상이 순수한 H형 결정으로 식정되는 경우, H형은 이러한 고온일수록 더 안정하기 때문에 용액으로부터 직접 결정화되는 것으로 가정한다. 사용된 용매계는 니트로벤젠과 같은 고비등점 용매를 포함하는 것이 바람직하다. 적당한 H형 성장 촉진자로는 상기 정의한 디에폭사이드 및 11,12-올레핀 화합물을 들 수 있으나, 이에 국한되지 않는다.

7. 용매에 의한 에플레레논의 분해

용매화된 결정형, H형 및 L형 에플레레논은 또한 적당한 용매 또는 용매 혼합물 중에서 에플레레논 출발 물질의 분해에 의해 제조될 수 있다. 분해 공정에서, 에플레레논의 슬러리는 용매 또는 용매 혼합물의 비등점에서 가열된다. 예컨대, 에플레레논 출발 물질의 양은 일정 부피의 용매 또는 용매 혼합물과 배합하고, 환류 가열하고, 증류물을 제거하며, 이 때, 추가량의 용매는 증류물의 제거와 동시에 첨가된다. 한편, 증류물은 분해 공정 중에 더 많은 용매의 첨가 없이 응축되고 재순환될 수 있다. 통상, 일단 용매의 원래 부피가 제거 또는 응축되고 재순환되면, 슬러리가 냉각되고, 용매화된 결정이 형성된다. 용매화된 결정은 여과 또는 원심분리와 같은 임의의 적당한 통상의 수단에 의해 용매로부터 분리할 수 있다. 전술한 바와 같이 용매화물의 탈용매화는 용매화된 결정 중의 선택된 불순물의 존재 또는 부재에 따라 H형 또는 L형 에플레레논을 생성시킨다.

적당한 용매 또는 용매 혼합물은 일반적으로 본원이 이미 개시된 1종 이상의 용매를 포함한다. 용매는 예컨대, 메틸 에틸 케톤 및 에탄올로 구성되는 군에서 선택할 수 있다.

분해 공정에 사용된 용매에 첨가되는 에플레레논 출발 물질의 양은 일반적으로 용매 또는 용매 혼합물의 비등점에서 슬러리를 유지하게 충분하다(즉, 용매 또는 용매 혼합물 중의 에플레레논은 완전히 용해되지 않는다). 예시적으로, 메틸 에틸 케톤에서 약 0.25 g/ml 또는 에탄올에서 약 0.125 g/ml의 에플레레논 농도가 유용할 수 있다.

슬러리는 일반적으로 용매 전환이 완료되어 용매화된 결정형 에플레레논을 결정화하면 서서히 냉각된다. 시험된 용매의 경우, 슬러리는 약 20°C/분보다 더 느린 속도로, 바람직하게는 약 10°C/분 이하의 속도로, 더 바람직하게는 약 5°C/분 이하의 속도로, 더욱 바람직하게는 약 1°C/분 이하의 속도로 냉각된다.

용매화된 결정형이 수집되는 종말점 온도는 용매 또는 용매 혼합물의 용해도 곡선에 의해 좌우된다. 본원에 기술하는 대부분의 용매의 경우, 종말점 온도는 통상 약 25°C 미만, 바람직하게는 약 5°C 미만, 더 바람직하게는 약 -5°C 미만이다.

주로 또는 오로지 L형을 포함하는 생성물이 요구되는 경우, 고순도 에플레레논 출발 물질은 통상 분해된다. 고순도 에플레레논 출발 물질은 바람직하게는 순도가 약 98% 이상, 더 바람직하게는 순도가 약 99% 이상, 더 바람직하게는 순도가 약 99.5% 이상이다. 이런 방식으로 제조된 분해된 에플레레논 생성물은 일반적으로 약 10% 이상, 바람직하게는 약 50% 이상, 더 바람직하게는 약 75% 이상, 더욱 바람직하게는 약 90% 이상, 더 바람직하게는 약 95% 이상의 L형, 가장 바람직하게는 실질적으로 상이 순수한 L형을 포함한다.

주로 또는 오로지 H형을 포함하는 생성물이 요구되는 경우, 저순도 에플레레논 출발 물질은 통상 분해된다. 저순도 에플레레논 출발 물질은 일반적으로 H형을 생성하는 데 필요한 만큼 다량으로 H형 성장 촉진자 및/또는 L형 성장 억제자만을 함유한다. 바람직하게는, 저순도 에플레레논 출발 물질은 순도가 약 65% 이상, 더 바람직하게는 순도가 약 75% 이상, 더 바람직하게는 순도가 약 80% 이상이다. 이런 방식으로 제조된 분해된 에플레레논 생성물은 일반적으로 약 10% 이상, 바람직하게는 약 50% 이상, 더 바람직하게는 약 75% 이상, 더욱 바람직하게는 약 90% 이상, 더 바람직하게는 약 95% 이상의 H형, 가장 바람직하게는 실질적으로 상이 순수한 H형을 포함한다.

8. 무정형 에플레레논의 제조

무정형 에플레레논은 분쇄(crushing), 연마 및/또는 초미분쇄화(micronizing) 같은 적당한 분쇄법에 의해 소량으로 제조할 수 있다. 상이 순수한 무정형 에플레레논, 즉 결정성 에플레레논이 실질적으로 없는 무정형 에플레레논은 예컨대, 에플레레논 용액, 특히 에플레레논 수용액을 동결 건조시킴으로써 제조할 수 있다. 이러한 방법들은 본원 실시예 13 및 14에 예시되어 있다.

추가 가공 연구

1. 열역학적 안정성 연구

L형은 주위 온도에서 H형보다 더 열역학적으로 안정하다. 본원 실시예 5에 기술하는 바와 같이, H형 및 L형의 등량을 함유하는 유기 슬러리는 실온에서 하루밤 동안 정치시킨 다음, 잔류 고체를 수집하고, X-선 분말 회절에 의해 분석하였을 때, 분석 결과는 에플레레논이 L형으로 완전히 전환된 것으로 나타났다. 상기에서 논의된 시차 주사 열계량법(DSC)은 H형이 더 높은 용점/분해 온도를 가지기 때문에 더 고온에서 L형보다 더 열역학적으로 안정하다는 것을 나타냈다. 슬러리 전환 및 DSC 데이터는 함께 H형 및 L형이 호변성으로 관련되고, 즉 두 동질이상체 사이의 안정성 관계의 변화가 전이 온도(T_i) 부근에서 발생하며, L형은 더 낮은 온도에서 더 안정하다는 것을 나타냈다. 도 77은 H형 및 L형 에플레레논과 같은 호변성으로 관련된 동질이상체에 대해 일반적으로 관찰되는 깃스 자유 에너지와 온도의 관계를 도시하고 있는데, T_i 는 전이 온도를 말하며, T_m 은 H형 및 L형의 용점을 말한다.

따라서, 가공 온도는 L형을 포함하는 조성물의 제조 중에 전이 온도 이하로 유지되는 것이 바람직하다. 예컨대, 탈용매화에 대해 이용되는 건조 온도는 통상 약 150°C 미만, 바람직하게는 약 125°C 미만, 더 바람직하게는 약 115°C 미만, 더 바람직하게는 약 110°C 미만, 더욱 바람직하게는 약 80°C 내지 약 110°C이다. 또한, 냉각(예컨대, 액체 질소의 사용에 의한)은 입자 크기 감소 공정 중에 L형 결정의 온도를 전이 온도 이하로 유지하는 데 필요할 수 있다.

2. 고유의 초미분쇄 연구

결정성 에플레레논의 제조에 사용되는 방법은 생성되는 결정형의 성질에 영향을 끼칠 수 있다. 예컨대, 용매화물의 탈용매화에 의해 제조된 L형은 용액으로부터 직접 결정화에 의해 제조되는 L형보다 결정 격자 내에 표면 결함, 소공, 균열 및 파쇄 발생 가능성을 더 높게 나타낸다. 탈용매화된 결정의 이러한 "고유의 초미분쇄"는 결정의 이용 가능한 표면적 및 결정의

용해 속도를 둘다 증가시킨다. 그러므로, 용해 시간은 탈용매화에 의해 제조된 L형 결정의 선택에 의해 단축되고, 직접 결정화에 의해 제조된 L형 결정의 선택에 의해 길어지거나, 또는 탈용매화에 의해 제조된 L형 결정 및 직접 결정화에 의해 제조되는 L형 결정의 적당한 조합의 선택에 의해 조정될 수 있다.

고유의 초미분쇄는 또한 탈용매화에 의해 제조된 L형 결정이 약학 조성물의 제조에 사용되는 경우에 가공 단계 중에 결정 입자 크기 감소에 대한 필요성을 효과적으로 감소 또는 제거할 수 있다. 그러나, 그러한 L형 결정을 사용하는 한 가지 단점은 직접 결정화에 의해 제조되는 L형 결정에 대해 요구되지 않는 탈용매화 단계를 필요로 한다는 것이다.

공정 생성물 고체 상태형

본 발명의 양태는 또한 본원에 개시된 방법에 따라 제조되는 특이 고체 상태 에플레레논형 및 그 조합을 포함한다. 구체적으로, H형 에플레레논은 단독으로 또는 본원에 제시된 대로 제조되는 1종 이상의 추가 고체 상태형(용매화된 결정형, L형 및 무정형 에플레레논을 포함)과 함께 본 발명의 일 양태를 이룬다. 또한, 탈용매화에 의해 H형 에플레레논의 제조에서 중간체로 유용하고 본원에서 제시된 대로 제조된 용매화된 결정형들도 본 발명의 양태들이다.

고체 상태형의 조합체

제1 및 제2 고체 상태형의 에플레레논이 H형, L형, 용매화된 에플레레논 및 무정형 에플레레논으로부터 선택되는 제1 고체 상태형 에플레레논 및 제2 고체 상태형 에플레레논을 포함하는 조합체에서는 제1 고체 상태형 대 제2 고체 상태형의 임의의 중량비를 사용할 수 있다. 일반적으로 그러한 조합체에서, 제1 고체 상태형 대 제2 고체 상태형의 중량비는 약 1:99 내지 약 99:1이 바람직하고, 약 1:9 이상이 더 바람직하며, 약 1:1 이상이 더욱 바람직하고, 약 2:1 이상이 더 바람직하며, 약 5:1 이상이 더욱 바람직하고, 약 9:1이 가장 바람직하다.

본 발명의 양태에 따르면, 제1 고체 상태형은 H형이고, 제2 고체 상태형은 L형이다.

또 다른 양태로, 제3 고체 상태형 역시 존재한다.

에플레레논 입자 크기

상기 고체 상태형 에플레레논 각각 및 그 조합체가 광범위한 에플레레논 입자 크기를 포함할 수 있지만, 고체 상태형 에플레레논의 입자 크기를 약 400 μm 의 D_{90} 입자 크기로 감소시키면 고체 상태형 에플레레논을 포함하는 약학 조성물 및 비제형화된 에플레레논의 생체 이용성을 개선할 수 있다는 것이 발견되었다. 따라서, 비제형화된 에플레레논 또는 약학 조성물의 제조 시에 출발 물질로 사용된 에플레레논의 D_{90} 입자 크기는 일반적으로 400 μm 미만, 바람직하게는 약 200 μm 미만, 더 바람직하게는 약 150 μm 미만, 더 바람직하게는 약 100 μm 미만, 더욱 바람직하게는 약 90 μm 미만이다.

일 양태에서, D_{90} 입자 크기는 약 25 μm 이상이다. 약 25 내지 약 400 μm 범위의 D_{90} 입자 크기는 일반적으로 대부분의 목적에 대해 허용 가능한 생체 이용성을 가지는 것으로 확인되고, 더 작은 치수로 분쇄하는 것과 관련된 환경 배출 제어에 대한 증가된 필요성 및 비용을 피할 것이다. 이 크기 범위에서 허용 가능한 생체 이용성은 에플레레논의 실질적인 분율이 그 결정형의 더 큰 용해 속도에 적어도 부분적으로 기인하기 때문에 H형 에플레레논으로 존재하는 경우에 특히 얻을 수 있다. 이 양태에 따른 D_{90} 입자 크기의 적당한 범위는 약 40 내지 약 100 μm 이다. 또 다른 적당한 범위는 약 30 내지 약 50 μm 이다. 또 다른 적당한 범위는 약 50 내지 약 150 μm 이다. 또 다른 적당한 범위는 약 75 내지 약 125 μm 이다.

당해 분야에 공지된 임의의 분쇄, 연마, 초미분쇄 또는 기타 입자 크기 감소 방법을 사용하여 고체 상태 에플레레논을 상기 제시한 바와 같은 임의의 목적하는 크기 범위로 만들 수 있다. 예컨대, 공기-분사 또는 단편화 분쇄가 이 목적으로 효과적일 수 있다.

최고로 가능한 생체 이용성이 비용을 덜 고려하고 요구되는 경우, 고체 상태형 에플레레논의 입자 크기를 약 15 μm 미만의 D_{90} 입자 크기로 감소시키면, 상기 정의된 D_{90} 입자 크기와 비교하더라도 비제형화된 에플레레논 및 고체 상태형 에플레레논을 포함하는 약학 조성물의 생체 이용성을 추가로 증가시킬 수 있다는 것이 발견되었다. 그러므로, 일 양태에서, D_{90} 입자 크기는 약 0.01 μm (10 nm) 내지 약 15 μm 이다. 이 양태에서 바람직하게는 D_{90} 입자 크기가 약 10 μm 미만, 더 바람직하

계는 약 1 μm 미만, 더욱 바람직하게는 약 800 nm 미만, 더 바람직하게는 약 600 nm 미만, 가장 바람직하게는 약 400 nm 미만이다. 용도에 따라, 적당한 D_{90} 입자 크기 범위는 약 100 내지 약 800 nm이다. 또 다른 적당한 범위는 약 200 nm 내지 약 600 nm이다. 또 다른 적당한 범위는 약 400 nm 내지 약 800 nm이다. 또 한가지 적당한 범위는 약 500 nm 내지 약 1 μm 이다.

D_{90} 입자 크기가 약 15 μm 미만인 고체 상태형 에플레레논은 당해 분야에 공지된 적용 가능한 입자 크기 감소 기법에 따라 제조할 수 있다. 그러한 기법으로는 본원에 참고로 인용하는 다음 특허 및 공보에 기재된 것들이 있으나, 이에 국한되는 것은 아니다.

미국 특허 제4,826,689호(Violanto & Fischer).

미국 특허 제5,145,684호(Liversidge 등).

미국 특허 제5,298,262호(Na & Rajagopalan).

미국 특허 제5,302,401호(Liversidge 등).

미국 특허 제5,336,507호(Na & Rajagopalan).

미국 특허 제5,340,564호(Illig & Sarpotdar).

미국 특허 제5,346,702호(Na & Rajagopalan).

미국 특허 제5,352,459호(Hollister 등).

미국 특허 제5,354,560호(Lovrecich).

미국 특허 제5,384,124호(Courteille 등).

미국 특허 제5,429,824호(June).

미국 특허 제5,503,723호(Ruddy 등).

미국 특허 제5,510,118호(Bosch 등).

미국 특허 제5,518,187호(Bruno 등).

미국 특허 제5,518,738호(Eickhoff 등).

미국 특허 제5,534,270호(De Castro).

미국 특허 제5,536,508호(Canal 등).

미국 특허 제5,552,160호(Liversidge 등).

미국 특허 제5,560,931호(Eickhoff 등).

미국 특허 제5,560,932호(Bagchi 등).

미국 특허 제5,565,188호(Wong 등).

미국 특허 제5,569,448호(Wong 등).

미국 특허 제5,571,536호(Eickhoff 등).

미국 특허 제5,573,783호(Desieno & Stetsko).

미국 특허 제5,580,579호(Ruddy 등).

미국 특허 제5,585,108호(Ruddy 등).

미국 특허 제5,587,143호(Wong).

미국 특허 제5,591,456호(Franson 등).

미국 특허 제5,622,938호(Wong).

미국 특허 제5,662,883호(Bagchi 등).

미국 특허 제5,665,331호(Bagchi 등).

미국 특허 제5,718,919호(Ruddy 등).

미국 특허 제5,747,001호(Wiedmann 등).

국제 특허 공개 번호 WO93/25190.

국제 특허 공개 번호 WO96/24336.

국제 특허 공개 번호 WO98/35666.

예시적인 공정에서, 성긴 고체 상태 에플레레논은 그것이 본질적으로 프리믹스 현탁액을 형성하기에는 불용성이 액체 매질에 첨가한다. 액체 매질내 에플레레논의 농도는 약 0.1% 내지 약 60%로 변할 수 있고, 바람직하게는 약 5% 내지 약 30 중량%이다. 프리믹스 현탁액의 겔보기 점도는 약 1000 cP 미만이 바람직하다.

프리믹스는 예컨대, 볼 밀을 사용하여 기계적인 수단에 직접 적용시켜 에플레레논의 D_{90} 입자 크기를 목적 범위로 감소시킬 수 있다. 한편, 프리믹스는 육안으로 볼 수 있는 큰 응집물이 없는 균질한 분산액이 관찰될 때까지 예컨대 롤러 밀 또는 카우레스형 믹서를 사용하여 먼저 진탕한 다음, 예컨대, 재순환 매질 밀을 사용하여 마모시킬 수 있다.

입자들은 표면 개질제, 예컨대, 중합체 또는 습윤화제의 존재하에 분쇄시킬 수 있다. 한편, 입자들은 마모 후에 표면 개질제와 접촉시킬 수 있다. 표면 개질제는 입자들의 응집을 감소시킬 수 있고, 다른 이점을 가진다.

입자들은 에플레레논을 상당히 분해시키지는 않는 온도에서 크기가 감소되어야 한다. 약 30~40°C 미만의 가공 온도가 통상 바람직하다. 필요에 따라, 가공 장치는 통상의 냉각 장치로 냉각시킬 수 있다. 이 방법은 분쇄 공정에 안전하고 효과적인 가공 압력 및 주위 온도에서 수행하는 것이 편리하다. 예컨대, 주위 가공 압력은 볼 밀, 마모 밀 및 진동 밀에 전형적인 것이다. 온도의 조절은 재킷화에 의해 또는 빙수에 분쇄실을 침지시켜 수행할 수 있다. 약 0.07 내지 약 3.5kg/cm²의 가공 압력이 고려되고, 약 0.7 내지 약 1.4kg/cm²의 가공 압력이 전형적이다.

분쇄가 완료된 후, 연마 매질은 여과, 메시 스크린을 통한 체질과 같은 통상의 분리 기법을 사용하여 건조 또는 액체 분산액 형태로 분쇄된 생성물로부터 분리된다.

약학 조성물

(i) L형, 용매화된 결정형 및 무정형 에플레레논으로 구성된 군에서 선택되는 1종 이상의 추가 고체 상태형과 함께일 수 있는 H형 에플레레논, 및 (ii) 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 및/또는 희석제 및/또는 보조제(본원에서는 총괄적으

로 "부형제"로 언급함) 및 임의 성분으로 (iii) 에플레레논 이외의 1종 이상의 활성 성분을 포함하는 약학 조성물 부류 역시 본 발명에 포함된다. 바람직한 양태에서, 조성물에 함유되는 에플레레논의 거의 전체량은 상이 순수한 H형으로 존재하지만, 고체 상태형의 조합체가 존재하면, 고체 상태형의 바람직한 중량비는 상기에 제시한 것과 같다.

한편, 조성물에 함유되는 에플레레논의 거의 전체량은 상이 순수한 용매화된 결정성 에플레레논으로 또는 무정형 에플레레논으로 존재할 수 있다.

본 발명의 또 다른 양태에서, 조성물은 H형 및 L형을 포함한다. 조성물 중의 L형 대 H형의 중량비는 일반적으로 약 1:20 내지 약 20:1이다. 또 다른 양태에서, 이 중량비는 약 10:1 내지 약 1:10; 약 5:1 내지 약 1:5; 약 2:1 내지 약 1:2이고; 예시적으로, 중량비는 약 1:1일 수 있다.

본 발명의 조성물은 경구, 볼, 설하, 비경구, 예컨대, 혈관내, 복강내, 피하 또는 근육내, 국소 및 직장(예컨대, 좌약으로) 경로를 비롯하여(이에 국한하지 않음) 임의의 적당한 투여 경로에 적용할 수 있다. 상기 조성물은 목적 투여 경로에 적당한 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 부형제와 함께 목적하는 양으로 에플레레논을 포함한다.

1. 경구용 조성물 및 그에 대한 부형제

상기 조성물의 경구 투여형은 바람직하게는 희석제, 붕괴제, 결합제 및 접착제, 습윤화제, 윤활제 및 부착 방지제로 구성되는 군에서 선택된 1종 이상의 부형제를 포함한다. 더 바람직하게는 그러한 경구 투여형은 편리한 투여를 위해 정제화 또는 캡슐화한다. 생성되는 정제 또는 캡슐은 예컨대, 히드록시프로필메틸셀룰로스 (HPMC) 중의 에플레레논 분산액으로 제공될 수 있는 즉시 방출형 제제 및/또는 제어 방출형 제제를 함유할 수 있다.

부형제의 적당한 선택 및 조합을 통해, 조성물은 효능, 생체 이용성, 제거 시간, 안정성, 부형제와 에플레레논의 혼화성, 안전성, 용해 프로파일, 붕괴 프로파일 및/또는 기타 약리역학, 화학적 및/또는 물리적 성질과 관련하여 개선된 성능을 나타내는 것으로 제공할 수 있다. 부형제는 수용성 또는 수분산성인 것이 바람직하고, 에플레레논의 낮은 수용해도를 상쇄하는 습윤성을 가진다. 조성물이 정제로서 제형화되는 경우, 선택되는 부형제의 조합은 개선된 용해 및 붕괴 프로파일, 경도, 분쇄 강도 및/또는 마손성(friability)을 나타낼 수 있는 정제를 제공한다.

1.1 희석제

본 발명의 조성물은 부형제로서 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 희석제를 포함할 수도 있다. 적당한 희석제로는 개별적으로 또는 조합으로 무수 락토스 및 락토스 일수화물을 비롯한 락토스; 직접 압축 가능한 전분 및 가수분해되는 전분을 비롯한 전분(예컨대, 셀룰라프TM 및 엠텍스TM); 만니톨; 소르비톨; 자일리톨; 텍스트로스(예컨대, 세렐로스TM 2000) 및 텍스트로스 일수화물; 이염기성 인산칼슘 이수화물; 슈크로스계 희석제; 제과당; 일염기성 황산칼슘 이수화물; 황산칼슘 이수화물; 입상 젖산칼슘 삼수화물; 텍스트레이트; 이노시톨; 가수분해되는 시리얼 고체; 아밀로스; 미정질 셀룰로스, α- 및 무정형 셀룰로스의 식품급 소스(예컨대, 렉셀TM) 및 분말형 셀룰로스를 비롯한 셀룰로스; 탄산칼슘; 글리신; 벤토나이트; 폴리비닐피롤리돈 등을 들 수 있다. 그러한 희석제는 존재하는 경우 조성물의 총 중량의 약 5% 내지 약 99%, 바람직하게는 약 10% 내지 약 85%, 더 바람직하게는 약 20% 내지 약 80%를 구성한다. 선택되는 희석제(들)는 적당한 유동성, 그리고 정제가 요구되는 경우에는 압축성을 나타내는 것이 바람직하다.

락토스 및 미정질 셀룰로스는 개별적으로 또는 조합으로 바람직한 희석제이다. 두 희석제는 에플레레논과 화학적으로 혼화성이 있다. 외부과립 미정질 셀룰로스(즉, 건조 단계 후에 습윤 과립화된 조성물에 첨가되는 미정질 셀룰로스)를 사용하여 경도(정제용) 및/또는 붕괴 시간을 개선할 수 있다. 락토스, 특히 락토스 일수화물이 특히 바람직하다. 락토스는 통상 에플레레논의 적당한 방출 속도, 안정성, 압축된 유동성 및/또는 건조성을 가진 조성물을 비교적 낮은 희석제 비용으로 제공한다. 그것은 과립화(습식 과립화가 이용되는 경우) 중에 조밀화를 돕는 고밀도 기질을 제공하고, 따라서, 혼합 유동성을 개선한다.

1.2 붕괴제

본 발명의 조성물은 부형제, 특히 정제용 부형제로서 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 붕괴제를 포함할 수도 있다. 적당한 붕괴제로는 개별적으로 또는 조합으로 나트륨 전분 글리콜레이트(예컨대, 퀘웨스트의 엑스플로타프TM) 및 사전 젤라틴화된 옥수수 전분(예컨대, 내쇼날TM 1551, 내쇼날TM 1550 및 콜로콘TM 1500)을 비롯한 전분; 클레이(예컨대, 비겔TM

HV); 정제된 셀룰로스, 미정질 셀룰로스, 메틸셀룰로스, 카르복시메틸셀룰로스 및 나트륨 카르복시메틸셀룰로스와 같은 셀룰로스; 크로스카르멜로스 나트륨(예컨대, FMC의 Ac-Di-Sol™), 알기네이트, 크로스포비돈 및 검, 예컨대, 아가, 구아, 로커스트콩, 카라야, 펙틴 및 트라가칸트 검이 있다.

붕괴제는 조성물의 제조 중에, 특히 과립화 전에 또는 압축 전의 유회 단계 중에 임의의 적합한 단계에서 첨가할 수 있다. 그러한 붕괴제는 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.2% 내지 약 30%, 바람직하게는 약 0.2% 내지 약 10%, 더 바람직하게는 약 0.2% 내지 약 5%를 구성한다.

크로스카르멜로스 나트륨은 정제 또는 캡슐 붕괴용으로 바람직한 붕괴제이고, 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.2% 내지 약 10%, 바람직하게는 약 0.2% 내지 약 7%, 더 바람직하게는 약 0.2% 내지 약 5%를 구성한다. 크로스카르멜로스 나트륨은 본 발명의 과립화된 조성물에 우수한 내부과립 붕괴능을 부여한다.

1.3. 결합제

본 발명의 조성물은 부형제로서, 특히 정제용 부형제로서 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 결합제 또는 접착제를 포함할 수도 있다. 그러한 결합제 및 접착제는 정제화되어 사이징, 유회, 압축 및 패키징과 같은 정상적인 가공 작업을 가능하게 하지만, 정제가 붕괴되고 조성물이 섭취시에 흡수될 수 있도록 분말에 충분한 응집력을 부여하는 것이 바람직하다. 적당한 결합제 및 접착제로는 개별적으로 또는 조합으로 아카시아; 트라가칸트; 슈크로스; 젤라틴; 글루코스; 사전 젤라틴화된 전분(예컨대, 내쇼날™ 1511 및 내쇼날™ 1500)(이에 국한되지 않음)과 같은 전분; 메틸셀룰로스 및 나트륨 카르복시메틸셀룰로스(예컨대, 타일로스™)(이에 국한되지 않음)와 같은 셀룰로스; 알긴산 및 알긴산염; 마그네슘 알루미늄 실리케이트; 폴리에틸렌 글리콜(PEG); 구아 검; 다당류 산; 벤토나이트; 폴리비닐피롤리돈(포비돈 또는 PVP), 예컨대, 포비돈 K-15, K-30 및 K-29/32; 폴리메타크릴레이트; HPMC; 히드록시프로필셀룰로스(예컨대, 클루셀™) 및 에틸셀룰로스(예컨대, 에토셀™)를 들 수 있다. 그러한 결합제 및/또는 접착제는 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.5% 내지 약 25%, 바람직하게는 약 0.75% 내지 약 15%, 더 바람직하게는 약 1% 내지 약 10%를 구성한다.

HPMC는 에플레레논의 분말 혼합물에 응집성을 부여하는 데 사용되는 바람직한 결합제이다. HPMC는 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.5% 내지 약 10%, 바람직하게는 약 1% 내지 약 8%, 더 바람직하게는 약 2% 내지 약 4%를 구성한다. 점도가 약 2 내지 약 8 cP인 저분자량 HPMC를 사용할 수 있지만, 점도 약 2 내지 약 6 cP가 바람직하고, 특히 점도가 약 2 내지 약 4 cP가 바람직하다. HPMC 점도는 20°C에서 수중 2% 용액으로 측정된다. HPMC의 메톡시 함량은 약 15% 내지 약 35%인 반면에, 히드록시프로필 함량은 통상 최고 약 15%, 바람직하게는 약 2% 내지 약 12%이다.

1.4. 습윤화제

에플레레논은 주로 수용액에서 불용성이다. 따라서, 본 발명의 조성물은 부형제로서 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 습윤화제를 포함할 수도 있으나, 바람직하게는 포함하는 것이다. 그러한 습윤화제는 에플레레논을 물과 밀접한 관계, 즉 조성물의 상대적인 생체 이용성을 개선시키는 것으로 생각되는 상태를 유지하도록 선택되는 것이 바람직하다.

본 발명의 조성물에 습윤화제로서 사용할 수 있는 계면활성제의 비제한적인 예로는 4차 암모늄 화합물, 예컨대, 염화벤즈알코늄, 염화벤즈에토늄 및 염화세틸피리디늄, 디옥틸 나트륨 설포숙시네이트, 폴리옥시에틸렌 알킬페닐 에테르, 예컨대, 논옥시놀 9, 논옥시놀 10 및 옥톡시놀 9, 폴록사머(폴리옥시에틸렌 및 폴리옥시프로필렌 블록 공중합체), 폴리옥시에틸렌 지방산 글리세라이드 및 오일, 예컨대, 폴리옥시에틸렌(8) 카프릴산/카프린산 모노글리세라이드 및 디글리세라이드(예컨대, 가테포체의 라브라솔™), 폴리옥시에틸렌(35) 카스터유 및 폴리옥시에틸렌(40) 수소화된 카스터유; 폴리옥시에틸렌 알킬 에테르, 예컨대, 폴리옥시에틸렌(20) 세토스테아릴 에테르, 폴리옥시에틸렌 지방산 에스테르, 예컨대, 폴리옥시에틸렌(40) 스테아레이트, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 에스테르, 예컨대, 폴리소르베이트 20 및 폴리소르베이트 80(예컨대, ICI의 트윈™ 80), 프로필렌 글리콜 지방산 에스테르, 예컨대, 프로필렌 글리콜 라우레이트(예컨대, 가테포체의 라우로글리콜™), 나트륨 라우릴 설페이트, 지방산 및 그 염, 예컨대, 올레산, 나트륨 올레에이트 및 트리에탄올아민 올레에이트, 글리세릴 지방산 에스테르, 예컨대, 글리세릴 모노스테아레이트, 소르비탄 에스테르, 예컨대, 소르비탄 모노라우레이트, 소르비탄 모노올레에이트, 소르비탄 모노팔미테이트 및 소르비탄 모노스테아레이트, 킬록사폴 및 그 혼합물을 들 수 있다. 그러한 습윤화제는 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.25% 내지 약 15%, 바람직하게는 약 0.4% 내지 약 10%, 더 바람직하게는 약 0.5% 내지 약 5%를 구성한다.

음이온 계면활성제인 습윤화제가 바람직하다. 나트륨 라우릴 설페이트가 특히 바람직한 습윤화제이다. 나트륨 라우릴 설페이트는 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.25% 내지 약 7%, 바람직하게는 약 0.4% 내지 약 4%, 더 바람직하게는 약 0.5% 내지 약 2%를 구성한다.

1.5. 윤햄제, 활택제 및 부착 방지제

본 발명의 조성물은 부형제로서 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 윤햄제 및/또는 활택제를 포함할 수도 있다. 적합한 윤햄제 및/또는 활택제로는 개별적으로 또는 조합으로 글리세릴 베타페이트(예컨대, 콤프리톨™ 888); 스테아린산 및 그 염, 예컨대, 마그네슘, 칼슘 및 나트륨 스테아레이트; 수소화된 식물성유(예컨대, 스테로텍스™); 콜로이드성 실리카; 활석; 왁스; 붕산; 벤조산나트륨; 아세트산나트륨; 푸마르산나트륨; 염화나트륨; DL-로이신; 폴리에틸렌 글리콜(예컨대, 카보왁스™ 4000 및 카보왁스™ 6000); 올레산나트륨; 나트륨 라우릴 설페이트; 및 마그네슘 라우릴 설페이트를 들 수 있다. 그러한 윤햄제 및/또는 활택제는 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.1% 내지 약 10%, 바람직하게는 약 0.2% 내지 약 8%, 더 바람직하게는 약 0.25% 내지 약 5%를 구성한다.

스테아린산마그네슘이 정제 제형의 압축 중에 장치와 과립상 혼합물 사이의 마찰을 감소시키는 데 사용되는 바람직한 윤햄제이다.

적당한 부착 방지제로는 활석, 옥수수 전분, DL-로이신, 나트륨 라우릴 설페이트 및 금속성 스테아레이트가 있다. 활석이 예컨대, 장치 표면에 제제가 부착하는 것을 감소시키고 또한 혼합물에서 정전기를 감소시키는 데 사용되는 바람직한 부착 방지제 또는 활택제이다. 활석은 존재하는 경우 조성물의 총중량의 약 0.1% 내지 약 10%, 바람직하게는 약 0.25% 내지 약 5%, 더 바람직하게는 약 0.5% 내지 약 2%를 구성한다.

1.6. 기타 부형제

착색제, 향미제 및 감미제와 같은 기타 부형제는 약학 분야에 공지되어 있고, 본 발명의 조성물에 사용할 수 있다. 정제는 예컨대, 장용 피복으로 피복하거나 피복하지 않을 수 있다. 본 발명의 조성물은 또한 완충제를 포함할 수도 있다.

1.7. 바람직한 경구용 조성물

일 양태에서, 본 발명의 조성물은 목적하는 양의 에플레레논 및 1종 이상의 셀룰로스성 부형제를 포함한다. "셀룰로스성 부형제"란 용어는 제한 없이 정제된 셀룰로스, 미정질 셀룰로스 및 알킬셀룰로스 및 그 유도체와 염(예컨대, 메틸셀룰로스, 에틸셀룰로스, 히드록시프로필셀룰로스, HPMC, 카르복시메틸셀룰로스, 크로스카르멜로스 나트륨을 포함하는 나트륨 카르복시메틸셀룰로스 등)을 비롯하여 셀룰로스 또는 그 유도체를 포함하는 부형제를 포괄한다. 바람직하게는 존재하는 1종 이상의 그러한 셀룰로스성 부형제는 (C₁₋₆ 알킬)셀룰로스 및 그 유도체와 염으로 구성되는 군에서 선택된다. 더 바람직하게는 이러한 셀룰로스성 부형제는 히드록시(C₂₋₄ 알킬)-(C₁₋₄ 알킬)-셀룰로스 및 그 유도체와 염으로 구성된 군에서 선택된다.

본 양태의 조성물은 희석제, 붕괴제, 결합제, 습윤화제, 윤햄제 및 부착 방지제로 구성되는 군에서 선택된 1종 이상의 부형제를 추가로 포함하는 것이 바람직하다. 더 바람직하게는 상기 조성물은 락토스, 미정질 셀룰로스, 크로스카르멜로스 나트륨, HPMC, 나트륨 라우릴 설페이트, 스테아린산마그네슘 및 활석으로 구성된 군에서 선택되는 1종 이상의 부형제를 포함한다. 더욱 바람직하게는 상기 조성물은 락토스 일수화물, 미정질 셀룰로스, 크로스카르멜로스 나트륨 및 HPMC를 포함하고, 가장 바람직하게는 나트륨 라우릴 설페이트, 스테아린산마그네슘 및 활석으로 구성되는 군에서 선택되는 1종 이상의 추가 부형제를 포함한다.

본 양태에서 상기에 열거한 개개의 부형제는 필요하다면 기타 적당한 부형제로 대체할 수도 있다. 허용 가능한 대체 부형제는 에플레레논 및 기타 부형제와 화학적으로 혼화 가능하다. 기타 희석제, 붕괴제, 결합제 및 접착제, 습윤화제, 윤햄제 및/또는 부착 방지제 또는 활택제를 이용할 수 있지만, 나노미립성 에플레레논, 락토스, 미정질 셀룰로스, 크로스카르멜로스 나트륨 및 HPMC와, 임의로 나트륨 라우릴 설페이트, 스테아린산마그네슘 및/또는 활석을 포함하는 조성물은 일반적으로 그러한 기타 조성물에 비해 약리역학적, 화학적 및/또는 물질적 성질의 우수한 조합을 소유한다.

