



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월10일

(11) 등록번호 10-2777452

(24) 등록일자 2025년02월28일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 215/36 (2006.01) A61K 31/496 (2024.01)  
A61K 9/20 (2006.01) A61P 7/06 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07D 215/36 (2013.01)  
A61K 31/496 (2024.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7022172(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년11월21일  
심사청구일자 2024년07월02일
- (85) 번역문제출일자 2024년07월02일
- (65) 공개번호 10-2024-0108581
- (43) 공개일자 2024년07월09일
- (62) 원출원 특허 10-2020-7015018  
원출원일자(국제) 2018년11월21일  
심사청구일자 2021년11월17일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/062197
- (87) 국제공개번호 WO 2019/104134  
국제공개일자 2019년05월31일
- (30) 우선권주장  
62/589,822 2017년11월22일 미국(US)  
62/691,709 2018년06월29일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
US08785450 B2\*  
W02016201227 A1\*  
W02014018851 A1  
W02013056153 A1  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자  
아지오스 파마슈티컬스 아이엔씨.  
미국, 매사추세츠주 02139, 캠프릿지, 시드니 스트리트 88
- (72) 발명자  
사이즈모어, 제이콥, 피.  
미국 01545 매사추세츠주 슈루즈버리 비스타 드라이브 8  
구오, 리팅  
중국 215000 장쑤성 쑤저우 흥판 로드 2 친수이 랑팅 블러바드 18  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 이상남

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 성다운

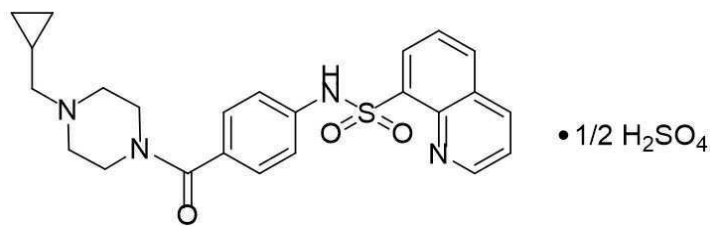
(54) 발명의 명칭 N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드의 결정 형태

(57) 요약

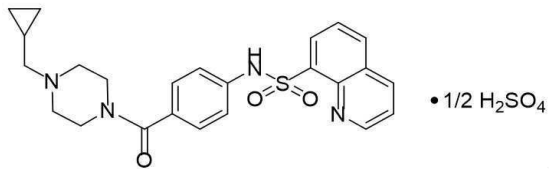
화학식 (I)의 비정질 및 결정질 반향산염 형태가 본원에서 제공된다.

(뒷면에 계속)

대표도



(화학식 I)



또한, 예를 들어, 피루브산 키나아제 결핍증과 같은 피루브산 키나아제와 관련된 병태를 치료하기 위한, 비정질 및 결정질 반황산염 형태를 포함하는 약학적 조성물, 이의 제조 방법, 및 이의 용도가 본원에서 제공된다.

(52) CPC특허분류

*A61K 9/2013* (2013.01)

*A61K 9/2018* (2013.01)

*A61K 9/2054* (2013.01)

*A61P 7/06* (2018.01)

*C07B 2200/13* (2013.01)

(72) 발명자

**미르메흐라비, 마흐무드**

캐나다 비3엘 4터1 노바 스코티아 할리팩스 록스버

리 크레센트 36

**주, 예칭**

캐나다 비3엘 4알1 노바 스코티아 할리팩스 모나스

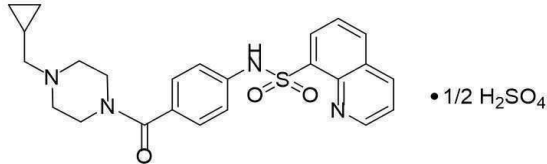
테리 라인 2225 아파트 310

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

다음 화학식을 갖는 화합물의 결정질 형태 D이며,



상기 결정질 형태 D는 5.8° , 10.0° , 10.2° , 19.3° , 22.9° , 23.3° , 및 25.2° 로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2° )에서 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 또는 적어도 6개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 하는 것인 결정질 형태 D.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 화합물은 적어도 60중량%가 단결정 형태, 적어도 70중량%가 단결정 형태, 적어도 80중량%가 단결정 형태, 적어도 90중량%가 단결정 형태, 적어도 95중량%가 단결정 형태, 또는 적어도 99중량%가 단결정 형태인, 결정질 형태 D.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 상기 화합물 형태는 비정질 형태가 없는, 결정질 형태 D.

**청구항 4**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 결정형 형태 D; 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD), 겸상 적혈구병(SCD), 지중해 빈혈, 용혈성 빈혈증, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 바센-코른츠바이크 증후군, 또는 발작성 야간 혈색뇨의 치료에 사용하기 위한 약학적 조성물.

**청구항 5**

제4항에 있어서, 지중해 빈혈은 베타-지중해 빈혈, 비-수혈-의존성 지중해 빈혈, 및 수혈-의존성 지중해 빈혈로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 약학적 조성물.

**청구항 6**

제4항에 있어서, 정제인 약학적 조성물.

**청구항 7**

제4항에 있어서, 상기 담체는 미정질 셀룰로오스, 만니톨, 크로스카멜로오스나트륨 및 스테아릴푸마르산나트륨 중 하나 이상으로부터 선택되는, 약학적 조성물.

**청구항 8**

제4항에 있어서, 상기 조성물은 5.7 내지 5.9 mg, 23.4 내지 23.6 mg, 또는 58.7 내지 58.9 mg의 결정질 형태 D; 62% w/w(±2%)의 미정질 셀룰로오스; 23% w/w(±2%)의 만니톨, 3% w/w(±2%)의 크로스카멜로오스나트륨 및 2% w/w(±2%)의 스테아릴푸마르산염을 포함하는, 약학적 조성물.

**청구항 9**

삭제

- 청구항 10  
삭제
- 청구항 11  
삭제
- 청구항 12  
삭제
- 청구항 13  
삭제
- 청구항 14  
삭제
- 청구항 15  
삭제
- 청구항 16  
삭제
- 청구항 17  
삭제
- 청구항 18  
삭제
- 청구항 19  
삭제
- 청구항 20  
삭제
- 청구항 21  
삭제
- 청구항 22  
삭제
- 청구항 23  
삭제
- 청구항 24  
삭제
- 청구항 25  
삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

발명의 설명

기술 분야

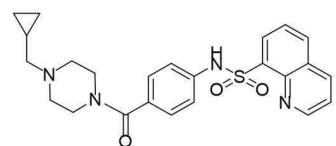
[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2017년 11월 22일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/589,822호 및 2018년 6월 29일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/691,709호에 대한 우선권을 주장하며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 통합된다.

배경 기술

[0003] 피루브산 키나아제 결핍(PKD)은 PKLR 유전자의 열성 돌연변이에 기인한 피루브산 키나아제 R(PKR) 효소의 결핍에 의해 야기되는 적혈구의 질환이다(Wijk 등의 *Human Mutation*, 2008, 30 (3) 446-453 참조). PKR 활성화제는 PKD, 지중해 빈혈(예: 베타-지중해 빈혈), 무베타지질단백혈증 또는 바센-코르츠마이크 증후군, 겸상 적혈구병, 발작성 야간 혈색뇨증, 빈혈(예: 선천성 빈혈(예: 효소병), 용혈성 빈혈(예: 유전성 및/또는 선천성 용혈성 빈혈, 후천성 용혈성 빈혈, 포스포글리세린산 키나아제 결손증에 의한 만성 용혈성 빈혈, 만성 질환 빈혈, 비-구상적혈구 용혈성 빈혈 또는 유전성 구상적혈구증))의 치료에 유익할 수 있다. PKD의 치료는 지지적인 것이며(supportive), 수혈, 비장절제술, 철분 과다를 해결하기 위한 중금속 제거 요법(chelation therapy), 및/또는 질환과 관련된 기타 병적인 상태(morbidity)에 대한 개입을 포함한다. 그러나, 현재로서는 PKD의 기저 원인을 치료함으로써 평생 지속되는 용혈성 빈혈의 병인을 치료하는 승인된 의약이 없다.

[0004] 본원에서 화합물 1로서 지칭되는 N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드는 피루브산 키나아제(PKR)의 적혈구 이소형의 다른 자리성 활성화제(allosteric activator)이다. 예를 들어, WO 2011/002817 및 WO 2016/201227을 참조하고, 그 내용은 본원에 참조로 통합된다.

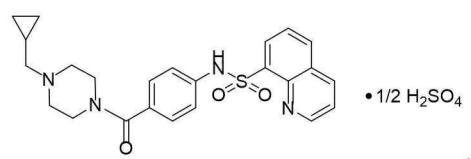


[0005] (화합물 1)

[0007] 화합물 1은 PKD를 치료하기 위해 개발되었으며 현재 제2상 임상 시험에서 조사가 진행되고 있다. 예를 들어, 미국 임상 시험 식별번호 NCT02476916를 참조한다. 이의 치료적 이점을 감안하면, 단리, 제조 및 제형 개발을 용이하게 하는 것 뿐만 아니라 저장 안정성을 강화하기 위한 노력의 일환으로 화합물 1의 대체 형태를 개발할 필요가 있다.

발명의 내용

[0008] 하기 화학식을 갖는 화합물의 비정질 및 결정질 반황산염 형태가 본원에서 제공된다.



[0010] 또한, 피루브산 키나아제와 관련된 병태(예: PKD)를 치료하기 위한, 비정질 및 결정질 반황산염 형태를 포함하는 약학적 조성물, 이의 제조 방법, 및 이의 용도가 본원에서 제공된다.

**도면의 간단한 설명**

[0011]

도 1은 결정질 반황산염 형태 A에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 2는 결정질 반황산염 형태 A에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도(thermogram) 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 조합하여 도시한다.

도 3은 결정질 반황산염 형태 A에 대한 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 도시한다.

도 4는 결정질 반황산염 형태 A에 대한 동적 증기 수착(DVS) 등온선을 도시한다.

도 5a는 기준 결정질 반황산염 형태 A 및 40°C에서 수 주동안 11%, 48% 및 75% 상대 습도에 노출한 후의 결정질 반황산염 형태 A에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 겹쳐서 도시한다. XRPD는 이들 3가지 습도 조건 하에서 2주가 지난 후에도 변하지 않았다. 도 5(ii)는 기준 결정질 반황산염 형태 A; 실온 및 50°C에서 1주일 동안 오산화 인(phosphorus pentoxide)(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) 과립에 노출시킨 후의 결정질 반황산염 형태 A뿐만 아니라; 바이알 내에서 24시간 동안 주변 온도에 노출시킨 후의 결정질 반황산염 형태 A에 대한 XRPD를 겹쳐서 도시한다. 실온에서의 1주일 후에는 XRPD 패턴에 변화가 없었으나, 일부 피크가 50°C에서 약간 이동한 것이 관찰되었다. 그러나, 이들 피크는 24시간 동안 주변 온도에 노출시킨 후 원래 위치로 다시 이동하였는데, 이는 이러한 변화가 가역적이었음을 나타낸다.

도 6은 MeOH:EtOH(3:7) 중에서 수득한 결정질 반황산염 형태 B에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 7a는 결정질 반황산염 형태 B에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 조합하여 도시한다. 도 7(ii)는 동적 증기 수착(DVS) 전후의 결정질 반황산염 형태 B에 대한 XRPD를 도시한다. DVS 이후, 형태 B는 상이한 형태 K로 변환되었다.

도 8은 결정질 반황산염 형태 D에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 9는 결정질 반황산염 형태 D에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 도시한다.

도 10은 동적 증기 수착(DVS) 전후의 결정질 반황산염 형태 D에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 11은 결정질 반황산염 형태 E에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 12는 결정질 반황산염 형태 F에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 13은 결정질 반황산염 형태 F에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 도시한다.

도 14는 결정질 반황산염 형태 G에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 15는 결정질 반황산염 형태 G에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 도시한다.

도 16은 결정질 반황산염 형태 H에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 17은 결정질 반황산염 형태 I에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 18은 결정질 반황산염 형태 I에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 도시한다.

도 19는 결정질 반황산염 형태 J에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 20은 화합물 1의 비결정질 반황산염 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 21은 화합물 1의 비결정질 반황산염 형태를 50°C의 진공 오븐에서 밤새 건조시킨 후, 이에 대한 열중량 분석(TGA)에 의한 온도 변화도 및 시차주사 열량측정(DSC)에 의한 온도 변화도를 도시한다.

도 22는 SD 랫트(N=6)에게 200 mg/kg의 결정질 형태 A를 상이한 형태로 PO 투여한 후 결정질 형태 A의 평균 플라즈마 농도-시간의 프로파일을 도시한다. 결정질 형태 A의 투여량은 200 mg/kg의 화합물 1에 대한 등가량에 기초하여 계산된다.

도 23은 화합물 1의 비결정질 유리 염기 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다.

도 24는 화합물 1의 비결정질 유리 염기 형태에 대한 TGA 및 DSC 온도 변화도를 도시한다.

도 25는 화합물 1의 비결정질 유리 염기 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 도시한다

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

정의

[0012] 단독으로 사용될 때, 용어 "형태 A", "형태 B", "형태 C", "형태 D", "형태 E", "형태 F", "형태 G", "형태 H", "형태 I", 및 "형태 J"는 화합물의 1의 결정질 반황산염 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 및 J를 지칭한다. 용어 "형태 A", "결정질 형태 A", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 A"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 B", "결정질 형태 B", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 B"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 C", "결정질 형태 C", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 C"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 D", "결정질 형태 D", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 D"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 E", "결정질 형태 E", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 E"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 F", "결정질 형태 F", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 F"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 G", "결정질 형태 G", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 G"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 H", "결정질 형태 H", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 H"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 I", "결정질 형태 I", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 I"는 상호 교환적으로 사용된다. 마찬가지로, 용어 "형태 J", "결정질 형태 J", 및 "화합물 1의 결정질 반황산염 형태 J"는 상호 교환적으로 사용된다.

[0014] "패턴 A", "패턴 B", "패턴 C", "패턴 D", "패턴 E", "패턴 F", "패턴 G", "패턴 H", "패턴 I", 및 "패턴 J"는 결정질 반황산염 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I 및 J에 대한 X-선 분말 회절 패턴(XRPD)을 각각 지칭한다.

[0015] 용어 "결정질 유리 염기", "화합물 1의 유리-염기 결정질 형태", "화합물 1의 결정질 유리 염기 형태", 및 "화합물 1의 결정질 유리 염기"는 상호 교환적으로 사용되며, 화합물 1의 유리 염기 또는 비염(non-salt) 형태를 의미하며, 이는 결정질 형태로 존재한다.

[0016] 본원에서 사용되는 바와 같이, "무수(anhydrous)"는 참조한 결정질 형태가 결정 격자에 수분을 실질적으로 갖지 않는 것, 예를 들어, 칼 피셔(Karl Fisher) 분석으로 결정했을 때 0.1중량% 미만의 수분을 갖는 것을 의미한다.

[0017] 용어 "비정질(amorphous)"은 비결정질 상태 또는 형태로 존재하는 고체를 의미한다. 비정질 고체는 분자의 배열에 순서가 없으므로 구별 가능한 결정 격자 또는 단위 셀을 보유하지 않으며, 결과적으로 정의 가능한 장거리 배열을 갖지 않는다. 고체의 고상 배열은 당업계에서 알려진 표준 기술, 예를 들어, X-선 분말 회절(XRPD) 또는 시차주사 열량측정(DSC)에 의해 결정될 수 있다. 비정질 고체는 예를 들어 편광 광학 현미경을 사용하는 복굴절(birefringence)에 의해 결정질 고체와도 구별될 수 있다.

[0018] 본원에서 사용되는 바와 같이, 화학적 순도는, 개시된 형태에 상이한 화학 구조를 갖는 물질이 없는 정도를 지칭한다. 개시된 결정 형태를 갖는 화합물의 화학적 순도는, (화합물 중량) / (화합물 중량 + 상이한 화학 구조를 갖는 물질 또는 불순물의 중량) x 100%(즉, 중량%)를 의미한다. 일 구현예에서, 개시된 결정 형태를 갖는 화합물은 적어도 60중량%, 적어도 70중량%, 적어도 80중량%, 적어도 90중량%, 적어도 95중량%, 또는 적어도 99중량%의 화학적 순도를 갖는다.

[0019] 본원에서 사용되는 바와 같이, "결정질(crystalline)"은 원자의 위치에 장거리 원자 배열이 존재하는, 화합물의 고체 형태를 지칭한다. 고체의 결정질 성질은, 예를 들어 X-선 분말 회절 패턴을 검사함으로써 확인될 수 있다. XRPD가 XRPD에서 급격한 강도 피크를 나타내는 경우, 화합물은 결정질이다.

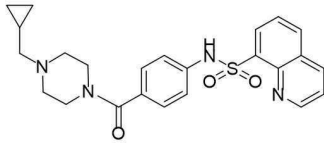
[0020] 용어 "용매화물(solvate)"은 화학양론적 또는 비-화학양론적 양의 용매, 또는 용매 혼합물이 결정 구조로 통합되는 결정질 화합물을 지칭한다.

[0021] 용어 "수화물(hydrate)"은 화학양론적 또는 비-화학양론적 양의 물이 결정 구조로 통합되는 결정질 화합물을 지칭한다. 수화물은 결정 구조로 통합된 용매가 물인 용매화물이다. 화합물에 대해 사용될 때의 용어 "무수(anhydrous)"는 결정 구조에 통합된 용매가 실질적으로 없음을 의미한다.

[0022] 개시된 결정질 반황산염의 단일 결정질 형태는 N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-

술폰아미드 반황산염이 단일 결정으로 존재하거나, 각각의 결정이 동일한 결정 형태(즉, 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J)를 갖는 복수의 결정으로서 존재함을 의미한다. 결정 형태가 화합물의 특정한 단일 결정 형태의 특정 백분율로서 정의될 때, 나머지는 특정되는 하나 이상의 특정 형태 이외의 비정질 형태 및/또는 결정질 형태로 이루어진다. 일 구현예에서, 결정질 형태는 적어도 60중량%의 단일 결정질 형태, 적어도 70중량%의 단일 결정질 형태, 적어도 80중량%의 단일 결정질 형태, 적어도 90중량%의 단일 결정질 형태, 적어도 95중량%의 단일 결정질 형태, 또는 적어도 99중량%의 단일 결정질 형태이다. 특정 결정 형태의 중량%는 (특정 결정 형태의 중량) / (특정 결정의 중량 + 존재하는 다른 결정 형태의 중량 + 존재하는 비정질 형태의 중량) x 100%에 의해 결정된다.

[0023] 본원에서 사용되는 바와 같이, "N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드"는 "화합물 1", "화합물의 1의 유리 염기"와 상호 교환적으로 사용되며, 다음의 구조를 갖는다:



[0024]

[0025] 본원에 기술된 결정 형태에 대한 X-선 분말 회절 패턴의 2-θ 값은 하나의 기기에 따라 약간 달라질 수 있고, 샘플 제조 시의 변수 및 배치(batch) 간 변화에 따라라도 약간 달라질 수 있다. 따라서, 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 인용된 XRPD 패턴/할당은 절대적인 것으로 해석되어서는 안 되며, ±0.2도 달라질 수 있다. 본원에서 제공된 2-θ 값은 Cu Kα1 방사선을 사용해 획득한 것이다.

[0026] 온도 값, 예를 들어 본원에서의 DSC 피크에 대한 온도 값은 기기에 따라 약간 달라질 수 있으며, 샘플 제조 시의 변수, 배치 간 변화, 및 환경 요인에 따라라도 약간 달라질 수 있다. 따라서, 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 인용된 온도 값은 절대적으로 해석되어서는 안 되며, ±5도 또는 ± 2도 달라질 수 있다.

[0027] 정의된 도면과 "실질적으로 동일한 XRPD 패턴" 또는 "실질적으로 유사한 X-선 분말 회절 패턴"은, 비교의 목적으로, 도시된 피크의 적어도 90%가 존재함을 의미한다. 비교의 목적으로, 도시된 것에 비해 피크 강도의 일부 변동성이, 예컨대 ±0.2의 변동성이 허용된다는 것을 추가로 이해해야 한다.

[0028] 본원에 기술된 화합물의 "치료적 유효량(therapeutically effective amount)"은 병태의 치료에 치료적 이점을 제공하거나, 병태와 연관된 하나 이상의 증상을 지연시키거나 최소화하는 데 충분한 양이다. 용어 "치료적 유효량" 및 "유효량"은 상호 교환적으로 사용된다. 일 양태에서, 치료적 유효량의 화합물은 병태의 치료에 치료적 이점을 제공하는 치료제 한 가지의 양 또는 다른 요법과 조합된 양을 의미한다. 용어 "치료적으로 유효한 양"은 전체 치료를 개선하고, 병태의 증상, 징후 또는 원인을 감소시키거나 회피하고/하거나, 또 다른 치료제의 치료 효능을 강화시키는 양을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 치료적으로 유효한 양은 야생형 또는 돌연변이체 PKR의 측정 가능한 활성화를 유발하기에 충분한 양이다. 특정 구현예에서, 치료적 유효량은 2,3-다이포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것이 필요한 혈액에서 이를 조절하거나; 피루브산 키나아제 결핍증(PKD), 용혈성 빈혈증(예를 들어, 만성 용혈성 빈혈증, 유전성 비구상 적혈구 빈혈증), 겸상 적혈구병, 지중해빈혈(예를 들어, 알파 지중해빈혈, 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해 빈혈), 유전적 구상 적혈구증, 유전적 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증(또는 바센-코른츠바이크 증후군), 발작성 야간 혈색뇨, 후천성 용혈성 빈혈증(예를 들어, 선천성 빈혈증(예: 효소증)), 만성 질환으로 인한 빈혈증을 치료하거나; 2,3-다이포스포글리세레이트 수준 증가와 연관된 질환 또는 병태(예: 간 질환)를 치료하기에 충분한 양이다. 특정 구현예에서, 치료적 유효량은 야생형 또는 돌연변이체 PKR의 측정 가능한 활성화를 유도하거나; 2,3-다이포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것이 필요한 혈액에서 이를 조절하거나; 피루브산 키나아제 결핍증(PKD), 용혈성 빈혈증(예를 들어, 만성 용혈성 빈혈증, 유전성 비구상 적혈구 빈혈증), 겸상 적혈구병, 지중해빈혈(예를 들어, 알파 지중해 빈혈, 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해 빈혈), 유전적 구상 적혈구증, 유전적 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증(또는 바센-코른츠바이크 증후군), 발작성 야간 혈색뇨, 후천성 용혈성 빈혈증(예를 들어, 선천성 빈혈증(예: 효소증)), 만성 질환으로 인한 빈혈증을 치료하거나; 2,3-다이포스포글리세레이트 수준 증가와 연관된 질환 또는 병태(예: 간 질환)를 치료하기에 충분한 양이다. 일 양태에서, 치료적 유효량은 대상체의 헤모글로빈 반응, 즉 베이스라인 대비 ≥1.0 g/dL (예컨대, ≥1.5 g/dL 또는 ≥2.0 g/dL)의 헤모글로빈 농도 증가를 생성하는 데 필요한 양이다. 일 양태에서, 대상체의 베이스라인 Hb 농도는 본원에 기술된 화합물로 치료하기 전에 이용 가능한 모든 Hb 농도의 평균이다. 특정 양태에서, 치료적 유효량은 환자의 수혈 부담을 감소시키는 데 필요한 양이다. 일 양태에서, 치료적 유효량은 제공된 화합물의 0.01~100 mg/kg(체중)/일, 예를 들어, 0.1 ~100

mg/kg(체중)/일이다.

- [0029] 본원에서 사용되는 바와 같이, 수혈 부담의 감소는 적어도 5주의 치료 기간 이내에 수혈된 RBC 단위의 수가 적어도 20% 감소됨을 의미한다. 특정 구현예에서, 수혈 부담의 감소는 적어도 5주의 치료 기간 이내에 수혈된 RBC 단위의 수가  $\geq 33\%$  감소되는 것이다. 특정 구현예에서, 수혈 부담의 감소는 적어도 10주의 (예를 들어, 적어도 20주 또는 적어도 24주의) 치료 기간 이내에 수혈된 RBC 단위의 수가  $\geq 33\%$  감소되는 것이다.
- [0030] 본원에서 사용되는 바와 같이, 겸상 적혈구병(SCD), 헤모글로빈 SS병, 및 겸상 적혈구 빈혈증은 상호 교환적으로 사용된다. 겸상 적혈구병(SCD)은 겸상 헤모글로빈(HbS)의 존재에 의해 야기된 유전성 혈액 장애이다. 특정 구현예에서, SCD를 가진 대상체의 적혈구 세포는 헤모글로빈 S 또는 겸상 헤모글로빈으로 불리는 비정상적인 헤모글로빈을 갖는다. 특정 구현예에서, SCD를 가진 사람은 신체가 헤모글로빈 S를 생성하게 하는 적어도 하나의 비정상적인 유전자를 갖는다. 특정 구현예에서, SCD를 가진 사람은 2개의 헤모글로빈 S 유전자, 즉 헤모글로빈 SS를 갖는다.
- [0031] 지중해빈혈은 하나 이상의 글로빈 유전자에서 질병-유발 변이체로 인해  $\beta$ -글로빈 생산에 대한  $\alpha$ -글로빈 생산의 정상적인 비율이 파괴되는 유전성 혈액 장애이다. 특정 구현예에서, ( $\beta$ -지중해빈혈에서 발견된 것과 같은) 알파-글로빈 응집체는 쉽게 침전하는데, 이는 적혈구(RBC) 막을 파괴하고 산화 스트레스(oxidative stress)를 초래한다. 특정 구현예에서, 베타-글로빈 테트라머( $\alpha$ -지중해빈혈에서 발견된 Hb H)는 대체적으로 더 가용성이지만, 여전히 불안정하고 침전물을 형성할 수 있다. 글로불린 사슬 합성의 불균형은 Hb 농도의 순 감소로 이어질 수 있고, RBC 전구체의 생존에 극적인 영향을 미쳐, 궁극적으로 골수 및 골수의 부위에서 RGC 전구체의 조기 파괴를 초래한다(Cappellini 등의 2014 문헌 참조). 특정 구현예에서, 이러한 장애는 많은 수의 적혈구를 파괴시키고, 이는 빈혈증으로 이어진다. 특정 구현예에서, 지중해빈혈은 알파-지중해빈혈이다. 특정 구현예에서, 지중해빈혈은 베타-지중해빈혈이다. 다른 구현예에서, 지중해빈혈은 비-수혈-의존성 지중해빈혈이다. 다른 구현예에서, 지중해빈혈은 중간성 베타 지중해빈혈이다. 다른 구현예에서, 지중해빈혈은 Hb E 베타 지중해빈혈이다. 다른 구현예에서, 지중해빈혈은 하나 이상의 알파 유전자의 돌연변이를 동반하는 베타 지중해빈혈이다.
- [0032] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "활성화(activating)"는 제제가 야생형 피루브산 키나아제 R(wt PKR)의 활성을 (측정 가능하게) 증가시키거나, 야생형 피루브산 키나아제 R(wt PKR) 활성을 wt PKR의 기저 활성 수준보다 큰 수준까지 증가시키는 것; 또는 돌연변이체 피루브산 키나아제 R(mPKR)의 활성을 (측정 가능하게) 증가시키거나, 돌연변이체 피루브산 키나아제 R(mPKR) 활성을 돌연변이체 PKR의 기저 활성 수준보다 큰 수준까지, 예를 들어, 야생형 PKR 활성의 20%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100%인 수준까지 증가시키는 것을 의미한다.
- [0033] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "충전된 적혈구 세포(packed red blood cell)" 또는 PRBC는 전혈 유닛으로부터 원심분리에 의해서 만들어지거나 대부분의 혈장을 제거함으로써 만들어진 적혈구 세포를 지칭한다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 95%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 90%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 80%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 70%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 60%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 50%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 40%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 30%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 20%의 적혈구용적률을 갖는다. 특정 구현예에서, PRBC 유닛은 적어도 약 10%의 적혈구용적률을 갖는다.
- [0034] 본원에서 기술되는 바와 같이, 용어 "치료(treatment, treat 및 treating)"는 질병이나 장애, 또는 이의 하나 이상의 증상의 진행을 역전시키거나, 이를 완화시키거나, 이의 발생 가능성을 감소시키거나, 이를 억제하는 것을 지칭한다. 일부 구현예에서, 치료는 하나 이상의 증상이 발생한 후에 투여될 수 있다(치료적 치료). 다른 구현예에서, 치료는 증상이 없을 때 투여될 수 있다. 예를 들어, 치료는 증상 발병 전에 (예를 들어, 증상의 이력에 감안하고/하거나 유전적 요인이나 다른 취약한 요인을 감안하여) 취약한 개체에게 투여될 수 있다(예방적 치료). 치료는 증상이 해결된 후에도, 예를 들어, 재발 가능성을 낮추거나 재발을 지연시키기 위해 계속될 수 있다.
- [0035] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체(subject)" 및 "환자(patient)"는 상호 교환적으로 사용될 수 있으며, 치료를 필요로 하는 포유동물, 예를 들어, 반려 동물(예: 개, 고양이 등), 가축 동물(예: 소, 돼지, 말, 양, 염소 등) 및 실험실 동물(예: 랫트, 마우스, 기니피그 등)일 수 있다. 일반적으로, 대상체는 치료를 필요로 하는 인간이다. 특정 구현예에서, 용어 "대상체"는 질환의 치료를 필요로 하는 인간 대상체를 지칭한다. 특

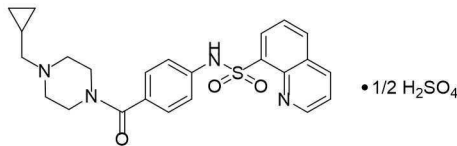
정 구현예에서, 용어 "대상체"는 PKD의 치료를 필요로 하는 인간 대상체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 용어 "대상체"는 지중해빈혈의 치료를 필요로 하는 인간 대상체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 용어 "대상체"는 겸상 적혈구병의 치료를 필요로 하는 인간 대상체를 지칭한다. 특정 구현예에서, 용어 "대상체"는 질환의 치료를 필요로 하는 18세가 넘는 인간 성인을 지칭한다. 특정 구현예에서, 용어 "대상체"는 질환의 치료를 필요로 하는 18세 이하의 인간 소아를 지칭한다. 특정 구현예에서, 대상체는 정기적인 수혈을 필요로 하는 환자이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 정기적인 수혈은 치료 전 52주의 기간 내에 적어도 4회의 수혈 에피소드를 지칭한다. 특정 구현예에서, 정기적인 수혈은 치료 전 52주의 기간 내에 적어도 5회의 수혈 에피소드를 지칭한다. 특정 구현예에서, 정기적인 수혈은 치료 전 52주의 기간 내에 적어도 6회의 수혈 에피소드를 지칭한다. 특정 구현예에서, 정기적인 수혈은 치료 전 52주의 기간 내에 적어도 7회의 수혈 에피소드를 지칭한다. 특정 구현예에서, 겸상 적혈구병, 지중해빈혈, 정기적인 수혈을 요하는 PKD, 및 비-수혈 의존성 PKD로부터 선택된 징후 중 적어도 하나를 가진 대상체는 소타터셉트(sotatercept, ACE-011), 루스파터셉트(luspatercept, ACE-536), 룩솔리티닙(ruxolitinib), 또는 유전자 요법에 노출된 적이 없다. 특정 구현예에서, 이러한 대상체는 시토크롬 P450(CYP)3A4, CYP3A4의 강력한 유도제, P-당단백질(P-gp)의 강력한 억제제, 또는 디곡신(digoxin)을 복용하고 있지 않다. 특정 구현예에서, 이러한 대상체는 만성 항응혈제 요법, 단백 동화 스테로이드(anabolic steroid), 조혈 자극제(예: 에리트로포이에틴, 에리프루 콜로니 자극 인자, 트롬보포이에틴)를 투여받고 있지 않거나, 술폰아미드 알레르기가 없다.

