(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0155354
(43) 공개일자 2024년10월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07H 15/207 (2006.01) *A61K 31/7034* (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01) *A61P 25/28* (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) *C07H 1/06* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07H 15/207 (2013.01)
A61K 31/7034 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7033920(분할)
(22) 출원일자(국제) 2019년02월01일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2020-7025571
원출원일자(국제) 2019년02월01일
심사청구일자 2021년07월23일
(85) 번역문제출일자 2024년10월11일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/016304
(87) 국제공개번호 WO 2019/156907
국제공개일자 2019년08월15일
(30) 우선권주장
62/627,570 2018년02월07일 미국(US)

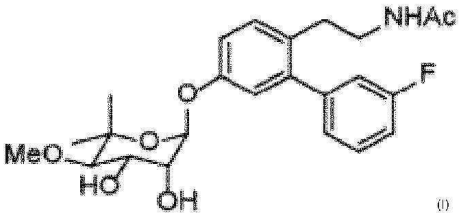
(71) 출원인
리아타 파마슈티컬즈, 아이엔씨.
미국 텍사스 75063-2648 어빙 게이트웨이 드라이브 2801 스위트 150
(72) 발명자
장, 신
미국 75019 텍사스주 코펠 밀 트레일 920
월링, 존, 알렌
미국 76437 텍사스주 시스코 카운티로드 419 8567
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

전체 청구항 수 : 총 3 항

(54) 발명의 명칭 **노보비오신 유사체 및 프롤린의 공-결정 형태**

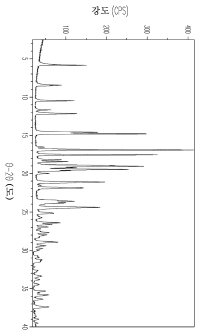
(57) 요 약

N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6 디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 L-프롤린 또는 D-프롤린의 공-결정 형태, 그의 제약 조성물, 제조 방법, 및 당뇨병성 말초 신경병증과 같은 신경퇴행성 장애를 치료하기 위한 사용 방법이 개시된다.



(I)

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 25/02 (2018.01)
A61P 25/28 (2018.01)
A61P 3/10 (2018.01)
C07H 1/06 (2013.01)
(72) 발명자
베빌, 멜라니, 제이.
미국 47906 인디애나주 웨스트 라파예트 플라워마운드 드라이브 5136
시딕, 크리스토퍼, 에스.
미국 47906 인디애나주 웨스트 라파예트 윌러웨이 코트 3350
스미트, 자레드, 피.
미국 47909 인디애나주 라파예트 리걸 밸리 코트 20

명 세 서

청구범위

청구항 1

N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)아세트아미드 및 프롤린의 공-결정.

청구항 2

제1항에 있어서, 프롤린이 L-프롤린인 공-결정.

청구항 3

제1항에 있어서, 프롤린이 D-프롤린인 공-결정.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 우선권 주장

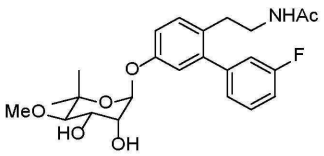
[0002] 본 특허 출원은 2018년 2월 7일에 출원된 미국 출원 일련 번호 62/627,570을 우선권 주장하며, 이 출원은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

배 경 기 술

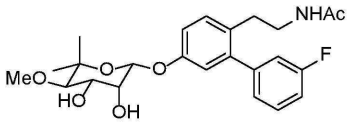
[0003] 대략 2,600만명의 미국인들이 제1형 또는 제2형 당뇨병을 앓고 있다. 정상혈당을 유지하는 것을 돕기 위해 인슐린 및 경구용 혈당 강하제를 사용함에도 불구하고, 이들 개체의 약 60-70%에서 당뇨병성 말초 신경병증 (DPN)이 발병한다. 문헌 (Veves, A.; Backonja, M.; Malik, R. A., *Pain Med.* 9 (2008) 660-674)을 참조한다. 노보비오신 스캐폴드에 기초한 다수의 작은 분자가 열 충격 단백질 90 (Hsp90)을 억제하는 것으로 보고되어 있고, 상당한 신경보호 특성을 갖고 동물 모델에서 DPN의 증상을 역전시키는데 유용한 것으로 보고되어 있다. 문헌 (B. R. Kusuma *et al.*, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 5797-5812); 미국 특허 번호 9,422,320을 참조한다.

[0004] 이러한 유형의 한 노보비오신 유사체 ("노볼로그(novologue)")는 N-(2-(5-(((3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4**)이며, 이것은 높은 뉴런 보호 활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다. Kusuma (2012). 노볼로그 **4**는 또 다른 열 충격 단백질, Hsp70의 존재에 좌우되는 효과를 갖는 것으로 추가로 보고되어 있고, 반면 다른 효과는 Hsp70과 무관하다. 노볼로그 **4** 및 관련 화합물의 작용 메커니즘에서 Hsp70의 정확한 역할은 완벽하게 특성화되지 않았다. J. Ma *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.* 6(9) (2015) 1637-1648.

[0005] 노볼로그 **4**의 합성은 무정형 고체를 생성하는 절차를 따르는 것으로 보고되어 있고, 그의 물리-화학적 특성화는 2-위치에서 입체화학의 결정적인 할당을 생략하여 (Kusuma (2012); 미국 특허 번호 9,422,320), 원칙적으로 하기 나타낸 바와 같은 2개의 가능한 아노머 **4a** 및 **4b**의 존재를 허용한다:



4a



4b

[0006]

[0007] **4** (또한 KU-596으로도 공지됨)의 공개된 합성은, 95.6%의 HPLC 순도를 나타내지만, 노비오스 2-위치만 입체화학의 결정적인 할당이 없다는 사실에 의해 입증된 바와 같이, 무정형 고체의 아노머 순도를 나타내지 않는다. (Kusuma (2012).

발명의 내용

[0008] **요약**

[0009] 본 개시내용은 노볼로그 **4a** 및 L-프롤린 또는 D-프롤린의 공-결정 형태가 높은 수율, 순도, 및 아노머 순도로 실현된다는 놀라운 발견을 전제로 한다. 본 발명의 형태는 또한 공지된 무정형 형태 **4**에 비해, 생체이용률에서 상당한 향상을 보여준다.

[0010] 따라서, 개시내용의 한 실시양태는 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 L-프롤린 (1:2)의 공-결정이다. 공-결정은 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 14.76, 16.86, 19.00, 및 21.05° 2Θ ±0.20° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 이 공-결정은 본원에서 "형태 B"로 지칭된다.

[0011] 또 다른 실시양태는 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 L-프롤린 (1:2)의 공-결정이다. 공-결정은 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 9.20, 16.19, 18.45, 및 24.51° 2Θ ± 0.2° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 이 공-결정은 본원에서 "형태 D"로 지칭된다.

[0012] 추가로, 한 실시양태는 아세톤 용매화물 (1:1:1)로서 존재하는 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 L-프롤린의 공-결정이다. 이 공-결정은 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 14.64, 17.53, 18.91, 및 21.33° 2Θ ±0.20° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 이 공-결정은 본원에서 "형태 C"로 지칭된다.

[0013] 추가 실시양태에서, 본 개시내용은 각각 약 1:1.2:0.6:0.1의 몰비로 메틸 에틸 케톤 및 피라진의 용매화물로서의 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 L-프롤린의 공-결정으로 도출된다. 공-결정은 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 10.42, 14.62, 19.28, 및 21.14° 2Θ ±0.20° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 이 공-결정은 본원에서 "형태 G"로 지칭된다.

[0014] 개시내용은 또한 1.5405929 Å의 파장에서 Cu-$K_{\alpha 1}$ 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 11.77, 14.52, 19.54, 및 21.23° 2Θ ±0.20° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 하는, N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 D-프롤린 (1:1)의 공-결정을 제공한다.

[0015] 개시내용은 추가로 1.5405929 Å의 파장에서 Cu-$K_{\alpha 1}$ 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 8.52, 16.33, 19.50, 및 21.22° 2Θ ±0.20° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 하는, N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 및 L-프롤린 (1:1)의 공-결정을 제공한다.

[0016] 또 다른 실시양태에 따르면, 개시내용은 본원에 기재된 공-결정 형태 중 임의의 하나를 포함하는 제약 조성물로 도출된다. 조성물은 제약상 허용되는 고체 담체를 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 하나 이상의 추가의 공-결정 형태를 추가로 포함한다.

[0017] 개시내용의 또 다른 실시양태는 대상체에서 열 충격 단백질 90 (Hsp90)을 억제하는 방법이다. 방법은 대상체에게 치료 유효량의 본원에 기재된 공-결정을 투여하는 것을 포함한다.

[0018] 개시내용은 또한 신경퇴행성 장애를 앓고 있는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료 또는 예방하는 방법으로 구현된다. 방법은 대상체에게 치료 유효량의 본원에 기재된 공-결정을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 신경퇴행성 장애는 당뇨병성 말초 신경병증 (DPN)이다.

[0019] 대안적으로, 다른 실시양태에 따르면, 개시내용은 제1형 또는 제2형 당뇨병을 앓고 있는 대상체에서 당뇨병성 말초 신경병증이 발병할 가능성을 예방 또는 감소시키는 방법을 제공한다. 방법은 대상체에게 치료 유효량의 본원에 기재된 공-결정을 투여하는 것을 포함한다.

[0020] 또 다른 실시양태에 따르면, 개시내용은 형태 B 공-결정을 제조하는 방법을 제공한다. 방법은 C_{1-6}-알킬 알콜에서 약 1:1 내지 약 1:2 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린의 조합을 제1 온도로 가열하여 용액을 수득하는 단계를 포함한다. 이어서 용액을 약 30℃ 이하의 제2 온도로 냉각시켜 공-결정의 슬러리를 수득하고, 이어서 슬러리를 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 제2 온도에서 교반한다.

[0021] 또 다른 실시양태는 형태 D 공-결정을 제조하는 방법이다. 방법은 EtOH 또는 아세토니트릴에서 약 1:1 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린의 조합을 제1 온도로 가열하고, 이어서 용액을 약 30℃ 이하의 제2 온도로 냉각시켜 공-결정의 현탁액을 수득하는 것을 포함한다. 이어서 현탁액을 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 제2 온도에서 교반한다.

[0022] 개시내용은 형태 C 공-결정을 제조하기 위해 도출된 또 다른 방법으로 구현된다. 방법은 (a) EtOH에서 등몰 양의 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린을 임의적으로 환류시켜 용액을 수득하고, 약 30℃ 이하의 온도로 용액을 냉각시켜 고체 생성물을 수득하는 것을 포함한다. 이어서 단계 (a)의 생성물, 또는 그 밖에 약 1:1 몰비의 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린의 조합을 아세톤에서 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 약 30 ℃ 이하의 온도에서 교반하여 공-결정을 수득한다.

[0023] 또 다른 실시양태에 따르면, 개시내용은 형태 G 공-결정을 제조하는 방법을 제공한다. 방법은 메틸 에틸 케톤 (MEK) 및 MeOH의 혼합 용매에서, 각각 약 1:1:20의 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**), L-프롤린, 및 피라진을 조합하여 용액을 수득하고, 이어서 용액을 교반하여 공-결정을 수득하는 것을 포함한다.

[0024] 개시내용은 추가로 C_{1-6}-알킬 알콜에서 약 1:1 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 D-프롤린의 조합을 제1 온도로 가열하여 용액을 수득하고; 용액을 약 30 ℃ 이하의 제2 온도로 냉각시켜 공-결정의 현탁액을 수득하는 것을 포함하는, 본원에 기재된 바와 같은 **4a**/D-프롤린의 공-결정을 제조하는 방법을 제공한다.

[0025] 추가적인 실시양태에서, 개시내용은 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 N-(2-(5-(((2S,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4b**)를 포함하는 조성물에서 **4b**에 비해 **4a**의 농도를 증가시키는 방법을 제공한다. 방법은 조성물을 용매에서 프롤린과 접촉시키고, 조성물, 프롤린, 및 용매에 결정화 조건을 적용하고 이에 의해 **4a** 및 프롤린의 공-결정이 생성되는 것을 포함한다. 벌크 공-결정은 **4a** 및 **4b**를 포함하는 조성물에서 보다 높은 **4a**의 농도를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 형태 B의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 나타낸다.

도 2는 형태 B의 시차 주사 열량측정법 (DSC) 곡선이다.

도 3은 형태 B의 열 중량 분석 (TGA) 곡선이다.

도 4는 형태 B의 동적 증기 수착 (DVS) 곡선이다.

도 5는 형태 B의 적외선 (IR) 스펙트럼이다.

도 6은 형태 B의 라만(Raman) 스펙트럼이다.

도 7은 단결정 X-선 결정학에 의해 결정된 형태 B의 원자 변위 타원체 도면이다.

도 8은 단결정 구조 결정에 기초한 형태 B의 계산된 XRPD 패턴이다.

도 9는 형태 B의 계산된 XRPD 패턴 (하부 기록)을 형태 B의 실험 XRPD 패턴 (상부 기록)과 비교한 것을 나타낸다.

도 10은 형태 C의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 나타낸다.

도 11은 형태 C의 열 중량 분석 (TGA) 곡선이다.

도 12는 단결정 X-선 결정학에 의해 결정된 형태 C의 원자 변위 타원체 도면이다.

도 13은 단결정 구조 결정에 기초한 형태 C의 계산된 XRPD 패턴이다.

도 14는 형태 D의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 나타낸다.

도 15는 형태 D의 DSC (하부 기록) 및 TGA (상부 기록) 곡선을 보여준다.

도 16은 형태 D의 동적 증기 수착 (DVS) 곡선이다.

도 17은 형태 G의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 나타낸다.

도 18은 **4a**/D-프롤린 공-결정의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 나타낸다.

도 19는 **4a**/D-프롤린 공-결정의 DSC (하부 기록) 및 TGA (상부 기록) 곡선을 보여준다.

도 20은 **4a**/D-프롤린 공-결정의 동적 증기 수착 (DVS) 곡선이다.

도 21은 물질 A (●) 및 무정형 **4a** (○)의 1회 경구 용량의 투여 이후의 마우스에서의 **4a**의 평균 혈장 농도를 보여준다.

도 22는 경구 위관영양법(gavage)에 의한 물질 A (●) 및 무정형 **4a** (○), 및 느슨하게-충전된 캡슐로의 물질 A (▼) 및 무정형 **4a** (△)의 1회 경구 용량의 투여 이후의 원숭이에서의 **4a**의 평균 혈장 농도를 보여준다.

도 23은 **4a**/L-프롤린 공-결정 물질 A의 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴을 나타낸다.

도 24는 **4a**/L-프롤린 공-결정 물질 A의 DSC (하부 기록) 및 TGA (상부 기록) 곡선을 보여준다.

도 25는 **4a**/L-프롤린 공-결정 물질 A의 동적 증기 수착 (DVS) 곡선이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] **상세한 설명**

[0028] **정의**

[0029] 개시내용 전반에 걸쳐 사용된 바와 같은 약어, 두문자어, 및 용어는 다음과 같은 의미를 갖는다.

NMR	핵 자기 공명 분광법
OM	광학 현미경검사
XRPD	X-선 분말 회절
CP	충돌 침전
FE	빠른 증발
RC	반응 결정화
SC	느린 냉각
SE	느린 증발
amt	양
API	활성 제약 성분
B/E	복굴절 및 흡광
eq	당량
min.	분(들)
mol.	몰
Obs	관측
ppt	침전하다 또는 침전
ref.	냉장고
RT	실온
Soln/soln	용액
vac	진공
ACN	아세토니트릴
2-BuOH	2-부탄올
EtOH	에탄올
EtOAc	에틸 아세테이트
IPA 또는 2-PrOH	이소프로필 알콜, 2-프로판올
IPE	이소프로필 에테르
MEK	메틸 에틸 케톤
MeOH	메탄올
MTBE or TBME	메틸-*tert*-부틸 에테르
THF	테트라히드로푸란
TMP	2,3,5,6-테트라메틸-피라진
w/w	중량/중량. **4a**/프롤린 공-결정에서의 **4a**의 중량 백분율은 프롤린 함량을 제외하고 계산됨, 즉 w/w = (**4a** 중량)/(공-결정에서의 모든 비-프롤린 종의 중량).

[0030]

[0031] **도입**

[0032] 상기 요약된 바와 같이, 노볼로그 **4**의 연구는 Hsp90의 Hsp70-독립적 억제에 있어서 화합물의 탁월한 효능을 강조하였다 (Kusuma (2012) 및 Ma (2015)). 연구에서는 α-아노머 **4a** 및 β-아노머 **4b**의 혼합물을 초래하는 그의 경향 및 낮은 전체 수율을 포함하여, 화합물의 합성에 대한 잠재적인 단점을 밝혀냈다. 추가적으로, **4**의 보고된 칼럼 크로마토그래피 정제 방법은 소규모 연구에 적합하고, 심지어 그 때 화합물은 약 95% 순수 (HPLC)하였지만, 상기 방법은 약물 개발을 위해 많은 그리고 제약상 순수한 양의 α-아노머 **4a**를 생성하는데 비실용적이다.

[0033] 따라서 본 발명자들은 **4a**를 단리시키기 위해 다양한 결정화 전략을 수행하였다. 그러나, 발명자들은 결정화에 의해 **4a**가 **4b**로부터 분리될 수 있는 조건을 발견하지 못했다.

[0034] 발명자들은 무정형 **4a**에 28개 공-형성제로 구성된 공-결정 스크린을 적용하였고, 놀랍게도 L-프롤린 및 D-프롤린이 α-아노머 **4a**로 선택적으로 공-결정화된다는 것을 발견하였다. 발명자들은 또한 L-프롤린 및 D-프롤린이 결정적인 특성화가 가능한 임의의 결정질 물질을 산출하는 유일한 시험된 공-형성제인 것을 발견하였다 (실시예

3 참조).

[0035] **공-결정 형태**

[0036] 화합물 **4**를 공-형성제 L-프롤린 또는 D-프롤린과 접촉시키는 것은 놀랍게도 **4a**와 어느 하나의 공-형성제와의 선택적 공-결정화를 초래한다 (실시예 2 및 10 참조). 이러한 방식으로, 공-결정화는 예를 들어, HPLC에 의해 결정된 바와 같이, **4b**에 비해 **4a**가 매우 풍부한 **4**의 양을 달성한다. 따라서, 한 실시양태에서, **4a**와 L-프롤린과의 선택적 공-결정화는 β-아노머의 농도를 감소시키고 이는 미량 불순물의 제거를 용이하게 한다. 결과적으로, **4a**/L-프롤린 공-결정의 형성은 **4a**의 순도 (HPLC)를 약 90%에서 적어도 95%, 96%, 97% 또는 98%로 향상시킨다. **4a**/L-프롤린 공-결정의 후속 재결정화는 **4a**의 순도를 적어도 97%, 98%, 또는 99%로 더욱 향상시킨다.

[0037] 유사하게, 다른 실시양태에서, 예컨대 약 등몰 양의 **4a**/**4b** 및 D-프롤린을 사용한, **4a** 및 **4b**의 출발 조성물과 D-프롤린과의 공-결정화는, **4a**/D-프롤린 공-결정을 생성하며, 여기서 출발 조성물에서 **4a**의 농도에 비해 **4a**의 순도 (즉, 농도)는 HPLC에 의해 결정된 바와 같이 적어도 15%, 10%, 5%, 또는 3%만큼 향상된다. 따라서, 예를 들어, **4a**/**4b**의 출발 조성물은 약 93%의 농도로 **4a**를 함유하고, D-프롤린과의 공-결정화 이후에 생성된 공-결정은 약 98%의 농도로 **4a**를 함유한다. 일부 실시양태에서, **4a**/D-프롤린 공-결정은 적어도 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 또는 99%의 최종 순도로 **4a**를 함유한다.

[0038] 다른 실시양태에서, 다량의 α-아노머 **4a**는 이를 D-프롤린과, 예컨대 등몰 양으로 접촉시킴으로써 정제되고, 이에 의해 **4a**/D-프롤린 공-결정이 생성된다. 벌크 공-결정에서 **4a**의 생성된 농도는 **4a**의 출발 양에서의 **4a**의 농도보다, 예를 들어 적어도 1%, 2%, 3%, 4%, 또는 5% (HPLC)만큼 높다. 이러한 실시양태 각각은 주어진 공-결정에서 **4a**의 순도를 훨씬 더 증가시키기 위해 1회 이상의 재-결정화의 임의적인 단계를 고려한다.

[0039] 공-결정화는 또한 상기 본원에 요약된 바와 같이 다양한 공-결정 형태를 생성하였다. 다양한 형태는 X-선 분말 회절 (XRPD), 시차 주사 열량측정법 (DSC), 및 열중량 분석 (TGA)을 포함하는 하나 이상의 분석 기술에 의해 서로 식별되고 구별된다.

[0040] **형태 B**

[0041] 따라서, 한 실시양태는 형태 B가 각각 1:2 몰비의 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린의 공-결정인 것을 나타낸다. X-선 분말 회절도는 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 14.76, 16.86, 19.00, 및 21.05° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 특징적인 피크를 포함한다. 한 실시양태에서, X-선 분말 회절도는 12.14, 17.51, 18.89, 및 19.41° 2Θ ±0.2° 2Θ에서의 피크를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에 따르면, 형태 B는 추가로 그의 전체 X-선 분말 회절도를 실질적으로 특징으로 한다 (도 1 참조).

[0042] 형태 B의 DSC 곡선은 약 211℃에서 발열선(exotherm)을 나타낸다는 점에서 이 공-결정의 특징이다. 하나의 실시양태에 따르면, 형태 B는 도 2에 실질적으로 도시된 바와 같은 전체 DSC 서모그램을 특징으로 한다.

[0043] 개시내용은 추가로 형태 B의 제조 방법으로 구현된다 (실시예 4 참조). 방법은 C_{1-6}-알킬 알콜에서 약 1:1 내지 약 1:2 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린의 조합을 가열하여 용액을 수득하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, **4a**는 순수 **4a**로서 존재하고, 한편 다른 실시양태에서 **4a**는 **4**의 공개된 합성 (Kusuma 2012, 상기 문헌)으로부터 생성된 조합과 같은, β-아노머 **4b**와의 조합으로 존재한다. 예를 들어, **4a**는 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% (w/w)로 존재한다. 조합을 약 50℃ 내지 약 80℃ 범위의 제1 온도로 가열한다. 예시적인 C_{1-6}-알킬 알콜은 메탄올, 에탄올, 및 n- 및 i-프로판올을 포함한다. 하나의 실시양태에서, 알콜은 에탄올이다. 한 실시양태에 따르면, 편리한 제1 온도는 표준 압력하의 알콜의 비점이다. 따라서, 예를 들어, 에탄올이 알콜인 경우, 제1 온도는 비점, 즉, 약 78℃이다.

[0044] 방법은 **4a** 및 L-프롤린의 용액을 약 30℃ 이하인 제2 온도로 냉각시켜 공-결정의 슬러리를 수득하는 단계를 추가로 포함한다. 슬러리를 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 제2 온도에서 교반한다. 한 실시양태에서, 슬러리를 여과하여 형태 B를 단리시킨다.

[0045] **형태 D**

[0046] 개시내용은 각각 1:2 몰비로 존재하는 **4a** 및 L-프롤린의 공-결정으로 추가로 구현되고, 이는 형태 D로서 표시된다. 형태 D는 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 9.20, 16.19, 18.45, 및 24.51° 2Θ ±0.2° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 추가 실시양태는 11.83, 17.16, 20.15, 및 25.34° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 발생하는 추가의 특징적인 피크로 도시된다. 형태 D는 추가로 도 14에 실질적으로 도시된 바와 같은 그의 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다.

[0047] 형태 D의 DSC 곡선은 또한 약 211.2℃의 개시 온도를 갖고, 약 212.2℃에서 흡열선(endotherm)을 나타낸다는 점에서 이 공-결정의 특징이다. 한 실시양태에 따르면, 형태 D는 도 15에 실질적으로 도시된 바와 같은 전체 DSC 서모그램을 특징으로 한다.

[0048] 개시내용의 한 실시양태는 또한 형태 D의 제조 방법에 관한 것이다. 방법은 EtOH 또는 아세토니트릴에서 약 1:1 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린의 조합을 제1 온도로 가열하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, **4a**는 순수 **4a**로서 존재하고, 한편 다른 실시양태에서 **4a**는 **4**의 공개된 합성(Kusuma 2012, 상기 문헌)으로부터 생성된 조합과 같은, β-아노머 **4b**와의 조합으로 존재한다. 예를 들어, **4a**는 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% (w/w)로 존재한다. 제1 온도는 약 70℃ 내지 약 85℃의 범위에서 선택된 한 온도이다. 편리한 온도는, 예를 들어, 조합을, 즉, 약 82℃의 아세토니트릴의 비점에서 환류시킴으로써 달성된다.

[0049] 방법은 용액을 약 30℃ 이하의 제2 온도로 냉각시켜 공-결정의 현탁액을 수득하는 단계, 및 이어서 현탁액을 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 제2 온도에서 교반하는 단계를 추가로 포함한다. 한 실시양태에 따르면, 예를 들어, 현탁액을 여과하여 형태 D를 단리시킨다.

[0050] **형태 C**

[0051] 개시내용은 각각 1:1:1 몰비로 존재하는 **4a** 및 L-프롤린의 공-결정의 아세톤 용매화물로 추가로 구현되고, 이는 형태 C로서 표시된다 (실시예 6 참조). 공-결정은 1.54178 Å의 파장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 14.64, 17.53, 18.91, 및 21.33° 2Θ ±0.2° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 보다 구체적으로, 또 다른 실시양태에 따르면, X-선 분말 회절도는 12.10, 15.14, 18.26, 및 19.56° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 추가의 피크를 포함한다. 형태 C의 특징인 이들 및 추가의 피크는 도 10에 실질적으로 도시된 바와 같은 그의 X-선 분말 회절도에 나타나 있다.

[0052] 형태 C는 약 150℃ 및 약 220℃에서 끝나는 중량 손실 단계를 포함하는 그의 TGA 서모그램에의 언급에 의해 추가로 특징규명된다. 한 실시양태는 도 11에 실질적으로 도시된 바와 같은, 형태 C의 TGA 서모그램으로 도시된다.

[0053] 형태 C는 개시내용의 다양한 실시양태에 따른 방법에 의해 제조된다. 따라서, 하나의 실시양태에서, 방법은 EtOH에서 등몰 양의 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 L-프롤린을 환류시켜 용액을 수득하고, 이어서 용액을 약 30℃ 이하의 온도로 냉각시켜 고체 생성물을 수득하는 것을 포함한다. 이어서 고체 생성물을 아세톤에서 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 약 30℃ 이하의 온도에서 교반하여 형태 C를 수득한다.

[0054] 대안적으로, 약 1:1 몰비의 **4a** 및 L-프롤린의 조합을 아세톤에서 약 72 시간 이하의 지속시간 동안 약 30℃ 이하의 온도에서 교반하여 형태 C를 수득한다. 이러한 실시양태 중 하나에서, **4a**는 순수 **4a**로서 또는 **4**의 공개된 합성에 의해 생성된 것과 같은, β-아노머 **4b**와의 조합으로서 존재한다. 추가 실시양태에서, 형태 C는, 예컨대 여과에 의해 단리된다.

[0055] **형태 G**

[0056] 개시내용은 추가로 메틸 에틸 케톤 및 피라진의 용매화물로서 존재하는 **4a** 및 L-프롤린의 공-결정에 관한 것이며 이는 형태 G로서 표시된다 (실시예 9 참조). 실시예에 설명된 바와 같이, 형태 G의 XRPD 인덱싱은 1:1의 **4a**:L-프롤린 몰비와 일치하지만, 인덱싱은 비슷한 크기의 MEK와 피라진 분자 사이를 구별하지 못해, 용매의 결정적인 양을 이 분석 기술에 의해 확립하기 어렵게 만든다. 그러나, 형태 G의 양성자 NMR 분석은 **4a**, L-프롤린, MEK, 및 피라진의 몰비를 각각 약 1:1.2:0.6:0.1에서 확립하였다. 따라서 형태 G는 1.54178 Å의 파

장에서 Cu-Kα 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 10.42, 14.62, 19.28, 및 21.14° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 특징적인 피크를 갖는 그의 XRPD 회절도를 특징으로 한다. 추가 실시양태는 11.85, 14.93, 17.40, 및 19.28° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 추가적인 피크를 제공한다. 형태 G는 또한 도 17에 실질적으로 도시된 바와 같은 그의 전체 XRPD 회절도를 특징으로 할 수 있다.

[0057] 형태 G의 XRPD 분석은 또 다른 실시양태에 따른, 공-결정을 특징규명하는 단위 격자 파라미터를 추가로 확립하였다. 따라서, 파라미터는 a = 10.975 Å, b = 10.310 Å, c = 15.704 Å, α = 90°, β = 108.56°, 및 γ = 90°이다.

[0058] 개시내용은 추가로 형태 G의 제조 방법에 관한 것이다. 방법은 메틸 에틸 케톤 (MEK) 및 MeOH의 혼합 용매에서, N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**), L-프롤린, 및 피라진을 각각 약 1:1:20의 몰비로 조합하여 용액을 수득하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, **4a**는 순수 **4a**로서 존재하고, 한편 다른 실시양태에서 **4a**는 **4**의 공개된 합성 (Kusuma 2012, 상기 문헌)으로부터 생성된 조합과 같은, β-아노머 **4b**와의 조합으로 존재한다. 예를 들어, **4a**는 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% (w/w)로 존재한다. 일반적으로, 혼합 용매는 MeOH에 비해 과량의 MEK에 의해 구현된다. 따라서, MEK 대 MeOH의 예시적인 비는 약 9:1 (v/v)이다. 이어서 용액을 교반하여 형태 G를 수득한다.