또 다른 양태로, 본 발명의 조성물은 에플레레논 약 1% 내지 약 95%; 약학적으로 허용 가능한 희석제 약 5% 내지 약 99%; 약학적으로 허용 가능한 붕괴제 약 0.5% 내지 약 30%; 및 약학적으로 허용가능한 결합제 약 0.5% 내지 약 25%를 포함하는데, 여기서, 모든 %는 중량%이다. 그러한 조성물은 추가로 약학적으로 허용가능한 습윤화제 약 0.25% 내지 약 15%; 약학적으로 허용가능한 윤활제 약 0.1% 내지 약 10%; 및/또는 약학적으로 허용가능한 부착 방지제 약 0.1% 내지 약 15%를 포함할 수도 있다.

또 하나의 양태로, 본 발명의 조성물은 경구용 단위 투여형, 바람직하게는 정제 또는 캡슐 형태인데, 상기 정의된 에플레레논 및 셀룰로스성 부형제를 포함한다. 바람직하게는 상기 조성물은 락토스 일수화물, 미정질 셀룰로스, 크로스카르멜로스나트륨, 히드록시프로필 메틸셀룰로스, 나트륨 라우릴 설페이트, 스테아린산마그네슘 및 활석으로 구성되는 군에서 선택되는 1종 이상의 부형제를 포함한다.

2. 비경구용 조성물

본 발명의 고체 상태 에플레레논형은 비경구적으로, 예컨대, 염수, 텍스트로스 용액 또는 물과 같은 담체 액중에 고체 상태 에플레레논의 현탁액을 정맥내, 근육내 또는 피하 주사하여 투여할 수 있다. 현탁 조성물은 상기 경구용 조성물에 대해 개시한 것들로부터 선택되는 적당한 부형제를 포함할 수 있다.

3. 경피용 조성물

다른 조성물은 국소용 또는 경피용 연고 또는 크림 형태일 수 있는데, 그 내부에 고체 상태 에플레레논을 예컨대, 약 0.075% 내지 약 30%, 바람직하게는 약 0.2% 내지 약 20 중량%, 더 바람직하게는 약 0.4 내지 약 15 중량% 분산시킨 것이다. 그러한 국소용 또는 경피용 조성물은 바람직하게는 피부를 통해 에플레레논의 흡수 또는 침투를 증가시키는 화합물을 포함할 수 있다. 그러한 경피용 침투 증강 화합물의 예로는 디메틸설폭사이드 및 관련 화합물이 있다.

에플레레논의 신규한 고체 상태형은 저장체 및 다공성 막형 또는 고체 매트릭스형의 패치를 사용하여 경피적으로 투여할 수 있다. 어느 경우에도, 에플레레논은 저장체 또는 마이크로캡슐로부터 막을 통해 에플레레논 투과 접착제(환자의 피부 또는 점막과 접촉함) 내로 연속적으로 전달된다. 에플레레논이 피부를 통해 흡수되는 경우, 에플레레논의 제어 및 예정된 흐름이 수용자에게 투여될 수 있다. 마이크로캡슐의 경우에, 캡슐화제는 또한 막으로서 기능할 수도 있다.

치료 또는 예방 방법

본 발명은 또한 알도스테론이 매개하는 상태 또는 질환의 치료 및/또는 예방 방법을 포함하는데, 이 방법은 그러한 상태 또는 질환이 있거나 또는 그에 대한 감수성이 있는 환자를 고체 상태 에플레레논 또는 고체 상태 에플레레논을 함유하는 약학 조성물의 치료학적 유효량으로 치료하는 것이며, 고체 상태 에플레레논의 적어도 검출 가능한 분율은 H형 에플레레논이고, 나머지는 L형 에플레레논, 용매화된 결정성 에플레레논 및 무정형 에플레레논 중 1종 이상을 포함한다. 그러한 방법은 예컨대, 고혈압과 같은 과알도스테론증, 심부전증을 비롯한 심부전, 간의 경변, 과다 콜라젠, 섬유증, 양성 전립선 비대증 및 우울증의 치료(이에 국한되지 않음)를 비롯하여 알도스테론 길항물질의 투여가 처방되는 환자의 상태 또는 질환의 치료 및/또는 예방에 유용하다.

인간 치료에 유용한 것 외에도, 이들 고체 상태형 에플레레논 및 그 약학 조성물은 또한 애완동물, 이국적 동물 및 가축, 예컨대, 말, 개 및 고양이의 수의학적 치료에도 유용하다.

고체 상태형 에플레레논 및 그 조성물은 (i) 다른 알도스테론 수용체 길항물질 대신에 부분적으로 또는 완전히 병합 치료로 및/또는 (ii) 다른 약물과 병합 치료로 사용할 수 있다. "병합 치료(combination therapy)"란 약물 배합의 유익한 효과를 제공하는 체계로 순차적인 방식으로 각 약물을 투여하는 것 및 실질적으로 동시적인 방식으로, 예컨대, 상기 활성제의 고정된 비율을 가진 단일 캡슐 또는 주사로 또는 각 활성제에 하나씩 별개의 투여형 또는 주사로 다회 약물을 동시 투여하는 것을 의미한다. 그러한 병합 치료의 비제한적인 예로는 국제 특허 공개 공보 WO96/24373호 기재된 알도스테론 수용체 길항물질과 안지오텐신 II 수용체 길항물질의 배합물을 사용하는 심혈관 질병의 치료, 국제 특허 공개 공보 WO96/40257호에 기재된 알도스테론 수용체 길항물질과 안지오텐신 II 길항물질의 배합물을 사용하는 울혈 심부전의 치료, 및 국제 특허 공개 공보 WO96/24372호에 기재된 알도스테론 수용체 길항물질, ACE 억제제 및 이뇨제의 배합물을 사용하는 심부전의 치료를 들 수 있으며, 상기 공보는 모두 본원에 참고로 인용하였다.

실시예

다음 실시예들은 본원에 기재한 에플레레논의 다양한 고체 상태형의 제조 방법에 관한 상세한 설명을 포함한다. 이러한 상세한 설명은 본 발명의 범위 내에 포함되며 그 범위를 어떤 식으로든 제한함이 없이 본 발명을 예시하는 것이다. 달리 나타내지 않는 한 모든 %는 중량%이다. 다음 실시예의 각각에 사용된 에플레레논 출발 물질은 상기 인용한 국제 특허 공개 공보 WO98/25948호에 제시된 반응식 1에 따라 제조하였다.

실시예 1: 고순도 에플레레논 출발 물질로부터 메틸 에틸 케톤 용매화물의 제조 및 용매화물로부터 L형 에플레레논의 제조

A. 메틸 에틸 케톤 용매화물의 제조

437 mg의 고순도 에플레레논(총 디에폭사이드 및 11,12-에폭사이드 0.2% 미만과 함께 순도 >99%)을 900 rpm으로 자기 교반하면서 열판 상에서 가열하여 비등시키면서 10 ml의 메틸 에틸 케톤에 용해시켰다. 생성 용액을 연속 자기 교반하면서 실온으로 냉각시켰다. 실온이 되면, 용액을 1 시간 동안 계속 교반하면서 1°C 배스로 옮겼다. 고체 메틸 에틸 케톤 용매화물을 진공 여과에 의해 냉용액으로부터 수집하였다.

B. L형 에플레레논의 제조

상기 제조된 고체 메틸 에틸 케톤 용매화물을 주위 대기압에서 4 시간 동안 100°C의 오븐에서 건조시켰다. 건조된 고체는 DSC 및 XRPD 분석에 의해 순수한 L형으로 측정되었다.

실시예 2: 고순도 에플레레논 출발 물질로부터 추가 용매화물의 제조

추가 용매화된 결정형은 메틸 에틸 케톤을 다음 각각의 용매로 대체함으로써 실시예 1과 실질적으로 동일하게 제조하였다: n-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 에탄올, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 이소프로판올, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란 및 톨루엔.

실시예 3: 증기 확산 성장에 의한 메틸 에틸 케톤 용매화물의 제조

400 mg의 에플레레논(순도 >99.9%)을 열판 상에서 가온하여 20 ml의 메틸 에틸 케톤에 용해시켜 모액을 형성하였다. 모액 8 ml를 메틸 에틸 케톤으로 10ml로 희석하였다(생성 용액은 80% 희석 샘플로 언급한다). 모액 4 ml는 메틸 에틸 케톤으로 10 ml로 희석하였다(40% 희석 샘플). 모액 2 ml는 메틸 에틸 케톤으로 10 ml로 희석하였다(20% 희석 샘플). 20 ml의 신틸레이션 바이얼 중의 다양한 희석 샘플은 항용매로서 소량의 핵산을 함유하는 데시케이터 단지 로 옮겼다. 데시케이터 단지를 밀봉하고, 핵산 증기가 메틸 에틸 케톤 용액 내로 확산되게 하였다. 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 결정은 24 시간 내에 80% 희석 샘플에서 성장하였다.

실시예 4: 회전식 증발기에 의한 에플레레논의 용매화물 결정형의 제조

약 400 mg의 에플레레논(순도 >99.9%)을 250 ml의 둥근 바닥 플라스크에 계량해 넣었다. 메틸 에틸 케톤 및 실시예 2에 열거한 용매로부터 선택한 용매 150 ml를 플라스크에 첨가하고, 필요에 따라 에플레레논이 용해될 때까지 용액을 부드럽게 가열하였다. 생성되는 투명한 용액을 배스 온도 약 85°C로 부치 회전식 증발기 상에 넣고, 진공 하에 용매를 제거하였다. 대략 10 ml의 용매가 플라스크에 잔존할 때 용매 제거를 중지하였다. 생성되는 고체는 결정형의 측정을 위해 적당한 방법(예컨대, XRPD, DSC, TGA, 현미경 분석 등)으로 분석하였다.

실시예 5: 슬러리 전환

L형 에플레레논 대략 150 mg 및 H형 에플레레논 150 mg을 5 ml의 에틸 아세테이트에 첨가하였다. 생성되는 슬러리를 하루 밤 동안 300 rpm으로 자기 교반하였다. 다음날 생성되는 고체 샘플을 여과에 의해 수집하였다. XRPD에 의한 샘플의 분석은 샘플이 완전히 L형 에플레레논으로 구성되었음을 나타냈다.

실시예 6: (a) 저순도 에플레레논 출발 물질로부터 용매화물 및 (b) 생성되는 용매화물로부터 H형 결정성 에플레레논의 제조

목적하는 양의 불순물을 총 샘플 질량 100 mg을 제공하기에 충분한 에플레레논의 양과 함께 신틸레이션 바이얼에 첨가함으로써, 본원에 정의된 디에폭사이드 또는 11,12-에폭사이드의 다양한 양을 함유하는 샘플을 제조하였다. 각 샘플에서의 불순물의 함량은 표 6A 및 6B에 제시하며, 여기서, 불순물은 각각 디에폭사이드 또는 11,12-에폭사이드이다. 마이크로-플리(micro-flea) 자기 교반기를 메틸 에틸 케톤 1 mL와 함께 각각의 신틸레이션 바이얼에 첨가하였다. 바이얼들을 느슨하게 캡핑하고, 자기 교반하면서 열판 상에서 환류 가열하여 고체를 용해시켰다. 용해가 완료되었을 때, 생성 용액을 계속 교반하면서 실온으로 냉각시켰다. 생성 고체는 진공 여과에 의해 수집하고, XRPD에 의해 즉시 분석하였다. 그 후, 고체를 100°C의 오븐에 넣고, 주위 대기압에서 1 시간 동안 건조시켰다. 건조된 고체는 약 12.1도 2θ에서의 H형 회절 피크의 면적을 모니터링함으로써 H형 함량에 대해 XRPD로 분석하였다. 이넬(Inel) 다목적 회절기를 사용하여 모든 XRPD 회절 패턴을 기록하였다.

[표 6A]

실시에 6에서의 에플레레논 출발 물질의 조성

디에폭사이드 %	에플레레논 (mg)	디에폭사이드 (mg)
0	100.44	0
1	99.08	1.24
2	98.09	2.24
3	97.08	3.04
5	95.09	5.04

[표 6B]

실시에 6에서의 에플레레논 출발 물질의 조성

11, 12-에폭사이드 %	에플레레논 (mg)	11, 12-에폭사이드 (mg)
0	101.38	0
1	99.23	1.10
5	94.97	5.36
10	90.13	10.86

A. 디에폭사이드 결과

도 78은 (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% 및 (d) 5% 디에폭사이드 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻은 메틸 에틸 케톤 용매 화물 습윤 케이크에 대한 XRPD 패턴을 도시한 것이다. 피크 강도는 비교의 용이성을 위해 정규화하였다. H형 또는 디에폭사이드의 특징적인 피크는 회절 패턴에 존재하지 않는다. 패턴은 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 특징이다.

도 79는 (a) 0%, (b) 1%, (c) 3% 및 (d) 5% 디에폭사이드 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻은 건조된 고체에 대한 XRPD 패턴을 도시한 것이다. 피크 강도는 비교의 용이성을 위해 정규화하였다. 디에폭사이드 도핑 레벨이 0% 또는 1%인 메틸 에틸 케톤 결정화에 상응하는 건조된 샘플에서는 H형이 검출되지 않았다. 디에폭사이드 도핑 레벨이 3% 또는 5%인 메틸 에틸 케톤 결정화에 상응하는 건조된 샘플에서는 H형이 검출되었다. 약 12.1도 2θ에서의 H형 회절 피크의 면적 및 각 샘플에 대해 산정된 H형 함량은 표 6C에 제시한다.

[표 6C]

실시에 6에서의 메틸 에틸 케톤 결정화에서 얻은 데이터

출발 물질 중의 디에폭사이드 %	결정 중의 디에폭사이드 % (HPLC에 의한)	H형 피크 면적 12.1° 2θ	H형의 산정된 %
-------------------	---------------------------	-------------------	-----------

0	0	검출되지 않음	0
1	0.29	검출되지 않음	0
3	0.58	1168	10
5	1.05	4175	30

표 6C에 보고된 결과는 디에폭사이드의 존재가 탈용매화 중에 H형 에플레레논의 형성에 영향을 끼침을 확인한다. H형의 형성은 디에폭사이드가 메틸 에틸 케톤 용매화물 결정 상에 혼입되고/되거나 흡착될 때 유도된다.

두 번째 3% 디에폭사이드 도핑 실험은 탈용매화 중에 형성된 H형의 양의 미치는 제조 경로의 영향을 분석하기 위해 수행하였다.

이 실험에서는, 도핑된 결정화로부터 얻어진 메틸 에틸 케톤 용매화물을 두 부분으로 나누었다. 첫 번째 부분은 비처리된 채로 남긴 반면에 두 번째 부분은 모르타르 및 막자에서 가볍게 연마하여 더 높은 레벨의 결정 결함을 유도하였다. 두 부분은 모두 주위 대기압에서 1 시간 동안 100°C에서 건조시켰다. 건조된 고체는 XRPD로 분석하였다. XRPD 패턴은 건조 전에 용매화물의 연마가 없는 경우(a)와 있는 경우(b), 디에폭사이드의 3% 도핑과 함께 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻은 건조된 고체에 대해 도 80에 제시한다. XRPD 패턴은 비연마 샘플에 비해 연마 샘플에서 더 많은 양의 H형을 나타냈다. 이러한 결과는 메틸 에틸 케톤 용매화물이 분리되고 취급되는 조건이 탈용매화로부터 기인하는 결정형에 영향을 끼칠 수 있음을 시사하는 것이다.

B. 11,12-에폭사이드 결과

도 81은 (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% 및 (d) 10% 11,12-에폭사이드 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻은 메틸 에틸 케톤 용매화물 습윤 케이크에 대한 XRPD 패턴을 도시한 것이다. 피크 강도는 비교의 용이성을 위해 정규화하였다. H형 또는 11,12-에폭사이드의 특징적인 피크는 회절 패턴에 존재하지 않는다. 패턴은 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 용매화물의 특징이다.

도 82는 (a) 0%, (b) 1%, (c) 5% 및 (d) 10% 11,12-에폭사이드 도핑된 메틸 에틸 케톤 결정화로부터 얻은 건조된 고체에 대한 XRPD 패턴을 도시한 것이다. 피크 강도는 비교의 용이성을 위해 정규화하였다. 11,12-에폭사이드 도핑 레벨이 0%, 1% 또는 5%인 메틸 에틸 케톤 결정화에 상응하는 건조된 샘플에서는 H형이 검출되지 않았다. 11,12-에폭사이드 도핑 레벨이 10%인 메틸 에틸 케톤 결정화에 상응하는 건조된 샘플에서는 H형이 검출되었다. 약 12.1도 2θ에서의 H형 회절 피크의 면적 및 각 샘플에 대해 산정된 H형 함량은 표 6D에 제시한다.

[표 6D]

실시에 6에서의 메틸 에틸 케톤 결정화에서 얻은 데이터

출발 물질 중의 11,12-에폭사이드	H형 피크 면적 12.1° 2θ	H형의 산정된 %
0	검출되지 않음	0
1	검출되지 않음	0
5	검출되지 않음	0
10	1541	10-15

표 6D에 보고된 결과는 11,12-에폭사이드의 존재가 탈용매화 중에 H형 에플레레논의 형성에 영향을 끼침을 확인한다. H형 에플레레논의 형성을 유도하는 데 필요한 메틸 에틸 케톤 결정화에 있어서 불순물의 레벨은 디에폭사이드에 대한 것보다 더 큰 것으로 보인다.

실시에 7: 최종 결정형에 미치는 결정화 및 건조의 효과

최종 결정형에 미치는 결정화 및 건조의 효과를 분석하는 다음 4종의 실험을 수행하였다: (i) 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 결정화(실험의 2³+3 통계적 디자인), (ii) 불량한 품질의 모액 잔류물의 결정화, (iii) H형 식정에 의한 고순도 에플레레논의 결정화 및 (iv) L형 식정에 의한 저순도 에플레레논의 결정화.

상기 실험들에서의 변수는 냉각 속도, 출발 물질 순도 레벨 및 결정화의 종말점 온도를 포함하였다. 본 실시예의 목적상, 고순도 에플레레논은 초순수(HPLC에 의한) 분쇄된 에플레레논으로 정의되고, 저순도 에플레레논은 순도 89%의 에플레레논으로 정의되었다. 저순도 에플레레논을 제조하기 위해, 에플레레논의 제조 공정으로부터 제거된 모액을 분석하고 혼합하여 에플레레논 61.1%, 디에폭사이드 12.8% 및 11,12-에폭사이드 7.6%인 물질을 생성시켰다. 이 물질을 충분한 양의 고순도 에플레레논과 혼합하여 89%의 에플레레논을 생성시켰다.

A. 메틸 에틸 케톤 결정화

메틸 에틸 케톤 결정화 실험에서는, 고순도 에플레레논 60g을 사용하여 모든 시험을 수행하였다. 고 종말점은 45°C로 정의되고, 저 종말점은 5°C로 정의되었다. 고 냉각 속도는 3°C/분으로 정의되고, 저 냉각 속도는 0.1°C/분으로 정의되었다. 중앙점은 냉각 속도 1.5°C/분, 에플레레논 순도 94.5% 및 종말점 25°C였다.

FTIR로 배경 관독을 실시한 후에, 메틸 에틸 케톤 250 ml을 1 리터의 메틀러 RC-1, MP10 반응기에 충전하고, 100 rpm으로 교반하였다. 여러 차례 주사 후, 에플레레논을 반응기에 충전한 다음, 추가로 메틸 에틸 케톤 470 ml을 충전하였다. 진탕을 500 rpm으로 증가시켜 고체를 현탁시키고, 배치(batch) 온도는 80°C로 증가시켰다. 에플레레논의 용해를 보장하기 위해 배치 온도를 80°C로 유지하였다. 생성되는 투명한 용액에서는 일반적으로 검은 얼룩 또는 흰 얼룩을 볼 수 있었다. 배치 온도는 경사(ramp) 냉각에 의해 목적하는 비율로 목적하는 종말점까지 감소시켰는데, 종말점에서는 전이 플라스크 내로 넣기 전에 1 시간 동안 유지하고, 여과하여 습윤 케이크를 얻었다. 그 후, 반응기, 전이 플라스크 및 습윤 케이크를 메틸 에틸 케톤 120 ml로 세척하였다. 각 습윤 케이크 약 10g을 약간의 질소를 배기하면서 75°C의 공칭 조건 하에 진공 오븐에서 건조시켰다. 습윤 케이크는 고저 조건 하에 유체 베드 건조에 의해 건조시켰다. 유체 베드 건조에 대한 고 조건은 송풍기 세팅 4와 함께 100°C로 정의되는 반면에, 유체 베드 건조에 대한 저 조건은 송풍기 세팅 1과 함께 40°C로 정의되었다.

B. 불량한 품질의 모액 잔류물의 결정화

불량한 품질의 모액 잔류물의 결정화와 관련된 실험에서는, 순도 61.1%의 에플레레논 60g 및 메틸 에틸 케톤 720 ml을 1 리터의 메틀러 RC-1, MP10 반응기에 직접 충전하였다. 불순물 에플레레논은 반응기에 충전하기 전에 고순도 에플레레논과 혼합하지 않았다. 생성되는 혼합물을 80°C까지 가열하였으며, 혼합물은 그 온도에서 불투명한 슬러리였다. 결정화를 계속하고, 혼합물을 신속 냉각 조건 하에 45°C에서 여과하였다.

C. H형 식정

H형 식정 실험에서는, 고순도 에플레레논 60g 및 메틸 에틸 케톤 720 ml을 1 리터의 메틀러 RC-1, MP10 반응기에 충전하였다. 그 혼합물을 80°C까지 가열시킨 다음, 1.5°C/분의 냉각 속도로 25°C까지 냉각시켰다. 용액이 62°C까지 냉각될 때, 상이 순수한 H형 결정 3g을 식정하여 결정화를 개시하였다. H형 시드 결정은 아래 실시예 9에서 기술하는 분해 공정에 의해 제조하였다.

D. L형 식정

L형 식정 실험에서는, 89.3% 에플레레논(고순도 에플레레논 48.3g과 61.1% 에플레레논 18.3g을 혼합하여 제조됨) 66.6g 및 메틸 에틸 케톤 720 ml을 1 리터의 메틀러 RC-1, MP10 반응기에 충전하였다. 그 혼합물을 80°C까지 가열시킨 다음, 1.5°C/분의 냉각 속도로 25°C까지 냉각시켰다. 용액이 63°C까지 냉각될 때, 상이 순수한 L형 결정 3g을 식정하여 결정화를 개시하였다. L형 시드 결정은 상기 실시예 1에서 기술한 결정화 및 탈용매화 공정에 의해 제조하였다.

E. 결과

실험 결과는 표 7A에 보고한다.

메틸 에틸 케톤 결정화 실험에서는, 디에폭사이드를 함유하는 저순도 에플레레논을 사용한 경우에만 H형이 검출되었다. 최종 생성물 중의 디에폭사이드의 증가된 레벨은 냉각 속도가 더 빠를 때 관찰되었다.

불량한 품질의 모액 잔류물의 결정화와 관련된 실험은 XRPD로 분석할 때 디에폭사이드와 H형 에플레레논의 혼합물로 보이는 불량한 품질의 물질을 생성시켰다.

H형 식정 실험(고순도 에플레레논을 H형으로 식정하는 경우)은 XRPD 분석에 기초하여 H형이 77%이지만, DSC에 기초하면 완전히 H형인 생성물을 산출하였다. 그러나, XRPD 모델은 약 15% H형을 넘어서는 선형적으로 시험되지 않았다. 이 실험은 H형이 디에폭사이드 부재 하에 생성되는 본 실시예의 4종의 실험 중 단 하나의 실험이었다.

L형 식정 실험(저순도 에플레레논을 L형으로 식정하는 경우)은 완전히 L형인 생성물을 산출하였다.

에플레레논의 고 조건 유체 베드 건조에 대해 얻어진 데이터가 진공 오븐 건조에 대해 얻어진 데이터에 상응하는 것으로 보였다. 저 조건 유체 베드 건조는 진공 오븐 건조에 대한 것과는 상이한 결과를 산출하였다.

[표 7A]
실시예 7의 결과

냉각속도 (°C/분)	냉각 종말점 (°C)	출발 물질 순도 %	핵형성 온도 (°C)	11, 12-에폭사이드 % ¹	디에폭사이드 % ¹	탈용매화된 결정에 대한 분석	수율%	H형 %(XRPD)
3	45	94.5	57.0	ND	ND	100.3	66.1	ND
3	5	94.5	54.9	ND	ND	100.3	98.1	ND
0.1	45	94.5	60.9	ND	ND	100.3		ND
0.1	5	94.5	63.4	ND	ND	100.5	79.3	ND
3	45	61.1		4.8	36.6	43.3	27	100 ²
3	45	89.3	52.2	0.49	0.88	98.3	62	29
3	5	89.3	53.3	0.56	1.0	98.1	87	9
1.5	25	100	59.0	0.18	0.36	99.4	75	5
0.1	45	89.3	63.3	0.20	0.44	99.4	36	31
0.1	5	89.3	61.4	0.18	0.40	99.5	87	ND
1.5	25	100	60.6	0.18	0.36	99.5	79.2	ND
1.5	25	100	55.9	0.38	0.80	98.6	80.5	<3%
1.5	25	100 식정된 H형		0.03	ND	100.4	82.2	77/100 ³
1.5	25	89.3 식정된 L형		0.33	0.50	97.5	80.2	ND

1. 75°C에서 진공 오븐에서 용매화물을 건조시킨 후의 중량%.

2. XRPD로 분석할 때 H형 및 디에폭사이드의 혼합물로 보임.

3. XRPD에 의해 H형 77% 및 DSC에 의해 H형 100%로 보임.

ND= 검출되지 않음.

F. 물질 순도

표 7A에 보고된 데이터에 기초한 생성물 순도, 출발 물질 순도, 냉각 속도 및 종말점 온도의 입방 플롯은 도 83에 도시되어 있다. 이 입방 플롯은 결정화의 개시 시에 순도가 높은 물질을 사용하면 순도가 높은 물질이 생성됨을 시사한다. 결정화의 종말점 온도는 생성물 순도에 크게 영향을 끼치는 것으로는 보이지 않는다. 그러나, 냉각 속도는 냉각 속도가 빠를수록 약간 덜 순수한 생성물이 생성되는 효과가 있는 것으로 보인다. 실제로, 디에폭사이드의 레벨은 일반적으로 냉각 속도가 빠를수록 더 높다.

도 84는 어느 변수(있다면)가 생성물 순도에 통계적으로 유의 수준의 효과를 갖는지를 측정하기 위한 입방 플롯의 결과를 사용하여 작성된 절반 정규분포 플롯을 도시한 것이다. 냉각 속도와 출발 물질 순도 사이의 상호작용 및 냉각 속도의 효과 역시 통계적으로 유의 수준이었지만, 출발 물질 순도는 생성물 순도에 대해 통계적으로 최고의 유의 수준의 효과를 가졌다.

도 85는 생성물 순도에 대한 출발 물질의 순도와 냉각 속도 사이의 상호작용을 나타내는 상기 결과에 기초한 상호작용 그래프이다. 고순도 에플레레논의 경우, 냉각 속도는 최종 순도에 거의 또는 전혀 영향을 끼치지 않는 것으로 보인다. 그러나, 저순도 에플레레논(89.3% 에플레레논 출발 물질)의 경우, 생성물 순도는 냉각 속도가 증가함에 따라 감소한다. 이 결과는 결정화가 보다 높은 냉각 속도에서 수행될 때 더 많은 불순물이 결정화된다는 것을 시사한다.

G. H형 함량

표 7A에 보고된 데이터에 기초한, H형 분율, 출발 물질 순도, 냉각 속도 및 종말점 온도의 입방 플롯은 도 86에 도시되어 있다. 입방 플롯은 결정화의 개시 시에 순도가 높은 에플레레논을 사용할수록 H형의 양은 더 적게 생성된다는 것을 시사한다. 결정화의 종말점 온도는 최종 생성물의 형태에 영향을 미치는 것으로 보인다. 냉각 속도는 일부 H형이 불순물의 존재 하에 낮은 종말점 온도에서 더 빠른 냉각으로부터 생성될 수 있지만, H형의 형성에 크게 영향을 끼치는 것으로는 보이지 않는다.

도 87은 어느 변수(있다면)가 최종 물질 중의 H형의 양에 통계적으로 유의 수준의 효과를 갖는지를 측정하기 위한 입방 플롯의 결과를 사용하여 작성된 절반 정규분포 플롯을 도시한 것이다. 출발 물질 순도, 결정화의 종말점 온도 및 이들 두 변수 사이의 상호작용은 통계적으로 유의 수준의 효과로 나타났다.

도 88은 최종 H형 함량에 대한 출발 물질의 순도와 종말점 온도 사이의 상호작용을 나타내는 상기 결과에 기초한 상호작용 그래프이다. 고순도 에플레레논의 경우, 종말점 온도는 H형 함량에 거의 영향을 끼치지 않는 것으로 보인다. 순수한 에플레레논을 사용한 어느 경우에도 H형으로 귀결되지 않았다. 그러나, 저순도 에플레레논(89.3% 에플레레논 출발 물질)의 경우, H형은 두 경우 모두 존재하고, 종말점 온도가 높을수록 통계적으로 더 많은 H형이 생성된다.

표 7B는 유체 베드(랩-라인/P.R.L. 고속 유체 베드 건조기, 랩-라인 인스트루먼트 인코포레이티드) 또는 진공 오븐(박스터 사이언티픽 프로덕츠 진공 건조 오븐, 모델 DP-32)를 사용하여 건조된 물질에서 측정된 H형의 중량 분율을 보고한 것이다. 유사한 H형 함량은 고 유체 베드 또는 진공 오븐에서 건조된 상당한 물질에 대해 관찰하였다. 그러나, 진공 오븐에 비해 저 유체 베드에서 건조된 상당한 물질에 대해서는 차이가 관찰되었다.

[표 7B]
H형 함량에 미치는 공정 변수의 효과

냉각 속도	종말점	불순물 레벨	건조 조건	H형 %
고	고	고	진공 오븐	29
고	고	고	고 유체 베드	25
고	고	고	저 유체 베드	4.7
저	저	저	진공 오븐	ND
저	저	저	고 유체 베드	ND
저	저	저	저 유체 베드	5.5
ND= 검출되지 않음				

실시에 8: 탈용매화에 의한 메틸 에틸 케톤으로부터의 결정화

10g의 H형 에플레레논을 80 ml 메틸 에틸 케톤과 배합하였다. 그 혼합물을 환류 가열하고(79°C), 이 온도에서 약 30분 동안 교반하였다. 생성되는 슬러리는 슬러리를 65°C, 50°C, 35°C 및 25°C의 각 온도에서 약 90분 동안 유지함으로써 단계적 유지점 프로토콜로 냉각시켰다. 그 슬러리를 여과하고, 약 20 ml의 메틸 에틸 케톤으로 세정하였다. 생성되는 분리된 고체

는 먼저 필터에서 건조시킨 다음, 40~50℃의 진공 오븐에서 건조시켰다. 90~100℃에서 진공 오븐에서 건조를 완료하였다. 탈용매화된 고체는 82% 회수율로 얻어졌다. XRPD, MIR 및 DSC는 그 고체가 L형 결정성 구조를 가지는 지를 확인하였다.

실시에 9: H형을 제조하기 위해 용매에 의한 저순도 에플레레논 출발 물질의 분해

A. 에탄올 용매에 의한 분해

24.6g의 저순도 에플레레논(HPLC에 의해 64% 분석)을 에탄올 3A 126 ml와 배합하였다. 그 슬러리를 환류 가열하고, 증류물을 제거하였다. 용매 126 ml가 대기 증류를 통해 제거될 때 에탄올 3A 추가 126 ml를 동시에 첨가하였다. 용매 전환이 완료될 때, 혼합물을 25℃로 냉각시키고, 1 시간 동안 교반하였다. 생성되는 고체를 여과하고, 에탄올 3A로 세정한 다음, 공기 건조시켜 에탄올 용매화물을 생성시켰다. 용매화물을 90~100℃의 진공 오븐에서 6 시간 동안 추가 건조시켜 H형 에플레레논 14.9g을 얻었다.

B. 메틸 에틸 케톤 용매에 의한 분해

또 다른 분해 공정에서, 저순도 에플레레논(약 65% 분석) 1g을 4 ml 메틸 에틸 케톤에서 2 시간 동안 분해시킨 다음, 그 혼합물을 실온으로 냉각시켰다. 일단 냉각되면, 생성 고체를 진공 여과에 의해 수집하며, XRPD 분석에 의해 메틸 에틸 케톤 용매화물로 측정되었다. 그 고체를 100℃에서 30 내지 60분 동안 건조시켰다. 건조된 고체는 XRPD에 의해 순수한 H형으로 측정되었다.

실시에 10: L형을 제조하기 위한 용매에 의한 고순도 에플레레논의 분해

A. 에탄올 용매에 의한 분해

1g의 고순도 에플레레논은 8 ml 에탄올에서 대략 2 시간 동안 분해하였다. 그 다음, 그 용액을 실온으로 냉각시키고, 진공 여과에 의해 수집하였다. 여과 직후에 XRPD에 의한 고체의 분석은 고체들이 용매화물(아마도 에탄올 용매화물)인 것으로 나타났다. 그 고체를 이어서 주위 대기압에서 100℃에서 30분 동안 건조시켰다. 건조된 고체는 XRPD에 의해 분석하여 주로 L형으로 측정되었다(H형은 검출되지 않았다).

B. 메틸 에틸 케톤 용매에 의한 분해

1g의 고순도 에플레레논은 4 ml 메틸 에틸 케톤에서 2 시간 동안 분해하였다. 그 후, 용액을 실온으로 냉각시키고, 고체를 진공 여과에 의해 수집하였다. 고체는 XRPD에 의해 즉시 분석하여 에플레레논의 용매화물(아마도 메틸 에틸 케톤 용매화물)인 것으로 나타났다. 이어서 용매화물을 주위 대기압에서 100℃에서 30분 내지 60분 동안 건조시켰다. 건조된 고체는 XRPD에 의해 분석하여 존재하는 H형에 대한 회절 피크는 없이 주로 L형으로 측정되었다.

실시에 11: 용액으로부터 직접 L형의 결정화

절차 A

2.5g의 에플레레논은 75℃로 가열하여 에틸 아세테이트에 용해시켰다. 그 용액을 75℃에서 30분 동안 유지하여 완전히 용해시킨 다음, 냉각 속도 1℃/분으로 13℃까지 냉각시켰다. 생성되는 슬러리는 오버헤드 교반기로 750 rpm으로 2 시간 동안 교반시켰다. 고체를 진공 여과에 의해 수집하고, 40℃의 진공 오븐에서 1 시간 동안 건조시켰다. 고체의 XRPD 패턴 및 DSC 열분석도는 L형 에플레레논의 특징이었다. 고체의 TGA는 고체로부터 최고 200℃까지 중량 손실이 없음을 나타냈다.

절차 B

또 다른 절차에서, 2g 에플레레논을 자기 교반하면서 열판 상에서 가열하여 아세트니트릴 15%와 물 85%의 혼합물 350 ml에 용해시켰다. 일단 에플레레논이 용해되면, 용액을 자기 교반하면서 하루밤 동안 실온으로 냉각시켰다. 생성되는 고체를 진공 여과에 의해 수집하였다. 결정들은 복굴절성이었고, 삼각 평판 같은 결정 경향을 가졌다. 고체는 L형 에플레레논의 XRPD 및 DSC 분석 특성을 가졌다. TGA는 최고 200℃까지 중량 손실이 없음을 나타냈다.

절차 C

또 다른 절차에서, 640 mg의 에플레레논을 20 ml 에틸 벤젠과 함께 50 ml 플라스크에 넣었다. 생성되는 슬러리는 116°C까지 가열하여, 투명한 용액이 되었으며, 이것을 25°C까지 30분에 걸쳐 냉각시켰다. 핵형성은 냉각 기간 중에 84°C에서 시작되었다. 생성 고체는 용액으로부터 여과하고 공기 건조시켜 고체 530 mg(회수율 83%)을 얻었다. 핫-스테이지 현미경 분석 및 XRPD는 고체들이 L형 에플레레논 결정임을 확인하였다.

절차 D

또 다른 절차에서, 1.55g의 에플레레논을 2.0 ml의 니트로벤젠에 첨가하고, 200°C까지 가열하였다. 생성되는 슬러리를 200°C에서 하루밤 동안 교반하여 투명한 용액이 되었고, 이를 자연 공기 대류에 의해 실온으로 냉각시켜 고체를 분리하였다. 고체는 XRPD 및 편광 현미경 분석에 의해 L형 에플레레논으로 측정되었다.

