



(19)대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。 Int. Cl.	(45) 공고일자	2007년03월19일
A61K 31/70 (2006.01)	(11) 등록번호	10-0695834
	(24) 등록일자	2007년03월09일

(21) 출원번호	10-2001-7007009	(65) 공개번호	10-2001-0101128
(22) 출원일자	2001년06월05일	(43) 공개일자	2001년11월14일
심사청구일자	2004년12월06일		
변역문 제출일자	2001년06월05일		
(86) 국제출원번호	PCT/EP1999/009521	(87) 국제공개번호	WO 2000/33878
국제출원일자	1999년12월06일	국제공개일자	2000년06월15일

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기스스탄, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크멘, 터키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 아랍에미리트, 코스타리카, 모로코, 탄자니아, 남아프리카, 그라나다, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 가나, 감비아, 짐바브웨,

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아,

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기스스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘,

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스,

OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우,

(30) 우선권주장	9826882.4	1998년12월07일	영국(GB)
	9904934.8	1999년03월04일	영국(GB)

(73) 특허권자

노파르티스 아게  
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라제 35

(72) 발명자

나바로,프랑쑈와  
프랑스에프-68440브뤼바흐뤼프랭시팔르53

쁘띠,사무엘  
프랑스에프-76130몽-생-에그낭파르드라리슬11

스톤,가이

스위스체하-4107에팅겐마치바흐스트라췌9

(74) 대리인

주성민

김영

심사관 : 신영신

전체 청구항 수 : 총 23 항

---

## (54) 마크로리드의 안정화 방법

---

### (57) 요약

본 발명은 폴리-엔 마크로리드, 특히 결정형으로 수득된 마크로리드를 안정화시키는 방법에 관한 것이다.

### 특허청구의 범위

#### 청구항 1.

라파마이신(rapamycin), 라파마이신 유도체, 아스코마이신(ascomycin), FK506 또는 아스코마이신 유도체 및 항산화제를 포함하고, 여기서의 항산화제는 라파마이신, 라파마이신 유도체, 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체의 중량을 기준으로 0% 초과 내지 1%의 양으로 존재하는, 고체 형태의 혼합물.

#### 청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 항산화제가 라파마이신, 라파마이신 유도체, 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체의 중량을 기준으로 0.01% 내지 0.5%의 양으로 존재하는 혼합물.

#### 청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항산화제가 라파마이신, 라파마이신 유도체, 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체의 중량을 기준으로 0.2%의 양으로 존재하는 혼합물.

#### 청구항 4.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 항산화제가 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀인 혼합물.

#### 청구항 5.

삭제

#### 청구항 6.

삭제

#### 청구항 7.

삭제

청구항 8.

삭제

청구항 9.

삭제

청구항 10.

삭제

청구항 11.

삭제

청구항 12.

삭제

청구항 13.

삭제

청구항 14.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 아스코마이신 유도체가 33-에피-클로로-33-테스옥시-아스코마이신 또는 테트라히드로피란 아스코마이신 유도체로 이루어진 군에서 선택된 것인 혼합물.

청구항 15.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 아스코마이신 유도체가 33-에피-클로로-33-테스옥시-아스코마이신인 혼합물.

청구항 16.

제1항 또는 제2항에 있어서, FK506을 포함하는 것인 혼합물.

청구항 17.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 라파마이신 유도체가 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신인 혼합물.

청구항 18.

- a. 순수한 라파마이신 또는 라파마이신 유도체를 불활성 용매 중에 용해시키는 단계,
  - b. 생성된 용액에 항산화제를 라파마이신 또는 라파마이신 유도체의 중량을 기준으로 0% 초과 내지 1%의 양으로 첨가하는 단계, 및
  - c. 생성된 라파마이신 또는 라파마이신 유도체 및 항산화제의 혼합물을 단리하는 단계
- 를 포함하는, 라파마이신 또는 라파마이신 유도체를 안정화시키는 방법.

### 청구항 19.

제18항에 있어서, 상기 항산화제를 라파마이신 또는 라파마이신 유도체의 중량을 기준으로 0.01% 내지 0.5%의 양으로 첨가하는 것인 방법.