[0059] **물질 A**

[0060] 본 개시내용의 또 다른 실시양태는 각각 1:1 몰비로 존재하는 **4a** 및 L-프롤린의 공-결정이며, 이는 물질 A로서 표시된다. 물질 A는 1.5405929 Å의 파장에서 Cu-$K_{\alpha 1}$ 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 다음의 피크: 8.52, 16.33, 19.50, 및 21.22° 2Θ ±0.20° 2Θ를 포함하는 X-선 분말 회절도를 특징으로 한다. 추가 실시양태는 9.19, 13.22, 14.75, 및 17.57° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 발생하는 추가의 특징적인 피크로 도시된다. 물질 A는 도 23에 실질적으로 도시된 바와 같은 그의 X-선 분말 회절도를 추가로 특징으로 한다.

[0061] 물질 A의 XRPD 분석은 또 다른 실시양태에 따른, 공-결정을 특징규명하는 단위 격자 파라미터를 추가로 확립하였다. 따라서, 파라미터는 a = 10.126 Å, b = 11.021 Å, c = 30.259 Å, α = 90°, β = 90°, 및 γ = 90°이다.

[0062] 물질 A의 DSC 곡선은 또한 약 145℃에서 흡열선을 나타낸다는 점에서 이 공-결정의 특징이다. 한 실시양태에 따르면, 물질 A는 도 24에 실질적으로 도시된 바와 같은 전체 DSC 서모그램을 특징으로 한다.

[0063] 물질 A는 약 160℃ 및 약 230℃에서 끝나는 중량 손실 단계를 포함하는 그의 TGA 서모그램에의 언급에 의해 추가로 특징규명된다. 한 실시양태는 도 24에 실질적으로 도시된 바와 같은, 물질 A의 TGA 서모그램으로 도시된다.

[0064] **4a/D-프롤린 공-결정**

[0065] 개시내용은 또한 또 다른 실시양태에서 1:1 몰비로 존재하는 **4a** 및 D-프롤린의 공-결정을 제공한다 (실시예 11 참조). 공-결정은 1.5405929 Å의 파장에서 Cu-$K_{\alpha 1}$ 방사선을 사용하여 회절계에서 결정된 바와 같은 11.77, 14.52, 19.54, 및 21.23° 2Θ ±0.20° 2Θ에서 특징적인 피크를 갖는 그의 XRPD 회절도를 특징으로 한다. 추가의 특징적인 피크는 8.45, 13.18, 16.95, 및 19.12° 2Θ ±0.2° 2Θ에서 발생한다. 공-결정의 특징인 이들 및 심지어 추가의 피크는 도 18에 실질적으로 도시된 바와 같은 그의 X-선 분말 회절도에 나타나 있다.

[0066] **4a**/D-프롤린 결정의 DSC 곡선은 또한 약 130℃에서 흡열선을 나타낸다는 점에서 이 공-결정의 특징이다. 한 실시양태에 따르면, 공-결정은 도 19에 실질적으로 도시된 바와 같은 전체 DSC 서모그램을 특징으로 한다.

[0067] 공-결정은 각각 약 150-160℃ 및 약 230℃에서 끝나는 두 중량 손실 단계를 포함하는 그의 TGA 서모그램에의 언급에 의해 추가로 특징규명된다. 한 실시양태는 도 19에 실질적으로 도시된 바와 같은, 공-결정의 TGA 서모그램으로 도시된다.

[0068] 개시내용은 **4a**/D-프롤린 결정의 제조 방법을 추가로 제공한다. 방법은 (a) C_{1-6}-알킬 알콜에서 약 1:1 몰비로 N-(2-(5-(((2R,3R,4S,5R)-3,4-디히드록시-5-메톡시-6,6-디메틸테트라-히드로-2H-피란-2-일)옥시)-3'-플루오로-[1,1'-비페닐]-2-일)에틸)-아세트아미드 (**4a**) 및 D-프롤린의 조합을 제1 온도로 가열하여 용액을 수득하는 단계; 및 (b) 용액을 약 30℃ 이하의 제2 온도로 냉각시켜 공-결정의 현탁액을 수득하는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, **4a**는 순수 **4a**로서 존재하고, 한편 다른 실시양태에서 **4a**는 **4**의 공개된 합성 (Kusuma 2012, 상

기 문헌)으로부터 생성된 조합과 같은, β-아노머 **4b**와의 조합으로 존재한다. 예를 들어, **4a**는 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% (w/w)로 존재한다.

[0069] **정제 방법**

[0070] **4a**가 L- 및 D-프롤린과 선택적으로 공-결정화한다는 놀라운 발견은, 한 실시양태에 따라 벌크 양의 **4**로부터 **4a**를 정제하는 방법을 발생시킨다. 즉, **4a**와 프롤린과의 공-결정화는 **4a** /·프롤린 공-결정의 생성된 벌크 샘플에서 **4b**에 비해 **4a**의 농도를 풍부하게 한다. **4a**의 농도를 증가시키는 방법은 먼저 **4a** 및 **4b**의 출발 조성물을 고려한다. 출발 조성물은 **4**의 공개된 합성으로부터, 또는 유기 합성의 통상의 기술자에게 공지되거나 또는 그에 의해 합리적으로 고려되는, **4**로 이어지는 다수의 대체 합성 경로 중 하나에 의해 생성되는 벌크 고체일 수 있다. 추가로, 출발 조성물은 칼럼 크로마토그래피와 같은 다른 정제 수단으로부터 생성된 주로 **4a**의 벌크 고체일 수 있다. 발명자들은 놀랍게도 이와 관련하여 **4a**가 결정화에 대한 모든 시도를 거부하고; 실제로, 어떠한 조건 하에서도 결정질 형태로 존재하는 **4a**가 관측되지 않는다는 것을 발견하였다. 임의의 이들 실시예에서, 출발 조성물은 0.5 내지 약 10% (w/w)와 같은, 적어도 약간의 양의 **4b**를 함유한다.

[0071] 1 내지 약 2 당량과 같은, 몰 과량의 프롤린을 용매에서 출발 조성물과 조합한다. 일부 실시양태에서, 프롤린은 L-프롤린이고, 다른 실시양태에서 프롤린은 D-프롤린이다. L- 및 D-프롤린의 혼합물을 사용하는 것도 가능하다. 프롤린 및 출발 조성물을 실질적으로 용해시킬 수 있는 임의의 용매가 이 목적에 적합하다. 본원에 기재된 임의의 용매와 같은, 예시적인 용매는 C_1-C_6-알킬 알콜, 예컨대 메탄올 및 에탄올을 포함한다. 방법의 일부 실시양태에서, 출발 조성물, 프롤린, 및 용매 혼합물을 가열함으로써 용해를 촉진시키는 것이 유리하다. 이 목적을 위한 편리한 온도는 용매의 환류 온도이다.

[0072] 이어서 출발 조성물, 프롤린, 및 용매의 조합에 결정화 조건을 적용하여 **4a** 및 프롤린의 공-결정화를 달성한다. 본원에 기재된 것들 중 임의의 것과 같은, 다양한 결정화 기술이 본 맥락에서 유용하다. 예시적 실시양태에서, 출발 조성물 및 프롤린의 따뜻한 용액을 실온으로 냉각시킨다. 실온 미만으로 용액을 냉각시켜 공-결정화를 촉진하기 위해 외부 냉각 조치를 실행할 수 있다. 대안적으로, 또는 조합으로, 용매를 서서히 증발시킨다. 임의의 이들 수단은, 단독으로 또는 서로 조합하여, 결정화를 향한 용액 평형을 방해한다.

[0073] **4a** 및 프롤린의 생성된 벌크 공-결정은 이에 따라 출발 조성물에서 **4a**의 농도에 비례하여 **4a**가 풍부해진다. **4b**의 상응하는 농도는 감소된다. 또한, 방법은 다른 불순물로부터 **4a**를 정제한다. **4a**의 농도를 정량화하는 편리한 방법은 HPLC에 의한 것이지만, 키랄 정지상에서 수행되는 기체 크로마토그래피 (GC)를 포함하여, 혼합물에 존재하는 성분을 분배하고 정량화할 수 있는 임의의 분석 기술이 이 목적에 적합할 것이다. 따라서, 예를 들어, 벌크 공-결정에서의 **4a**의 농도는 출발 조성물에서보다 약 3 내지 약 20%, 또는 약 5 내지 약 15% (w/w) 더 높다. 대안적으로, 벌크 출발 조성물에서의 **4a**의 농도에 비해, 벌크 공-결정에서의 **4a**의 증가는 적어도 약 5%, 약 10%, 또는 약 15% (w/w)이다. 따라서, 예를 들어, **4**의 출발 조성물은 HPLC에 의해 결정된 바와 같이, 약 93% **4a** 및 약 6% **4b**를 함유한다 (실시예 10(A) 참조). 본 발명의 방법에 의해 제시된 바와 같은 L-프롤린과의 공-결정화 이후에, 생성된 벌크 공-결정에서의 **4b**의 양은 약 2.5%로 감소한다. 임의의 이들 실시양태에서, **4a**/프롤린 공-결정의 후속 재결정화는 벌크 물질에서 **4b**의 양을 추가로 감소시킬 수 있다.

[0074] 본 개시내용은 이들의 특징적인 피크 면에서 XRPD 패턴과 같은 패턴을 나타낸다. 이러한 피크의 집합체는 개별 기기 및 실험 조건에 기인하는 불확실성 내에서 주어진 공-결정 형태에 고유하다. 따라서, 예를 들어, 각 XRPD 피크는 ±0.2° 2Θ의 허용가능한 불확실성을 갖는 각도 2Θ 관점에서 개시되며, 따라서 이 불확실성 내의 특징적인 피크의 분산은 그의 특징적인 피크의 상응하는 집합체로 공-결정 형태의 정체성을 결코 약화시키지 않는다는 것이 이해된다.

[0075] **제약 조성물**

[0076] 개시내용은 또한 또 다른 실시양태로서 본원에 기재된 바와 같은 공-결정을 포함하는 제약 조성물을 고려한다. 실시예에 설명된 바와 같이, 본 발명의 공-결정은 놀랍게도, 즉, 무정형 고체로서, **4a** 단독보다 훨씬 큰 생체이용률을 나타낸다. 따라서, 제약 조성물은 무정형 **4a**를 함유하는 제형에 비해, 더 낮은 농도의 공-결정을 함유하여 치료학상 동일한 효과를 달성하도록 제형화될 수 있다. 본 발명의 공-결정의 이러한 이점에 의해, 제약 조성물에서 치료 유효량의 공-결정은 대상체의 체중에 따라 필요한만큼 조정된, 약 0.1 mg 내지 약 1000 mg의 용량을 제공한다. 전형적인 투여량은 하루에 약 0.01 mg/kg 내지 약 100 mg/kg으로 다양할 수 있다.

[0077] 제약 조성물은 제약 배합의 허용되는 관행에 따라, 응집체에서 제약상 허용되는 담체를 구성하는, 하나 이상의 제약상 허용되는 부형제, 희석제, 아주반트, 안정화제, 유화제, 보존제, 착색제, 완충제, 또는 향미 부여제를

추가로 포함한다. 일반적으로, 제약 조성물은 통상적인 물질 및 기술, 예컨대 혼합, 블렌딩 등으로 제조된다. 원칙적으로, 제약상 허용되는 담체는 공-결정이 담체에 용해되지 않는 것과 같이, 구성적 및 구조적 안정성을 유지하는 한 액체일 수 있다. 일반적으로, 그러나, 제약상 허용되는 담체 및, 따라서 전체로서 조성물은 고체이다.

[0078] 일부 실시양태에 따르면, 제약 조성물은 본원에 개시된 바와 같은 하나 이상의 추가적인 공-결정을 추가로 포함한다. 예를 들어, 조성물은 두 가지 형태, 세 가지 형태, 또는 네 가지 형태를 포함한다. 예시 조성물은 형태 B 및 형태 D를 포함한다. 이원 조성물, 즉, 단지 두 가지 형태만 함유하는 조성물은 약 0.05:1 내지 약 1:0.05 범위의 다양한 중량비로 형태를 제공한다. 0.2:1 내지 약 1:0.2, 및 0.5:1 내지 약 1:0.5와 같은 중간 비 및 범위가 또한 고려된다.

[0079] 정제 조성물의 경우, 비독성 제약상 허용되는 부형제와의 혼합물로 본 발명의 공-결정이 정제의 제조에 사용된다. 이러한 부형제의 예는 비제한적으로 불활성 희석제, 예컨대 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 인산칼슘 또는 인산나트륨; 과립화제 및 붕해제, 예를 들어, 옥수수 전분, 또는 알긴산; 결합제, 예를 들어 전분, 젤라틴 또는 아카시아, 및 윤활제, 예를 들어 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 활석을 포함한다. 정제는 코팅되지 않을 수도 있고 또는 위장관에서 분해 및 흡수를 지연시키고 이에 의해 원하는 시간 기간에 걸쳐 지속된 치료 작용을 제공하기 위해 공지된 코팅 기술에 의해 코팅될 수도 있다. 예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 시간 지연 물질이 사용될 수 있다.

[0080] 경구 사용을 위한 제형은 또한 활성 성분이 불활성 고체 희석제, 예를 들어, 탄산칼슘, 인산칼슘 또는 카올린과 혼합된 것인 경질 젤라틴 캡슐로서, 또는 활성 성분이 물 또는 오일 매질, 예를 들어 피넛 오일, 액체 파라핀 또는 올리브 오일과 혼합된 것인 연질 젤라틴 캡슐로서 제시될 수 있다. 이들 제형, 및 본원에 기재된 모든 다른 액체 제형에는 고체 공-결정의 구성적 및 구조적 무결성을 보존하기 위해 상기 열거된 제한을 적용한다.

[0081] 제약 조성물은 하기 기재된 실시양태에 따라 현탁액으로서 제시된다. 실시양태는 "안정된 현탁액"을 지칭하며, 이는 주어진 공-결정 또는 공-결정의 조합이, 심지어 현탁액의 다른 성분과 접촉하는 동안에도, 즉, 현탁액의 액체 부형제에 용해되지 않고, 또 다른 공-결정 또는 무정형 형태, 또는 둘 다로 전환되지 않음으로써, 그의 특징적인 특징부, 예를 들어, XRPD 피크를 유지한다는 것을 의미한다.

[0082] 수성 현탁액의 경우 본 발명의 공-결정은 안정된 현탁액을 유지하기에 적합한 부형제와 혼합한다. 이러한 부형제의 예는, 비제한적으로, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드로프로필메틸셀룰로스, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트래거캔스 검 및 아카시아 검을 포함한다.

[0083] 경구 현탁액은 또한 분산제 또는 습윤제, 예컨대 천연-발생 인지질, 예를 들어, 레시틴, 또는 알킬렌 옥시드와 지방산과의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 또는 에틸렌 옥시드와 장쇄 지방족 알콜과의 축합 생성물, 예를 들어 헵타데카에틸렌옥시세탄올, 또는 에틸렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨로부터 유래된 부분 에스테르와의 축합 생성물, 예컨대 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레에이트, 또는 에틸렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 부분 에스테르와의 축합 생성물, 예를 들어 폴리에틸렌 소르비탄 모노올레에이트를 함유할 수 있다. 수성 현탁액은 또한 1종 이상의 보존제, 예를 들어 에틸 또는 n-프로필 p-히드록시벤조에이트, 1종 이상의 착색제, 1종 이상의 향미제, 및 1종 이상의 감미제, 예컨대 수크로스 또는 사카린을 함유할 수 있다.

[0084] 유성 현탁액은 활성 성분을 식물성 오일, 예를 들어 땅콩 오일, 올리브 오일, 참기름 또는 코코넛 오일, 또는 액체 파라핀과 같은 미네랄 오일에 현탁시킴으로써 제형화될 수 있다. 유성 현탁액은 증점제, 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀, 또는 세틸 알콜을 함유할 수 있다.

[0085] 상기 제시된 것과 같은 감미제, 및 향미제는 맛 우수한 경구 제제를 제공하기 위해 첨가될 수 있다. 이들 조성물은 아스코르브산과 같은 항산화제의 첨가에 의해 보존될 수 있다 .

[0086] 물의 첨가에 의한 수성 현탁액의 제조에 적합한 분산성 분말 및 과립은 활성 성분을 분산제 또는 습윤제, 현탁제 및 1종 이상의 보존제와의 혼합물로 제공할 수 있다. 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제는 이미 상기에 언급된 것들에 의해 예시된다. 추가의 부형제, 예를 들어 감미제, 향미제 및 착색제가 또한 존재할 수 있다.

[0087] 본 발명의 제약 조성물은 또한 수-중-유 에멀젼의 형태일 수 있다. 오일 상은 식물성 오일, 예를 들어 올리브 오일 또는 땅콩 오일, 또는 미네랄 오일, 예를 들어 액체 파라핀 또는 이들의 혼합물일 수 있다. 적합한 에멀젼화제는 천연-발생 검, 예를 들어 아카시아 검 또는 트래거캔스 검 천연-발생 인지질, 예를 들어 대두, 레시틴, 및 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유래된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들어 소르비탄 모노올레

에이트 및 상기 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드와의 축합 생성물, 예를 들어 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트일 수 있다. 에멀젼은 또한 감미제 및 향미제를 함유할 수 있다.

[0088] 시럽제 및 엘릭시르제는 감미제, 예를 들어 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨 또는 수크로스와 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 또한 완화제, 보존제, 및 향미제 및 착색제를 함유할 수 있다. 제약 조성물은 무균 주사가능한, 수성 현탁액 또는 유성 현탁액의 형태일 수 있다. 이 현탁액은 상기 언급되었던 그러한 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁제를 사용하여 공지된 기술에 따라 제형화될 수 있다. 무균 주사가능한 제제는 또한, 예를 들어 1,3-부탄디올 중 용액으로서, 비독성, 비경구로 허용되는 희석제 또는 용매 중 무균 주사가능한 용액 또는 현탁액일 수 있다. 사용될 수 있는 허용가능한 비히클 및 용매 중에는 물, 링거 용액 및 등장성 염화나트륨 용액이 있다. 또한, 무균, 고정 오일은 통상적으로 용매 또는 현탁 매질로서 사용된다. 이러한 목적을 위해 합성 모노- 또는 디글리세리드를 포함하는 임의의 블랜드 고정 오일이 사용될 수 있다. 또한, 올레산과 같은 지방산이 주사제의 제조에 사용된다.

[0089] 본 발명의 공-결정은 또한 공-결정의 직장 투여를 위한 좌약의 형태로 투여될 수 있다. 이들 조성물은 상온에서 고체이지만 직강 온도에서 액체이고 따라서 직장에서 녹아 공-결정을 방출할 적절한 비자극 부형제와 공-결정을 혼합함으로써 제조될 수 있다. 이러한 물질의 예는 코코아 버터 및 폴리에틸렌 글리콜이다.

[0090] 비경구 투여용 조성물은 무균 배지에서 투여된다. 사용된 비히클 및 제형에서의 공-결정의 농도에 따라, 공-결정의 입자 크기 분포가 이러한 방식의 투여에 적절하다면 비경구 제형은 공-결정의 현탁액일 수 있다. 국소 마취제, 보존제 및 완충제와 같은 아주반트가 또한 비경구 조성물에 첨가될 수 있다.

[0091] **사용 방법**

[0092] 첨부된 실시예에 의해 입증된 바와 같이, 본 발명의 공-결정에 의해 부여되는 한 가지 놀라운 장점은 매우 높은 부분입체이성질체 및 화학적 순도로 다량의 **4a**를 제조하는 능력이다. 이것은, 예를 들어, 미국 식품 의약국에 의해 공포된 우수 의약품 제조관리기준 (GMP) 규정을 준수하여 **4a**의 개발에 특히 중요하다. 이에 반해서, 무정형 **4a**의 합성은 후속적인 힘든 분리 기술, 예컨대 크로마토그래피를 필요로 하고 - 모든 결정화 시도는 상기 언급된 바와 같이 성공하지 못했고 - 이는 GMP 목적을 위해 높은 화학적 및 부분입체이성질체 순도로 **4a**를 단리시키는데 여전히 비효율적이다. 이러한 이유로, 본 발명의 공-결정 및 이의 제조 방법은 임상 시험 및 상용화 작업에 유용한 다량의 **4a**를 제공한다.

[0093] 본 발명의 공-결정의 또 다른 장점은 무정형 **4a**에 비해 공-결정으로부터 **4a**의 예상외로 높은 생체이용률에 있다. 보다 구체적으로, 공-결정의 생체내 투여는 동일한 용량의 무정형 **4a**에 비해, 약 1.5 - 2의 인자만큼 **4a**의 생체이용률을 증가시켰다 (실시예 12 및 13 참조). 본 발명의 공-결정의 이러한 특징은 무정형 형태의 약제가 그의 결정질 대응물보다 현저히 더 가용성이고, 따라서 더 생체이용가능하다는 일반적인 관측 관점에서, 그리고 실제로 그것과는 대조적으로 모두 더욱 놀랍다. 문헌 (B. C. Hancock *et al., Pharm. Res.* 17(4) (2000) 397 - 404; B. C. Hancock *et al., J. Pharm. Sci.* 86(1) (1997) 1 - 12)을 참조한다.

[0094] 이러한 장점을 고려하여, 본 개시내용은 신경퇴행성 장애를 앓고 있는 대상체에서 신경퇴행성 장애를 치료 또는 예방하기 위한 임의의 공-결정 형태 (그의 제약 조성물 포함)의 용도로 추가로 도출된다. 그러한 신경퇴행성 장애의 비제한적인 예는 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 근위축성 측삭 경화증 (ALS), 헌팅톤 질환, 척수성 근위측증, 척수소뇌 실조증 및 운동실조의 형태, 및 운동 뉴런 질환을 포함하는 탈수초성 신경 장애를 포함한다. 또한, 공-결정 형태 및 그의 제약 조성물은 당뇨병성 신경병증 (그의 고통스러운 그리고 무감각한 형태를 모두 포함함) 및 당뇨병으로 인한 것이 아닌 신경병증성 통증을 포함하는, 다른 형태의 신경병증의 치료에 유용하다.

[0095] 공-결정 형태 및 그의 제약 조성물은 또한 뉴런에서 손상된 미토콘드리아 기능을 개선하고 당뇨병 뉴런에서 염증 마커의 발현을 감소시키기 위해 화합물 **4a**의 보고된 사용을 고려하여, 미토콘드리아 기능장애, 산화 스트레스, 또는 염증을 수반하는 신경 장애를 치료하는데 유용하다 (Ma (2015)). 당뇨병 조직은 상당한 산화 스트레스를 겪기 때문에, 이러한 결과는 본 발명의 공-결정 형태 및 그의 제약 조성물이 간질, 다발성 경화증, 척수 손상, 및 정신분열증, 우울증, 조울증, 자폐증 및 관련 장애를 포함하는 정신 장애, 및 외상-후 스트레스 장애를 포함하는, 산화 스트레스 및 만성 염증을 수반하는 다른 신경 장애를 치료하는데 유용하다는 것을 나타낸다. 조성물 및 공-결정 형태는 다른 요법, 특히 다른 메커니즘에 의해 산화 스트레스, 염증, 및 미토콘드리아 기능장애를 감소시키는 요법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0096] 용어가 본원에 사용될 때, "신경퇴행성 장애"는 말초 신경계 또는 중추 신경계에서 뉴런의 점진적인 손실이 발생하는 장애를 지칭한다. 따라서, 하나의 실시양태에서, 개시내용은 세포 사멸로 이어지는 뉴런의 점진적인 악

화를 억제함으로써, 예컨대 신경퇴행성 장애의 치료 동안 또는 그에 따라 대상체에서 Hsp90을 억제하는 방법을 제공한다.

[0097] 본원에 기재된 바와 같은 방법은 치료 유효량의 본 발명의 공-결정을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 상기 제시된 투여량 지침 내에서, "치료 유효량"은 장애의 진행을 완전히 또는 부분적으로 억제하거나, 또는 장애의 하나 이상의 증상을 적어도 부분적으로 완화시키는 공-결정의 양이다. 치료 유효량은 또한 예방적으로 효과적인 양일 수 있다. 치료 효과적인 양은 환자의 크기 및 성별, 치료할 장애, 장애의 중증도 및 원하는 결과에 좌우될 것이다. 주어진 환자 및 장애에 있어서, 치료 유효량은 통상의 기술자에게 공지된 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0098] 다양한 실시양태에서, 방법은 신경 장애의 예방을 수반한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "예방하는" 또는 "예방"은 본 발명의 공-결정이 투여 시점에 아마 장애를 가질 것으로 진단되지 않았지만, 일반적으로 장애가 발병하거나 또는 장애에 대해 증가된 위험에 있을 것으로 예상될 대상체에게 투여될 때 유용하다는 것을 의미한다. 본 발명의 공-결정은 장애 증상의 발달을 늦추거나, 장애의 개시를 지연시키거나, 또는 대상체가 장애를 전혀 발병시키지 못하게 한다. 예방은 또한 연령, 가족력, 유전 또는 염색체 이상으로 인해, 및/또는 장애에 대한 하나 이상의 생물학적 마커의 존재로 인해 장애에 취약하다고 생각되는 대상체에게 공-결정을 투여하는 것을 고려한다.

[0099] 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 "치료" 또는 "치료하는"을 수반하며, 이는 공-결정이 적어도 장애의 잠정적인 진단을 가진 대상체에 사용된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명의 공-결정은 장애의 진행을 지연시키거나 또는 늦춘다. 또한, 용어 "치료"는 적어도 장애와 관련된 증상의 개선을 포괄하며, 여기서 개선은 폭넓은 의미에서, 적어도 치료 중인 상태와 관련된, 파라미터의 크기, 예를 들어 증상의 감소를 지칭하는데 사용된다. 이와 같이, "치료"는 또한 장애, 또는 적어도 이와 관련된 증상이 완전히 억제되는, 예를 들어 발생이 예방되거나, 또는 중지되는, 예를 들어 대상체가 더 이상 장애, 또는 적어도 장애를 특징규명하는 증상으로 고통 받지 않도록 종결되는 상황을 포함한다.

[0100] 하나의 실시양태에서, 신경퇴행성 장애는, 예를 들어, 당뇨병 상태와 관련된 고혈당증으로부터 발생하는 감각 뉴런 당독성이다. 예를 들어, 대상체는 제1형 또는 제2형 당뇨병을 앓고 있다. 보다 구체적으로, 한 실시양태에 따르면, 신경퇴행성 장애는 당뇨병성 말초 신경병증이다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 방법은 제1형 또는 제2형 당뇨병을 앓고 있는 대상체에서 당뇨병성 말초 신경병증이 발병할 가능성을 예방 또는 감소시키는 것을 포함한다.

[0101] 본 발명의 방법 및 용도의 문맥에서, 본 발명의 공-결정으로 치료될 "대상체"는 동물이고 바람직하게는 포유동물, 예를 들어, 개, 고양이, 마우스, 원숭이, 래트, 토끼, 말, 소, 기니 피그, 양이다. 한 실시양태에서, 대상체는 인간이다.

[0102] **실시예**

[0103] 본 개시내용의 추가적인 실시양태를 설명하기 위해 다음의 비제한적인 실시예가 제공된다.

[0104] 예를 들어, 공개된 절차 (Kusuma (2012) 및 미국 특허 번호 9,422,320)에 따라 약 95% 순도 (HPLC)로 무정형 **4a**가 수득된다.

[0105] **I. 일반 결정화 실험 방법**

[0106] **충돌 침전 (CP):** **4a**의 용액은 주어진 몰비로 다양한 용매 또는 용매 시스템에서 다양한 공형성제를 사용하여 교반하면서 제조하였다. 침전이 발생할 때까지 다양한 반용매의 분취량을 교반하면서 분배하였다. 혼합물은 특정 시간 기간 동안 교반하였다. 명시된 경우, 추가의 결정화 기술이 사용되었다.

[0107] **빠른 증발 (FE):** **4a**의 용액은 주어진 몰비로 다양한 용매에서 다양한 공형성제를 사용하여 교반하면서 제조하였다. 각 용액은 달리 명시되지 않는 한 주위 조건에서 열린 바이알로부터 증발시켰다. 용액은 부분 증발로서 명시되지 않는 한 증발시켜 건조하였고 (남아 있는 소량의 용매와 함께 존재하는 고체), 이 경우 고체는 명시된 방법에 의해 단리되거나 또는 추가의 결정화 기술이 명시된 대로 사용되었다.

[0108] **수동 그라인딩:** 칭량된 양의 **4a** 및 다양한 공형성제를 마노 절구에 옮겼다. 소량의 주어진 용매를 고형물에 첨가하고, 주어진 양의 시간 동안 마노 막자를 사용하여 혼합물을 수동으로 그라인딩하였다.

[0109] **밀링:** 칭량된 양의 **4a** 및 주어진 공형성제를 마노 밀링 용기에 옮겼다. 소량의 주어진 용매 및 마노 밀링 볼을

용기에 첨가하고, 이어서 이것을 레츠(Retsch) 밀에 부착시켰다. 혼합물은 명시된 지속시간 동안 30 s^{-1}에서 밀링하였다. 고체를 주기 사이에 병의 벽에서 긁어냈다.

[0110] **반응물 결정화 (RC):** **4a**와 다양한 공형성제와의 혼합물은 한 성분의 고체를 두 번째 성분의 용액에 첨가함으로써 주어진 용매에서 제조되었다. 용액이 각 성분의 상이한 농도를 함유하도록 (일반적으로 한 성분 대 다른 성분의 몰농도에서 10- 내지 20-배 차이) 충분한 고체를 첨가한 경우, 용액은 연장된 기간의 시간 동안 교반하였다. 특정된 경우, 침전이 발생하지 않으면 더 농축된 성분의 추가의 고체를 첨가하였고, 혼합물을 한 번 더 연장된 기간의 시간 동안 교반하였다. 임의의 침전된 고체는 단리하고 분석하였다.