절차 E

또 다른 절차에서는, 5.0g의 에플레레논(순도 >99%)을 82g(104 ml)의 메탄올에 첨가하였다. 210 rpm에서 교반 작용하면서, 용액을 60°C까지 가열하고, 20분 동안 실온에서 유지하여 완전히 용해시켰다. 그 용액을 교반하에 0.16°C/분의 속도로 -5°C까지 냉각시켰다. 생성되는 결정은 여과에 의해 수집하고, 40°C의 진공 오븐에서 20 시간 동안 건조시켰다. 건조된 고체는 DSC 및 XRPD 분석에 의해 순수한 L형 에플레레논으로 측정되었다.

절차 F

또 다른 절차에서는, 6.0g의 에플레레논(에탄올 9%를 함유하고 보정된 순도가 95.2%인 에탄올 용매화물)을 82g(104 ml)의 메탄올에 첨가하였다. 210 rpm에서 교반 작용하면서, 용액을 60°C까지 가열하고, 20분 동안 실온에서 유지하여 완전히 용해시켰다. 그 용액을 0.14°C/분의 속도로 50°C까지 냉각시킨 다음, 그 온도로 약 2.5 시간 동안 유지하였다. 그 용액을 교반 하에 0.13°C/분의 속도로 -5°C까지 냉각시켰다. 결정은 여과에 의해 수집하고, 40°C의 진공 오븐에서 16 시간 동안 건조시켰다. 건조된 고체는 DSC 및 XRPD 분석에 의해 순수한 L형 에플레레논으로 측정되었다.

실시예 12: 용액으로부터 직접 H형의 결정화

디에폭사이드 150.5 mg 및 에플레레논 2.85g을 1.5 ml의 니트로벤젠에 첨가하였다. 그 혼합물을 200°C에서 수 시간 동안 자기 교반하였다. 생성되는 슬러리를 자연 공기 대류에 의해 실온으로 냉각시켰다. 샘플을 건조시키고, 편광 현미경 분석 및 XRPD에 의해 분석하였다. XRPD 분석은 샘플이 H형과 L형의 혼합물임을 나타냈다. 결정들은 현미경 분석에 의해 반투명하였는데, 이는 탈용매화(및 H형 또는 L형으로의 전환)가 일어나지 않았음을 나타낸다.

실시예 13: 분쇄에 의한 무정형 에플레레논의 제조

강철 위그-L-버그 용기의 대략 절반에 약 60g의 에플레레논(순도 >99.9%)을 충전하였다. 강철 볼 및 캡을 샘플 용기에 넣고, 위그-L-버그 장치에 의해 30초 동안 진탕하였다. 에플레레논을 위그-L-버그 용기 표면으로부터 제거하고, 용기를 추가 30초 동안 진탕하였다. 생성되는 고체를 XRPD 및 DSC에 의해 분석하여 무정형 에플레레논 및 L형 결정성 에플레레논의 혼합물로 측정되었다.

실시예 14: 동결 건조에 의한 무정형 에플레레논의 제조

미정제 에플레레논 대략 100 mg을 물 400 ml을 함유하는 비커 내로 계량해 넣었다. 생성 혼합물은 5분 동안 약하게 가열한 다음, 음파 처리하고 교반하면서 추가 5분 동안 가열하여 분산액을 얻었다. 에플레레논 분산액 대략 350 ml을 HPLC수 50 ml을 함유하는 1000 ml의 둥근 바닥 플라스크 내로 여과하였다. 분산액은 드라이아이스/아세톤조에서 1~2분에 걸쳐 급속 동결시켰다. 플라스크를 랩콕코 프리존 4.5 동결 건조기에 부착시키고, 내용물을 하루밤 동안 건조시켰다. 플라스크의 고체를 작은 갈색 병으로 옮겼다. 작은 분취량을 카길유(1.404) 중에서 10X, 1.25X 옵티바(optivar)의 편광 현미경 분석으로 관찰하여, 95% 이상의 무정형 에플레레논인 것으로 관찰되었다. 도 89 및 90은 무정형 에플레레논에 대해 얻어진 XRPD 패턴 및 DSC 열분석도를 나타낸다. 도 89의 39도 2θ에서 관찰된 피크는 알루미늄 샘플 용기에서 기인한 것이다.

실시예 15: L형 에플레레논의 용해도

L형 에플레레논의 수용해도는 5, 25 및 40°C에서 pH 7(100 mM 인산염 완충액)에서 측정하였다. L형 에플레레논 대략 30 mg을 대략 10 ml 완충액과 혼합하여 5 및 25°C에서 에플레레논 슬러리를 형성하였다. II형 에플레레논 대략 40 mg을 완충액 대략 10 ml와 혼합하여 40°C에서 에플레레논 슬러리를 형성하였다. 샘플들을 각 상태에 대해 이중으로 제조하였다. 슬러리는 셰이커 수조에서 적당한 온도로 평형화하고, 그 용액을 자외선 가시 분석(245 nm)에 의해 1, 5, 12, 19, 27 및 36일의 간격으로 에플레레논 함량에 대해 분석하였다. 각 온도에서 얻은 데이터를 대략 평균하여 각 온도에서 에플레레논의 용해도를 측정하여 표 8에 보고한다. 각 시간점에서 얻은 잔류 고체는 36일 평형의 마지막에 DSC 및 TGA에 의해 분석하여 L형 에플레레논으로 측정되었다.

[표 8]
L형 에플레레논의 용해도

온도(°C)	L형 용해도(mg/ml)
5	0.24
25	0.29
40	0.39

실시예 16: 고유 용해 속도의 측정

고유 용해 속도는 다음 4개의 에플레레논 동질이상 샘플에 대해 측정하였다: (i) 실시예 11, 절차 B와 동일한 방식으로 항용매로서 물을 사용하여 아세토니트릴로부터 직접 결정화에 의해 제조된 L형 에플레레논, (ii) 실시예 9, 절차 A와 동일한 방식으로 에탄올에서의 분해에 의해 제조된 H형 에플레레논, (iii) H형 5%와 L형 95%의 혼합물 및 (iv) 9 μm 이하의 입자 10 중량%, 22 μm 이하의 입자 50 중량% 및 41 μm 이하의 입자 90 중량%의 입자 크기 분포를 제공하도록 초미분쇄되는 L형 에플레레논.

150 mg의 에플레레논을 반켈 고유 용해 공동 내로 계량해 넣었다. 분말을 카버 프레스를 사용하여 8280 kPa에서 압축하여 정제를 형성하였다. 그 후, 샘플을 고유 용해 장치 상에 올려 놓았다. 사용된 용해 매질은 HPLC수 중 1% 나트륨 도데실 설페이트(SDS)였다. 모든 시험은 37°C에서 2 시간 동안 수행하였다. 실험 개시 전에, 용해 매질 500 ml을 용해 중탕실에서 37°C로 30분 동안 평형화하였다. 초기 샘플은 각 용해 용기로부터 취하여 시험에 대한 초기 시간(T_0)으로서 제공하였다. 에플레레논 정제는 용해 매질 내로 떨어뜨렸다. 샘플을 용해 속도 측정을 위해 결정된 간격으로 인출하였다. 정제 표면에 기포가 형성되지 않도록 주의하였다. 샘플은 243 nm에서 UV 흡광도 검출에 의해 분석하였다. 고유 용해 속도는 부피에 대해 정되고 용해 정제의 표면적(0.5 cm²)에 대해 정규화된 시간 프로필에 대해 농도의 선형 부분의 기울기로부터 계산하였다.

도 91은 4개의 샘플에 대해 측정된 고유 용해 속도를 보고한 것이다. 이러한 연구는 H형 에플레레논이 L형 에플레레논보다 더 빠른 고유 용해 속도를 가짐을 나타낸다. 압축 및 비압축 에플레레논을 비교하는 XRPD 연구에서는 동질상이 압축 시에 또는 용해 연구 기간 중에 상호 전환되지 않은 것으로 확인되었다.

실시예 17: 에플레레논 동질이상 조성물

L형 에플레레논의 25 mg, 50 mg, 100 mg 및 200 mg의 용량을 함유하는 정제는 표 9에 나타난 조성을 가진 것으로 제조되었다.

[표 9]
실시예 17의 정제의 조성물

성분	중량%
L형 에플레레논	29.41
H형 에플레레논	검출되지 않음
락토스 일수화물, NF(#310)	42.00

미정질 셀룰로스, NF(아비셀™ PH-101)	18.09
크로스카르멜로스 나트륨, NF(Ac-Di-Sol™)	5.00
HPMC, USP(#2910, 파마코트™ 603)	3.00
나트륨 라우릴 설페이트, NF	1.00
활석, USP	1.00
스테아린산마그네슘, NF	0.5
총계	100.00

실시예 18: 에플레레논 동질이상 조성물

에플레레논 100 mg을 함유하는 캡슐(경질 젤라틴 캡슐, #0)을 제조하였고, 이것은 표 10에 나타난 조성을 가진다.

[표 10]
실시예 18의 100 mg 캡슐의 조성물

성분	양(mg)
L형 에플레레논	90.0
H형 에플레레논	10.0
락토스, 수화, NF	231.4
미정질 셀룰로스, NF	45.4
활석, USP	10.0
크로스카르멜로스 나트륨, NF	8.0
나트륨 라우릴 설페이트, NF	2.0
콜로이드성 이산화규소, NF	2.0
스테아린산마그네슘, NF	1.2
총 캡슐 충전 중량	400.0

실시예 19: 에플레레논 동질이상 조성물

에플레레논 200 mg을 함유하는 캡슐(경질 젤라틴 캡슐, #0)을 제조하였고, 이것은 표 11에 나타난 조성을 가진다.

[표 11]
실시예 19의 200 mg 캡슐의 조성물

성분	양(mg)
L형 에플레레논	190.0
H형 에플레레논	10.0
락토스, 수화, NF	147.8
미정질 셀룰로스, NF	29.0
활석, USP	10.0
크로스카르멜로스 나트륨, NF	8.0
나트륨 라우릴 설페이트, NF	2.0
콜로이드성 이산화규소, NF	2.0
스테아린산마그네슘, NF	1.2
총 캡슐 충전 중량	400.0

실시예 20: 분쇄된 에플레레논의 제조

에플레레논의 건조된 메틸 에틸 케톤 용매화물은 피츠 분쇄기 상의 20 메시 스크린을 통해 용매화물을 통과시킴으로써 먼저 덩어리를 부수었다. 덩어리가 제거된 고체는 약 250 kg/시간의 공급 속도로 액체 질소 냉각 하에 알파인 오사가와 스테르드 디스크 핀 분쇄기를 사용하여 핀 분쇄하였다. 핀 분쇄는 약 65~100 μm 의 D_{90} 입자 크기를 가진 분쇄된 에플레레논을 산출한다.

실시예 21: 개 연구에서 약리역학적 매개변수에 미치는 에플레레논 입자 크기의 효과

에플레레논 혈장 농도에 미치는 L형 에플레레논의 입자 크기 및 상대 생체 이용성은 개 모델에서 연구하였다. 체중 8 내지 12 kg의 4마리 건강한 비글 암캐에 아래 표 12에 기재한 제제를 함유하는 하나의 즉시 방출형 캡슐(#0, 백색 불투명)과, 이어서 약 10 ml의 물을 위장 내로 투여하였다.

[표 12]

실시예 21에 사용된 에플레레논 캡슐의 조성물

성분	중량%	양(mg)
L형 에플레레논	50.00	200.00
락토스, 수화(패스트-플로)	36.95	147.80
미정질 셀룰로스(아비셀™ PH-102)	7.25	29.00
나트륨 라우릴 설페이트	0.50	2.00
크로스카르멜로스 나트륨	2.00	8.00
활석	2.50	10.00
콜로이드성 이산화규소	0.50	2.00
스테아린산마그네슘	0.30	1.20
총계	100.00	400.00

개들은 캡슐 투여 전에 15 내지 20 시간 동안 단식시키고, 용량 투여 후 적어도 4 시간까지는 다시 음식을 제공하지 않았다. 혈액 샘플(약 3 ml)을 용량 투여 후 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 및 24 시간 후에 헤파린을 함유하는 냉각된 튜브에서 정맥 천자에 의해 수집하였다. 혈액 샘플은 즉시 얼음 상에 두었다. 혈액 샘플로부터 혈장의 분리는 원심분리 약 15분 후에 완료되었다. 생성되는 플라즈마 샘플은 약 -20°C에서 동결되었고, 분석 시까지 보관하였다. 분석은 LC/MS/MS 절차를 사용하여 수행하였다.

동일한 4 마리의 개를 3개의 제제, 즉 각각 표 12에 나타난 조성을 가지지만 상이한 에플레레논 입자 크기를 가진 제제를 시험하는 데 사용하였다. 에플레레논 출발 물질은 D_{90} 입자 크기가 각각 212 μm , 약 86 μm 및 약 36 μm 였다. 최소 세척 기간 5일이 연속적인 제제의 투여 사이에 허용되었다. 평균 결과는 아래 표 13 및 14에 보고한다. 상대 생체 이용성은 AUC 결과로부터 계산하였는데, D_{90} 이 86 μm 인 제제가 표준으로 선택되었다.

[표 13]

혈액 혈청 에플레레논 농도($\mu\text{g/ml}$), 실시예 21

시간(시간)	D_{90} 212 μm	D_{90} 86 μm	D_{90} 36 μm
0	0	0	0
0.5	1.83	3.65	1.99
1	2.40	6.18	5.86
2	3.77	6.89	6.77
3	2.85	5.70	6.60
4	2.61	4.39	5.56

6	1.63	3.11	3.31
8	1.10	1.90	2.09
24	0.0252	0.032	0.0706

[표 14]

실시에 21의 데이터로부터 계산된 약리역학적(PK) 매개변수

PK 매개변수	D ₉₀ 212 μm	D ₉₀ 86 μm	D ₉₀ 36 μm
C _{max} (μg/ml)	3.98	7.02	7.39
T _{max} (시간)	1.50	1.75	2.25
AUC((μg/ml)hr)	26.6	49.2	53.1
상대 생체 이용성(%)	53.25	100	107.9

실시에 22: 인간 연구에서 약리역학적 매개변수에 미치는 에플레레논 입자 크기의 효과

에플레레논 혈장 농도 및 상대 생체 이용성에 미치는 L형 에플레레논의 입자 크기의 효과를 아래 표 15에 기재한 3종의 약학 조성물을 사용하여 인간 모델에서 연구하였다. 환자들에게 무작위 스케줄에 따라 투약 1, 8, 15, 22 및 29일에 L형 에플레레논 조성물의 단일 100 mg 용량을 투여하였다. 모든 투약은 08:00 시에 180 ml의 물과 함께 투여하였다. 에플레레논 약리역학적 분석용 혈액 샘플은 -0.5(투여전), 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 24, 36 및 48 시간(투여후)에 수집하였다.

에플레레논의 혈장 농도는 MS/MS 검출과 함께 입증된 HPLC법을 사용하여 측정하였다. 약리역학적 데이터는 표 16에 보고한다. 조성물의 제조에 사용된 L형 에플레레논의 입자 크기 분포는 레이저 광 산란을 사용하여 건조 분말에서 측정하였다.

[표 15]

실시에 22에 사용된 에플레레논 조성물(중량%)

성분	캡슐 A	정제 A	캡슐 B
L형 에플레레논 (D ₉₀ 40 μm)	25	--	--
(D ₉₀ 82 μm)	--	30	--
(D ₉₀ 96 μm)	--	--	25
락토스 일수화물	--	42	57.86
락토스, 수화	57.8	--	--
미정질 셀룰로스 (아비셀™ PH-101)	11.4	17.5 ¹	--
(아비셀™ PH-102)	--	--	11.34
크로스멜로스 나트륨 (Ac-Di-Sol™)	2	5	2
HPMC(파마코트™ 603)	--	3	--
나트륨 라우릴 설페이트	0.5	1	0.5
활석	2.5	1	2.5
스테아린산마그네슘	0.3	0.5	0.3
콜로이드성 이산화규소	0.5	--	0.5
총계	100	100	100

1. 과립내 7.5%, 과립외 10%

[표 16]

실시에 22의 데이터로부터 계산된 약리역학(PK) 매개변수

PK 매개변수	100 mg 캡슐 A (D ₉₀ 40 μm)	100 mg 정제 A (D ₉₀ 82 μm)	100 mg 캡슐 A (D ₉₀ 96 μm)
C _{max} (ng/ml)	1747	1704	1669
T _{max} (시간)	1.8	1.8	1.8
AUC((ng/ml)hr)	11349	11945	11981

구체적인 양태와 관련하여 본 발명을 설명하였지만, 이들 양태의 상세한 내용이 제한으로 해석되어서는 아니된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

피험체에서 고혈압, 심부전, 간의 경변, 과다 콜라젠, 섬유증, 양성 전립선 비대증 및 우울증으로 구성되는 군에서 선택된 질병 또는 질환을 치료 또는 예방하기 위한, 0.5 mg 내지 500 mg의 에플레레논(eplerenone) 및 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 경구 제형의 약학 조성물로서,

- (a) 상기 조성물 내에 존재하는 에플레레논은 50% 내지 100%의 H형 결정성 에플레레논의 상 순도를 가지며,
- (b) 상기 H형 결정성 에플레레논은 파장 1.54056 Å에서의 X-선 분말 회절 패턴이 7.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 12.0 ± 0.2 도 2θ 로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 피크를 포함하는 것을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상 순도가 95% 내지 100%의 H형 결정성 에플레레논인 것인 조성물.

청구항 3.

제2항에 있어서, 에플레레논이 실질적으로 상 순수한 H형 결정성 에플레레논인 것인 조성물.

청구항 4.

제1항에 있어서, 하나 이상의 L형 결정성 에플레레논, 용매화된 결정성 에플레레논 및 무정형 에플레레논이 존재하지 않는 것인 조성물.

청구항 5.

제1항에 있어서, 에플레레논의 잔여부분(balance)은 하나 이상의 (i) 단사정계 결정계를 가지는 L형 결정성 에플레레논, (ii) 에플레레논의 용매화된 결정형, 및 (iii) 무정형 에플레레논으로 구성되는 것인 조성물.

청구항 6.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 (a) 사방정계 결정계, (b) $P2_12_12_1$ 스페이스 그룹, (c) 21.22 Å, 15.41 Å 및 6.34 Å의 셀 a, b, 및 c 값, (d) 각각 90°인 단위 셀 α , β , 및 γ 값, (e) 2071.3 Å의 부피, 및 (f) 4의 Z 값으로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 단위 셀 변수를 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 7.

제1항에 있어서, X-선 분말 회절 패턴이 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 로 구성되는 군에서 선택된 둘 이상의 피크를 포함하는 것인 조성물.

청구항 8.

제1항에 있어서, X-선 분말 회절 패턴이 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 에서의 피크를 포함하는 것인 조성물.

청구항 9.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 8.0 ± 0.2 도 2θ 에서 두드러진 피크가 없는 X-선 분말 회절 패턴을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 10.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 실질적으로 도 1에 나타낸 X-선 분말 회절 패턴을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 11.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 1399 cm^{-1} , 1664 cm^{-1} , 및 1739 cm^{-1} 로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 흡수 밴드를 포함하는, 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 12.

제11항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 1399 cm^{-1} , 1664 cm^{-1} , 및 1739 cm^{-1} 로 구성되는 군에서 선택된 둘 이상의 흡수 밴드를 포함하는, 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 13.

제12항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 1399 cm^{-1} , 1664 cm^{-1} , 및 1739 cm^{-1} 에서의 흡수 밴드를 포함하는, 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 14.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 1724 cm^{-1} 에서 두드러진 흡수 밴드가 없는 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 15.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 실질적으로 도 35에 나타난 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 16.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 247 $^{\circ}\text{C}$ 내지 251 $^{\circ}\text{C}$ 의 용점 범위를 가지는 것을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 17.

제16항에 있어서, H형 결정성 에플레레논의 용점 범위가 분당 10 $^{\circ}\text{C}$ 의 가열 속도로 시차 주사 열계량법(Differential Scanning Calorimetry)으로 측정되는 것인 조성물.

청구항 18.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 247 $^{\circ}\text{C}$ 내지 251 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도 범위에 존재하는 단일 내열도(endotherm)를 가지는 시차 주사 열계량법 열분석도를 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 19.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 실질적으로 도 18에 나타난 시차 주사 열계량법 열분석도를 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 20.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이

(a) 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 에서의 피크를 포함하는, 파장 1.54056 Å에서의 X-선 분말 회절 패턴,

(b) 1739 cm^{-1} 및 1399 cm^{-1} 에서의 흡수 밴드를 포함하는, 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼, 및

(c) 247 $^{\circ}\text{C}$ 내지 251 $^{\circ}\text{C}$ 의 온도 범위에 존재하는 단일 내열도를 가지는 시차 주사 열계량법 열분석도

중 하나 이상을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 21.

제20항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이

(a) 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 에서의 피크를 포함하는, 파장 1.54056 Å에서의 X-선 분말 회절 패턴,

(b) 1739 cm^{-1} 및 1399 cm^{-1} 에서의 흡수 밴드를 포함하는, 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼, 및

(c) 247°C 내지 251°C의 온도 범위에 존재하는 단일 내열도를 가지는 시차 주사 열계량법 열분석도

중 둘 이상을 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 22.

제21항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이

(a) 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 에서의 피크를 포함하는, 파장 1.54056 Å에서의 X-선 분말 회절 패턴,

(b) 1739 cm^{-1} 및 1399 cm^{-1} 에서의 흡수 밴드를 포함하는, 푸리에 변형 적외선 흡수 스펙트럼, 및

(c) 247°C 내지 251°C의 온도 범위에 존재하는 단일 내열도를 가지는 시차 주사 열계량법 열분석도

를 특징으로 하는 것인 조성물.

청구항 23.

제1항에 있어서, 단사정계 결정계를 가지는 L형 결정성 에플레레논을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 24.

제1항에 있어서, 에플레레논의 용매화된 결정형을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 25.

제24항에 있어서, 상기 에플레레논의 용매화된 결정형이 에플레레논의 메틸 에틸 케톤 결정성 용매화물인 것인 조성물.

청구항 26.

제1항에 있어서, 무정형 에플레레논을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 27.

제1항에 있어서, 하나 이상의 H형 결정 성장 촉진자(growth promoter)를 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 28.

제1항에 있어서, (a) 7-메틸 수소 4a,5a,9a,11a-디에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그난-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤; (b) 7-메틸 수소 11a,12a-에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그-4-엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤; 및 (c) 7-메틸 수소 17-히드록시-3-옥소-17a-프레그나-4,9(11)-디엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 화합물을 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 29.

제28항에 있어서, 에플레레논 + 하나 이상의 화합물의 총 조합 중량에 대하여 0.2 중량% 내지 5.0 중량%의 하나 이상의 화합물을 포함하는 것인 조성물.

청구항 30.

삭제

청구항 31.

삭제

청구항 32.

제1항에 있어서, 경구 제형이 정제, 캡슐 및 분말로 구성되는 군에서 선택된 고체 경구 제형인 것인 조성물.

청구항 33.

제1항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 25 마이크론 내지 400 마이크론 범위의 D_{90} 입자 크기를 포함하는 것인 조성물.

청구항 34.

피험체에서 고혈압, 심부전, 간의 경변, 과다 콜라젠, 섬유증, 양성 전립선 비대증 및 우울증으로 구성되는 군에서 선택된 질병 또는 질환을 치료 또는 예방하기 위한, 에플레레논의 용매화된 결정형을 포함하는 조성물로서, 상기 용매화된 결정형이 탈용매화되어 H형 결정성 에플레레논을 생산해낼 수 있는 것인 조성물.

청구항 35.

제34항에 있어서, 용매화된 결정형이 메틸 에틸 케톤, 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 이소부탄올, 에탄올, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 이소프로판올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트 용매화물, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 36.

제34항에 있어서, 용매화된 결정형이 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트 용매화물, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 조성물.

청구항 37.

제34항에 있어서, 에플레레논의 용매화된 결정형이 메틸 에틸 케톤 결정성 용매화물 및 에탄올 결정성 용매화물로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 용매화된 형태를 포함하는 것인 조성물.

청구항 38.

제34항에 있어서, 용매화된 결정형이 염화메틸렌 용매화물, 염화메틸렌/에틸 에테르 용매화물, 에틸 에테르 용매화물, 염화메틸렌/이소프로판올 용매화물 및 에틸 아세테이트 용매화물이 아닌 것인 조성물.

청구항 39.

제34항에 있어서, 용매화된 결정형이 염화메틸렌 용매화물, 염화메틸렌/에틸 에테르 용매화물, 에틸 에테르 용매화물, 염화메틸렌/이소프로판올 용매화물, 에틸 아세테이트 용매화물, 메틸 에틸 케톤 용매화물, 에탄올 용매화물, 및 아세톤 용매화물이 아닌 것인 조성물.

청구항 40.

피험체에서 고혈압, 심부전, 간의 경변, 과다 콜라젠, 섬유증, 양성 전립선 비대증 및 우울증으로 구성되는 군에서 선택된 질병 또는 질환을 치료 또는 예방하기 위한, 무정형의 에플레레논을 포함하는 조성물.

청구항 41.

제40항에 있어서, 결정형 에플레레논이 존재하지 않는 것인 조성물.

청구항 42.

피험체에서 고혈압, 심부전, 간의 경변, 과다 콜라젠, 섬유증, 양성 전립선 비대증 및 우울증으로 구성되는 군에서 선택된 질병 또는 질환을 치료 또는 예방하기 위한,

- (a) L형 결정성 에플레레논과 조합된 H형 결정성 에플레레논;
- (b) 용매화된 결정성 에플레레논과 조합된 H형 결정성 에플레레논;
- (c) 무정형 에플레레논과 조합된 H형 결정성 에플레레논;
- (d) 무정형 에플레레논과 조합된 용매화된 결정성 에플레레논;
- (e) 용매화된 결정성 에플레레논 및 L형 결정성 에플레레논과 조합된 H형 결정성 에플레레논;
- (f) 무정형 에플레레논 및 L형 결정성 에플레레논과 조합된 H형 결정성 에플레레논;
- (g) 용매화된 결정성 에플레레논과 조합된 L형 결정성 에플레레논;
- (h) 무정형 에플레레논과 조합된 L형 결정성 에플레레논; 및

(i) 부정형 에플레레논, L형 결정성 에플레레논, 및 용매화된 결정성 에플레레논과 조합된 H형 결정성 에플레레논의 조합 중 임의의 것을 포함하는 조성물.

청구항 43.

(a) 고비등점 용매 또는 고비등점 용매를 포함하는 용매 혼합물 중 에플레레논 출발 물질 용액을 제공하는 단계; 및

(b) 사방정계 결정계를 가지며, 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 피크를 포함하는 파장 1.54056 \AA 에서의 X-선 분말 회절 패턴을 가지는, H형 결정성 에플레레논을 상기 용액으로부터 직접 결정화하는 단계로서, 상기 결정화 단계는 상기 H형 결정성 에플레레논에 대한 호변성 전이 온도(enantiotropic transition temperature) 보다 높은 온도에서 수행되는 것인 단계

를 포함하는, H형 결정성 에플레레논의 제조 방법.

청구항 44.

제43항에 있어서, H형 결정성 에플레레논이 8.0 ± 0.2 도 2θ 에서 두드러진 피크가 없는 X-선 분말 회절 패턴을 특징으로 하는 것인 방법.

청구항 45.

제43항에 있어서, 용매가 니트로벤젠인 것인 방법.

청구항 46.

제43항에 있어서, 용매가 염화메틸렌, 염화메틸렌/에틸 에테르, 에틸 에테르, 염화메틸렌/이소프로판올 및 에틸 아세테이트가 아닌 것인 방법.

청구항 47.

제43항에 있어서, 용매가 염화메틸렌, 염화메틸렌/에틸 에테르, 에틸 에테르, 염화메틸렌/이소프로판올, 에틸 아세테이트, 메틸 에틸 케톤, 에탄올, 및 아세톤이 아닌 것인 방법.

청구항 48.

제43항에 있어서, 결정화 단계 이전 또는 결정화 단계 중에, 용매 또는 용매 혼합물이 H형 결정성 에플레레논의 결정으로 식정(seeding)되는 것인 방법.

청구항 49.

제43항에 있어서, 결정화 이후, D_{90} 입자 크기가 $40 \mu\text{m}$ 내지 $400 \mu\text{m}$ 이 되도록 H형 결정성 에플레레논을 분쇄하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 50.

제49항에 있어서, 결정화 이후, D_{90} 입자 크기가 $40\ \mu\text{m}$ 내지 $100\ \mu\text{m}$ 이 되도록 H형 결정성 에플레레논을 분쇄하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 51.

제43항에 있어서, 용액이 하나 이상의 H형 결정성 에플레레논 성장 촉진자를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 52.

제51항에 있어서, H형 결정성 에플레레논 성장 촉진자가 (a) 7-메틸 수소 4a,5a,9a,11a-디에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프로그나-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤; (b) 7-메틸 수소 11a,12a-에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프로그나-4-엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤; 및 (c) 7-메틸 수소 17-히드록시-3-옥소-17a-프로그나-4,9(11)-디엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 53.

제51항에 있어서, 용액이 에플레레논 출발 물질 + 하나 이상의 성장 촉진자의 총 조합 중량에 대하여 0.2 중량% 내지 5.0 중량%의 하나 이상의 성장 촉진자를 포함하는 것인 방법.

청구항 54.

삭제

청구항 55.

삭제

청구항 56.

- (a) 에플레레논의 용매화된 결정형을 형성시킬 수 있는 용매 또는 이러한 용매를 포함하는 혼합물 중에 에플레레논 출발 물질을 분해(digesting)하는 단계;
- (b) 상기 용매 또는 혼합물로부터 에플레레논을 결정화하여 용매화물을 형성시키는 단계; 및
- (c) 상기 용매화물을 탈용매화하여, 사방정계 결정계를 가지며, 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 피크를 포함하는 파장 $1.54056\ \text{\AA}$ 에서의 X-선 분말 회절 패턴을 가지는, H형 결정성 에플레레논을 제공하는 단계

를 포함하는, H형 결정성 에플레레논의 제조 방법.

청구항 57.

제56항에 있어서, 용매가 메틸 에틸 케톤, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 에탄올, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, n-프로판올, 이소프로판올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 및 t-부틸 아세테이트 용매화물, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 58.

제57항에 있어서, 용매 또는 용매 혼합물이 메틸 에틸 케톤, 에탄올, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 59.

제56항에 있어서, 용매가 염화메틸렌, 염화메틸렌/에틸 에테르, 에틸 에테르, 염화메틸렌/이소프로판올 및 에틸 아세테이트가 아닌 것인 방법.

청구항 60.

제56항에 있어서, 용매가 염화메틸렌, 염화메틸렌/에틸 에테르, 에틸 에테르, 염화메틸렌/이소프로판올, 에틸 아세테이트, 메틸 에틸 케톤, 에탄올, 및 아세톤이 아닌 것인 방법.

청구항 61.

제56항에 있어서, 결정화 단계 이전 또는 결정화 단계 이후, D_{90} 입자 크기가 $40\ \mu\text{m}$ 내지 $400\ \mu\text{m}$ 이 되도록 에플레레논을 분쇄하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 62.

제56항에 있어서, 결정화 단계 이전 또는 결정화 단계 이후, D_{90} 입자 크기가 $40\ \mu\text{m}$ 내지 $100\ \mu\text{m}$ 이 되도록 에플레레논을 분쇄하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 63.

제56항에 있어서, 분해 단계가 용매 또는 용매 혼합물의 비등점에 도달할 때까지 용매 또는 용매 혼합물 중에서 에플레레논 출발 물질을 가열하는 단계를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 64.

제56항에 있어서, 에플레레논 출발 물질이 하나 이상의 H형 결정성 에플레레논 성장 촉진자를 더 포함하는 것인 방법.

청구항 65.

제64항에 있어서, H형 결정성 에플레레논 성장 촉진자가 (a) 7-메틸 수소 4a,5a,9a,11a-디에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그난-7a,21-디카르복실레이트,γ-락톤; (b) 7-메틸 수소 11a,12a-에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그난-4-엔-7a,21-디카르복실레이트,γ-락톤; 및 (c) 7-메틸 수소 17-히드록시-3-옥소-17a-프레그나-4,9(11)-디엔-7a,21-디카르복실레이트,γ-락톤 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 화합물을 포함하는 것인 방법.

청구항 66.

제64항에 있어서, 에플레레논 출발 물질이 에플레레논 + 하나 이상의 성장 촉진자의 총 조합 중량에 대하여 0.2 중량% 내지 5.0 중량%의 하나 이상의 성장 촉진자를 포함하는 것인 방법.

청구항 67.

삭제

청구항 68.

삭제

청구항 69.

- (a) 수중 에플레레논 분산액을 형성시키는 단계;
- (b) 상기 분산액을 급속 동결시키는 단계; 및
- (c) 상기 동결된 분산액을 동결 건조시켜 무정형 에플레레논을 형성시키는 단계를 포함하는, 무정형 에플레레논의 제조 방법.

청구항 70.

- (a) 에플레레논의 용매화된 결정형을 형성시킬 수 있는 용매 또는 이러한 용매를 포함하는 혼합물에서 에플레레논을 결정화시키는 단계; 및
- (b) 상기 용매화물을 탈용매화하여, 사방정계 결정계를 가지며, 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 피크를 포함하는 파장 1.54056 \AA 에서의 X-선 분말 회절 패턴을 가지는, H형 결정성 에플레레논을 제공하는 단계를 포함하는, 제34항의 H형 결정성 에플레레논의 제조 방법.

청구항 71.

제70항에 있어서, 용매화된 결정형이 메틸 에틸 케톤, 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 아세톤, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 에탄올, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 이소프로판올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트 용매화물, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 72.

제70항에 있어서, 용매화된 결정형이 1-프로판올, 2-펜타논, 아세트산, 부틸 아세테이트, 클로로포름, 이소부탄올, 이소부틸 아세테이트, 메틸 아세테이트, 에틸 프로피오네이트, n-부탄올, n-옥탄올, 프로필 아세테이트, 프로필렌 글리콜, t-부탄올, 테트라히드로퓨란, 톨루엔, 메탄올 및 t-부틸 아세테이트 용매화물, 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 73.

제70항에 있어서, 에플레레논의 용매화된 결정형이 메틸 에틸 케톤 결정성 용매화물 및 에탄올 결정성 용매화물로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 용매화된 형태를 포함하는 것인 방법.

청구항 74.

제70항에 있어서, 용매화된 결정형이 염화메틸렌 용매화물, 염화메틸렌/에틸 에테르 용매화물, 에틸 에테르 용매화물, 염화메틸렌/이소프로판올 용매화물 및 에틸 아세테이트 용매화물이 아닌 것인 방법.

청구항 75.

제70항에 있어서, 용매화된 결정형이 염화메틸렌 용매화물, 염화메틸렌/에틸 에테르 용매화물, 에틸 에테르 용매화물, 염화메틸렌/이소프로판올 용매화물, 에틸 아세테이트 용매화물, 메틸 에틸 케톤 용매화물, 에탄올 용매화물, 및 아세톤 용매화물이 아닌 것인 방법.

청구항 76.

제70항에 있어서, 결정화 단계 이전 또는 결정화 단계 중에, 용매 또는 용매 혼합물이 H형 결정성 에플레레논의 결정으로 식정되는 것인 방법.

청구항 77.

결정화 이전에 용액을 유효한 양의 도판트 화합물로 도핑하는 단계를 포함하는, 용매 또는 용매 혼합물 중 에플레레논의 용액으로부터 H형 결정성 에플레레논의 결정화를 촉진시키는 방법.

청구항 78.

제77항에 있어서, 도판트 화합물이 H형 결정성 에플레레논과 결정학적으로 실질적 동일구조인 것인 방법.

청구항 79.

제77항에 있어서, 도판트 화합물이 H형 결정성 에플레레논인 것인 방법.

청구항 80.

제78항에 있어서, 도판트 화합물이 (a) 7-메틸 수소 4a,5a,9a,11a-디에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그난-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤; (b) 7-메틸 수소 11a,12a-에폭시-17-히드록시-3-옥소-17a-프레그난-4-엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤; 및 (c) 7-메틸 수소 17-히드록시-3-옥소-17a-프레그나-4,9(11)-디엔-7a,21-디카르복실레이트, γ -락톤 및 이들의 혼합물로 구성되는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 81.