[0036] 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체(pharmaceutically acceptable carrier)"는 함께 제형화되는 화합물의 약리학적 활성에 악영향을 미치지 않으면서, 인간 사용에도 안전한 비독성 담체, 보조제 또는 비히클을 지칭한다.

[0037] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약(about)" 및 "대략(approximately)"이 화합물의 특정 결정질 형태, 비정질 형태 또는 이들의 혼합물을 특징화하는 데 사용되는 수치 값 또는 값의 범위와 조합하여 사용되는 경우, 이들 용어는 특정 결정질 형태, 비정질 형태, 또는 이들의 혼합물을 기술하는 동안 당업자에게 합당한 것으로 여겨지는 정도로 이러한 값 또는 값의 범위가 벗어날 수 있음을 의미한다.

[0038] 화합물

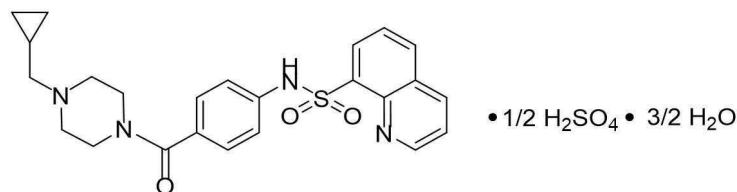
[0039] 하기 화학식 (I)을 갖는 화합물의 반황산염의 결정질 형태 A가 본원에서 제공되며:



[0040] (화학식 I);

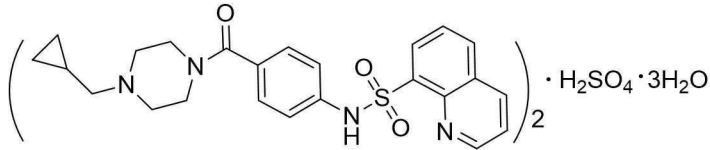
[0042] 결정질 형태 A를 갖는, 화합물의 반황산염은 세스퀴수화물(sesquihydrate)이다.

[0043] 본원에서 사용되는 바와 같이, 결정질 형태 A는 화합물 1, N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드의 반황산염 세스퀴수화물이다. 아래에 도시된 바와 같이, 결정질 형태 A는 화학식 A를 갖는 "1-(시클로프로필메틸)-4-(4-(퀴놀린-8-술폰아미도)벤조일)피페라진-1-옴 반황산 세스퀴수화물"로 명명되거나, 대안적으로 화합물 B를 갖는 "1-(시클로프로필메틸)-4-(4-(퀴놀린-8-술폰아미도)벤조일)피페라진-1-옴 황산염 삼수화물"로 명명될 수 있음을 이해해야 한다:



[0044]

[0045] (화학식 A)



[0046]

[0047] (화학식 B).

[0048] 결정질 형태 A는 화학식 A 또는 화학식 B로 상호 교환가능하게 지칭될 수 있음을 이해해야 한다.

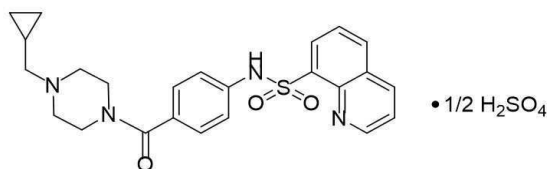
[0049] 본원에서 사용된 바와 같이, "반황산염(hemisulfate)"은 결정질 형태 내의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 대한 화합물 1의 화학양론 비가 2:1인 것(즉, 결정질 형태가 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1분자 당 화합물 1의 2분자를 함유하는 것)을 의미한다.

[0050] 본원에서 사용된 바와 같이, "세스퀴수화물(sesquihydrate)" 또는 "삼수화물(trihydrate)"은 결정질 형태 A 내의 H<sub>2</sub>O에 대한 화합물 1의 화학양론 비가 2:3인 것(즉, 결정질 형태 A가 물 3분자 당 화합물 1의 2분자를 함유하는 것)을 의미한다.

[0051] 일 양태에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 15.8° 및 22.6° 에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 15.8°, 및 22.6° 에서 x-선 분말 회절 피크 및 15.0°, 17.1°, 21.3°, 및 21.9° 로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 하나의 추가 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 15.8°, 및 22.6° 에서 x-선 분말 회절 피크; 및 15.0°, 17.1°, 21.3°, 및 21.9° 로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 2개의 추가 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 구현예에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 15.8°, 및 22.6° 에서 x-선 분말 회절 피크; 및 15.0°, 17.1°, 21.3°, 및 21.9° 로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 3개의 추가 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 15.0°, 15.8°, 17.1°, 21.3°, 21.9°, 및 22.6° 에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 11.4°, 15.0°, 15.3°, 15.8°, 17.1°, 17.7°, 21.3°, 21.9°, 22.6°, 및 23.5° 에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A는 2θ 각도(± 0.2°) 4.9°, 9.9°, 11.0°, 11.4°, 11.7°, 12.3°, 12.8°, 13.6°, 13.9°, 14.2°, 15.0°, 15.3°, 15.8°, 17.1°, 17.4°, 17.7°, 18.8°, 19.1°, 19.8°, 21.3°, 21.9°, 22.6°, 23.0°, 23.2°, 23.5°, 23.8°, 24.1°, 24.5°, 25.3°, 25.6°, 26.1°, 27.1°, 28.1°, 및 29.8° 에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A는 **도 1**과 실질적으로 유사한 x-선 회절 패턴을 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 159° C ± 5° C 및 199° C ± 5° C에서 흡열 피크를 포함하는 시차주사 열량 측정(DSC) 온도 그래프를 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 구현예에서, 결정질 형태 A는 **도 2**에 도시된 것과 실질적으로 유사한 시차주사 열량 측정(DSC) 온도 변화도를 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 구현예에서, 결정질 형태 A는 최대 180°C ± 2°C에서 약 4.5 ± 0.5%의 중량 손실을 포함하는 열중량 분석(TGA) 온도 변화도를 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 구현예에서, 결정질 형태 A는 **도 2**에 도시된 것과 실질적으로 유사한 열중량 분석(TGA) 온도 변화도를 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 구현예에서, 결정질 형태 A는 **도 3**에 도시된 것과 실질적으로 유사한 DSC를 특징으로 한다.

[0052] 실시예에서 보다 상세히 논의되는 바와 같이, 화학식 (I)을 갖는 화합물의 반황산염의 결정질 형태 A는 높은 결정도, (예를 들어, 특히 물을 포함하는) 다수의 용매계 중에서의 안정성, 비교적 작은 입자 크기(예를 들어, 잠재적으로 후속 미분화(micronization)를 피할 수 있도록 현미경으로 보았을 때 20 μm 미만), 습기 중에서의 안정성 (예를 들어, 적어도 20% RH에서 또는 적어도 0.2의 수분 활동도에서의 안정성)을 포함하는 다양한 유리한 물리화학적 특성을 가지며, 유리한 혈장 농도-시간 프로파일과 약동학적 파라미터를 나타내는 것으로 밝혀졌다.

[0053] 또한, 하기 화학식을 갖는 화합물의 반황산염의 결정질 형태 B가 본원에서 제공되며:

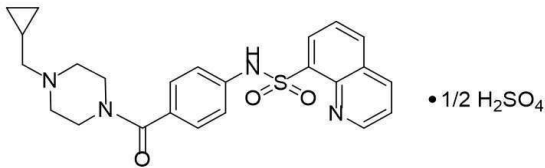


[0054]

[0055] 결정질 형태 B를 갖는, 화합물의 반황산염은 에탄올 용매화물이다.

[0056] 일 양태에서, 결정질 형태 B는 9.9°, 10.6°, 12.7°, 15.7°, 16.9°, 22.0°, 및 22.5°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 3개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 대안적으로, 결정질 형태 B는 9.9°, 10.6°, 12.7°, 15.7°, 16.9°, 22.0°, 및 22.5°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 4개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 B는 9.9°, 10.6°, 12.7°, 15.7°, 16.9°, 22.0°, 및 22.5°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 5개 3개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 B는 9.9°, 10.6°, 12.7°, 15.7°, 16.9°, 22.0°, 및 22.5°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 6개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 B는 2θ 각도(± 0.2°) 9.9°, 10.6°, 12.7°, 13.9°, 14.6°, 15.7°, 16.9°, 22.0°, 22.5°, 및 27.6°에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 B는 2θ 각도(± 0.2°) 7.0°, 7.8°, 9.9°, 10.6°, 11.7°, 12.7°, 13.1°, 13.5°, 13.9°, 14.6°, 14.9°, 15.3°, 15.7°, 16.1°, 16.9°, 17.6°, 19.3°, 19.7°, 20.7°, 21.2°, 22.0°, 22.5°, 23.3°, 24.0°, 24.7°, 25.1°, 25.7°, 26.1°, 27.2°, 27.6°, 28.4°, 29.3°, 및 29.8°에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 B는 도 6과 실질적으로 유사한 x-선 회절 패턴을 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 B는 도 7과 실질적으로 유사한 TGA 또는 DSC 패턴을 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 양태에서, 결정질 형태 B는 약 154 ± 5° C에서 흡열 피크를 포함하는 시차주사 열량측정(DSC) 온도 그래프를 특징으로 한다. 또 다른 대안적인 양태에서, 결정질 형태 B는 최대 200°C ± 2°C에서 약 4.3 ± 0.5%의 중량 손실을 포함하는 TGA를 특징으로 한다.

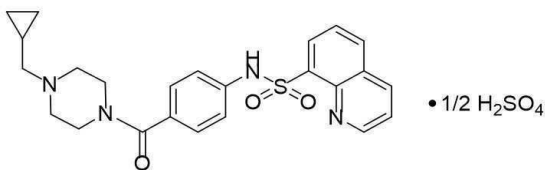
[0057] 또한, 하기 화학식을 갖는 화합물의 반황산염의 결정질 형태 C가 본원에서 제공된다:



[0058]

[0059] 일 양태에서, 결정질 형태 C는 2θ 각도(± 0.2°) 6.9°, 10.4°, 및 12.0°에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다.

[0060] 또한, 하기 화학식을 갖는 화합물의 반황산염의 결정질 형태 D가 본원에서 제공되며:



[0061]

[0062] 형태 D를 갖는, 화합물 D의 반황산염은 무수(anhydrous)이다.

[0063] 일 양태에서, 결정질 형태 D는 5.8°, 10.0°, 10.2°, 19.3°, 22.9°, 23.3°, 및 25.2°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 3개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 대안적으로, 결정질 형태 D는 5.8°, 10.0°, 10.2°, 19.3°, 22.9°, 23.3°, 및 25.2°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 4개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 D는 5.8°, 10.0°, 10.2°, 19.3°, 22.9°, 23.3°, 및 25.2°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 5개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 D는 5.8°, 10.0°, 10.2°, 19.3°, 22.9°, 23.3°, 및 25.2°로부터 선택된 2θ 각도(± 0.2°)에서 적어도 6개의 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 D는 2θ 각도(± 0.2°) 5.8°, 10.0°, 10.2°, 19.3°, 22.9°, 23.3°, 및 25.2°에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 D는 2θ 각도(± 0.2°) 5.8°, 10.0°, 10.2°, 12.2°, 17.3°, 17.6°, 19.3°, 22.9°, 23.3°, 23.6°, 및 25.2°에서 x-선 분말 회절 피크를 특징으로 한다. 또 다른 대안적 양태에서, 결정질 형태 D는 2θ 각도(± 0.2°) 5.8°, 10.0°, 10.2°, 11.3°, 11.5°, 12.2°, 13.6°, 14.1°, 14.7°, 15.4°, 16.0°, 17.3°, 17.6°, 19.3°,





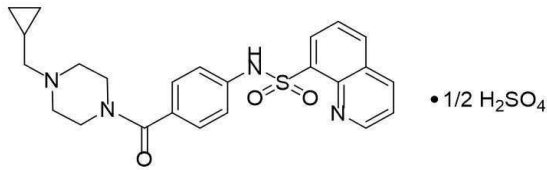


[0094] (화합물 1)

[0095] 알코올성 용액 중에서 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 반응시키는 단계를 포함한다. 일 양태에서, 화학식 1의 화합물의 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 대한 물비는 약 2:1이다. 또 다른 양태에서, 알코올성 용액은 물을 추가로 포함한다. 일 양태에서, 상기 기술된 결정질 형태 A를 형성하는 방법은 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 반응시킨 후, 결정질 형태를 침전시키기에 충분한 물을 첨가하는 단계를 추가로 포함한다. 일 양태에서, 알코올은 메탄올 또는 에탄올이다. 또 다른 양태에서, 용액은 방향족 용매를 추가로 포함한다. 또 다른 양태에서, 방향족 용매는 톨루엔이다.

[0096] 하나의 대안적인 양태에서, 결정질 형태 A는 아세톤 또는 물을 포함하는 용액 중에서 화합물 1을 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 반응시킴으로써 제조된다. 일 양태에서, 용액은 아세톤:물(9:1/v:v)이다.

[0097] 또한, 하기 화학식을 갖는 화합물의 반황산염을 형성하는 방법이 본원에서 제공되며:

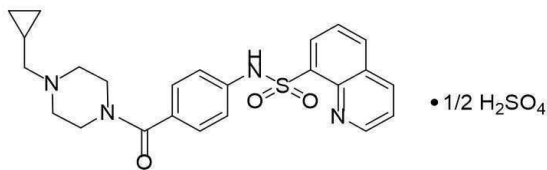


[0098]

[0099] 상기 방법은 화합물 1의 비결정질 유리 염기를 EtOAc 중 황산의 용액과 반응시키는 단계를 포함한다. 일 양태에서, EtOAc 중 황산의 농도는 약 15중량% 내지 약 30중량%이다. 특정 구현예에서, EtOAc 중 황산의 농도는 약 24중량%이다.

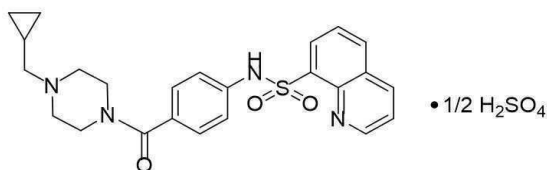
[0100] 하나의 대안적인 구현예에서, 반황산염은 물과 알코올(예: MeOH 또는 EtOH)을 포함하는 용액 중에서 화합물 1을 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 반응시킴으로써 제조된다.

[0101] 또한, 하기 화학식의 화합물의 반황산염의 비정질 형태를 형성하는 방법이 본원에서 제공되며:



[0102]

[0103] 상기 방법은 하기 화학식을 갖는 화합물의 반황산염의 형태 A를



[0104]

[0105] 증발을 통해 MeOH로부터 결정화하는 단계를 포함한다. 대안적으로, 반황산염의 비정질 형태는 반황산염의 결정질 형태 A를 THF로부터 결정화함으로써 제조될 수 있다. 일 양태에서, 증발에 의한 결정화는 약 50° C에서 메탄올 또는 THF에서 수행된다.

[0106] 조성물 및 투여

[0107] 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 하나 이상의 개시된 결정질 형태(예를 들어, 결정질 형태 A) 또는 개시된 비정질 형태 중 하나 이상을 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다. 제공된 조성물 중 결정질 또는 비정질 형태의 양은 대상체에서 PKR을 측정 가능하게 조절하는 데 효과적인 양이다.

[0108] 본원에 기술된 약학적 조성물은 약리학 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 이러한 제조 방법은, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 중 하나 이상을 담체 및/또는 하나 이상의 다른 보조 성분과 결합시키는 단계, 및 이어서, 필요한 경우 및/또는 원하는 경우, 생성물을 원하는 단일 투여 단위 또는 다중 투여 단위로 성형하고/하거나 포장하는 단계를 포함한다.

[0109] 제공된 약학적 조성물의 제조에 사용되는 약학적으로 허용 가능한 담체는 불활성 희석제, 분산제 및/또는 과립

화제, 계면 활성제 및/또는 유화제, 분해제, 결합제, 보존제, 완충제, 윤활제 및/또는 오일을 포함한다. 코코아 버터와 좌제용 왁스, 착색제, 코팅제, 감미제, 방향제, 및 향미제와 같은 담체도 조성물 내에 존재할 수 있다.

- [0110] 예시적인 희석제는 탄산칼슘, 탄산나트륨, 인산칼슘, 인산이칼슘, 황산칼슘, 인산수소칼슘, 인산나트륨 락토오스, 수크로오스, 셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 카올린, 만니톨, 소르비톨, 이노시톨, 염화나트륨, 건조 전분, 옥수수 전분, 분당, 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0111] 예시적인 과립화제 및/또는 분산제는 감자 전분, 옥수수 전분, 타피오카 전분, 전분 글리콜산나트륨, 점토, 알긴산, 구아 검, 시트러스 펄프, 한천, 벤토나이트, 셀룰로오스 및 목재 산물, 천연 스폰지, 양이온 교환 수지, 탄산칼슘, 규산염, 탄산나트륨, 가교 결합된 폴리(비닐-피롤리돈), 카르복시메틸 스타치 나트륨(전분 글리콜산 나트륨), 카르복시메틸 셀룰로오스, 가교 결합된 카르복시메틸 셀룰로오스 나트륨(크로스카멜로오스), 메틸셀룰로오스, 호화전분(starch 1500), 미정질 전분, 수용성 전분, 카르복시메틸 셀룰로오스 칼슘, 마그네슘 알루미늄 실리케이트 (Veegum), 라우릴 황산나트륨, 사차암모늄 화합물, 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0112] 예시적인 계면 활성제 및/또는 유화제는 천연 유화제(예: 아카시아, 한천, 알긴산, 알긴산나트륨, 트라가칸트(tragacanth), 콘드릭스(chondrux), 콜레스테롤, 잔탄(xanthan), 펙틴, 젤라틴, 난황, 카제인, 양모지(wool fat), 콜레스테롤, 왁스 및 레시틴), 콜로이드성 점토(예: 벤토나이트(규산알루미늄) 및 Veegum(마그네슘 알루미늄 실리케이트)), 장쇄 아미노산 유도체, 고분자량 알코올(예: 스테아릴 알코올, 세틸 알코올, 올레일 알코올, 트리아세틴 모노스테아레이트, 에틸렌 글리콜 디스테아레이트, 글리세릴 모노스테아레이트, 및 프로필렌 글리콜 모노스테아레이트, 폴리비닐 알코올), 카보머(예: 카르복시 폴리메틸렌, 폴리아크릴산, 아크릴산 중합체, 및 카르복시비닐 중합체), 카라기닌, 셀룰로오스 유도체(예: 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨, 분말 셀룰로오스, 히드록시메틸 셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스), 소르비탄 지방산 에스테르(예: 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노라우레이트(Tween 20), 폴리옥시에틸렌 소르비탄(Tween 60), 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트(Tween 80), 소르비탄 모노팔미테이트(Span 40), 소르비탄 모노스테아레이트(Span 60), 소르비탄 트리스테아레이트(Span 65), 글리세릴 모노올레에이트, 소르비탄 모노올레에이트(Span 80)), 폴리옥시에틸렌 에스테르(예: 폴리옥시에틸렌 모노스테아레이트(Myrij 45), 폴리옥시에틸렌 수소첨가 피마자유, 폴리에톡시화 피마자유, 폴리옥시메틸렌 스테아레이트, 및 솔루톨(Solutol)), 수크로오스 지방산 에스테르, 폴리에틸렌 글리콜 지방산 에스테르(예: Cremophor 제), 폴리옥시에틸렌 에테르(예: 폴리옥시에틸렌 라우릴 에테르(Brij 30)), 폴리(비닐-피롤리돈), 디에틸렌 글리콜 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레에이트, 올레산 나트륨, 올레산 칼륨, 올레산 에틸, 올레산, 라우린산 에틸, 라우린산 황산나트륨, 플루로닉 F-68, 폴록사머-188, 세트리모늄 브로마이드, 염화 세틸피리디늄, 염화 벤즈알코늄, 도큐세이트 나트륨, 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0113] 예시적인 결합제는 전분(예: 옥수수 전분 및 전분 페이스트), 젤라틴, 당류(예: 수크로오스, 글루코오스, 텍스트로오스, 텍스트린, 당밀, 락토오스, 락티톨, 만니톨 등), 천연 및 합성 검(예: 아카시아, 알긴산나트륨, 아일랜드 이끼 추출물, 판와 검(panwar gum), 가티 검(ghatti gum), 이사폴 껍질(isapol husks)의 점액, 카르복시메틸셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시프로필 셀룰로오스, 히드록시프로필 메틸셀룰로오스, 미정질 셀룰로오스, 셀룰로오스 아세테이트, 폴리(비닐-피롤리돈), 마그네슘 알루미늄 실리케이트(Veegum), 및 라치 아라보갈락탄(larch arabogalactan)), 알긴산염, 폴리에틸렌 옥사이드, 폴리에틸렌 글리콜, 무기 칼슘염, 규산, 폴리메타크릴레이트, 왁스, 물, 및/또는 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0114] 예시적인 방부제는 항산화제, 킬레이트제, 항균 보존제, 항진균 보존제, 알코올 보존제, 산성 보존제, 및 기타 보존제를 포함한다. 특정 구현예에서, 보존제는 항산화제이다. 다른 구현예에서, 보존제는 킬레이트제이다.
- [0115] 예시적인 항산화제는 알파 토코페롤, 아스코르브산, 아스코빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔, 부틸화 히드록시톨루엔, 모노티오글리세롤, 메타중아황산칼륨, 프로피온산, 갈산프로필, 아스코르브산나트륨, 아황산나트륨, 메타중아황산나트륨 및 아황산나트륨을 포함한다.
- [0116] 예시적인 킬레이트제는 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA) 및 이의 염 및 수화물(예: 에테레이트, 에테레이트 이나트륨, 에테레이트 삼나트륨, 트리나트륨 에테레이트, 에테레이트 칼슘이나트륨, 에테레이트 이칼륨 등), 구연산 및 이의 염 및 수화물(예: 구연산 일수화물), 푸마르산 및 이의 염 및 수화물, 말산 및 이의 염 및 수화물, 인산 및 이의 염 치 수화물, 및 타르타르산 및 이의 염 및 수화물을 포함한다. 예시적인 항균 보존제는 염화 벤즈알코늄, 염화 벤제토늄, 벤질 알코올, 브로노폴, 세트리미드, 염화세틸피리디늄, 클로르헥시딘, 클로로부탄올, 클로로크레졸, 클로록실레놀, 크레졸, 에틸 알코올, 글리세린, 헥세티딘, 이미드우레아, 페놀, 페녹시에탄올, 페닐에틸 알코올, 페닐수은질산, 프로필렌 글리콜, 및 티메로살을 포함한다.

- [0117] 예시적인 항진균 보존제는 부틸 파라벤, 메틸 파라벤, 에틸 파라벤, 프로필 파라벤, 벤조산, 히드록시벤조산, 벤조산칼륨, 소르브산칼륨, 벤조산나트륨, 프로피온산나트륨 및 소르브산을 포함한다.
- [0118] 예시적인 알코올 보존제는 에탄올, 폴리에틸렌 글리콜, 페놀, 페놀 화합물, 비스페놀, 클로로부탄올, 히드록시벤조에이트, 및 페닐에틸 알코올을 포함한다.
- [0119] 예시적인 산성 보존제는 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E, 베타-카로틴, 구연산, 아세트산, 탈수소 아세트산, 아스코르브산, 소르브산 및 피트산을 포함한다.
- [0120] 기타 보존제에는 토크페롤, 토크페롤 아세테이트, 디테록심 메실레이트, 세트리미드, 부틸화 히드록시아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔(BHT), 에틸렌디아민, 라우릴 황산나트륨(SLS), 라우릴 에테르 황산나트륨(SLES), 아황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산칼륨, 메타중아황산칼륨, 글라이던트 플러스, 페노닙(Phenonip), 메틸파라벤, Germall 115, Germaben II, Neolone, Kathon, and Euxyl 등이 있다.
- [0121] 예시적인 완충제는 구연산염 완충액, 아세트산염 완충액, 인산염 완충액, 염화암모늄, 탄산칼슘, 염화칼슘, 구연산칼슘, 글루비온산칼슘, 글루코헵톤산칼슘, 글루콘산칼슘, D-글루콘산, 글리세로인산칼슘, 젯산칼슘, 프로판산, 레볼린산칼슘, 펜탄산, 제이인산칼슘, 인산, 제삼인산칼슘, 수산화 인산칼슘, 아세트산칼륨, 염화칼륨, 글루콘산칼륨, 칼륨 혼합물, 제이인산칼륨, 제일인산칼륨, 인산칼륨 혼합물, 아세트산칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 구연산나트륨, 젯산나트륨, 제이인산나트륨, 제일인산나트륨, 인산나트륨 혼합물, 트로메타민, 수산화마그네슘, 수산화알루미늄, 알긴산, 발열원 제거수(pyrogen-free water), 등장성 염수, 링거 용액, 에틸 알코올, 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0122] 예시적인 윤활제는 스테아르산마그네슘, 스테아르산칼슘, 스테아르산, 실리카, 탈크, 말트, 글리세릴 베헤네이트, 수소 경화 식물유, 폴리에틸렌 글리콜, 벤조산나트륨, 아세트산나트륨, 염화나트륨, 류신, 라우릴 황산마그네슘, 라우릴 황산나트륨, 스테아릴 푸마르산나트륨, 및 이들의 혼합물을 포함한다.
- [0123] 예시적인 천연 오일은 아몬드유(almond oil), 핵인유(apricot kernel oil), 아보카도유(avocado oil), 바바수유(babassu oil), 베르가못유(bergamot oil), 까막까치밥나무씨 기름(black currant seed oil), 보리지 오일(borage oil), 두송유(cade oil), 카모마일유(chamomile oil), 카놀라유(canola oil), 캐러웨이유(caraway oil), 카나우바유(carnauba oil), 피마자유(castor oil), 계피유(cinnamon oil), 코코아 버터(cocoa butter), 야자유(coconut oil), 대구 간유(cod liver oil), 커피유(coffee oil), 옥수수유(corn oil), 면실유(cotton seed oil), 에뮤 오일(emu oil), 유칼립투스유(eucalyptus oil), 월견초유(evening primrose oil), 어유(fish oil), 아마씨유(flaxseed oil), 게라니올 오일(geraniol oil), 호리병박 오일(gourd oil), 포도씨유(grape seed oil), 헤이즐넛 오일(hazel nut oil), 히습 오일(hyssop oil), 이소프로필 미리스테이트 오일(isopropyl myristate oil), 호호바 오일(jojoba oil), 쿠쿠이넛 오일(kukui nut oil), 라빈딘유(lavandin oil), 라벤더유(lavender oil), 레몬유(lemon oil), 리세아 쿠베바 오일(litsea cubeba oil), 마카데미아넛 오일(macademia nut oil), 당아욱 오일(mallow oil), 망고씨유(mango seed oil), 메도우폼씨유(meadowfoam seed oil), 밍크유(mink oil), 육두구유(nutmeg oil), 올리브유(olive oil), 오렌지유(orange oil), 오렌지 러피유(orange roughly oil), 팜유(palm oil), 팜핵유(palm kernel oil), 도핵유(peach kernel oil), 땅콩유(peanut oil), 양귀비씨유(poppy seed oil), 호박씨유(pumpkin seed oil), 유채씨유(rapeseed oil), 미강유(rice bran oil), 로즈마리유(rosemary oil), 홍화유(safflower oil), 백단유(sandalwood oil), 산다화유(sasquana oil), 세이버리유(savoury oil), 산자나무유(sea buckthorn oil), 참기름(sesame oil), 시어버터(shea butter), 실리콘유(silicone oil), 대두유(soybean oil), 해바라기유(sunflower oil), 차나무 오일(tea tree oil), 엉겅퀴유(thistle oil), 동백유(Tsubaki oil), 베티버유(Vetiver oil), 호두기름(Walnut oil), 및 밀 배아유(wheat germ oil)를 포함한다. 예시적인 합성 오일은 부틸 스테아레이트, 카프릴릭 트리글리세리드, 카프릭 트리글리세리드, 시클로메티콘, 디에틸 세바케이트, 디메티콘 360, 이소프로필 미리스테이트, 광유, 옥틸도데칸올, 올레일 알코올, 실리콘유 및 이들의 혼합물을 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다.
- [0124] 본원에 기술된 조성물은 경구 투여되거나, 비경구 투여되거나, 흡입 분무에 의해 투여되거나, 국소 투여되거나, 직장 내 투여되거나, 비강 내 투여되거나, 구강 내 투여되거나, 점막 경유 투여되거나, 안과용 제제로 투여될 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "비경구(parenteral)"는 피하, 정맥내, 근육내, 관절내, 활액내, 흉골내, 척추강내, 간내, 병변내 및 두개내 주사 또는 주입 기술을 포함한다. 일 양태에서, 본원에 제공된 약학적 조성물은 캡슐, 정제, 유화액 및 수성 현탁액, 분산액 및 용액을 포함하지만 이들로 한정되지는 않는 임의의 경구식 투여 형태로 경구 투여된다. 경구 사용을 위한 정제의 경우, 흔히 사용되는 담체는 락토오스 및 옥수수 전분을 포함한다. 스테아린산 마그네슘과 같은 윤활제 또한 일반적으로 첨가된다. 캡슐 형태의 경구 투여를 위

해, 유용한 희석제는 락토오스 및 건조 옥수수 전분을 포함한다. 수성 현탁액 및/또는 유화액이 경구 투여되는 경우, 활성 성분은 유화제 및/또는 현탁제와 결합된 유성상(oily phase)에 현탁되거나 용해될 수 있다. 원하는 경우, 소정의 감미제 및/또는 향미제 및/또는 착색제를 첨가할 수 있다.

[0125] 단일 투여 형태로 조성물을 생산하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 제공된 결정질 또는 비정질 형태의 양은 치료 받을 대상체 및 특정 투여 방식에 따라 달라지게 된다. 예를 들어, 특정 대상체에 대한 구체적인 투여량 및 치료 처방은 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 식단, 투여 시간, 배설 속도, 약물 조합, 치료 의사의 판단, 및 치료 중인 특정 질환의 중증도를 포함하는 다양한 요인에 따라 달라지게 된다. 조성물 중 제공된 결정 형태의 양 또한 조성물 중에 존재하는 특정 형태(예를 들어, A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J)에 따라 달라지게 된다. 일 양태에서, 제공된 조성물은 약 0.001 내지 약 100 mg/kg(체중)/일의 화합물 1(예를 들어, 약 0.5 내지 약 100 mg/1 kg의 화합물 1)과 동등한 투여량이 이들 조성물을 투여 받는 대상체에게 투여될 수 있도록 제형화될 수 있다. 대안적으로, 4시간 내지 120시간마다 1 mg/kg 및 1000 mg/kg의 화합물 1과 동등한 투여량도 허용 가능하다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 투여량은 특정 결정질 형태인 화합물 1의 양을 지칭한다. 특정 결정질 형태의 양은 화합물 1의 유리 염기 형태에 대한 등량성(equivalence)을 기준으로 계산될 것이다.

[0126] 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 2 mg 내지 약 3000 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 투여량은 경구 투여량이다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 2 mg 내지 약 3000 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 5 mg 내지 약 350 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 5 mg 내지 약 200 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 5 mg 내지 약 100 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 5 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 10 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 15 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 20 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서는 25 mg이다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 30 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 40 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 45 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 50 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 60 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 70 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 80 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 90 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 100 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 110 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 120 mg의 화합물 1과 등량으로 제형화된다.