[0111] **느린 냉각 (SC):** **4a**의 농축된 용액은 다양한 용매 시스템에서 다양한 공형성제를 사용하여 주어진 몰비로 승온에서 교반하면서 제조하였다. 각 바이알은 캡핑하고 핫 플레이트 상에 두었고, 핫 플레이트를 꺼서 샘플을 주위 온도로 서서히 냉각시켰다. 주위 온도로 냉각시킨 후 고체가 존재하지 않는 경우, 추가 냉각을 위해 샘플을 냉장고 (대략 2 내지 8 ℃) 및/또는 냉동기 (대략 -10 내지 -25 ℃)에 넣었다. 고체가 존재하지 않는 경우, 명시된 대로 추가의 결정화 기술을 사용하였다.

[0112] **느린 증발 (SE):** **4a**의 용액은 다양한 용매 시스템에서 다양한 공형성제를 사용하여 주어진 몰비로 제조하였다. 각 용액은 핀홀로 천공된 알루미늄 포일로 덮은 바이알에서 주위 조건에서 증발시켰다. 용매의 일부분이 증발하는 것인, 부분 느린 증발로서 명시되지 않는 한 용액은 증발하여 건조시켰다. 생성된 고체는 명시된 기술에 의해 단리하거나, 또는 명시된 경우 추가의 결정화 기술을 사용하였다.

[0113] **슬러리 실험:** 명시된 몰비의 **4a**와 다양한 공형성제의 현탁액은 용해되지 않은 고체가 존재하도록 주위 조건에서 충분한 고체를 주어진 용매 시스템에 첨가함으로써 제조되었다. 이어서 혼합물은 밀봉된 바이알에서 명시된 조건에서 연장된 기간의 시간 동안 (전형적으로 뒤섞음으로써) 교반되었다. 고체는 명시된 기술에 의해 수집되거나 또는 명시된 경우 추가의 결정화 기술이 사용되었다.

[0114] **증기 확산 (VD):** 주어진 출발 물질 (**4a**/L-프롤린의 주어진 형태 또는 **4a** 및 L-프롤린의 명시된 화학량론적 혼합물)의 농축된 용액은 다양한 용매에서 제조되었다. 일부 경우에, 용액은 0.2-㎛ 나일론 필터를 통해 여과하였다. 각 용액은 작은 바이알로 분배하였고, 이어서 이것을 주어진 반용매를 함유하는 더 큰 바이알 내에 넣었다. 명시된 경우, 주어진 **4a**/L-프롤린 형태의 시드를 용액에 첨가하였다. 작은 바이알은 뚜껑을 열어 두고 더 큰 바이알은 뚜껑을 닫아 증기 확산이 발생하게 하였다. 명시된 경우, 추가의 결정화 기술을 시도하였다.

[0115] **진공 여과:** 고체는 종이 또는 나일론 필터에서 진공 여과에 의해 수집하고 바이알로 옮기기 전에 잠시 감압하에 필터에서 공기 건조시켰다.

[0116] **상호전환 슬러리:** 주어진 출발 물질 (주어진 **4a**/L-프롤린 형태 또는 **4a** 및 L-프롤린의 명시된 화학량론적 혼합물)의 용액은 명시된 온도에서 고체를 주어진 용매 시스템에 첨가함으로써 제조되었다. 포화 용액이 특정된 경우, 액체 상의 포화를 보장하기 위해 현탁액을 주위 온도에서 연장된 기간의 시간 동안 교반하였다. 용해되지 않은 고체가 존재하도록 관심 있는 주어진 **4a**/L-프롤린 형태 각각의 시드 결정을 제조된 용액 (또는 포화 용액으로부터의 여과된 액체 상)에 첨가하였다. 이어서 각 혼합물은 밀봉된 바이알에서 명시된 온도에서 주어진 지속시간 동안 (전형적으로 뒤섞음으로써) 교반되었다. 진공 여과에 의해 고체를 단리하고 분석하였다.

[0117] **II. X-선 분말 회절 (XRPD) 피크 식별**

[0118] 본 개시내용 전반에 걸쳐 피크 목록을 갖는 x-선 회절 패턴 및 표가 있다. 최대 약 30° 2Θ 범위 내의 피크를 선택하였다. 각 피크를 가장 가까운 0.01° 2Θ로 반올림하기 위해 반올림 알고리즘을 사용하였다. 도면 및 목록 모두에서 x-축을 따라 피크의 위치(° 2Θ)는 전매 소프트웨어 (TRIADSTM v2.0)를 사용하여 결정하였고 소수점 뒤의 2개의 유효 숫자로 반올림하였다. 피크 위치 변동성은 x-선 분말 회절에서 변동성의 USP 논의에 약술된 권고에 기초하여 ±0.2° 2Θ 내에서 제공된다 (United States Pharmacopeia, USP 38-NF 33 through S2, <941> 12/1/2015). 본원에 개시된 임의의 특정 측정과 관련된 정확도 및 정밀도는 결정되지 않았다. 또한, 상이한 기기에서 독립적으로 제조된 샘플에 대한 제3자 측정은 ±0.2° 2Θ보다 큰 변동성을 초래할 수 있다. Cu-$K_{\alpha 1}$ 파장인, d-간격을 계산하기 위해 사용된 파장은 1.5405929Å였다 (Holzer, G.; Fritsch, M.; Deutsch, M.; Hartwig, J.; Forster, E. *Phys. Rev.* **1997**, A56 (6), 4554-4568). d-간격 추정치와 관련된 변동성은 각 d-간격에서 USP 권고로부터 계산되었고, 각각의 데이터 표에 제공되었다.

[0119] USP 지침에 따라, 가변 수화물 및 용매화물은 0.2° 2Θ보다 큰 피크 분산을 나타낼 수 있고 따라서 0.2° 2Θ

의 피크 분산은 이들 물질에 적용할 수 없다.

[0120] 하나의 XRPD 패턴만 있고 샘플이 분말 평균의 양호한 근사치를 제공하는지 여부를 평가하는 다른 수단이 없는 샘플의 경우, 피크 표는 "주요 피크"로만 식별된 데이터를 함유한다. 이들 피크는 전체 관측된 피크 목록의 부분집합이다. 주요 피크는 강한 강도로, 바람직하게는 비중첩, 저-각도 피크를 식별함으로써 관측된 피크로부터 선택된다.

[0121] 다중 회절 패턴이 이용가능한 경우, 입자 통계 (PS) 및/또는 선호되는 배향 (PO)의 평가가 가능하다. 단일 회절계에서 분석된 다중 샘플로부터의 XRPD 패턴 중에 재현성은 입자 통계가 적절하다는 것을 나타낸다. 다중 회절계로부터의 XRPD 패턴 중에 상대 강도의 일관성은 양호한 배향 통계를 나타낸다. 대안적으로, 관측된 XRPD 패턴은 이용가능한 경우, 단결정 구조에 기초한 계산된 XRPD 패턴과 비교될 수 있다. 영역 검출기를 사용한 2-차원 산란 패턴이 또한 PS/PO를 평가하기 위해 사용될 수 있다. PS와 PO 둘 다의 효과가 무시할만한 것으로 결정된 경우, XRPD 패턴은 샘플에 대한 대표적인 분말 평균 강도이고 주요 피크는 "대표적인 피크"로서 식별될 수 있다. 일반적으로, 대표적인 피크를 결정하기 위해 수집되는 데이터가 많을수록, 그러한 피크의 분류는 보다 확실한 것일 수 있다.

[0122] 이들이 존재하는 한, "특징적인 피크"는 대표적인 피크의 부분집합이며, 하나의 결정질 다형체를 또 다른 결정질 다형체 (다형체는 동일한 화학 조성을 갖는 결정질 형태임)와 구별하기 위해 사용된다. 특징적인 피크는, 만약 있다면, 대표적인 피크가 ±0.2° 2Θ 이내에 화합물의 모든 다른 공지된 결정질 다형체에 대하여 그 화합물의 하나의 결정질 다형체에 존재하는지를 평가함으로써 결정된다. 화합물의 모든 결정질 다형체가 반드시 적어도 하나의 특징적인 피크를 갖는 것은 아니다.

[0123] **기기 기술**

[0124] **시차 주사 열량측정법 (DSC):** DSC는 티에이 인스트루먼츠(TA Instruments) Q2000 시차 주사 열량계를 사용하여 수행하였다. 온도 보정은 NIST-추적가능한 인듐 금속을 사용하여 수행하였다. 샘플은 뚜껑이 덮인, 알루미늄 티제로(Tzero) 크림프 DSC 팬에 넣고, 중량을 정확하게 기록하였다. 샘플 팬으로서 구성된 칭량된 알루미늄 팬을 셀의 기준 측면에 넣었다.

[0125] **동적 증기 수착 (DVS):** 동적 증기 수착 데이터는 VTI SGA-100 증기 수착 분석기에서 수집하였다. 보정 표준물로서 NaCl 및 폴리비닐피롤리돈 (PVP)을 사용하였다. 샘플은 분석 전에 건조시키지 않았다. 수착 및 탈착 데이터는 질소 퍼지하에 10% RH 증분으로 5% 내지 95% RH 범위에 걸쳐 수집되었다. 분석에 사용된 평형 기준은 3 시간의 최대 평형 시간을 가지고 5 분에 0.0100% 미만의 중량 변화였다. 샘플의 초기 수분 함량에 대한 데이터는 정정되지 않았다.

[0126] **이지맥스(EasyMax)™ 반응기:** 결정화 실험은 줄라보(Julabo) F26 칠러/순환기와 함께 메틀러 토레도(Mettler Toledo) 이지맥스™ 102를 사용하여 수행하였다. 결정화는 자기 교반과 함께 20 mL 유리관 (캡핑됨)에서 수행하였다. 재킷 온도 (Tj) 설정을 사용하여 온도를 제어하였다.

[0127] **원소 분석:** 원소 분석은 테네시주 녹스빌 소재 갤브레이스 래보러토리즈(Galbraith Laboratories)에 의해 수행되었다.

[0128] **적외선 분광법:** IR 스펙트럼은 에버-글로(Ever-Glo) 중/원 IR 공급원, 브로민화칼륨 (KBr) 빔스플리터, 및 중수소화 트리글리신 술페이트 (DTGS) 검출기가 구비된 니콜레(Nicolet) 6700 푸리에(Fourier) 변환 적외선 (FT-IR) 분광광도계 (서모 니콜레)에서 수집되었다. 파장 검증은 NIST SRM 1921b (폴리스티렌)를 사용하여 수행되었다. 게르마늄 (Ge) 결정이 있는, 약화된 총 반사율 (ATR) 액세서리 (썬더돔(Thunderdome)™, 서모 스펙트라-테크(Thermo Spectra-Tech))가 데이터 수집을 위해 사용되었다. 각 스펙트럼은 4 cm^{-1}의 스펙트럼 해상도에서 수집된 256개 공동-첨가된 스캔을 나타낸다. 배경 데이터 세트는 깨끗한 Ge 결정으로 획득되었다. 로그 1/R (R = 반사율) 스펙트럼은 서로에 대해 이들 2개의 데이터 세트의 비를 취함으로써 수득되었다.

[0129] **라만 분광법:** 라만 스펙트럼은 인듐 갈륨 비소 (InGaAs) 검출기가 구비된 넥서스(Nexus) 670 FT-IR 분광광도계 (서모 니콜레)에 접속된 FT-라만 모듈에서 획득되었다. 파장 검증은 황 및 시클로헥산을 사용하여 수행되었다. 각 샘플은 샘플을 펠렛 홀더에 넣음으로써 분석을 위해 준비되었다. 대략 0.514 W의 Nd:YVO_4 레이저 출력 (1064 nm 여기 파장)을 사용하여 샘플에 조사하였다. 각 스펙트럼은 4 cm^{-1}의 스펙트럼 해상도에서 수집된 256개 공동-첨가된 스캔을 나타낸다.

[0130] **단결정 X-선 회절 (SCXRD):** **4a**/L-프롤린 형태 B 및 형태 C의 단결정 구조는 퍼듀 대학교의 결정학 실험실에서 결정하였다.

[0131] **열중량 분석 (TGA):** TG 분석은 티에이 인스트루먼츠 2050 또는 디스커버리(Discovery) 열중량 분석기를 사용하여 수행하였다. 온도 보정은 니켈 및 알루멜(Alumel)™을 사용하여 수행하였다. 각 샘플을 알루미늄 또는 백금 팬에 넣고 TG 퍼니스 내에 삽입하였다. 퍼니스는 질소 퍼지하에 10℃/min의 가열 속도로 주위 온도에서 350℃까지 가열하였다.

[0132] **광학 현미경검사:** 샘플은 2x 또는 4x 대물렌즈에서 교차 편광자가 있는 울프(Wolfe) 광학 현미경 하에 또는 0.8x 내지 10x 대물렌즈에서 교차 편광자와 1차 적색 보상기가 있는 라이카(Leica) 입체 현미경 하에 관측하였다.

[0133] **용액 ^{1}H NMR 분광법:** 용액 ^{1}H NMR 스펙트럼은 배리언(Varian) ^{UNITY}*INOVA*-400 분광기를 사용하여 25 ℃에서 일리노이주 샘페인 소재의 스펙트랄 데이터 서비스즈(Spectral Data Services)에 의해 획득되었다. 샘플을 DMSO-d_6에 용해시켰다. 불완전하게 중수소화된 DMSO로부터의 잔류 피크는 대략 2.5 ppm에 있고, 대략 3.3 ppm에서 비교적 폭넓은 피크는 물에 기인한 것이다.

[0134] **X-선 분말 회절 (XRPD)**

[0135] **패널리티컬 엑스퍼트 프로(PANalytical X'PERT Pro) MPD 회절계 - 투과 기하학 (대부분의 샘플):** XRPD 패턴은 옵틱스(Optix) 긴 미세-초점 공급원을 사용하여 생성된 Cu 방사선의 입사 빔을 사용하여 패널리티컬 엑스퍼트 프로 MPD 회절계로 수집하였다. 시료를 통해 그리고 검출기 상에 Cu Kα X-선을 집중시키기 위해 타원형으로 등급이 매겨진 다층 거울을 사용하였다. 분석 전에, 실리콘 시료 (NIST SRM 640e)를 분석하여 Si 111 피크의 관측된 위치가 NIST-인증된 위치와 일치한다는 것을 입증하였다. 샘플의 시료는 3-㎛-두께 필름 사이에 끼워지고 투과 기하학으로 분석하였다. 빔-스톱, 짧은 산란방지 확장, 및 산란방지 나이프 에지를 사용하여 공기에 의해 생성된 배경을 최소화하였다. 입사 및 회절 빔을 위한 솔러 슬릿을 사용하여 축방향 발산으로부터 넓어지는 것을 최소화하였다. 회절 패턴은 시료로부터 240 mm 위치한 스캐닝 위치-감지 검출기 (엑스셀러레이터(X'Celerator)) 및 데이터 컬렉터(Data Collector) 소프트웨어 v. 2.2b를 사용하여 수집하였다.

[0136] **패널리티컬 엑스퍼트 프로 MPD 회절계 - 반사 기하학 (제한된 수량의 샘플):** XRPD 패턴은 긴 미세-초점 공급원 및 니켈 필터를 사용하여 생성된 Cu Kα 방사선의 입사 빔을 사용하여 패널리티컬 엑스퍼트 프로 MPD 회절계로 수집하였다. 회절계는 대칭 브래그-브렌타노(Bragg-Brentano) 기하학을 사용하여 구성되었다. 분석 전에, 실리콘 시료 (NIST SRM 640e)를 분석하여 Si 111 피크의 관측된 위치가 NIST-인증된 위치와 일치한다는 것을 입증하였다. 샘플의 시료는 실리콘 제로-배경 기판에 중심을 맞춘 얇은 원형 층으로서 준비하였다. 산란방지 슬릿(SS)을 사용하여 공기에 의해 생성된 배경을 최소화하였다. 입사 및 회절 빔을 위한 솔러 슬릿을 사용하여 축방향 발산으로부터 넓어지는 것을 최소화하였다. 회절 패턴은 샘플로부터 240 mm 위치한 스캐닝 위치-감지 검출기 (엑스셀러레이터) 및 데이터 컬렉터 소프트웨어 v. 2.2b를 사용하여 수집하였다.

[0137] **HPLC 절차**

[0138] 하기 표는 본원에 기재된 HPLC 측정에 대한 파라미터 및 조건을 나타낸다. **4a** 및 **4b**의 보고된 HPLC 순도는 프롤린에 대한 피크를 고려하지 않는다.

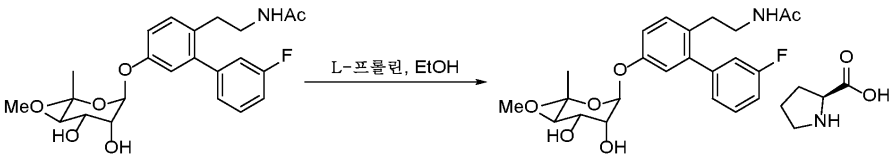
칼럼	템즈 레스텍 랩터(Thames Restek Raptor) C18 150 x 4.6 mm, 2.7 μm
이동상 A	물
이동상 B	아세토니트릴
유량	1.0 mL/min
UV 파장	215 nm
칼럼 온도	40 °C
주입 부피	10 μL
실행 시간	40 분

구배

시간 (분)	이동상 A (%)	이동상 B (%)
0	90	10
3	90	10
33	10	90
35	10	90
37	90	10
40	90	10

[0139]

[0140] **실시예 1: 4a/L-프롤린 공-결정 (물질 A)의 합성**



4a 공-결정 물질 A

[0141]

[0142] 화합물 **4a**는 크로마토그래피 분리 (HPLC: **4a** 96.4% 및 **4b** 1.2%, 500 mg)에 의해 수득되었고 EtOH (4 mL)에서 L-프롤린 (128 mg, 1 eq.)과 혼합되었다. 혼합물을 환류하에 15 min 동안 가열하였다. 고온 용액을 솜 마개를 통해 여과하였다. 생성된 투명 여액을 서서히 냉각시키고 실온에서 16 h 동안 유지하였다. 침전된 고체를 여과에 의해 수집하였고, 실온에서 공기 중에서 건조시켜 물질 A로서 지명된 **4a**/L-프롤린 공-결정 (456 mg, 73% 수율)을 백색 고체로서 제공하였다. M.P. 203-205 ℃. ^{1}H NMR은 1:1.1로서 **4a** 대 L-프롤린의 비를 나타냈다.

[0143] 물질 A는 1:1 **4a**/L-프롤린 공결정이고 이는 등구조 용매화물일 가능성이 있다. 물질 A는 XRPD 패턴 (도 23)에 기초한 미량 L-프롤린 성분을 함유하며, 이것은 성공적으로 인덱싱되었다 (표 A1). XRPD 인덱싱은 전형적으로 단일 결정질 상으로 주로 또는 독점적으로 이루어진 샘플에 성공적이다. 그러나, 8.7°, 15.0°, 및 18.0° 2Θ에서 XRPD 패턴에 존재하는 작은 피크/숄더가 인덱싱 해석과 일치하지 않고 L-프롤린에 기인할 가능성이 있다는 것을 이해하여 이 혼합물에 대한 인덱싱 해석을 얻었다. 인덱싱 해석으로부터 수득된 선택 단위 격자 파라미터는 표 A2에 제시되어 있다.

[0144] 표 A1: 4a/L-프롤린 물질 A에 대한 관측된 피크

°2θ	*d* 간격 (Å)	강도 (%)
5.81 ± 0.20	15.189 ± 0.522	6
8.52 ± 0.20	10.369 ± 0.243	100
9.19 ± 0.20	9.613 ± 0.209	63
9.92 ± 0.20	8.913 ± 0.179	23
10.49 ± 0.20	8.426 ± 0.160	7
11.68 ± 0.20	7.568 ± 0.129	57
11.87 ± 0.20	7.451 ± 0.125	65
12.21 ± 0.20	7.244 ± 0.118	29
13.22 ± 0.20	6.691 ± 0.101	67
14.75 ± 0.20	5.999 ± 0.081	73
16.07 ± 0.20	5.510 ± 0.068	18
16.33 ± 0.20	5.422 ± 0.066	78
16.68 ± 0.20	5.312 ± 0.063	20
17.10 ± 0.20	5.181 ± 0.060	45
17.57 ± 0.20	5.044 ± 0.057	54
18.32 ± 0.20	4.839 ± 0.052	29
18.54 ± 0.20	4.783 ± 0.051	27
18.87 ± 0.20	4.698 ± 0.049	30
19.26 ± 0.20	4.605 ± 0.047	39
19.50 ± 0.20	4.548 ± 0.046	75
19.65 ± 0.20	4.514 ± 0.045	35
20.17 ± 0.20	4.399 ± 0.043	27
20.34 ± 0.20	4.363 ± 0.042	46
21.22 ± 0.20	4.183 ± 0.039	70
21.79 ± 0.20	4.076 ± 0.037	21
22.08 ± 0.20	4.023 ± 0.036	8
22.34 ± 0.20	3.976 ± 0.035	8
22.61 ± 0.20	3.930 ± 0.034	6
23.51 ± 0.20	3.781 ± 0.032	35
23.79 ± 0.20	3.738 ± 0.031	50
24.58 ± 0.20	3.619 ± 0.029	26
24.88 ± 0.20	3.576 ± 0.028	15
25.12 ± 0.20	3.542 ± 0.028	13
25.48 ± 0.20	3.493 ± 0.027	24
25.96 ± 0.20	3.430 ± 0.026	8
26.20 ± 0.20	3.398 ± 0.025	16

[0145]

26.45 ± 0.20	3.367 ± 0.025	9
27.28 ± 0.20	3.266 ± 0.023	6
27.63 ± 0.20	3.225 ± 0.023	14
27.85 ± 0.20	3.201 ± 0.023	11
28.27 ± 0.20	3.154 ± 0.022	11
28.40 ± 0.20	3.140 ± 0.022	14
29.04 ± 0.20	3.072 ± 0.021	6
29.46 ± 0.20	3.029 ± 0.020	5
29.78 ± 0.20	2.998 ± 0.020	14

[0146]

[0147] **표 A2: 4a/L-프롤린 물질 A에 대한 단위 격자 파라미터**

브라베 유형	기본 사방정계
a [Å]	10.126
b [Å]	11.021
c [Å]	30.259
α [도]	90
β [도]	90
γ [도]	90
부피 [Å^3/격자]	3,376.9
키랄 함량?	키랄
소멸 부호	P 2_1 2_1 -
공간 군(들)	P$2_1$$2_1$2 (18)

[0148]

[0149] 단위 격자 부피는 용매화된 1:1 **4a**/L-프롤린 공결정을 수용하기에 충분히 크다. 자유 부피 (또는 공결정이 처리된 후 남아 있는 단위 격자 부피)는 EtOH, IPA, 및 THF를 포함하는, 물질 A가 생성되는 물 및/또는 임의의 용매에 아마 적합할 수 있었다.

[0150] 상기 기재된 바와 같은 물질 A는 추가로 DSC, TGA, 및 DVS에 의해 특성화되었다. 물질에 대한 DSC 및 TGA 서모그램의 오버레이는 도 24에 도시되어 있다. TGA 서모그램은 2개의 뚜렷한 중량 손실 단계를 나타내며, 첫 번째는 ~100 내지 160℃에서 발생하고 (7 wt%), 두 번째는 160 내지 230℃에서 발생하였다 (21 wt%). 145℃에서 피크 최대를 갖는 폭넓은 흡열선이 DSC에 의해 관측되었고, 이것은 첫 번째 TGA 중량 손실 단계에 상응한다. 이러한 사건이 발생하는 비교적 높은 온도뿐만 아니라 중량 손실의 단계적 특성은 결합된 용매/물의 손실을 나타낼 가능성이 있다. DSC에 의한 ~170 내지 ~240℃에서의 중첩 흡열 사건은 TGA 서모그램에서의 두 번째 중량 손실 단계에 상응하며, 아마 공결정의 동시 용융 및 L-프롤린 성분의 휘발에 해당한다. ~250℃ 초과에서 TGA 서모그램에서의 급격한 강하는 아마 분해에 해당한다.

[0151] 상기 기재된 바와 같은 물질 A에 대한 DVS 등온선은 도 25에 제시되어 있다. 물질은 미반응 L-프롤린과의 혼합물로서 특성화되기 때문에, 만약 있다면, 과잉 L-프롤린이 증기 수착 거동에 어떤 영향을 미쳤는지는 알려져 있지 않다. 물질은 85% RH 이상에서 상당한 흡습성을 나타내며, 85% 내지 95% RH에서 ~6 wt% 수증기를 흡수한다. 증기 수착 운동 평형은 85% - 95% RH에서 시간 초과되었고, 이는 공결정이 더 긴 평형 시간이 허용된다면 측정된 것보다 많은 수분을 잠재적으로 흡수할 수 있었다는 것을 나타낸다. 비교적 꾸준한 중량 손실은 95% 내지 5% RH에서 탈착시 주목되었다. 탈착시 손실된 중량 (~8 wt%)은 수착 동안 얻은 것보다 훨씬 많았고, 이는 물질이 분석의 시작시 용매화/수화될 가능성이 있다는 것을 나타낸다. XRPD에 의한 DVS-후 물질의 분석은 고체 형태가 온전하게 남아 있지만, 결정화도에서의 감소를 보여주었다. DVS-후 샘플에서의 과잉 L-프롤린의 존재 또는 부재는 XRPD 패턴에서의 장애로 인해 확인할 수 없었다.

[0152] **실시예 2: L-프롤린과의 공-결정화에 의한 4a의 정제**

[0153] 에탄올 (4 mL) 중 화합물 **4a** 및 **4b** (HPLC: 92.0%의 **4a** 및 7.1% **4b**) 및 L-프롤린 (128 mg, 1 eq)으로 이루어진 **4**의 500 mg 혼합물을 15 min 동안 환류시켰다. 혼합물은 실시예 1에서 얻은 공-결정으로 시딩하였고, 혼합물을 냉각시키고 이어서 실온에서 18 h 동안 유지하였다. 백색 고체는 여과하였고, 한편 잔류 고체는 모액과 함께 반응 플라스크 밖으로 옮겼다. 수집된 수량의 **4a**/L-프롤린 공-결정 (^{1}H-NMR에 의해 결정된 바와 같은 1:1 비, 497 mg, 79% 수율)은 98.0% **4a** 및 1.49% **4b** (HPLC에 의해 분석됨)로 이루어졌다.

[0154] **실시예 3: 공-결정 스크린**

[0155] 무정형 **4a**는 하기 표 1에 요약된 바와 같이, L- 및 D-프롤린 이외의 26개 공-형성제를 사용한 대략 50개 공-결정 스크린 실험에 이용하였다. 용매-보조 밀링 및 수동 그라인딩, 냉각, 증발, 슬러리, 충돌 침전, 및 반응물 결정화를 포함하여, 공-결정 형성에 적용가능한 다양한 결정화 기술이 사용되었으며, 여기서 높은 몰 과량의 한 성분을 함유하는 용액을 또 다른 성분과 조합하여 공-결정 형성을 선호하도록 반응 평형을 조장하였다. 카르복실산, 아미노산, 당, 아미드, 아민, 및 수많은 관능성 방향족 화합물을 포함하여, 수소 결합을 형성할 수 있는 관능성 기를 갖는 다양한 공형성제가 이용되었다. 이 스크린에서 탐구된 다양한 조건 및 공형성제 하에, 그러나, **4a**는 이들 공통 공형성제와 어떤 확인된 공-결정도 형성하지 않았다.