### 청구항 20.

제18항에 있어서, 상기 항산화제를 라파마이신 또는 라파마이신 유도체의 중량을 기준으로 0.2%의 양으로 첨가하는 것인 방법.

### 청구항 21.

제18항 또는 제20항에 있어서, 상기 항산화제가 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀인 방법.

### 청구항 22.

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 생성된 혼합물이 고체 혼합물 형태로 분리되는 것인 방법.

### 청구항 23.

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 생성된 안정화된 라파마이신 또는 라파마이신 유도체를 제약 조성물로 추가로 가공하는 것인 방법.

### 청구항 24.

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 라파마이신 유도체가 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신인 방법.

### 청구항 25.

- a. 순수한 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체를 불활성 용매 중에 용해시키는 단계,
- b. 생성된 용액에 항산화제를 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체의 중량을 기준으로 0% 초과 내지 1%의 양으로 첨가하는 단계, 및
- c. 생성된 고체 형태의 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체 및 항산화제의 혼합물을 분리하는 단계를 포함하는, 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체를 안정화시키는 방법.

### 청구항 26.

제25항에 있어서, 상기 항산화제를 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체의 중량을 기준으로 0.01% 내지 0.5%의 양으로 첨가하는 것인 방법.

### 청구항 27.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 항산화제를 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체의 중량을 기준으로 0.2%의 양으로 첨가하는 것인 방법.

## 청구항 28.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 항산화제가 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀인 방법.

## 청구항 29.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 아스코마이신 유도체가 33-에피-클로로-33-테스옥시-아스코마이신 또는 테트라히드로피란 아스코마이신 유도체로 이루어진 군에서 선택되는 것인 방법.

## 청구항 30.

제25항 또는 제26항에 있어서, 상기 아스코마이신 유도체가 33-에피-클로로-33-테스옥시-아스코마이신인 방법.

## 청구항 31.

제25항 또는 제26항에 있어서, FK506을 안정화시키기 위한 것인 방법.

## 청구항 32.

제25항 또는 제26항에 있어서, 생성된 안정화된 아스코마이신, FK506 또는 아스코마이신 유도체를 제약 조성물로 추가로 가공하는 것인 방법.

## 명세서

본 발명은 산화반응에 민감한 제약 활성 성분, 예를 들어 폴리-엔 마크로리드, 바람직하게는 면역억제 특성을 가진 폴리-엔 마크로리드, 특히 라파마이신 (rapamycin)을 안정화시키는 방법에 관한 것이다.

산화반응에 민감한, 특히 벌크 형태의 제약 활성 성분은 취급 및 저장이 어렵다. 특별한 취급이 필요하며, 산화반응-민감성 성분은 흔히 보호 기체하에 기밀 포장으로 저장한다. 상당량의 안정제가 이러한 제약 활성 성분의 제형화 공정 동안에 첨가된다.

폴리-엔 마크로리드는 만족스러운 안정성을 갖는다. 그러나, 본 발명에 이르러 산소에 대한 그들의 안정성은 단리 단계 동안에 안정제, 예를 들어 항산화제를 첨가함으로써 상당히 개선될 수 있다는 것이 밝혀졌다.

본 발명에 따라,

1. 바람직하게는 단리 단계의 처음에 항산화제를 정제된 마크로리드에 첨가하는 것을 포함하는, 폴리-엔 마크로리드를 안정화시키는 방법

을 제공한다.

상기 방법은 벌크한 안정화된 폴리-엔 마크로리드를 생산하는데 특히 유용하다. 항산화제의 양은 편리하게는 1% 이하, 보다 바람직하게는 0.01 내지 0.5% (마크로리드 중량을 기준으로)이다. 이후 이 정도의 소량은 촉매량이라 지칭한다.

상기에 대한 별법으로서, 본 발명은 또한

2. 폴리-엔 마크로리드 및 항산화제, 바람직하게는 촉매량의 항산화제를 포함하는, 바람직하게는 고체 형태인 혼합물, 예를 들어 벌크 혼합물;

3. 제약 조성물 제조에 있어서 상기 2에 정의된 혼합물의 용도

를 제공한다.