[0127] 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 2 mg 내지 약 3000 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 5 mg 내지 약 500 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 5 mg 내지 약 200 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 5 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 5 mg 내지 약 10 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 15 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 20 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 25 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질

형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 30 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 35 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 40 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 45 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 50 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 60 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 70 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 80 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 90 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 100 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 110 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 120 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 130 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 140 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 특정 구현예에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 1일당 약 150 mg의 화합물 1과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 투여는 1일 1회, 2회 또는 3회일 수 있다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 5 mg의 화합물 1이 매일 2회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 20 mg의 화합물 1이 매일 2회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 50 mg의 화합물 1이 매일 2회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 100 mg의 화합물 1이 매일 2회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 5 mg의 화합물 1이 2일에 1회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 20 mg의 화합물 1이 2일에 1회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 50 mg의 화합물 1이 2일에 1회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다. 일 양태에서, 개시된 결정질 형태(예: 결정질 형태 A) 또는 비정질 형태는 약 100 mg의 화합물 1이 2일에 1회 투여되는 것과 등량인 투여량으로 투여되도록 제형화된다.

[0128] 일 양태에서, 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태)는 약학적으로 허용 가능한 담체와 함께 정제 조성물로서 제형화된다. 일 양태에서, 담체는 미정질 셀룰로오스, 만니톨, 크로스카멜로오스 나트륨 및 스테아릴 푸마르산나트륨 중 하나 이상으로부터 선택된다. 일 양태에서, 담체는 미정질 셀룰로오스이며, 예를 들어, 50% w/w 내지 70% w/w ( $\pm 2\%$ ), 55% w/w 내지 65% w/w ( $\pm 2\%$ ), 58% w/w 내지 62% w/w ( $\pm 2\%$ ), 59% w/w ( $\pm 2\%$ ), 60% w/w ( $\pm 2\%$ ), 61% w/w ( $\pm 2\%$ ), 62% w/w ( $\pm 2\%$ ), 61% w/w, 또는 62% w/w의 양으로 존재한다. 또 다른 양태에서, 담체는 만니톨이며, 예를 들어, 15% w/w ( $\pm 2\%$ ) 내지 35% w/w ( $\pm 2\%$ ), 20% w/w ( $\pm 2\%$ ) 내지 30% w/w ( $\pm 2\%$ ), 22% w/w ( $\pm 2\%$ ) 내지 26% w/w ( $\pm 2\%$ ), 22% w/w ( $\pm 2\%$ ), 23% w/w ( $\pm 2\%$ ), 24% w/w ( $\pm 2\%$ ), 또는 23% w/w의 양으로 존재한다. 또 다른 양태에서, 담체는 크로스카멜로오스 나트륨이며, 예를 들어, 1% w/w 내지 5% w/w ( $\pm 2\%$ ), 2% w/w 내지 4% w/w ( $\pm 2\%$ ), 2% w/w ( $\pm 2\%$ ), 3% w/w ( $\pm 2\%$ ), 4% w/w ( $\pm 2\%$ ) 또는 3% w/w의 양으로 존재한다. 또 다른 양태에서, 담체는 스테아릴 푸마르산염이며, 예를 들어, 1% w/w 내지 5% w/w ( $\pm 2\%$ ), 2% w/w 내지 4% w/w ( $\pm 2\%$ ), 1% w/w ( $\pm 2\%$ ), 2% w/w ( $\pm 2\%$ ), 3% w/w ( $\pm 2\%$ ) 또는 2% w/w의 양으로 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 1 내지 약 200 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 1 내지 약 150 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 1 내지 약 100 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 5 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 20 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 50 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질

형태 A는 약 75 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다. 일부 구현예에서, 결정질 형태 A는 약 100 mg의 화합물 1과 등량으로 정제 조성물에 존재한다.

[0129] 본원에서 사용되는 바와 같이, 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 또는 비정질 형태의 투여량은 화합물 1의 유리 염기 형태에 대한 등량성을 기반으로 한다. 예를 들어, "약 1.0 mg의 화합물 1과 등량으로 조성물에 존재하는 결정질 형태 A"는 약 1.18 mg의 결정질 형태 A가 조성물에 존재하고, 이는 화합물 1의 유리 염기 약 1.0 mg과 등량임을 의미한다.

[0130] 일 양태에서, 정제 조성물은 10% w/w(±1%)의 결정질 유리 염기; 62% w/w(±2%)의 미정질 셀룰로오스; 23% w/w(±2%)의 만니톨; 3% w/w(±2%)의 크로스카멜로오스 나트륨; 및 2% w/w(±2%)의 스테아릴 푸마르산염을 포함한다.

[0131] 일 양태에서, 정제 조성물은 5.7 내지 5.9 mg, 23.4 내지 23.6 mg, 또는 58.7 내지 58.9 mg 결정질 형태 A 또는 11.78% w/w(±1%)의 결정질 형태 A; 62% w/w(±2%)의 미정질 셀룰로오스; 23% w/w(±2%)의 만니톨; 3% w/w(±2%)의 크로스카멜로오스 나트륨; 및 2% w/w(±2%)의 스테아릴 푸마르산염을 포함한다.

[0132] 특정 구현예에서, 결정질 형태 A 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A를 포함하고 화합물 IM-1 및/또는 화합물 IM-2가 실질적으로 없는 약학적 조성물이 제공된다(예시 참조). 특정 구현예에서, 형태 A를 포함하는 약학적 조성물은 화합물 1의 반황산염의 다른 결정질 형태가 실질적으로 없다. 특정 구현예에서,

[0133] 하나 이상의 담체는 일정한 크기의 입자를 생성하도록 가공된다. 특정 구현예에서, 분말(즉, 결정질 형태 A)을 가공하는 단계는 원하는 입자 크기("분쇄된 분말")를 생성하기에 적합한 시간 동안 분말을 분쇄하는 단계를 포함한다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 400 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 300 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 200 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 100 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 90 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 80 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 70 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 60 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 50 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 40 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 30 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 20 μm 미만이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 400 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 300 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 200 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 100 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 80 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 70 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 10 μm 내지 약 60 μm 범위이다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 입자 크기는 약 20 μm 내지 약 60 μm 범위이다. 입자 크기에 대해 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약 (about)"은 +/- 5 μm를 의미한다.

[0134] 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 대표적인 샘플의 적어도 90%는 약 100, 약 80, 약 70, 약 60, 약 50, 약 40, 약 30, 약 20, 또는 약 10 μm 미만의 입자 크기를 갖는다. 일부 구현예에서, 분쇄된 분말의 대표적인 샘플의 적어도 약 90%는 약 60 μm 미만의 입자 크기를 갖는다.

[0135] 치료 방법 및 화합물과 조성물의 용도

[0136] 일 양태에서, 본원에 기술된 결정질 및 비정질 형태 및 이들의 조성물은 PKR의 다른 자리성 활성화제이며, 일반적으로 PKD의 기저 병태를 치료하는 데 유용하다.

[0137] 따라서, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은 화학식 (I)의 화합물 또는 이의 약학적 조성물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 또한, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태; 또는 상기 화합물의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD)을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태의 용도; 또는 상기 화합물의 약학적 조성물의 용도가 제공된다. PKD와 관련된 예시적인 병태는 빈혈증, 담낭 결석증(cholelithiasis), 담석, 빈맥, 혈액소 침착증, 공

막 활당(icteric sclera), 비장비대, 다리 궤양, 황달, 피로 및 호흡곤란을 포함하지만, 이들로 한정되지는 않는다. 본원에 기술된 바와 같이, PKD는 PKR의 결핍이다. 특정 구현예에서, PKR의 결핍은 PKR 돌연변이와 관련이 있다.

[0138] 피루브산염 키나아제 결핍증(PKD)은 평생 용혈성 빈혈증을 초래하는 당분해성 효소병(glycolytic enzymopathy)이다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 PKLR 유전자에 적어도 2개의 돌연변이체 대립유전자를 가진 환자이다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 PKLR 유전자에 적어도 2개의 돌연변이체 대립유전자를 가진 환자이고, 적어도 하나는 미스센스 돌연변이이다. Canu. 등의 문헌[Blood Cells, Molecules and Diseases 2016, 57, pp. 100-109]을 참조한다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 10.0 g/dL 이하의 Hb 농도를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 정기적으로 수혈을 받지 않는 성인(예를 들어, 치료까지의 12개월의 기간에 4회 이하의 수혈 에피소드를 가짐)이다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 수혈 비 의존적 성인(예를 들어, 치료 이전 12개월의 기간에 3단위 이하의 RBC 수혈을 받음)이다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 정기적으로 수혈을 받는 (예를 들어, 치료 이전 12개월의 기간에 적어도 4회의 수혈 에피소드(예를 들어, 적어도 6회의 수혈 에피소드)를 가진) 성인이다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 5회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 10회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 15회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 20회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 25회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 30회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 40회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 50회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 60회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 대상체의 평생 동안 적어도 70회의 수혈 에피소드 총 횟수를 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 R479H 돌연변이에 대해 동형접합성이 아니거나, PKLR 유전자에서 2개의 비-미스센스 돌연변이를 갖지 않는다. 특정 구현예에서, PKD를 갖고, 정기적으로 수혈을 받는 대상체는 치료 전 헤모글로빈(Hb)이 (수컷인 경우)  $\leq 12.0\text{g/dL}$ 이거나 (암컷인 경우)  $\leq 11.0\text{g/dL}$ 이다. 특정 구현예에서, PKD를 갖고, 정기적으로 수혈을 받는 대상체는 3주마다 평균 1회 이하로 수혈을 받는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 치료 전에 적어도 0.8 mg(예: 적어도 1.0 mg)의 엽산을 매일(예: 적어도 21일 동안) 투여받은 적이 있다. 특정 구현예에서, PKD를 갖고, 정기적으로 수혈을 받는 대상체는 5주, 10주, 15주, 20주, 24주, 28주 또는 32주의 치료 동안 수혈 부담의 감소(예를 들어, 수혈된 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 33% 감소)를 달성한다. 특정 구현예에서, PKD를 갖고, 정기적인 수혈을 받지 않는 대상체(치료 이전 12개월의 기간에 4회 이하의 수혈 에피소드를 가진 적이 있고/있거나 치료 전 3개월 이내에 수혈 에피소드를 가진 적이 있는 대상체)는 성별에 상관없이 치료 전  $\leq 10.0\text{g/dL}$ 의 헤모글로빈(Hb)을 갖는다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 비장절제술(splenectomy)을 받은 적이 있다.

[0139] 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 치료 전의 베이스라인과 비교했을 때, Hb 농도가 적어도 1.0 g/dL 증가하는 헤모글로빈 반응을 치료 후에 달성한다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 치료 전의 베이스라인으로부터 Hb 농도가 적어도 1.5 g/dL 증가하는 헤모글로빈 반응을 달성한다. 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체는 치료 전의 베이스라인으로부터 Hb 농도가 적어도 2.0 g/dL 증가하는 헤모글로빈 반응을 달성한다.

[0140] 일 구현예에서, 돌연변이체 PKR은 A31V, A36G, G37Q, R40W, R40Q, L73P, S80P, P82H, R86P, I90N, T93I, G95R, M107T, G111R, A115P, S120F, H121Q, S130P, S130Y, V134D, R135D, A137T, G143S, I153T, A154T, L155P, G159V, R163C, R163L, T164N, G165V, L167M, G169G, E172Q, W201R, I219T, A221Y, D221N, G222A, I224T, G232C, N253D, G263R, G263W, E266K, V269F, L272V, L272P, G275R, G275R, E277K, V280G, D281N, F287V, F287L, V288L, D293N, D293V, A295I, A295V, I310N, I314T, E315K, N316K, V320L, V320M, S330R, D331N, D331G, D331E, G332S, V335M, A336S, R337W, R337P, R337Q, D339N, D339Q, G341A, G341D, I342F, K348N, A352D, I357T, G358R, G358E, R359C, R359H, C360Y, N361D, G364D, K365M, V368F, T371I, L374P, S376I, T384M, R385W, R385K, E387G, D390N, A392T, N393D, N393S, N393K, A394S, A394D, A394V, V395L, D397V, G398A, M403I, G406R, E407K, E407G, T408P, T408A, T408I, K410E, G411S, G411A, Q421K, A423A, A423A, R426W, R426Q, E427A, E427N, A431T, R449C, I457V, G458D, A459V, V460M, A468V, A468G, A470D, T477A, R479C, R479H, S485F, R486W, R486L, R488Q, R490W, I494T, A495T, A495V, R498C, R498H, A503V, R504L, Q505E, V506I, R510Q, G511R, G511E, R518S, R531C, R532W, R532Q, E538D, G540R, D550V, V552M, G557A, R559G, R559P, N566K, M568V, R569Q, R569L, Q58X, E174X, W201X, E241X, R270X, E440X, R486X, Q501X,

L508X, R510X, E538X, R559X로 이루어진 군으로부터 선택된다. 이들 돌연변이는 Canu 등의 문헌[Blood Cells, Molecules and Diseases 2016, 57, pp. 100-109]에 기술되어 있다. 일 구현예에서, 돌연변이체 PKR은 G332S, G364D, T384M, K410E, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q, 및 R490W로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 돌연변이체 PKR은 A468V, A495V, I90N, T408I, 및 Q421K, 및 R498H로부터 선택된다. 특정 구현예에서, PKR은 R532W, K410E, 또는 R510Q이다. 특정 구현예에서, PKR은 R510Q, R486W, 또는 R479H이다.

[0141] 다른 양태에서, 용혈성 빈혈증, 겸상 적혈구병, 지중해빈혈, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 바센-코른츠바이크 증후군, 및 발작성 야간 혈색뇨로부터 선택된 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 대상체에서 용혈성 빈혈증, 겸상 적혈구병, 지중해빈혈, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 바센-코른츠바이크 증후군, 및 발작성 야간 혈색뇨로부터 선택된 질환을 치료하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 용혈성 빈혈증, 겸상 적혈구병, 지중해빈혈, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 바센-코른츠바이크 증후군, 및 발작성 야간 혈색뇨의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다. 일 양태에서, 치료 대상 질환은 용혈성 빈혈이다.

[0142] 다른 양태에서, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하기 위한 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)의 치료에 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0143] 다른 양태에서, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하기 위한 방법으로서, 결정질 형태 A 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 지중해빈혈(예: 베타-지중해 빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)의 치료에 사용하기 위한 결정질 형태 A 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 지중해빈혈(예: 베타-지중해 빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 결정질 형태 A 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0144] 다른 양태에서, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하기 위한 방법으로서, 결정질 형태 D 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 지중해빈혈(예: 베타-지중해 빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)의 치료에 사용하기 위한 결정질 형태 D 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 지중해빈혈(예: 베타-지중해 빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈)을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 결정질 형태 D 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0145] 특정 구현예에서, 대상체는 지중해빈혈을 가진 성인 대상체이다. 특정 구현예에서, 대상체는 지중해빈혈, 예컨대 중간성 β-지중해빈혈, Hb E β-지중해빈혈, α-지중해빈혈(Hb H 질병), 또는 하나 이상의 α 유전자가 돌연변이된 β-지중해빈혈을 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈을 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈과 같은 지중해빈혈을 가진 성인 남성 대상체이다. 특정 구현예에서, 대상체는 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈과 같은 지중해빈혈을 가진 여성 대상체이다. 특정 구현예에서, 대상체는 베타-지중해빈혈 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈과 같은 지중해빈혈을 가진 성인 여성 대상체이다. 특정 구현예에서, 대상체는 6.0 g/dL 이하의 헤모글로빈 농도를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 7.0 g/dL 이하의 헤모글로빈 농도를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 8.0 g/dL 이하의 헤모글로빈 농도를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 9.0 g/dL 이하의 헤모글로빈 농도를 갖는다. 특정 양태에서, 비-수혈-의존성 지중해빈혈을 가진 대상체는 Hb S 또는 Hb C 형태의 지중해빈혈의 알려진 이력을 (예를 들어, 과거에 진단된 이력을) 갖지 않는다. 특정 구현예에서, 용어 "비-수혈-의존적(non-transfusion-dependent)" 지중해빈혈은, 본원에 기술된 결정질 형태 또는 비정질 형태의 투여 1일차까지의

24주 기간 동안 4(예를 들어, 5) 단위 이하의 RBC가 수혈된 지중해빈혈 대상체 및/또는 본원에 기술된 결정질 형태 또는 비정질 형태의 투여 1일차 이전 8주 기간 이내에 RBC 수혈을 받지 않은 지중해빈혈 대상체를 지칭한다.

[0146] 다른 양태에서, 적혈구(RBC)의 수명 증가를 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 적혈구(RBC)의 수명 증가를 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 적혈구(RBC)의 수명을 증가시키기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다. 일 양태에서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물은 전혈에 직접 첨가되거나 충전된 적혈구에 체외에서 첨가된다.

[0147] 다른 양태에서, 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 조절하는 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량과 혈액을 접촉시키는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 조절하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0148] 다른 양태에서, 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태; 또는 상기 화합물의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 빈혈증을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태의 용도; 또는 상기 화합물의 약학적 조성물의 용도가 제공된다. 일 양태에서, 치료 대상 빈혈증은 적혈구 형성 이상 빈혈증(dyserythropoietic anemia)이다.

[0149] 특정 구현예에서, 빈혈증은 I, II, III 또는 IV형 선천성 적혈구 형성 이상 빈혈증과 같은 적혈구 형성 이상 빈혈증이다. 특정 구현예에서, 빈혈증은 용혈성 빈혈증이다. 특정 구현예에서, 용혈성 빈혈증은 PKD, 겸상 적혈구병, 지중해빈혈(예: 알파 또는 베타 또는 비-수혈-의존성 지중해빈혈), 유전적 구상 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 발작성 야간 혈색뇨증, 무베타 지질단백혈증(바렌-코른츠바이크 증후군)과 같은 선천적 및/또는 유전적 형태의 용혈성 빈혈증이다. 특정 구현예에서, 용혈성 빈혈증은 자가면역 용혈성 빈혈증, 약물 유도 용혈성 빈혈증과 같은 후천성 용혈성 빈혈증이다. 특정 구현예에서, 용혈성 빈혈증은 다기관 질환의 일부로서의 빈혈증, 예컨대, 선천성 적혈구 조혈성 자반증의 빈혈, 판코니 빈혈, 다이아몬드-블랙판 빈혈 등이다.

[0150] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "빈혈증(anemia)"은 적혈구(RBC) 및/또는 헤모글로빈의 결핍을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 빈혈증은 모든 유형의 임상적 빈혈증, 예를 들어: 미소세포 빈혈, 철 결핍 빈혈, 이상 혈색소증, 헴 합성 결함, 글로빈 합성 결함, 철 적혈모구 결함, 정상적혈구 빈혈, 만성질환에 의한 빈혈, 재생불량성 빈혈, 용혈성 빈혈, 큰 적혈구 빈혈, 거대 적혈모구 빈혈, 악성 빈혈, 이형성 빈혈, 조산으로 인한 빈혈, 판코니 빈혈, 유전성 구상 적혈구증, 겸상 적혈구병, 온난 자가면역 용혈성 빈혈, 한랭 응집소 용혈성 빈혈, 골색화증, 지중해빈혈, 및 골수 이형성 증후군이다(이들로 한정되지는 않음).

[0151] 특정 구현예에서, 빈혈증은 완전 혈구를 계수하여(complete blood count) 진단할 수 있다. 특정 구현예에서, 빈혈증은 하나 이상의 용혈성 마커(예를 들어, RBC 계수, 헤모글로빈, 망상적혈구, 분열적혈구, 락트산 탈수소효소(LDH), 헴토키로빈, 빌리루빈 및 페리틴)의 측정 및/또는 혈철소뇨증 평균 혈구 용적(MCV: hemosiderinuria mean corpuscular volume) 및/또는 적혈구 크기 분포(RDW: red cell distribution width)에 기초하여 진단할 수 있다. 본 발명의 맥락에서, 빈혈증은, 개체의 헤모글로빈(Hb)이 바람직한 수준에 못미치는 경우, 예를 들어, Hb 농도가 14 g/dL 미만이거나, 더 바람직하게는 13 g/dL 미만이거나, 더 바람직하게는 12 g/dL 미만이거나, 더 바람직하게는 11 g/dL 미만이거나, 가장 바람직하게는 10 g/dL 미만인 경우에 존재한다.



는 방법이 본원에서 제공된다. 또한, 지중해빈혈, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증 또는 바센-코른츠바이크 증후군, 겸상 적혈구병, 발작성 야간 혈색뇨, 후천성 용혈성 빈혈증, 또는 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 지중해빈혈, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증 또는 바센-코른츠바이크 증후군, 겸상 적혈구병, 발작성 야간 혈색뇨, 후천성 용혈성 빈혈증, 또는 빈혈증을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0156] 일부 양태에서, 대상체에서 적혈구 내 야생형 또는 돌연변이체 PKR을 활성화하기 위한 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 적혈구 내 야생형 또는 돌연변이체 PKR을 활성화하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 활성화하는 데 사용하기 위한 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 적혈구 내 야생형 또는 돌연변이체 PKR을 활성화하기 위한 의약의 제조에 있어서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0157] 화학식 (I)의 화합물의 제공된 결정질 A, B, C, D, E, F, G, H, I 또는 J 또는 비정질 형태, 및 본원에 기술된 약학적 조성물은 야생형과 비교해 더 낮은 활성을 갖는 PKR 돌연변이체의 활성제이므로, 본 개시의 방법에 유용하다. PKR의 이러한 돌연변이는 효소 활성(촉매 효율), 효소의 조절 특성(과당 비스포스페이트산(FBP)/ATP에 의한 조절), 및/또는 효소의 열안정성에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 돌연변이의 예는 Valentini 등의 문헌[JBC 2002]에 기술되어 있다. 본원에 기술된 화합물에 의해 활성화되는 돌연변이체의 일부 예는 G332S, G364D, T384M, R479H, R479K, R486W, R532W, R510Q, 및 R490W를 포함한다. 이론에 구속됨이 없이, 특정 구현예에서, 본원에 기술된 화합물은 FBP 비반응성 PKR 돌연변이체를 활성화시키거나, 안정성이 감소된 돌연변이체에게 열안정성을 회복시키거나, 손상된 돌연변이체에게 촉매 효율을 회복시킴으로써 PKR 돌연변이체의 활성에 영향을 미친다. PKR 돌연변이에 대한 본 화합물의 활성화 활동은 실시예에 기재된 방법에 따라 시험할 수 있다. 본원에 기술된 화합물은 또한 야생형 PKR의 활성화제이다.

[0158] 특정 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물의 제공된 결정질 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 및 본원에 기술된 약학적 조성물은 포스포에놀피루브산염(PEP)에 대한 PKR의 친화도를 증가시킨다. 특정 구현예에서, 화학식 (I)의 화합물의 제공된 결정질 A, B, C, D, E, F, G, H, I, 또는 J 또는 비정질 형태, 및 본원에 기술된 약학적 조성물은 피루브산염과 ATP에 대한 PEP와 ADP를 커버하는 RBC의 능력을 회복시킨다.

[0159] 특정 구현예에서, PKD를 가진 대상체의 수혈 빈도를 감소시키는 방법으로서, 화학식 (I)의 화합물의 결정체 A, B, C, D, E, F, G, H, I 또는 J, 또는 비정질 형태, 및 본원에 기술된 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 특정 구현예에서, 결정질 형태 A가 투여된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 5%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 10%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 15%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 20%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 25%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 30%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 15주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 35%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 40%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 5%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 10%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 15%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 20%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 25%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 30%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 35%만큼 감소된다. 특정 구현예에서, 수혈 빈도는 적어도 20주에 걸쳐 수혈되는 RBC 단위의 수에 있어서 적어도 40%만큼 감소된다.

[0160] 일부 양태에서, 대상체를 평가하는 방법이 제공되며, 상기 방법은: 화학식 (I)의 화합물의 결정체 A, B, C, D,

E, F, G, H, I 또는 J, 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물을 대상체에게 투여하는 단계; 및 대상체에서 결정질 형태 또는 비정질 형태의 수준, 2,3-디포스포글리세레이트(2,3-DPG)의 수준, 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 수준, 또는 PKR의 활성화에 대한 값을 수득함으로써 대상체를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 수준에 대한 값은 결정질 또는 비정질 형태의 혈장 농도를 분석함으로써 수득된다. 일부 양태에서 2,3-DPG의 수준은 2,3-DPG의 혈중 농도를 분석함으로써 수득한다. 일부 양태에서 ATP의 수준은 ATP의 혈중 농도를 분석함으로써 수득한다. 일부 양태에서, PKR의 활성화는 혈액에서 <sup>13</sup>C-표지의 혈중 농도를 분석함으로써 수득된다. 일부 양태에서, 분석은 체액의 샘플 분석에 의해 수행된다. 일부 양태에서, 체액은 혈액이다. 일부 양태에서, 분석은 질량 분광법에 의해 수행된다. 일부 양태에서, 분석은 LC-MS에 의해 수행된다.

[0161] 일부 양태에서, 대상체를 평가하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I 또는 J, 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물로 치료한 대상체에서 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I 또는 J, 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 수준, 2,3-DPG의 수준, 또는 PKR의 활성화에 대한 값을 수득함으로써 대상체를 평가하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 수득하는 단계는 대상체로부터 샘플을 받는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 수득하는 단계는 상기 값을 또 다른 당사자(another party)에게 전달하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 다른 당사자는 화학식 (I)의 화합물의 결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I 또는 J, 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물을 투여한 당사자이다.

[0162] 일부 양태에서, 대상체를 치료하는 방법이 본원에서 제공되며, 상기 방법은: 화학식 (I)의 화합물의 결정체 A, B, C, D, E, F, G, H, I 또는 J, 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계; 및 대상체에서 결정질 형태 또는 비정질 형태의 수준, 2,3-디포스포글리세레이트(2,3-DPG)의 수준, 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 수준, 또는 PKR의 활성화에 대한 값을 수득함으로써 대상체를 치료하는 단계를 포함한다.

[0163] 또 다른 양태에서, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다. 특정 구현예에서, PKR의 결핍은 PKR 돌연변이와 관련이 있다. 또한, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 피루브산 키나아제 결핍증(PKD)을 치료하기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0164] 다른 양태에서, 용혈성 빈혈증, 겸상 적혈구병, 지중해빈혈, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 바센-코른츠바이크 증후군, 및 발작성 야간 혈색뇨로부터 선택된 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태, 또는 이의 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 일 양태에서, 치료 대상 질환은 용혈성 빈혈이다.

[0165] 또 다른 양태에서, 용혈성 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다. 또한, 용혈성 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 용혈성 빈혈증을 치료하기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0166] 또 다른 양태에서, 겸상 적혈구병을 치료하기 위한 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다. 또한, 겸상 적혈구병의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 겸상 적혈구병을 치료하기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.

[0167] 다른 양태에서, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈)을 치료하기 위한 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다. 또한, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈)의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈)을 치료하기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물

의 용도가 제공된다.

- [0168] 다른 양태에서, 적혈구(RBC)의 수명을 증가시키는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다. 일 양태에서, 화합물 1의 결정성 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물은 전혈에 직접 첨가되거나 충전된 적혈구에 체외에서 첨가된다. 또한, 적혈구(RBC)의 수명을 증가시키는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 적혈구(RBC)의 수명을 증가시키기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.
- [0169] 다른 양태에서, 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 조절하는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태 또는 비정질 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량과 혈액을 접촉시키는 단계를 포함하는 방법이 제공된다. 또한, 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 조절하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 조절하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다.
- [0170] 다른 양태에서, 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다. 일 양태에서, 치료 대상 빈혈증은 적혈구 형성 이상 빈혈증(dyserythropoietic anemia)이다. 또한, 혈중 빈혈증의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 빈혈증을 치료하기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.
- [0171] 특정 구현예에서, 대상체에서 헤모글로빈의 양을 증가시키는 방법으로서, 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 투여함으로써 이를 증가시키는 방법이 제공된다. 또한, 헤모글로빈의 양을 증가시키는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 증가시키는 데 사용하기 위한 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물이 제공된다. 추가로, 헤모글로빈의 양을 증가시키기 위한 의약을 제조하는 데 있어서 화합물 1의 결정질 유리-염기 형태, 또는 이의 약학적 조성물의 용도가 제공된다.
- [0172] 일부 양태에서, 아래에 기술된 것들을 포함하는 다양한 장애를 치료, 예방 및/또는 진단하기 위해 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태)의 치료적 유효량이 배양물 중의 세포에, 예를 들어, 시험관 내 또는 생체 외 투여되거나, 대상체에게, 예를 들어, 생체 내 투여된다.
- [0173] 일 양태에서, 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태)를 포함하는 개시된 조성물, 치료 방법 및 이의 용도는 엽산을 투여하거나 사용하는 것을 추가로 포함한다. 엽산의, 본원에서 기술된 결정질 형태 또는 비정질 형태의 투여 또는 사용 이전에, 도중에 및/또는 후에 투여되거나 사용될 수 있다. 그러나, 일 양태에서, 엽산은 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태)의 투여 또는 사용 이전에 투여 또는 사용되고/되거나 이와 동시에 투여 또는 사용된다. 따라서, 일 양태에서, 본원에서 기술된 병태(예: PKD, 용혈성 빈혈증, 후천성 용혈성 빈혈증, 겸상 적혈구 빈혈증, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈, 알파-지중해빈혈, 비-수혈 의존성 지중해빈혈 등)과 같은 빈혈증, 겸상 적혈구병, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 마센-크론츠바이크 증후군, 및 발작성 야간 혈색뇨증을 치료하고; RBC의 수명을 증가시키고; 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하고; 적혈구 내 야생형 또는 돌연변이체 PKR을 활성화시키고; 헤모글로빈의 양을 증가시키고; 2,3-디포스포글리세레이트(2,3-DPF)의 수준, 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 수준, 또는 PKR의 활성을 평가하고; 2,3-디포스포글리세레이트(2,3-DPF)의 수준, 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 수준, 또는 PKR의 활성을 평가하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하고, 증가시키고, 조절하고, 활성화시키고, 증가시키고, 평가하는 방법으로서, 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태) 및 엽산의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공된다.
- [0174] 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태) 이전에 엽산이 투여되거나 사용되는 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 5일, 적어도 10일, 적어도 15일, 적어도 20일, 또는 적어도 25일 전에 투여되거나 사용될 수 있다. 일 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용하기 적어도 20일, 적어도 21일, 적어도 22일, 적어도 23일, 적어도 24일, 또는 적어도 25일 전에 투여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 21일 전에 투

여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 1일 내지 30일 전에 투여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 5일 내지 25일 전에 투여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 10일 내지 30일 전에 투여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 10일 내지 25일 전에 투여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 15일 내지 25일 전에 투여되거나 사용된다. 또 다른 양태에서, 엽산은 개시된 형태가 투여되거나 사용되기 적어도 20일 내지 25일 전에 투여되거나 사용된다.

[0175] 개시된 형태와 함께 투여되거나 사용될 엽산의 구체적인 양은 치료 대상체 및 특정 투여 방식에 따라 달라지게 된다. 특정 양태에서, 엽산의 유효량은 매일 약 0.1 mg 내지 약 10 mg이다. 특정 양태에서, 엽산의 유효량은 매일 적어도 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 또는 1.0 mg이다. 일 양태에서, 엽산의 유효량은 매일 적어도 0.8 mg 또는 매일 적어도 1.0 mg이다.