[0156] **표 1**

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
아세트산	~1:66	1) 교반하면서 빙초산을 **4a** 고체에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 냉장고, 73 일	Obs	1) 고체가 담청색으로 변한 다음 용해됨, 투명한 옅은 푸르스름한 용액 2) 투명 용액 3) 투명 용액
L-아르기닌	1:5	1) L-아르기닌을 물에 용해시키고, **4a**에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 5 mol. eq. L-아르기닌을 첨가함	Obs	1) 미용해 고체 존재 2) 투명 액체 상, 교반 바 상의 회백색 진득진득한 고체 3) 미용해 고체 존재 4) 투명 액체 상, 교반 바에 붙어 있는 진득진득한 고체
	1:10	4) RC (교반), RT, 4 일		
L-아르기닌	1:1	1) 30 Hz에서 3 x 10-min. 주기 동안 MeOH와 함께 **4a**를 밀링함 2) N2 하에 1 일 건조	Obs	1) 점착성 점성물(goo) 2) 점착성 점성물
카페인	1:2	1) ~74 °C에서 교반하면서 MEK를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) SC, ~74 °C 내지 RT, RT에서, 1 일 정치 3) 스패튤라로 찌름 4) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액 2) 많은 양의 회백색 고체, 소량의 액체가 보임 3) 고체로부터 방출된 액체 4) 백색 고체
			OM	침상, B/E
			XRPD	카페인
카페인	1:1	**4a**를 아세톤과 함께 4 분 수동 그라인딩함	Obs	자유-유동 회백색 고체
			OM	미분 및 응집체, 부분 B/E
			XRPD	카페인 + 무정형
카르바마제핀	1:1	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOAc를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 3 일 교반 3) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액 2) 불투명 백색 현탁액, 벽 상의 백색 고체 3) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	카르바마제핀

[0157]

[0158]

공형성제	**4a**/공형성제 몰비	조건	기술	결과
시트르산	1:5	1) 시트르산을 EtOH에 용해시키고, **4a**에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 5 mol. eq. 시트르산을 첨가함	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 투명 용액 4) 투명 용액 5) 투명 용액
	1:10	4) RC (교반), RT, 4 일 5) 10 mol. eq. 시트르산을 첨가함		
	1:20	6) RC (교반), RT, 46 일		
D-프룩토스	1:5	1) D-프룩토스를 MeOH에 용해시키고, **4a**에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 5 mol. eq. 프룩토스를 첨가함	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 미용해 고체 존재 4) 투명 용액 5) 미용해 고체 존재 6) 투명 액체 상, 백색 고체 7) 백색 고체
	1:10	4) RC (교반), RT, 4 일 5) 10 mol. eq. 프룩토스를 첨가함		
	1:20	6) RC (교반), RT, 16 일 7) 진공 필터	OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	D-프룩토스
푸마르산	1:2	1) ~74 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) SC, ~74 °C 내지 RT, RT에서 1 일 교반 3) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액 2) 탁한 백색 현탁액 3) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	푸마르산
푸마르산	1:10	1) 산을 THF에 용해시키고, **4a**에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 10 mol. eq. 푸마르산을 첨가함	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 미용해 고체 존재 4) 투명 액체 상, 백색 고체 5) 백색 고체
	1:20	4) RC (교반), RT, 12 일 5) 진공 필터	OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	푸마르산

[0159]

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
겐티스산	1:3	1) **4a** 및 산을 ACN에 용해시킴 2) 교반, RT, 1 일 3) 교반하면서 MTBE를 첨가함 (ACN/MTBE 1:3) 4) 교반, RT, 3 일 5) SE 6) 진공 오븐, RT, 3 일	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 용액이 매우 약간 탁해졌다가, 이어서 투명해짐 4) 투명한, 약간 호박색 용액 5) 점착성 호박색 오일에 매립된 큰 결정 6) 버블이 있는 회백색 고체
			OM (단계 5 후)	많은 판 (아마 싱글즈), B/E; 오일, B/E 없음
			OM (단계 6 후)	미공지 형태학, B/E 없음; 판, B/E
			XRPD	겐티스산
L-글루탐산	1:2	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH 및 물 (1:2)을 **4a**에 첨가함 2) 고온 필터 3) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 4 일 정치 4) 냉장고, 6 일 5) 액체를 따라내고, 고체를 N_2 하에 잠시 건조시킴	Obs	1) 약간 혼탁한 용액 2) 투명 용액 3) 투명 용액 4) 투명 액체 상, 바닥 위의 백색 고체 5) 축축한 백색 고체
			OM	불규칙 판 및 응집체, B/E
			XRPD	L-글루탐산
글리신	1:2	1) **4a**를 EtOH에 용해시킴 2) **4a** 용액을 글리신에 첨가함 3) 슬러리, RT, 4 일 4) **4a**를 1:1로 첨가함	Obs	1) 투명 용액 2) 미용해 고체 존재 3) 탁한 현탁액, 바닥 위의 큰 결정 (아마 글리신) 4) 탁함 5) 탁한 현탁액, 몇 개 큰 결정 (아마 글리신) 존재 6) 탁함 7) 탁한 현탁액, 바닥 위의 최소한의 큰 결정 8) 백색 고체
	1:1	5) 교반, RT, 3 일 6) **4a**를 1.5:1로 첨가함		
	1.5:1	7) 교반, RT, 일 8) 진공 필터		
			OM	미분, 응집체, 및 정제, B/E

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
			XRPD	글리신
글리신	1:2	1) 30 Hz에서 3 x 10 분 주기 동안 **4a**를 톨루엔과 함께 밀링함 2) N_2 하에 1 일 건조	Obs	1) 점착성 점성물 및 백색 고체 2) 회백색 점착성 점성물
히푸르산	1:1	1) ~74 °C에서 교반하면서 MEK를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) SC, ~74 °C 내지 RT, RT에서, 1 일 정치 3) 액체를 따라내고, 고체를 N_2 하에 잠시 건조시킴	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 액체 상, 백색 고체 코팅 바닥 3) 백색 고체
			OM	직사각형 판 및 응집체, B/E
			XRPD	히푸르산
트랜스-4-히드록시-L-프롤린	5:1	1) **4a**를 EtOH에 용해시킴 2) 교반하면서 **4a** 용액을 공형성제 고체에 첨가함 3) RC (교반), RT, 6 일 4) 진공 필터	Obs	1) 약간 혼탁한 담황색 용액 2) 소량의 미용해 고체 존재 3) 불투명 회백색 현탁액 4) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E 없음
			XRPD	*트랜스*-4-히드록시-L-프롤린
D-(-)-이소아스코르브산	1:2	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 3 일 교반 3) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액 2) 불투명 백색 현탁액, 벽 상의 백색 고체 3) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	D-이소아스코르브산
락트산	~1:48	1) 교반하면서 진한 락트산을 **4a** 고체에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 냉장고, 73 일	Obs	1) 걸쭉한 현탁액, 미용해 고체 존재 2) 투명 용액 3) 투명 용액

[0160]

[0161]

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
니코틴아미드	1:3	1) **4a** 및 산을 MEK에 용해시킴 2) 교반, RT, 1 일 3) 부분 SE 4) 액체를 따라내고, 고체를 N_2 하에 잠시 건조시킴	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 소량의 투명 액체 상, 바닥 및 측면 상의 회백색 고체 4) 점착성 백색 고체
			OM	가는 침상, B/E
			XRPD	니코틴아미드
니코틴아미드	1:20	1) 니코틴아미드를 MeOH에 용해시키고, **4a**에 첨가함 2) RC (교반), RT, 1 일 3) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 액체 상, 백색 고체 존재 3) 백색 고체
			OM	침상 및 응집체, B/E
			XRPD	니코틴아미드
옥살산	1:10	1) 초음파 처리하면서 ACN를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) RC (교반), RT, 2 일 3) 10 mol. eq. 산을 첨가함	Obs	1) 약간 혼탁한 용액 2) 투명 용액 3) 미용해 고체 존재 4) 투명 호박색 액체 상, 백색 고체 존재 5) 백색 고체
	1:20	4) RC (교반), RT, 11일 액체 상을 따라내고, 고체를 N_2 하에 건조시킴		
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	옥살산
L-페닐알라닌	1:2	1) ~73 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) 물을 EtOH/물 50:50에 첨가함 3) SC, ~73 °C 내지 RT, RT에서 1 일 교반 4) 진공 필터	Obs	1) 미용해 고체 2) 약간 혼탁한 현탁액 3) 탁한 현탁액 (불투명) 4) 백색 고체
			OM	미세 침상 및 응집체, B/E
			XRPD	L-페닐알라닌 반수화물
피페라진	1:1	1) **4a**를 아세톤과 함께 4 분 수동 그라인딩함 2) N_2 기체 하에 2 분 동안 건조시킴	Obs	1) 점착성 막 2) 점착성 막, 막자 및 사발로부터 긁어낼 수 없었음

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
피라세탐	1:2	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 3 일 교반	Obs	1) 투명 용액 2) 불투명 회백색 현탁액 3) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	피라세탐
L-프롤린아미드	1:2	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH를**4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 3 일 교반 3) 냉동기, 7 일 4) SE 5) 디에틸 에테르 첨가 6) 슬러리 (교반), RT, 22 일	Obs	1) 투명 황색 용액 2) 투명 황색 용액 3) 투명 황색 용액 4) 점착성 황색 오일 5) 투명 액체 상, 황색 오일 6) 투명 액체 상, 바닥 위의 황색 오일
L-프롤린아미드	1:2	1) ~73 °C에서 교반하면서 ACN를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) SC, ~73 °C 내지 RT, RT에서 1 일 교반 3) 냉동기, 16 일 4) SE 5) 교반하면서 IPE 첨가 6) 교반 , RT, 3 일	Obs	1) 투명 황색 용액 2) 투명 황색 용액, 벽 위의 반투명 막 3) 황색 액체 상, 소량의 고체 4) 점착성 황색 오일 5) 투명한 액체, 황색 오일 6) 투명 액체 상, 바닥 위의 황색 오일
프로필 갈레이트	1:1	1) 30 Hz에서 3 x 10-분 주기 동안 **4a**를 톨루엔과 함께 밀링함 2) N_2 하에 1 일 건조시킴	Obs	1) 점착성 점성물 2) 백색 점착성 점성물
프로필 갈레이트	1:1	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a**에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 4 일 정치 3) 냉동기, 2 일 4) 부분 SE 5) 냉동기 (캡핑됨), 3 일 6) SE 7) 교반하면서 MTBE를 첨가함 8) 교반, RT, 30 일 9) SE	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 투명 용액 4) 투명 용액 5) 투명 용액 6) 점착성 점성물 7) 투명 용액 8) 투명 용액 9) 점착성 호박색 오일

[0162]

[0163]

공형성제	**4a**/공형성제 몰비	조건	기술	결과
피라진	1:5	1) 피라진을 아세톤에 용해시키고, **4a**에 첨가함 2) RC (교반), RT, 3 일 3) 5 mol. eq. 피라진을 첨가함	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 황색 용액 3) 투명 용액 4) 투명 용액 5) 투명 담황색 용액 6) 투명 용액
	1:10	4) RC (교반), RT, 4 일 5) 10 mol. eq. 피라진을 첨가함		
	1:20	6) RC (교반), RT, 46 일		
피라진	1:2	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a**에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 4 일 정치 3) 냉동기, 2 일 4) 부분 SE 5) 냉동기 (캡핑됨), 3 일 6) SE 7) 교반하면서 헵탄을 첨가함 8) 교반, RT, 30 일	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 투명 용액 4) 투명 용액 5) 투명 용액 6) 점착성 점성물 7) 투명 액체 상, 담황색 점성물 8) 투명 액체 상, 바닥 위의 오일
L-피로글루탐산	1:1	1) 30 Hz에서 3 x 10-분 주기 동안 **4a**를 MeOH와 함께 밀링함 2) N_2 하에 1 일 건조시킴	Obs	1) 점착성 점성물 2) 점착성 점성물
L-피로글루탐산	1:2	1) ~75 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a**에 첨가함 2) SC, ~75 °C 내지 RT, RT에서 4 일 정치 3) 냉동기, 2 일 4) 부분 SE 5) 냉동기 (캡핑됨), 3 일 6) SE 7) 교반하면서 디에틸 에테르를 첨가함 8) 교반, RT, 5 일	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 투명 용액 4) 투명 용액 5) 투명 용액 6) 점착성 점성물 7) 투명 액체 상, 백색 점성물 8) 투명 액체 상, 백색 고체 9) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
		9) 액체 상을 따라내고, N_2 하에 고체를 건조시킴	XRPD	피로글루타믹 물질 A + 피로글루탐산

[0164]

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
L-피로글루탐산	1:1	1) 초음파 처리하면서 EtOH를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) 부분 FE, 1 일 3) N_2 스트림 하에 증발시킴 4) 교반하면서 디에틸 에테르를 첨가함 5) 시드[a]를 첨가함, 교반, RT, 10 일 6) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액 2) 소량의 투명 용액 3) 투명한 점성 오일 4) 오일이 백색이 됨 5) 투명 액체 상, 백색 고체 존재 6) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	피로글루타믹 물질 B + 피로글루탐산
L-피로글루탐산	1:1	1) 초음파 처리하면서 EtOH를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) 대안적으로 교반하면서 시드[a] 및 분취량의 디에틸 에테르를 다수회 에테르/EtOH 6:1 비에 첨가함 3) 교반, RT, 1 일 4) 교반, 2-8 °C, 11 일 5) SE 6) 고체를 오일로 긁어내고, 교반하면서 디에틸 에테르를 첨가함 7) 교반, RT, 1 일 8) 액체를 따라내고, 고체를 N_2 하에 잠시 건조시킴	Obs/OM	1) 투명 용액 2) 시드는 항상 용해되고, 항상 투명 용액임 3) 투명 용액 4) 투명 용액 5) 점착성 오일, 상부 벽 상의 소량의 고체 (불규칙 판, B/E) 6) 투명 용액, 바닥 위의 오일 7) 투명 액체 상, 회백색 고체 8) 회백색 고체
			OM (단계 8 후)	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	피로글루타믹 물질 A + 물질 B + 산

공형성제	4a/공형성제 몰비	조건	기술	결과
L-피로글루탐산	2:1	1) 초음파 처리하면서 EtOH를 **4a** 및 산 고형물에 첨가함 2) 필터 3) N_2 스트림 하에 증발시킴 4) 시드[b]를 첨가함 5) 교반하면서 디에틸 에테르를 첨가함 6) 교반, RT, 18 일 7) 진공 필터	Obs	1) 투명 용액, 약간의 부유물 2) 투명 용액 3) 투명한 점성 오일 4) 남은 시드 5) 오일이 백색, 투명 액체 상으로 변함 6) 투명 액체 상, 백색 고체 7) 백색 고체
			OM	미분 및 응집체, B/E
			XRPD	피로글루타믹 물질 B + 피로글루탐산
2,3,5,6-테트라메틸-피라진 (TMP)	1:10	1) 초음파 처리하면서 EtOAc를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) RC (교반), RT, 2 일 3) 10 mol eq. TMP를 첨가함	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 미용해 고체 존재 4) 투명 용액
	1:20	4) RC (교반), RT, 36 일		
L-트립토판	1:2	1) ~73 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a** 및 공형성제 고체에 첨가함 2) 물을 EtOH/물 3:1에 첨가함 3) SC, ~73 °C 내지 RT, RT에서 1 일 교반 4) 진공 필터	Obs	1) 미용해 고체 존재 2) 투명 용액 3) 투명 액체 상, 백색 고체 4) 빛나는 백색 고체 (진주처럼)
			OM	응집체, B/E
			XRPD	L-트립토판
우레아	1:2	1) ~74 °C에서 교반하면서 EtOH를 **4a** 및 우레아 고체에 첨가함 2) SC, ~74 °C 내지 RT, RT에서 1 일 교반 3) 냉동기, 3 일 4) 교반하면서 EtOAc (EtOAc/EtOH 6:1)를 첨가함 5) 교반, RT, 1 일 6) 냉동기, 7 일 7) 액체 상을 따라내고, 고체를 N_2 하에 잠시 건조시킴	Obs	1) 투명 용액 2) 투명 용액 3) 약간 혼탁한 현탁액 4) 약간 혼탁한 현탁액 5) 투명 액체 상, 소량 고체 6) 투명 액체 상, 소량 백색 고체 7) 백색 고체
			OM	침상, B/E
			XRPD	우레아

[0165]

[0166] [a,b] **4a** 및 피로글루탐산을 포함하는 특성화되지 않은 결정질 물질의 시드의 다양한 배치.

[0167] **실시예 4: 4a/L-프롤린 형태 B의 제조 및 특성화**

[0168] 등몰 양의 무정형 **4a** 및 L-프롤린 (1:1)을 메탄올에서 혼합하고 약 68℃로 가열하였다. 생성된 용액을 실온으로 서서히 냉각시켰고, 이 때 백색 현탁액이 형성되었다. 이어서 현탁액을 실온에서 3일 동안 교반한 후, 여과에 의해 백색 고체로서 형태 B를 수집하고 건조시켰다.

[0169] 대안적으로, 1:2 몰비의 무정형 **4a** 및 L-프롤린을 에탄올에서 조합하고 약 82℃로 가열하여 백색 현탁액을 수득하였다. 현탁액을 82℃에서 약 5 분 동안 유지하고, 실온으로 서서히 냉각시킨 다음, 실온에서 3일 동안 교반하였다. 여과에 의해 백색 고체로서 형태 B를 수집하고 건조시켰다.

[0170] 형태 B는 무수 1:2 **4a**/L-프롤린 공-결정이었다. 형태 B는 XRPD (인덱싱 포함), DSC, TGA, DVS, 라만 분광법, IR 분광법, 양성자 NMR, HPLC 및 원소 분석에 의해 특성화되었다.

[0171] 형태 B에 대한 XRPD 패턴은 성공적으로 인덱싱되었고 (표 2), 이는 형태 B가 단일 결정질 상으로 주로 또는 독점적으로 이루어진 것을 나타냈다 (도 1). 인덱싱 해석으로부터 얻은 단위 격자 부피는 무수 1:2 **4a**/L-프롤린 공-결정과 일치하였다. 하기 표 3은 단위 격자 파라미터를 나타낸다.

[0172] 표 2: 4a/L-프롤린 형태 B에 대한 관측된 피크

°2θ	*d* 간격 (Å)	강도 (%)
5.81 ± 0.20	15.204 ± 0.523	36
8.40 ± 0.20	10.512 ± 0.250	21
8.50 ± 0.20	10.396 ± 0.244	16
10.46 ± 0.20	8.454 ± 0.161	29
11.65 ± 0.20	7.590 ± 0.130	15
12.14 ± 0.20	7.286 ± 0.120	30
14.57 ± 0.20	6.076 ± 0.083	43
14.76 ± 0.20	5.998 ± 0.081	71
16.49 ± 0.20	5.371 ± 0.065	11
16.86 ± 0.20	5.253 ± 0.062	100
17.51 ± 0.20	5.061 ± 0.057	78
18.16 ± 0.20	4.881 ± 0.053	21
18.39 ± 0.20	4.819 ± 0.052	25
18.89 ± 0.20	4.694 ± 0.049	52
19.00 ± 0.20	4.667 ± 0.049	70
19.17 ± 0.20	4.627 ± 0.048	30
19.41 ± 0.20	4.570 ± 0.047	61
19.58 ± 0.20	4.530 ± 0.046	27
19.93 ± 0.20	4.452 ± 0.044	14
21.05 ± 0.20	4.217 ± 0.040	47
21.48 ± 0.20	4.134 ± 0.038	10
21.82 ± 0.20	4.070 ± 0.037	34
23.43 ± 0.20	3.794 ± 0.032	19
23.56 ± 0.20	3.774 ± 0.032	29
23.77 ± 0.20	3.740 ± 0.031	24
24.36 ± 0.20	3.651 ± 0.030	44
25.13 ± 0.20	3.541 ± 0.028	17
25.71 ± 0.20	3.462 ± 0.026	10
26.36 ± 0.20	3.378 ± 0.025	21
26.60 ± 0.20	3.348 ± 0.025	16
26.94 ± 0.20	3.306 ± 0.024	14
27.18 ± 0.20	3.278 ± 0.024	9
27.48 ± 0.20	3.243 ± 0.023	9
27.67 ± 0.20	3.221 ± 0.023	14
27.97 ± 0.20	3.188 ± 0.022	13
28.28 ± 0.20	3.153 ± 0.022	9

[0173]

28.91 ± 0.20	3.086 ± 0.021	19
29.38 ± 0.20	3.037 ± 0.020	12
29.75 ± 0.20	3.001 ± 0.020	10
29.99 ± 0.20	2.977 ± 0.019	8

[0174]

[0175] **표 3: 4a/L-프롤린 형태 B에 대한 단위 격자 파라미터**

브라베 유형	기본 단사정계
a [Å]	11.130
b [Å]	10.168
c [Å]	16.094
α [도]	90
β [도]	109.27
γ [도]	90
부피 [Å^3/격자]	1,719.3
키랄 함량?	키랄
소멸 부호	P 1 2_1 1
공간 군(들)	$P2_1$ (4)

[0176]

[0177] MeOH 슬러리로부터 단리된 형태 B의 샘플은 양성자 NMR 및 HPLC에 의해 특성화되었다. 양성자 NMR 데이터는 검출된 잔류 용매가 없는 1:2 **4a**/L-프롤린 화학량론을 나타냈다. 샘플에서의 **4a**의 순도는 HPLC에 의해 결정된 바와 같이 99.7%였다.

[0178] 형태 B에 대한 DSC 및 TGA 서모그램은 각각 도 2 및 도 3에 제시되어 있다. 각 기술에 대해 상이한 샘플이 분석되었으므로 데이터는 별도로 플로팅된다. TGA에 의해 분석된 샘플은 MeOH 슬러리로부터 단리되었고, 한편 DSC 샘플은 MeOH에서 공-결정 형성 실험으로부터 생성되었다. 주위 온도 내지 190℃에서 사실상 중량 손실이 TGA에 의해 관측되지 않았고, 무수/비-용매화된 물질과 일치하였다. DSC는 이것과도 일치하며, 208℃에서 흡열 사건의 개시까지 눈에 띄는 열 사건을 나타내지 않고, 중첩되는 강한 발열 사건이 있었다. 주목해야 할 점은, 이 분석 이후에 샘플이 팬에서 나오는 것이 관측되었는데, 발열선의 크기에 기인할 가능성이 있다. 이러한 사건은 아마 공-결정의 용융/해리에 부합한다. 유사하게, 190℃ 초과에서 TGA 서모그램에서의 급격한 감소는 공-결정의 L-프롤린 성분의 일부분의 휘발, 뒤이어 분해에 기인할 가능성이 있다.

[0179] 공-결정 화학량론을 추가로 확인하기 위해, C, H, N, F, 및 O 원소 분석에 의해 형태 B를 분석하였다 (표 4). 1:1 및 1:2 공-결정에 대한 실험적 백분율 조성 값과 이론 값의 비교는 샘플이 1:2 공-결정과 더 밀접하게 일치한다는 것을 보여준다. 이 결과는 다른 특성화 데이터와 일치하였다.

[0180] **표 4: 4a/L-프롤린 형태 B의 원소 분석**

이론적 1:1 공-결정	이론적 1:2 공-결정	실험 결과
61.9% C	60.3% C	59.78% C
7.0% H	7.1% H	6.88% H
5.0% N	6.2% N	6.28% N
3.4% F	2.8% F	2.79% F
22.7% O	23.6% O	25.12% O

[0181]

[0182] 형태 B에 대한 동적 증기 수착 (DVS) 등온선은 도 4에 나타나 있다. 2.3 wt%의 중량 증가는 5% 내지 95% RH에서 나타났고, 수착의 대부분은 50% RH 초과에서 발생하였다. 이 모든 중량은 언급된 약간의 히스테리시스와 함께 탈착시 손실되었다. 증기 수착 운동 평형은 85% - 95% RH에서 수착 단계에서 시간 초과되었고, 이는 공-결정이 더 긴 평형 시간이 허용된 경우 측정된 것보다 많은 수분을 잠재적으로 흡수할 수 있었다는 것을 나타낸다. XRPD에 의한 DVS-후 물질의 분석은 형태에서 관측가능한 변화를 나타내지 않았다.

[0183] IR 및 라만 스펙트럼이 형태 B에 대해 얻어졌고 각각 도 5 및 도 6에 제시되어 있다.

[0184] **실시예 5: 4a/L-프롤린 형태 B의 단결정 X-선 구조 결정**

[0185] **데이터 수집**

[0186] 0.70 x 0.45 x 0.30 mm의 대략적인 치수를 갖는 **4a**/L-프롤린 형태 B ($C_{34}H_{48}FN_3O_{10}$ [$C_{24}H_{30}FNO_6$, 2($C_5H_9NO_2$)])의 무

색 판을 무작위 방향으로 나일론 루프에 장착했다. 예비 조사 및 데이터 수집은 공초점 광학장치를 구비한 리가쿠 래피드(Rigaku Rapid) II 회절계에서 Cu Kα 방사선 (λ = 1.54178 Å)을 사용하여 수행하였다. 리파인먼트는 SHELX2013을 사용하여 수행하였다 (Sheldrick, G. M. *Acta Cryst.*, **2008**, A64, 112).

[0187] 데이터 수집을 위한 격자 상수 및 배향 매트릭스는 4° < Θ < 68° 범위에서 21646개 반사의 설정 각을 사용하여 최소-자승법 리파인먼트로부터 얻었다. 덴조/스케일팩(DENZO/SCALEPACK)으로부터의 리파이닝된 모자익시티(mosaicity)는 양호한 결정 품질을 나타내는 0.44° 였다 (Otwinowski, Z.; Minor, W. *Methods Enzymol.* **1997**, 276, 307). 공간 군(space group)은 프로그램 XPREP에 의해 결정되었다 (Bruker, XPREP in SHELXTL v. 6.12., Bruker AXS Inc., Madison, WI, USA, **2002**). 다음의 조건: 0k0 k = 2n의 체계적인 존재, 및 후속적 최소 자승법 리파인먼트로부터, 공간 군은 $P2_1$ (no. 4)인 것으로 결정되었다.

[0188] 데이터는 실온에서, 135.73° 의 최대 회절 각 (2Θ)에 대해 수집되었다.

[0189] **데이터 축소**

[0190] 프레임은 HKL3000을 사용하여 통합되었다 (Otwinowski (**1997**)). 총 21646개 반사를 수집하였으며, 이 중 5936개가 고유하였다. 데이터에 로렌츠(Lorentz) 및 편광 보정을 적용하였다. 선형 흡수 계수는 Cu Kα 방사선에 대하여 0.833 mm^{-1}였다. 스케일팩 (Otwinowski (**1997**))을 사용하는 경험적 흡수 보정을 적용하였다. 투과 계수는 0.128 내지 0.779의 범위였다. 이차 소멸 보정을 적용하였다 (Sheldrick (**2008**)). 최소-자승법으로 리파이닝된, 최종 계수는 0.0157(11) (절대 단위)이었다. 등가 반사의 강도를 평균 내었다. 평균화에 대한 합치 인자는 강도를 기준으로 4.1%였다.

[0191] **구조 해석 및 리파인먼트**

[0192] SHELXT (Sheldrick (2008))를 사용하는 직접 방법에 의해 구조를 해석하였다. 나머지 원자들은 계속되는 시차 푸리에 합성에 위치하였다. 수소 원자는 리파인먼트에 포함되었지만 수소 원자가 결합된 원자에 달려 있는 것으로 제한되었다. 구조는 하기 함수를 최소화하는 것에 의한 전체-매트릭스 최소-자승법으로 리파이닝되었다:

[0193] $$\sum w\left(|F_o|^2 - |F_c|^2\right)^2$$

[0194] 중량 w는 $1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0640P)^2 + (0.5095P)]$로서 정의되며, 여기서 $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$이다.

[0195] 산란 인자는 "결정학에 대한 국제표"로부터 취했다 (결정학에 대한 국제표, Vol. C, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, The Netherlands, **1992**, Tables 4.2.6.8 and 6.1.1.4). 리파인먼트에 사용된 5936개 반사 중, $F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$인 반사만을 적합 잔차(fit residual), R을 계산하는데 사용하였다. 총 5601개 반사를 계산에 사용하였다. 리파인먼트의 최종 주기는 490개 가변 파라미터를 포함하였고, 하기의 비가중 및 가중 합치 인자에 수렴하였다 (가장 큰 파라미터 이동이 그의 추정 표준 편차의 < 0.01배였음):

[0196] $$R = \sum |F_o - F_c| / \sum F_o = 0.0422$$

$$R_w = \sqrt{\left(\sum w\left(F_o^2 - F_c^2\right)^2 / \sum w\left(F_o^2\right)^2\right)} = 0.1141$$

[0197] 단위 중량의 관측치의 표준 편차 (적합도)는 1.062였다. 최종 시차 푸리에에서 가장 높은 피크는 0.187 $e/Å^3$의 높이를 가졌다. 최소 음의 피크는 -0.193 $e/Å^3$의 높이를 가졌다.

[0198] **계산된 X-선 분말 회절 (XRPD) 패턴**

[0199] 계산된 XRPD 패턴은 머큐리(Mercury) (Macrae, C. F. Edgington, P. R. McCabe, P. Pidcock, E. Shields, G. P. Taylor, R. Towler M. and van de Streek, J.; *J. Appl. Cryst.*, **2006**, 39, 453-457) 및 원자 좌표, 공간군, 및 단결정 구조로부터의 단위 격자 파라미터를 사용하여 Cu 방사선에 대해 발생시켰다.

[0200] **원자 변위 타원체 및 패킹 다이어그램**

[0201] 원자 변위 타원체 다이어그램은 머큐리를 사용하여 준비하였다 (Macrae (2006)). 원자는 50% 확률 이방성 열 타원체로 표시하였다. 패킹 다이어그램 및 추가적인 도면들은 머큐리를 사용하여 생성하였다 (Macrae (**2006**)).

수소 결합은 점선으로 표시하였다. 키랄 중심의 평가는 플라톤(PLATON)으로 수행하였다 (Spek, A. L. *PLATON. Molecular Graphics Program.* Utrecht University, Utrecht, The Netherlands, **2008**. Spek, A. L, *J.Appl.Cryst.* **2003**, 36, 7). 절대 구성은 분자 키랄성 규칙들의 사양을 사용하여 평가하였다 (Cahn, R.S.; Ingold, C; Prelog, V. *Angew. Chem. Intern. Ed. Eng.*, **1966**, 5, 385; Prelog, V., Helmchen, G. *Angew. Chem. Intern. Ed. Eng.*, **1982**, 21, 567).

[0202] **결과**

[0203] 단사정계 격자 파라미터 및 계산된 부피는 다음과 같다: a = 11.1270(4) Å, b = 10.1566(4) Å, c = 16.0790(6) Å, β = 109.309(2)° (α = γ = 90°), V = 1714.91(11) $Å^3$. 형태 B의 결정 구조에서 비대칭 단위의 화학식량은 677.75 g $몰^{-1}$이고 Z = 2이며, 1.313 g cm^{-3}의 계산된 밀도가 되었다. 공간 군은 $P2_1$ (no. 4)인 것으로 결정되었다. 결정 데이터 및 결정학적 데이터 수집 파라미터의 요약은 표 5에 제공되어 있다.