상기 혼합물은 미립자 형태, 예를 들어 결정형 또는 무정형일 수 있다. 이는 무균 조건 또는 거의 무균인 조건, 예를 들어 제약 용도에 적합한 조건하에 있을 수 있다.

폴리-엔 마크로리드의 예로는, 예를 들어 이중 결합, 바람직하게는 공액 이중 결합을 포함하는 분자, 항생제 및(또는) 면역억제 특성을 갖는 분자, 락탐 또는 락톤 결합을 포함하는 마크로리드 및 그의 유도체, 천연 마크로리드의 생물학적 활성과 정성적으로 유사한 생물학적 활성을 갖는 화합물, 화학적으로 치환된 마크로리드가 있다. 적합한 예로는, 예를 들어 라파마이신 및 아스코마이신 (ascomycin)이 포함된다. 바람직한 폴리-엔 마크로리드는 2개 이상의 공액 이중 결합, 예를 들어 3개의 공액 이중 결합을 포함하는 마크로리드이다.

라파마이신은 예를 들어 스트렙토마이세스 하이그로스코피쿠스 (*Streptomyces hygroscopicus*)에 의해 제조가능한 공지된 락탐 마크로리드이다. 라파마이신의 구조는 케슬러 (Kessler, H.) 등의 문헌[1993, Helv. Chim. Acta, 76:117]에 주어져 있다. 라파마이신은 항생제 및 면역억제 특성을 갖는다. 라파마이신의 유도체는 예를 들어 WO94/02136 및 WO96/41807에 개시되어 있는 16-O-치환된 라파마이신, WO94/09010, WO92/05179, WO95/14023, WO94/02136, WO94/02385 및 WO96/13273에 개시되어 있는 40-O-치환된 라파마이신으로 공지되어 있고, 상기 문헌 모두는 본원의 참고문헌으로 인용된다. 바람직한 라파마이신 유도체는 예를 들어 WO94/09010의 제1면에 기재된 화학식 A에서 40 위치에 있는 히드록시가 -OR (식 중, R은 히드록시알킬, 히드록시알콕시알킬, 아실아미노알킬 또는 아미노알킬임)로 교체된 라파마이신, 예컨대 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신, 40-O-(3-히드록시)프로필-라파마이신 및 40-O-[2-(2-히드록시)에톡시]에틸-라파마이신이다.

FK-506 및 아스코마이신으로 잘 공지된 아스코마이신은 락탐 마크로리드의 또다른 부류를 이루고, 이들 중 대다수는 강력한 면역억제 활성 및 항염증 활성을 갖는다. FK506은 스트렙토마이세스 츠쿠바엔시스 (*Streptomyces tsukubaensis*)에 의해 제조가능한 락탐 마크로리드이다. FK506의 구조는 제11 개정판 머크 인덱스 (Merck Index, 1989)의 부록에 A5 항목으로서 주어져 있다. 아스코마이신은 예를 들어, USP 3,244,592에 기재되어 있다. 아스코마이신, FK506, 유사한 생물학적 활성을 갖는 다른 천연 마크로리드 및 그들의 유도체, 예를 들어 합성 유사체 및 유도체는 집합적으로 "아스코마이신"이라 지칭한다. 합성 유사체 또는 유도체의 예로는 할로젠화 아스코마이신, 예를 들어 EP-A-427,680에 개시된 33-에피-클로로-33-테스옥시-아스코마이신, EP-A-626,385에 기재된 테트라히드로피란 유도체가 있다.

특히 바람직한 마크로리드는 라파마이신 및 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신이다.

바람직한 항산화제는 예를 들어 2,6-디-tert-부틸-4-메틸페놀 (이후 BHT), 비타민 E 또는 C이고, 특히 바람직하게는 BHT이다.

특히 바람직한 본 발명의 혼합물은 라파마이신 또는 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신과, 0.2% (마크로리드의 중량을 기준으로)의 항산화제, 바람직하게는 BHT와의 혼합물이다.

항산화제는 단리 단계의 처음에, 바람직하게는 마지막 단리 단계의 처음에, 보다 바람직하게는 마지막 침전 단계 직전에 폴리-엔 마크로리드에 첨가한다. 마크로리드는 정제된 상태인 것이 바람직하다. 이를 불활성 용매에 용해시킬 수 있고, 항산화제를 생성된 용액에 첨가한 후, 안정화된 마크로리드를 예를 들어 무정형 또는 결정형으로 침전시킨다. 바람직하게는, 본 발명의 혼합물은 무정형이다.