- (a) 용매 또는 용매 혼합물로부터 탈용매화된 H형 결정성 에플레레논을 제조하는 단계;
- (b) 상기 H형 결정성 에플레레논의 결정 입자 크기를 감소시키는 단계로서, 결과적인 D_{90} 입자 크기가 40 μm 내지 100 μm 의 범위인 것인 단계; 및
- (c) 치료적으로 유효한 양의 상기 감소된 입자 크기의 H형 결정성 에플레레논을 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제와 혼합하여, 약학 조성물을 제조하는 단계를 포함하는, 피험체에서 알도스테론에 의해 매개되는 상태 또는 질환의 치료 또는 예방에 유용한 약학 조성물의 제조 방법.

청구항 82.

제81항에 있어서,

- (a) 용매 또는 용매 혼합물로부터 H형 결정성 에플레레논을 결정화시켜, 용매화된 H형 결정형을 형성하는 단계;
- (b) 상기 용매화된 H형 결정형을 탈용매화하여, 사방정계 결정계를 가지며, 12.0 ± 0.2 도 2θ , 8.3 ± 0.2 도 2θ , 및 7.0 ± 0.2 도 2θ 로 구성되는 군에서 선택된 하나 이상의 피크를 포함하는 파장 1.54056 Å에서의 X-선 분말 회절 패턴을 가지는, H형 결정성 에플레레논을 제공하는 단계;
- (c) 상기 H형 결정성 에플레레논의 결정 입자 크기를 감소시키는 단계로서, 결과적인 D_{90} 입자 크기가 40 μm 내지 100 μm 의 범위인 것인 단계; 및
- (d) 치료적으로 유효한 양의 상기 감소된 입자 크기의 H형 결정성 에플레레논을 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제와 혼합하여, 약학 조성물을 제조하는 단계를 포함하는 것인 방법.

청구항 83.

삭제

청구항 84.

삭제

청구항 85.

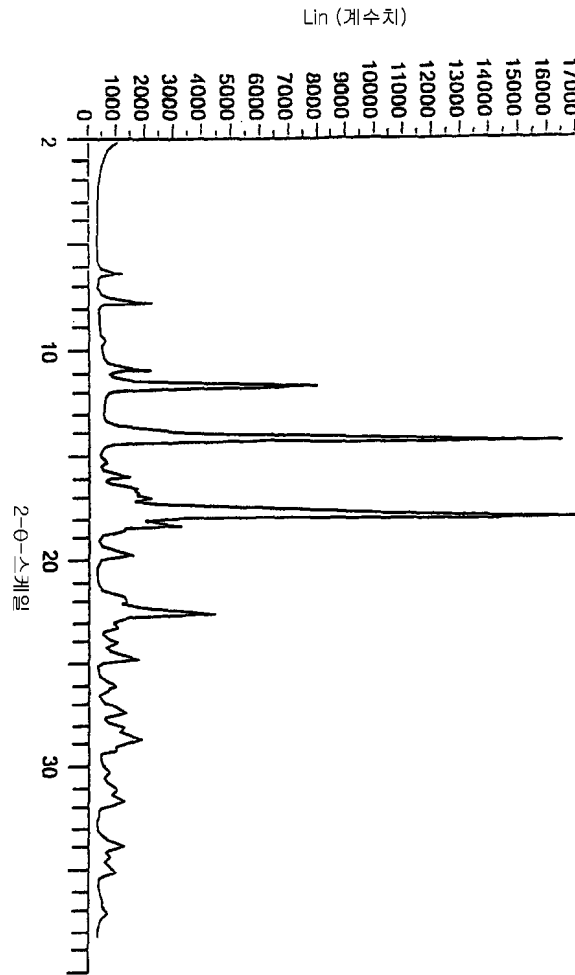
삭제

청구항 86.

제1항에 있어서, 고혈압, 심부전, 간의 경변, 과다 콜라젠, 섬유증, 양성 전립선 비대증 및 우울증으로 구성되는 군에서 선택된 질병 또는 질환의 치료 또는 예방을 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 것인 조성물.