[0204] **표 5 4a/L-프롤린 형태 B에 대한 결정 데이터 및 데이터 수집 파라미터**

화학식	$C_{34}H_{48}FN_3O_{10}$
화학식량	677.77
공간 군	$P2_1$ (No. 4)
a, Å	11.1270(4)
b, Å	10.1566(4)
c, Å	16.0790(6)
b, 도	109.309(2)
V, $Å^3$	1714.91(11)
Z	2
d_{calc}, g cm^{-3}	1.312
결정 치수, mm	0.25 x 0.20 x 0.16
온도, K	295
방사선 (파장, Å)	Cu K_a (1.54178)
단색기	공초점 광학장치
선형 흡수 계수, mm^{-1}	0.833
적용된 흡수 보정	경험적[a]
투과 인자: 최소, 최대	0.128, 0.779
회절계	리가쿠 래피드 -II
h, k, l 범위	-13 내지 13 -12 내지 12 -18 내지 18
2q 범위, 도	8.42-135.73
모자익시티, 도	0.44
사용된 프로그램	SHELXTL
F_{000}	724
수집된 데이터	21646
고유 데이터	5936
R_{int}	0.041
리파인먼트에 사용된 데이터	5936
R-인자 계산에 사용된 컷오프	$F_o^2>2.0s(F_o^2)$
I>2.0s(I)를 갖는 데이터	5601
리파이닝된 소멸 계수	0.0157
변수의 개수	490
최대 시프트/최종 주기에서의 추정치	0
$R(F_o)$	0.0422

[0205]

$R_w(F_o^2)$	0.1141
적합도	1.062
절대 구조 결정	플랙 파라미터[b] (-0.02(11)) 후프트 파라미터[c] (-0.02(5)) 프리델(Friedel) 커버리지 92%

[0206]

[0207] [a] Otwinowski, Z.; Minor, W. Methods Enzymol. 1997, 276, 307.

[0208] [b] Flack,H. D. *Acta Cryst.*, **1983** A39, 876.

[0209] [c] Hooft,R.W.W., Straver,L.H., and Spek, A.L. *J. Appl. Cryst.*, **2008**, 41, 96-103.

[0210] 공간 군 및 단위 격자 파라미터는 형태 B의 XRPD 분석으로부터 얻은 것들과 일치하였다 (상기 표 3 참조).

[0211] 얻은 구조의 품질은 0.0422 (4.22%)의 적합 잔차, R에 의해 나타난 바와 같이, 높았다. 0.02 내지 0.06의 범위의 R-값은 가장 신뢰가능하게 결정된 구조에 대해 인용된 것이다 (Glusker, Jenny Pickworth; Trueblood, Kenneth N. *Crystal Structure Analysis: A Primer*, 2nd ed.; Oxford University press: New York, **1985**; p.87).

[0212] 형태 B의 원자 변위 타원체 도면은 도 7에 도시되어 있다. 단결정 구조의 비대칭 단위로 관측된 분자는 **4a**의 제안된 분자 구조와 일치하였다. 도 7에 도시된 비대칭 단위는 1개의 **4a** 분자 및 2개의 L-프롤린 분자를 함유하며, 1:2 **4a**:L-프롤린 화학량론과 일치하였다. 2개의 양성자는 프롤린 질소 원자 둘 다에 독립적으로 위치하고 리파이닝되었고, 양쪽성 이온을 나타냈다. L-프롤린 분자는 모두 82/18% 및 71/29% 점유율로 리파이닝되는, 두 위치에 걸쳐 무질서화되었다.

[0213] 절대 구조는 결정에 의한 변칙적 X-선 산란의 분석을 통해 결정할 수 있다. 플랙(Flack) 파라미터 (Flack, H. D.; Bernardinelli, G., *Acta Cryst.* **1999**, A55, 908; Flack, H. D.; Bernardinelli, G., *J. Appl. Cryst.* **2000**, 33, 1143; Flack, H. D. *Acta Cryst.* **1983**, A39, 876; Parsons, S., Flack, H. D., Wagner, T., *Acta Cryst.* **2013**, B69, 249-259)로 공지된, 리파이닝된 파라미터 x는 인버전 트윈에서 2개 성분의 상대 존재비를 인코딩한다. 구조는 리파이닝된 모델의 분수 1-x, 및 그의 역수 x를 포함한다. 낮은 표준 불확실성이 얻어진다면, 플랙 파라미터는 해석된 구조가 정확하면 0에 가까워야 하고, 역 모델이 정확하면 1에 가까워야 한다. 도 7에 도시된 형태 B의 구조에 대한 측정된 플랙 파라미터는 약한 역-구별 능력을 나타내는, 0.11의 표준 불확실성를 갖는 -0.02이고, 따라서 플랙 파라미터의 해석이 이루어질 수 없었다. 표준 불확실성에서의 오류는 플랙 인자에만 기초한 할당을 방지한다.

[0214] 플랙 파라미터 (x)의 리파인먼트는 절대 구조 할당에 대한 정량적 설명을 제공하지 못한다. 그러나, 비요부트 (Bijvoet) 차에 베이지안(Bayesian) 통계를 적용하는 접근법은 절대 구조의 상이한 가설에 일련의 확률을 제공할 수 있다 (Hooft,R.W.W., Straver,L.H., and Spek, A.L. *J. Appl. Cryst.*, **2008**, 41, 96-103; Bijvoet, J.M.; Peerdeman, A.F.; van Bommel A.J. *Nature* **1951**, 168, 271). 이 분석은 절대 구조가 정확하거나, 부정확하거나 또는 라세믹 트윈(racemic twin)인 확률에 더하여 플랙 등가 (후프트(Hooft)) 파라미터를 제공한다. 현재 데이터 세트에 대하여 플랙 등가 (후프트) 파라미터는 -0.02(5)인 것으로 결정되었고, 구조가 정확할 확률은 1.000이고, 구조가 부정확할 확률은 0.9×10^{-91}이며, 물질이 라세믹 트윈일 확률은 0.2×10^{-24}이다. 따라서, 도 7의 모델의 절대 구성은 정확하다. 이 구조는 **4a** 상에 각각 R,R,S, 및 R 구성으로 결합하는 C7, C9, C11, 및 C12 (도 7)에 위치한 4개의 키랄 중심을 포함하고, 각각의 프롤린 분자 상에 둘 다 S 구성으로 결합하는 C26 및 C31에 하나의 키랄 중심을 포함한다.

[0215] 도 8은 단결정 구조로부터 생성된, 형태 B의 계산된 XRPD 패턴을 나타낸다. 형태 B (실시예 4)의 이전에 인덱싱된 실험 XRPD 패턴은 상기에 도시되어 있고 계산된 XRPD 패턴과 일치하였다 (도 9).

[0216] **실시예 6: 4a/L-프롤린 형태 C의 제조 및 특성화**

[0217] 등몰 양의 무정형 **4a** 및 L-프롤린 (1:1)을 슬러리화하고 이어서 실온에서 3일 동안 아세톤에서 교반하였다. 슬러리를 여과하여 백색 고체로서 형태 C를 수집하였다.

[0218] 형태 C는 또한 등몰 양의 무정형 **4a** 및 L-프롤린을 EtOH에 용해시키는 것에 의해 제조하였다. 이어서 아세톤을 증기 확산 (VD)에 의해 용액에 도입하여 형태 C를 침전시켰다.

[0219] 데이터는 아세톤이 수소 결합에 참여하진 않지만, 형태 C가 결정 격자에 존재하는 1 몰의 아세톤과의 1:1 공-결정으로 이루어진 것을 보여주었다. 단결정 데이터는 화학적 및 고체 상 조성의 확인을 제공한다.

[0220] 형태 C에 대한 XRPD 패턴 (도 10)은 성공적으로 인덱싱되었고, 관측된 피크는 표 6에 도시되어 있다.

[0221] **표 6: 4a/L-프롤린 형태 C에 대한 관측된 피크**

°2θ	*d* 간격 (Å)	강도 (%)
8.73 ± 0.20	10.126 ± 0.232	67
10.51 ± 0.20	8.414 ± 0.160	46
11.83 ± 0.20	7.477 ± 0.126	32
12.10 ± 0.20	7.308 ± 0.120	62
12.26 ± 0.20	7.214 ± 0.117	36
12.44 ± 0.20	7.110 ± 0.114	31
14.64 ± 0.20	6.047 ± 0.082	97
15.14 ± 0.20	5.847 ± 0.077	50
16.13 ± 0.20	5.492 ± 0.068	13
17.53 ± 0.20	5.055 ± 0.057	100
18.26 ± 0.20	4.855 ± 0.053	62
18.91 ± 0.20	4.688 ± 0.049	71
19.36 ± 0.20	4.580 ± 0.047	74
19.56 ± 0.20	4.536 ± 0.046	56
20.17 ± 0.20	4.399 ± 0.043	20
20.97 ± 0.20	4.232 ± 0.040	24
21.15 ± 0.20	4.197 ± 0.039	22
21.33 ± 0.20	4.163 ± 0.039	54
21.55 ± 0.20	4.121 ± 0.038	29
22.40 ± 0.20	3.966 ± 0.035	14
23.18 ± 0.20	3.834 ± 0.033	29
23.71 ± 0.20	3.750 ± 0.031	20
24.02 ± 0.20	3.701 ± 0.030	33
24.34 ± 0.20	3.654 ± 0.030	25
24.73 ± 0.20	3.597 ± 0.029	40
25.87 ± 0.20	3.441 ± 0.026	23
26.54 ± 0.20	3.356 ± 0.025	17
26.71 ± 0.20	3.335 ± 0.025	15
27.09 ± 0.20	3.289 ± 0.024	12
27.38 ± 0.20	3.254 ± 0.023	16
27.86 ± 0.20	3.200 ± 0.023	8
28.40 ± 0.20	3.140 ± 0.022	12
28.73 ± 0.20	3.105 ± 0.021	11
29.05 ± 0.20	3.071 ± 0.021	10
29.45 ± 0.20	3.031 ± 0.020	23

[0222]

[0223] XRPD 인덱싱으로부터의 단위 격자 파라미터는 하기 표 7에 제시되어 있다:

[0224] **표 7: 4a/L-프롤린 형태 C에 대한 단위 격자 파라미터**

브라베 유형	기본 단사정계
a [Å]	10.992
b [Å]	10.275
c [Å]	15.362
α [도]	90
β [도]	108.07
γ [도]	90
부피 [Å^3/격자]	1,649.5
키랄 함량?	키랄
소멸 부호	P 1 2_1 1
공간 군(들)	$P2_1$ (4)

[0225]

[0226] 형태 C에 대한 TGA 서모그램은 단계적 중량 손실을 나타내며, 물질이 아세톤 용매화물로 이루어진 것이라는 결과와 일치하였다 (도 11). 아세톤은 2개의 별도의 단계로 휘발하는 것처럼 보였다. 첫 번째 단계에서는, ~60 내지 150℃에서 2.6% 중량 손실이 관측되었다. 휘발성 물질이 아세톤이라는 가정하에, 2.6 wt%는 0.26 몰 (또는 단결정 구조당 총 아세톤의 ~1/4)에 해당한다. 150 내지 220℃에서의 두 번째 중량 손실 단계는 아세톤이 유일한 휘발성 물질인 것으로 가정하면 6.7% 중량 손실, 또는 0.70 몰에 해당한다.

[0227] **실시예 7: 4a/L-프롤린 형태 C의 단결정 X-선 구조 결정**

[0228] 0.19 x 0.18 x 0.10 mm의 대략적인 치수를 갖는 $C_{32}H_{45}FN_2O_9$ [$C_{24}H_{30}FNO_6$, $C_5H_9NO_2$, C_3H_6O]의 무색 판을 무작위 방향으로 섬유에 장착했다. 예비 조사 및 데이터 수집은 공초점 광학장치를 구비한 리가쿠 래피드 II 회절계에서 Cu K_α 방사선 (λ = 1.54178 Å)을 사용하여 수행하였다. 리파인먼트는 SHELX2013을 사용하여 수행하였다 (Sheldrick (**2008**)).

[0229] 데이터 수집을 위한 격자 상수 및 배향 매트릭스는 4° < Θ < 59° 범위에서 12615개 반사의 설정 각을 사용하여 최소-자승법 리파인먼트로부터 얻었다. 덴조/스케일팩으로부터의 리파이닝된 모자익시티는 양호한 결정 품질을 나타내는 0.25° 였다 (Otwinowski (**1997**)). 공간 군은 프로그램 XPREP에 의해 결정되었다 (Bruker (**2002**)). 다음의 조건: 0k0 k = 2n의 체계적인 존재, 및 후속적 최소-자승법 리파인먼트로부터, 공간 군은 $P2_1$ (no. 4)인 것으로 결정되었다.

[0230] 데이터는 실온에서, 117.84° 의 최대 회절 각 (2Θ)에 대해 수집되었다.

[0231] 프레임은 HKL3000을 사용하여 통합되었다 (Bruker (**2002**)). 총 12615개 반사를 수집하였으며, 이 중 4368개가 고유하였다. 데이터에 로렌츠 및 편광 보정을 적용하였다. 선형 흡수 계수는 Cu Kα 방사선에 대하여 0.788 mm^{-1}였다. 스케일팩 (Bruker (**2002**))을 사용하는 경험적 흡수 보정을 적용하였다. 투과 계수는 0.060 내지 0.924의 범위였다. 이차 소멸 보정을 적용하였다 (Sheldrick (**2008**)). 최소-자승법으로 리파이닝된, 최종 계수는 0.0049(7) (절대 단위)였다. 등가 반사의 강도를 평균 내었다. 평균화에 대한 합치 인자는 강도를 기준으로 4.8%였다.

[0232] 구조 해석 및 리파인먼트는 상기 실시예 5와 유사한 방식으로 수행하였다. 리파인먼트에 사용된 4368개 반사 중, $F_o^2 > 2\sigma(F_o^2)$인 반사만을 적합 잔차, R을 계산하는데 사용하였다. 총 3518개 반사를 계산에 사용하였다. 리파인먼트의 최종 주기는 417개 가변 파라미터를 포함하였고, 하기의 비가중 및 가중 합치 인자에 수렴하였다 (가장 큰 파라미터 이동이 그의 추정 표준 편차의 < 0.01배였음):

$$R = \sum \left| F_o - F_c \right| / \sum F_o = 0.0535$$

$$R_w = \sqrt{\left(\sum w\left(F_o^2 - F_c^2\right)^2 / \sum w\left(F_o^2\right)^2 \right)} = 0.1305$$

[0233]

[0234] 단위 중량의 관측치의 표준 편차 (적합도)는 1.078이었다. 최종 시차 푸리에에서 가장 높은 피크는 0.271 e/Å^{3}의 높이를 가졌다. 최소 음의 피크는 -0.167 e/Å^{3}의 높이를 가졌다.

[0235] 계산된 XRPD 패턴 및 원자 변위 타원체 다이어그램은 실시예 5의 절차에 따라 생성되었다.

[0236] 단사정계 격자 파라미터 및 계산된 부피는 다음과 같다: a = 10.9962(6) Å, b = 10.2721(6) Å, c = 15.3197(9) Å, β = 107.937(4)° (α = γ = 90°), V = 1646.32(17) $Å^3$. 형태 C의 결정 구조에서 비대칭 단위의 화학식량은 620.70 g $몰^{-1}$이고 Z = 2이며, 1.252 g cm^{-3}의 계산된 밀도가 되었다. 공간 군은 $P2_1$ (no. 4)인 것으로 결정되었다. 결정 데이터 및 결정학적 데이터 수집 파라미터의 요약은 표 8에 제공되어 있다. 공간 군 및 단위 격자 파라미터는 XRPD 인덱싱에 의해 이전에 수득된 것과 일치하였다 (실시예 6).

[0237] **표 8 4a/L-프롤린 형태 C에 대한 결정 데이터 및 데이터 수집 파라미터**

화학식	$C_{32}H_{45}FN_2O_9$
화학식량	620.72
공간 군	$P2_1$ (No. 4)
a, Å	10.9962(6)
b, Å	10.2721(6)
c, Å	15.3197(9)
b, 도	107.937(4)
V, $Å^3$	1646.32(16)
Z	2
d_{calc}, g cm^{-3}	1.252
결정 치수, mm	0.19 x 0.18 x 0.15
온도, K	293
방사선 (파장, Å)	Cu K_a (1.54178)
단색기	공초점 광학장치
선형 흡수 계수, mm^{-1}	0.788
적용된 흡수 보정	경험적[a]
투과 인자: 최소, 최대	0.79, 0.89
회절계	리가쿠 래피드-II
h, k, l 범위	-12 내지 12 -11 내지 11 -17 내지 17
2q 범위, 도	6.06-126.82
모자익시티, 도	0.25
사용된 프로그램	SHELXTL
F_{000}	664
수집된 데이터	12615
고유 데이터	4368
R_{int}	0.048
리파인먼트에 사용된 데이터	4368
R-인자 계산에 사용된 컷오프	$F_o^2>2.0s(F_o^2)$
I>2.0s(I)를 갖는 데이터	3518
리파이닝된 소멸 계수	0.0049
변수의 개수	417
최대 시프트/최종 주기에서의 추정치	0
$R(F_o)$	0.054

[0238]

$R_w(F_o^2)$	0.131
적합도	1.078
절대 구조 결정	플랙 파라미터[b] (0.08(14)) 후프트 파라미터[c] (0.09(9)) 프리델 커버리지 86%

[0239]

[0240] [a] Otwinowski (1997).

[0241] [b] Flack (1983).

[0242] [c] Hooft (2008).

[0243] 형태 C의 원자 변위 타원체 도면은 도 12에 도시되어 있다. 단결정 구조의 비대칭 단위로 관측된 분자는 **4a**/L-프롤린의 제안된 분자 구조와 일치하였다. 도 12에 도시된 비대칭 단위는 1개의 **4a** 분자, 1개의 L-프롤린 분자, 및 1개의 아세톤 분자를 함유하였다. 2개의 양성자는 프롤린 질소 원자에 독립적으로 위치하고 리파이닝되었고, 양쪽성 이온을 나타냈다.

[0244] 도 13은 단결정 구조로부터 생성된, 형태 C의 계산된 XRPD 패턴을 보여준다. 결정이 수득된 벌크 물질의 실험 XRPD 패턴은 상기 기재된 바와 같이 도 10에 도시되어 있다. 실험 패턴의 모든 피크는 계산된 XRPD 패턴으로 표시되고, 이는 벌크 물질이 단일 상일 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 계산된 분말 회절 패턴과 실험적 분말 회절 패턴 사이의 강도 차는 종종 선호되는 배향 때문이다. 선호되는 배향은 결정이 어느 정도 순서에 따라 자체적으로 정렬되려는 경향이다. 샘플의 이 선호되는 배향은 실험적 분말 회절 패턴에서, 피크 강도에 상당히 영향을 미칠 수 있지만 피크 위치에는 영향을 미치지 않는다.

[0245] 현재 데이터 세트에 대하여 플랙 등가 (후프트) 파라미터는 실시예 5에 기재된 방식으로 결정되었고, 이는 0.09(9)인 것으로 결정되었고, 구조가 정확할 확률은 1.000이고, 구조가 부정확할 확률은 0.4×10^{-21}이며, 물질이 라세믹 트윈일 확률은 0.4×10^{-4}이다.

[0246] 따라서, 도 12의 모델의 절대 구성은 정확할 가능성이 있다. 이 구조는 **4a** 상에 각각 R, R, S, R 구성으로 결합하는 C7, C9, C11, 및 C12 (도 12)에 위치한 4개의 키랄 중심을 포함하고, 프롤린 상에 S 구성으로 결합하는 C26에 위치한 하나의 키랄 중심을 포함한다.

[0247] **실시예 8: 4a/L-프롤린 형태 D의 제조 및 특성화**

[0248] 등몰 양의 무정형 **4a** 및 L-프롤린을 아세토니트릴에서 조합하여 묽은 현탁액을 제공하였고, 이어서 이것을 약 85℃로 가열하였다. 현탁액을 약 71℃로 냉각시키고, 실시예 1에서 제조된 소량의 물질로 시딩하고, 약 71℃에서 약 15 분까지 유지하였다. 이어서 현탁액을 실온으로 서서히 냉각시키고, 이어서 3일 동안 교반하였다. 생성된 백색 현탁액을 여과하여 형태 D를 수득하였고, 이어서 이것을 건조시켰다.

[0249] 형태 D는 또한 EtOH에서 등몰 양의 무정형 **4a** 및 L-프롤린을 조합하고, 약 82℃로 가열하고, 그 온도에서 약 15 분 동안 유지하고, 약 76℃로 냉각시키고, 실시예 1에서 제조된 소량의 물질로 시딩하고, 온도로 서서히 냉각시키고, 3일 동안 교반하는 것에 의해 제조하였다. 생성된 회백색 슬러리를 여과하고, 수집된 양의 형태 D를 진공 속에서 ~48℃에서 건조시켰다.

[0250] 형태 D는 무수/비-용매화된 1:2 **4a**/L-프롤린 공-결정으로 이루어졌다. 형태 D에 대한 XRPD 패턴은 성공적으로 인덱싱되었고, 이는 물질이 단일 결정질 상으로 주로 또는 독점적으로 이루어진 것을 나타냈다 (도 14, 표 9). 인덱싱 해석으로부터 얻은 단위 격자 부피 (표 10)는 무수 1:2 **4a**/L-프롤린 공-결정과 일치하였다.

[0251] **표 9: 4a/L-프롤린 형태 D에 대한 관측된 피크**

°2θ	*d* 간격 (Å)	강도 (%)
2.82 ± 0.20	31.302 ± 2.219	13
5.68 ± 0.20	15.535 ± 0.546	50
8.45 ± 0.20	10.455 ± 0.247	16
9.20 ± 0.20	9.605 ± 0.208	100
9.78 ± 0.20	9.038 ± 0.184	24
10.46 ± 0.20	8.454 ± 0.161	10
11.42 ± 0.20	7.741 ± 0.135	25
11.83 ± 0.20	7.475 ± 0.126	62
12.17 ± 0.20	7.265 ± 0.119	33
13.15 ± 0.20	6.729 ± 0.102	37
14.42 ± 0.20	6.138 ± 0.085	23
14.62 ± 0.20	6.054 ± 0.082	70
16.19 ± 0.20	5.470 ± 0.067	84
16.46 ± 0.20	5.382 ± 0.065	16
16.94 ± 0.20	5.231 ± 0.061	47
17.16 ± 0.20	5.163 ± 0.060	80
17.56 ± 0.20	5.047 ± 0.057	14
18.22 ± 0.20	4.864 ± 0.053	24
18.45 ± 0.20	4.804 ± 0.052	75
18.95 ± 0.20	4.680 ± 0.049	21
19.10 ± 0.20	4.643 ± 0.048	30
19.31 ± 0.20	4.593 ± 0.047	46
19.52 ± 0.20	4.544 ± 0.046	77
20.15 ± 0.20	4.403 ± 0.043	94
20.98 ± 0.20	4.230 ± 0.040	45
21.15 ± 0.20	4.196 ± 0.039	62
21.53 ± 0.20	4.124 ± 0.038	25
22.49 ± 0.20	3.951 ± 0.035	18
22.96 ± 0.20	3.870 ± 0.033	26
23.35 ± 0.20	3.807 ± 0.032	49
23.98 ± 0.20	3.707 ± 0.030	29
24.51 ± 0.20	3.629 ± 0.029	52
25.34 ± 0.20	3.512 ± 0.027	40
25.95 ± 0.20	3.431 ± 0.026	22
26.64 ± 0.20	3.343 ± 0.025	14
27.07 ± 0.20	3.291 ± 0.024	15
27.70 ± 0.20	3.218 ± 0.023	16

[0252]

27.88 ± 0.20	3.198 ± 0.022	27
28.30 ± 0.20	3.151 ± 0.022	17
29.04 ± 0.20	3.072 ± 0.021	12
29.45 ± 0.20	3.030 ± 0.020	14

[0253]

[0254] **표 10: 4a/L-프롤린 형태 D에 대한 단위 격자 파라미터**

브라베 유형	기본 사방정계
a [Å]	10.092
b [Å]	11.112
c [Å]	30.974
α [도]	90
β [도]	90
γ [도]	90
부피 [Å^3/격자]	3,473.3
키랄 함량?	키랄
소멸 부호	P 2_1 2_1-
공간 군(들)	P2_12_1 (18)

[0255]

[0256] 형태 D는 열 기술, 양성자 NMR, HPLC, 및 DVS에 의해 특성화되었다. 건조된 형태 D에 대한 DSC 및 TGA 서모그램의 오버레이는 도 15에 도시되어 있다. 185℃까지 TGA에 의한 미미한 중량 손실 및 DSC에 의한 폭넓은 탈용매화 흡열선의 부재는 무수/비-용매화된 물질과 일치하였다. 132℃에서 작고 폭넓은 흡열선이 관측되었다 (피크 최대). 211℃에서 개시되는 급격한 흡열선은 TGA 서모그램에서 26 wt%의 가파른 단계적 중량 손실에 해당하며, 공-결정의 동시 용융 및 L-프롤린의 휘발에 해당할 가능성이 있다.

[0257] 양성자 NMR 데이터는 0.2 wt% 잔류 EtOH가 검출된 1:2 **4a**/L-프롤린 화학량론을 나타냈다. 샘플에서 **4a**의 순도는 HPLC에 의해 99.6%였다.

[0258] 형태 D에 대한 DVS 등온선은 도 16에 도시되어 있다. 물질은, 특히 55% RH 초과에서 상당한 흡습성을 나타내며, 4.7 wt%의 중량 증가가 5% 내지 95% RH에서 나타났다. 모든 이 중량은 탈착시 손실되었고, 약간의 히스테리시스가 관측되었다. 주목해야 할 점은, 수착 단계에서 85% - 95% RH에서 증기 수착 운동 평형이 시간 초과되었으며, 이는 공-결정이 더 긴 평형 시간이 허용된 경우 측정된 것보다 많은 수분을 잠재적으로 흡수할 수 있었다는 것을 나타낸다.

[0259] **실시예 9: 4a/L-프롤린 형태 G의 제조 및 특성화**

[0260] 무정형 **4a**, 피라진, 및 L-프롤린은 먼저 피라진을 메틸 에틸 케톤 및 MeOH (90:10, v/v)에 용해시키는 것에 의해, 각각 1:20:1 몰비로 조합되었다. 피라진 용액을 **4a** 및 L-프롤린 혼합물에 첨가하고 실온에서 2일 동안 교반하여 불투명한 백색 현탁액을 제공하였다. 형태 G는 현탁액을 진공 여과하는 것에 의해 단리되었다.

[0261] 형태 G는 MEK 용매화된 **4a**/L-프롤린 공-결정으로 이루어졌다. 형태 G는 인덱싱된 XRPD (도 17)에 의해 독특한 결정질 패턴을 나타냈다 (표 11).

[0262] **표 11: 4a/L-프롤린 형태 G에 대한 관측된 피크**

°2θ	*d* 간격 (Å)	강도 (%)
8.66 ± 0.20	10.200 ± 0.235	50
10.42 ± 0.20	8.480 ± 0.162	47
11.85 ± 0.20	7.461 ± 0.125	43
12.09 ± 0.20	7.316 ± 0.121	27
12.20 ± 0.20	7.247 ± 0.118	39
14.62 ± 0.20	6.056 ± 0.082	100
14.93 ± 0.20	5.927 ± 0.079	45
16.14 ± 0.20	5.485 ± 0.068	7
17.40 ± 0.20	5.092 ± 0.058	85
17.85 ± 0.20	4.965 ± 0.055	53
18.22 ± 0.20	4.865 ± 0.053	27
18.31 ± 0.20	4.842 ± 0.052	25
18.79 ± 0.20	4.719 ± 0.050	64
19.28 ± 0.20	4.600 ± 0.047	85
19.43 ± 0.20	4.565 ± 0.047	46
19.81 ± 0.20	4.479 ± 0.045	22
20.43 ± 0.20	4.344 ± 0.042	6
20.94 ± 0.20	4.239 ± 0.040	23
21.14 ± 0.20	4.198 ± 0.039	47
21.59 ± 0.20	4.113 ± 0.038	24
22.15 ± 0.20	4.010 ± 0.036	12
22.66 ± 0.20	3.921 ± 0.034	25
23.79 ± 0.20	3.738 ± 0.031	37
24.28 ± 0.20	3.663 ± 0.030	34
24.56 ± 0.20	3.622 ± 0.029	23
24.77 ± 0.20	3.592 ± 0.029	10
25.42 ± 0.20	3.501 ± 0.027	13
25.94 ± 0.20	3.432 ± 0.026	15
26.07 ± 0.20	3.415 ± 0.026	15
26.62 ± 0.20	3.345 ± 0.025	12
26.80 ± 0.20	3.323 ± 0.024	10
27.33 ± 0.20	3.261 ± 0.023	13
27.89 ± 0.20	3.197 ± 0.022	7
28.18 ± 0.20	3.165 ± 0.022	10
28.59 ± 0.20	3.120 ± 0.021	15
29.08 ± 0.20	3.068 ± 0.021	11
29.54 ± 0.20	3.022 ± 0.020	18

[0263]

[0264] XRPD 패턴을 인덱싱하는 것으로부터 얻은 단위 격자 부피 (표 12)는 최대 1 몰의 MEK 또는 피라진이 존재하는 1:1 **4a**/L-프롤린 공-결정과 일치하였다 (MEK 및 피라진 분자는 부피가 비슷하고 XRPD 인덱싱에 의해 구별될 수 없다). 단위 격자 파라미터 (표 12)는 또한 형태 G가 형태 B 및 C와 등구조인 것을 나타낸다. 형태 G는 양성자 NMR에 의해 **4a**, L-프롤린, MEK, 및 미량의 잔류 피라진을 ~1:1.2:0.6:0.1 몰비로 함유하는 것으로 확인되었다.