생성된 안정화된 마크로리드는 놀랍게도 산화반응에 대해 개선된 안정성을 나타내고, 예를 들어 생약 조성물로 추가로 가공하기 이전에 벌크 형태로 취급하고 저장하기가 훨씬 쉬워졌다. 무정형의 마크로리드가 특히 관심이 있다.

본 발명에 따라 안정화된 마크로리드는 목적하는 생약 제제를 제조하는데 이용될 수 있다. 이러한 제제는 경우에 따라 추가의 안정제를 첨가하는 것을 비롯하여, 1종 이상의 제약상 허용가능한 희석제 또는 담체를 첨가하는 것을 포함하는, 당업계에 공지된 방법에 따라 제조할 수 있다.

따라서, 추가로

4. 활성 성분으로서 상기 개시된 안정화된 혼합물 및 1종 이상의 제약상 허용가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 제약 조성물

을 제공한다.

본 발명의 조성물은 경구 투여, 비경구 투여, 국소 투여 (예, 피부 투여), 안구 투여, 비(鼻)측 투여 또는 흡입 투여 (폐 투여) 할 수 있다. 바람직한 조성물은 경구 투여용 조성물, 바람직하게는 활성 성분이 락톤 마크로리드인 무수 조성물이다.

본 발명의 제약 조성물은 추가의 부형제, 예를 들어 윤활제, 붕괴제, 계면활성제, 담체, 희석제, 향미제 등을 포함할 수 있다. 이는 액체 형태, 예를 들어 USP 5,536,729에 개시된 용액제, 현탁제 또는 에멀전제, 예컨대 미세 에멀전제, 또는 고체 형태, 예를 들어 그 내용이 본원에 참고문헌으로 인용되는 WO97/03654에 개시된 캡슐제, 정제, 당제, 분제 (미분 입자 또는 다른 감소 입자 포함), 고체 분산제, 과립제 등, 또는 반고체 형태, 예를 들어 연고, 젤, 크림 및 페이스트일 수 있다. 이들은 경구 투여에 적합한 형태인 것이 바람직하다. 바람직하게는 이들은 고체 형태이다. 본 발명의 제약 조성물은 교반하에 본 발명에 따라 안정화된 마크로리드와 추가의 성분을 혼합함으로써, 공지된 방법에 따라 제조될 수 있으며, 상기 추가 성분은 제분 또는 연마될 수 있으며, 경우에 따라 예를 들어 정제로 압축될 수 있다.

본 발명은 액체 또는 고체 형태의 라파마이신 조성물에 특별한 관심이 있다. 특히 바람직한 조성물은 예를 들어 본 발명에 따라 안정화된 라파마이신 및 담체 매질, 예를 들어 WO97/03654에 개시된 히드록시프로필메틸셀룰로스와 같은 수용성 중합체를 포함하는 고체 분산제이다.

본 발명의 조성물은 마크로리드에 대해 공지된 지시에 유용하며, 예를 들어 공지된 투여량을 함유한다. 예를 들어, 마크로리드, 예컨대 라파마이신 또는 라파마이신 유도체가 면역억제 특성을 갖는 경우, 조성물은 예를 들어 기관 또는 조직의 급성 또는 만성 동종- 또는 이종-이식 거부반응, 자가면역 질환 또는 염증 증상, 천식, 증식성 질환, 예를 들어 종양, 또는 과다증식성 혈관 질환의 치료 또는 예방, 바람직하게는 이식 거부반응의 치료 또는 예방에 유용하다.

투여하고자 하는 마크로리드 및 조성물의 양은 수많은 인자, 예를 들어 사용된 활성 성분, 처치할 증상, 치료 지속기간 등에 따라 달라진다. 예를 들어 라파마이신 또는 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신의 경우, 적합한 일일 경구 투여 형태는 0.1 내지 10 mg을 포함하며, 1개 이상으로 분리된 형태로 투여된다.