도면

도면1



도면1a

삭제

도면1b

삭제

도면1c

삭제

도면1d

삭제

도면1e

삭제

도면1f

삭제

도면1g

삭제

도면1h

삭제

도면1i

삭제

도면1j

삭제

도면1k

삭제

도면1l

삭제

도면1m

삭제

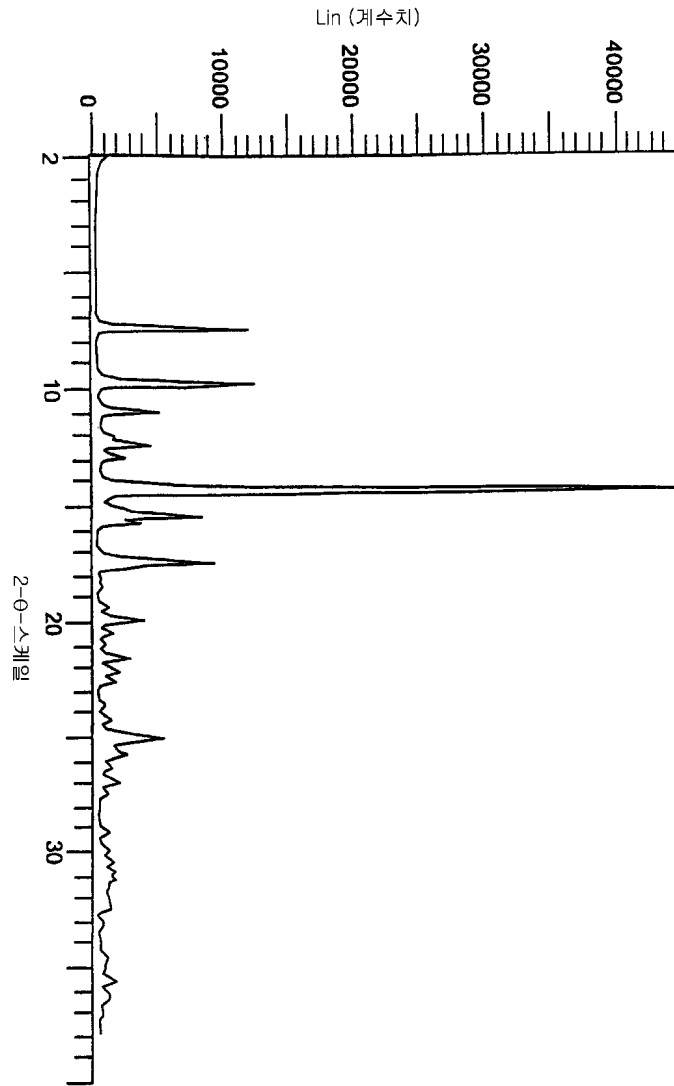
도면1n

삭제

도면1o

삭제

도면2



도면2a

삭제

도면2b

삭제

도면2c

삭제

도면2d

삭제

도면2e

삭제

도면2f

삭제

도면2g

삭제

도면2h

삭제

도면2i

삭제

도면2j

삭제

도면2k

삭제

도면2l

삭제

도면2m

삭제

도면2n

삭제

도면2o

삭제

도면2p

삭제

도면2q

삭제

도면2r

삭제

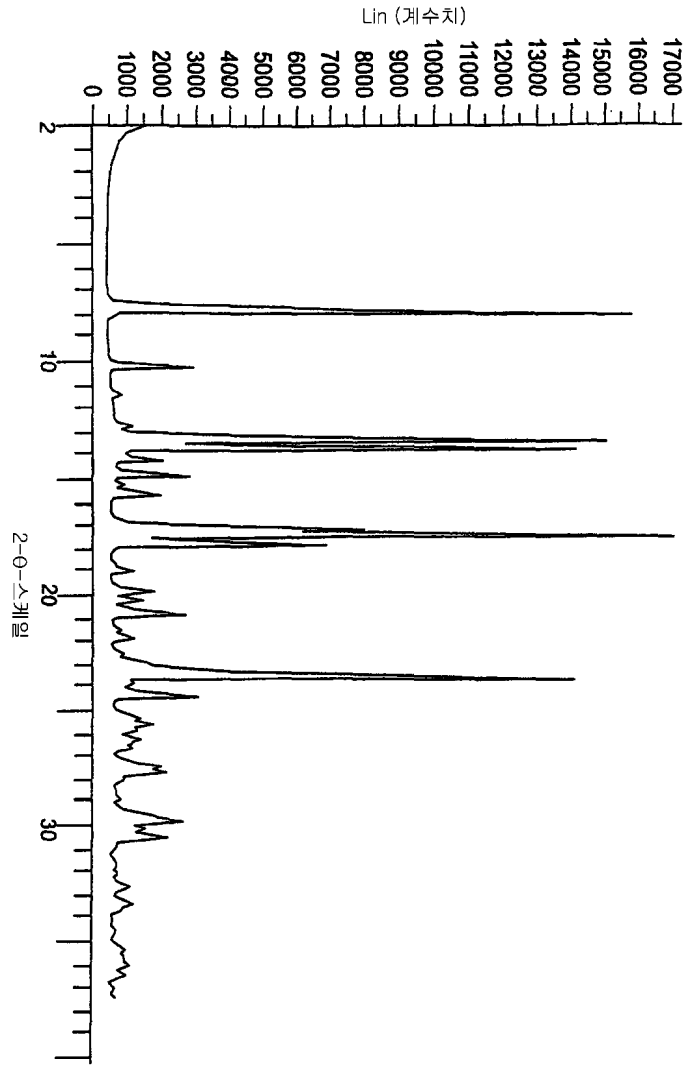
도면2s

삭제

도면2t

삭제

도면3



도면3a

삭제

도면3b

삭제

도면3c

삭제

도면3d

삭제

도면3e

삭제

도면3f

삭제

도면3g

삭제

도면3h

삭제

도면3i

삭제

도면3j

삭제

도면3k

삭제

도면3l

삭제

도면3m

삭제

도면3n

삭제

도면3o

삭제

도면3p

삭제

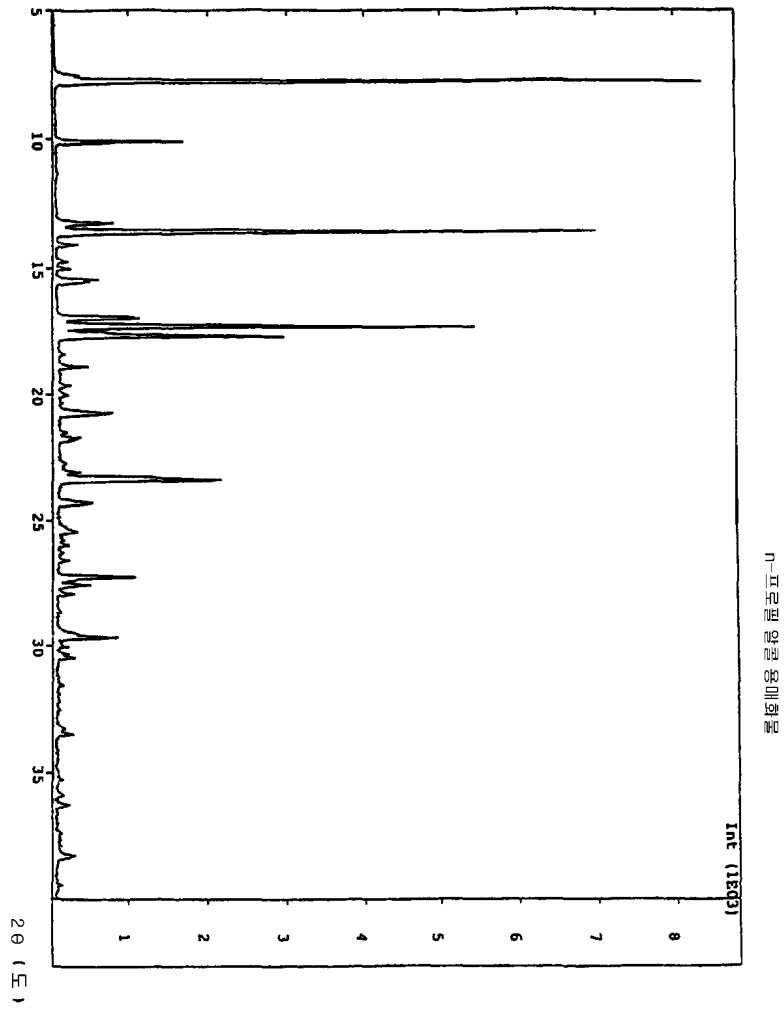
도면3q

삭제

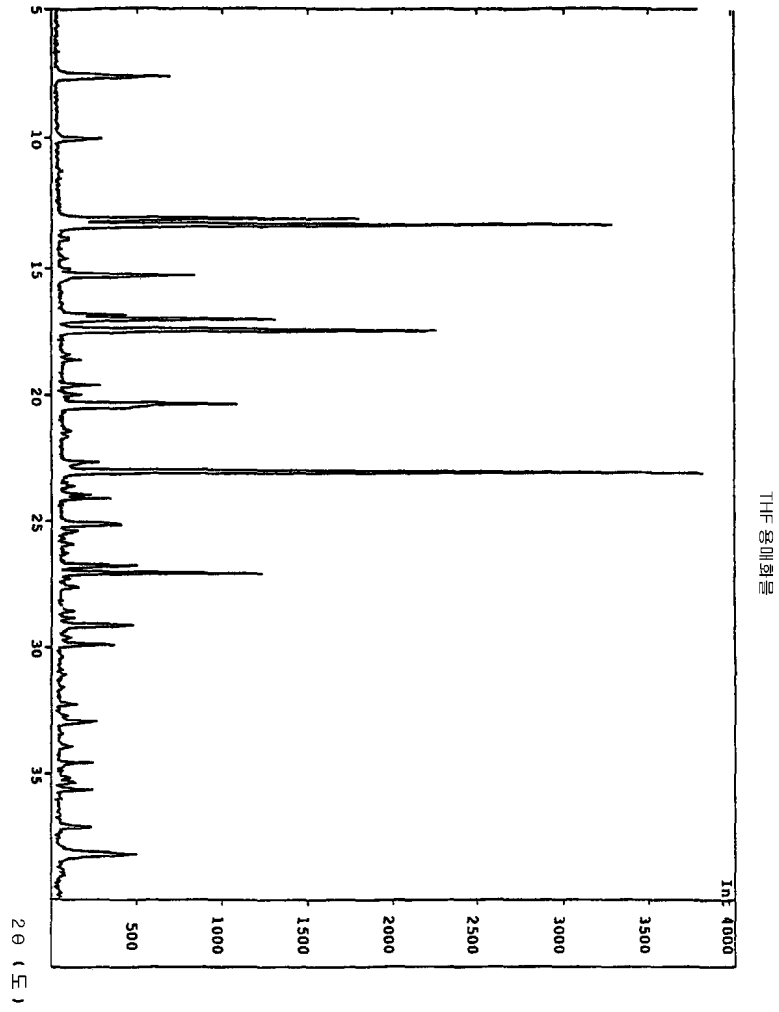
도면3r

삭제

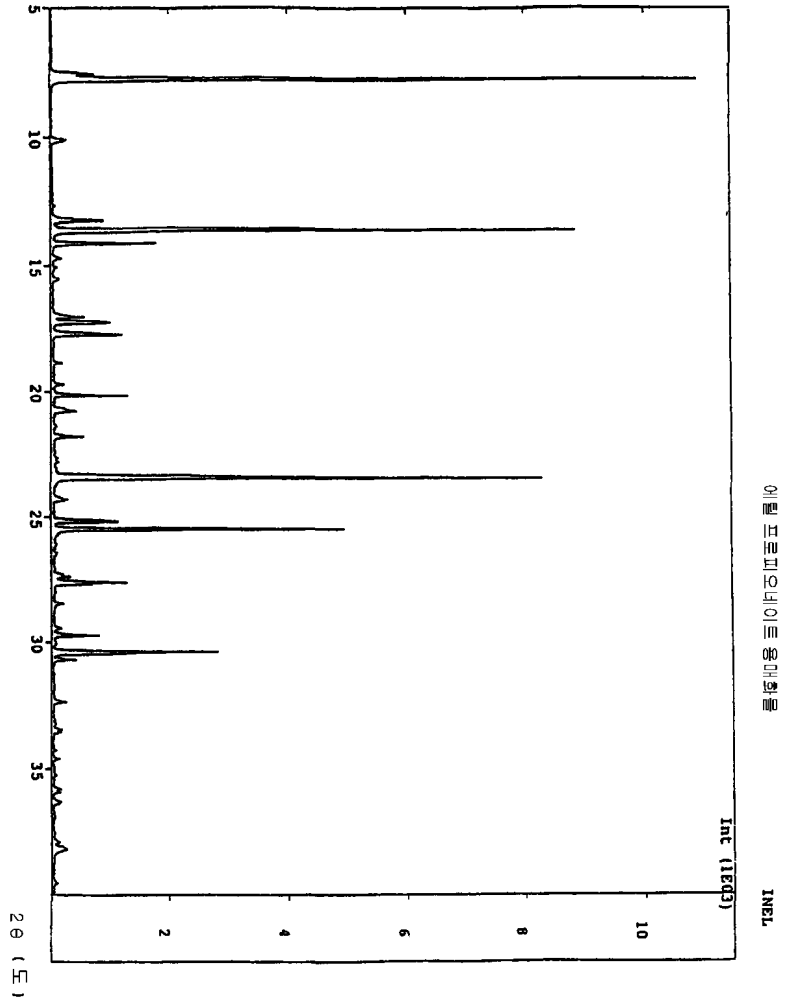
도면4



도면5



도면6



도면6a

삭제

도면6b

삭제

도면6c

삭제

도면6d

삭제

도면6e

삭제

도면6f

삭제

도면6g

삭제

도면6h

삭제

도면6i

삭제

도면6j

삭제

도면6k

삭제

도면6l

삭제

도면6m

삭제

도면6n

삭제

도면6o

삭제

도면6p

삭제

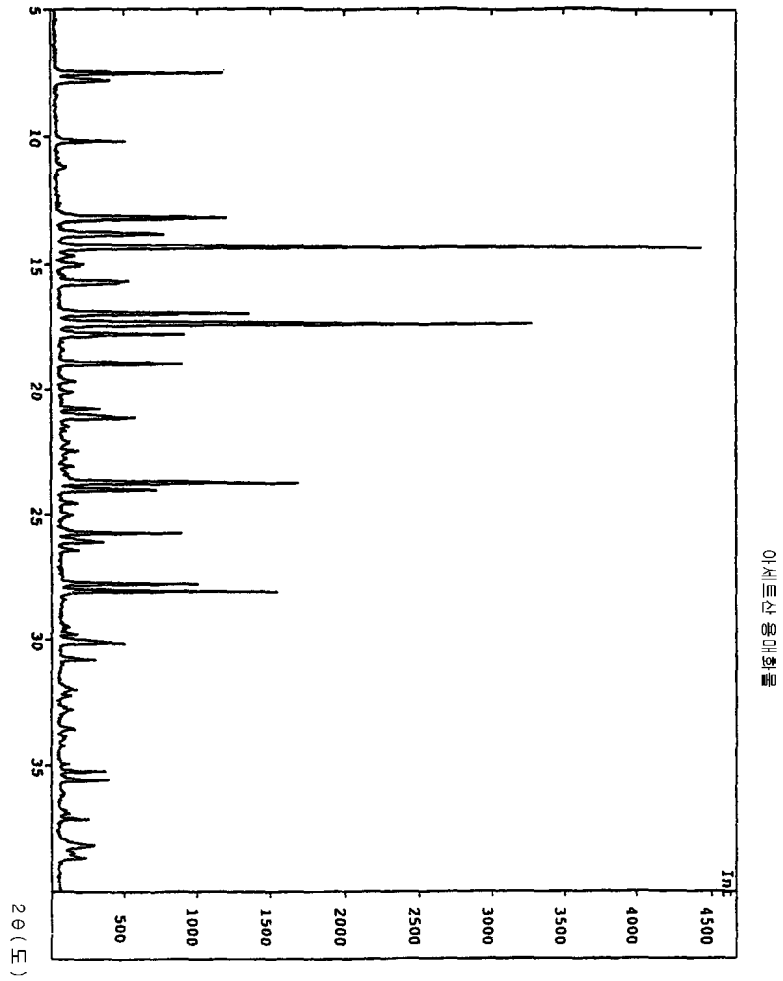
도면6q

삭제

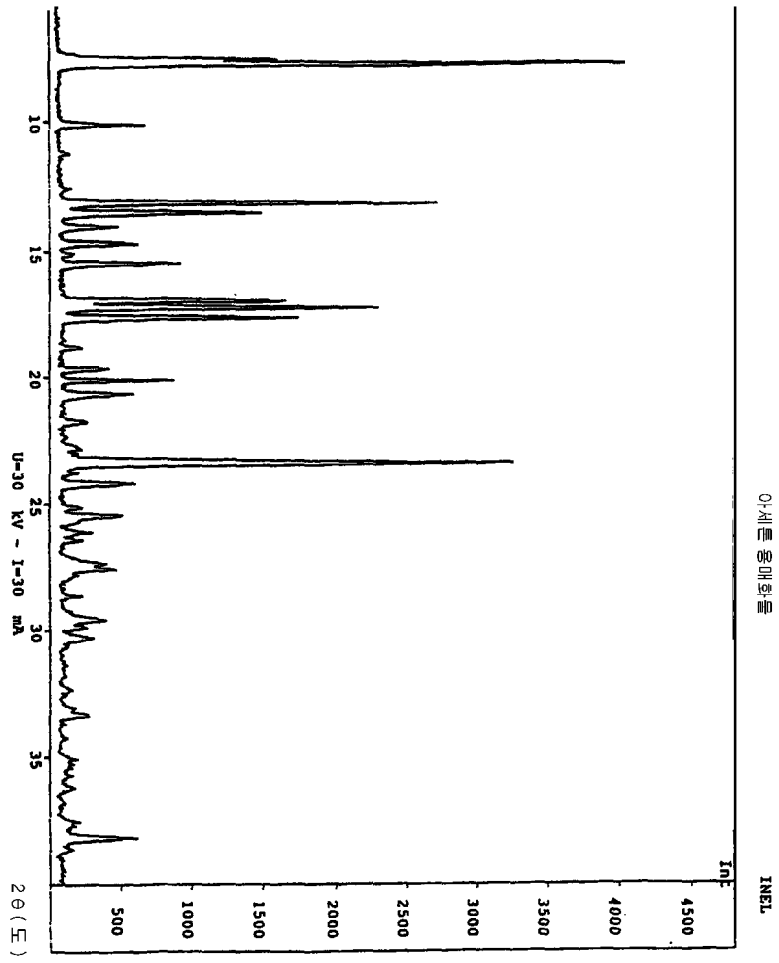
도면6r

삭제

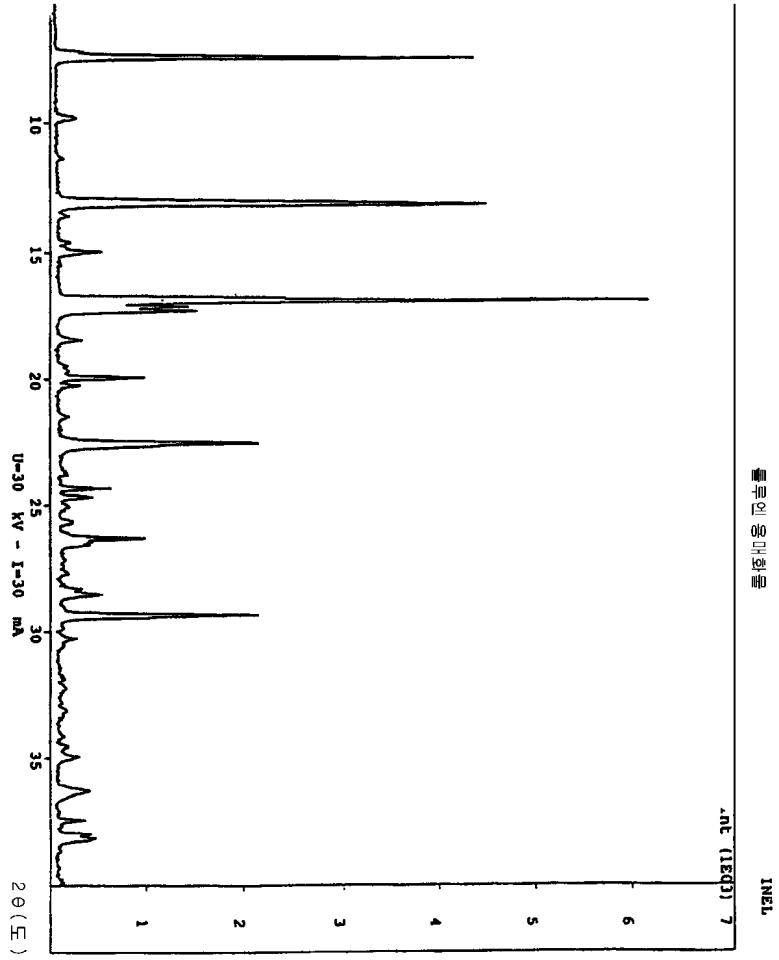
도면7



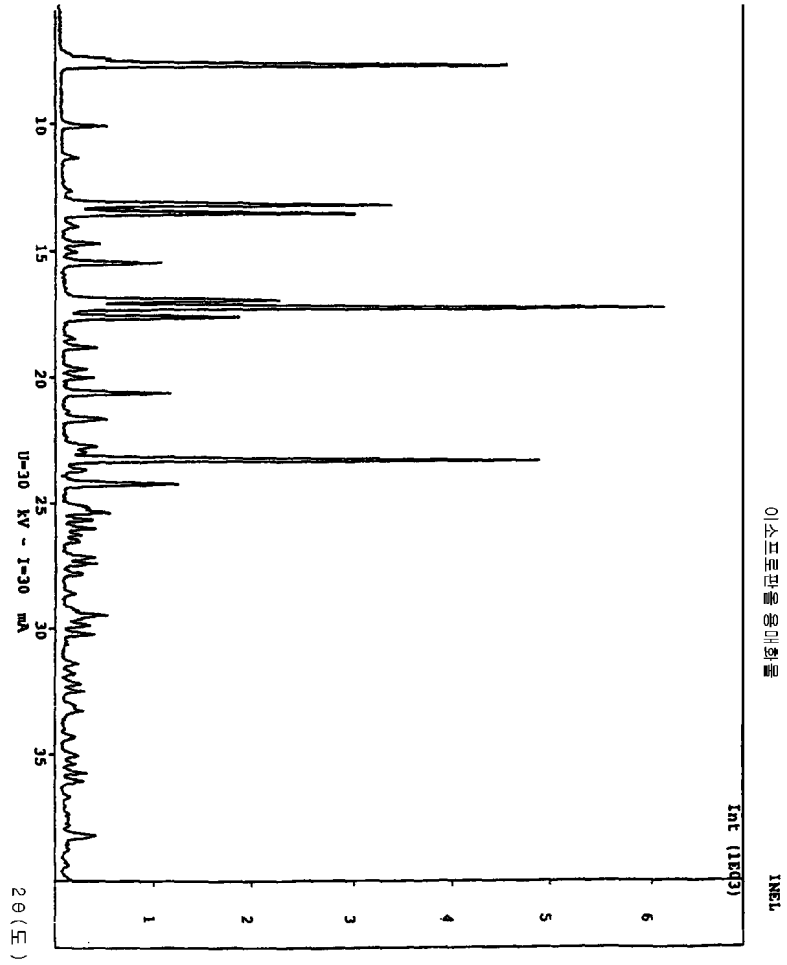
도면8



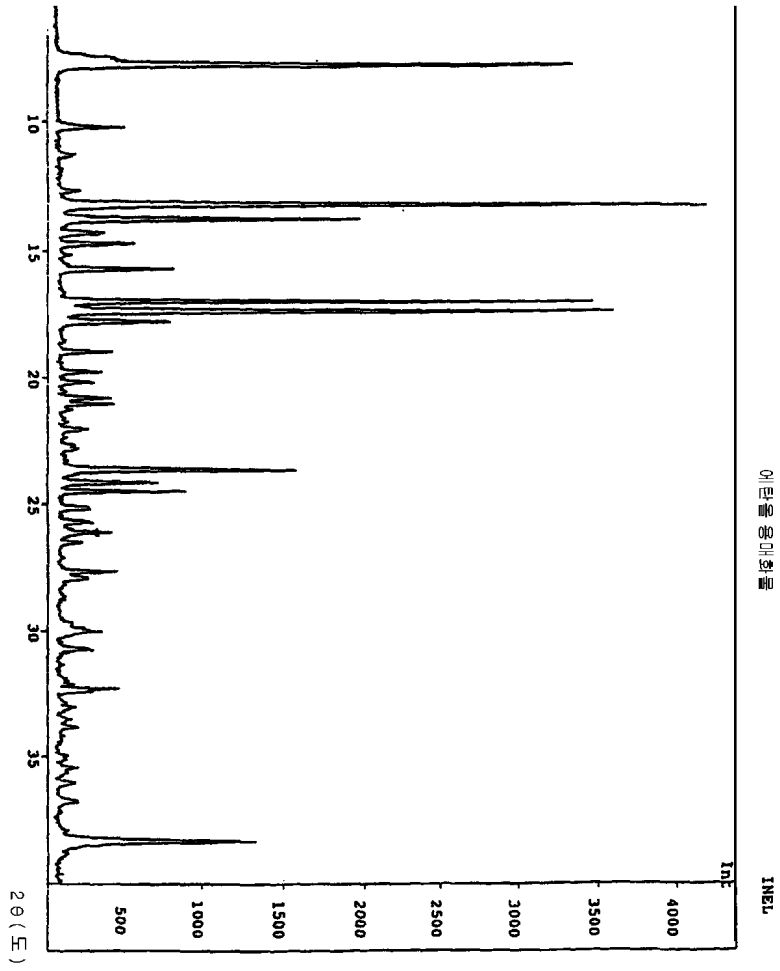
도면9



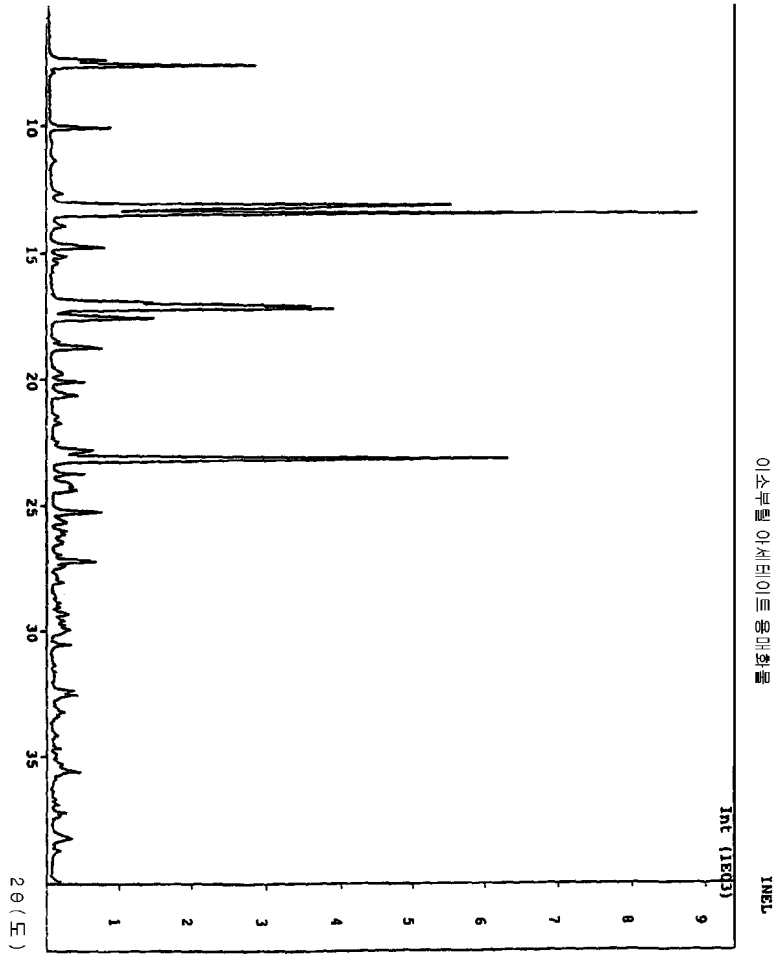
도면10



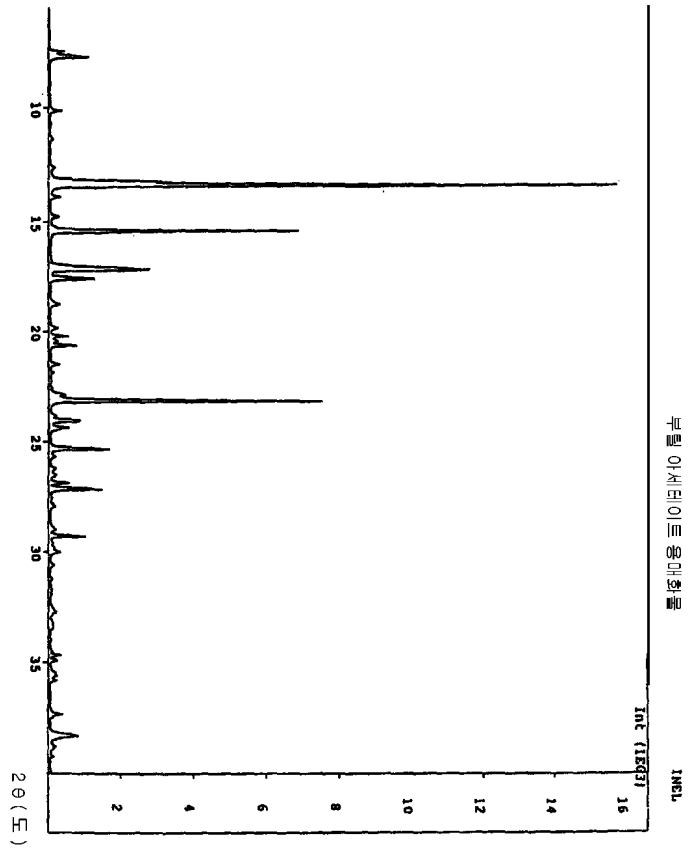
도면11



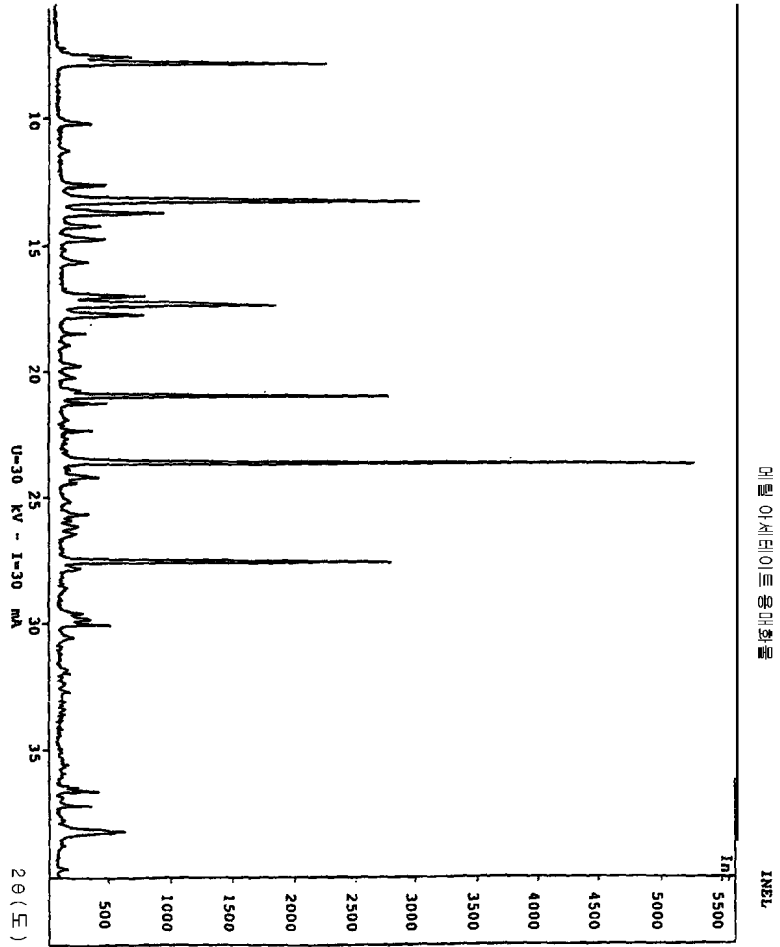
도면12



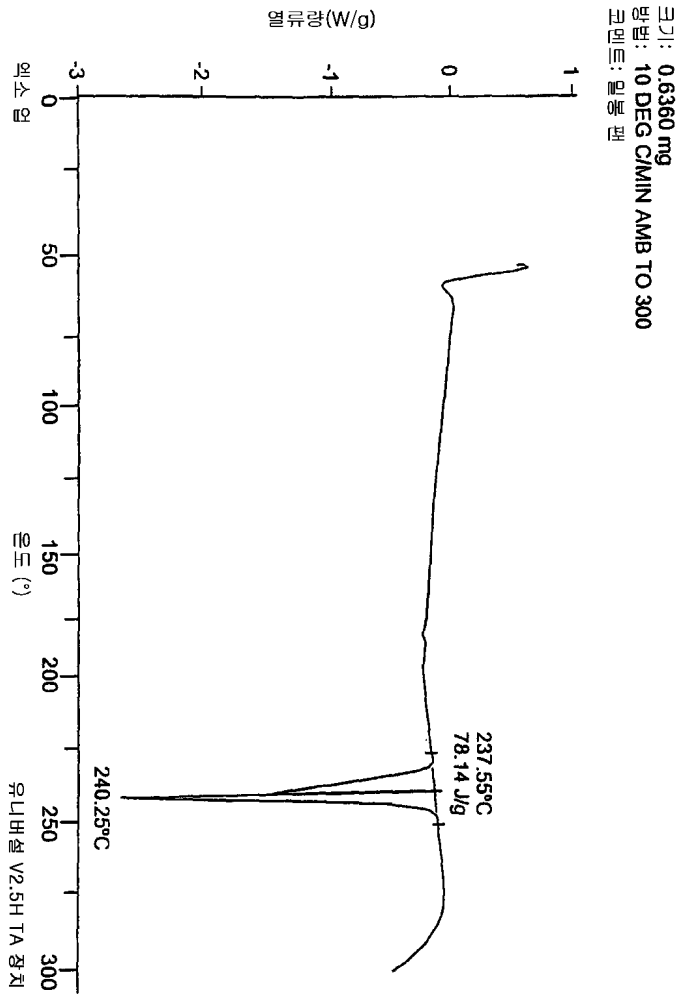
도면13



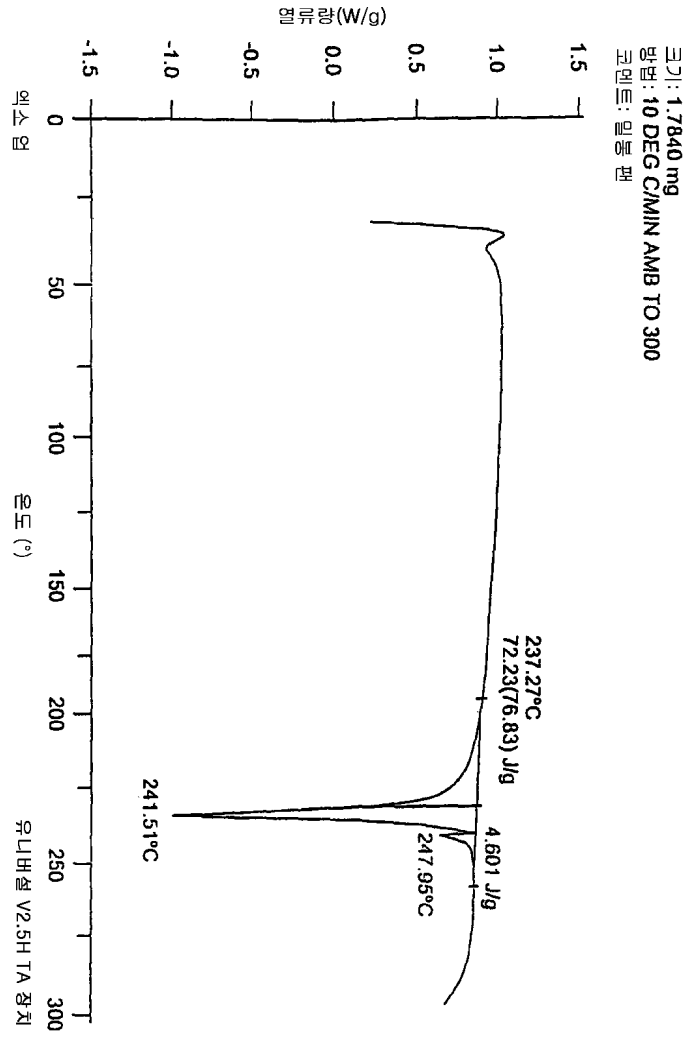
도면14



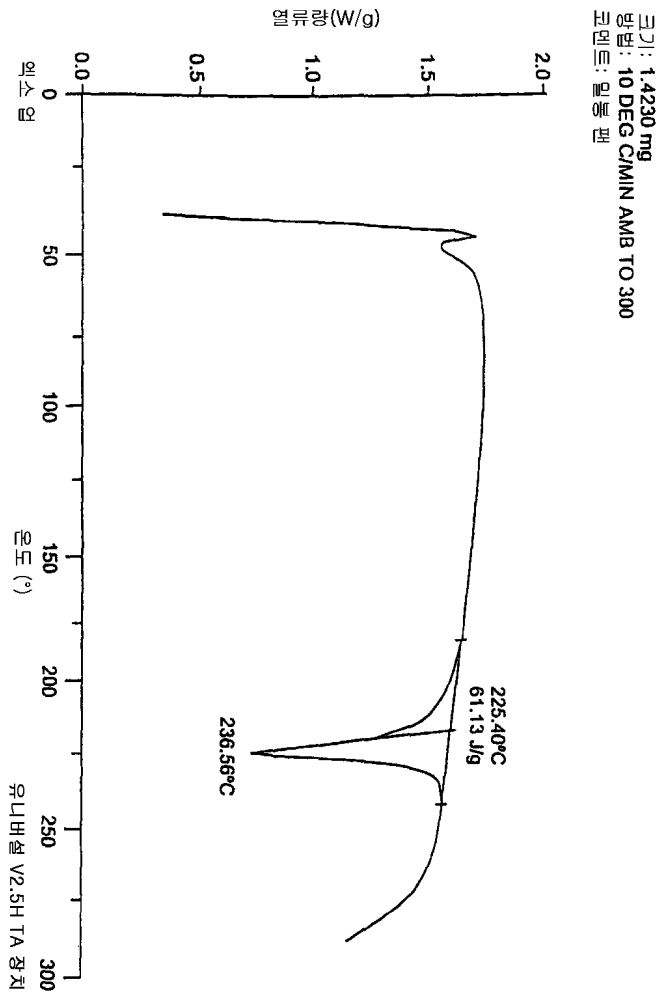
도면15



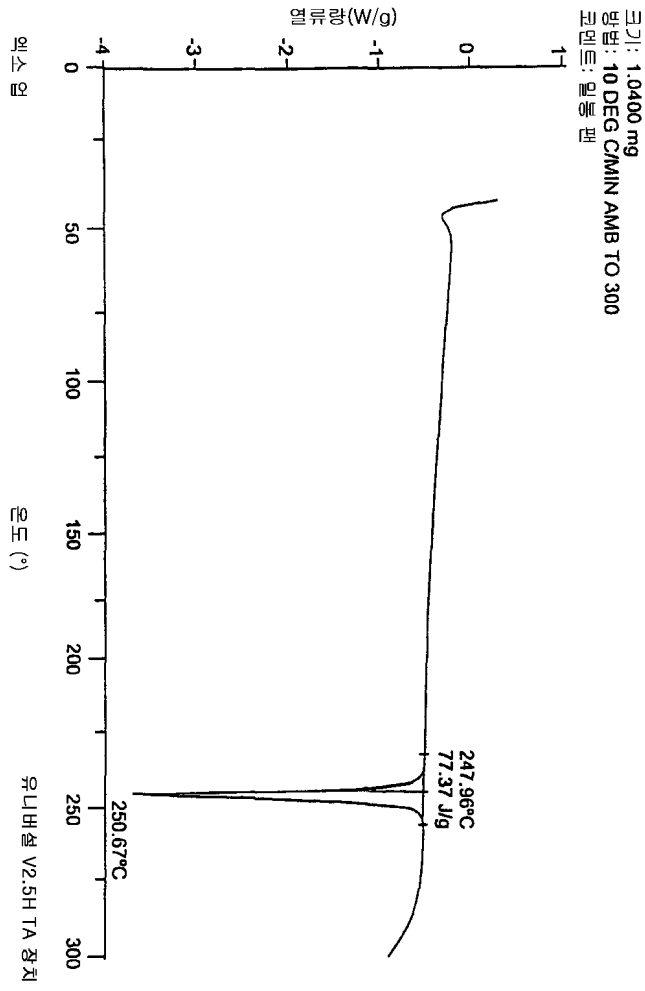
도면16



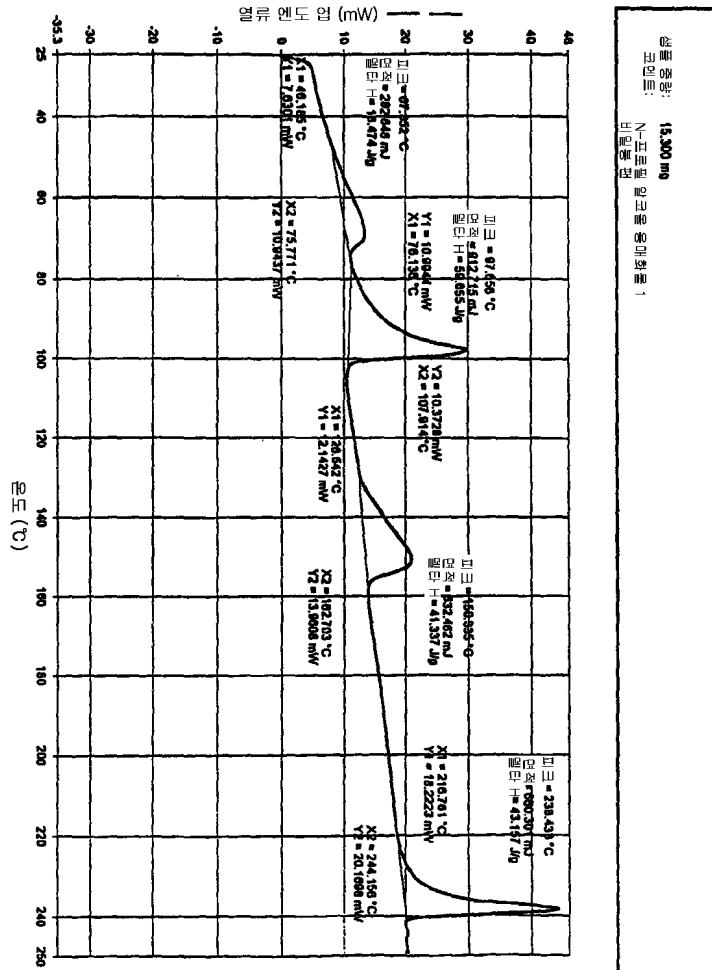
도면17



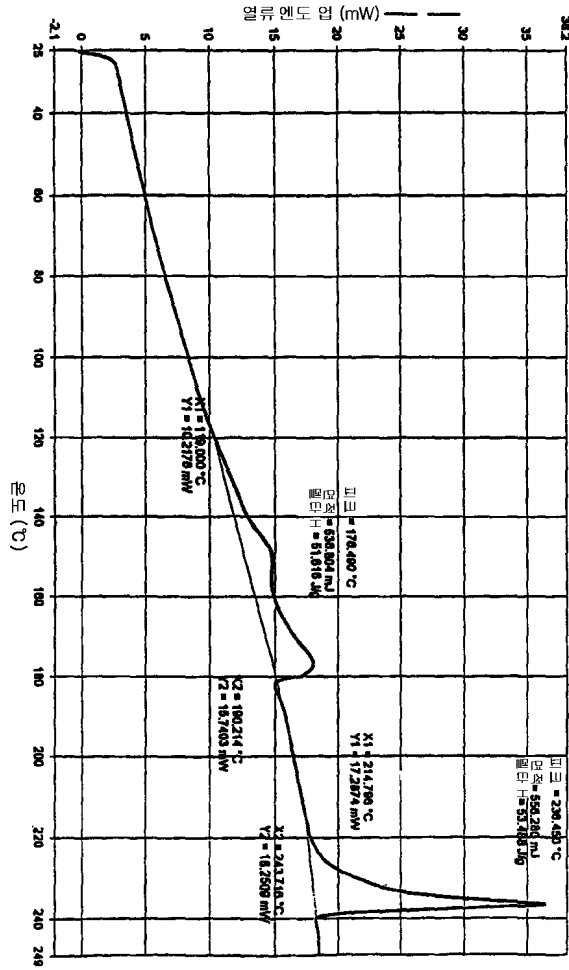
도면18



도면 19

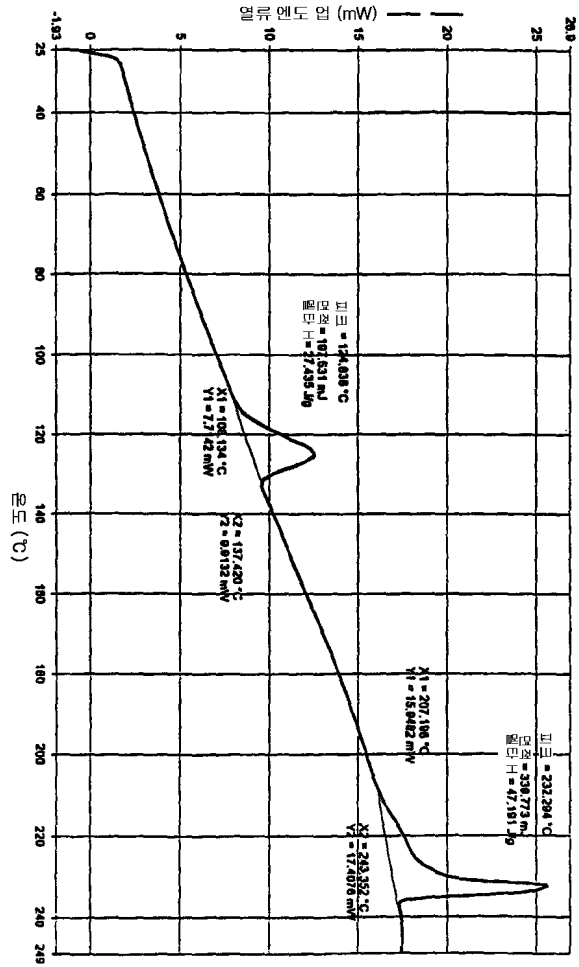


도면20



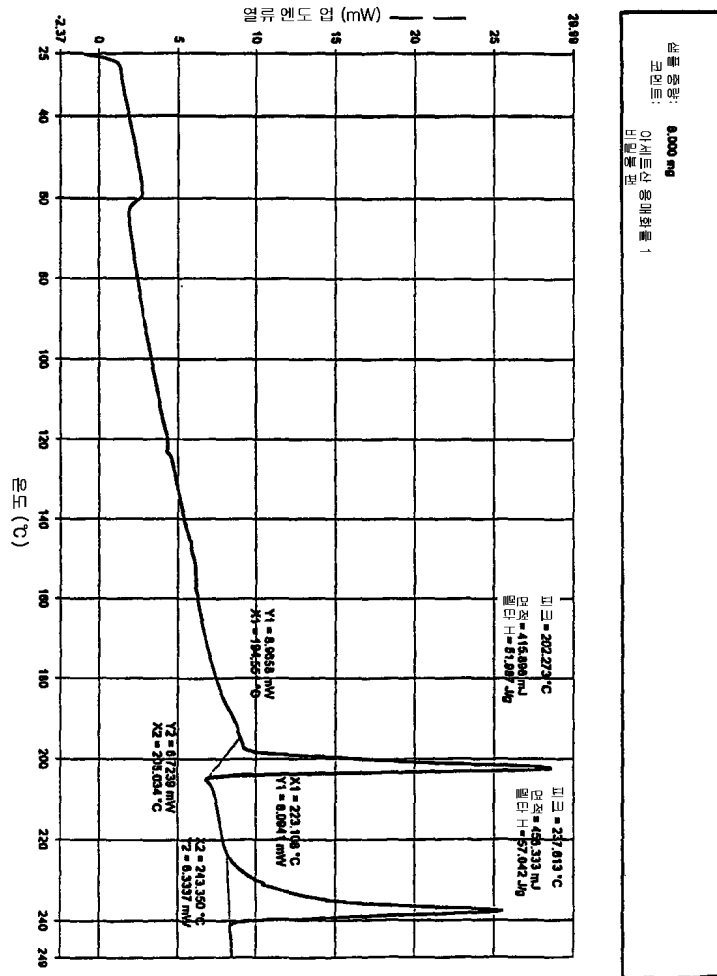
샘플 중량: 10.010 mg
 코엔탈: 7.45 mJ/g
 비열용량: 1