[0265] **표 12: 4a/L-프롤린 형태 G에 대한 단위 격자 파라미터**

브라베 유형	기본 단사정계
a [Å]	10.975
b [Å]	10.310
c [Å]	15.704
α [도]	90
β [도]	108.56
γ [도]	90
부피 [Å^3/격자]	1,684.5
키랄 함량?	키랄
소멸 부호	P 1 2_1 1
공간 군(들)	$P2_1$ (4)

[0266]

[0267] 형태 B 및 C의 단결정 분석은 그러한 형태가 등구조이고, **4a** 및 L-프롤린이 형태 B를 위해 추가의 L-프롤린을 수용하고 형태 C를 위해 아세톤을 수용하는 채널을 형성한다는 것을 나타냈다. 각각의 채널에서 L-프롤린 및 아세톤 분자는 모두 채널을 구성하는 분자와 수소 결합을 형성하지 않는다. 상기 언급된 바와 같이, 형태 G에 대해 얻은 공간 군 및 다른 단위 격자 파라미터는 그것이 형태 B 및 C와 등구조인 것을 나타냈다. 다른 설명이 가능하지만, 그러한 형태에 대한 분자 패킹 및 형태 G에 대한 양성자 NMR에 의해 측정된 L-프롤린 및 MEK의 비-화학량론적 당량에 대해 공지된 것을 고려하면, 형태 G의 채널은 채널 내 수소 결합의 부재에 의해 야기된 교환의 용이성으로 인해 L-프롤린 및 MEK를 모두 비-화학량론적 (및 아마 가변적) 비로 수용할 수 있을 확률이 높다.

[0268] **실시예 10: 공-결정 형성에 의한 4a의 정제**

[0269] **A. L-프롤린을 사용한 정제**

[0270] 상기 절차에 따른 **4**의 공-결정화는 형태 B 및 형태 D로 이어졌고, 이에 의해 β-아노머 **4b**의 양을 매우 효율적으로 감소시켰다. 무정형 **4**의 전형적인 배치는 HPLC에 의해 결정된 바와 같이 93.2%/6.3%의 **4a**/**4b**로 이루어졌다. 전형적인 실험에서 공-결정 형성 단계 후, **4b**의 수준을 6.3%에서 2.4% (HPLC)로 감소시켰다. 생성된 **4a**/L-프롤린 공-결정은 이를 MeOH (2 부피)와 혼합함으로써 재결정화되고, 혼합물을 환류하에 3 h 동안 가열하였다. 혼합물을 2.5 h에 걸쳐 0 ± 3℃로 냉각시키고, 이어서 밤새 교반하였다. 생성된 고체는 여과에 의해 수집하였다. 재결정화 후, **4b**의 양은 1.2%로 더 감소되었고, **4a**의 순도는 98.7% (HPLC)로 향상되었다.

[0271] **B. D-프롤린을 사용한 정제**

[0272] 무정형 화합물 **4**의 별도의 양은 HPLC에 의해 결정된 바와 같이 89.3% **4a** 및 10.1% **4b**를 함유하였다. EtOH (2.4 mL) 중 화합물 **4** (300 mg, 0.670 mmol) 및 D-프롤린 (77.3 mg, 0.671 mmol)을 90 ℃ 오일 배스에서 가열하였다. 15 min 동안 환류시킨 후, 생성된 용액을 바이알에서 실온으로 냉각시키고, EtOH가 실온에서 서서히 증발하도록 바이알 캡이 제거된 채 24 h 동안 유지하였다. 침전된 고체는 여과에 의해 수집하였고, 공기 중에서 건조시켜 **4a**/D-프롤린 공-결정을 제공하였다. 공-결정은 HPLC에 의해 결정된 바와 같이 97.6% **4a** 및 2.1% **4b**를 함유하였다 (150 mg, 백색 고체로서 40% 수율). 공-결정의 ^{1}H NMR 분석은 1:1 몰비의 **4a** 및 D-프롤린을 보여주었다.

[0273] **실시예 11: 4a/D-프롤린 공-결정의 제조 및 특성화**

[0274] EtOH (0.8 mL) 중 화합물 **4a** (100 mg, 0.223 mmol) 및 D-프롤린 (25.8 mg, 0.224 mmol)의 혼합물을 90 ℃ 오일 배스에서 가열하였다. 15 min 동안 환류시킨 후, 용액을 실온으로 냉각시키고, 캡핑된 바이알에서 24 h 동안 실온에서 유지하였다. 이어서 EtOH가 실온에서 서서히 증발하도록 바이알 캡을 제거하였다. 24 h 후, 침전된 고체는 여과에 의해 수집하였고, 이어서 공기 중에서 건조시켜 백색 고체로서 **4a**/D-프롤린 공-결정 (74 mg, 59% 수율)을 99+% 순도 (HPLC)로 제공하였다. ^{1}H NMR 분석은 공-결정이 1/1 비의 화합물 **4a** 및 D-프롤린을 함유한다는 것을 보여주었다.

[0275] **4a**/D-프롤린 공-결정은 XRPD, DSC, TGA, 및 DVS에 의해 특성화되었다. **4a**/D-프롤린 공-결정에 대한 XRPD 패턴은 성공적으로 인덱싱되었고, 이는 물질이 단일 결정질 상으로 주로 또는 독점적으로 이루어진 것을 나타냈다

(도 18, 표 13).

[0276] **표 13: 4a/D-프롤린에 대한 관측된 피크**

°2θ	*d* 간격 (Å)	강도 (%)
5.76 ± 0.20	15.323 ± 0.531	14
5.90 ± 0.20	14.964 ± 0.507	13
8.45 ± 0.20	10.453 ± 0.247	79
8.74 ± 0.20	10.113 ± 0.231	42
9.22 ± 0.20	9.579 ± 0.207	57
9.81 ± 0.20	9.007 ± 0.183	20
10.44 ± 0.20	8.470 ± 0.162	19
11.55 ± 0.20	7.653 ± 0.132	62
11.77 ± 0.20	7.511 ± 0.127	75
12.19 ± 0.20	7.256 ± 0.119	41
12.30 ± 0.20	7.189 ± 0.116	25
13.18 ± 0.20	6.713 ± 0.101	83
14.04 ± 0.20	6.303 ± 0.089	7
14.52 ± 0.20	6.094 ± 0.083	92
14.68 ± 0.20	6.028 ± 0.082	44
15.04 ± 0.20	5.886 ± 0.078	15
15.93 ± 0.20	5.559 ± 0.069	26
16.19 ± 0.20	5.470 ± 0.067	40
16.57 ± 0.20	5.345 ± 0.064	13
16.95 ± 0.20	5.226 ± 0.061	66
17.27 ± 0.20	5.131 ± 0.059	28
17.38 ± 0.20	5.099 ± 0.058	48
17.56 ± 0.20	5.045 ± 0.057	66
17.80 ± 0.20	4.980 ± 0.056	28
18.22 ± 0.20	4.865 ± 0.053	18
18.43 ± 0.20	4.810 ± 0.052	16
18.73 ± 0.20	4.735 ± 0.050	49
19.12 ± 0.20	4.639 ± 0.048	53
19.26 ± 0.20	4.604 ± 0.047	36
19.40 ± 0.20	4.573 ± 0.047	40
19.54 ± 0.20	4.539 ± 0.046	100
19.78 ± 0.20	4.485 ± 0.045	21
20.19 ± 0.20	4.394 ± 0.043	33
20.60 ± 0.20	4.308 ± 0.041	8
20.91 ± 0.20	4.245 ± 0.040	35
21.23 ± 0.20	4.183 ± 0.039	96
21.41 ± 0.20	4.146 ± 0.038	23
21.62 ± 0.20	4.107 ± 0.038	32
21.84 ± 0.20	4.066 ± 0.037	11
22.15 ± 0.20	4.009 ± 0.036	6

[0277]

22.37 ± 0.20	3.972 ± 0.035	10
22.59 ± 0.20	3.934 ± 0.034	9
22.73 ± 0.20	3.910 ± 0.034	20
23.25 ± 0.20	3.823 ± 0.032	26
23.57 ± 0.20	3.771 ± 0.032	53
23.80 ± 0.20	3.736 ± 0.031	23
23.99 ± 0.20	3.706 ± 0.030	9
24.23 ± 0.20	3.670 ± 0.030	13
24.32 ± 0.20	3.657 ± 0.030	13
24.58 ± 0.20	3.619 ± 0.029	28
24.88 ± 0.20	3.575 ± 0.028	14
25.38 ± 0.20	3.506 ± 0.027	27
25.76 ± 0.20	3.456 ± 0.026	10
26.11 ± 0.20	3.410 ± 0.026	15
26.25 ± 0.20	3.392 ± 0.025	11
26.56 ± 0.20	3.354 ± 0.025	6
26.71 ± 0.20	3.335 ± 0.025	9
27.01 ± 0.20	3.299 ± 0.024	10
27.41 ± 0.20	3.251 ± 0.023	14
27.71 ± 0.20	3.216 ± 0.023	26
27.93 ± 0.20	3.192 ± 0.022	13
28.14 ± 0.20	3.168 ± 0.022	17
28.68 ± 0.20	3.110 ± 0.021	9
29.09 ± 0.20	3.067 ± 0.021	7
29.30 ± 0.20	3.045 ± 0.020	19

[0278]

[0279] 물질에 대한 DSC/TGA 오버레이는 도 19에 도시되어 있다. **4a**/D-프롤린 공-결정에 대한 TGA 서모그램은 2개의 뚜렷한 중량 손실 단계를 나타내며, 첫 번째는 ~100℃ 내지 150-160℃에서 발생하고 (7.0% 중량 손실), 두 번째는 150 내지 230℃에서 발생하였다 (20.0% 중량 손실). 130℃에서 피크 최대를 갖는 폭넓은 흡열선이 DSC에 의해 관측되었고, 이것은 아마 결합된 용매/물의 손실에 기인한 것인, 첫 번째 TGA 중량 손실 단계에 해당한다. 중첩 흡열 사건은 ~170℃ 초과에서 관측되었고, 아마 공-결정의 D-프롤린 성분의 동시 용융/휘발 때문일 것이다. ~250℃ 초과에서 TGA 서모그램에서의 급격한 강하는 아마 분해에 해당된다.

[0280] D-프롤린 공-결정에 대한 DVS 등온선은 도 20에 제시되어 있다. 수착시, 공-결정은 5% 내지 95% RH에서 26 wt% 증가하였고, 중량 증가의 대부분은 85% 내지 95% RH에서 발생하였다. 이 단계 동안 운동 평형은 시간 초과되었으며, 이는 공-결정이 더 긴 평형 시간이 허용된다면 측정된 것보다 많은 수분을 잠재적으로 흡수할 수 있었다는 것을 나타낸다. 탈착시, 공-결정은 95% 내지 5% RH에서 비교적 꾸준한 중량 손실을 나타냈고 수착 동안 증가된 것보다 많은 중량을 잃었으며 (29 wt%), 이는 물질이 분석의 시작시 용매/물을 함유했을 가능성이 있다는 것을 나타낸다. 주목해야 할 점은, D-프롤린 공-결정의 DVS-후 샘플이 팬에 붙어 있는 것으로 관측되었고 회수할 수 없었으며, 실험 동안 부분 조해를 나타낸다.

[0281] **실시예 12: 마우스에 4a/L-프롤린 물질 A 및 무정형 4a의 비교 투여**

[0282] 본 실시예는 수컷 C57BL/6 마우스에서 무정형 **4a**의 현탁액 제형과 비교하여 실시예 1에서 제조된 바와 같은 물질 A의 현탁액 제형의 경구 투여 후 **4a**에 대한 전신 노출을 평가하였다.

[0283] 무정형 **4a** 또는 물질 A는 0.5% CMC에서 5% DMSO (중량 기준으로 프롤린의 존재를 고려함)로 제형화되었고 15 mL/kg의 투여량 부피를 사용하여 1000 mg/kg으로 35마리 수컷 C57BL/6 마우스에게 경구 위관영양법에 의해 투여되었다. 혈장 분리를 위한 혈액 샘플은 하기 표 14에 요약된 바와 같이, 각 시점에 대해 마우스의 개별 그룹 (n=5/그룹/시점)을 사용하여, 투여-후 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 및 24 시간에 수집되었다. 혈장 샘플은 하기 기재된 바와 같은 LC/MS/MS 방법론에 의해 **4a**의 농도에 대해 분석되었다.

[0284] **표 14: 마우스 연구의 요약**

그룹	시험 물품	N	투여 경로	비히클	용량 수준(mg/kg)	용량 부피 (mL/kg)	혈액 수집 시간 (hr)
1	무정형 **4a**	35	PO	멸균수 중 0.5% CMC/5% DMSO	1000	15	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, & 24
2	물질 A	35	PO	멸균수 중 0.5% CMC/5% DMSO	1000	15	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, & 24

[0285]

[0286] **시약 및 공급품:** 모든 시약 및 공급품은 적절한 경우 고품질 및 LC/MS 등급이었고 표준 상업적 공급업체로부터 얻었다.

[0287] **혈장 샘플 제조:** **4a**는 단백질 침전 방법을 사용하여 K_3EDTA-강화 혈장 샘플로부터 추출하였다. 폴리프로필렌 마이크로플레이트의 웰 (96-웰)에, 아세토니트릴/H_2O (1:1)에서 제조된 20 μL의 2.5-ng/mL D_3-**4a** (내부 표준, IS) 용액을 첨가한 다음, 20 μL의 혈장 샘플을 첨가하였다. 플레이트를 밀봉 테이프 (페노메넥스 (Phenomenex), AH0- 7362)로 밀봉하고 1 분 동안 볼텍스-믹서로 부드럽게 혼합하였다. 500 μL의 메탄올을 함유하는 폴리프로필렌 플레이트의 웰 (96-웰, 2 mL, 페노메넥스, AH0-7194) 내로 용액을 피펫팅하였다. 플레이트를 밀봉하고 5 분 동안 볼텍스-혼합한 다음, 실온에서 3 분 동안 3000 x g로 원심분리하였다. 상청액의 300-μL 분취량을 300 μL의 탈이온수를 함유하는 새로운 웰로 옮겼다. 부드럽게 혼합한 후, 플레이트를 밀봉하고 12 ℃로 유지된 LC 오토샘플러에 넣었고, **4a**의 정량 분석을 위해 10-μL 분취량을 LC/MS/MS 시스템에 주입하였다.

[0288] **크로마토그래피 및 질량 분광분석법 조건:** **4a**의 액체 크로마토그래피 분리는 H_2O, 아세토니트릴, 및 포름산을 함유하는 이동상 용액을 사용하여 역상 분석 칼럼에 의해 달성되었다. 크로마토그래피 피분석물은 다중-반응-모니터링 (MRM) 방식으로 작동하는 워터스 제보(Waters Xevo) TQ-S 삼중 사극자 질량 분광기에 의해 검출되었다. 품질 관리 샘플, 보정 표준물, 및 연구 샘플에 대한 크로마토그래피 피크 면적은 매스링스(MassLynx) 소프트웨어 V4.1을 사용하여 적분하였다 (워터스 코포레이션).

[0289] **약동학적 분석:** 약동학적 파라미터 추정치는 윈논린(WinNonlin)™ 소프트웨어 버전 6.3 (파사이트 코포레이션 (Pharsight Corp.), 노스캐롤라이나주 캐리 소재)을 사용하여 각 용량 그룹에 대해 평균 **4a** 혈장 농도-시간 데이터의 비구획 분석으로부터 얻었다. 시간 0에서 **4a**의 마지막 측정가능한 농도의 시간 (t)까지의 혈장 농도-시간 곡선 아래 영역 ($AUC_{(0-t)}$)은 선형 로그 사다리꼴 규칙을 사용하여 결정되었다. 마지막 측정가능한 농도의 시간은 **4a** 농도가 각 용량 그룹에 대해 대부분의 동물에서 정량 한계 미만 (BLQ)이 되는 시간으로서 정의되었다.

[0290] **결과:** 물질 A 및 무정형 **4a**의 1회 경구 위관영양법 투여 후 평균 (±SD) **4a** 혈장 농도-시간 데이터는 하기 표 15에 제시되어 있고 도 21에 나타나 있다. **4a**에 대한 약동학적 파라미터 추정치는 표 16에 제시되어 있다.

[0291] **표 15: 물질 A 및 무정형 4a의 1회 경구 용량의 투여 이후의 마우스에서의 4a의 평균 (±SD) 혈장 농도**

시간 (hr)	**4a** 혈장 농도 (ng/mL)	
	물질 **A**	무정형 **4a**
0.25	9770 ± 6480	6760 ± 2840
0.5	8090 ± 690	3060 ± 1600
1	733 ± 336	359 ± 140
2	51.4 ± 27.7	80.7 ± 116
4	15.8 ± 17.9	2.28 ± 0.92
8	3.68 ± 6.12	4.01 ± 4.34
24	BLQ[a]	BLQ[a]

[0292]

[0293] [a] 그룹의 모든 샘플은 BLQ였음.

[0294] **표 16: 마우스에 1회 경구 투여 후 혈장 약동학적 파라미터 추정치**

그룹	용량 (mg/kg)	T_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (hr*ng/mL)
물질 A	1000	0.25	9770	5330
무정형 **4a**	1000	0.25	6760	2880

[0295]

[0296] **실시예 13: 원숭이에 4a/L-프롤린 물질 A 및 무정형 4a의 비교 투여**

[0297] 본 실시예는 하기 표 17에 요약된 바와 같이, 비히클로서 멸균수 중 0.5% 카르복시메틸셀룰로스 (CMC) (5 mL/kg)를 사용하여 30 mg/kg으로 또는 느슨하게-충전된 캡슐로 50 mg (체중에 상관없이)으로 1회 경구 위관영양법 투여 후 수컷 게먹이 원숭이에서, 각각 실시예 1에서 제조된 바와 같은 물질 A 및 무정형 **4a** 제형의 전신 노출을 평가하였다.

[0298] **표 17: 원숭이 연구의 요약**

그룹	시험 물품	N	투여 경로	비히클	용량 수준	용량 부피 (mL/kg)	혈액 수집 시간 (hr)
1	물질 A	3	PO	멸균수 중 0.5% CMC	30 mg/kg	5	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24
2	무정형 **4a**	3	PO	멸균수 중 0.5% CMC	30 mg/kg	5	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24
3	물질 A	3	PO	젤라틴 캡슐 (크기 00)	50 mg[a]	NA[b]	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24
4	무정형 **4a**	3	PO	젤라틴 캡슐 (크기 00)	50 mg[a]	NA[b]	0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24

[0299]

[0300] [a] 체중과 상관없이 투여된 용량

[0301] [b] NA, 적용가능하지 않음

[0302] 물질 A의 투여는 중량 기준으로 프롤린의 존재를 설명하였다. 혈장 분리를 위한 혈액 샘플은 각 원숭이로부터 투여-후 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 및 24 시간에 수집되었다. 혈장 샘플은 LC/MS/MS 방법론에 의해 **4a**의 농도에 대해 분석되었고, 약동학적 분석은 상기 실시예 12에 기재된 바와 같이 수행되었다.

[0303] **결과:** 1회 경구 위관영양법 (30 mg/kg, 5 mL/kg) 후 또는 캡슐 투여 (50 mg) 후 평균 (±SD) 혈장 농도는 하기 표 18에 제시되어 있고 도 22에 나타나 있다. 약동학적 파라미터 추정치는 표 19에 제시되어 있다.

[0304] **표 18: 현탁액 또는 캡슐로서 물질 A 또는 무정형 4a의 경구 투여 이후의 원숭이에서의 평균 (±SD) 4a 혈장 농도**

4a 혈장 농도 (ng/mL)				
시간 (hr)	경구 위관영양법 (30 mg/kg)		캡슐 (50 mg)	
	물질 A	무정형 4a	물질 A	무정형 4a
0.25	264 ± 193	103 ± 71	32.1 ± 25.1	15.9 ± 12.9
0.5	265 ± 79	129 ± 92	40.8 ± 16.4	12.3 ± 5.5
1	225 ± 67	128 ± 56	19.6 ± 8.9	5.97 ± 0.95
2	111 ± 39	80.2 ± 26.4	0.333 ± 0.230[a]	1.90 ± 1.89
4	11.3 ± 3.3	14.1 ± 5.5	0.349 ± 0.259[a]	0.200[b]
8	1.60 ± 0.70	1.20 ± 0.45	0.348 ± 0.256[a]	0.951 ± 1.30[a]
12	0.463 ± 0.228[c]	BLQ[d]	2.64 ± 3.48[c]	3.53 ± 5.78[a]
24	BLQ[e]	BLQ[d]	12.5 ± 11.0[c]	6.11 ± 9.23[c]

[0305]

[0306] [a] 중간 시점에 대한 (즉, 정량화가능한 값을 갖는 2개 시점 사이의) 3개 값 중 2개는 정량 한계 미만 (BLQ)이었고 더 낮은 정량 한계 (LLOQ) ½ (즉, 0.200 ng/mL)로서 평균에 포함됨

[0307] [b] 중간 시점에 대한 (즉, 정량화가능한 값을 갖는 2개 시점 사이의) 모든 값은 BLQ였고 LLOQ ½ (즉, 0.200 ng/mL)로서 보고됨

[0308] [c] 3개 값 중 1개는 BLQ였고 평균 및 표준 편차를 계산하기 위해 LLOQ ½ 값 (즉, 0.200 ng/mL)으로 할당됨

[0309] [d] 3개 샘플 중 2개가 BLQ였기 때문에 평균은 BLQ로서 보고됨

[0310] [e] 모든 값은 BLQ였음.

[0311] **표 19: 현탁액 또는 캡슐의 경구 위관영양법에 의한 4a의 투여 이후의 원숭이에서의 평균 (±SD) 약동학적 데이터**

[0312]

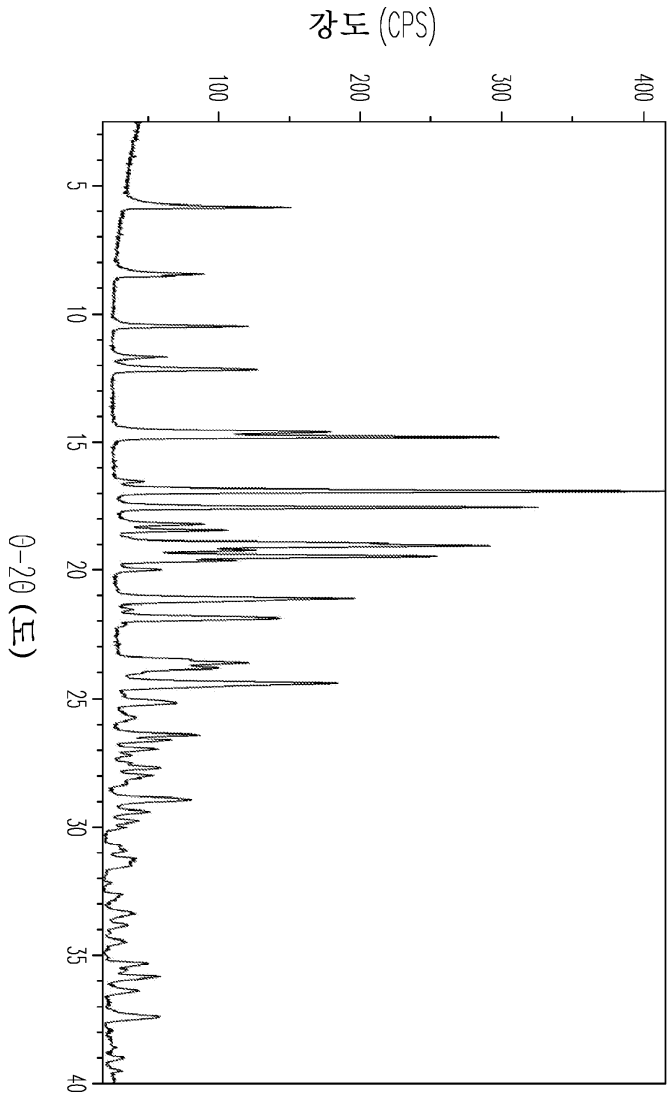
그룹	T_{max} (hr)[a]	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0-t)}$ (hr*ng/mL)
물질 A (30 mg/kg)	0.25	309 ± 117	491 ± 120
무정형 **4a** (30 mg/kg)	0.5	160 ± 78	307 ± 96
물질 A (50 mg 캡슐)	0.25	51.0 ± 7.6	110 ± 85
무정형 **4a** (50 mg 캡슐)	0.25	19.7 ± 9.4	81.6 ± 105

[0313] [a] 중앙값으로 제시된 데이터

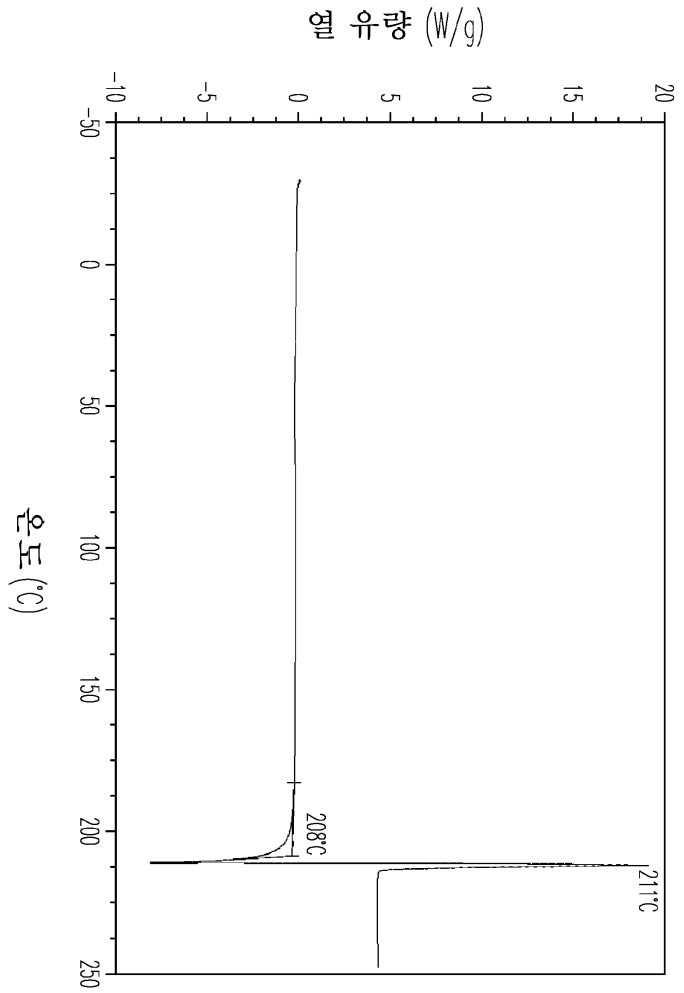
[0314] 두 캡슐 제형 (그러나 경구 현탁액 제형은 아님)은 모두 투여-후 4 및 8 시간에 더 낮은 정량 한계 미만 또는 그 근처에 있는 **4a** 혈장 농도 (즉, 0.400 ng/mL)를 생성하였지만 24 시간에 물질 A 및 무정형 **4a** 제형에 대해 각각 12.5 ± 11.0 및 6.11 ± 9.23 ng/mL의 평균 (±SD) **4a** 농도를 갖는 노출의 이차 피크를 나타냈다.