또다른 면으로, 본 발명은 또한 결정형, 특히 거의 순수한 형태의 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신을 제공한다. 바람직하게는, 결정형은 임의의 용매 성분이 없거나 또는 거의 없는 것을 특징으로 하며, 비용매화물 형태이다.

결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신은 단사계에 속한다. 생성된 결정은 융점이 146°C 내지 147°C, 특히 146.5°C이다. 신규 결정형의 확인을 돕기위해, X-선 회절 분석 데이터를 제공한다. 이러한 데이터를 수득하는 조건은 하기와 같다.

온도	293(2) K
파장	1.54178 Å
공간 군	P2 <sub>1</sub>
단위포 치수	
a	14.378.(2) Å
b	11.244(1) Å
c	18.310(2) Å
β	108.58(1) °
부피	2805.8(6) Å <sup>3</sup>
Z	2

(계산된) 밀도	1.134 g/cm <sup>3</sup>
흡수 계수	0.659 mm <sup>-1</sup>
F(000)	1040
결정 크기	0.59 × 0.11 × 0.03 mm
데이터 수집을 위한 $\theta$ 각	2.55 내지 57.20 °
수집된 반사(Reflection collected)	4182
독립 반사(Independent reflection)	4037 [R(int) = 0.0341]
강도 쇠퇴율	32%
정제 방법(refinement method)	F <sup>2</sup> 상에서 전체 매트릭스 최소 자승법 (Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup> )
데이터/제한/변수	3134/1/613
F <sup>2</sup> 에 대한 피팅 양호성(Goodness-of-fit on F <sup>2</sup> )	1.055
최종 R 지수 [I > 2 시그마(I)]	R <sub>1</sub> = 0.0574, wR <sub>2</sub> = 0.1456
최고 회절 피크 및 홀	0.340 및 -0.184 e/ Å <sup>3</sup>

결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신은 용매, 예컨대 에틸 아세테이트에 무정형 화합물을 용해시키고, 지방족 탄화수소 C<sub>n</sub>H<sub>2n+2</sub> (n = 5, 6 또는 7)을 첨가함으로써 제조할 수 있다. 탄화수소를 첨가한 후, 생성된 혼합물을 예를 들어 25 내지 50°C의 온도로, 예컨대 30 내지 35°C까지의 온도로 가온시킨다. 생성된 혼합물은 저온에서, 예를 들어 25°C 이하에서, 바람직하게는 0 내지 25°C에서 편리하게 저장할 수 있다. 결정을 여과하고 건조시킨다. 지방족 탄화수소로는 헵탄이 바람직하다. 경우에 따라, 핵형성 과정을 예를 들어 초음파 처리 또는 시딩 (seeding)에 의해 수행할 수 있다.

본 발명은 또한 상기 개시한 결정 함유 배지로부터 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신을 결정화시키고, 이로써 수득한 결정을 회수하는 것을 포함하는, 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신을 정제하는 방법을 제공한다. 결정 함유 배지는 상기 언급한 것들 뿐만 아니라 1개 이상의 성분을 포함할 수도 있다. 특히 적합한 결정 함유 배지는 약 2부의 에틸 아세테이트 및 약 5부의 지방족 탄화수소, 예컨대 헵탄을 포함하는 것으로 밝혀졌다.

결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신은 시험관 내 및 생체 내에서 무정형의 것에 견줄만 한 면역억제 활성을 갖는 것으로 밝혀졌다. 국소화 GvHD에서, 림프절 팽창의 최대 억제율 (70 내지 80%)이 결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신 3 mg을 투여함으로써 달성된다.

40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신은 무정형 화합물로 공지된 것과 동일한 지시로 이용될 수 있어서, 그 내용이 본 발명의 참고문헌으로 인용된 WO94/09010 또는 WO97/35575에 개시된 것과 같이 급성 및 만성 동종- 또는 이종-이식 거부 반응, 자가면역 질환 또는 염증 증상, 천식, 증식성 질환, 예컨대 종양, 또는 과다증식성 혈관 질환의 예방 또는 치료에 유용하다. 일반적으로, 만족스러운 결과는 0.05 내지 5에서 20 mg/kg/일까지, 예를 들어 0.1 내지 2에서 7.5 mg/kg/일까지의 양으로 한번에 또는 하루에 2 내지 4회 나누어서 경구 투여함으로써 달성된다. 따라서, 환자를 위한 적합한 일일 투여량은 10 mg까지, 예를 들어 0.1 내지 10 mg이다.