[0176] 엽산의 양은 본원에 기술된 형태의 임의의 양과 조합되도록 의도된다. 따라서, 특정 양태에서, 본원에서 기술된 병태(예: PKD, 용혈성 빈혈증, 후천성 용혈성 빈혈증, 겸상 적혈구 빈혈증, 지중해빈혈(예: 베타-지중해빈혈, 알파-지중해빈혈, 비-수혈 의존성 지중해빈혈 등)과 같은 빈혈증, 겸상 적혈구병, 유전성 구형 적혈구증, 유전성 타원 적혈구증, 무베타 지질단백혈증, 바센-크론즈바이크 증후군, 및 발작성 야간 혈색뇨증을 치료하고; RBC의 수명을 증가시키고; 혈중 2,3-디포스포글리세레이트 수준을 조절하고; 적혈구 내 야생형 또는 돌연변이체 PKR을 활성화시키고; 헤모글로빈의 양을 증가시키고; 2,3-디포스포글리세레이트(2,3-DPG)의 수준, 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 수준, 또는 PKR의 활성을 평가하고; 2,3-디포스포글리세레이트(2,3-DPG)의 수준, 아데노신 트리포스페이트(ATP)의 수준, 또는 PKR의 활성을 평가하는 것을 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하고, 증가시키고, 조절하고, 활성화시키고, 증가시키고, 평가하는 방법으로서, 본원에 기술된 개시된 형태(결정질 형태 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, 결정질 유리 염기 형태, 또는 비정질 형태) 및 엽산의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에서 제공되며, 여기서 엽산은 개시된 형태가 투여되기 전(예를 들어, 적어도 21일 전)에 투여되고/되거나 이와 동시에 투여되고, 개시된 형태(예: 형태 A)는 5, 20, 또는 50 mg의 양으로 BID 투여되고, 엽산은 적어도 0.8 mg/일의 양으로 투여된다.

[0177] 예시

[0178] 하기 실시예에 도시된 바와 같이, 결정질 및 비정질 형태는 다음의 일반 절차에 따라 제조된다.

[0179] 사용된 일반적인 약어는 아래에 개괄적으로 표시되어 있다.

용매	
명칭	약어
1-프로판올	1-PA
2-프로판올	IPA
아세트니트릴	ACN
벤질 알코올	BA
디클로로메탄	DCM
디메틸 설펝사이드	DMSO
에탄올	EtOH
아세트산에틸	EtOAc
이소프로필 아세테이트	IPAc
메탄올	MeOH
아세트산메틸	MeOAc
메틸 부틸 케톤	MBK
메틸 에틸 케톤	MEK
메틸 이소부틸 케톤	MIBK
N,N-디메틸아세트아미드	DMAc
N,N-디메틸포름아미드	DMF
N-메틸 피롤리돈	NMP
tert-부틸 메틸 에테르	MtBE
테트라하이드로푸란	THF
트리플루오로아세트산	TFA
트리플루오로에탄올	TFE

[0180]

단위	
명칭	약어
섭씨	C
도	°
당량	eq.
그램	g
시간	hr
켈빈	K
리터	L
밀리그램	mg
밀리리터	mL
분	분
초	sec
부피	vol.
와트	W
중량	wt.

[0181]

[0182]

분말 X-선 회절은 Rigaku MiniFlex 600을 사용하여 수행하였다. 샘플은 Si 제로-리턴 웨이퍼(Si zero-return wafer) 상에서 준비하였다. 일반적인 스캔은 4 내지 30도의 2θ이며, 단계 크기는 40 kV 및 15 mA에서 5분에 걸쳐 0.05도이다. 고해상도 스캔은 4 내지 40도의 2θ이며, 단계 크기는 40 kV 및 15 mA에서 30분에 걸쳐 0.05도이다. XRPD에 대한 일반적인 파라미터는 아래에 나열되어 있다.

반사 모드에 대한 파라미터	
X-선 파장	Cu Kα1, 1.540598 Å,
X-선 튜브 설정	40 kV, 15 mA
슬릿 조건	가변 + 고정형 슬릿 시스템
스캔 모드	연속
스캔 범위 (°2θ)	4 ~ 30
단계 크기 (°2θ)	0.05
스캔 속도(°/분)	5

[0183]

[0184]

시차주사 열량측정은 Mettler Toledo DSC<sup>3+</sup>를 사용해 수행하였다. 원하는 양의 샘플을 핀-홀이 있는 기밀 알루미늄 팬 내에서 직접 칭량한다. 일반적인 샘플 질량은 3~5 mg이다. 일반적인 온도 범위는 30℃ 내지 300℃이며 승온 속도는 분당 10℃이다(총 27분의 시간). DSC에 대한 일반적인 파라미터는 아래에 나열되어 있다.

파라미터	
방법	램프(Ramp)
샘플 크기	3~5 mg
승온 속도	10.0℃/분
온도 범위	30~300℃
방법 가스	N <sub>2</sub> (60.00 mL/분)

[0185]

[0186]

열중량 분석 및 시차주사 열량측정은 Mettler Toledo TGA/DSC<sup>3+</sup>를 사용해 수행하였다. 원하는 양의 샘플을 핀-홀이 있는 기밀 알루미늄 팬 내에서 직접 칭량한다. 측정을 위한 일반적인 샘플 질량은 5~10 mg이다. 일반적인 온도 범위는 30℃ 내지 300℃이며 승온 속도는 분당 10℃이다(총 27분의 시간). 보호 가스와 퍼지 가스는 질소(20~30 mL/분 및 50~100 mL/분)이다. DSC/TGA에 대한 일반적인 파라미터는 아래에 나열되어 있다.

파라미터	
방법	램프(Ramp)
샘플 크기	5~10 mg
승온 속도	10.0℃/분
온도 범위	30~300℃

[0187]

[0188]

DVS Intrinsic 1을 사용해 동적 기상 수축(DVS)을 실시하였다. 샘플을 샘플 팬 내에 첨가하고 미량천칭

(microbalance)으로부터 현탁시킨다. DVS 측정값에 대한 일반적인 샘플 질량은 25 mg이다. 증류수를 통해 질소 가스를 버블링하는 것은 원하는 상대 습도를 제공한다. 일반적인 측정은 다음 단계를 포함한다:

- [0189] 1. 50% RH에서 평형화시킴
- [0190] 2. 50% 내지 2%. (50%, 40%, 30%, 20%, 10% 및 2%)
  - [0191] a. 각 습도에서 최소 5분 최대 60분 동안 유지함. 합격 기준은 변화가 0.002% 미만인 경우임.
- [0192] 3. 2% 내지 95% (2%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%)
  - [0193] b. 각 습도에서 최소 5분 최대 60분 동안 유지함. 합격 기준은 변화가 0.002% 미만인 경우임.
- [0194] 4. 95% 내지 2% (95%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 2%)
  - [0195] c. 각 습도에서 최소 5분 최대 60분 동안 유지함. 합격 기준은 변화가 0.002% 미만인 경우임.
- [0196] 5. 2% 내지 50% (2%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%)
  - [0197] d. 각 습도에서 최소 5분 최대 60분 동안 유지함. 합격 기준은 변화가 0.002% 미만인 경우임.

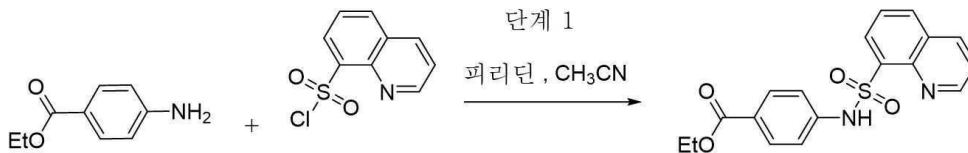
[0198] 양성자 NMR을 Bruker Avance 300 MHz 분광계 상에서 수행하였다. 고형분을 4 mL 바이알에 든 0.75 mL 중수소화된 용매에 용해시키고 NMR 튜브(Wilmad 5 mm 박벽 8" 200 MHz, 506-PP-8)에 옮긴다. 전형적인 측정은 보통 16 스캔이다. NMR에 대한 일반적인 파라미터는 아래에 나열되어 있다.

파라미터	
기기	Bruker Avance 300 MHz 분광계 Bruker Avance 500 MHz 분광계
온도	300 K
프로브	5 mm PABBO BB-1H/DZ-GRD Z104275/0170
스캔 횟수	16
이완 지연	1.000 초
펄스 폭	14.2500 μs
획득 시간	2.9999 초
분광계 주파수	300.15 Hz 500.13 Hz
핵	1H

[0200] 수분 측정(water determination)을 위한 칼 피셔(Karl Fischer) 적정용 6.0338.100 이중 백금 와이어 전극이 구비된 785 DMP Titrino와 703 Ti Stand를 사용해 수행하였다. 샘플은 HPLC 등급 또는 무수 메탄올에 용해시키고 Hydranal-Composite 5로 적정한다. 측정을 위한 일반적인 샘플 질량은 0.03~0.10 g이다. Hydranal 1 wt% 수분 표준이 교정에 사용된다.

[0201] 화합물 1, 즉 비-결정질 유리 염기는 아래에 기술된 하기 절차에 따라 제조할 수 있다.

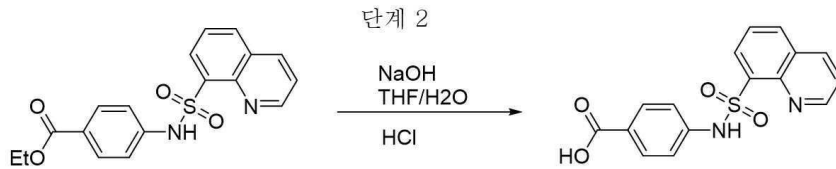
[0202] **에틸-4-(퀴놀린-8-술폰아미도)벤조에이트의 제조**



[0203] [0204] 아세트니트릴(55 mL) 중 에틸-4-아미노벤조에이트(16.0 g, 97 mmol) 및 피리딘(14.0 g, 177 mmol)을 함유하는 용액을, 65°C에서 무수 아세트니트릴(100 mL) 중 퀴놀린-8-술폰일 클로라이드(20.0 g, 88 mmol)의 교반 현탁액에 1.2시간에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 65°C에서 3.5시간 동안 교반하고, 1.5시간에 걸쳐 20°C까지 냉각시킨 후, 1시간에 걸친 물(140 mL)의 첨가가 끝날 때까지 유지시켰다. 여과에 의해 고형분을 회수하고, 아세트니트릴/물(40 wt./60 wt.)로 2회 세척하고(각각 100 mL), 일정 중량이 될 때까지 85°C의 진공 오븐에서 건조시켰다. 백색 고형분(30.8 g, 87 mmol)을 분석하여 다음을 발견하였다: (A) HPLC 순도 = 99.4% 에틸-4-(퀴놀린-8-술폰아미도) 벤조에이트; (B) LC-MS는 구조와 일치함, (M+1) = 357 (2분에 걸쳐 95-5, CH3CN/물로 용리하는 C18 컬

럼, 포름산으로 개질함); 및 (C) <sup>1</sup>H NMR은 구조와 일치함 (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) = δ 10.71 (s, 1H), 9.09 (dd, *J* = 4.3, 1.6 Hz, 1H), 8.46 (ddt, *J* = 15.1, 7.3, 1.5 Hz, 2H), 8.26 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 1H), 7.84 - 7.54 (m, 4H), 7.18 (dd, *J* = 8.6, 1.3 Hz, 2H), 4.26 - 4.07 (m, 2H), 1.19 (td, *J* = 7.1, 1.2 Hz, 3H).

[0205] 4-(퀴놀린-8-술폰아미드) 벤조산의 제조



[0206]

[0207] 75°C에서 물(125 mL) 중 에틸-4-(퀴놀린-8-술폰아미드) 벤조에이트(20.0 g, 56.2 mmol)의 교반 현탁액에 NaOH 용액(16.2 g, 122 mmol)을 30분에 걸쳐 첨가하였다. 혼합물을 75°C~80°C에서 3시간 동안 교반하고, 20°C까지 냉각한 다음 THF(150 mL)의 첨가가 끝날 때까지 유지시켰다. 3.0의 pH가 될 때까지 염산(11% HCL, 81 mL, 132 mmol)을 >1시간에 걸쳐 첨가하였다. 5°C에서 여과에 의해 고형분을 회수하고, 물(2X 100 mL)로 세척하고, 일정 중량이 될 때까지 85°C의 진공 오븐에서 건조시켰다. 백색 고형분(16.7 g, 51 mmol)을 분석하여 다음을 발견하였다: (A) HPLC 순도 => 99.9% 4-(퀴놀린-8-술폰아미드)벤조산; LC-MS는 구조 (M+1) = 329와 일치함 (2분에 걸쳐 95-5, CH<sub>3</sub>CN/물로 용리하는 C18 컬럼, 포름산으로 개질함); 및 (C) <sup>1</sup>H NMR은 구조와 일치함 (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) = δ 12.60 (s, 1H), 10.67 (s, 1H), 9.09 (dd, *J* = 4.2, 1.7 Hz, 1H), 8.46 (ddt, *J* = 13.1, 7.3, 1.5 Hz, 2H), 8.26 (dd, *J* = 8.2, 1.5 Hz, 1H), 7.77 - 7.62 (m, 3H), 7.64 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 7.16 (dd, *J* = 8.7, 1.4 Hz, 2H).

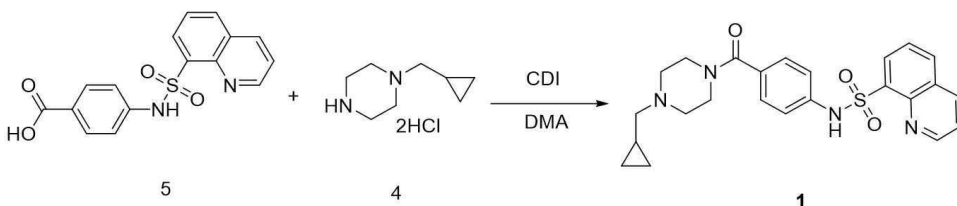
[0208] 1-(시클로프로필메틸)피페라진 디하이드로클로라이드(4)의 제조



[0209]

[0210] N<sub>2</sub> 하의 1 L 반응기에 터트-부틸 피페라진-1-카르복실레이트(2)(100.0 g, 536.9 mmol), 시클로프로판카브알데히드(3)(41.4 g, 590.7 mmol), 톨루엔(500.0 mL) 및 2-프로판올(50.0 mL)을 채웠다. 수득된 용액에 NaBH(OAc)<sub>3</sub>(136.6 g, 644.5 mmol)을 25~35°C에서 여러번 나눠 첨가하고, 혼합물을 25°C에서 2시간 동안 교반하였다. 물(300.0 mL)을 첨가하고, 이어서 12의 pH가 될 때까지 NaOH 용액(30%, 225.0 mL)을 첨가하였다. 층을 분리시키고 유기층을 물(100.0 mLx2)로 세척하였다. 유기층에 염산(37%, 135.0 mL, 1.62 mol)을 첨가하고 혼합물을 25°C에서 6시간 동안 교반하였다. 층을 분리시키고 수성층을 25°C에서 1시간 동안 아세톤(2.0 L)에 첨가하였다. 생성된 현탁액을 0°C까지 냉각시켰다. 고형분을 0°C에서 여과하고, 아세톤(100.0 mLx2)으로 세척하고 건조시켜 4(105.0 g)를 92%의 단리 수율로 수득하였다. LC-MS(2분에 걸쳐 90-10, CH<sub>3</sub>CN/물로 용리하는 C18 컬럼)를 통해 (M+1) =141을 발견하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.93 (br.s, 1H), 10.08 (br., 2H), 3.65 (br.s, 2H), 3.46 (br.s, 6H), 3.04 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.14 - 1.04 (m, 1H), 0.65 - 0.54 (m, 2H), 0.45 - 0.34 (m, 2H) ppm.

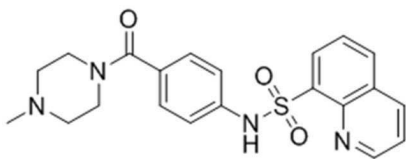
[0211] N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드(1)의 제조



[0212]

[0213] N<sub>2</sub> 하의 2 L 반응기에 4-(퀴놀린-8-술폰아미도) 벤조산(5)(100.0 g, 304.5 mmol) 및 DMA(500.0 mL)를 채웠다. 생성된 현탁액에 CDI(74.0 g, 456.4 mmol)를 25℃에서 여러번 나눠 첨가하고, 혼합물을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 생성된 현탁액에 1-(시클로프로필메틸)피페라진 디하이드로클로라이드(4)(97.4 g, 457.0 mmol)를 25℃에서 한 번에 첨가하고, 혼합물을 25℃에서 4시간 동안 교반하였다. 물(1.0 L)을 2시간 동안 첨가하였다. 고형분을 25℃에서 여과하고, 물로 세척하고 65℃에서 진공 하에 건조시켜 1(124.0 g)을 90%의 단리 수율로 수득하였다. LC-MS(2분에 걸쳐 90-10, CH<sub>3</sub>CN/물로 용리하는 C18 컬럼)를 통해 (M+1) =451을 발견하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.40 (br.s, 1H), 9.11 (dd, *J* = 4.3, 1.6 Hz, 1H), 8.48 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 8.40 (dt, *J* = 7.4, 1.1 Hz, 1H), 8.25 (dd, *J* = 8.3, 1.3 Hz, 1H), 7.76 - 7.63 (m, 2H), 7.17 - 7.05 (m, 4H), 3.57 - 3.06 (m, 4H), 2.44 - 2.23 (m, 4H), 2.13 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H), 0.79 - 0.72 (m, 1H), 0.45 - 0.34 (m, 2H), 0.07 - 0.01 (m, 2H) ppm.

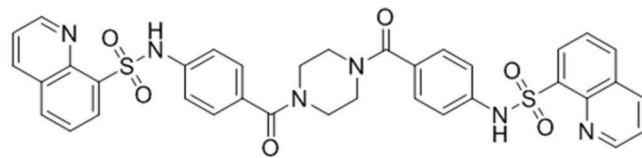
[0214] 본 합성 단계에서 2가지 불순물이 또한 식별된다. 제1 불순물은 화합물 IM-1로서(대표적인 HPLC를 기준으로 면적 백분율이 약 0.11%임), 다음의 구조를 갖는다:



[0215] (화합물 IM-1)

[0217] 화합물 IM-1은 화합물 2의 불순물인 N-메틸 피페라진의 존재로 인해 생성되었는데, 화합물 5와 반응시키기 위해 보유하였다. LC-MS를 통해 (M+1) =411.2; (M-1)= 409.2를 발견하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.43 (brs, 1H) 9.13-9.12 (m, 1H), 8.52-8.50 (m, 1H), 8.43-8.41 (m, 1H), 8.26 (d, *J*=4.0 Hz, 1 H), 7.73-7.70 (m, 2H), 7.15-7.097.69 (m, 4H), 3.60-3.25 (brs, 4H), 2.21 (brs, 4H), 2.13 (s, 3H).

[0218] 제2 불순물은 화합물 IM-2로서(대표적인 HPLC를 기준으로 면적 백분율이 약 0.07%임), 다음의 구조를 갖는다:



[0219] (화합물 IM-2)

[0221] 화합물 IM-2는 화합물 2의 탈보호에 의해 생성된 불순물인 피페라진의 존재로 인한 것이었다. 피페라진 여액은 화합물 5의 2개의 분자와 반응시켜 화합물 IM-2를 수득하기 위해 보유하였다. LC-MS를 통해 (M+1) =707을 발견하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CF<sub>3</sub>COOD) δ 9.30-9.23 (m, 4H), 8.51 (s, 4H), 8.20-8.00 (m, 4H), 7.38-7.28 (m, 8H), 4.02-3.54 (m, 8H).

[0222] 용해도 실험

[0223] 용해도 측정은 2가지 온도(23℃ 및 50℃에서 20가지 상이한 용매 중에서 중량 측정법에 의해 수행하였다. 아래에 합성법이 기술된, 약 20-30 mg의 형태 A를 칭량하고, 0.75 mL의 용매를 첨가하여 슬러리를 형성하였다. 이어서, 슬러리를 특정 온도에서 2일 동안 교반하였다. 바이알을 원심분리하고, 중량 측정법을 통한 용해도 측정을 위해 상청액을 수집하였다. 포화된 상청액을 미리 칭량해 둔 2 mL의 HPLC 바이알에 옮기고 다시 칭량하였다(바이알 + 액체). 그런 다음, 뚜껑을 씌우지 않은 바이알을 50℃의 핫 플레이트 상에 방치하여 밤새 용매를 증발시켰다. 이어서, 바이알을 50℃에서 진공 하의 오븐 내에 방치하여, 용해된 고형분만이 남도록 잔여 용매를 제거하였다. 이어서 바이알을 칭량하였다(바이알 + 고형분). 이들 3개의 중량(바이알, 바이알+액체 및 바이알+고형분)으로부터, 용해된 고형분과 용매의 중량을 계산하였다. 그런 다음 용매 밀도를 사용하여 mg(고형분)/mL(용매)로서 용해도를 계산하였다. 용해도 데이터는 표 1에 요약되어 있다.

표 1

[0224]

용매 (비는 부피 기준임)	용해도, mg 고체/mL 용매	
	23℃	50℃
MeOH	393	>765
EtOH	0	1
IPA	0	2
아세톤	1	6
MtBE	1	3
EtOAc	0	2
아세토니트릴	4	6
시클로헥산	1	1
MEK:물 (20:1)	0	2
톨루엔:EtOH:물 (10:5:1)	비혼화성	비혼화성
톨루엔:EtOH:물 (10:5:0.5)	1	4
톨루엔	0	2
THF	2	26
IPAc	0	1
아세톤:물 (8:2)	5	16
THF:물 (8:2)	14	77
IPA:DMSO (8:2)	11	28
IPA:DMSO:물 (80:18:2)	1	6
IPA:DMSO:물 (70:25:5)	2	9
IPA:DMSO:물 (70:20:10)	1	8
DCM	2	해당 없음

[0225]

메탄올에서의 용해도가 상당히 높기 때문에, 메탄올과 혼합된 보다 많은 용매계로 측정을 확장시켰다. 결과는 표 2에 나타나 있다. 20~30 mg의 형태 A를 칭량하여 2 mL 바이알에 넣고, 표에서 개략적으로 나타낸 바와 같이 500 µL의 MeOH 용매계를 첨가하였다. 용해된 경우, 더 많은 고형분을 첨가하여 슬러리를 형성하였다. 그런 다음 슬러리를 2일 동안 교반하였다. 바이알을 원심분리하고, 50℃에서 증발에 의한 중량 측정법을 통해 용해도를 측정하기 위해 상청액을 수집하였다. 슬러리의 여과 후 고형분에 대한 XRPD 분석을 수행하였다. 물은 형태 A의 용해도에 상당한 영향을 미쳤다. 예를 들어, MeOH:물(1:1)의 용매계에서, 실온 용해도는 0, 1, 2.5 및 5 vol%에 대해 각각 208, 118, 39 및 5 mg/mL이었다. 따라서, 단 5vol%의 물만 첨가해도 용해도는 42배 감소하였다. 3가지 용매 조성을 MeOH:물 (99:1), (98:2) 및 (95:5부피)로서 사용하였다. 약 25 mg의 형태 A를 칭량하여 2 mL 바이알로 넣고, 6부피의 용매를 첨가한 다음, 천천히 가열하여 용해시켰다. 5%의 물을 사용하는 실험의 경우, 8 부피의 용매로 추가 시험을 수행하였다. 표 3 참조.

표 2

[0226]

용매 (비는 부피 기준임)	용해도, mg 고체/mL 용매	
	23℃	50℃
MeOH:물 (1:1)	7	27
MeOH:물 (8:2)	10	59
EtOAc:MeOH (1:1)	21	240
EtOAc:MeOH (9:1)	0	9
EtOAc:MeOH (1:9)	359	531
EtOH:MeOH (1:1)	2	11
EtOAc:MeOH (1:1) 및 5부피% 물	3	12
MeOAc:MeOH (1:1) 및 5부피% 물	5	26
MeOAc:MeOH (1:1)	208	340
MeOAc:MeOH (1:1) 및 1부피% 물	118	236
MeOAc:MeOH (1:1) 및 2.5부피% 물	39	143

표 3

[0227]

용매	용매 부피	용해 시 온도, °C	용해도, mg 고체/mL 용매	여분의 물	XRPD 패턴
MeOH:물 (99:1)	6부피	23	>167	해당 없음	B + 여분
MeOH:물 (98:2)	6부피	35	167	해당 없음	B
MeOH:물 (95:5)	6부피	60	167	4부피	A
MeOH:물 (95:5)	8부피	50	125	4부피	A

[0228]

비교를 위해, 화합물 1, 즉 비-결정질 유리 염기의 용해도 또한 2가지 용매계에서 측정하여 물의 영향을 확인하였다. 2.5 vol%의 물은 화합물 1의 용해도에 아무런 영향을 미치지 않았다. 표 4 참조.

표 4

[0229]

용매	용해도, mg 고체/mL 용매	
	23°C	50°C
MeOAc:MeOH (1:1)	15	34
MeOAc:MeOH (1:1) 및 2.5부피% 물	15	36

[0230]

스크리닝 실험

[0231]

1. 단기간 슬러리

[0232]

표 5에 나타난 바와 같이, XRPD 분석을 위해 용해도 측정 실험의 슬러리로부터의 고형분을 수집하였다. 패턴 A는 2일의 슬러리 과정 동안 대부분의 용매계에서 변하지 않았다. 일부 경우에는, 그 결정도가 상실됐는데, 이는 장기간 교반으로 형태를 변화시키는 것이 가능함을 나타낸다. 3가지 새로운 패턴이 관찰되었다: RT 및 50°C에서 EtOH에서의 패턴 B; RT에서 IPA에서의 패턴 A + C; 50°C에서 IPA 및 아세토니트릴에서의 패턴 D. 50°C에서 IPA:DMSO(8:2)에서의 패턴 D + 결정질 유리 염기.

[0233]

또한, 메탄올 용매 혼합물에서의 2일 동안 슬러리를 수행하였고, 그 결과는 표 6에 제시되어 있다. 적어도 2.5 vol%의 물이 존재하는 경우, 패턴 A는 변하지 않았다. 단 1%의 물이 존재하는 경우, 패턴 A는 50°C에서 그 결정도를 상실한 반면, 실온에서는 2일의 슬러리 동안 변하지 않았다. 상당한 양의 메탄올이 존재하는 무수 혼합물에서, 패턴 A는 안정적이지 않았다.

표 5

[0234]

용매	슬러리 2일 후의 XRPD 패턴	
	23°C	50°C
MeOH	A	저결정질 A
EtOH	B	B
IPA	A + C	D
아세톤	A	A (약 5.8에서 추가 피크)
MtBE	A	A
EtOAc	A	A
아세토니트릴	A	D
시클로헥산	A	A
MEK:물 (20:1)	A	A
톨루엔:EtOH:물 (10:5:0.5)	A	A
톨루엔	A	A
THF	A	A
IPAc	A	A
아세톤:물 (8:2)	A	A
THF:물 (8:2)	A	A
IPA:DMSO (8:2)	A	D + 결정질 유리 염기
IPA:DMSO:물 (80:18:12)	A	A
IPA:DMSO:물 (70:25:5)	A	A

IPA:DMSO:물 (70:20:10)	A	A
DCM	A	해당 없음

표 6

[0235]

용매	슬러리 후의 XPRD 패턴	
	RT	50℃
MeOH:물 (1:1)	A	A
MeOH:물 (8:2)	A	A
EtOAc:MeOH (1:1)	B	D
EtOAc:MeOH (9:1)	A	A
EtOAc:MeOH (1:9)	A	저결정질 A
EtOH:MeOH (1:1)	B	B
EtOAc:MeOH (1:1) 및 5부피% 물	A	A
MeOAc:MeOH (1:1) 및 5부피% 물	A	A
MeOAc:MeOH (1:1)	A	더 낮은 결정질 A
MeOAc:MeOH (1:1) 및 1부피% 물	A	더 낮은 결정질 A
MeOAc:MeOH (1:1) 및 2.5부피% 물	A	A

[0236]

2. 결정질 유리 염기 슬러리 실험비교를 위해, 반황산염이 상이한 XRPD 패턴을 나타낸 몇 가지 용매계 중에서 화합물 1, 즉 결정질 유리 염기를 또한 슬러리화하였다. 유라 염기는 2일의 슬러리화 후에도 변하지 않았다. 결과는 표 7에 나타나 있다.

표 7

[0237]

용매	슬러리 후의 XPRD 패턴	
	23℃	50℃
MeOAc:MeOH (1:1)	FB-A	FB-A
MeOAc:MeOH (1:1) 및 2.5부피% 물	FB-A	FB-A
EtOH	수행하지 않음	FB-A
ACN	수행하지 않음	FB-A
IPA:물 (8:2)	수행하지 않음	FB-A

[0238]

FB-A는 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태를 지칭한다. 3. 비정질 생성 실험

[0239]

비정질 물질을 생성하기 위해 ACN:물(2:1 부피)에서 동결건조를 수행하였다. 약 250 mg의 형태 A를 칭량하여 20 mL 바이알에 넣고 6 mL의 용매 혼합물을 첨가하고, 혼합물을 40℃까지 가열하고 0.5시간 동안 유지한 다음, 냉동고(-20℃에 넣었다. 동결된 혼합물이 녹기 전에 그 일부(약 절반)를 필터 상에 퍼서 분석하였다. 나머지 절반을 녹인 다음, 1 mL의 ACN:물(2:1 부피)과 1 mL의 물을 첨가하고, 다시 냉동고에 넣었다. 마지막으로, 이 혼합물을 동결 건조기 내에 밤새 두었다. 생성된 고형분에 대한 XRPD 분석을 수행하였다. 표 8 참조.

표 8

[0240]

용매	XRPD 패턴	방법
6 mL ACN:물 (2:1)	형태 E (습식, 여과 직후 XRD, 57-1-wet) F 형태(진공 오븐 건조, 57-1-dry) 형태 E의 젖은 케이크를 밤새 바이알에 방치하면 형태 E가 형태 A로 변환됨	여과
1 mL ACN:물 (2:1) + 2 mL 물	형태 A	동결 건조

[0241]

증발에 의한 결정화 결과에 기초하여, THF 중의 샘플에 대해 비정질 재료가 관찰되었다. 본 실험을 반복하였지만, 패턴 D가 대신에 관찰되었다. 표 9 참조.

표 9

[0242]

용매	용매 부피, $\mu\text{L}$	XRPD 패턴
THF	13380	형태 D

[0243]

MeOH 용매에서의 증발에 의한 결정화로 비정질 물질을 생성하였다. 55°C에서 1.5부피의 메탄올을 첨가하여 형태 A를 용해시킴으로써 이 실험을 반복하였다. 그런 다음 용액을 50°C의 진공 오븐 내에 밤새 방치하였다. XRPD는 생성된 고형분이 비정질이었음을 나타냈다. TGA/DSC 또한 2.7% 점진적 중량 손실을 동반한 작은 흡열 이벤트를 나타냈다. 표 10 참조.