도면21

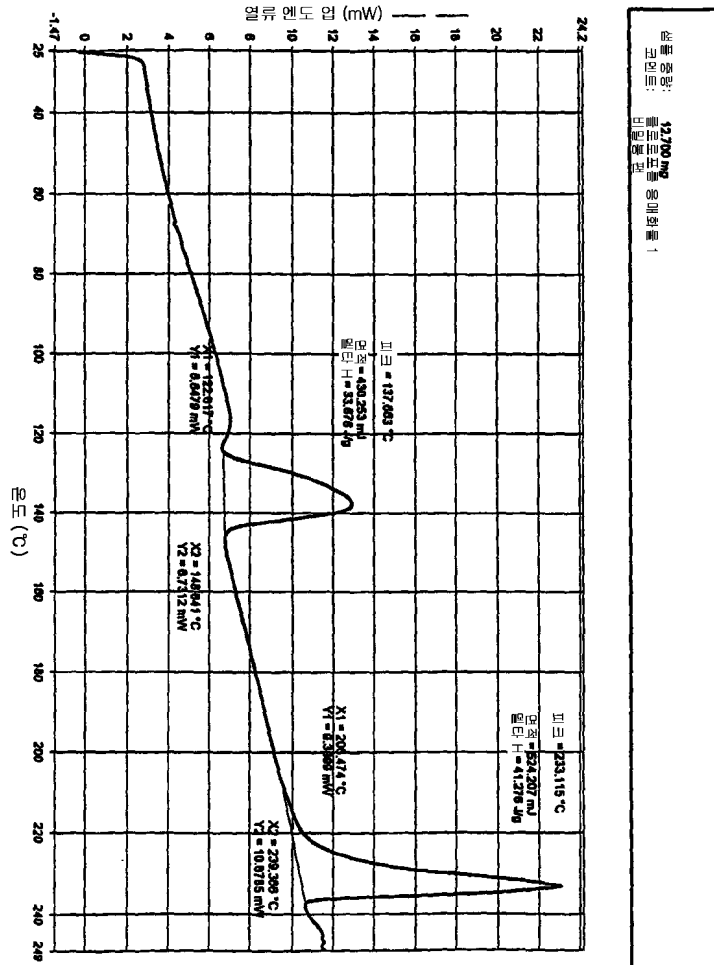


샘플 중량: 7.200 mg
 좌표원: L4880X200-F3P
 시료: 피렌트-인하이트 용매 혼합물
 기질: 알루미나

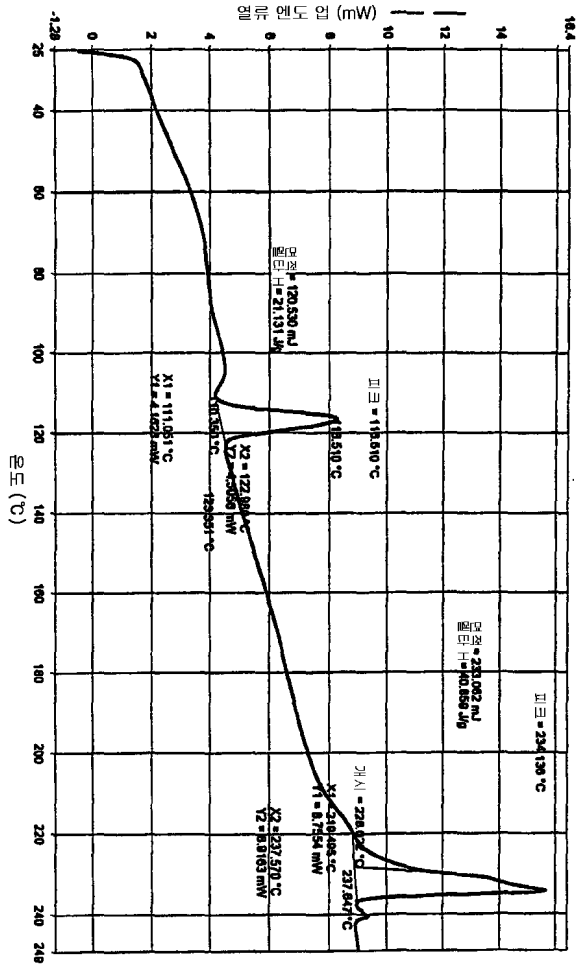
도면22



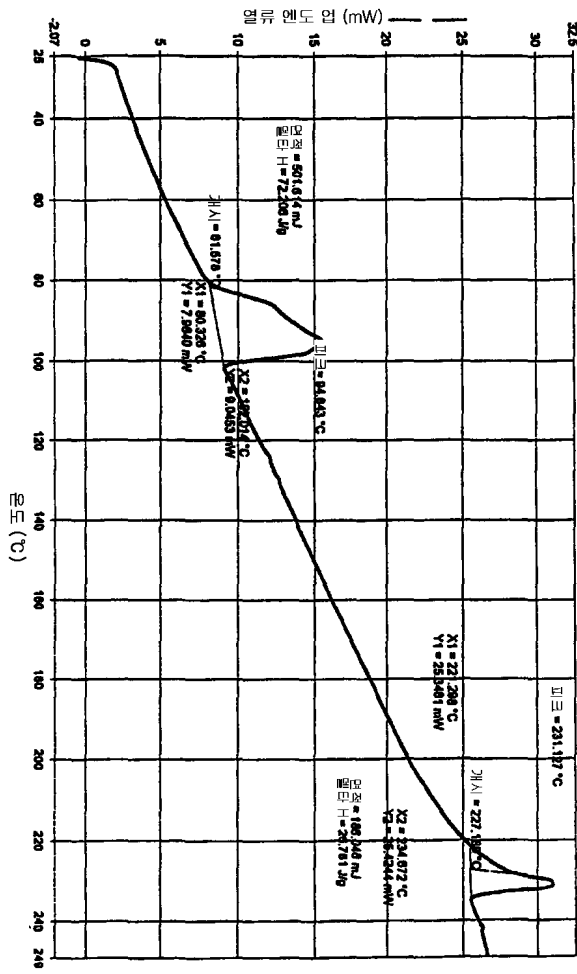
도면23



도면24

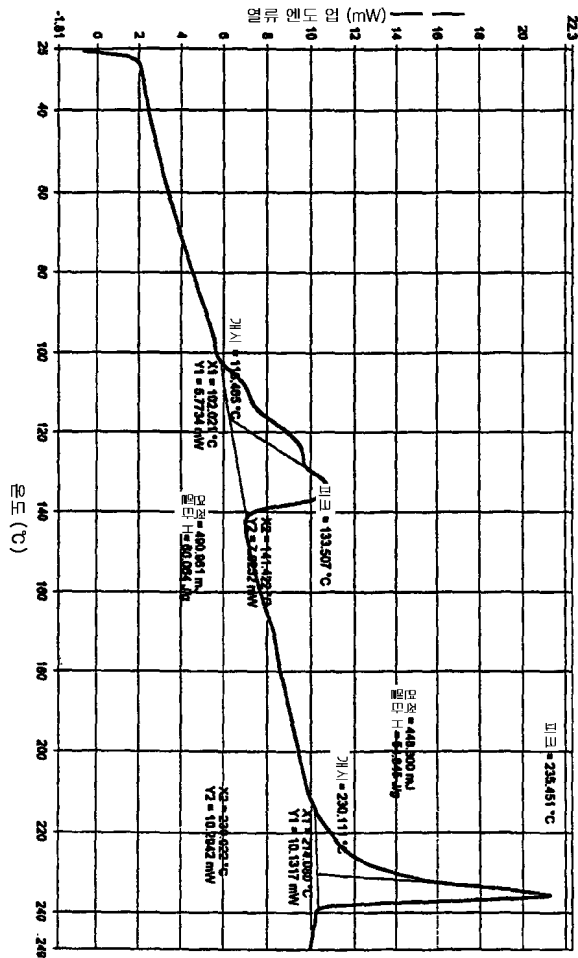


도면25

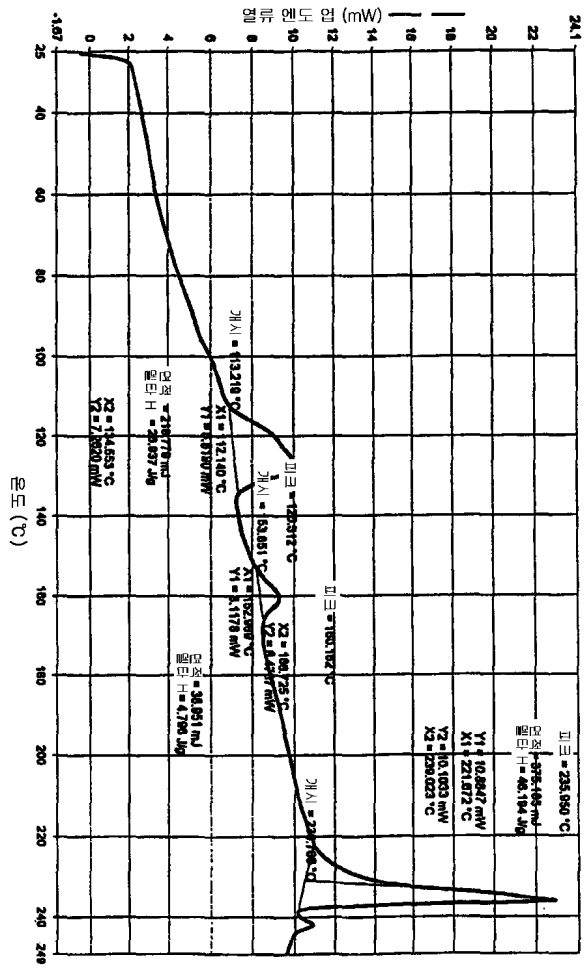


샘플명: 10-0607923
 조건: 열분석용 복합체

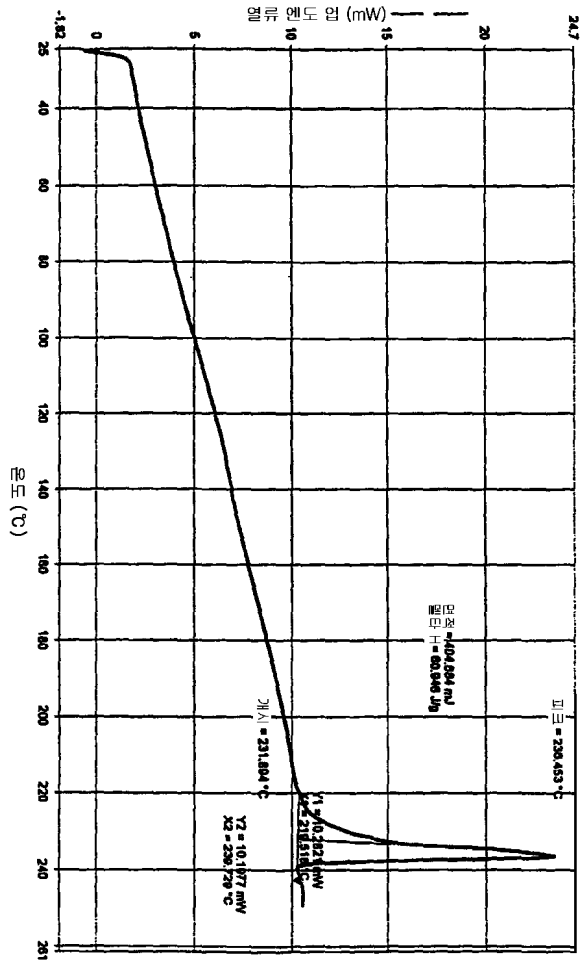
도면26



도면27

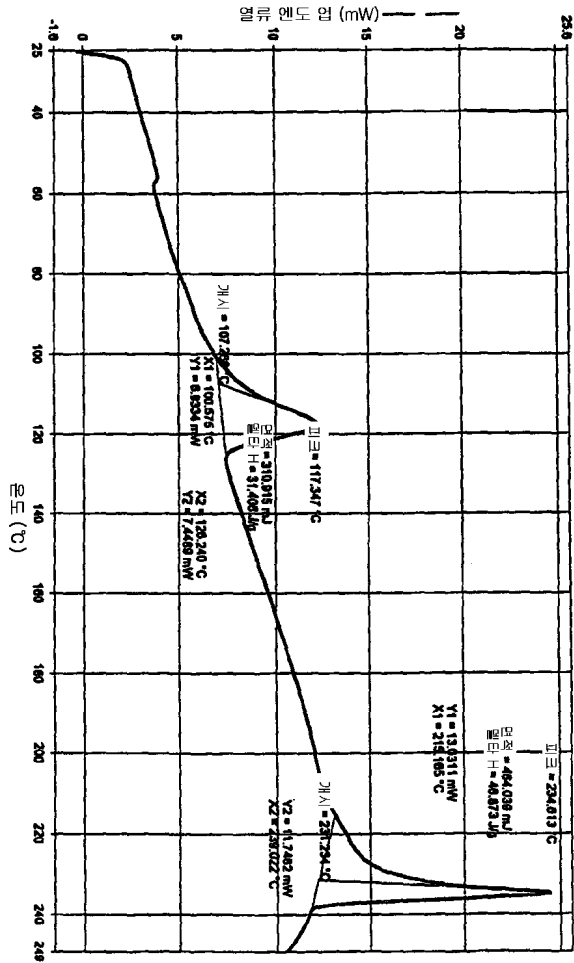


도면28

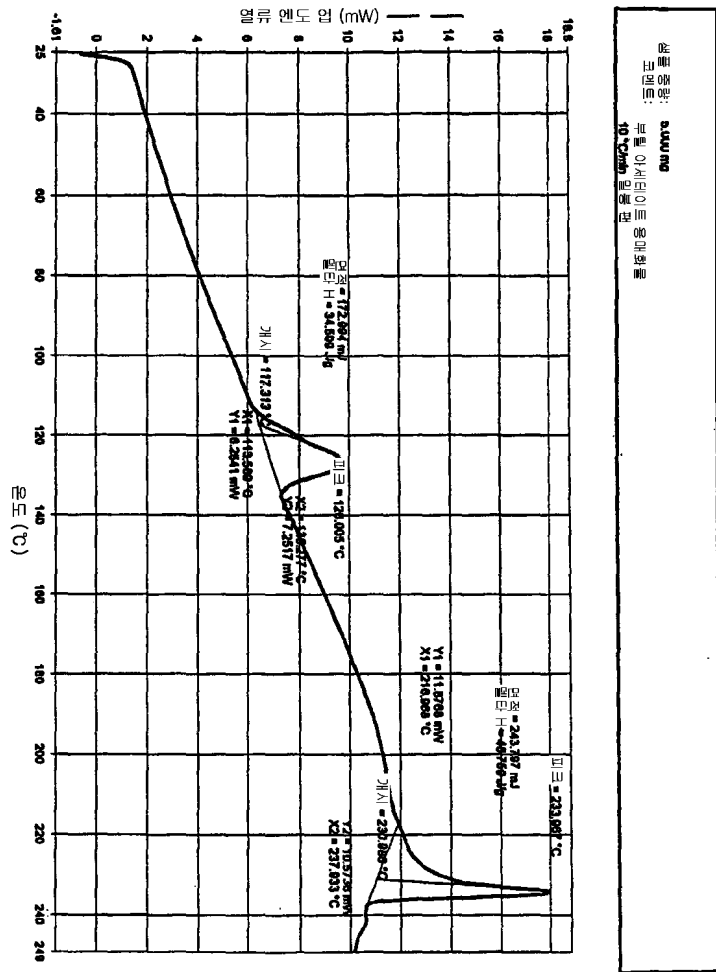


샘플 명칭: 0.640 mg
 용매: 10°C에서 90°C까지
 온도 범위: 10°C에서 90°C까지

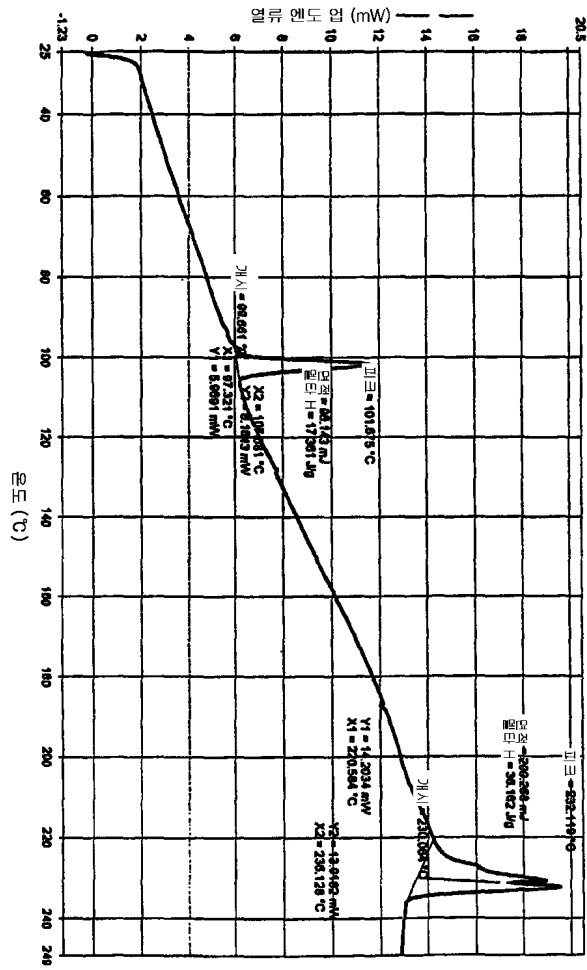
도면29



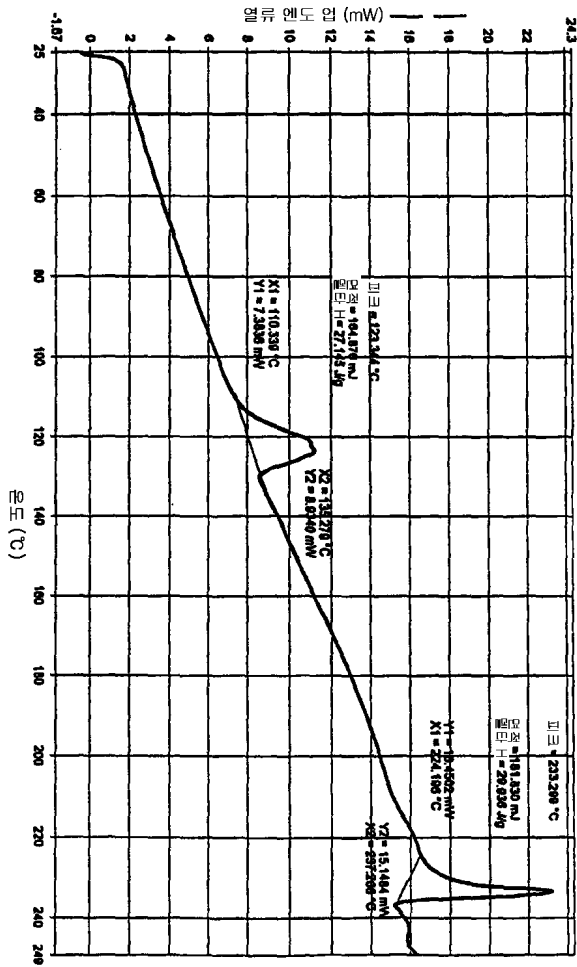
도면30



도면31

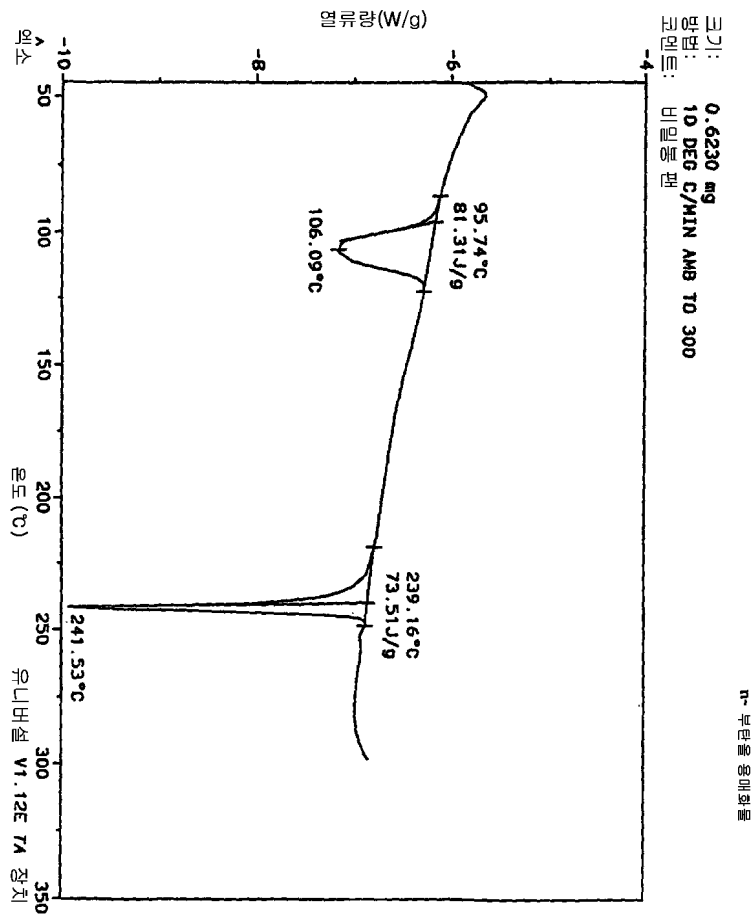


도면32

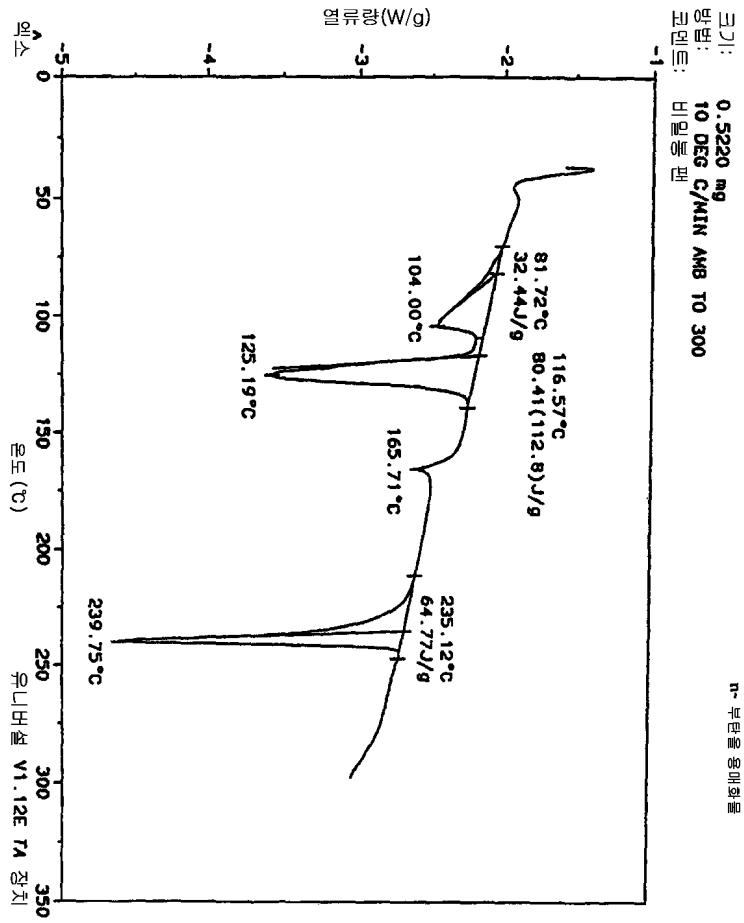


샘플 중량: 0.074 mg
 모드: 10°C/min, 10°C/min, 10°C/min
 포름산 아세트산의 열 안정화물

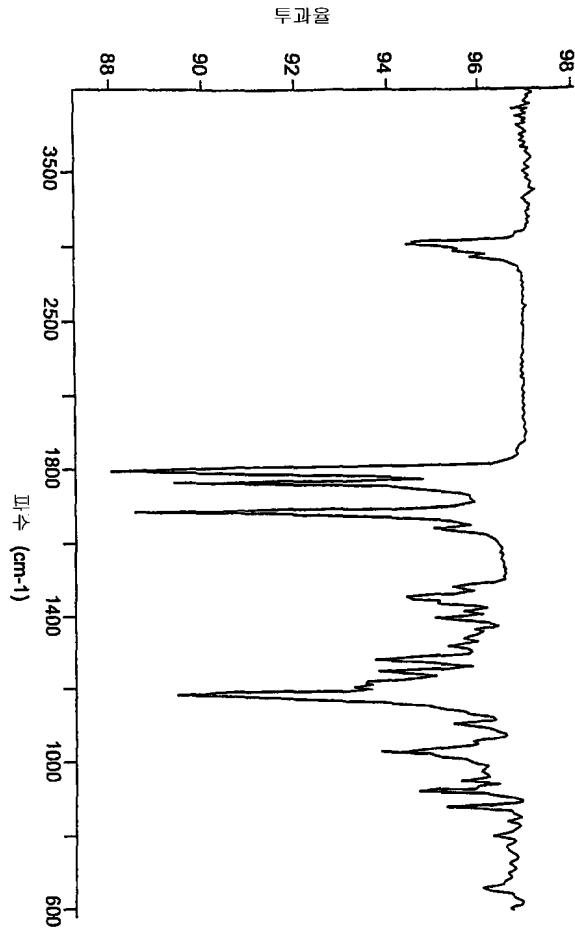
도면33



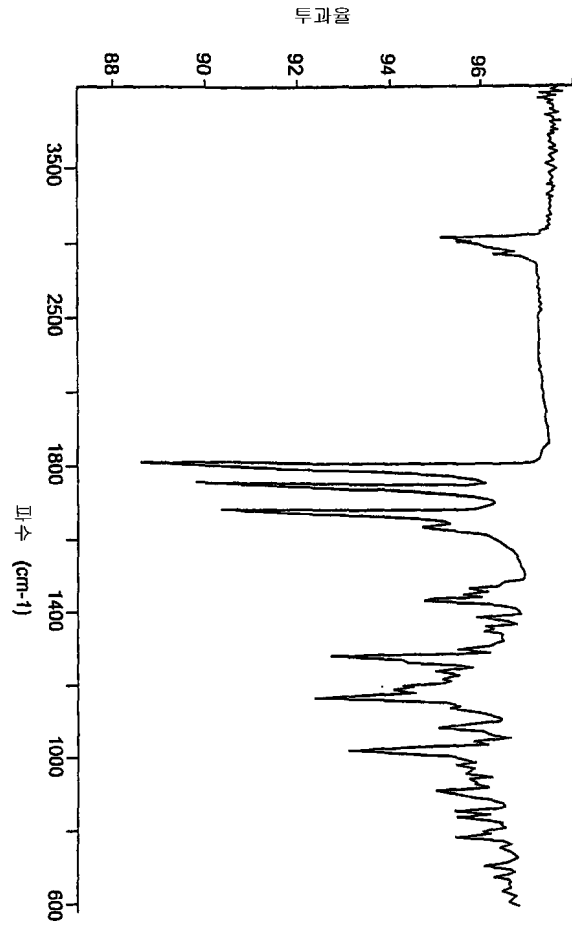
도면34



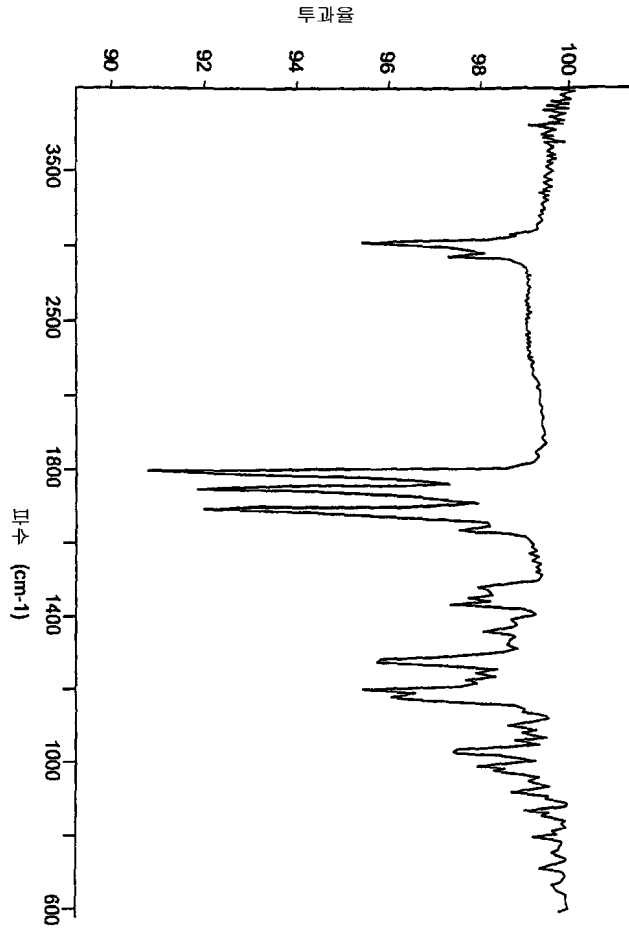
도면35



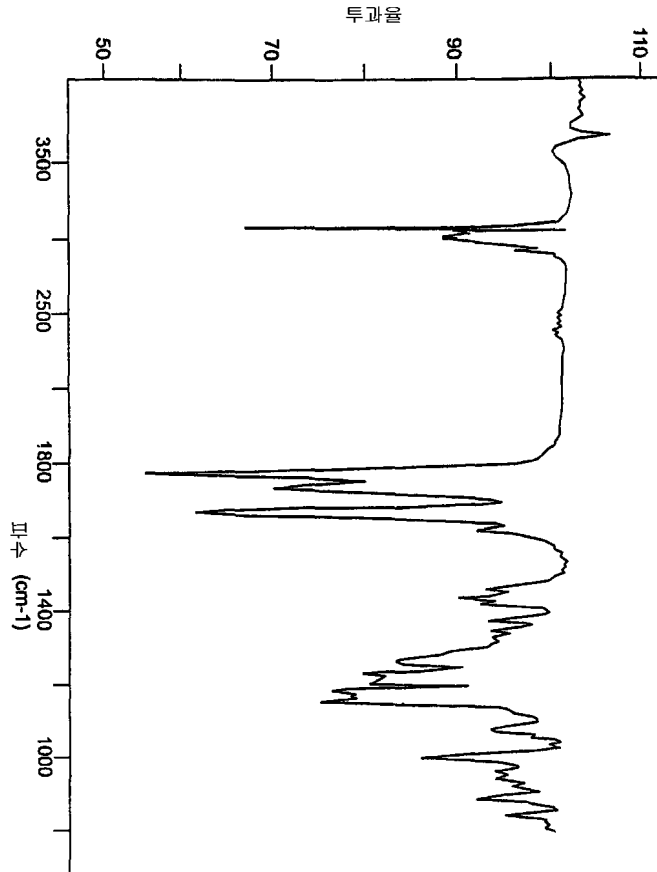
도면36



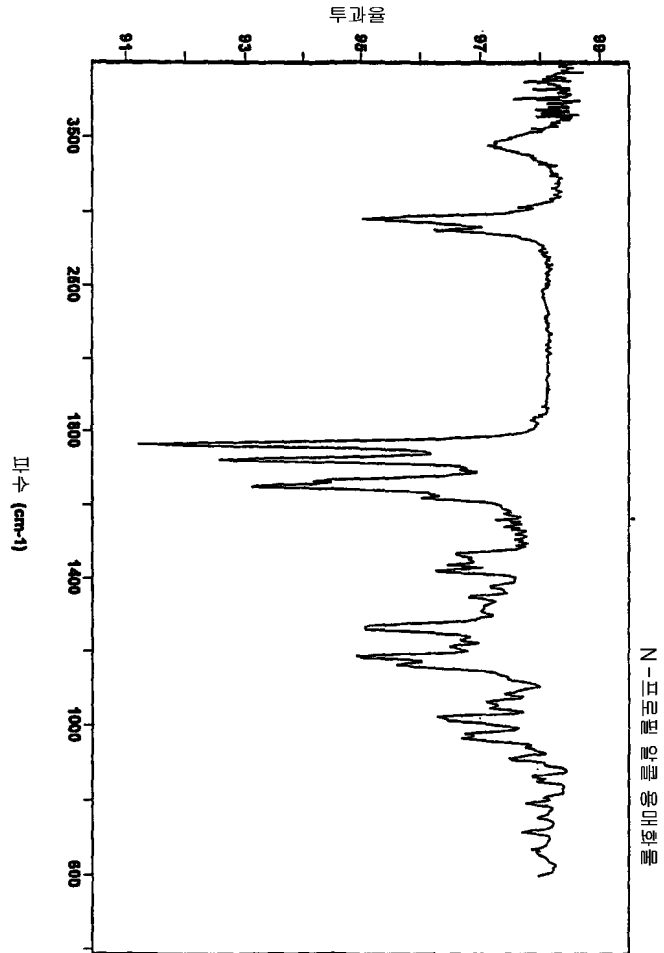
도면37



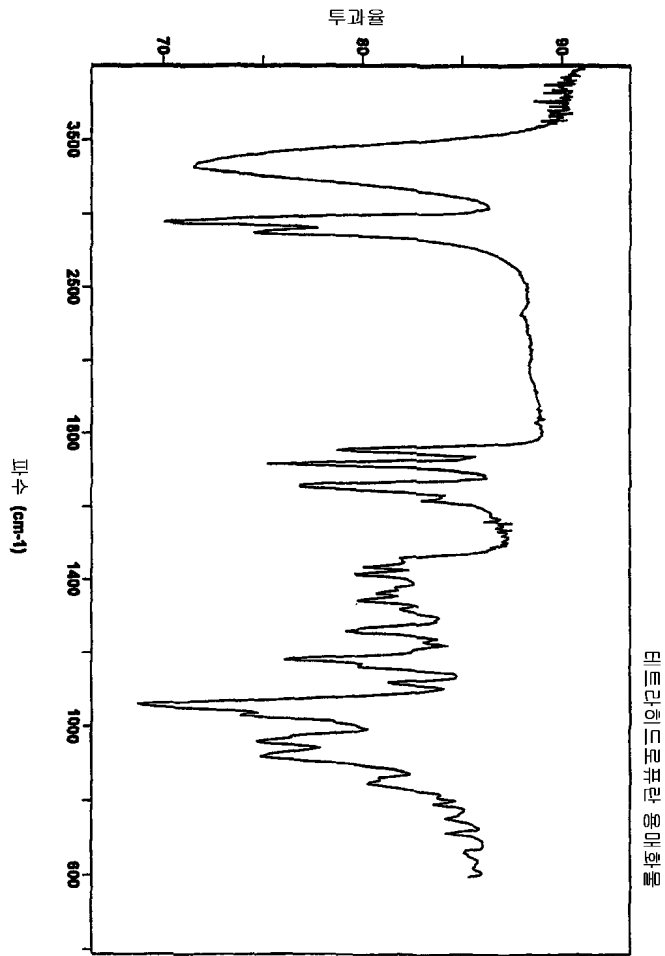
도면38



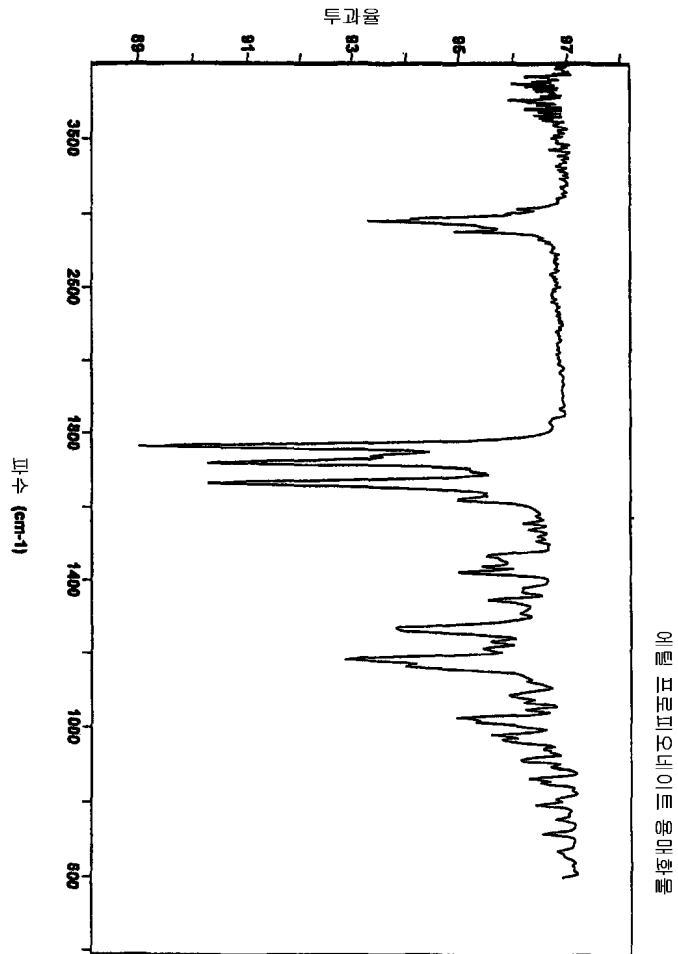
도면39



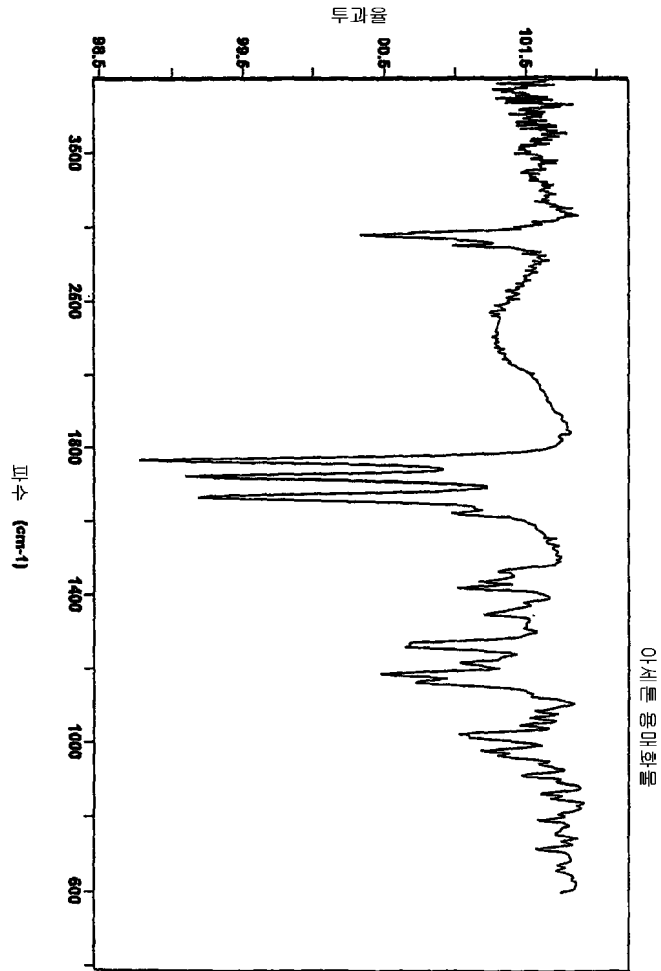