결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신은 임의의 통상적인 경로, 예를 들어 경구를 통해 예를 들어 정제 또는 캡슐제로, 또는 비측 또는 폐측 (흡입)을 통해 투여할 수 있다. 유일한 활성 성분으로서 또는 다른 약제, 예를 들어 WO94/09010에 개시된 바와 같은 면역억제제 및(또는) 면역조절제 및(또는) 항염증제와 함께 투여할 수 있다.

상기한 바에 따라 본 발명은

5. 급성 또는 만성 동종- 또는 이종-이식 거부반응, 자가면역 질환 또는 염증 증상, 천식, 증식성 질환, 또는 과다증식성 혈관 질환의 치료를 요하는 개체에게 치료적 유효량의 결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신을 투여하는 것을 포함하는, 상기 개체에서 상기 질환의 예방 또는 치료 방법;

6. 약제로서, 예를 들어 상기 개시된 방법에 사용하기 위한 결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신;

7. 결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신 및 그를 위한 제약상 허용가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 제약 조성물;



8. 상기 개시된 제약 조성물, 및 면역억제제 또는 면역조정제 또는 항염증제를 포함하는 제약 조성물을 포함하는, 면역억제제 또는 염증에 사용하기 위한 키트 또는 패키지

를 제공한다.

하기 실시예는 본 발명을 제한하지 않으면서 본 발명을 설명한다.

#### <실시예 1: 결정화>

무정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신 0.5 g을 40℃에서 에틸 아세테이트 2.0 ml에 용해시켰다. 헵탄 5.0 ml을 첨가하였고, 용액이 "우유빛"으로 되었다. 30℃로 가온시킨 후, 용액이 다시 맑아졌다. 0℃로 냉각시키자마자, 용액으로부터 오일 부분을 제거하였다. 시험관을 밀폐시키고, 밤새 10℃에서 저장하였다. 다음, 생성된 백색의 부피가 큰 고체를 여과시키고, 에틸 아세테이트/헥산 (1:2.5) 혼합물 0.5 ml로 세척하고, 생성된 결정을 5 mbar하에서 40℃에서 16시간 동안 건조시켰다. 이로써, 융점이 146.5℃인 결정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신을 수득하였다.

**대규모 결정화는 하기와 같이 수행할 수 있다:**

무정형 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신 250 g을 아르곤하에 천천히 교반하면서 에틸 아세테이트 1.0 l에 용해시켰다. 다음, 이 용액을 30℃에서 45분 동안 가열하고, 헵탄 1.5 l를 적가하였다. 상기 개시한 바와 같이 제조한 결정핵 0.25 g을 동일한 조건하에 일부씩 나누어 첨가하였다. 혼합물을 30℃에서 2시간에 걸쳐 더 교반하고, 결정화 반응 혼합물을 1시간에 걸쳐 25℃로, 30분 동안 10℃로 냉각시키고, 여과하였다. 결정을 에틸 아세테이트/헥산 (2:3) 혼합물 100 ml로 세척하였다. 이어서, 약 5 mbar 및 50℃에서 건조시켰다. 융점 146.5℃.

KBr에서의 IR: 3452, 2931, 1746, 1717, 1617, 1453, 1376, 1241, 1191, 1163, 1094, 1072, 1010, 985, 896  $\text{cm}^{-1}$ .

좌표를 이용한 단일 X-선 구조를 하기 도 1 내지 3에 나타내었다.

#### <실시예 2: 안정화된 40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신의 제조>

40-O-(2-히드록시)에틸-라파마이신 100 g을 무수 에탄올 600 l에 용해시켰다. BHT 0.2 g을 첨가한 후, 생성된 용액을 교반하면서 1시간 이내에 물 3.0 l에 적가하였다. 생성된 현탁액을 30분 더 교반하였다. 여과시킨 후, 5:1 v/v비의 물/에탄올 200 ml로 3회 세척하여, 습성 백색 생성물을 수득하였고, 이를 진공하에 (1 mbar) 30℃에서 48시간 동안 더 건조시켰다. 생성된 건조 생성물은 BHT 0.2% (w/w)를 함유하였다.