표 10

[0244]

용매	용매 부피 ( $\mu\text{L}$ )	XRPD 패턴
MeOH	70	비정질

[0245]

화합물 1의 유리 염기 비정질 형태를 형성하는 방법을 발견하였고, 이를 다음과 같이 기술한다. 약 4 mL의 아세토니트릴을 2 mL의 물과 조합하였다. 20 mL 신틸레이션 바이알(scintillation vial)에서, 화합물 1의 과량의 고형분을 용매 혼합물에 현탁하여 고형분이 완전히 용해되지 않도록 하였다. 신틸레이션 바이알에 뚜껑을 덮고 시스템을 10~15분 동안 실온 초음파 처리조(sonication bath)에 넣었다. 현탁액을 0.45  $\mu\text{m}$ 의 주사기 필터를 통해 100 mL 둥근 바닥 플라스크 내로 여과시켜 투명한 용액을 수득하였다. 드라이아이스/아세톤조를 사용해 용액을 냉동시키고, 동결된 용액을 적어도 18시간 동안 동결건조기에 넣어서 화합물 1의 비정질 형태를 수득하였다. 수득된 비정질 형태의 XRPD는 도 23에 도시되어 있다. 화합물 1의 비정질 유리 염기에 대한 TGA 및 DSC 온도 변화도는 도 24에 도시되어 있다.

[0246]

4. 증발에 의한 결정화

[0247]

다양한 용매계 중 형태 A의 포화 용액 약 0.3 mL 내지 0.5 mL을 증발 건조시키고, XRPD 분석을 수행하였다. 증발은 50°C의 대기압 하에서 이뤄졌다(표 11). 낮은 용해도로 인해 많은 경우에 고형분이 거의 없었다. RT의 MeOH 중 샘플, RT와 50°C의 아세톤:물(8:2) 중 샘플에 대한 XRPD 패턴은 패턴 A로 유지되었고; RT와 50°C의 ACN에서는 저결정질의 유리 염기가 관찰되었으며; 50°C의 MeOH 및 50°C의 THF에서 비정질이 생성되었다.

표 11

용매	증발 결정화에 의한 XRPD 패턴	
	23℃에서 슬러리화됨	50℃에서 슬러리화됨
MeOH	형태 A	비정질
EtOH	약간의 고체	약간의 고체
IPA	약간의 고체	약간의 고체
아세톤	약간의 고체	약간의 고체
MeBE	약간의 고체	약간의 고체
EtOAc	약간의 고체	약간의 고체
ACN	저결정성 유리 염기	저결정성 유리 염기
시클로헥산	약간의 고체	약간의 고체
MEK:물 (20:1)	약간의 고체	약간의 고체
톨루엔:EtOH:물 (10:5:1)	약간의 고체	약간의 고체
톨루엔	약간의 고체	약간의 고체
THF	약간의 고체	비정질
IPAc	약간의 고체	약간의 고체
아세톤:물 (8:2)	형태 A	형태 A
THF:물 (8:2)	약간의 고체	저결정성 형태 A
IPA:DMSO (8:2)	약간의 고체	약간의 고체
IPA:DMSO:물 (80:18:12)	약간의 고체	약간의 고체
IPA:DMSO:물 (70:25:5)	약간의 고체	약간의 고체
IPA:DMSO:물 (70:20:10)	약간의 고체	약간의 고체
DCM	약간의 고체	해당 없음

[0248]

[0249]

용해 측정 후 MeOH 용매 시스템에서 증발성 결정화를 수행하였다. 결과는 표 12에 나타나 있다. 낮은 용해도로 인해 일부 경우에 고형분이 거의 없었다. 50℃의 MeOH:물(1:1) 중의 샘플, RT와 50℃의 MeOH:물(8:2) 중의 샘플, 및 50℃의 EtOAc:MeOH:물(1:1:0.05) 중의 샘플에 대한 XRPD 패턴은 패턴 A를 유지하였고; 50℃의 EtOH:MeOH(1:1) 중의 샘플에서 패턴 B가 발견되었고; 50℃의 MeOAc:MeOH(1:1:0.05) 중의 샘플에서 패턴 F가 관찰되었으며; 50℃의 EtOAc:MeOH(1:1) 및 RT와 50℃의 MeOAc:MeOH(1:9) 중의 샘플에서 비정질이 생성되었다.

표 12

용매	증발 결정화에 의한 XRPD 패턴	
	23℃에서 슬러리화됨	50℃에서 슬러리화됨
MeOH:물 (1:1)	약간의 고체	형태 A
MeOH:물 (8:2)	형태 A	형태 A
EtOAc:MeOH (1:1)	약간의 고체	비정질
EtOAc:MeOH (9:1)	약간의 고체	약간의 고체
EtOAc:MeOH (1:9)	비정질	비정질
EtOH:MeOH (1:1)	약간의 고체	형태 B
EtOAc:MeOH (1:1) 및 5 부피% 물	약간의 고체	형태 A
MeOAc:MeOH (1:1) 및 5 부피% 물	약간의 고체	형태 F

[0250]

[0251]

5. 저속 및 급속 냉각 결정화

[0252]

형태 A의 다형성 거동을 연구하기 위해 저속 및 급속 냉각 실험을 수행하였다. 저속 냉각 실험에서 약 20~35 mg의 형태 A를 55℃에서 다양한 용매계에 용해시킨 다음 5시간에 걸쳐 RT(23℃까지 냉각시키고, 침전물이 관찰되지 않는 경우, 샘플을 1시간에 걸쳐 5℃까지 냉각시켰다. 급속 냉각 실험에서, 55℃의 형태 A 용액이 든 바이알을 얼음 수조에 넣어 0℃까지 급속 냉각시키고, 침전물이 없는 경우, 샘플을 혼합하지 않고 -20℃의 냉동고에 넣어 추가로 냉각시켰다.

[0253]

급속 및 저속 냉각 실험 모두에서, IPA:DMSO(7:3) 및 IPA:DMSO:물(65:30:5)에서는 침전이 관찰되지 않았다. 형태 A는 77부피의 MeOH:EtOH(3:7)에 용해되지 않았다. MeOH:EtOH(3:7) 중의 슬러리를 여과하고 분석하였는데, 패턴 B로의 전환이 나타났다. 급속 냉각 실험에서는 2가지 새로운 패턴을 얻었다: 아세톤:물(8:2)에서의 패턴 G 및 MeOH:EtOAc(1:1)에서의 패턴 H. 저속 냉각 실험에서, 생성된 고형분 패턴은 아세톤:물(8:2)에서의 패턴 A, 및 MeOH:EtOAc(1:1)에서의 패턴 B였다. 표 13 참조.

표 13

용매	용매 부피	냉각 결정화에 의한 XRPD 패턴	
		급냉	서냉
아세톤:물 (8:2)	72	형태 G	형태 A
IPA:DMSO (7:3)	14	침전 없음	침전 없음
MeOH:EtOAc (1:1)	17	형태 H	형태 B
IPA:DMSO:물 (65:30:5)	196	침전 없음	침전 없음
MeOH:EtOH (3:7)	77	용해되지 않음	용해되지 않음(슬러리는 패턴 B 입)

[0254]

[0255]

6. 항-용매 결정화

[0256]

형태 A의 다형성 거동을 추가로 연구하기 위해 항-용매 실험을 수행하였다. 직접 항-용매 실험에서, 3부피의 MeOH에 용해된 20~25 mg의 형태 A 용액에 항-용매를 매번 25 μL 증분으로 첨가하였다. 역 첨가 실험(reverse addition experiment)에서는, 용액을 한 번에 6부피의 항-용매에 첨가하였다. 실험은 RT에서 수행하였다. 결과는 표 14에 나타나 있다. 실험 과정 동안 MeOH/EtOH계 고형분만이 생성되었다.

표 14

용매 (3 부피)	항-용매 (6 부피)	항-용매 결정화		XRPD 패턴	
		정방향	역방향	정방향	역방향
MeOH	EtOAc	신속하게 침전되고 용해됨(고체 없음)	신속하게 침전되고 용해됨(고체 없음)	해당 없음	해당 없음
MeOH	IPAc	침전됨. 여과 후엔 얇은 슬러리와 약간의 고체	침전되어 검(gum) 형성	해당 없음	해당 없음
MeOH	아세톤	침전 없음	침전 없음	해당 없음	해당 없음
MeOH	에탄올	침전됨	검 형성	형태 B	저결정도 형태 B
MeOH	물	침전 없음	침전 없음	해당 없음	해당 없음

[0257]

[0258] 7. **염 패턴 A의 용매 적가 밀링 실험**

[0259] 형태 A의 다형성 거동을 평가하기 위해 용제 적가 밀링 실험(milling experiment)을 수행하였다. 약 25 mg의 형태 A를 칭량하여 볼 밀 캡슐에 넣은 다음, 25  $\mu$ L의 용매를 첨가하였다. 고형분을 각각 30초씩 3회 밀링하였다. 케이크화를 방지하기 위해 매번 캡슐 벽에서 고형분을 긁어 냈다. 또한, 형태 A의 무 용매 건식 밀링을 참조로서 설계하였다. XRPD는, 생성된 고형분이 건조 밀링 샘플을 제외하고는 용매 적가 밀링 공정 후에 변하지 않았음을 나타냈는데, 건조 밀링 샘플은 비정질에 가까운 저 결정도의 형태 A를 초래하였다. 표 15 참조.

표 15

용매	용매 부피 ( $\mu$ L)	XRPD 패턴
MeOH:물 (95:5)	25	형태 A
아세톤:물 (8:2)	25	형태 A
MeOH:MeOAc (1:1)	25	형태 A
IPAc	25	저결정질 형태 A
아니솔	25	형태 A
건조 고체	용매 없음	대부분 비정질

[0260]

[0261] 8. **반황산염의 형성**

[0262] 화합물 1, 즉 다양한 용매 중 비결정질 유리 염기를 슬러리화하고, 이어서 EtOAc 중 황산 용액을 첨가함으로써 염 형성을 수행하였다. 먼저, EtOAc 중 황산 용액을 제조하였다(대략 24 wt% 농도). 이어서, 화합물 1의 비결정질 유리 염기 25~30 mg을 칭량하여 2 mL 바이알에 넣고, 이어서 15부피의 용매를 첨가하였다. 그런 다음, 원하는 당량 수의 황산을 첨가하였다. 슬러리를 45 $^{\circ}$ C까지 가열하고, 1시간 동안 유지시킨 다음, 2시간에 걸쳐 RT까지 냉각시키고, 이어서 밤새 유지시켰다. 슬러리를 여과한 다음 XRPD로 분석하였다. 결과는 표 16에 나타나 있다.

표 16

용매	관찰		XRPD 패턴	
	0.5 당량 황산	1.0 당량 황산	0.5 당량 황산	1.0 당량 황산
IPA	얇은 슬러리 및 약간의 검	얇은 슬러리 및 약간의 검	저결정도 FB-A	저결정도 FB-A
아세트니트릴	얇은 슬러리 및 약간의 검	용액이 슬러리화됨	저결정도 형태 B	형태 D
MeOAc:MeOH (1:1)	용액*	용액*	비정질	비정질
EtOAc:MeOH (1:1)	용액*	용액*	비정질	비정질
MeOAc:MeOH (1:1); 5% 물	용액*	용액*	저결정도 형태 B	비정질
EtOAc:MeOH (1:1); 5% 물	용액이 슬러리화됨	용액*	형태 A	비정질
MeOAc:MeOH (1:1); 10% 물	용액*	용액*	형태 A	비정질
아세톤	슬러리	얇은 슬러리 및 약간의 검	저결정도 FB-A	형태 D
THF	슬러리	슬러리	저결정도 FB-A	저결정도 FB-A
에탄올	슬러리	용액이 슬러리화됨	형태 I	형태 D
IPAc	얇은 슬러리 및 약간의 검	얇은 슬러리 및 약간의 검	FB-A	저결정도 FB-A
MeOAc:MeOH (1:1); 1% 물	용액*	용액*	저결정도 FB-A	비정질

[0263]

[0264]

\* 3~4시간의 교반 후 침전물이 없으면, 용매를 증발시켰다. FB-A는 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태를 지칭한다.

[0265]

또한, 반황산염은 물의 유무와 상관없이 MeOAc:MeOH(1:1) 혼합물에서 형성되었다. 43 wt%(밀도: 1.3072g/mL)의 물 중 황산 용액을 제조하여, 반염(hemisalt) 형성에 사용하였다. 표 17 참조.

표 17

물 중 0.52 당량의 황산 용액(40 내지 50wt%)으로 MeOAc:MeOH 용매계에서 염 형성하기

황산, 당량	물 중 황산 용액, $\mu\text{L}$	용매, $\mu\text{L}$	실험 내용	XPRD 패턴-적은 고체
0.52	19.4	578.4	RT 에서 6 부피의 MeOAc:MeOH(1:1)를 첨가함; 0.52 당량의 산을 첨가함; 일부 스펙(specs)의 고형분이 포함된 용액을 수득함 시드(seed)로서 패턴 A 를 첨가함. 시드(seed)로서 패턴 B 를 첨가함. 1 시간 동안 유지시켜 걸쭉하게 만들. XRPD 를 위해 샘플링함. 50°C까지 가열함	형태 J
0.52	18.6	555	RT 에서 6 부피의 MeOAc:MeOH(1:1)를 첨가함 0.52 당량의 산을 첨가함; 일부 스펙(specs)의 고형분이 포함된 용액을 수득함 0.4 부피의 물을 적가함 2 시간 동안 유지시켜 걸쭉하게 만들. XRPD 를 위해 여과함	형태 A
0.52	19.8	591	RT 에서 6 부피의 MeOAc:MeOH(1:1)를 첨가함 45°C까지 가열함 0.52 당량의 산을 첨가함; 일부 스펙(specs)의 고형분이 포함된 용액을 수득함 0.4 부피의 물을 적가함 30 분 동안 유지시킨 뒤 1 시간에 걸쳐 RT 까지 냉각시킴 1 시간 동안 유지시켜 걸쭉하게 만들. XRPD 를 위해 여과함	형태 A
0.52	18.6	555.6	RT 에서 6 부피의 MeOAc:MeOH(1:1)를 첨가함 0.52 당량의 산을 첨가함; 일부 스펙(specs)의 고형분이 포함된 용액을 수득함 1 부피의 물을 2 시간에 걸쳐 첨가함 1 시간 동안 유지시켜 걸쭉하게 만들. XRPD 를 위해 여과함	형태 A

[0266]

[0267]

또한, 화합물 1을 메탄올 중에서 슬러리화하고, 이어서 물 중 황산 용액(43 wt% 수성)을 첨가함으로써 반황산염 형성을 수행하였다. 비결정성 유리 염기인 약 100 mg 화합물 1을 칭량하여 4 mL 바이알에 넣은 다음, 6부피의 용매를 첨가하였다. 그런 다음, 물 중 0.52당량의 황산 용액(대략 43 wt% 농도)을 첨가하였는데, 이는 실온에서 완전히 용해되었다. 실험 1의 경우, 1부피의 물을 우선 적가하고, 시드로서 소량의 패턴 A를 첨가한 다음, 5부피의 물을 1시간에 걸쳐 첨가하였으며; 실험 2의 경우, 물은 첨가하지 않았고, 시드로서 패턴 A와 B 둘 다를 첨가하였으며; 실험 3의 경우, 6부피의 물을 2시간에 걸쳐 첨가하고, 시드는 첨가하지 않았다. 모든 바이알을 밤새(O/N) 교반하였다. 슬러리를 여과한 다음 XRPD로 분석하였다. 물을 첨가한 실험의 경우 수율은 약 80%였고, 물을 첨가하지 않은 실험의 경우 약 60%였다.(표 18. 참조)

표 18

용매	용매 부피 (μL)	물 중 황산 (μL)	물 첨가량 (μL)	최종 조성물	첨가한 시드	XRPD 패턴	수율
MeOH	572	19.2	595	MeOH:물 (50:50)	형태 A	형태 A	84%
MeOH	552	18.4	물 첨가 없음	MeOH:물 (98.5:1.5)	형태 A+B	형태 B	63%
MeOH	577	19.4	600	MeOH:물 (50:50)	시드 첨가 없음	형태 A	82%

[0268]

[0269]

반황산염 형성은 유리 염기와 황산을 사용함으로써 메탄올:물(95:5)에서도 수행하였다. 약 150 mg 화합물 1을 칭량하여 4 mL 바이알에 넣고, 8부피의 용매를 첨가하였다. 혼합물을 500 rpm으로 교반한 다음, 물 중 0.52당량의 황산 용액(대략 43 wt% 농도)을 첨가하였다. 이 혼합물을 45℃까지 가열하여 완전히 용해시킨 다음, 0.5부피의 물을 첨가하고, 이어서 RT까지 냉각시키고 밤새(O/N) 유지시켰다. 그 결과 유동성 슬러리가 생성되었다. 그런 다음, 3.5부피의 물을 첨가하고 여과하였다. XRPD 분석은 패턴 A를 나타냈다. 수율은 약 84%였다. 표 19 참조.

표 19

용매	용매 (μL)	물 중 황산 (μL)	(가열) 온도 (가열됨) (℃)	최종 조성물	XRPD 패턴	수율
MeOH:물 (95:5)	1200	30.2	45	MeOH:물 (63:37)	형태 A	84%

[0270]

[0271]

형태 A에 대한 정률 증가 실험(scale-up experiment)을 다음과 같이 진행하였다.

[0272]

약 1.0253 g의 화합물 1을 100 mL 플라스크에 첨가하였다. 그런 다음, 8부피의 MeOH:물(95:5 부피) 용매(8.2 mL)를 첨가하고, 직경이 3.5 cm인 4-피치 블레이드 터빈(4-PBT) 추진기를 사용해 300 rpm으로 혼합물을 교반하였다. 물 중 0.52당량의 황산(약 43 wt%)(206 μL)을 수동으로 첨가하고, 혼합물을 10분에 걸쳐 23℃에서 45℃까지 가열하여, 완전히 용해시켰다. 0.5부피의 물(0.512 mL)을 첨가하고 용액을 10분 동안 유지시키고, 1시간에 걸쳐 23℃까지 냉각시킨 후, 밤새 교반하면서 유지시켰다. 침전물은 관찰되지 않았다. 그런 다음, 4부피의 물을 1시간에 걸쳐 첨가하였으며, 용액은 물을 첨가하는 동안 실온에서 투명한 상태를 유지하였다. 물 첨가가 끝난 직후(15~30분 이내) 침전이 시작되었다. XRPD를 통해 샘플을 분석하였는데, 패턴 A가 나타났다. 그런 다음, 혼합물을 1시간에 걸쳐 15℃까지 냉각시키고, 교반하면서 3시간 동안 유지한 다음, 여과하고 2부피의 MeOH:물(1:1)로 세척하였다. 습식 케이크의 XRPD는 패턴 A로 나타났다. 생성물을 50℃의 진공 오븐에서 밤새 건조시켰다. XRPD에 의한 염 패턴 A 1.1143 g을 수득하였다. NMR에 의하면 남은 메탄올은 0.18 wt%였다. pH 계량기로 여과물의 pH를 측정하였으며, 2.63의 값이 나타났다.

[0273]

9. 반황산염의 정률 증가(scale-up)

[0274]

아래에 기술된 바와 같이 반황산염을 2그램 규모로 생성하였다. 생성된 고형분은 반황산염 형태 A였다. 수율은 약 88%였다.

[0275]

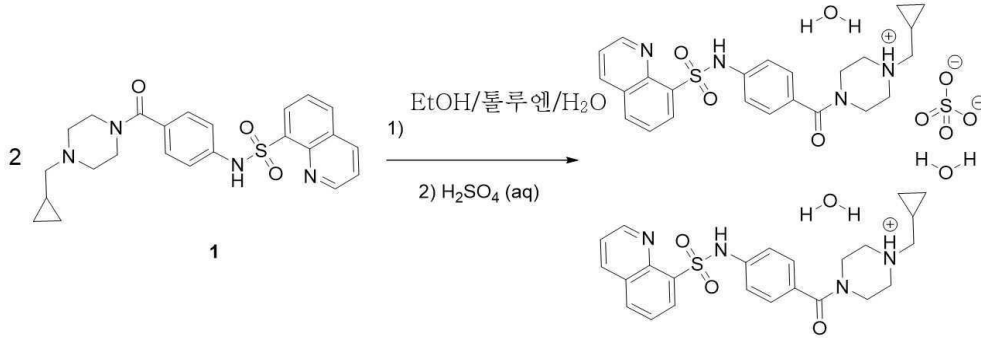
약 1.9581 g의 화합물 1을 100 mL 플라스크에 첨가하였다. 8부피의 MeOH:물(95:5 부피) 용매(15.9 mL)를 첨가하고, 직경이 3.5 cm인 4-PBT 추진기를 사용해 300 rpm으로 혼합물을 교반하였다. 물 중 0.52당량의 황산(약 43 wt%)(399 μL)을 수동으로 첨가하였다. 혼합물을 10분에 걸쳐 23℃에서 45℃까지 가열하여 완전히 용해시켰다. 0.5부피의 물(0.993 mL)을 첨가하고, 용액을 10분 동안 유지한 후, 1시간에 걸쳐 23℃까지 냉각시켰다. 4부피의 물을 1시간에 걸쳐 첨가하였으며, 교반하면서 약 45분 동안 유지시킨 후 핵형성(nucleation)이 관찰되었다. 혼합물을 1시간에 걸쳐 15℃까지 냉각시키고, 교반하면서 약 30분 동안 유지시킨 후, 여과하고 2부피의 MeOH:물

(1:1)로 세척하였다. 습식 케이크의 XRPD는 패턴 A로 나타났다. 생성물을 50℃의 진공 오븐에서 밤새 건조시켰다. 이를 통해 XRPD에 의한 염 패턴 A 2.04 g(88%)을 수득하였다. NMR에 의하면 남은 메탄올은 0.16 wt%였다.

**10. 최적화된 결정질 A 반황산염의 정률 증가 절차**

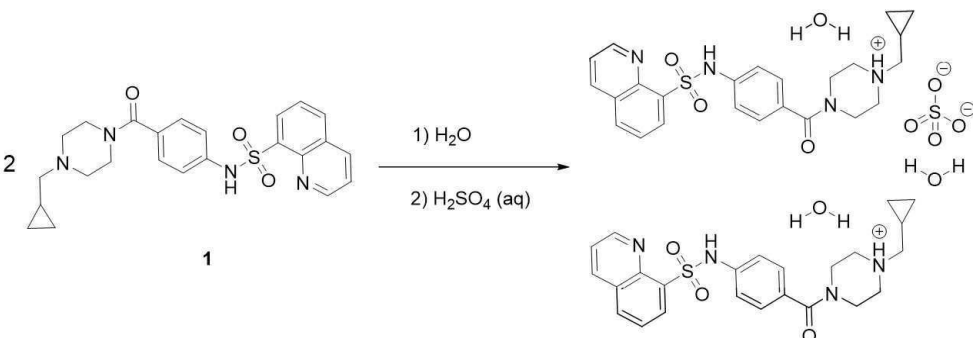
시드 첨가와 상관없이, 반황산염 세스퀴수화물염으로서 형태 A의 최적화된 제조 방법이 아래에 제공된다.

시드 첨가를 포함하는, 1-(시클로프로필메틸)-4-(4-(퀴놀린-8-술폰아미도)벤조일)피페라진-1-옴 황산 삼수화물 (형태 A)의 제조 방법



N<sub>2</sub> 하의 2 L 반응기에 N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드(5)(111.0 g, 246.4 mmol), 및 에탄올(638.6 g), 톨루엔(266.1 g) 및 물(159.6 g)의 미리 혼합된 공정 용매를 채웠다. 현탁액을 교반하고 60℃까지 가열하여 고형분을 용해시킨 다음, 생성된 용액을 50℃까지 냉각시켰다. 용액에 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 수용액(2.4 M, 14.1 mL, 33.8 mmol)을 첨가하고, 이어서 1-(시클로프로필메틸)-4-(4-(퀴놀린-8-술폰아미도)벤조일)피페라진-1-옴 황산 삼수화물(6)(1.1 g, 2.1 mmol)을 첨가하였다. 1시간 동안 교반한 후, 현탁액에 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 수용액(2.4 M, 42.3 mL, 101.5 mmol)을 5시간에 걸쳐 첨가하였다. 현탁액을 22℃까지 냉각시켜 8시간 동안 교반하였다. 고형분을 22℃에서 여과하고, 새로운 공정 용매(2 x 175 g)로 세척하고 건조시켜 94%의 단리된 수율로 생성물(121.6 g)을 수득하였다. LC-MS(2분내 걸쳐 90-10, CH<sub>3</sub>CN/물로 용리하는 C18 컬럼)를 통해 (M+1) = 451을 발견하였다. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.45 (s, 1H), 9.11 (dd, *J* = 4.2, 1.7 Hz, 1H), 8.50 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, 1H), 8.41 (dd, *J* = 7.3, 1.5 Hz, 1H), 8.27 (dd, *J* = 8.2, 1.5 Hz, 1H), 7.79 - 7.60 (m, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 3.44 (d, *J* = 8.9 Hz, 5H), 3.03 - 2.50 (m, 6H), 0.88 (p, *J* = 6.3 Hz, 1H), 0.50 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 0.17 (d, *J* = 4.9 Hz, 2H).

시드 첨가를 포함하지 않는, 1-(시클로프로필메틸)-4-(4-(퀴놀린-8-술폰아미도)벤조일)피페라진-1-옴 황산 삼수화물(형태 A)의 제조 방법



50 L 반응기에 N-(4-(4-(시클로프로필메틸)피페라진-1-카르보닐)페닐)퀴놀린-8-술폰아미드(5)(1.20 kg, 2.66 mol) 및 28℃의 물(23.23 L)을 채웠다. 현탁액을 교반하면서, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>의 수용액(1.0 M, 261 g)을 2시간에 걸쳐 적가하였다. 반응물을 25~30℃에서 24시간 동안 교반하였다. 고형물을 여과하고 30℃아래에서 진공 하에 96시간 동안 건조시켜 90% 단리된 수율로 생성물(1.26 kg)을 수득하였다.

**11. 다양한 패턴의 재현 및 제조**

이전 실험 동안 관찰된 패턴을 특성 분석을 위해 재현하였다. 패턴 B, D, E, F는 재현 가능하였다. 패턴 G는 낮

은 결정도에서 재현하였다. 몇 개의 피크가 누락되었지만, 패턴 I를 재현하였다. 표 20 참조.

표 20

[0286]

표적 패턴	실제 패턴	용매	방법	내용
형태 B	형태 B	EtOH	RT에서의 슬러리	메탄올 또는 에탄올을 유지 시킴. 건조 시 결정도 상실됨
형태 C+A	형태 A	IPA	RT에서의 슬러리	패턴 C는 너무 불안정할 수 있고 패턴 A로 변환되는 탓에 재현이 불가하였다.
형태 D	형태 A+D	ACN	50°C에서의 슬러리	패턴 D는 무수임
형태 B	형태 B	EtOH:MeOH (3:7)	55°C에서의 슬러리	패턴 B 수득함
형태 E	형태 E	ACN:물 (2:1)	-20°C냉각 결정화	수율이 매우 낮음(5%) 건조 시 불안정하고 F로 변환됨
형태 F	형태 F	해당 없음	50°C의 진공하에 건조시켜 패턴 E를 수득함	TGA에서 약 8 wt%가 손실되며, 이는 NMR 기준으로는 물임
형태 G	저결정질 형태 G	ACN:물 (8:2)	-20°C에서의 급속 냉각 결정화	TGA에서 약 5 wt%가 손실되며, 이는 NMR 기준으로는 물임
형태 H	거의 비정질 고형분. 대부분의 피크가 누락됨.	MeOH:EtOAc (1:1)	-20°C에서의 급속 냉각 결정화	매우 낮은 결정질이 가능한 용매화물
형태 B	형태 B	MeOH:물 (99:1)	RT에서 용해시키고 패턴 A와 B를 시드로서 첨가함	패턴 B 수득함
형태 I	양식 I - 몇 개의 피크 누락됨	EtOH	EtOAc 중 유리 염기와 황산으로 염 형성함	8.5 wt%의 EtOH 함유. 가능한 용매화물
형태 D	형태 D	ACN	EtOAc 중 유리 염기와 황산으로 염 형성함	패턴 D는 무수임

[0287]

형태 B 형태 B는, 약 10부피의 에탄올 중의 형태 A를 형태 B가 수득될 때까지 실온에서 수일 동안 슬러리 화합으로써 제조할 수 있다. 형태 B는 일반적으로 50°C에서 진공 하에 건조된다. 형태 B를 형성하는 다른 방법들은 위에, 예를 들어, 표 5, 6, 12 내지 14, 18 및 20에 기술되어 있다.

[0288]

형태 C

[0289]

형태 C는 IPA 중의 형태 A를 약 23°C에서 2일 동안 슬러리화한 후 형태 A와의 혼합물로서 형성된다. 예를 들어, 표 5 참조. 형태 C에 대한 XRPD 피크는 형태 A 피크를 빼서 얻어진다.

[0290]

형태 D

[0291]

형태 D는 화합물 1에 15부피의 아세트니트릴을 첨가한 다음 0.52당량의 황산을 첨가하고, 혼합물을 50°C까지 가열함으로써 형성된다. 그런 다음, 혼합물을 30분 동안 50°C에서 유지시키고, RT까지 냉각시킨다. 그런 다음, 생성된 생성물인 형태 D를 여과하고 건조시킨다. 대안적인 실시예에서, 50°C가 넘는 온도에서 적어도 2일 동안 IPA 또는 아세트니트릴 중에서 형태 A를 슬러리화하여 형태 D로 변환시킬 수 있다. 후자의 방법은 유리 염기가 사용되는 첫 번째 방법만큼 강력하지 않다. 추가적인 방법은 위에, 예를 들어, 표 5, 6, 9, 16, 및 20에 기술되어 있다.

[0292]

형태 E

[0293]

형태 E는, 24부피의 아세트니트릴:물(2:1)을 형태 A에 첨가한 후 혼합물을 50°C까지 가열하여 물질을 용해시킴으로써 제조될 수 있다. 그런 다음, 용액을 -20°C까지 냉각시키고, 밤새 방치한다. 그런 다음, 생성된 생성물인 형태 E를 여과한다. 예를 들어, 표 8 및 20을 참조한다.

[0294] **형태 F**

[0295] 형태 F는 50℃에서 진공 하에 형태 E를 건조시킴으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 표 20을 참조한다. 추가적인 방법은 위에, 예를 들어, 표 8 및 12에 기술되어 있다.

[0296] **형태 G**

[0297] 형태 G는, 72부피의 아세토니트릴:물(8:2)을 형태 A에 첨가한 후 혼합물을 50℃까지 가열하여 고형분을 용해시킴으로써 제조될 수 있다. 그런 다음, 용액을 -20℃까지 급속 냉각시킨 후, 밤새 방치하여 형태 G를 생성한다. 예를 들어, 표 20을 참조한다. 추가적인 방법은 위에, 예를 들어, 표 13에 기술되어 있다.

[0298] **형태 H**

[0299] 형태 H는 50℃에서 40부피의 MeOH:EtOAc(1:1)에 형태 A를 용해시키고, 이어서, 용액을 얼음에 넣어 속성으로 냉각시킨 다음, 용액을 -20℃까지 냉각시킴으로써 제조될 수 있다. 그런 다음, 생성된 침전물인 형태 H를 여과하고, 습식 케이크 상태로 분석한다. 예를 들어, 표 20을 참조한다. 패턴 H를 재현하여 비정질과 같은 고형분을 생성하였는데, 이는 형태 H의 피크를 갖지 않는다. 추가적인 방법은 위에, 예를 들어, 표 13에 기술되어 있다.