도면

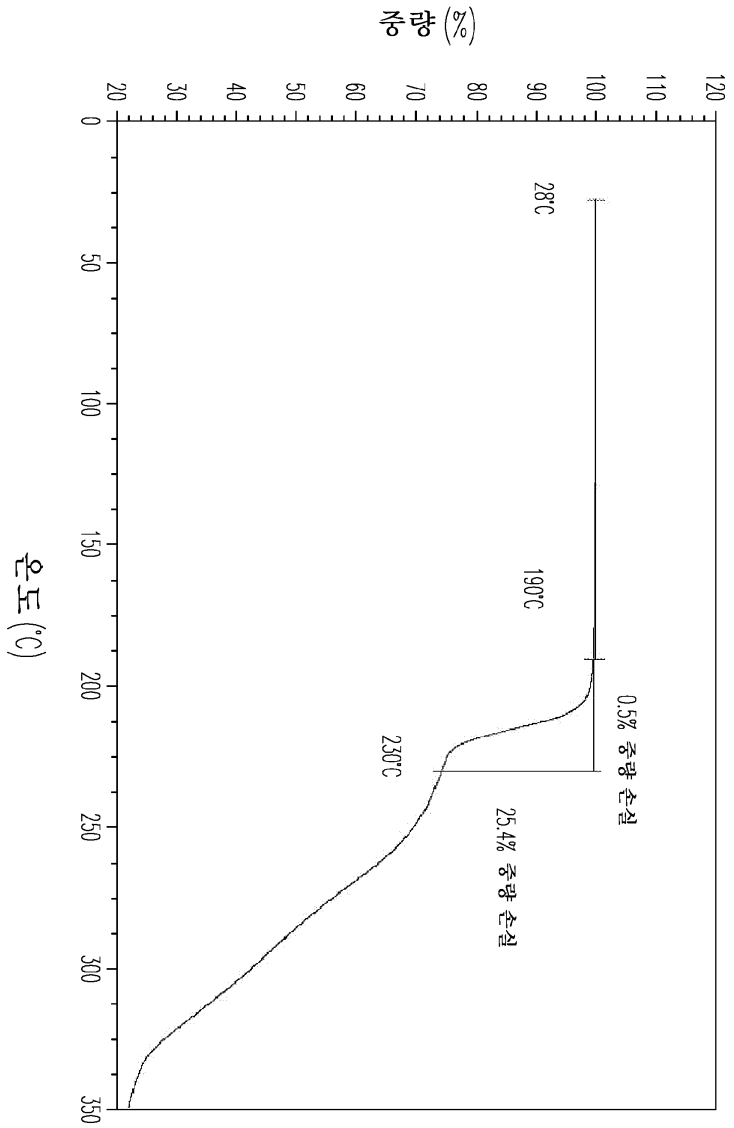
도면1



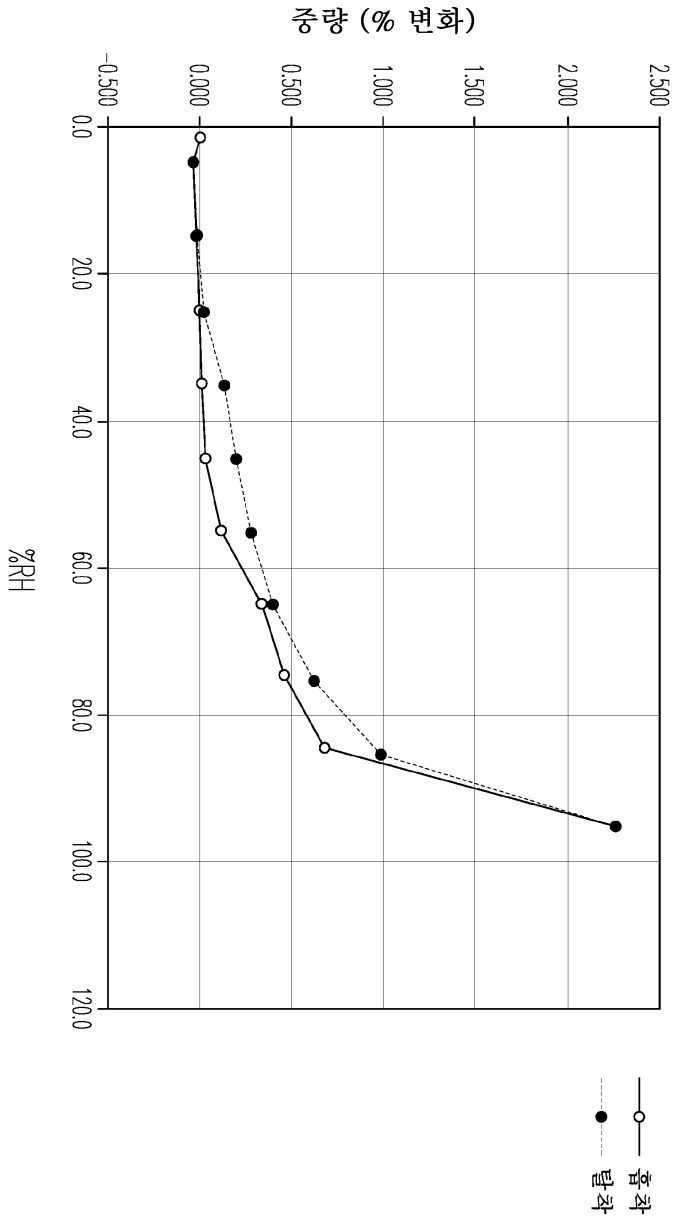
도면2



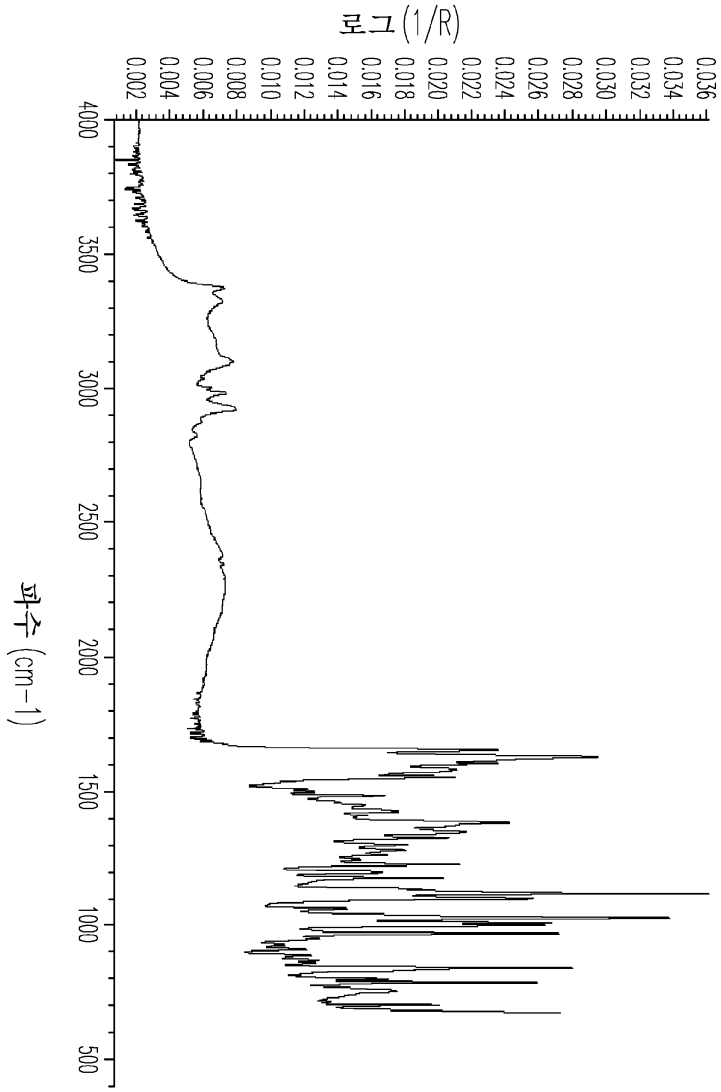
도면3


중량 (%)
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
온도 (℃)
0
50
100
150
200
250
300
350
28℃
190℃
230℃
0.5% 중량 손실
25.4% 중량 손실

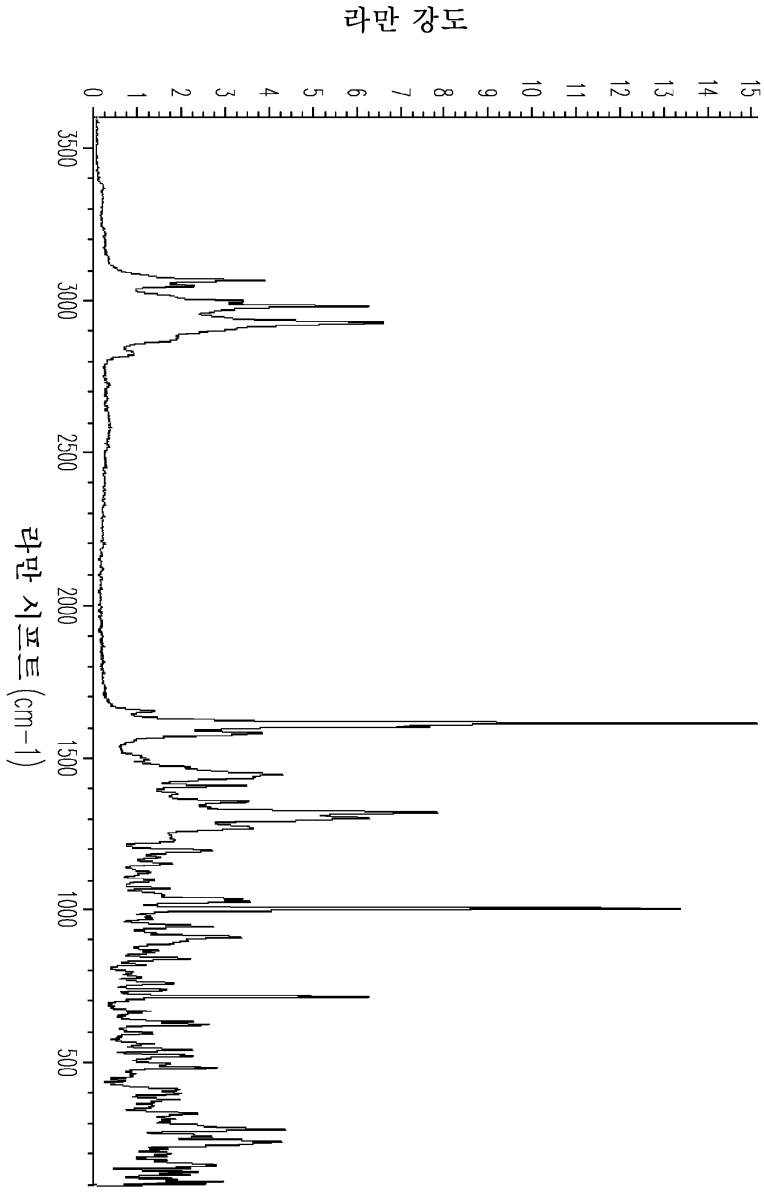
도면4


중량 (% 변화)
-0.500
0.000
0.500
1.000
1.500
2.000
2.500
0.0
20.0
40.0
60.0
80.0
100.0
120.0
%RH
흡착
탈착

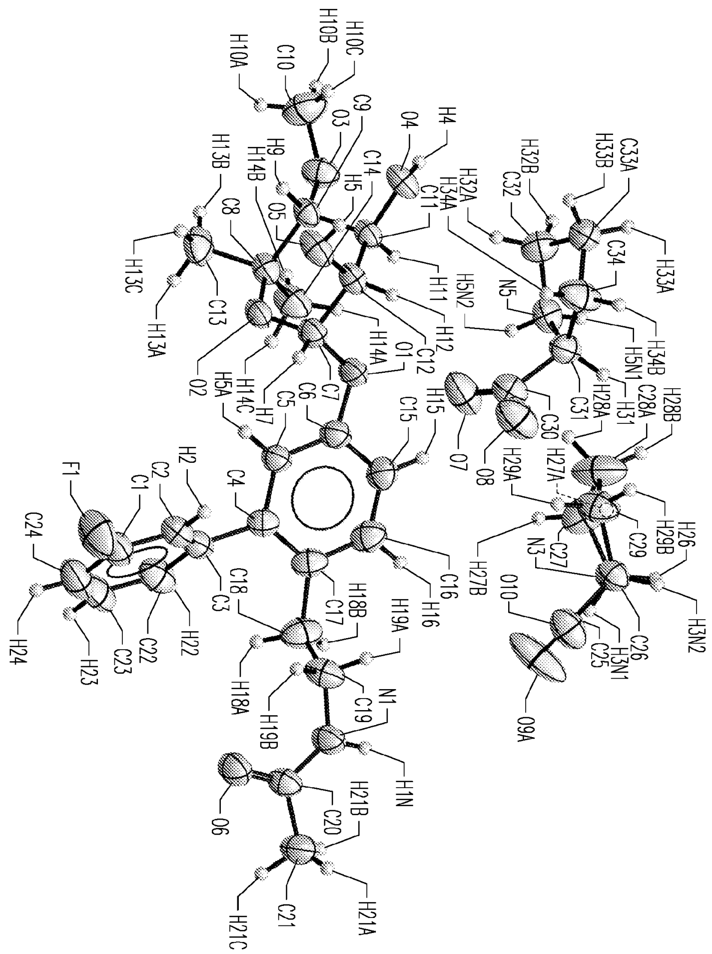
도면5


로그(1/R)
0.002
0.004
0.006
0.008
0.010
0.012
0.014
0.016
0.018
0.020
0.022
0.024
0.026
0.028
0.030
0.032
0.034
0.036
파수 (cm-1)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500

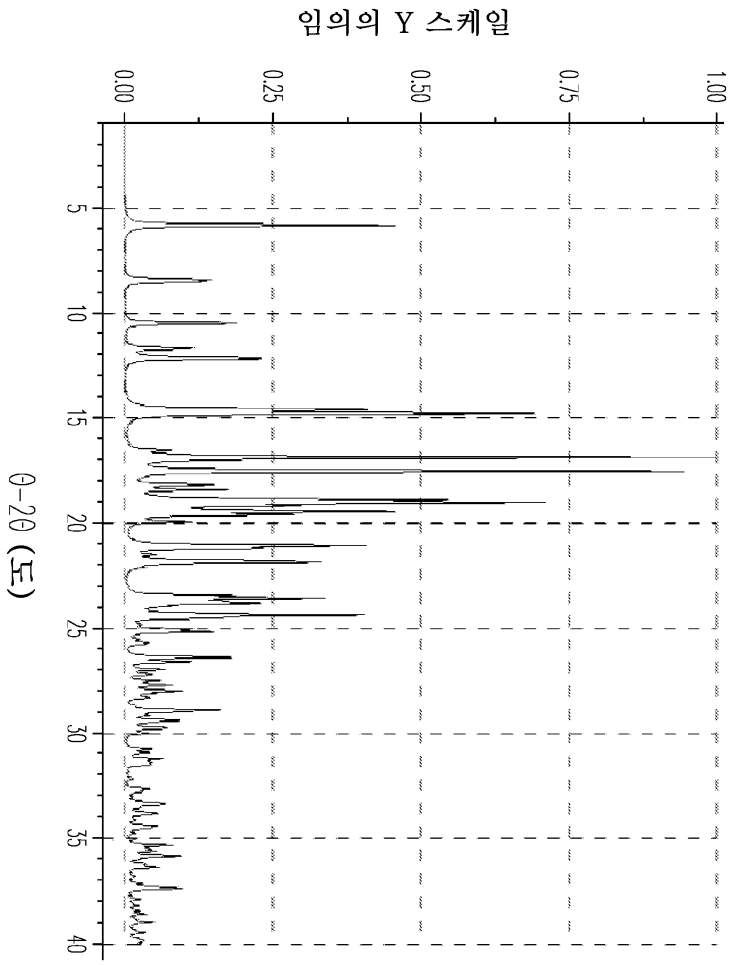
도면6


라만 강도
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
라만 시프트 (cm-1)

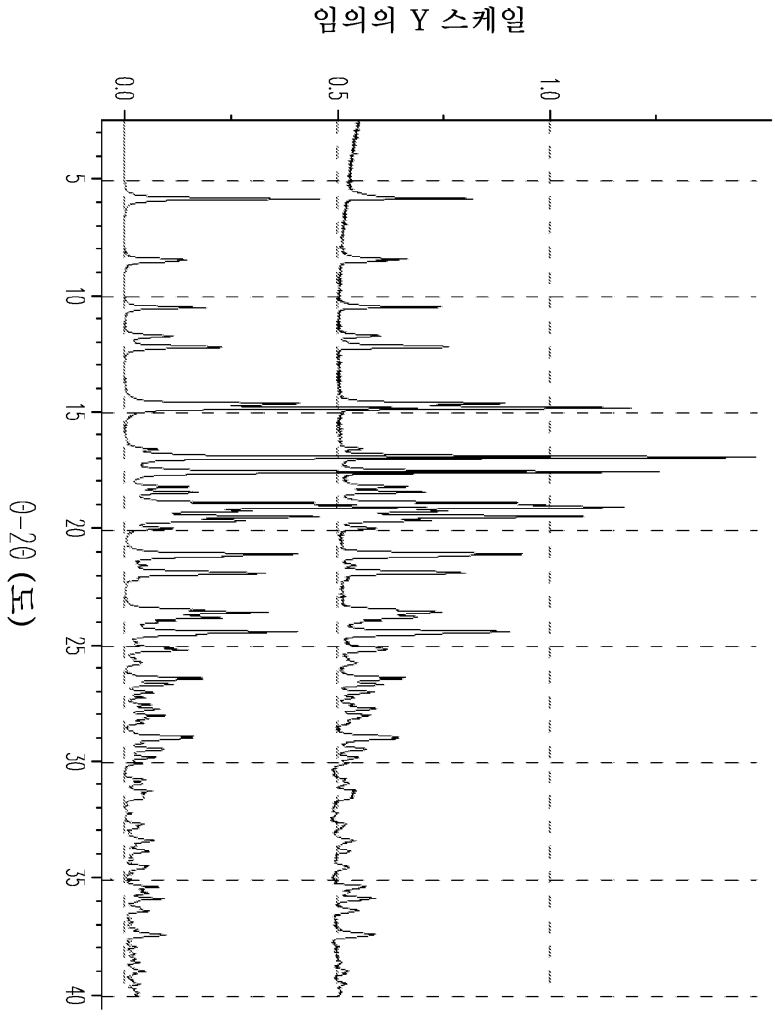
도면7


H10C
H10B
C10
H10A
C9
O3
O4
H4
H13B
H14B
H9
C14
H5
O5
C8
C11
H34A
H32A
H32B
C32
H33B
C33A
C34
H33A
H13C
C13
H13A
H11
H5N2
N5
H12
C12
O1
H14A
H34B
H5N1
C31
H31
C28A
H28B
H28A
O2
H5A
H14C
H7
C5
C6
C7
C15
H15
C30
O7
O8
H29A
H27A
H26
H29B
C29
C27
N3
F1
C1
C2
H2
C4
C24
C3
C18
C17
H18B
H19A
C16
H16
H27B
O10
C26
H3N2
H3N1
C25
H24
H23
C23
C22
H22
H18A
H19B
C19
N1
O9A
H1N
H21B
C20
O6
H21C
C21
H21A

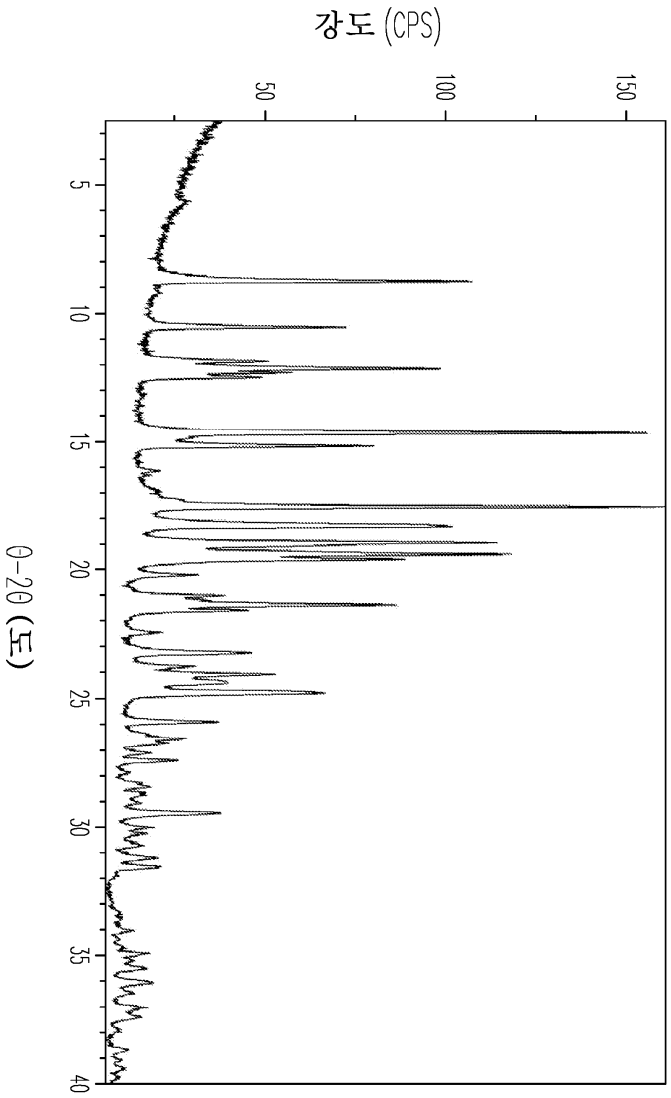
도면8



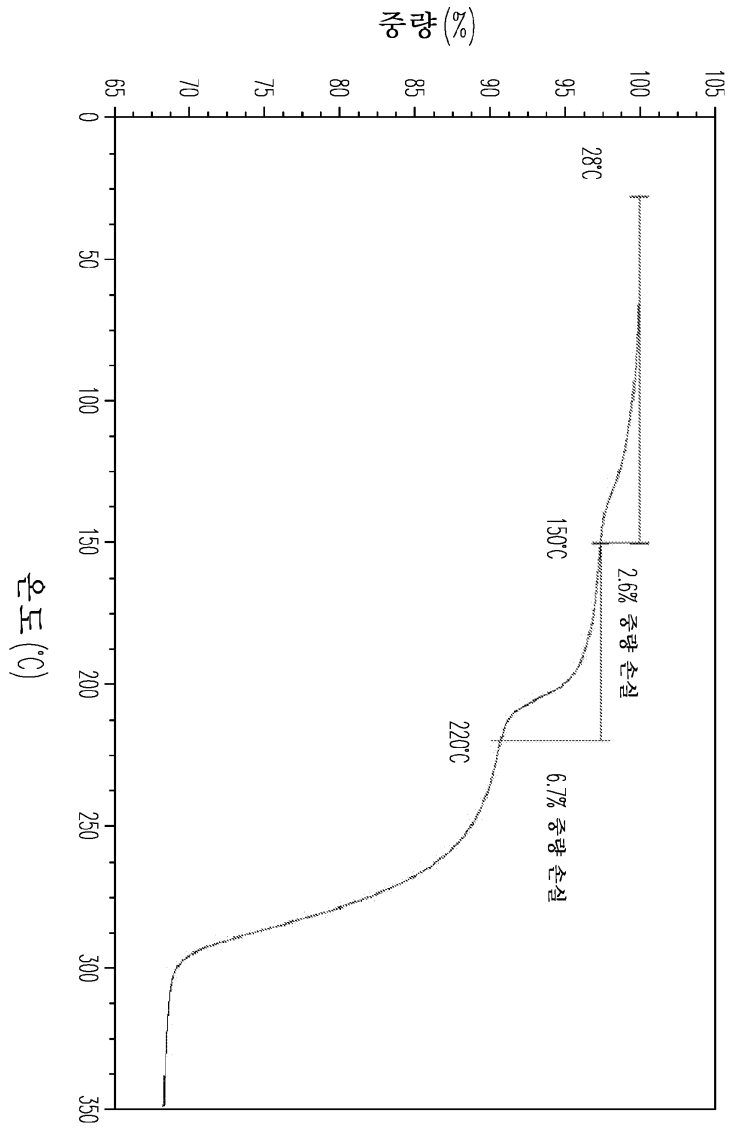
도면9



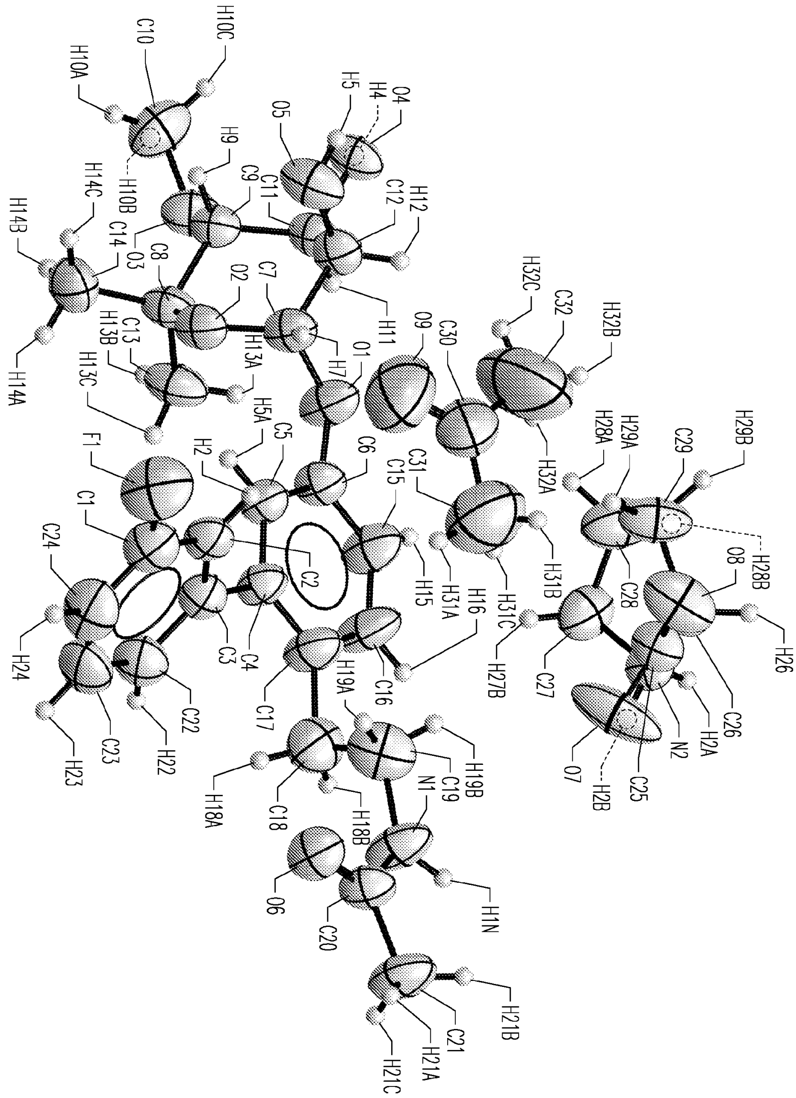
도면10



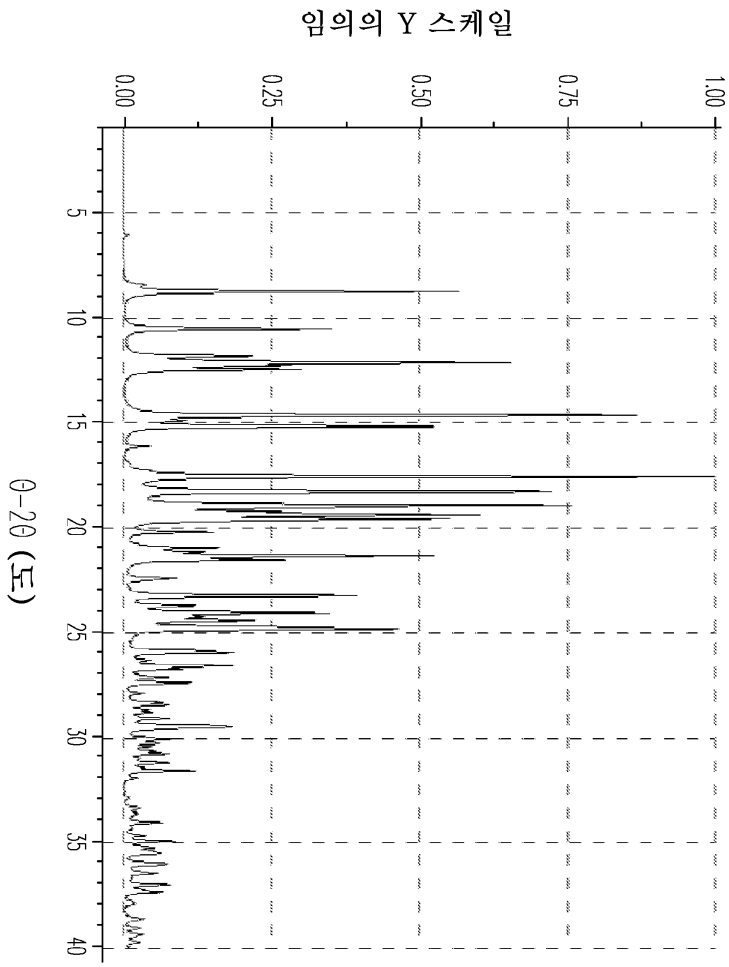
도면11


중량(%)
65
70
75
80
85
90
95
100
105
온도(℃)
0
50
100
150
200
250
300
350
28℃
150℃
220℃
2.6% 중량 손실
6.7% 중량 손실

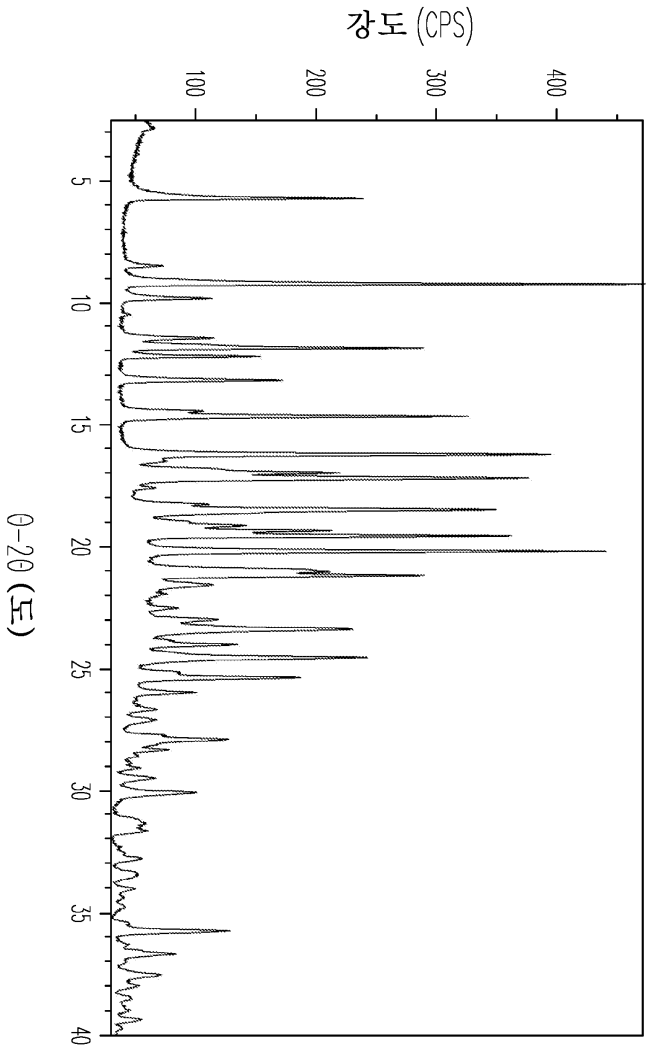
도면12


H10C
C10
H10A
H10B
H9
C9
O5
H5
H4
O4
C11
C12
H12
H14C
H14B
C14
O3
C8
O2
C7
H11
H32C
C32
O9
C30
H32B
H13B
C13
H13A
H7
O1
H14A
H13C
H5A
C5
C6
C15
C31
H32A
H28A
H29A
C29
H29B
F1
H2
C1
C2
C24
H15
H31A
H31B
C28
O8
H28B
H16
H31C
H27B
C27
H26
C3
C4
H24
C17
H19A
C16
C26
H2A
N2
C25
O7
H2B
C22
C23
H22
H23
H18A
C18
H18B
H19B
C19
N1
O6
C20
H1N
H21B
C21
H21A
H21C