도면40



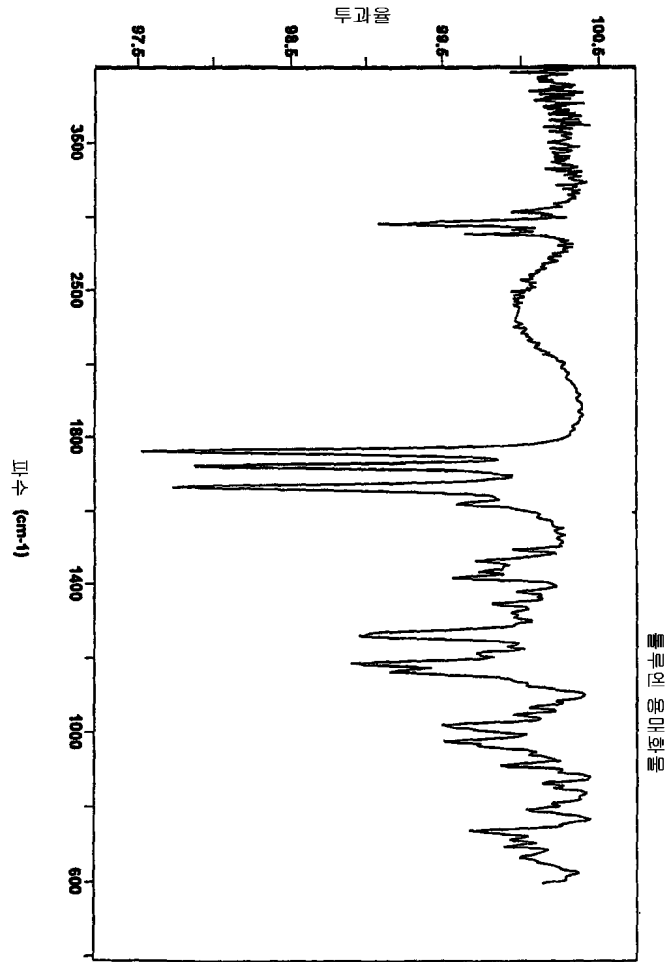
도면41



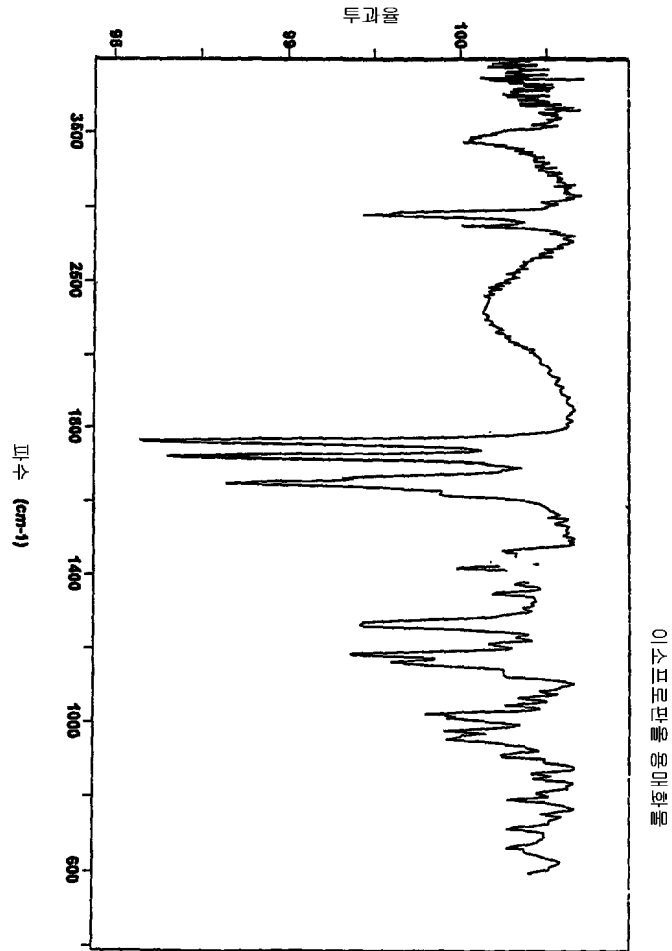
도면42



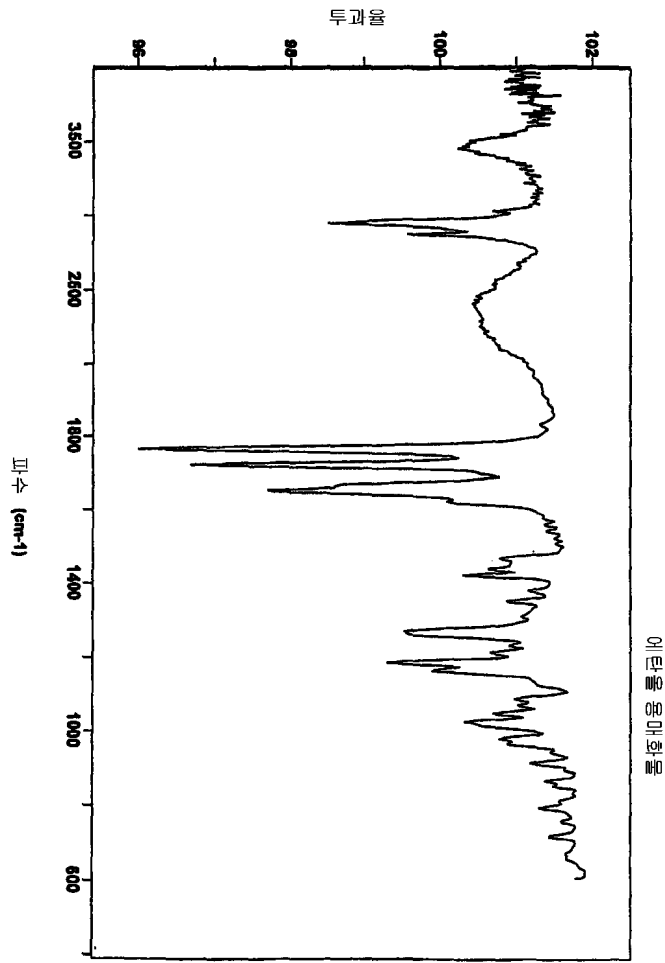
도면43



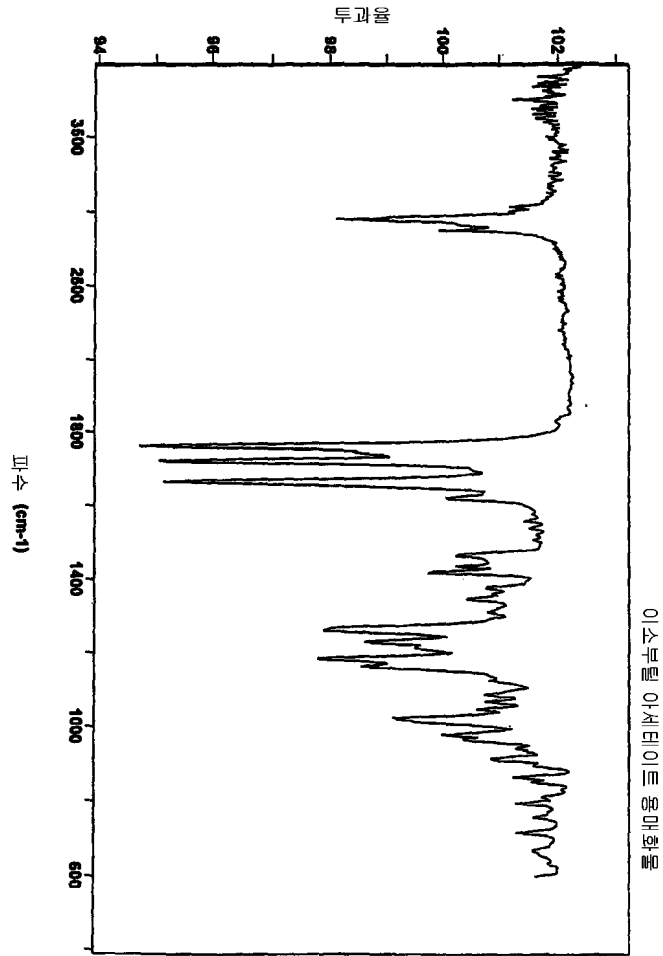
도면44



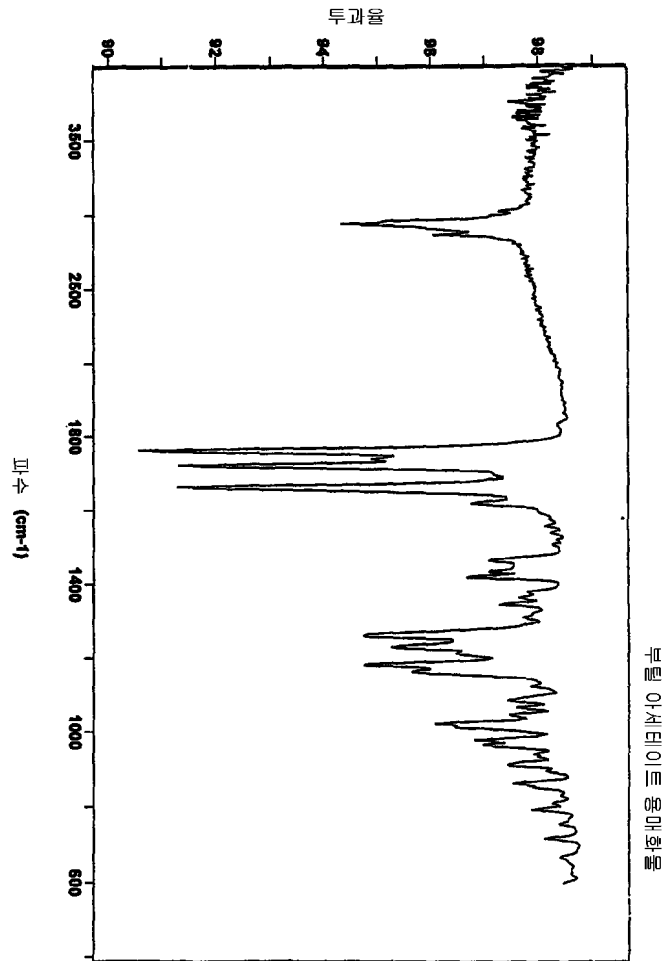
도면45



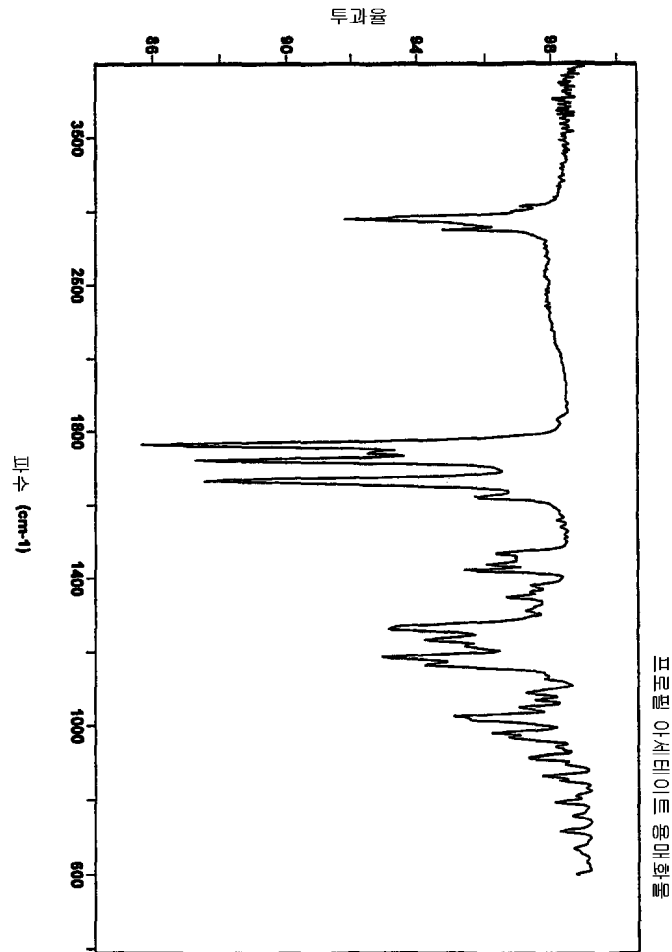
도면46



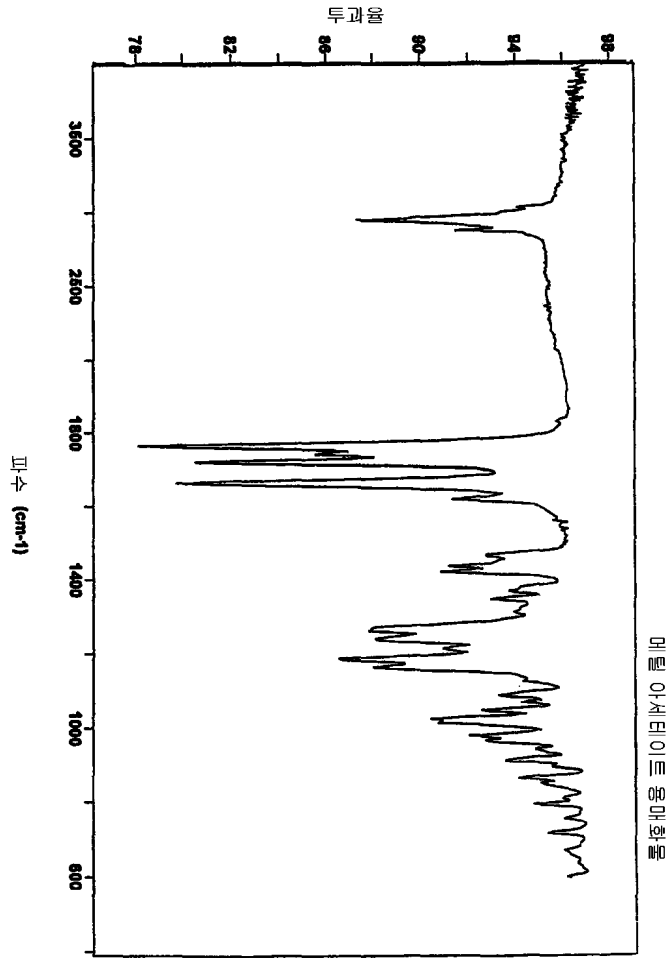
도면47



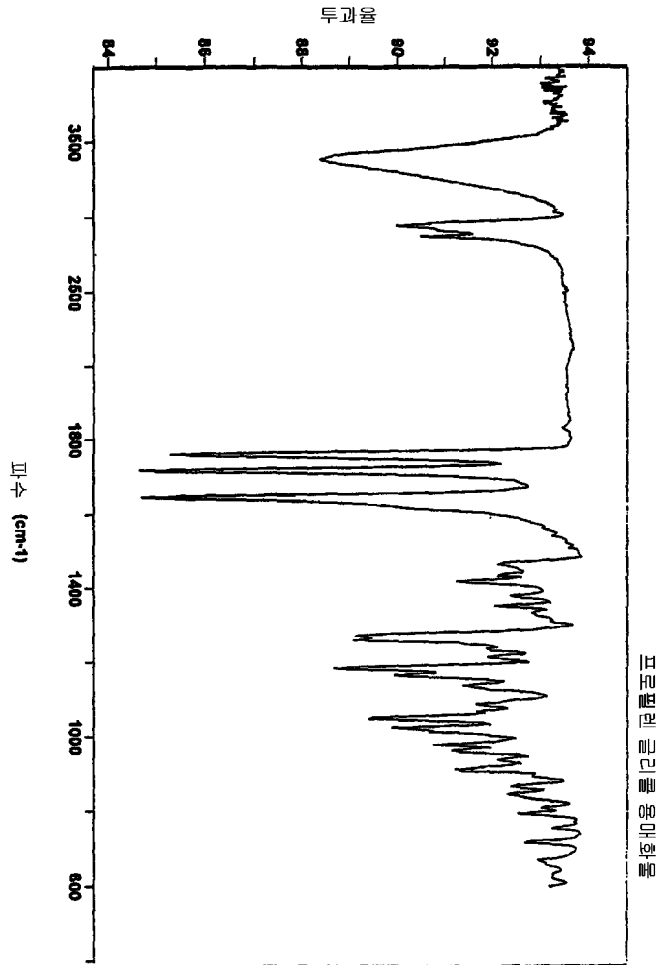
도면48



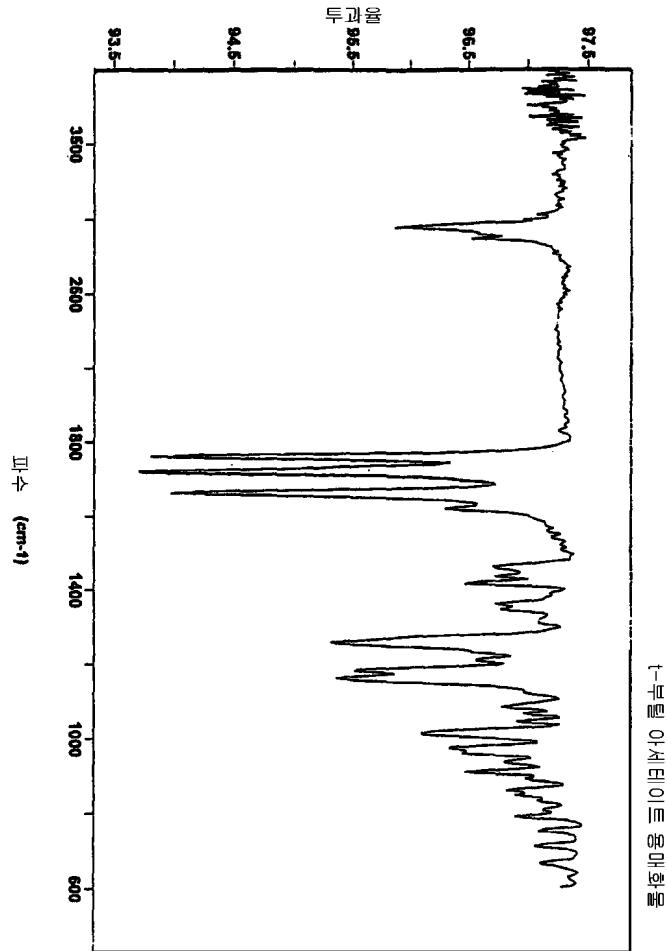
도면49



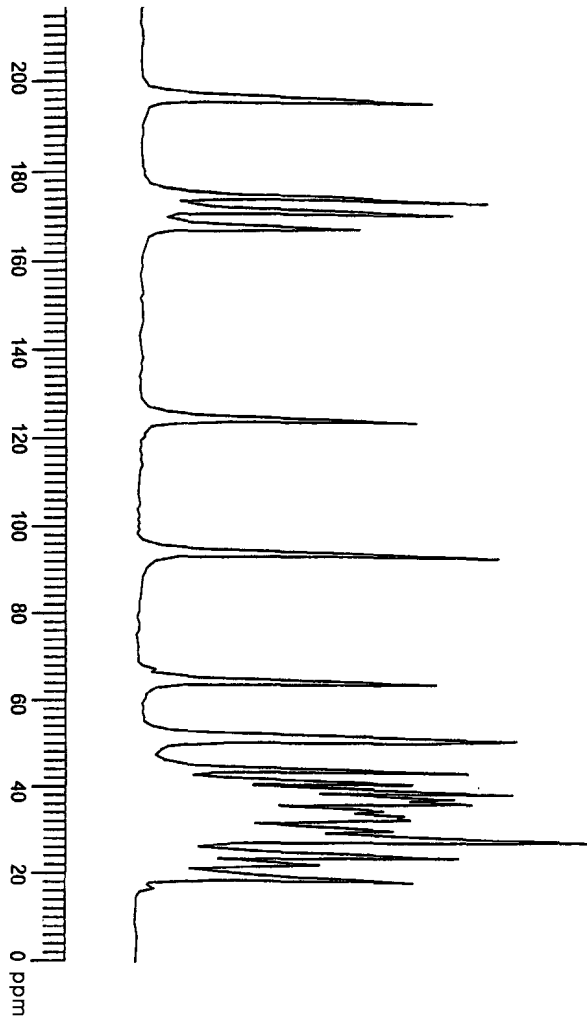
도면50



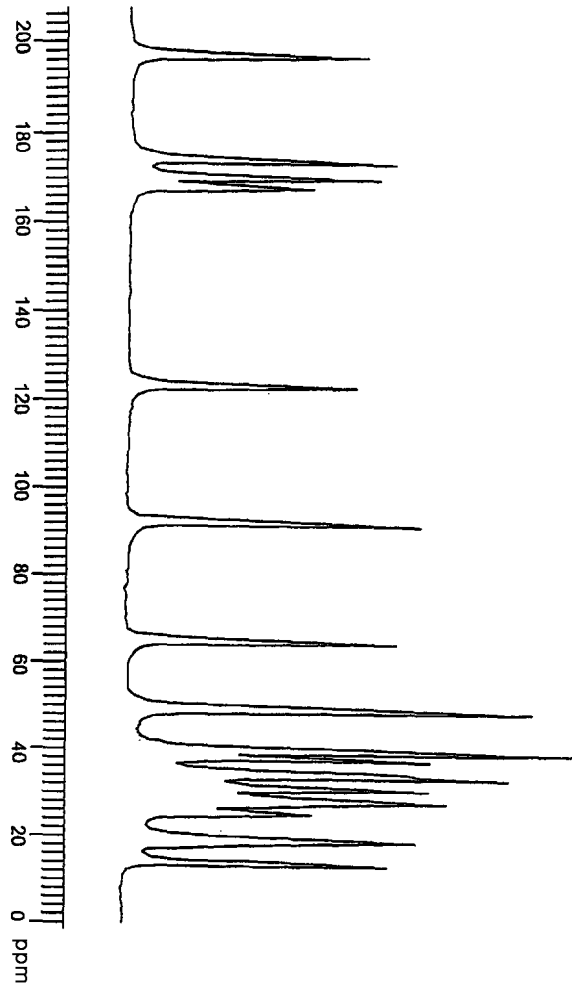
도면51



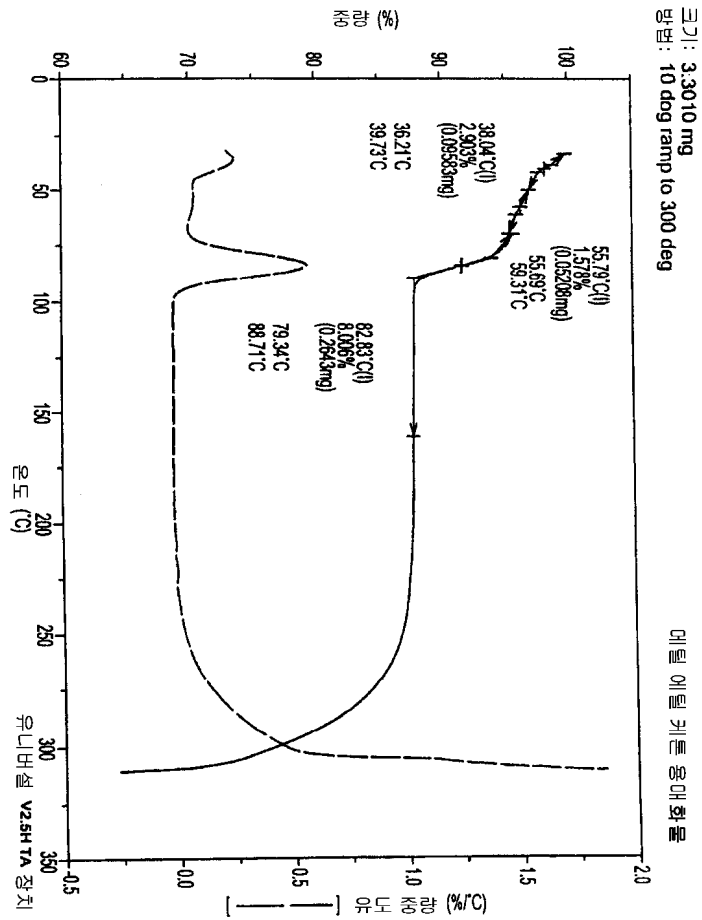
도면52



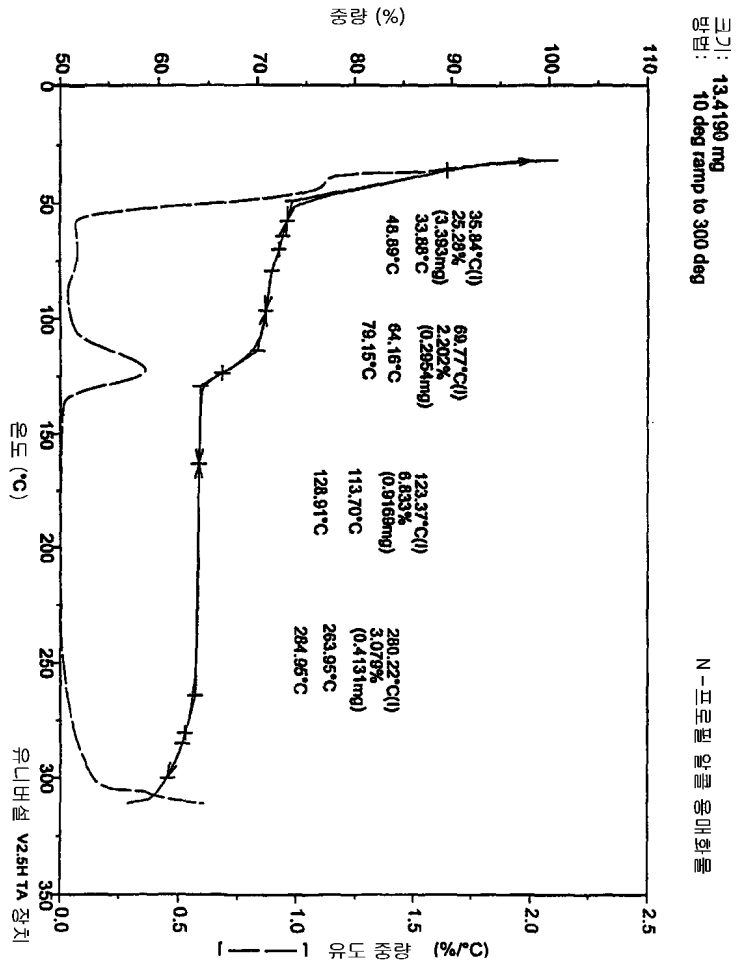
도면53



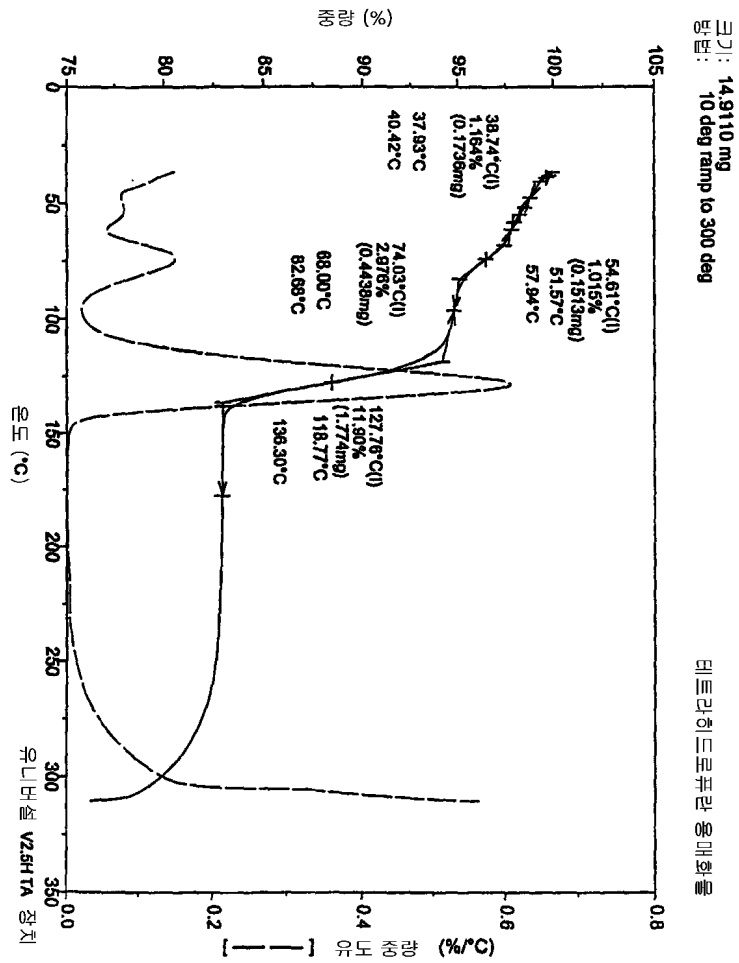
도면54



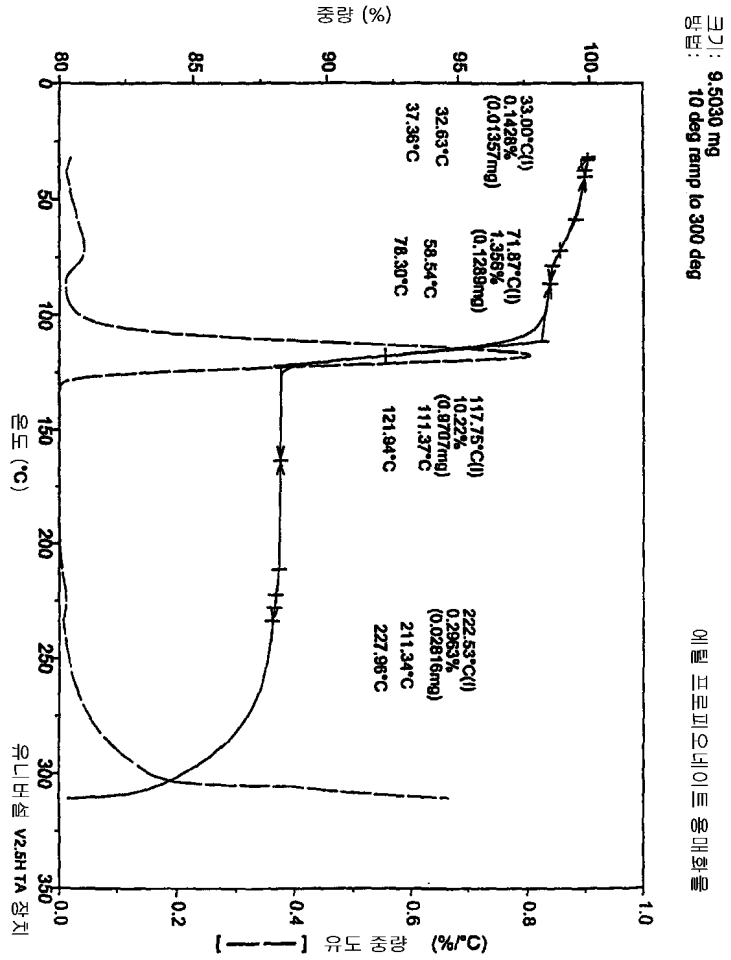
도면55



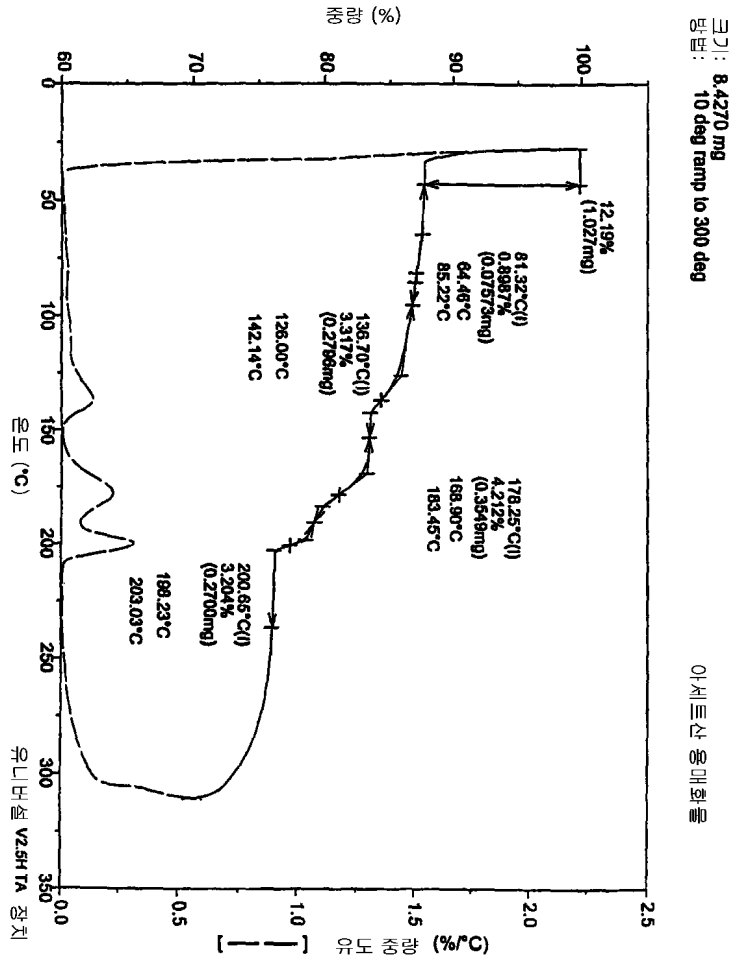
도면56



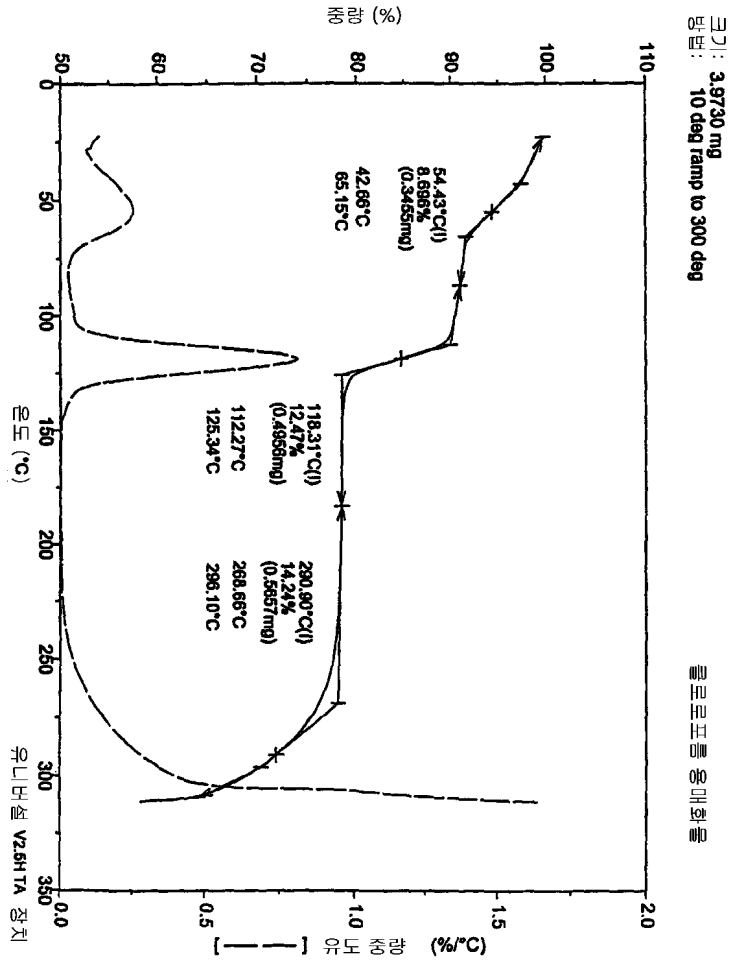
도면57



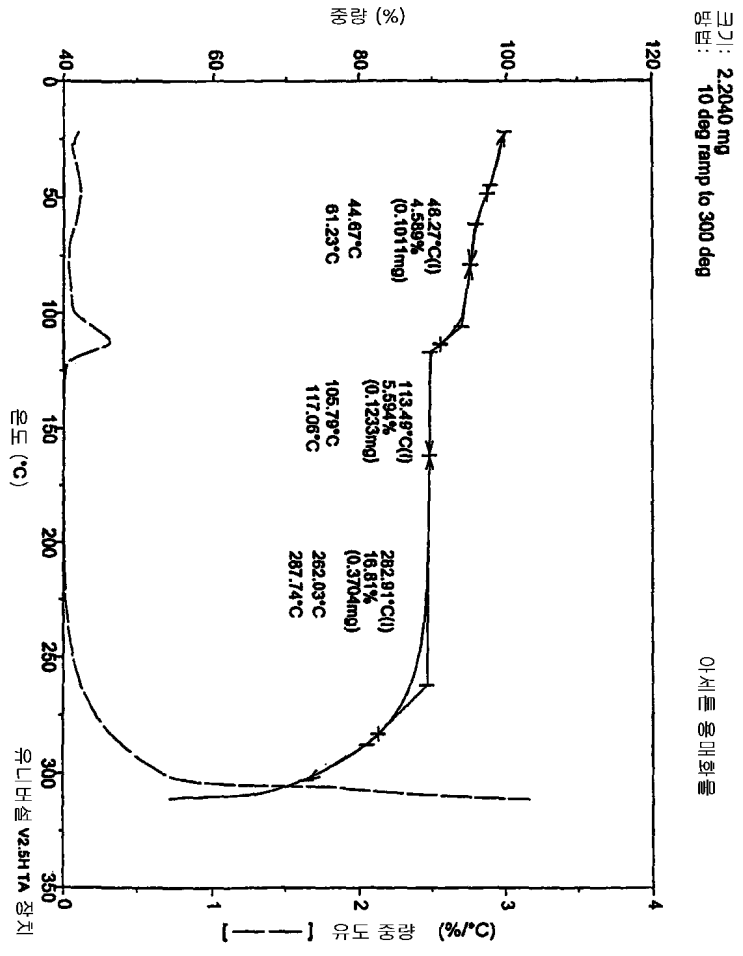
도면58



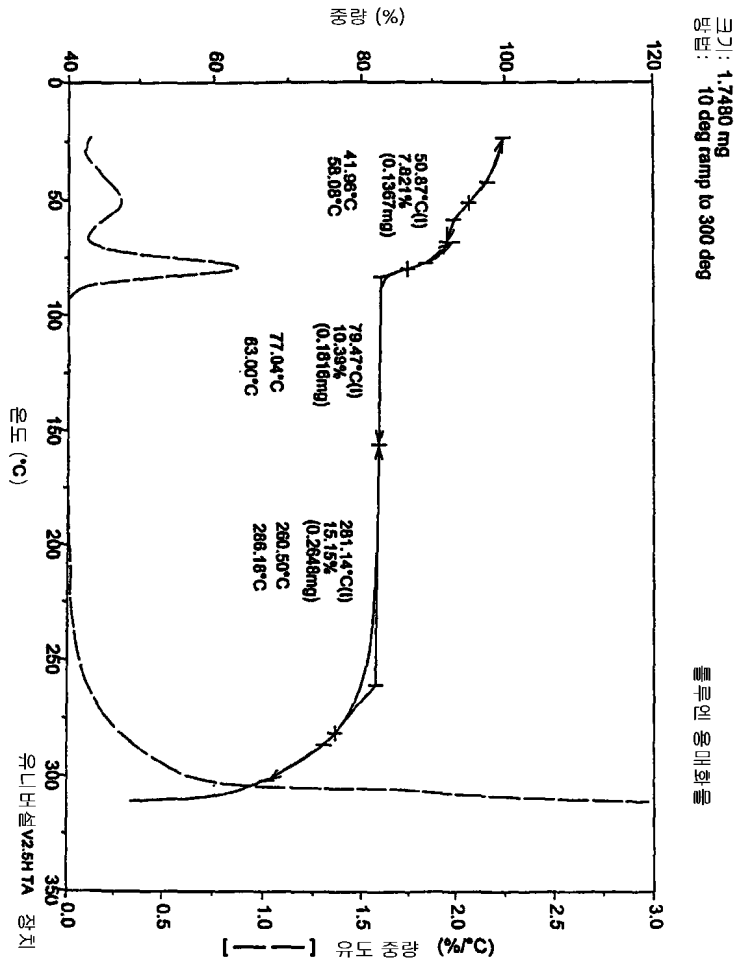
도면59



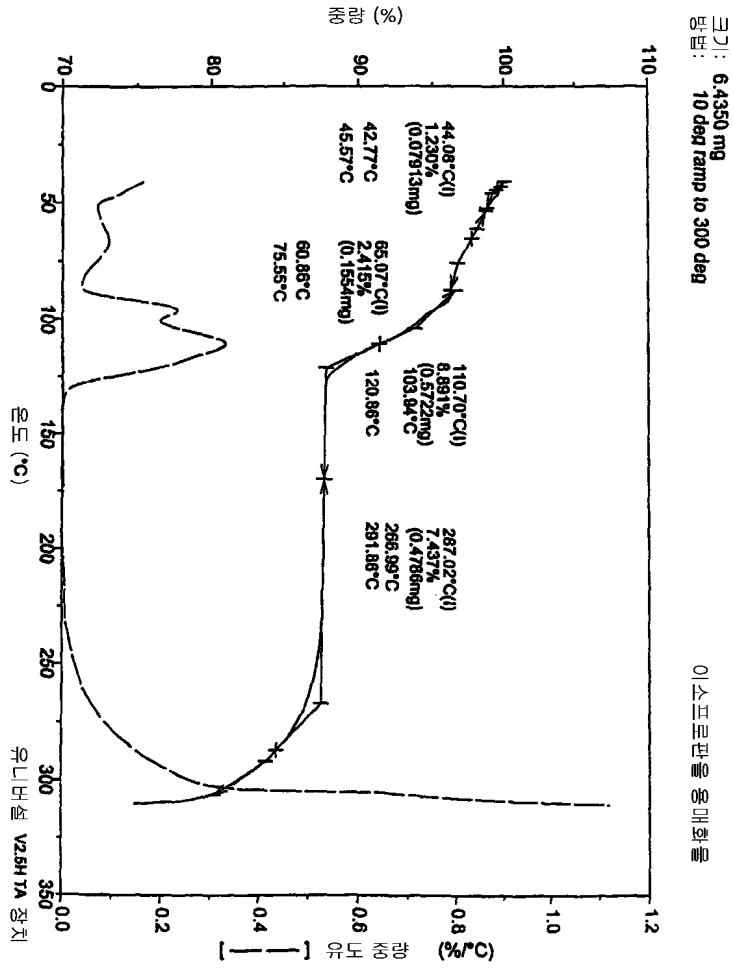
도면60



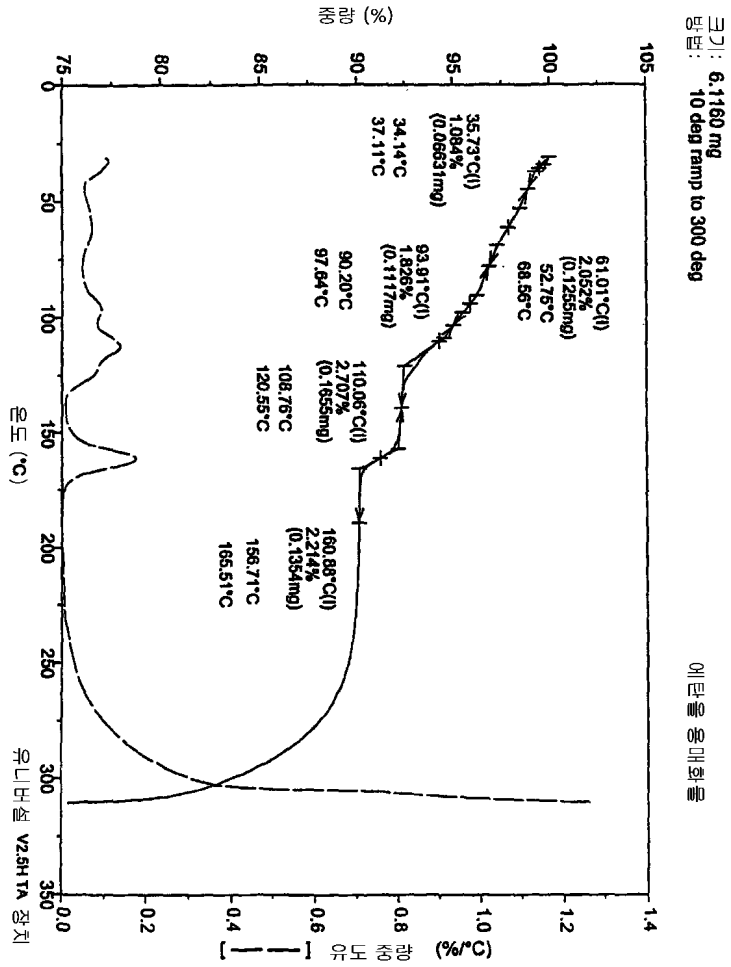
도면61



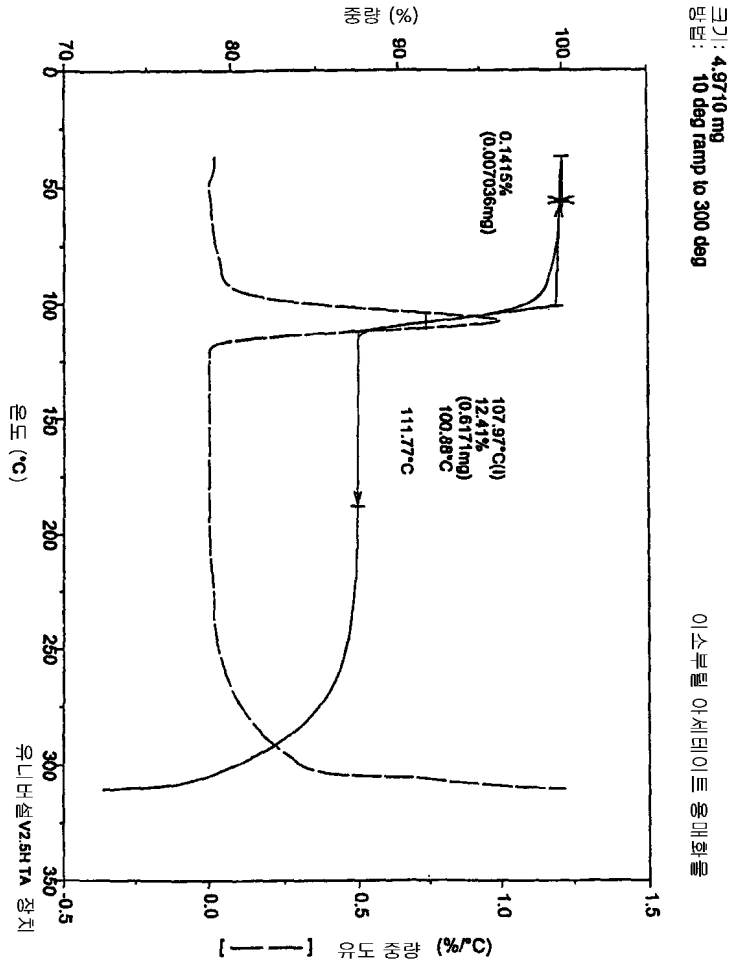
도면62



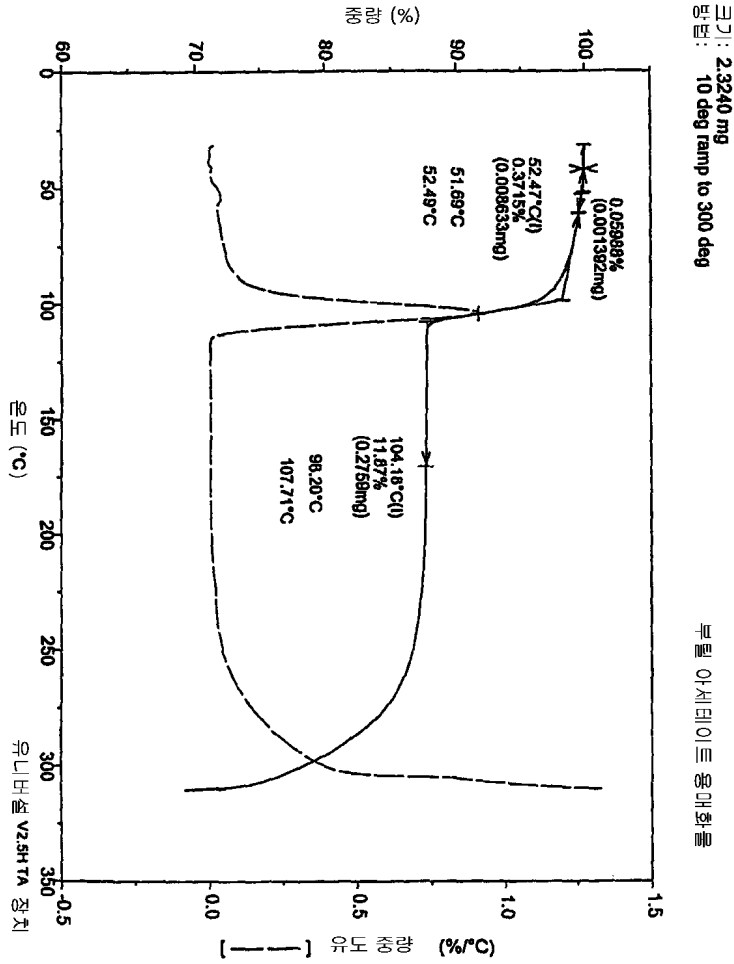
도면63



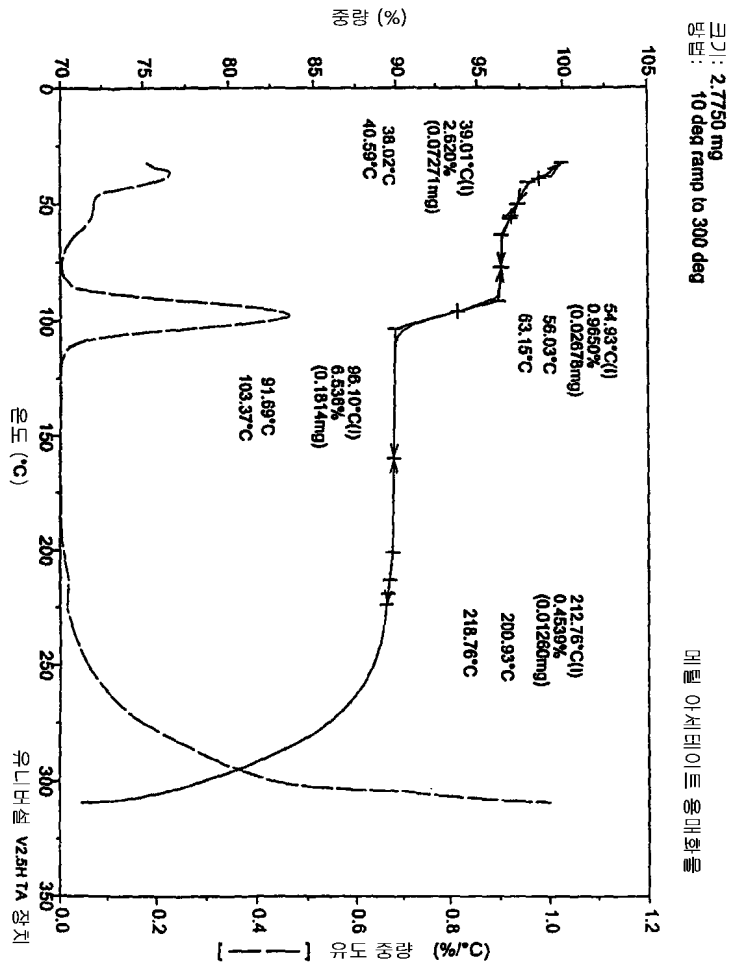
도면64