[0300] **형태 I**

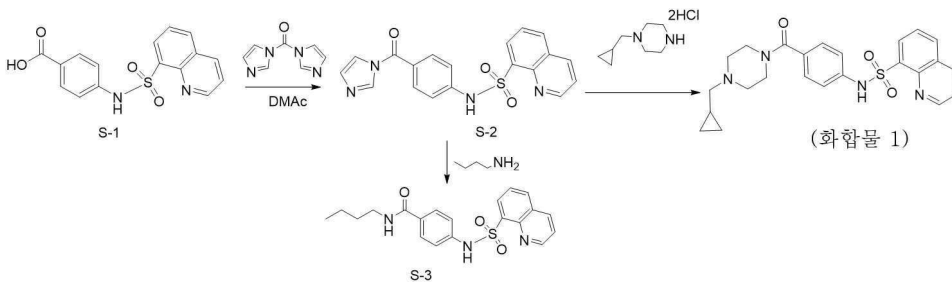
[0301] 형태 I는 가능한 용매화물로서, 화합물 1에 15부피의 에탄올을 첨가하고, 혼합물을 45℃까지 가열하여 슬러리를 수득함으로써 제조될 수 있다. 그런 다음, EtOAc 중 0.52당량의 황산을 첨가하고 혼합물을 1시간 동안 유지시킨 다음, 2시간에 걸쳐 실온으로 냉각시키고, 1시간 동안 유지시킨 후 여과한다. 그런 다음, 생성물인 형태 I를 50℃에서 진공 하에 건조시킨다. 예를 들어, 표 16 및 20을 참조한다.

[0302] **형태 J**

[0303] 형태 J는 화합물 1과 6부피의 MeOAc:MeOH(1:1)를 실온에서 첨가하여 형성할 수 있다. 그런 다음, 물 중 43 wt%로 희석된 0.52당량의 황산을 첨가한다. 그런 다음, 슬러리를 60℃까지 가열하여 혼합물을 용해시키고, 용액을 RT까지 냉각시켜 여과한다. 형태 J는 습식 케이크로서 수득하였으며, 건조 시 형태 A로 변환된다. 예를 들어, 표 17을 참조한다.

[0304] **화합물 1의 결정질 유리 염기 형태**

[0305] 화합물 1의 결정질 유리 염기 형태는 다음의 방법을 통해 제조할 수 있다.



[0306]

[0307] N<sub>2</sub> 보호 하에 둥근 바닥 플라스크에 14.8 kg의 S-1 및 120 kg DMAc를 채우고, N<sub>2</sub> 보호 하에 30℃에서 40분 동안 반응물을 교반하여 투명한 황색 용액을 수득한다. 7.5 kg의 CDI(1.02당량)를 첨가하고, N<sub>2</sub> 보호 하에 30℃에서 2.5시간 동안 반응물을 교반한다. 30℃에서 0.6 kg의 CDI(0.08당량)를 첨가하고, 혼합물을 N<sub>2</sub> 보호 하에 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 물질 소모가 있었는지 확인하기 위해 반응물을 다시 시험하였다. 30℃에서 둥근 바닥 플라스크에 11.0 kg(1.14당량)의 1-(시클로프로필메틸)피페라진 염화물을 채우고, N<sub>2</sub> 보호 하에 6시간 동안 반응물을 교반하였다(투명한 용액). 7.5 X H<sub>2</sub>O를 2시간에 걸쳐 적가하여 약간의 고형분을 형성하고, 30℃에서 1시간 동안 반응물을 교반하였다. 16.8 X H<sub>2</sub>O를 2.5 시간에 걸쳐 첨가하고, 2.5시간 동안 반응물을 교반하였다. 3.8 kg(0.25 X)의 NaOH(30%, w/w, 0.6당량)를 첨가하고, 30℃에서 3시간 동안 반응물을 교반하였다. 반응물을 여과하고 습식 케이크를 H<sub>2</sub>O/DMAc=44 kg/15 kg으로 행구었다. 23.35 kg의 습식 케이크를 수득하였다(KF: 4%). 10.0 X DMAc를 첨가하여 샘플을 재결정화하여 70℃에서 1시간 동안 교반하고(투명한 용액); 4.7 X H<sub>2</sub>O를 70℃에서 2시간에 걸쳐 첨가하고, 반응물을 70℃에서 2시간 동안 교반하고; 12.8 X H<sub>2</sub>O를 3시간에 걸쳐 적가하고, 70℃에서 2시간 동안 교반하고; 반응물의 온도를 5시간에 걸쳐 30℃까지 조절하고, 30℃에서 2시간 동안 교반하고; 반응물을 여과하고, DMAc/H<sub>2</sub>O=15 kg/29 kg 및 150 kg의 H<sub>2</sub>O로 행구었다. 19.2 kg의 습식 케이크로 수

득하였다. 물질은 다음과 같이 다시 재결정화하였다. 습식 케이크에 10.0 X DMAc를 첨가하고, 반응물을 70℃에서 1시간 동안 교반하였다(투명한 용액). 16.4 X H2O를 70℃에서 적가하고, 반응물을 70℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물의 온도를 5.5시간에 걸쳐 30℃까지 조정하고, 30℃에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 원심분리하고 21.75 kg의 습식 케이크를 수득하였다. 70℃에서 진공 하에 25시간 동안 물질을 건조시켰다. 화합물 1의 결정질 유리 염기 16.55 kg을 수득하였다. 99.6%의 순도.

[0308] 12. 물 및 시플레이션된 유체에서의 용해도

[0309] 패턴 A, B 및 D의 용해도를 물에서 측정하였다. 고형분을 2일 동안 37℃의 유체에서 슬러리화하였다. 상청액을 주사기로 여과하여 HPLC 분석에 사용하였다. 패턴 A 및 D의 경우, 용해도 측정을 반복하였고, 샘플은 슬러리화 후 1시간차에 취하였다. 패턴 A를 사용해 교정 곡선을 개발하였다. 이는 검증에 의해 보정되지 않았으므로, 용해도 값은 반황산염, 세스퀴수화염을 기준으로 한다.

[0310] 패턴 B와 D 둘 다는 2일 간의 슬러리 후에 패턴 A로 변환되었다. 또한 패턴 D는 공복 상태를 모방한 위액 (FaSSGF) 또는 물에서 1시간 이내의 슬러리화 이후 패턴 A로 변환되었다. 공복 상태를 모방한 장액(FaSSIF)에서 만든, 패턴 A와 B는 2일 간의 슬러리화 이후 결정질 유리 염기로 불균형하게 변환되었으며, 더 낮은 용해도를 나타냈다. 그러나, 패턴 D는 FaSSIF에서 불균형하게 변환되지 않았고, 대신에 패턴 D로 변환되었다. 3가지 패턴의 물 및 모방액에서의 용해도는 상당히 다르지 않았다. 이는 패턴 B와 D가 패턴 A로 변환되었기 때문일 수 있다. 측정 후 생성된 XRPD 패턴 및 용해도 데이터는 표 21에 보고되어 있다.

표 21

37℃의 모방액에서의 용해도

	패턴	용해도, 고형분(mg)/용매(mL)	패턴	슬러리 시간
물	A	2.69	A	2 일
물	B	3.02	A	2 일
물	D	2.71	A	2 일
FaSSIF	A	0.24	FB	2 일
FaSSIF	B	0.20	FB	2 일
FaSSIF	D	3.49	A	2 일
FaSSGF	A	6.80	XRPD 를 수행하기에는 고형분이 부족함	2 일
FaSSGF	B	6.53	A	2 일
FaSSGF	D	5.94	A	2 일
물	A	3.05	A	1 시간
FaSSGF	A	7.07	A	1 시간
물	D	2.62	A	1 시간
FaSSGF	D	5.43	A	1 시간

FB 는 화합물 1 의 결정질 유리 염기를 의미한다.

[0311]

[0312] 13. 경쟁 슬러리

[0313] 경쟁 슬러리 실험을 위해 4개의 상이한 용매를 사용하였다. 2가지 상이한 온도에서의 경쟁 슬러리를 위해 4개의 용매계를 선택하였다. 용매는 아세톤, 아세톤:물(9:1), IPA 및 MeOH:물(95:5)이었고 온도는 23℃와 50℃였다. 목표 온도에서 약 2시간 동안 패턴 A를 슬러리화함으로써 모든 용매를 처음부터 포화시킨 다음, 교반 막대를 제거하고, 바이알을 목표 온도에 유지시켜 고형분을 침강시켰다. 그런 다음, 포화된 상청액을, 핫 플레이트를 이용해 목표 온도까지 이미 가열된 새로운 빈 바이알에 옮겼다. 그런 다음, 패턴 A, B 및 D 각각의 5~10 mg을 이들 포화 용액에 첨가하였다. 교반 막대를 사용해 고형분 혼합물을 슬러리화하고, 2일 간의 슬러리화 후에 제1 샘플을 취하였다. 제2 샘플은 1주 후에 취하였다. 패턴 A는 물이 포함된 용매에서 안정적이었다. 패턴 D는 특히 고온의 무수계에서 안정적이었다. 무수 고형분인 패턴 D는 무수 유기 용제가 사용될 때 가장 안정적인 고형분이다. 표 22 참조.

표 22

용매	초기 패턴	XPRD 패턴 - 2 일차		XPRD 패턴 - 1 주차	
		RT	50℃	RT	50℃
아세톤	A + B + D	A+D	D	A+D	D
아세톤:물 (9:1)	A + B + D	A	A	A	A
IPA	A + B + D	D	D	D	D
MeOH:물 (95:5)	A + B + D	A	XRPD 용 샘플 부족함	A	---

[0314]

[0315] 14. 안정성 연구

[0316] 다음 3가지 조건에서, 형태 A의 안정성 연구에 있어서의 분해가 관찰되지 않았다: 40±2℃/75±5% RH에서의 1개월, 25±2℃/60±5% RH에서의 3개월, 30±2℃/65±5% RH에서의 3개월, 40±2℃/75±5% RH에서의 3개월, 25±2℃/60±5% RH에서의 12개월.

[0317] 15. 예시된 정제 조성물

[0318] 형태 A를 직접 배합 제형의 직접 압축을 통하거나, 건식 과립화 또는 습식 과립화 공정을 통해 정제 형태로 제형화하였다. 결합제 및/또는 계면활성제와 같은 다른 부형제, 및 코팅 필름을 첨가하여 정제 무결성과 미각 형성 및 심미성에 도움을 줄 수 있다. 예시된 정제 조성물은 다음과 같다:

[0319]

[0320] 15. 특징 분석 요약

[0321] i). 형태 A

[0322] 형태 A의 XRPD는 도 1에 도시되어 있고 피크 목록은 표 23에 표시되어 있다.

표 23

각도, 2-θ	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
4.9	17.8305	40	0.28%
9.9	8.9545	9363	66.02%
11.0	8.02613	2418	17.05%
11.4	7.7313	4177	29.45%
11.7	7.56421	3209	22.63%
12.3	7.16163	635	4.48%
12.8	6.93632	2500	17.63%
13.6	6.51539	2286	16.12%
13.9	6.38771	1644	11.59%
14.2	6.23136	3520	24.82%
15.0	5.88897	5689	40.11%

[0323]

15.3	5.78752	4085	28.80%
15.8	5.60806	12313	86.82%
17.1	5.17018	7400	52.18%
17.4	5.07818	2144	15.12%
17.7	4.99463	4146	29.23%
18.8	4.71113	2437	17.18%
19.1	4.63884	1177	8.30%
19.8	4.49007	3657	25.79%
21.3	4.17694	6577	46.38%
21.9	4.04794	6503	45.85%
22.6	3.92853	14182	100.00%
23.0	3.86945	1915	13.50%
23.2	3.82274	2764	19.49%
23.5	3.78695	4288	30.24%
23.8	3.73813	2177	15.35%
24.1	3.68699	1723	12.15%
24.5	3.63374	2387	16.83%
25.3	3.51767	3957	27.90%
25.6	3.47637	2258	15.92%
26.1	3.41137	1463	10.32%
27.1	3.28258	3975	28.03%
28.1	3.17265	2581	18.20%
29.8	3.00049	2969	20.93%

[0324] 형태 A의 TGA는 최대 180℃까지 약 4.5%의 중량 손실을 나타냈다(도 2 참조). 칼 피서에 의한 수분 함량은 약 5.3%였다. DSC 온도 변화도에서 2개의 열 이벤트가 관찰되었는데, 제1 피크는 159.9℃에서 관찰되었고 제2 피크는 199.1에서 관찰되었다(도 도 3 참조). 또한, 제1 피크는 숄더(shoulder)를 나타냈다. 25℃에서 염 형태 A의 동적 증기 수축은 고형물이 2% 내지 95%의 상대 습도에서 약 1.3% 수분을 흡수한다는 것을 보여준 것이다. (도 4 참조) DVS는 10% 미만의 습도에서 급속한 중량 손실을 나타냈는데, 이는 수축 시 역전될 수 있는 것이었다. 40℃에서 취한 DVS 등온선은 25℃에서의 것과 본질적으로 같았다. 2가지 온도에서의 DVS 후, XRPD는 변하지 않았다. 형태 A에 대해, 40℃에서 11%, 48% 및 75%의 상대 습도에 2주 동안 노출시키는 습도 시험을 수행하고, 이어서 XRPD 분석을 수행하였다. XRPD는 2주의 시험 후 변하지 않았다. (도 5 참조) 형태 A에 대한 결정학적 데이터는 다음과 같다: 실험식: C<sub>48</sub>H<sub>6</sub> N<sub>8</sub>O<sub>13</sub> S<sub>3</sub>

[0325] 실험식량: 1053.22

[0326] 온도: 173(2) K

[0327] 파장: 1.54178 Å

[0328] 결정계, 공간군: 단사정계, C 2/c

[0329] 단위 셀 치수:

[0330] a = 3.0748(5) Å

[0331] b = 10.2638(4) Å

[0332] c = 36.1371(12) Å

[0333] α = 90도

[0334] β = 97.340(3)도

[0335] γ = 90도

[0336] 부피: 4809.8(3) Å<sup>3</sup>

[0337] Z = 4

- [0338] 계산된 밀도: 1.454 Mg/m<sup>3</sup>
- [0339] 흡수 계수: 2.046 mm<sup>-1</sup>
- [0340] F(000): 2224
- [0341] 결정 크기: 0.171 x 0.156 x 0.061 mm<sup>3</sup>
- [0342] 데이터 수집을 위한  $\theta$  범위: 2.47도 내지 72.03도
- [0343] 제한 지수:
- [0344] -15 ≤ 시간 ≤ 16
- [0345] -12 ≤ k ≤ 12
- [0346] -43 ≤ l ≤ 44
- [0347] 수집한 반사율/고유 반사율: 16676 / 4532 [R(int) = 0.0767] 완전성: 95.6%
- [0348] 정제 방법: F<sup>2</sup>에 대한 전체 매트릭스 최소 자승법
- [0349] 데이터 / 제약 / 파라미터: 4532 / 0 / 336
- [0350] F<sup>2</sup>에 대한 적합도(Goodness-of-fit): 1.096
- [0351] *ii). 형태 B*
- [0352] 형태 B에 대한 XRPD는 도 6에 도시되어 있고 피크 목록은 표 24에 표시되어 있다.

**표 24**

[0353]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å )	높이 (카운트)	Rel. Int.
7.0	12.57535	1083	8.57%
7.8	11.27583	1748	13.83%
9.9	8.89921	10912	86.36%
10.6	8.33283	3619	28.64%
11.7	7.55341	2313	18.31%
12.7	6.95632	7739	61.25%
13.1	6.7694	1609	12.73%
13.5	6.53423	2490	19.71%
13.9	6.38636	3216	25.45%
14.6	6.06413	3446	27.27%
14.9	5.94981	2751	21.77%
15.3	5.79313	2471	19.56%
15.7	5.62485	4393	34.77%
16.1	5.51086	1536	12.16%
16.9	5.2332	7462	59.06%
17.6	5.02985	2722	21.54%
19.3	4.60381	2787	22.06%
19.7	4.50087	2503	19.81%
20.7	4.29561	2454	19.42%
21.2	4.18049	1540	12.19%
22.0	4.03572	8193	64.84%
22.5	3.95619	12635	100.00%
23.3	3.81776	1530	12.11%
24.0	3.70488	985	7.80%
24.7	3.60111	2053	16.25%
25.1	3.54205	2015	15.95%
25.7	3.46451	521	4.12%

26.1	3.41725	1020	8.07%
27.2	3.27757	1417	11.21%
27.6	3.23088	3271	25.89%
28.4	3.1406	1887	14.93%
29.3	3.04578	1720	13.61%
29.8	2.99111	750	5.94%

[0354] 형태 B는 실질적인 양의 용매를 보유하는 경향이 있다. 그러나, TGA 데이터는 유기 용매에 대한 NMR 데이터와 상응하지 않았는데, 이는 형태 B의 흡습성 성질에 기인한 것일 수 있다(예를 들어, 도 7 참조). 형태 B의 DVS는 고형분이 2% 내지 95%의 상대 습도에서 약 14%의 수분을 흡수한다는 것을 나타낸 것이다. *iv*). **형태 D**

[0355] 형태 D의 XRPD는 도 9에 도시되어 있고 피크 목록은 표 26에 표시되어 있다.

**표 26**

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
5.8	15.28058	4971	70.74%
10.0	8.87509	4389	62.46%
10.2	8.65751	6043	86.00%
11.3	7.82263	2566	36.52%
11.5	7.66971	749	10.66%
12.2	7.27684	3233	46.01%
13.6	6.51388	2448	34.84%
14.1	6.28225	1365	19.43%
14.7	6.01924	2881	41.00%
15.4	5.74733	250	3.56%
16.0	5.52579	1652	23.51%
17.3	5.13037	3250	46.25%
17.6	5.03792	3136	44.63%
19.3	4.59918	5083	72.34%
20.0	4.42807	1495	21.28%
20.8	4.26377	1928	27.44%
22.1	4.01598	1363	19.40%
22.9	3.88059	4961	70.60%
23.3	3.81849	7027	100.00%
23.6	3.76707	3176	45.20%
24.4	3.6518	1755	24.98%
25.2	3.52644	4136	58.86%
26.4	3.37296	1305	18.57%
27.4	3.25211	610	8.68%
28.3	3.15078	553	7.87%
29.6	3.01482	615	8.75%

[0357] 형태 D는 용융 피크가 239°C인 무수인 것으로 결정되었다(예를 들어, 도 9 참조). 패턴 D의 DVS를 수행하였고, 고형분은 2% 내지 95%의 상대 습도에서 약 2% 수분을 흡수하였다. (도 10 참조) XRPD 패턴은 DVS 후 변하지 않았고, 40°C에서 75%의 상대 습도에 1주일 동안 노출시킨 후에도 형태는 변하지 않았다. *v*). **형태 E**

[0358] 형태 E의 XRPD는 도 11에 도시되어 있고 피크 목록은 표 27에 표시되어 있다.

**표 27**

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
4.6	19.33569	1738.68	42.25%
9.0	9.8034	4115.26	100.00%
9.9	8.90634	170.17	4.14%

11.0	8.05091	182.67	4.44%
13.5	6.56847	2221.93	53.99%
15.1	5.86939	909.83	22.11%
15.8	5.59154	280.55	6.82%
18.5	4.78855	309.99	7.53%
19.8	4.48316	260.12	6.32%
20.4	4.34963	461.71	11.22%
21.7	4.09107	862.85	20.97%
22.5	3.94718	1259.97	30.62%
28.1	3.1714	143.14	3.48%

[0360] *vi*). 형태 F형태 F의 XRPD는 도 12에 도시되어 있고 피크 목록은 표 28에 표시되어 있다. TGA 및 DSC는 도 13에 함께 도시되어 있다.

표 28

[0361]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
5.0	17.63127	3501.15	68.88%
9.9	8.953	5083.17	100.00%
11.1	7.95783	175.54	3.45%
14.7	6.02129	1144.71	22.52%
16.5	5.3774	319.64	6.29%
19.6	4.52559	557.84	10.97%
21.6	4.11341	625.78	12.31%
22.8	3.89996	383.12	7.54%
24.4	3.64257	313.08	6.16%

[0362] *vii*). 형태 G형태 G의 XRPD는 도 14에 도시되어 있고 피크 목록은 표 29에 표시되어 있다. TGA 및 DSC는 도 15에 함께 도시되어 있다.

표 29

[0363]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
4.7	18.70556	1242.62	59.33%
9.4	9.36302	2094.33	100.00%
11.0	8.02324	393.11	18.77%
13.3	6.67148	95.37	4.55%
14.1	6.2664	1061.57	50.69%
15.9	5.58681	287.25	13.72%
16.2	5.46454	135.26	6.46%
18.9	4.69155	302.27	14.43%
21.1	4.20095	210.62	10.06%
21.2	4.17959	623.95	29.79%
22.8	3.89083	287.75	13.74%
23.8	3.74261	339.41	16.21%
26.7	3.3332	36.96	1.76%
28.5	3.12882	200.93	9.59%

[0364] *viii*). 형태 H형태 H의 XRPD는 도 16에 도시되어 있고 피크 목록은 표 30에 표시되어 있다.

표 30

[0365]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
4.6	19.00577	2892.58	100.00%
5.4	16.21955	656.39	22.69%
7.4	11.92606	1637.2	56.60%
9.2	9.58199	2031.32	70.23%
10.3	8.60629	244.93	8.47%
11.1	7.96834	1041.86	36.02%
13.5	6.53326	1064.3	36.79%
13.8	6.3908	495.71	17.14%
14.9	5.92137	1640.91	56.73%
16.9	5.24557	238.8	8.26%
17.6	5.03079	330.16	11.41%
18.4	4.82818	764.47	26.43%
19.5	4.55426	201.62	6.97%
20.7	4.28199	421.57	14.57%
22.3	3.98173	914.58	31.62%
22.9	3.88793	641.59	22.18%
23.4	3.80422	445.25	15.39%
24.1	3.68517	219.37	7.58%
24.8	3.58024	766.52	26.50%
26.5	3.36223	292.29	10.10%
27.2	3.27175	129.95	4.49%
29.5	3.0237	272.48	9.42%

[0366]

ix). 형태 I형태 I의 XRPD는 도 17에 도시되어 있고 피크 목록은 표 31에 표시되어 있다. TGA 및 DSC는 도 18에 함께 도시되어 있다. NMR 분석을 통해, 가능한 용매화물을 나타내는 약 4.6%의 EtOH가 존재함을 밝혀냈다.

표 31

[0367]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å)	높이 (카운트)	Rel. Int.
6.7	13.16055	3581.49	96.93%
7.7	11.44901	740.16	20.03%
9.5	9.319	1710.55	46.29%
9.9	8.97128	3519.19	95.24%
10.5	8.45555	1052.24	28.48%
11.6	7.61244	855.25	23.15%
12.6	7.01279	1799.14	48.69%
13.4	6.60237	1385.62	37.50%
13.8	6.43395	850.03	23.00%
14.3	6.19667	516.23	13.97%
15.2	5.8277	722.04	19.54%
15.8	5.59406	1926.11	52.13%
16.8	5.26642	1316.92	35.64%
17.2	5.1627	745.55	20.18%
19.0	4.65907	716.28	19.39%
19.7	4.50851	3694.98	100.00%
20.5	4.32796	526.56	14.25%
20.9	4.25526	540.88	14.64%
21.9	4.05301	2830.08	76.59%
22.3	3.97817	2205.69	59.69%
23.9	3.71963	1226.09	33.18%
24.6	3.61051	976.08	26.42%

25.5	3.48946	531.17	14.38%
26.0	3.42073	440.36	11.92%
27.5	3.24167	511.68	13.85%
28.3	3.15203	747.77	20.24%
29.3	3.0427	455.27	12.32%

[0368] x). 형태 J형태 J의 XRPD는 도 19에 도시되어 있고 피크 목록은 표 32에 표시되어 있다.

표 32

[0369]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å )	높이 (카운트)	Rel. Int.
12.4	7.14209	722.37	100.00%
13.2	6.69075	254.54	35.24%
14.6	6.06522	348.12	48.19%
15.7	5.64077	168.89	23.38%
20.4	4.34313	213.59	29.57%
22.0	4.0429	79.01	10.94%
23.3	3.8076	179.4	24.83%
23.7	3.74601	213.97	29.62%
28.0	3.18475	87.25	12.08%

[0370] xi). 화합물 1의 결정질 유리 염기화합물 1의 결정질 유리 염기 형태에 대한 XRPD는 도 25에 도시되어 있고 피크 목록은 표 33에 표시되어 있다.

표 33

[0371]

각도, 2- $\theta$	d 간격 (Å )	Rel. 강도 (%)
6.9	12.8	46.1
10.6	8.4	1.9
12.1	7.3	0.8
13.5	6.5	100
14.3	6.2	2.2
15.7	5.6	10.3
15.9	5.6	10.1
17.3	5.1	5.9
17.9	4.9	2.9
19.8	4.5	32.6
20.3	4.4	44.0
21.0	4.2	3.0
21.7	4.1	2.8
22.2	4.0	1.0
23.6	3.8	13.5
24.0	3.7	7.8
24.8	3.6	10.6
25.7	3.5	23.1
26.0	3.4	2.2
26.7	3.3	1.7
27.1	3.3	2.9
27.6	3.2	0.6
28.4	3.1	4.0
29.7	3.0	9.7
30.6	2.9	3.3
31.0	2.9	0.7
31.5	2.8	1.4
32.1	2.8	5.8
33.9	2.6	2.2

35.6	2.5	0.4
36.3	2.5	0.7
37.1	2.4	0.8
39.0	2.3	0.6
39.5	2.3	2.9

[0372] **약동학 평가방법:**

[0373] 화합물 1의 미크론화된 결정질 형태 A와 미크론화되지 않은 결정질 형태 A, 및 결정질 유리 염기를 사용한 단일 투여량의 현탁액을 수컷 스프래그-다울리 랫트에게 200 mg/kg으로 투여하였다. K<sub>2</sub>EDTA의 존재 하에 혈액 샘플을 채취하고 원심분리하여 혈장을 수득하였다. 그런 다음, LC/MS에 의해 이들 화합물에 대해 혈장을 분석하였다.

[0374] **랫트에 현탁액을 투여하기 위한 시험 물질의 제조:**

[0375] 투여 일정에 포함된 모든 동물의 무게를 재고 번호를 부여하였다. 모든 현탁액 제형은 사용 전에 신선하게 제조하였다. 각 용액을 물 중 0.5% 메틸-셀룰로오스 용액으로, 40 mg/mL로 제조하였다. 튜브를 2분 동안 와동시키고 (vortex) 30분 동안 초음파 처리하여 백색의 균질한 현탁액을 얻었다.

[0376] 모든 동물(n=6/그룹)에게 5 mL/kg의 부피로 경구 투여하였다. 투여 후, 지정된 시점 각각에 각각의 랫트로부터 채혈하였다. 혈액 샘플은 꼬리 정맥으로부터 채취하였다. 혈액 부분 표본(150 µL)을 K<sub>2</sub>EDTA로 코팅된 튜브에 수집하고, 부드럽게 혼합한 다음, 얼음 위에 두었다가, 수집 후 15분 이내에 4°C에서 5분 동안 2,000 g로 원심분리하였다. 혈장 층을 수집하고 추가 처리가 있을 때까지 -70°C에서 동결하였다.

[0377] **생체시료 분석법**

[0378] HPLC/삼중 사중 질량 분석법(HPLC-MS)을 사용하여 생체시료 분석을 위한 정량화를 수행하였다. 혈장 농도 및 T<sub>1/2</sub>를 계산하여 보고하였다.

[0379] **혈장 분석:**

[0380] DMSO:메탄올(20:80, v/v) 중 1 mg/mL의 표준 용액을 50배로 희석하고, 이어서 50% 메탄올 수에서 연속 희석하였다. 연속 희석물의 부분 표본(10 µL)을 표준 곡선으로서 사용하기 위한 190 µL의 대조군 혈장과 혼합하였다. 혈장 샘플(50 µL) 및 표준 샘플(비 희석)을, 내부 표준으로서 40 ng/mL의 덱사메타손(dexamethasone)을 함유하는 얼음처럼 차가운 아세트니트릴로 10x 희석하였다. 아세트니트릴로 침전시킨 샘플과 표준 샘플을 2분 동안 5 g로 와동시키고(IKA vortex), 이어서 5000 g로 10분 동안 원심분리하였다.

[0381] 10배 희석 표준 샘플의 경우: 5 µL의 샘플 부분 표본을 45 µL의 대조군 혈장에 첨가하여 희석된 샘플을 수득하였다. 50배 희석 표준 샘플이 필요한 경우: 10 µL의 10배 희석 샘플의 부분 표본을 40 µL 블랭크 혈장에 첨가하여 최종 희석 샘플을 수득하였다. 그런 다음, 희석된 샘플에 대한 정밀 절차(exaction procedure)는 희석되지 않은 샘플에 대한 것과 동일하였다.

[0382] 샘플과 표준 샘플(10 µL)을 아래 기술된 바와 같이 LC-MS 시스템에 주입하였다. 투여 용액 농도는 mg/mL로 보고되었다.

[0383] **LC-MS 분석:**

[0384] LC: 샘플 및 표준 샘플 각각의 7.5 µL를 UPLC에 의해 0.6 mL/분의 속도로 Waters BEH C18(2.1x50 mm, 1.7 µm, 60°C로 유지됨) 상에 주입하였다. 컬럼은 10% 아세트니트릴에서 평형화되었다. 화합물을 95% 아세트니트릴에 대한 구배로 용리하였다. 모든 이동상에는 1 mM 아세트산암모늄이 포함된 0.025%(v/v) 포름산을 포함시켰다.

표 34

크로마토그래피 용리 조건

시간 (분)	이동상 B (%)
초기	10
0.20	10
0.60	95
1.10	95
1.15	10
1.50	10

[0385]

[0386] MS: 컬럼 용리액을 삼중 사중 질량 분석기 시스템 내로 전기분무 이온화하여 분석하였다. 내부 표준에 대한 이온 쌍 특이물 및 분석물 각각에 대해 용리액 조성을 분석하였다.

[0387] **약동학적 분석**

[0388] 실험 샘플을 표준 곡선 샘플과 비교하여 화합물 농도를 결정하였다. 평균 화합물 농도(ng/mL ± 표준 편차)를 각 시점별로 보고하였다. 검출 한계(LLQ)는 공칭 농도의 20% 미만의 편차를 나타내는 최저 표준 곡선 샘플로서 보고하였다. PK 분석은 Phoenix WinNonlin에서 수행하였고; C<sub>max</sub>는 주어진 지점에서 관찰된 최대 평균 농도로서 결정하였고, 곡선 아래 면적(AUC)은 t<sub>0</sub> 내지 t<sub>last</sub> 시간에 대해 보고하였다.

[0389] 도 22 및 표 35에 나타난 바와 같이, (미크론화된 ) 결정 형태 A 및 (미크론화되지 않은) 결정 형태 A는 화합물 1의 결정질 유리 염기 비교와 비교했을 때 인산염 완충액 pH7.4에서 더 가용성인 것으로 나타났다. (미크론화된 및 미크론화되지 않은) 결정질 형태 A 및 화합물 1의 결정질 유리 염기를 공복의 스프레그-다울리 랫트에게 현탁액으로서 경구 투여한 후, 이들의 혈장 농도-시간 프로파일 및 약동학적 파라미터를 비교했을 때, AUC 및 C<sub>max</sub>는 상당히 달랐다. 미크론화된 결정질 형태 A 및 미크론화되지 않은 결정질 형태 A는 화합물 1의 결정질 유리 염기와 비교했을 때, 각각 3.8배 및 2.7배 더 높은 AUC를 나타냈다. 유사하게, 미크론화된 결정질 형태 A 및 미크론화되지 않은 결정질 형태 A는 화합물 1의 결정질 유리 염기와 비교했을 때, 각각 2배 및 1.6배 더 높은 C<sub>max</sub>를 나타냈다. 대조적으로, 미크론화된 형태의 결정질 형태 A와 미크론화되지 않은 형태의 결정질 형태 A 간에는 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

표 35

약동학 연구에 사용된 화합물의 특징 요약

물질	PSD
결정질 형태 A (미크론화된)	D90: 10 / D50= 4.6 / D10 = 1
결정질 형태 A (미크론화되지 않음)	D90= 71 / D50= 32.6 / D10 =11.55
화합물 1의 결정질 유리 염기	D90= 521 / D50=206/ D10 =32

[0390]

표 36

스프래그-다울리 랫트에게 PO 투여 후의 약동학적 파라미터

화합물 형태	결정질 형태 A (미크론화됨)	결정질 형태 A (미크론화되지 않음)	화합물 1의 결정질 유리 염기
경구 투여량 (mg/kg)*	200	200	200
Cmax (ng/mL)	36700 ± 6800	29800 ± 5300	17900 ± 3600
AUC 0~마지막 (ng/h/mL)	478000 ± 87900	355900 ± 82900	124800 ± 85800

\*투여량은 화합물 1의 자유 염기 형태와 동등함을 나타낸다.