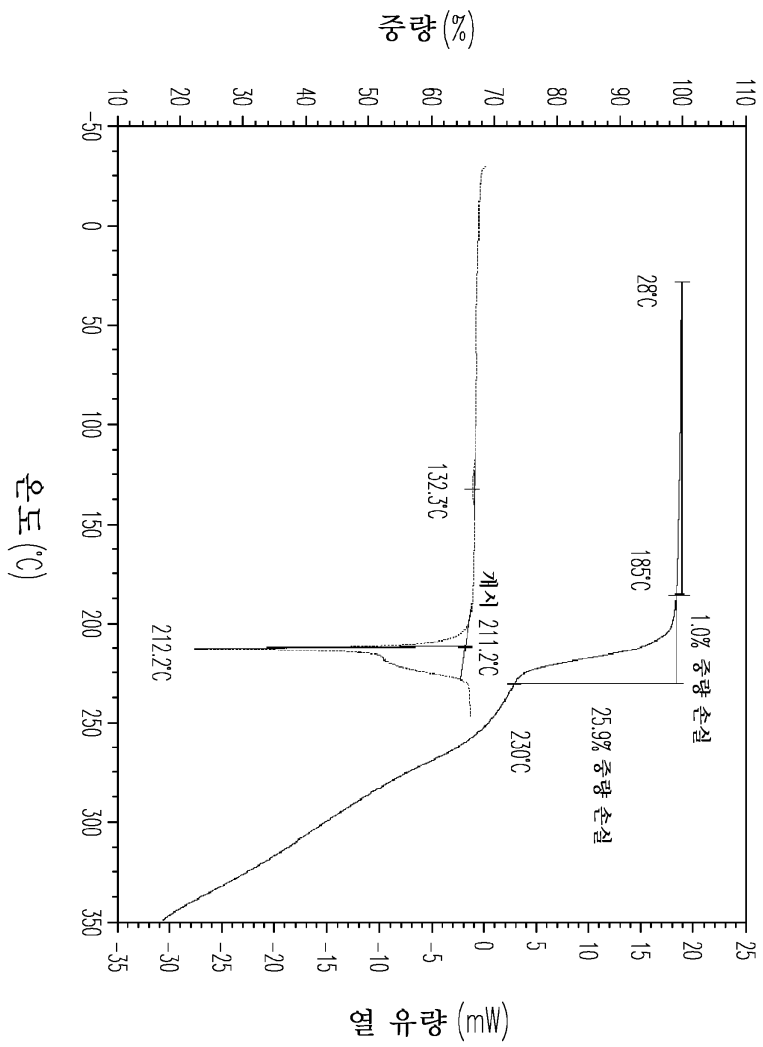
도면13



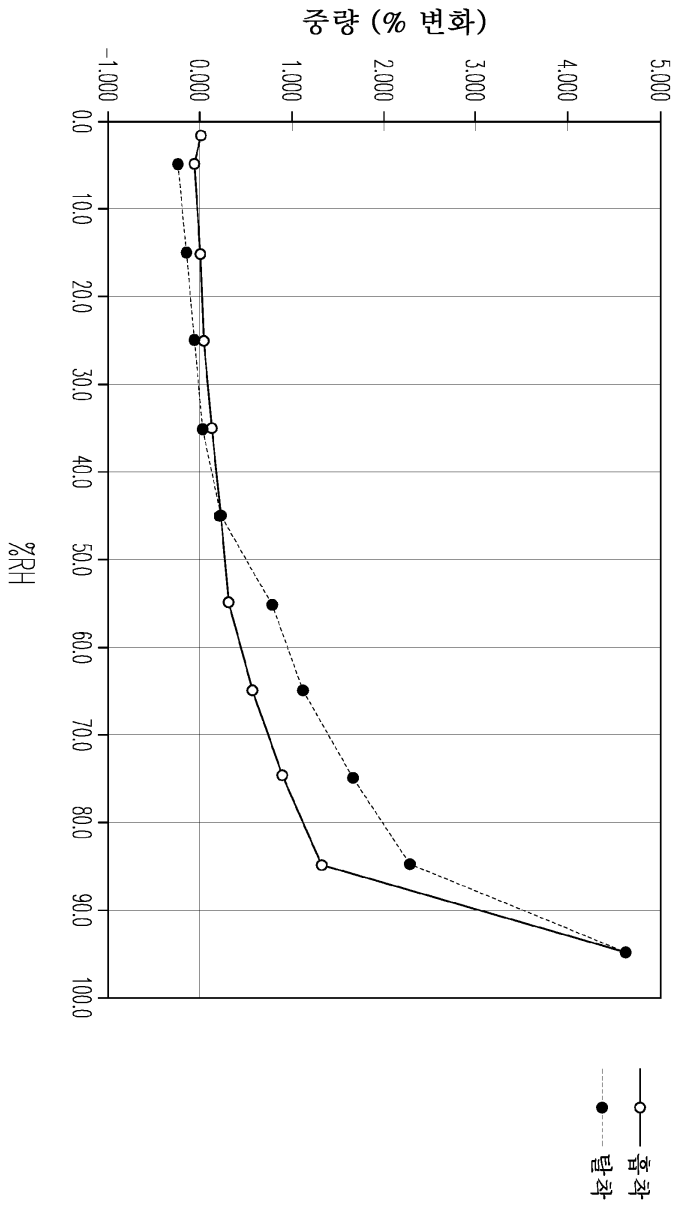
도면14



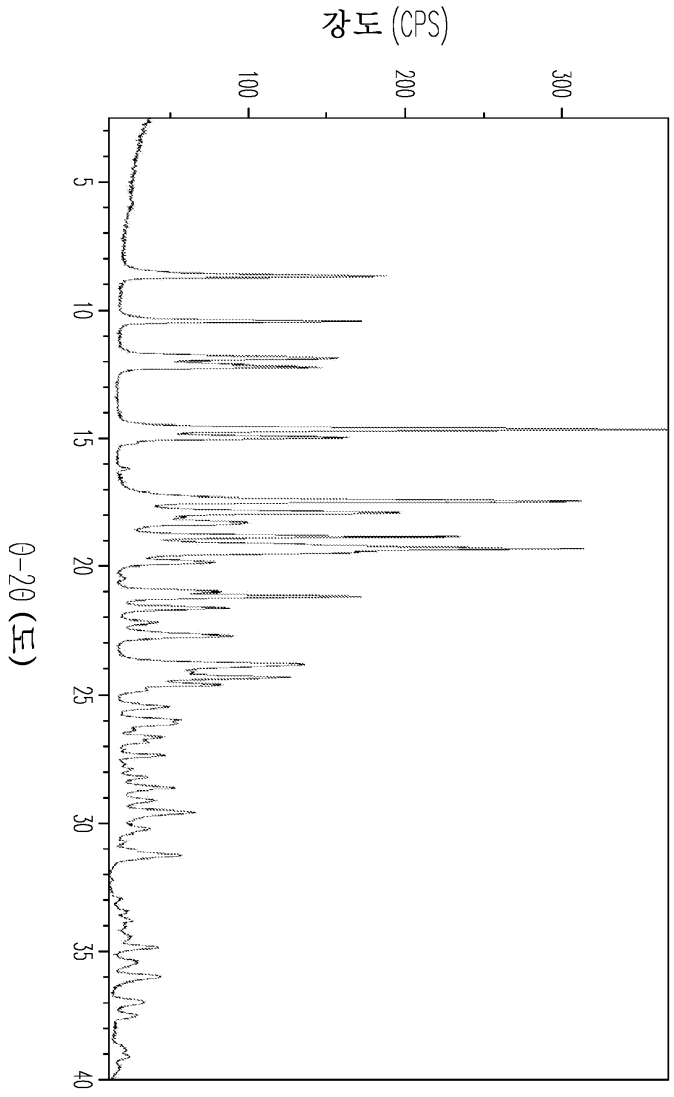
도면15



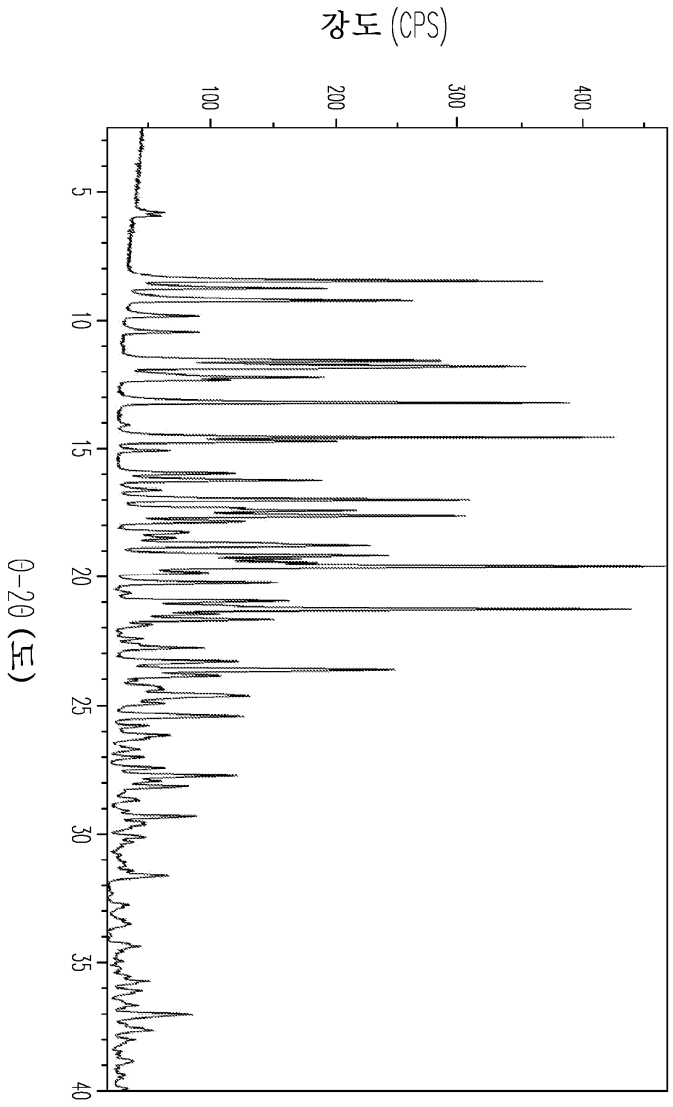
도면16


중량 (% 변화)
-1.000
0.000
1.000
2.000
3.000
4.000
5.000
%RH
0.0
10.0
20.0
30.0
40.0
50.0
60.0
70.0
80.0
90.0
100.0
흡착
탈착

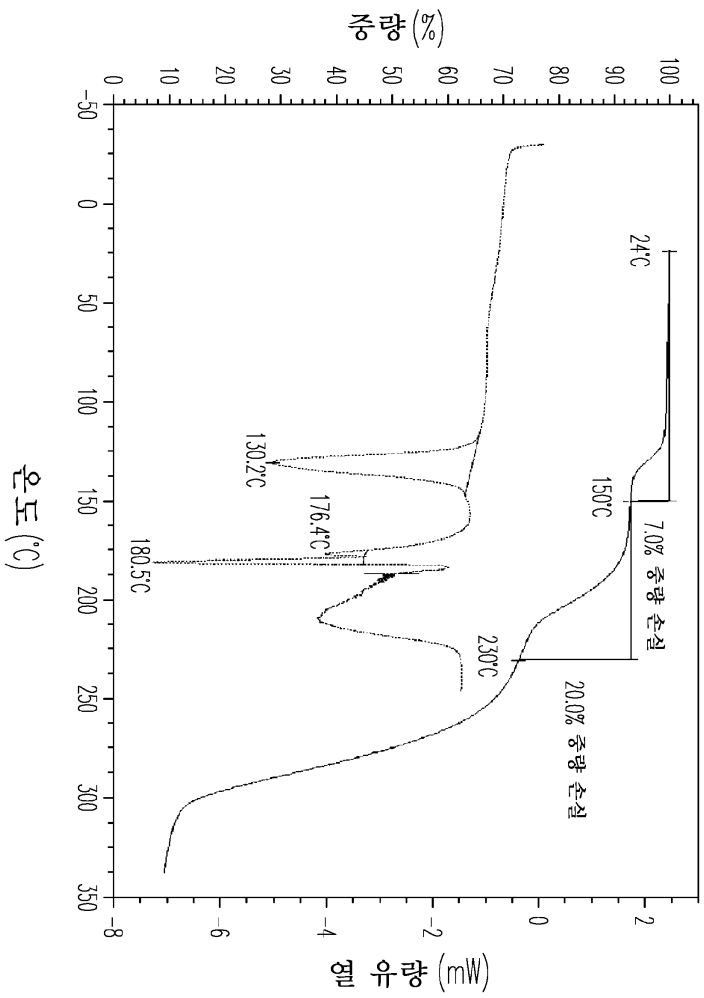
도면17



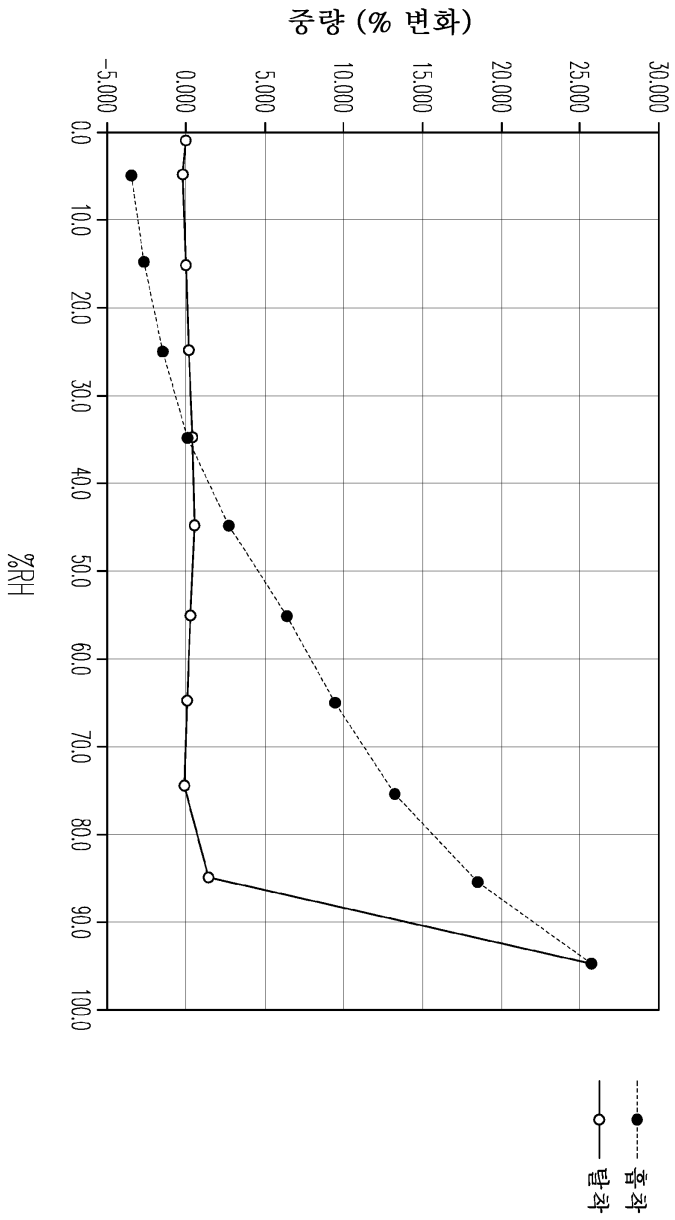
도면18



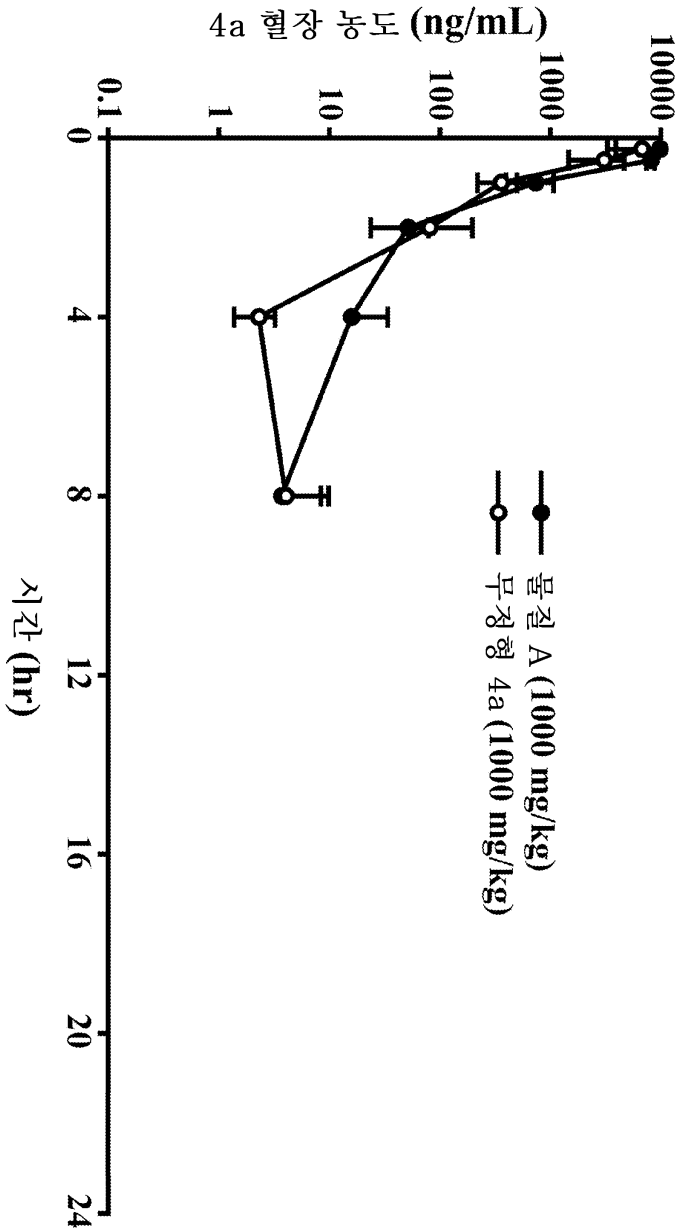
도면19



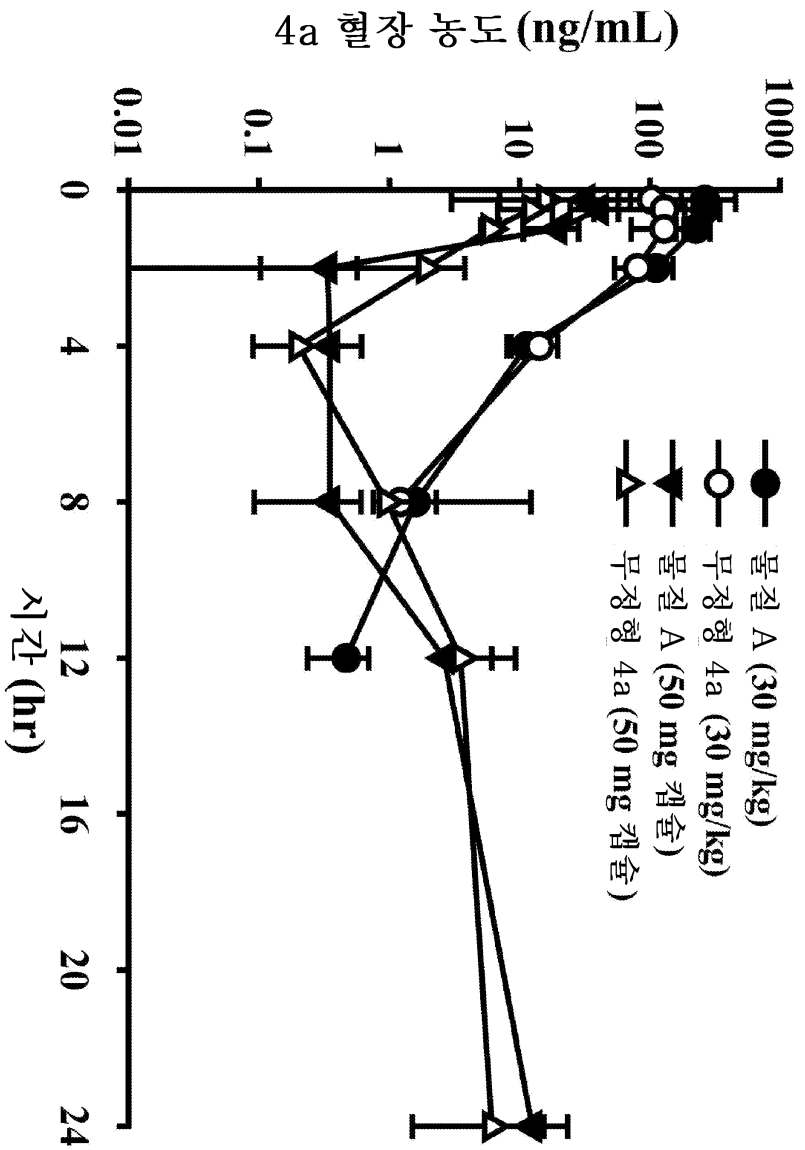
도면20


중량 (% 변화)
-5.000
0.000
5.000
10.000
15.000
20.000
25.000
30.000
%RH
0.0
10.0
20.0
30.0
40.0
50.0
60.0
70.0
80.0
90.0
100.0
흡착
탈착

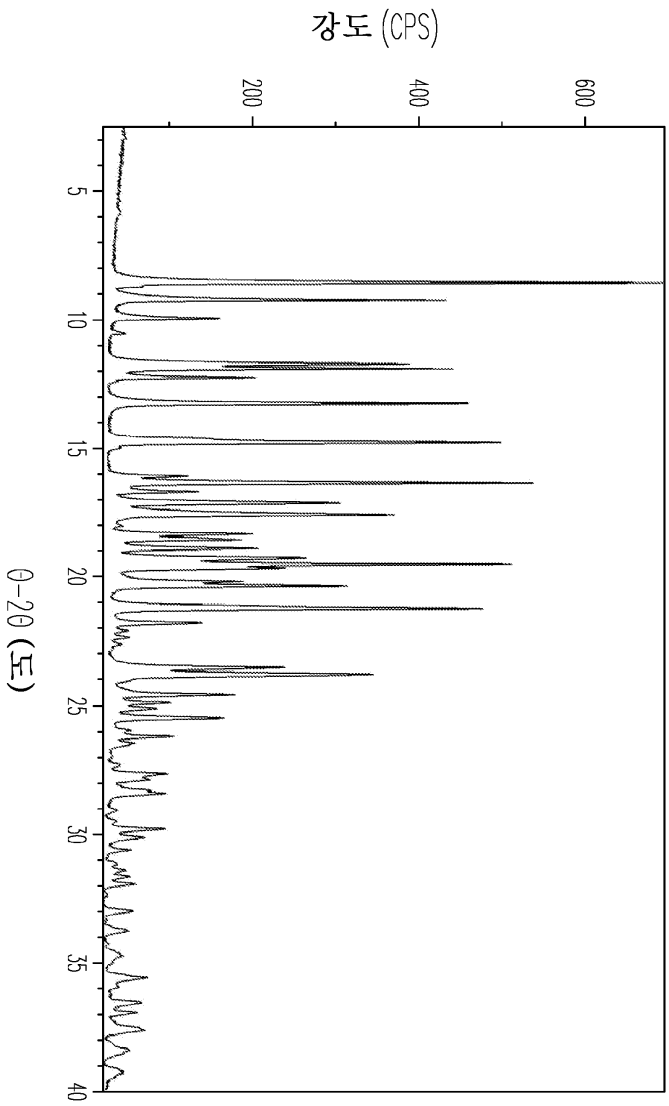
도면21


4a 혈장 농도 (ng/mL)
0.1
1
10
100
1000
10000
0
4
8
12
16
20
24
시간 (hr)
물질 A (1000 mg/kg)
무정형 4a (1000 mg/kg)

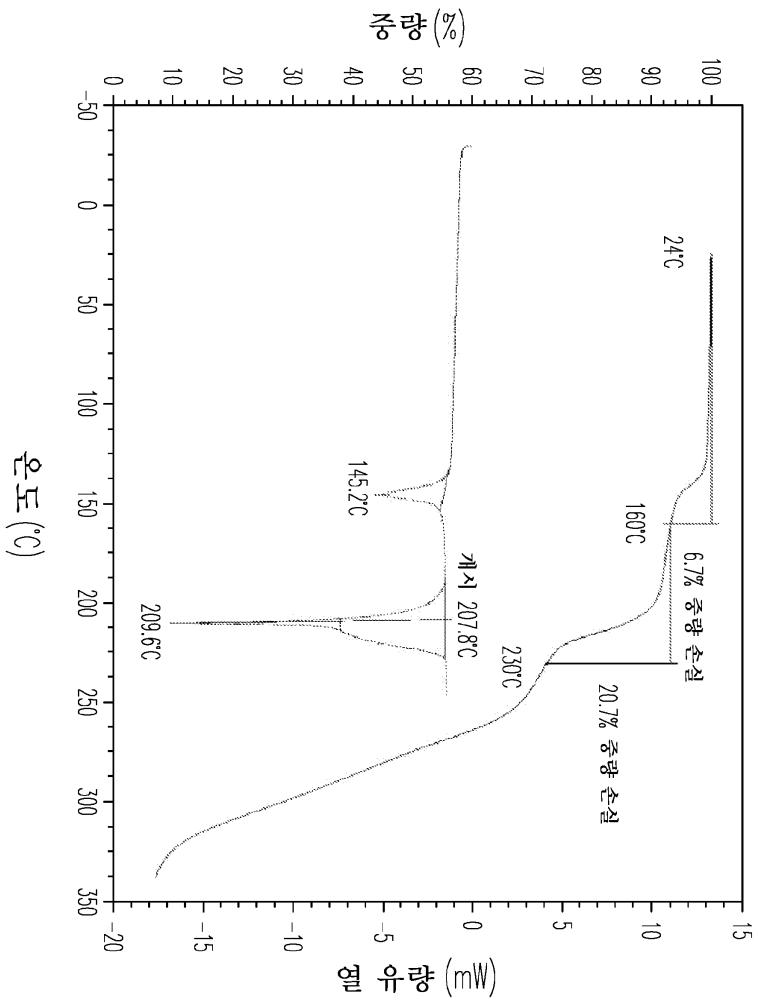
도면22


4a 혈장 농도 (ng/mL)
0.01
0.1
1
10
100
1000
0
4
8
12
16
20
24
시간 (hr)
물질 A (30 mg/kg)
무정형 4a (30 mg/kg)
물질 A (50 mg 캡슐)
무정형 4a (50 mg 캡슐)

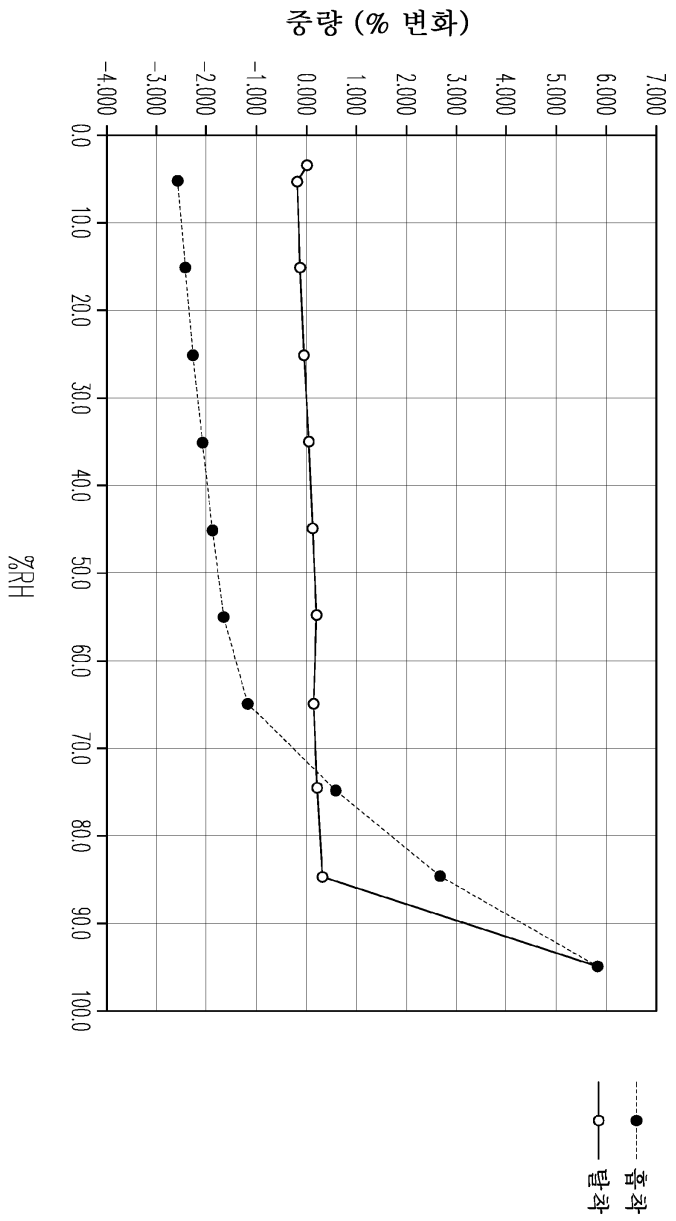
도면23



도면24


중량 (%)
온도 (°C)
열 유량 (mW)
24°C
160°C
230°C
6.7% 중량 손실
20.7% 중량 손실
145.2°C
209.6°C
캐시 207.8°C

도면25


중량 (% 변화)
-4.000
-3.000
-2.000
-1.000
0.000
1.000
2.000
3.000
4.000
5.000
6.000
7.000
0.0
10.0
20.0
30.0
40.0
50.0
60.0
70.0
80.0
90.0
100.0
%RH
흡착
탈착