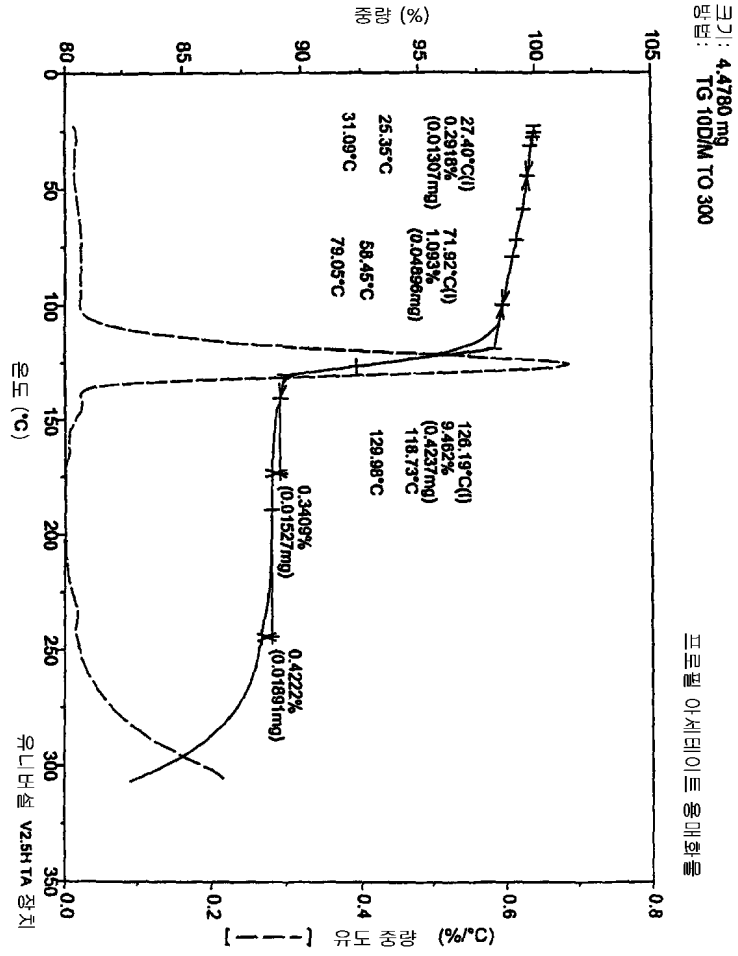
도면65



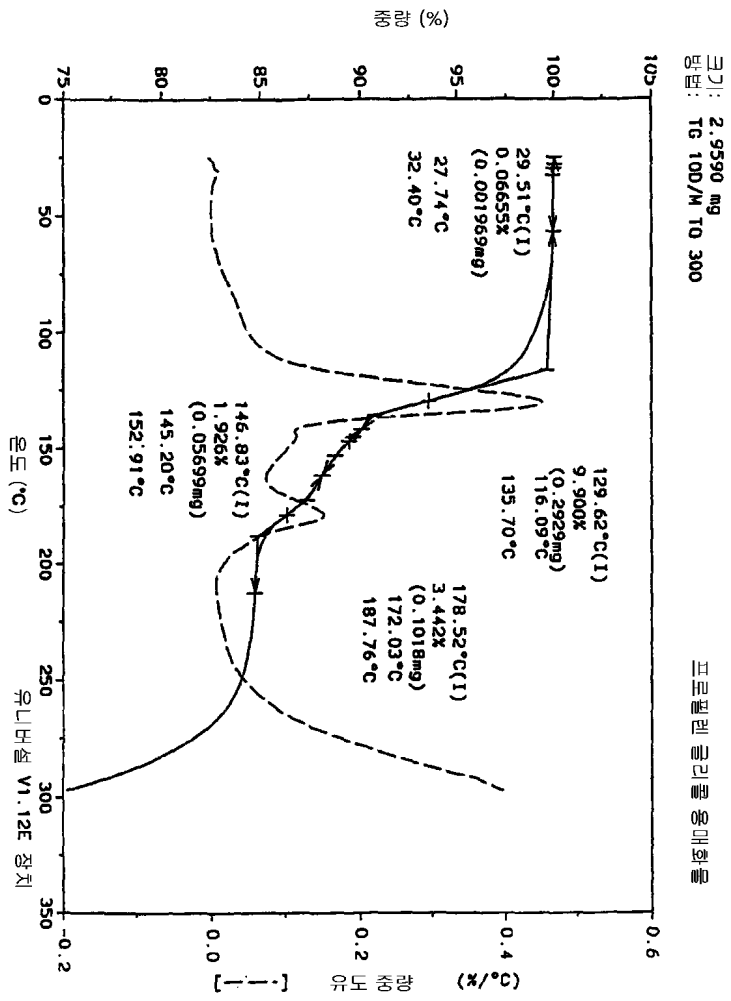
도면66



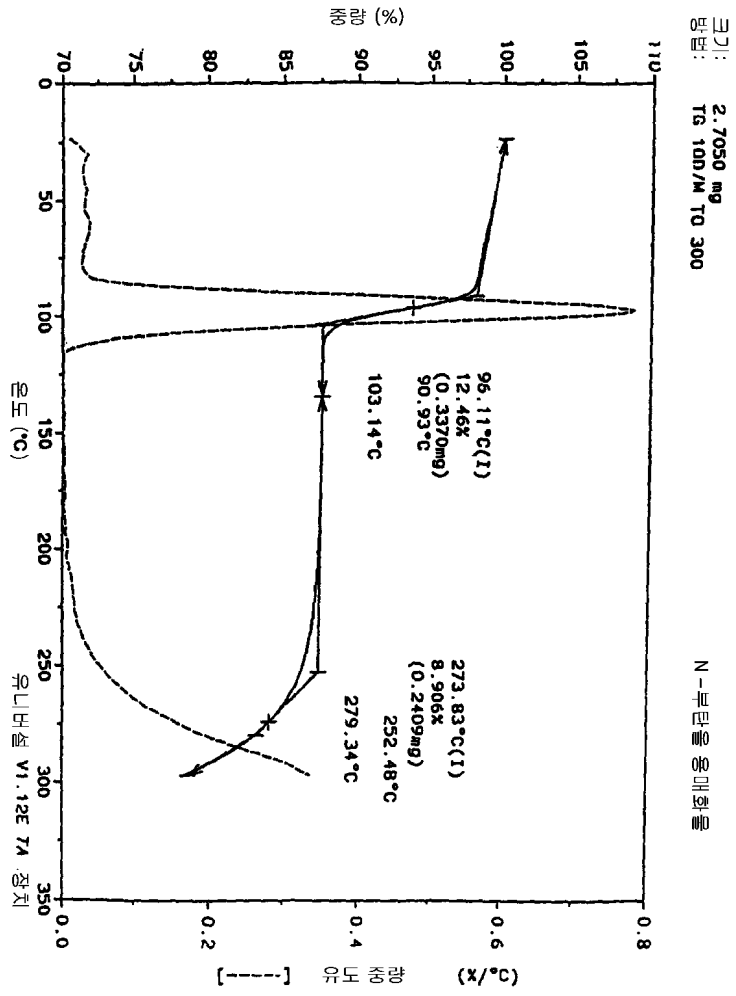
도면67



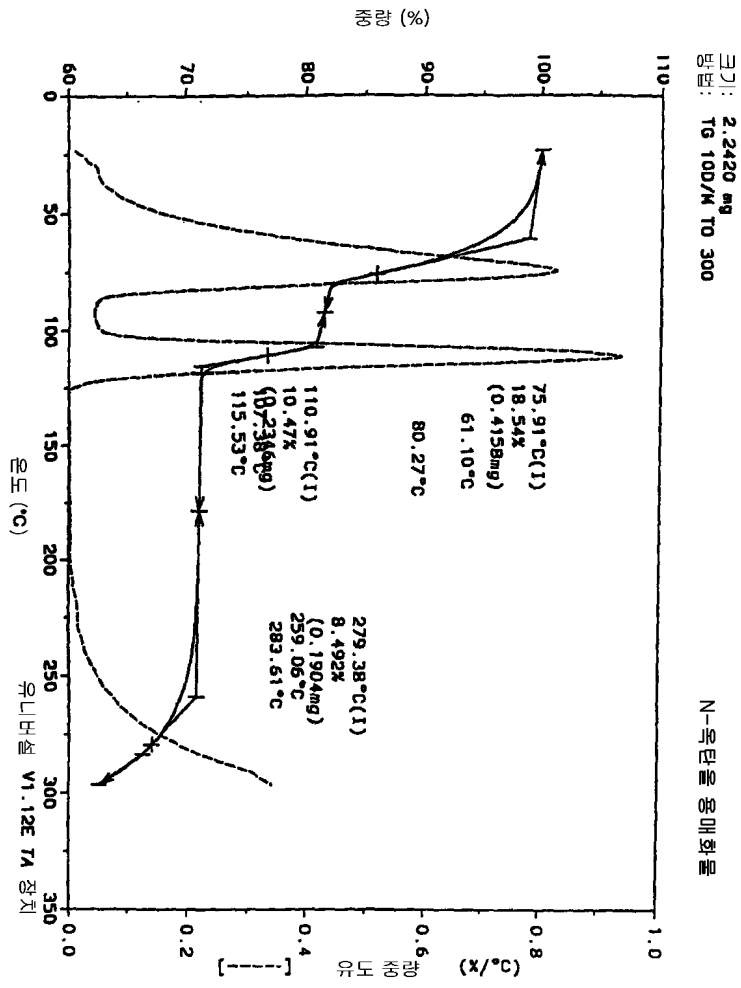
도면68



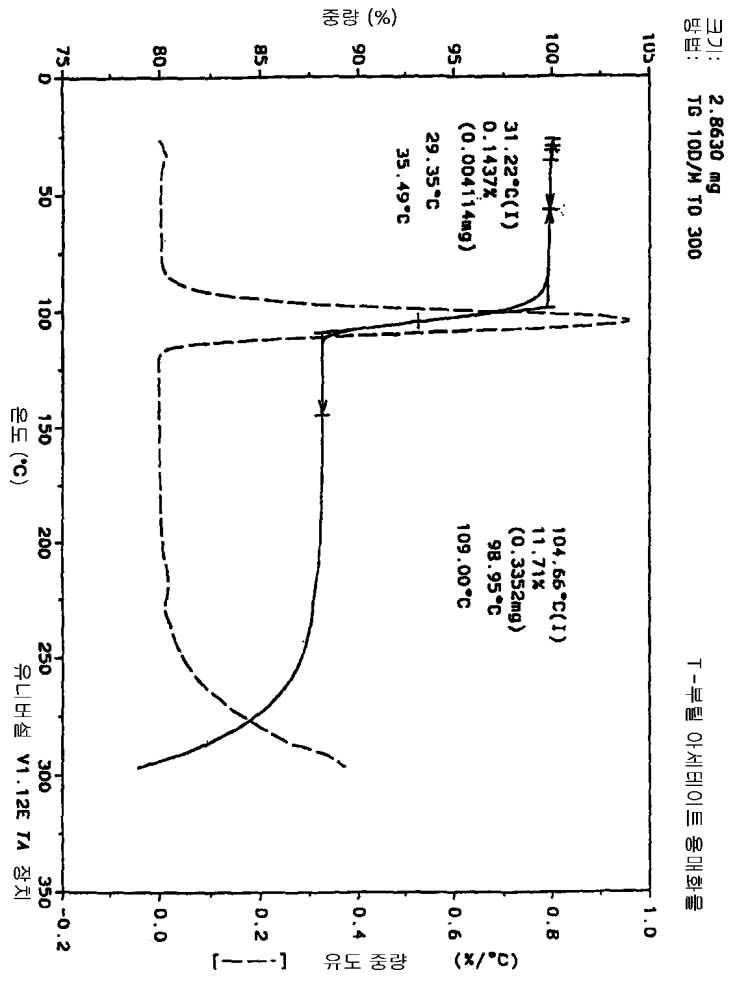
도면69



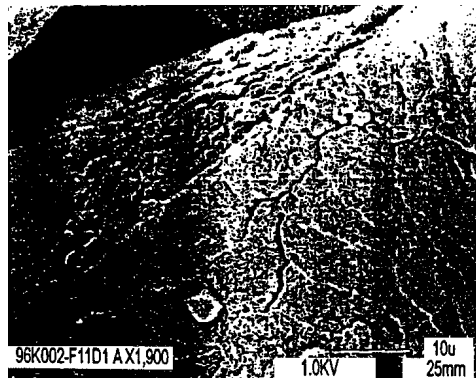
도면70



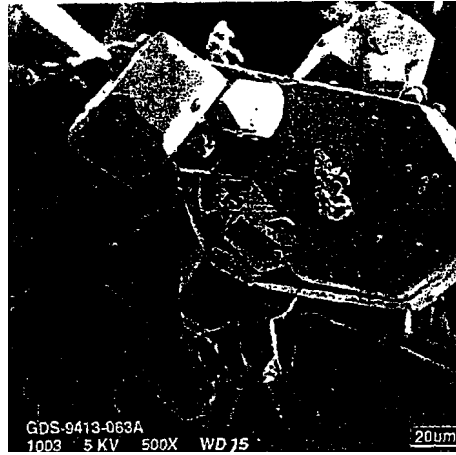
도면71



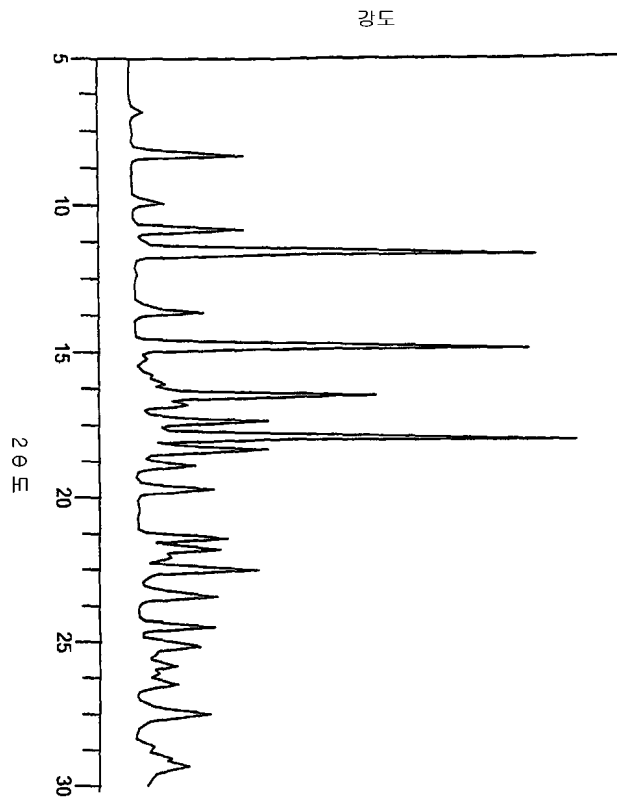
도면72



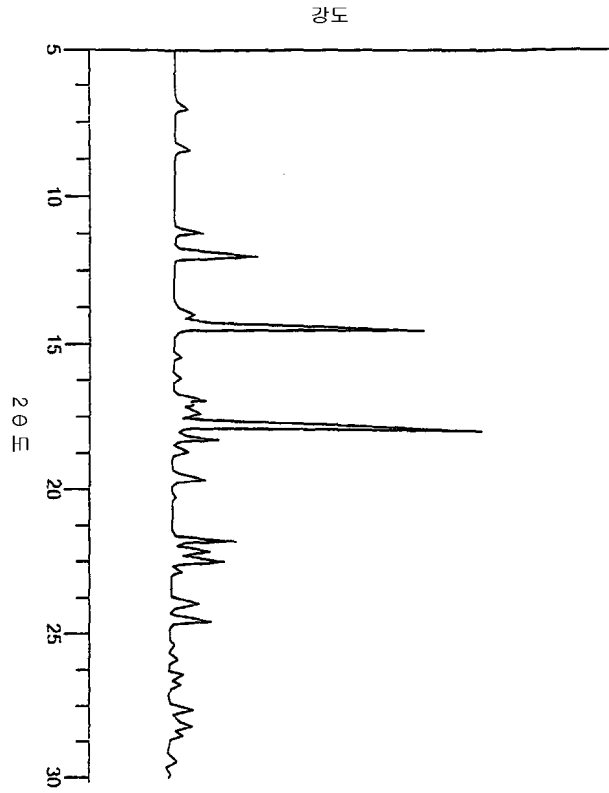
도면73



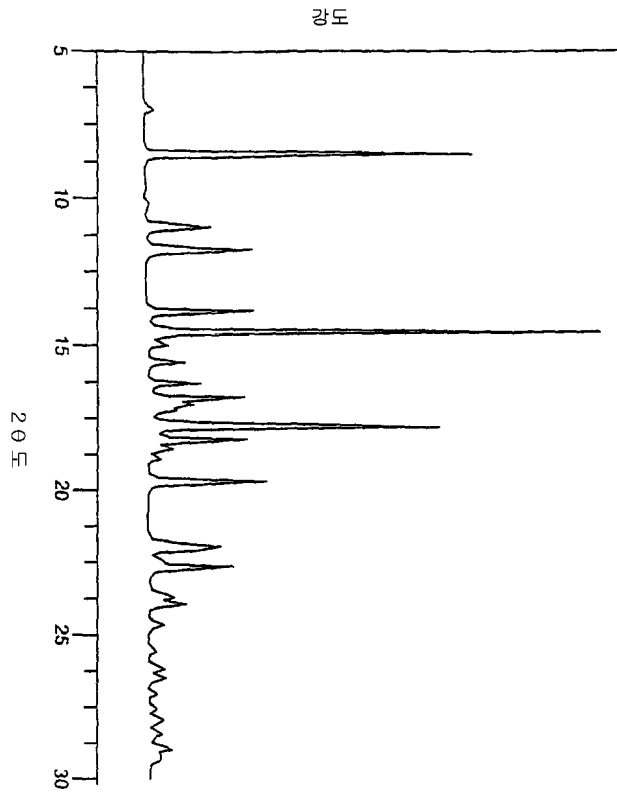
도면74



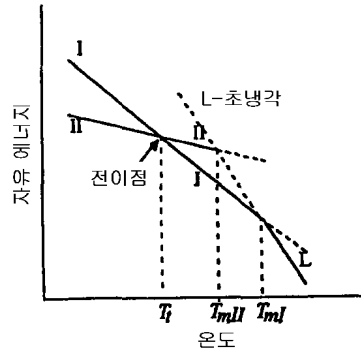
도면75



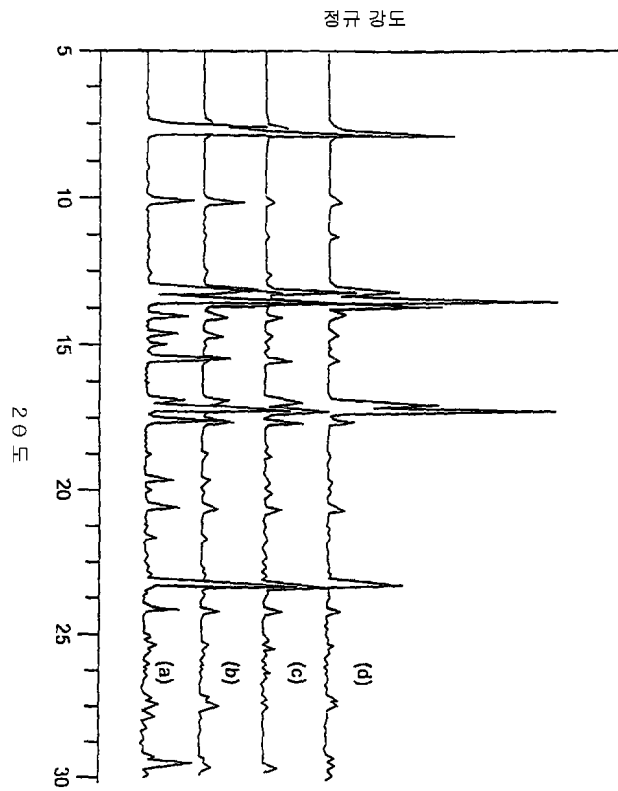
도면76



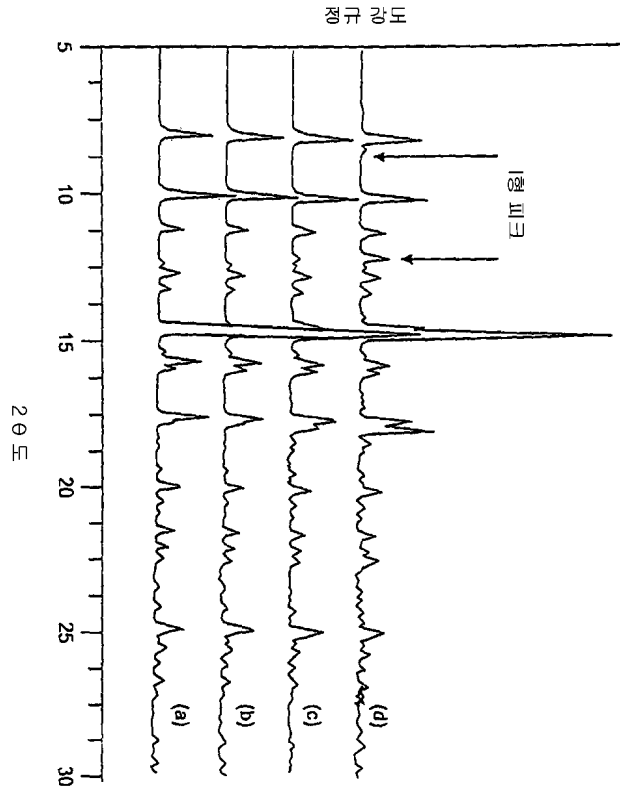
도면77



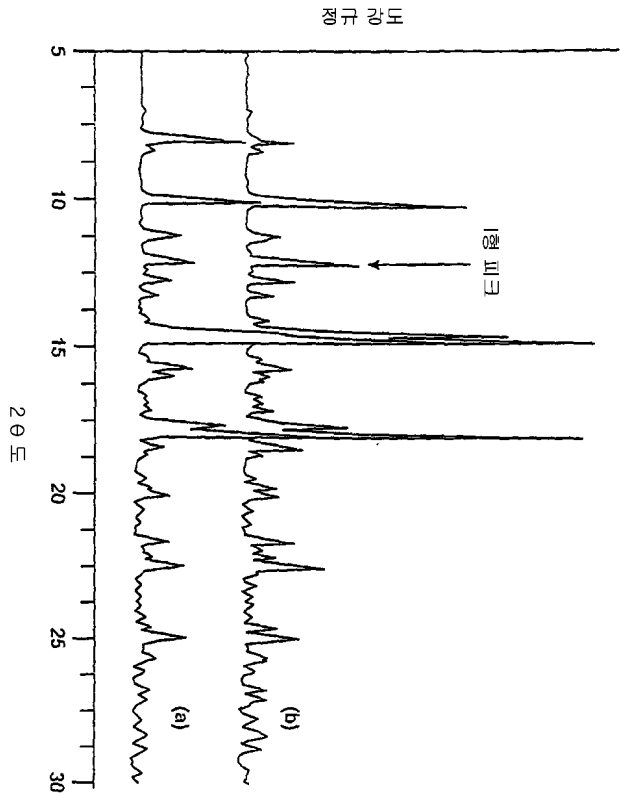
도면78



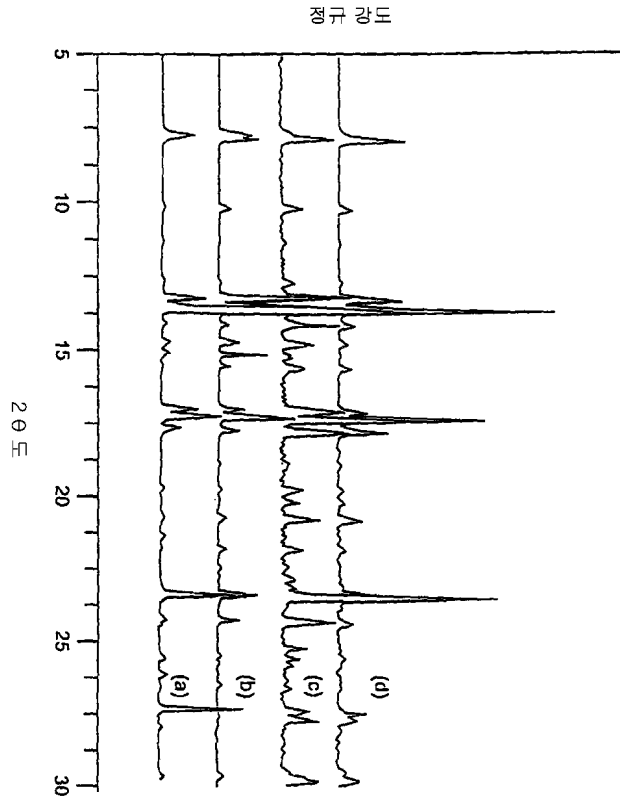
도면79



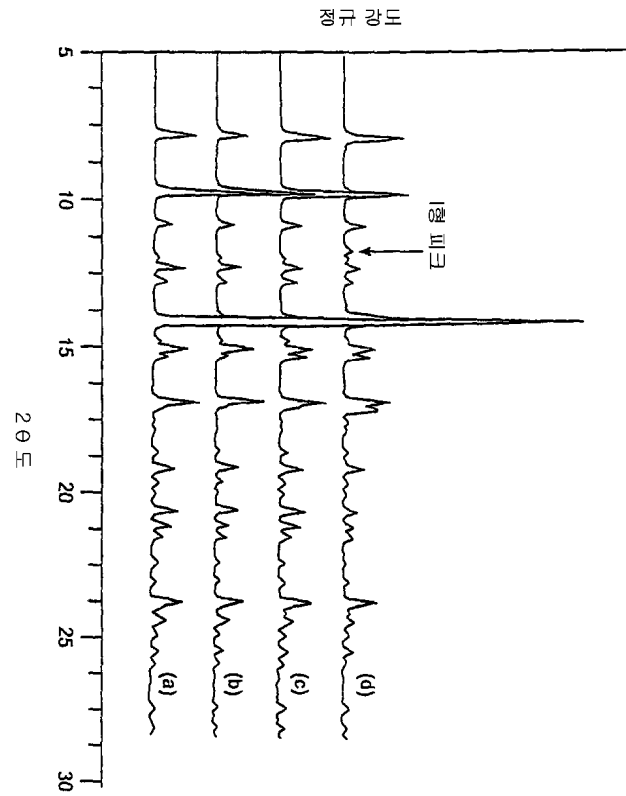
도면80



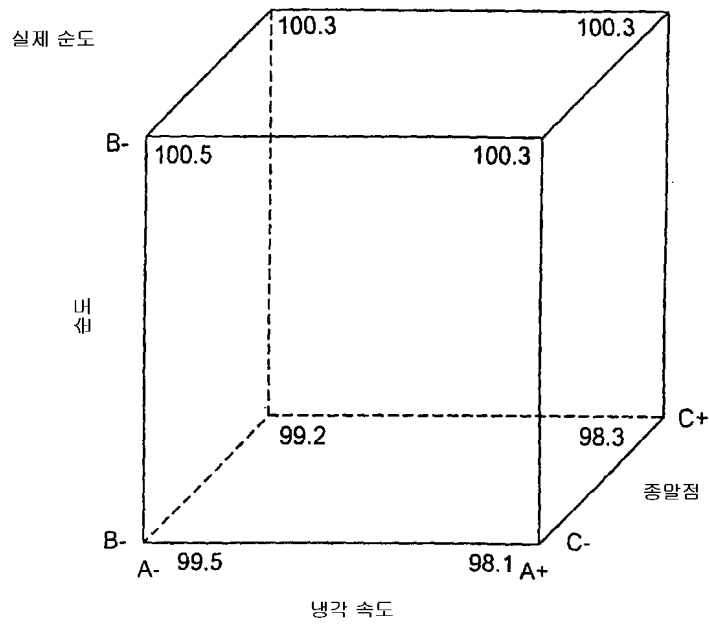
도면81



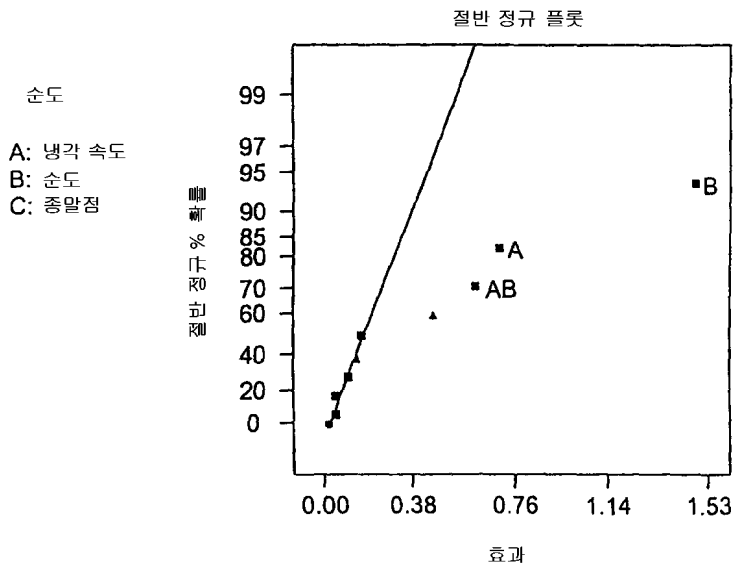
도면82



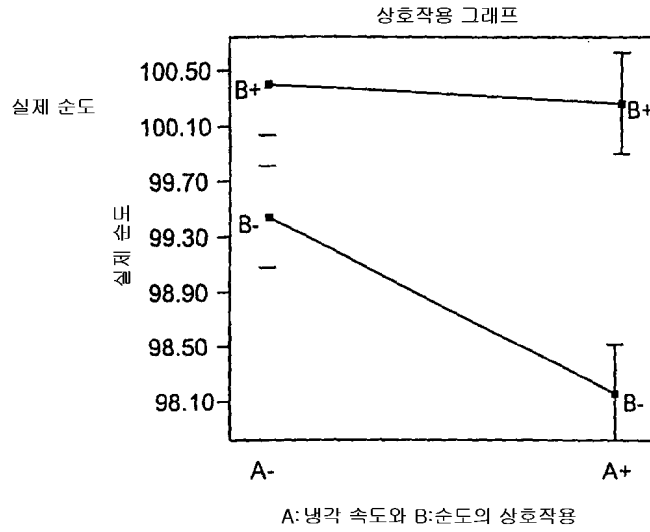
도면83



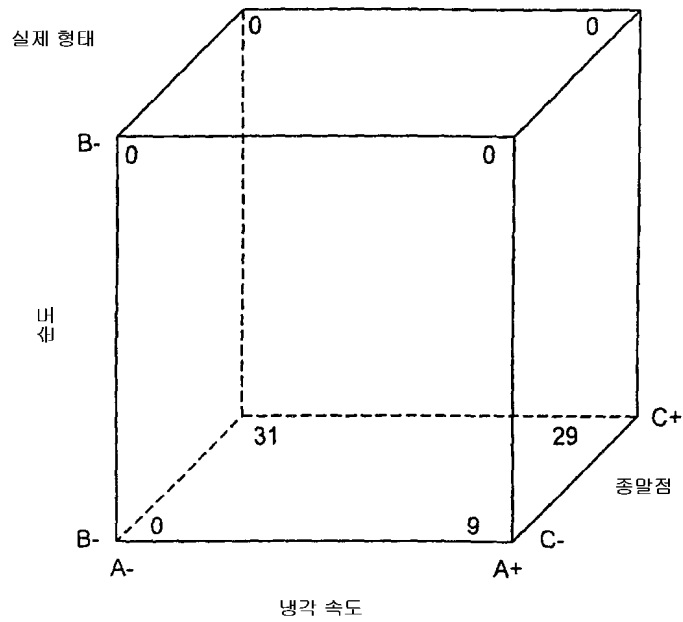
도면84



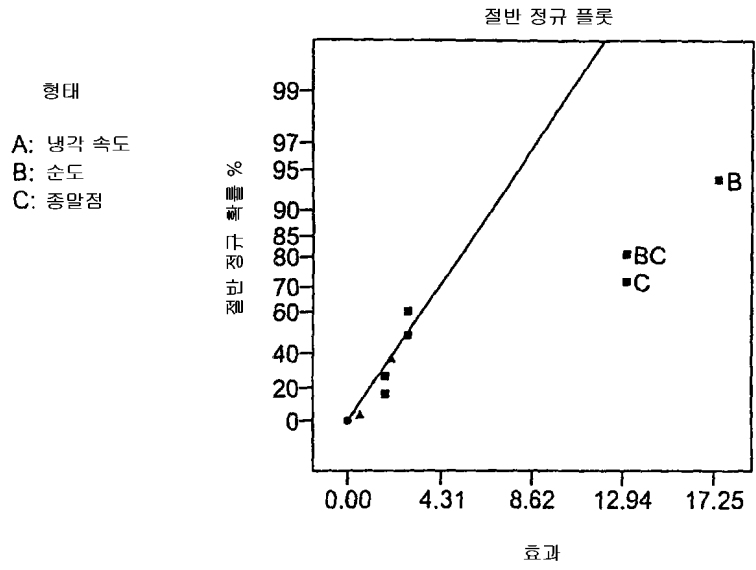
도면85



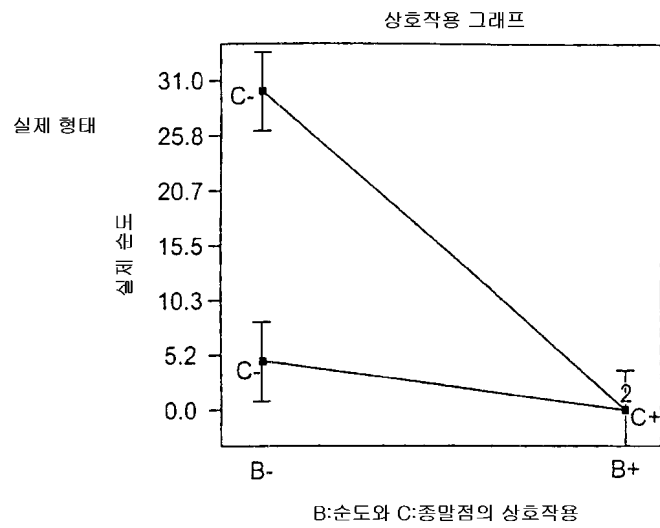
도면86



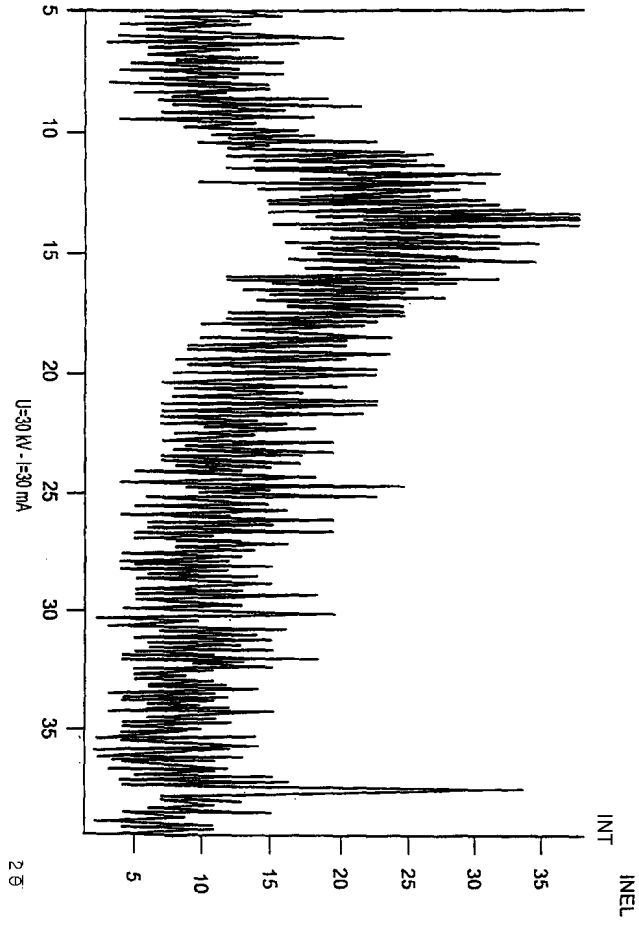
도면87



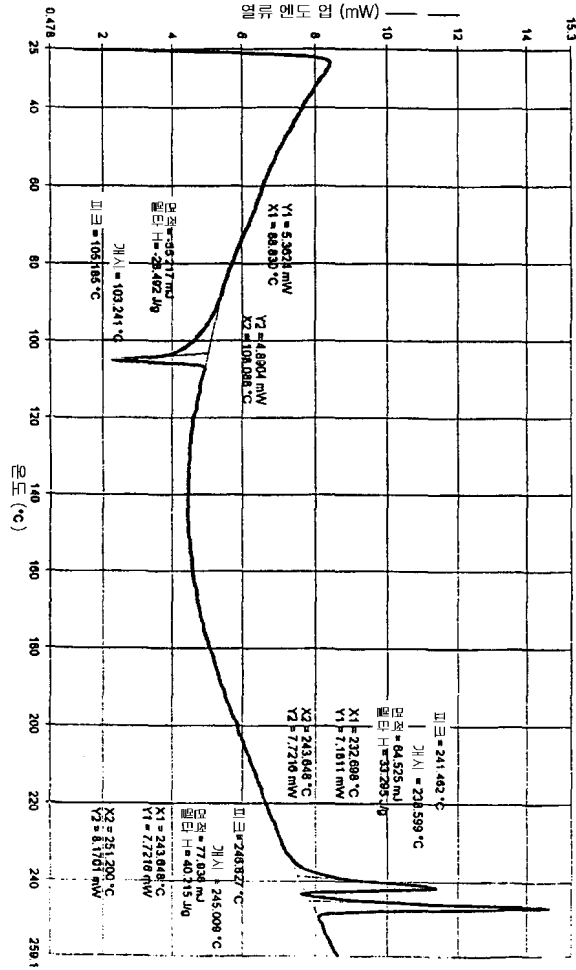
도면88



도면89



도면90



도면91