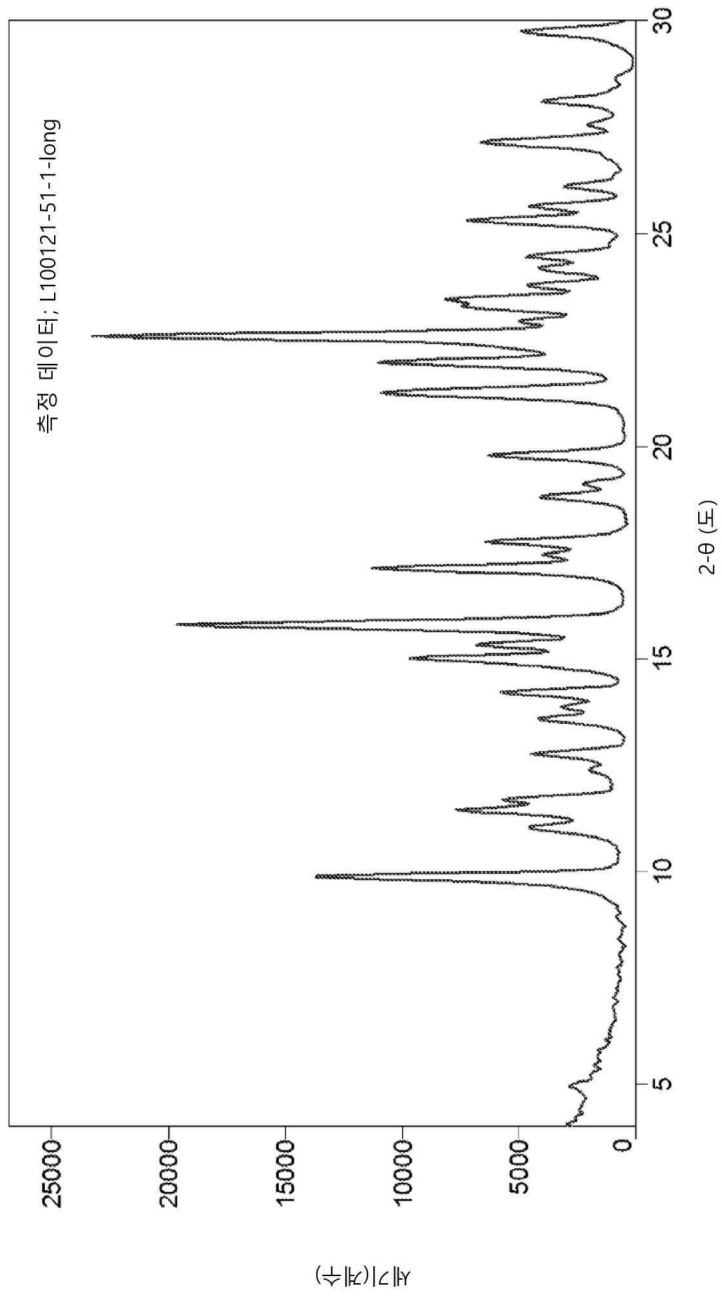
[0391]

[0392]

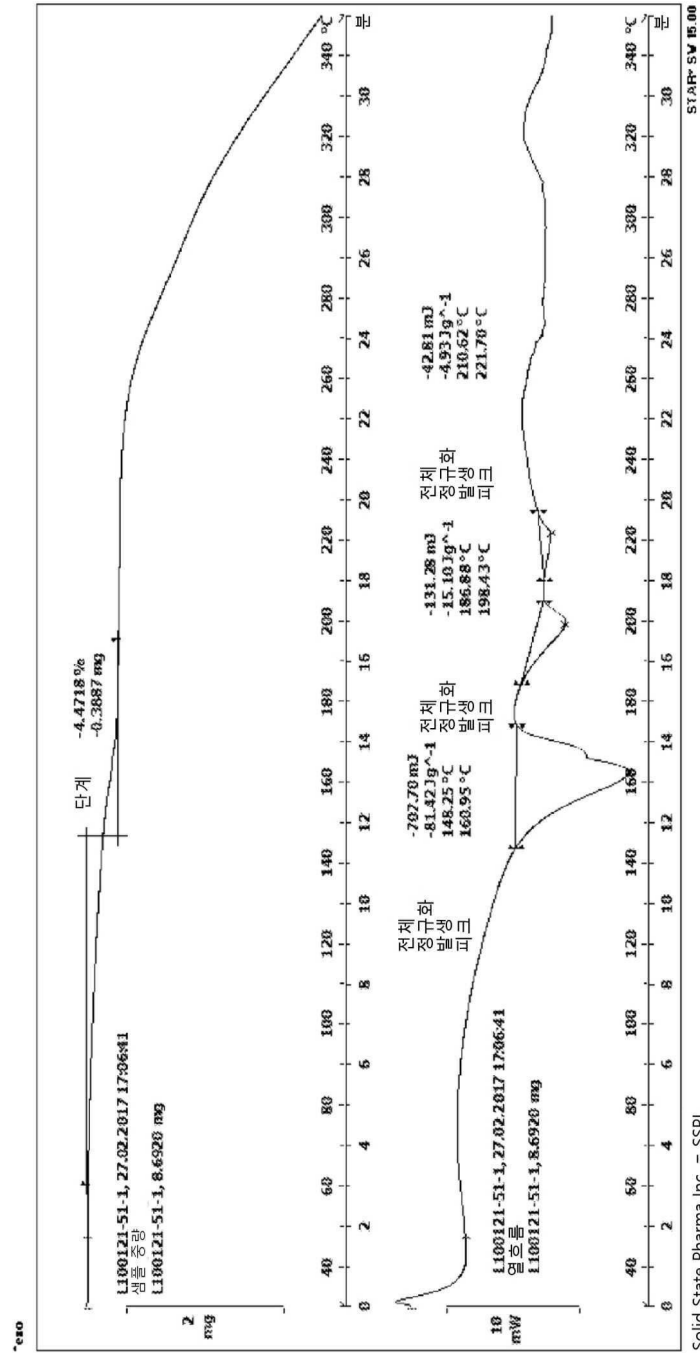
다수의 구현예가 설명되었지만, 본 발명의 범위는 첨부된 청구범위에 의해 정의되며, 예시로서 표현된 특정 구현예에 의해 정의되지 않는다. 본 출원 전반에 걸쳐 인용된 모든 참조 문헌(문헌 참조, 발행된 특허, 공개된 특허 출원, 및 공동 계류중인 특허 출원을 포함함)의 내용은 그 전체가 본원에 참조로서 명시적으로 통합된다. 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 당업자에게 통상적으로 알려진 의미를 갖는다.

도면

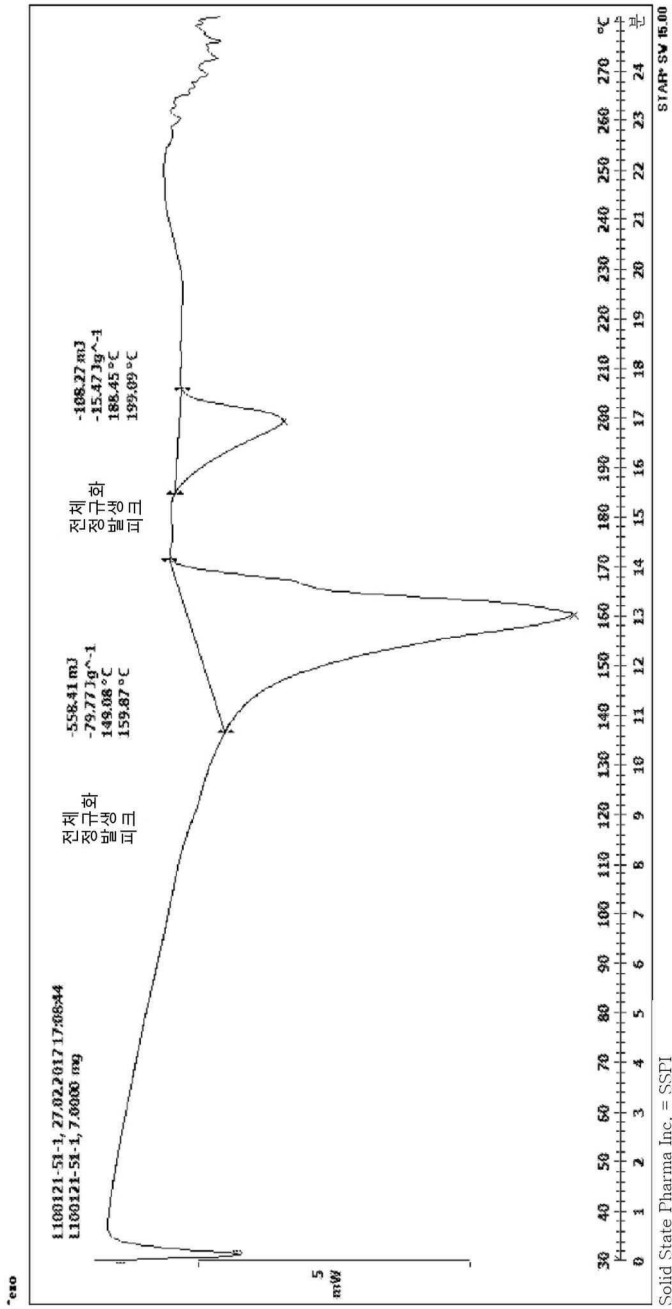
도면1



도면2

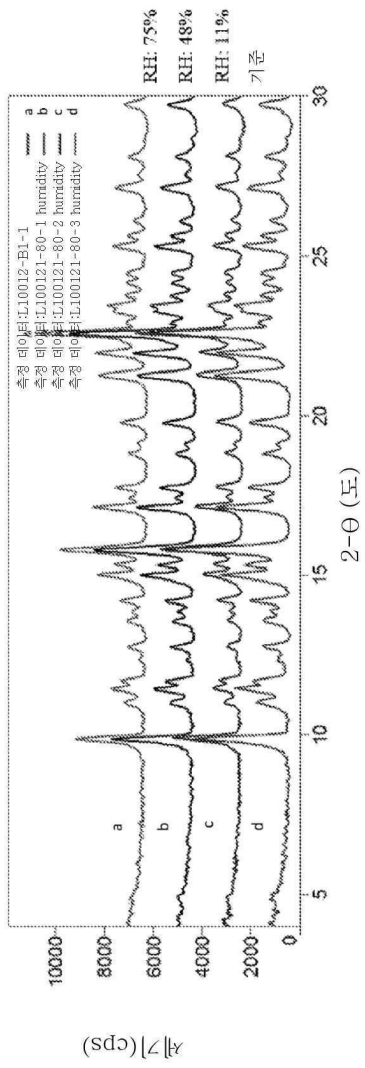


도면3

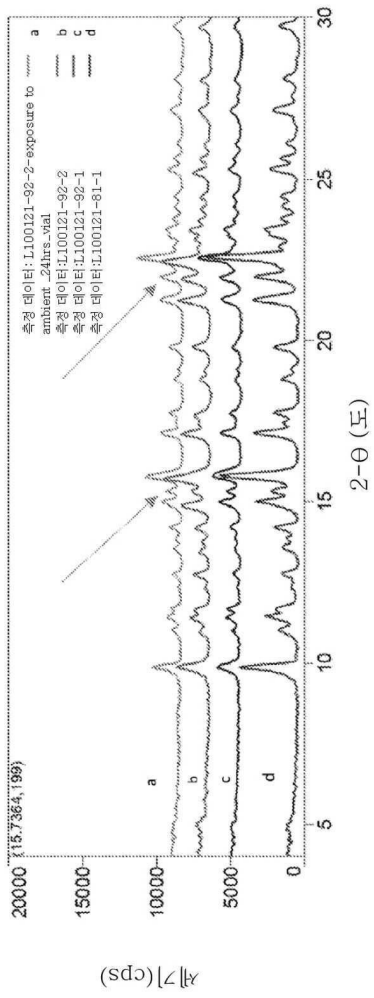




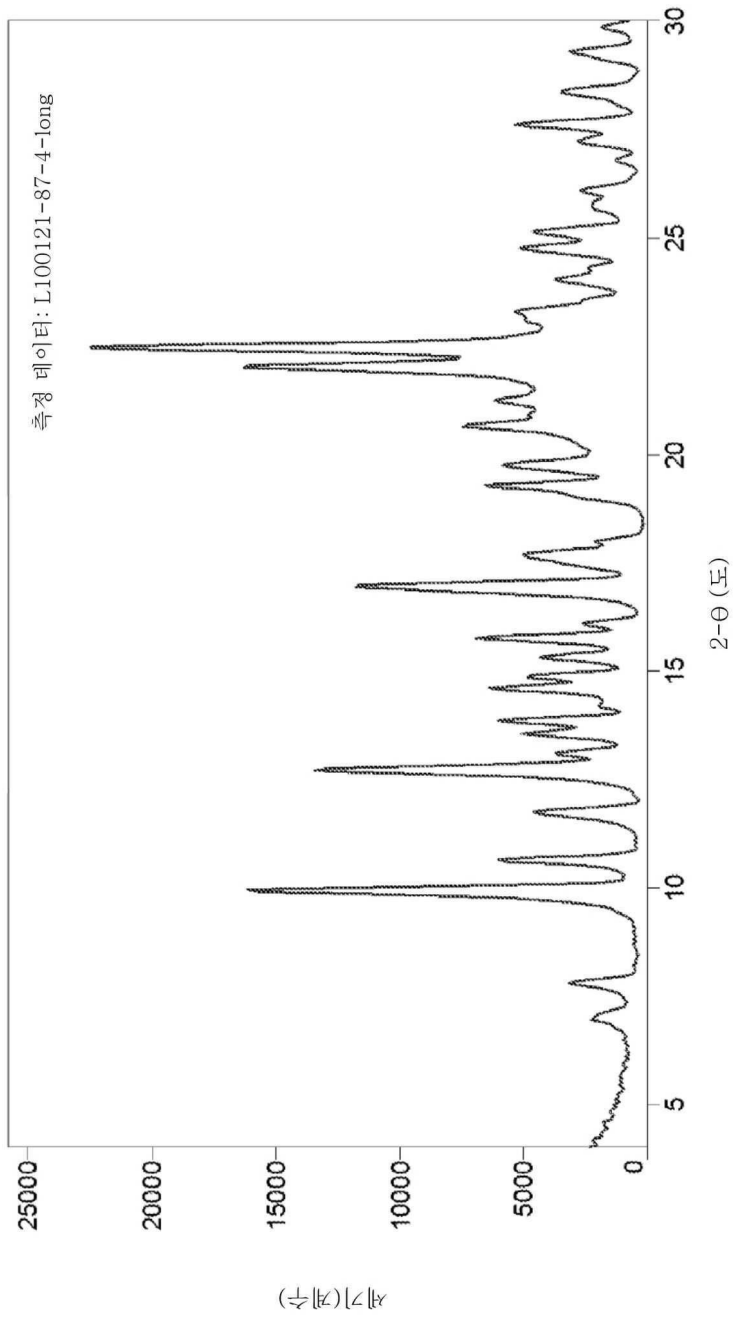
도면5a



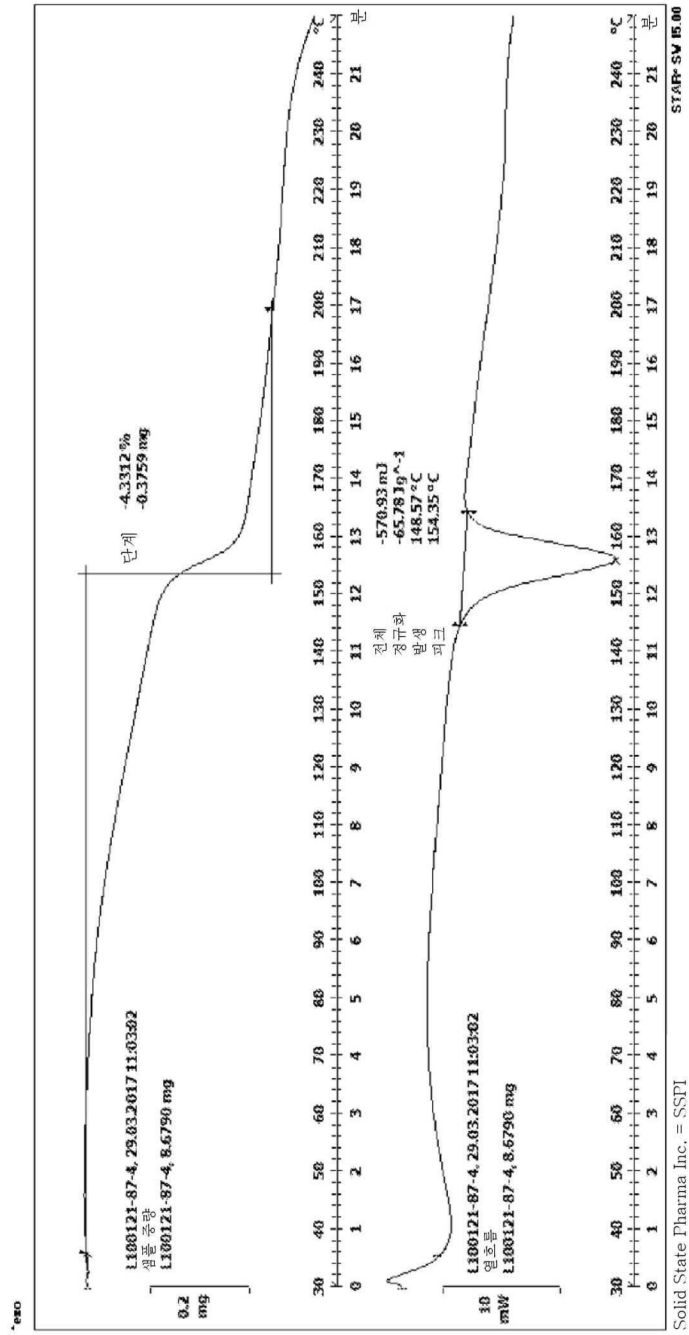
도면5b



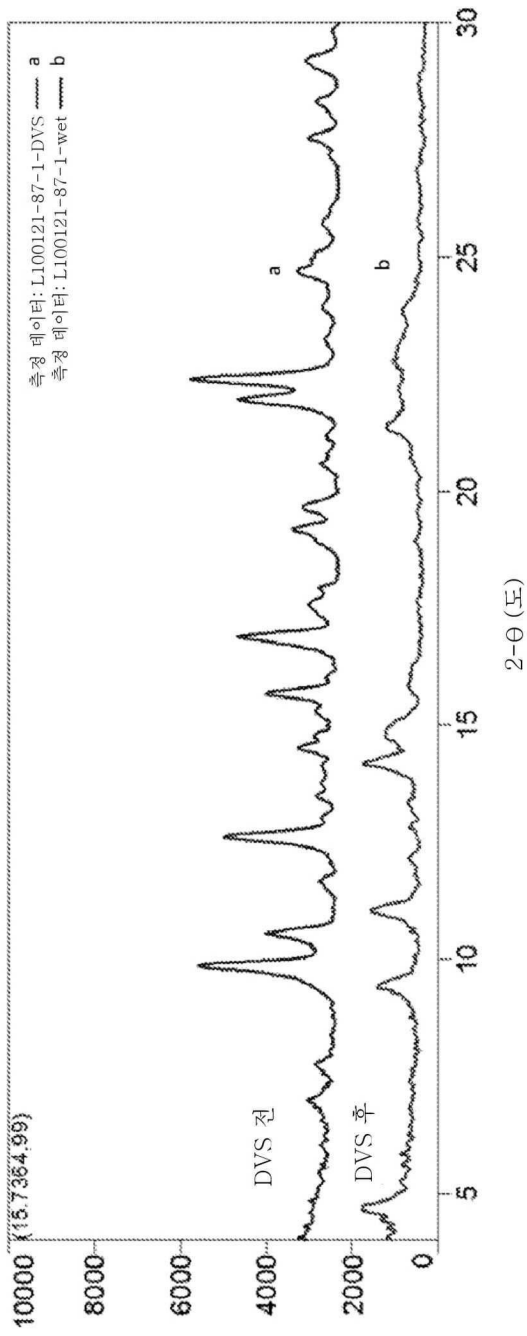
도면6



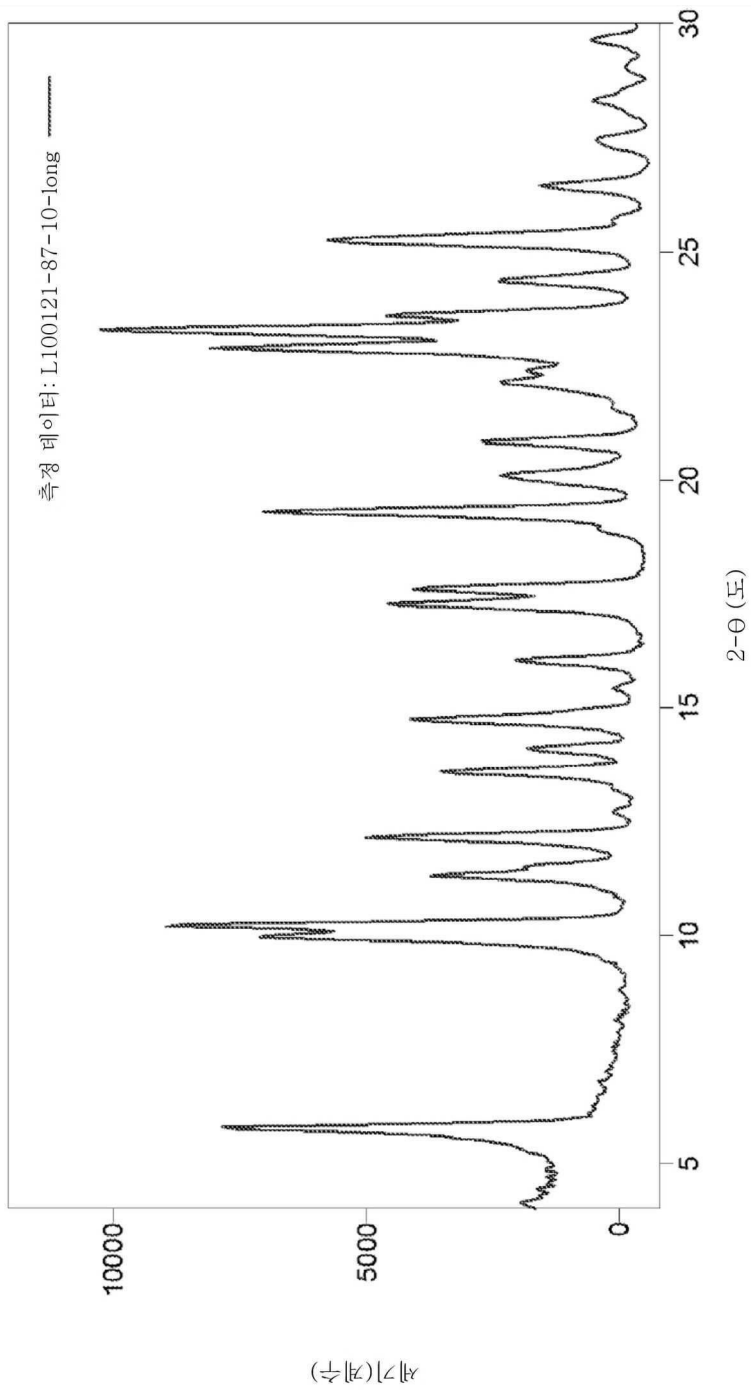
도면7a



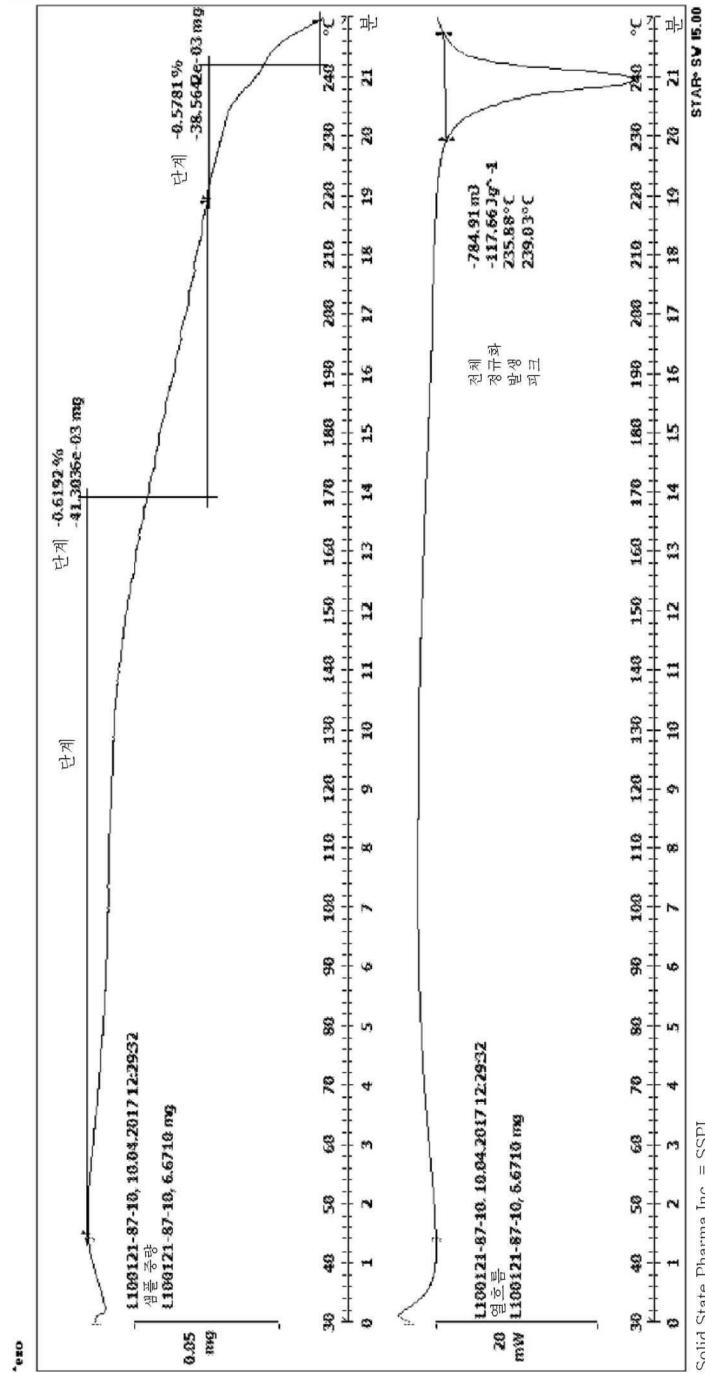
도면7b



도면8

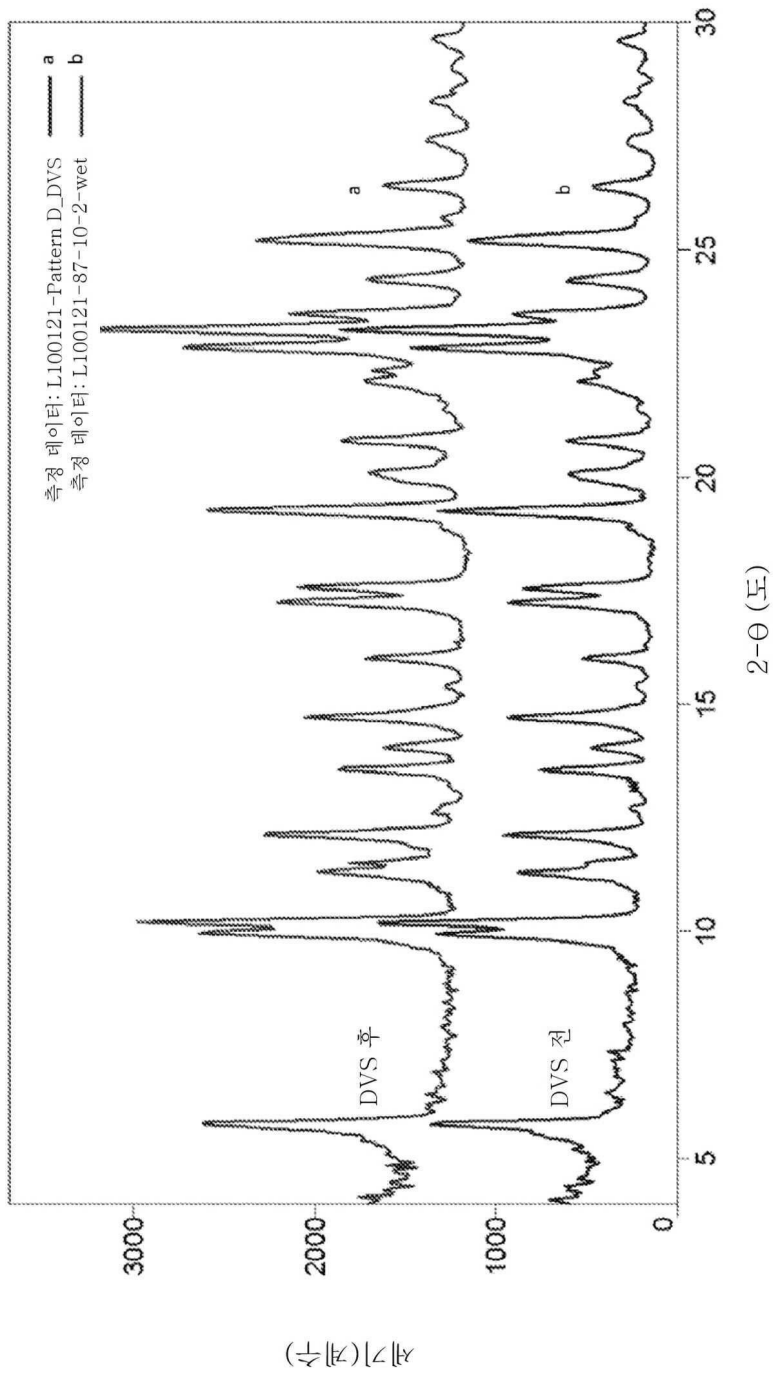


도면9

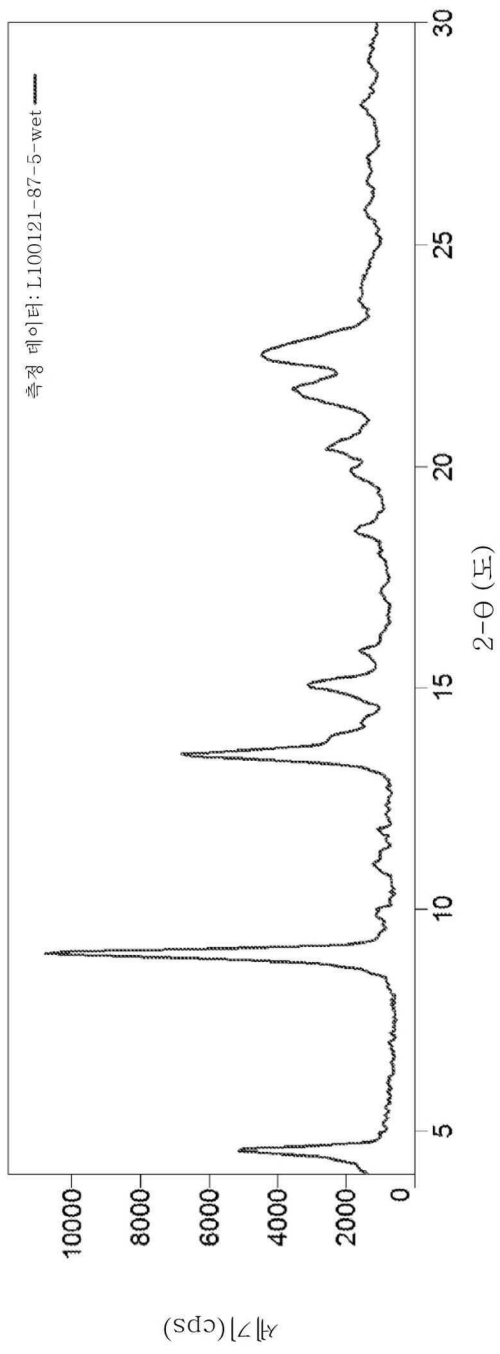


Solid State Pharma Inc. = SSPI

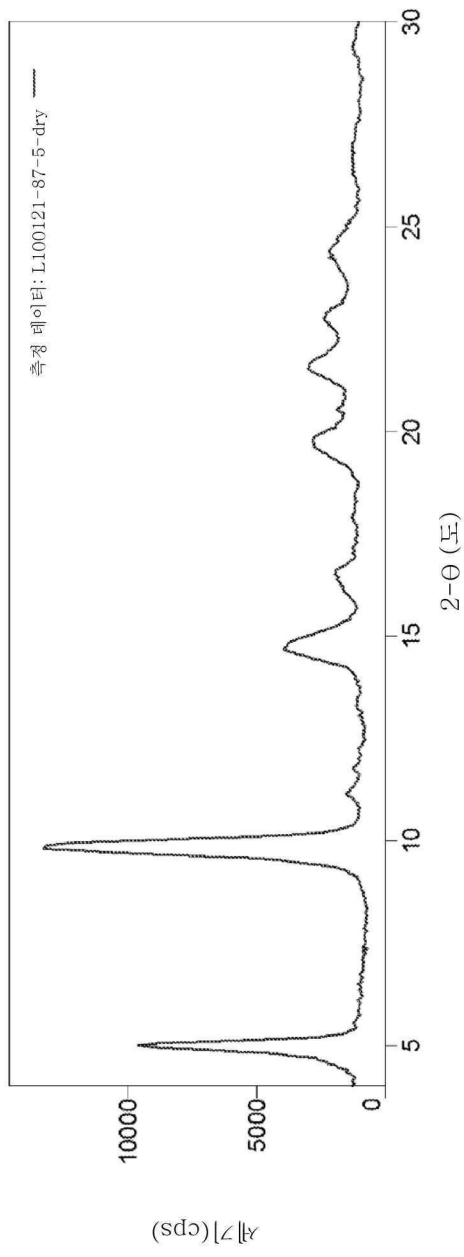
도면10



도면11

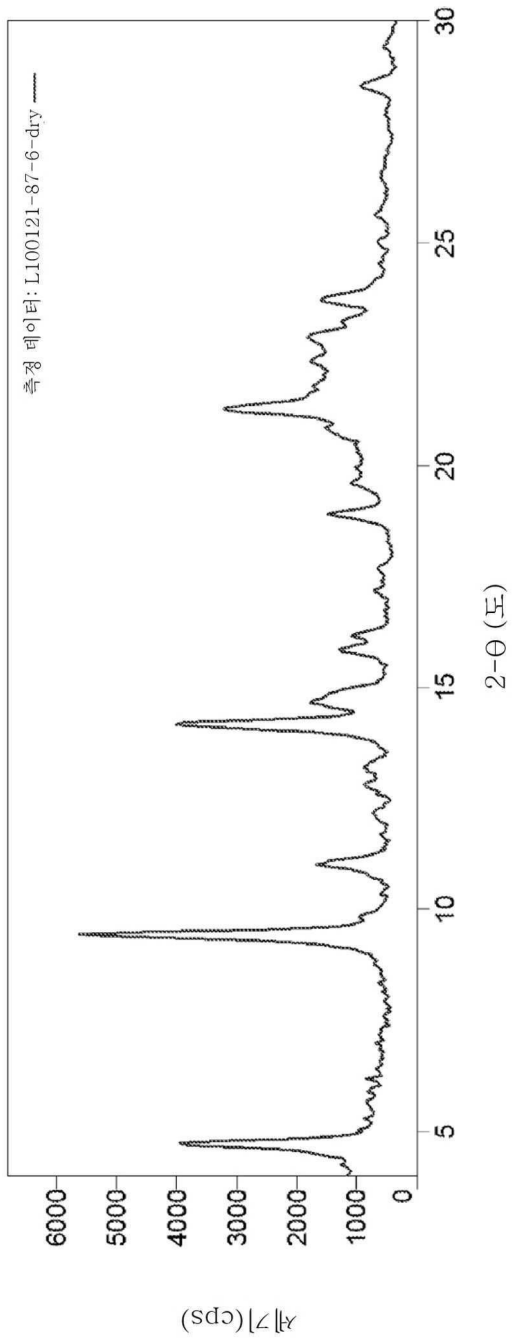


도면12

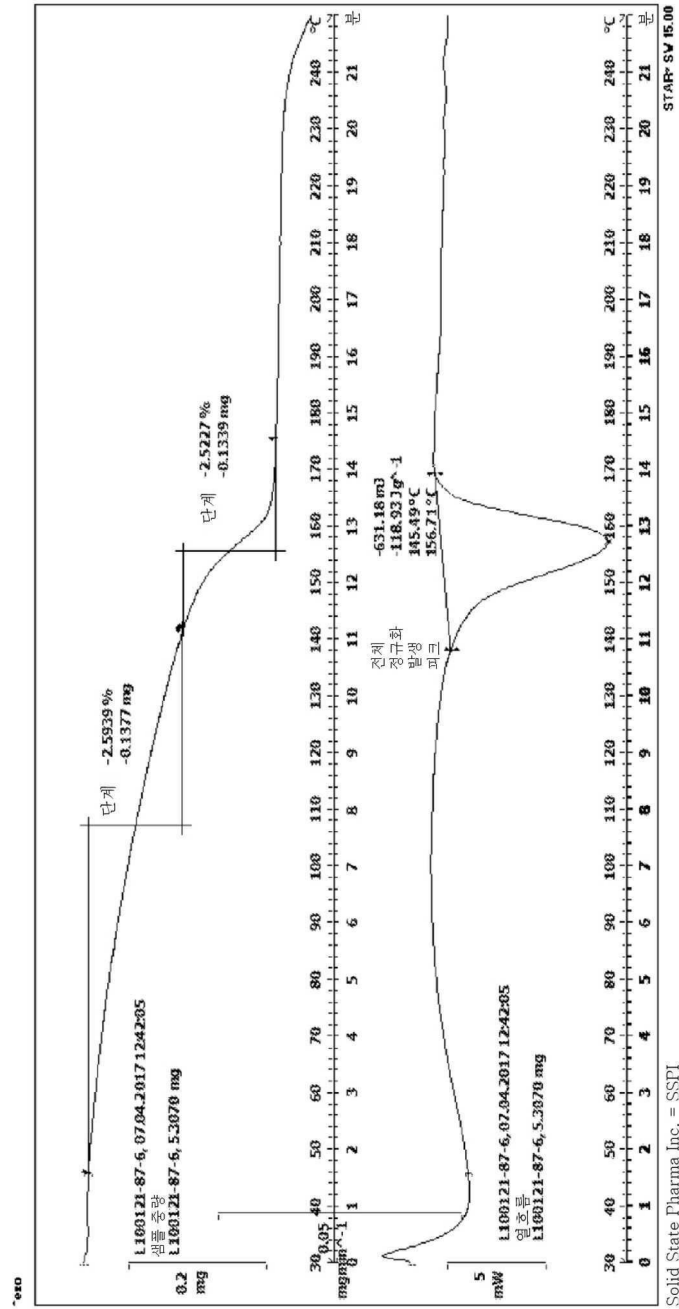




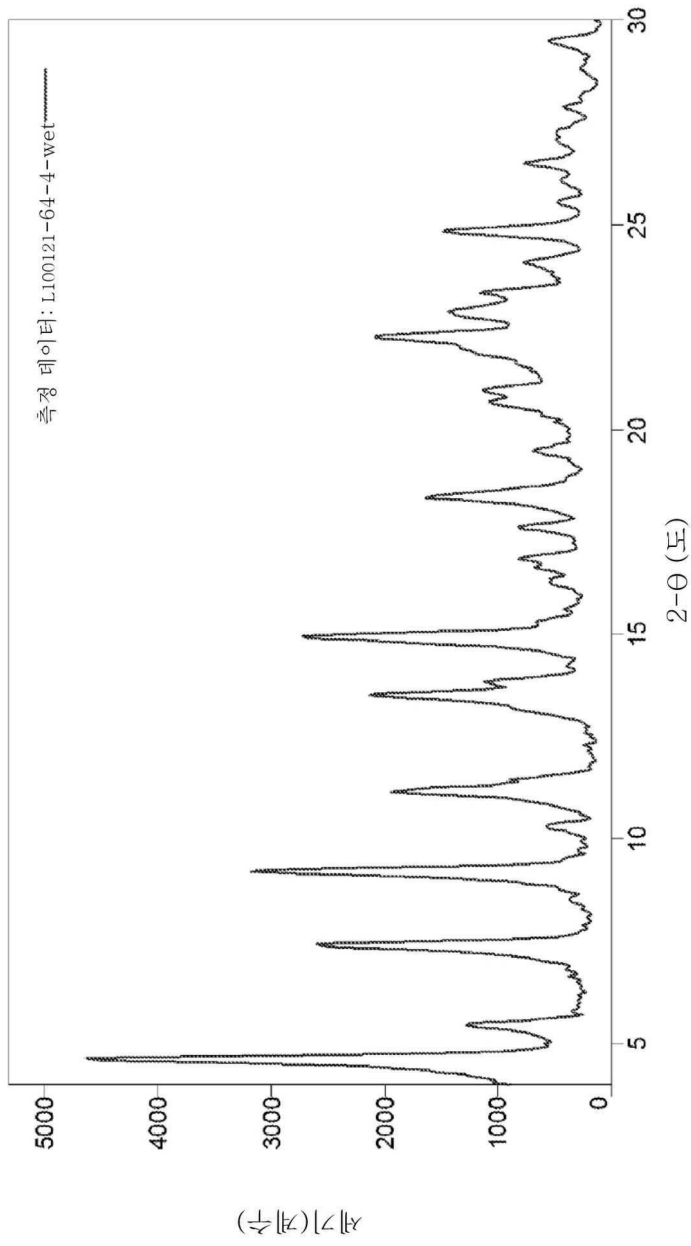
도면14



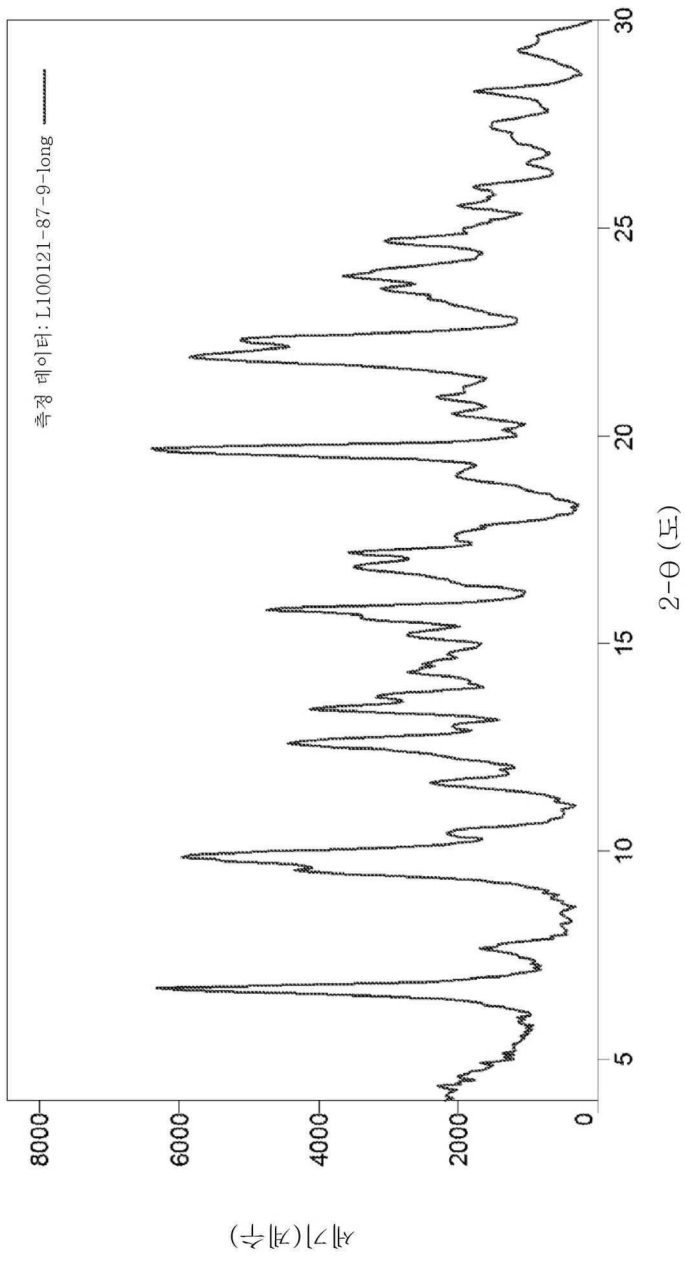
도면15



도면16

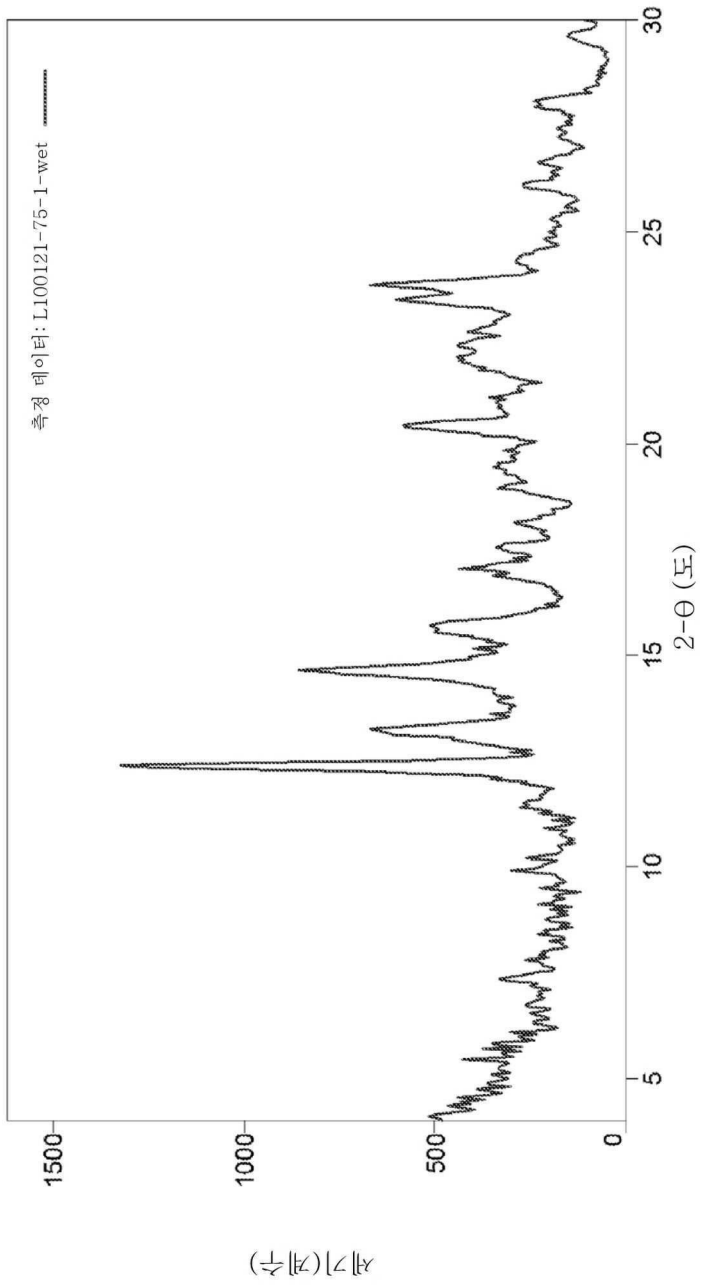


도면17

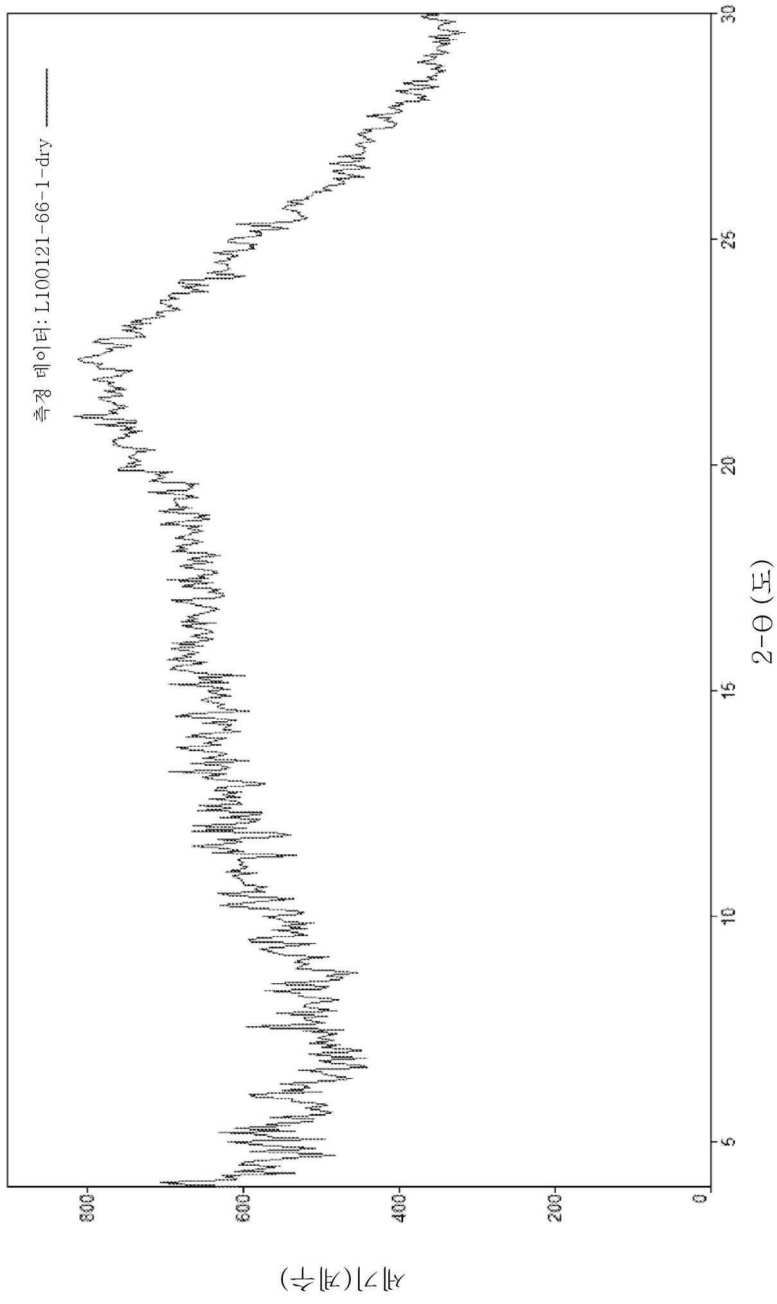




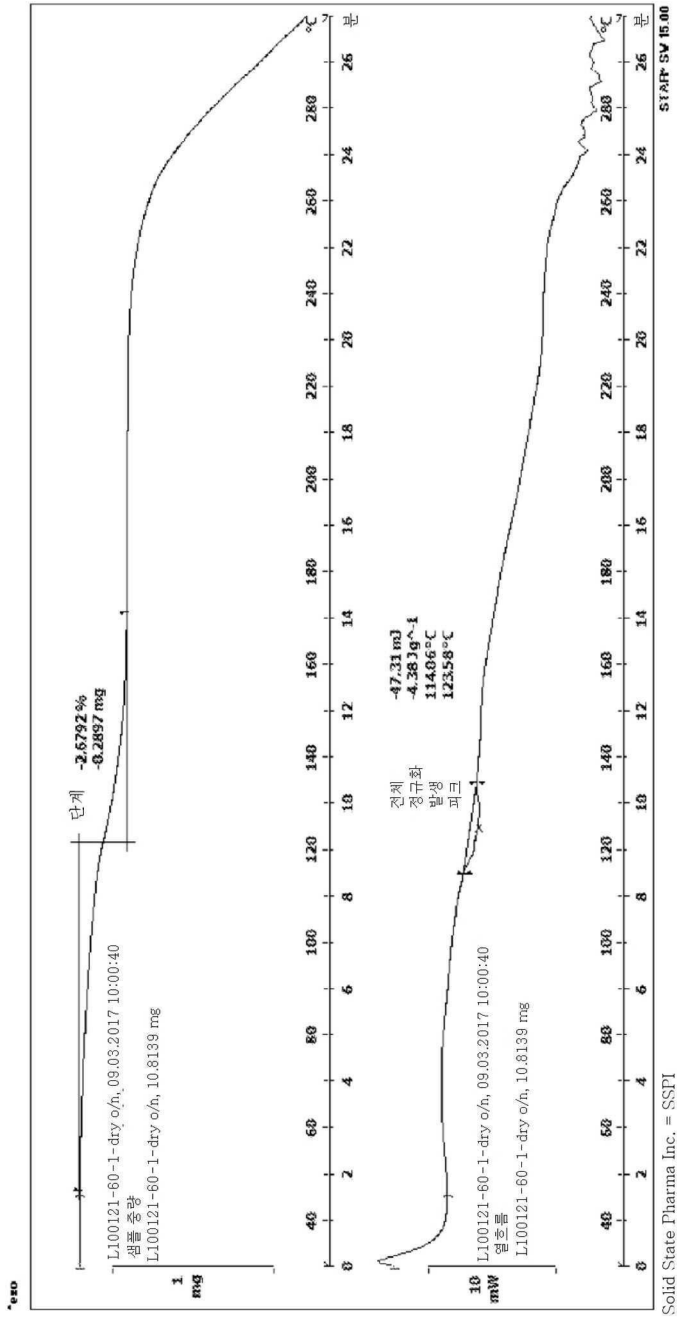
도면19



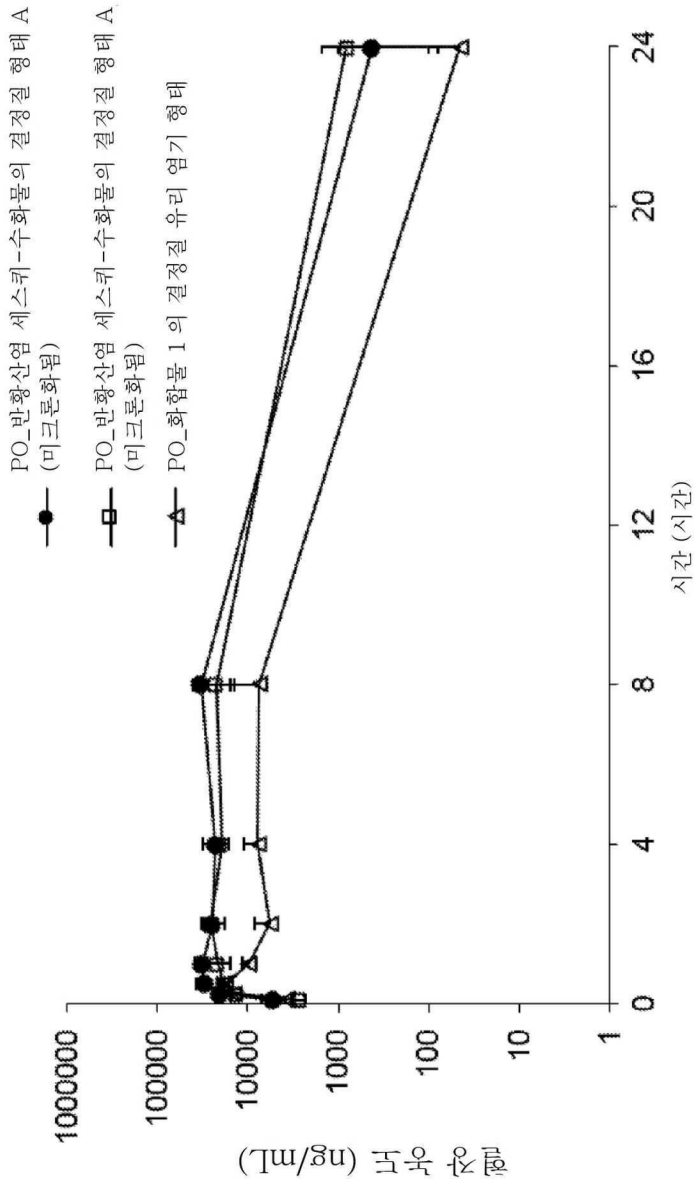
도면20



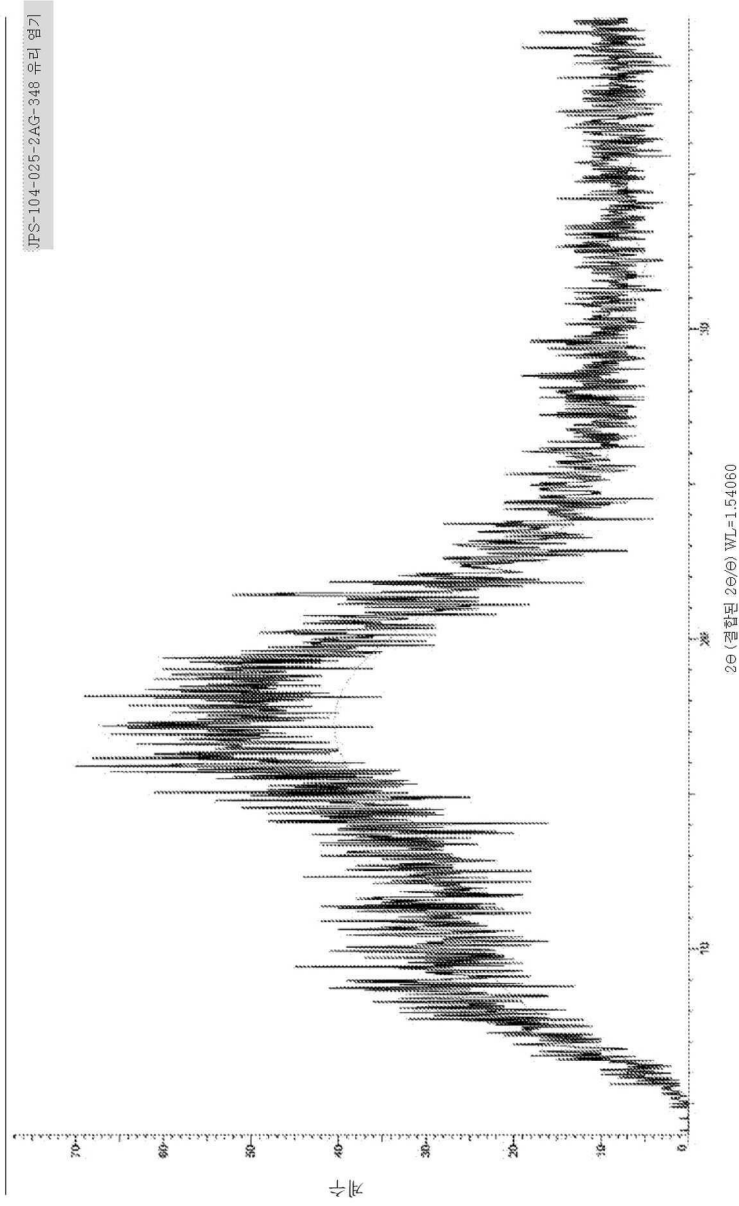
도면21



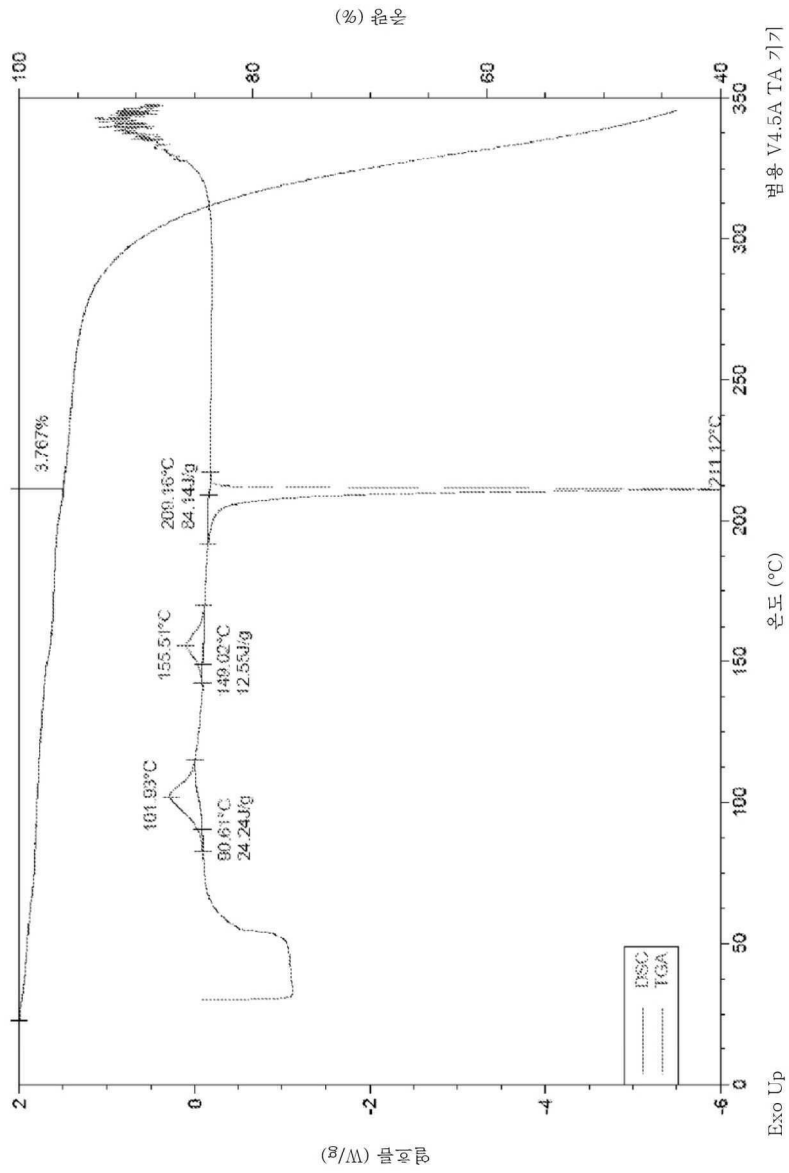
도면22



도면23



도면24



도면25