생성된 생성물은 저장시 개선된 안정성을 나타내었다. 1주일 저장 후 부산물 및 분해 생성물의 총량 (%)은 다음과 같다:

화합물 개방 플라스크에서 50℃

실시예 2 (0.2% BHT) 1.49

BHT 없이 > 10

상기 실시예의 절차는 활성 성분으로서 라파마이신을 사용하지 않고 반복할 수 있다.

도면

도면1

원자 좌표 및 등가 등방성 변위 매개변수 ( $\text{\AA}^2$ )

( $U_{eq}$ 는 직교  $U_{ij}$  텐서 양의 1/3로 정의됨)

	x/a	y/b	z/c	$U_{eq}$
C(1)	.9065(6)	.0121(9)	.5077(5)	.060(2)
O(1)	.9239(4)	-.0736(6)	.5482(4)	.076(2)
C(2)	.8041(5)	.0615(8)	.4625(4)	.060(2)
C(3)	.7847(7)	.1748(10)	.4984(6)	.087(3)
C(4)	.7627(7)	.1515(10)	.5725(7)	.098(3)
C(5)	.6795(7)	.0653(11)	.5610(6)	.094(3)
C(6)	.7005(6)	-.0496(9)	.5256(5)	.074(3)
N(7)	.7272(4)	-.0269(6)	.4567(4)	.059(2)
C(8)	.6781(5)	-.0693(7)	.3883(5)	.055(2)
O(8)	.6965(4)	-.0432(6)	.3287(3)	.074(2)
C(9)	.5940(6)	-.1566(8)	.3784(5)	.056(2)
O(9)	.6074(4)	-.2513(6)	.4074(4)	.084(2)
C(10)	.4962(5)	-.1136(8)	.3223(5)	.057(2)
O(10)	.5045(4)	-.1009(6)	.2486(3)	.075(2)
C(11)	.4079(6)	-.1951(8)	.3160(5)	.068(3)
C(11M)	.4107(7)	-.3114(9)	.2776(6)	.088(3)
C(12)	.3135(6)	-.1252(10)	.2738(6)	.088(3)
C(13)	.3099(6)	-.0061(10)	.3115(7)	.099(4)
C(14)	.4002(6)	.0651(9)	.3156(6)	.078(3)
O(14)	.4868(4)	-.0019(5)	.3559(3)	.065(2)
C(15)	.4070(6)	.01811(10)	.3592(6)	.082(3)
C(16)	.4953(7)	.2564(8)	.3624(6)	.079(3)
O(16)	.4841(5)	.3639(6)	.4015(4)	.095(2)
C(16M)	.5697(8)	.4308(10)	.4288(7)	.102(3)
C(17)	.5056(6)	.2802(9)	.2841(6)	.073(3)
C(17M)	.4268(7)	.3541(11)	.2307(6)	.103(4)
C(18)	.5806(7)	.2368(10)	.2680(6)	.079(3)
C(19)	.6018(7)	.2458(11)	.1964(6)	.092(3)
C(20)	.6768(8)	.1937(12)	.1809(6)	.097(3)
C(21)	.7032(8)	.2069(13)	.1094(7)	.111(4)
C(22)	.7771(8)	.1565(15)	.0948(7)	.121(5)
C(23)	.8086(8)	.1781(16)	.0240(6)	.128(5)
C(23M)	.7254(9)	.2152(23)	-.0474(7)	.184(9)
C(24)	.8912(8)	.2643(18)	.0406(6)	.140(6)
C(25)	.9826(9)	.2329(20)	.1069(6)	.141(6)
C(25M)	1.0348(12)	.1245(20)	.0884(8)	.178(8)
C(26)	1.0512(10)	.3412(22)	.1293(7)	.157(8)
O(26)	1.1132(8)	.3601(21)	.0998(7)	.281(11)
C(27)	1.0375(8)	.4278(16)	.1891(7)	.118(5)
O(27)	1.0877(7)	.5366(13)	.1901(7)	.185(5)
C(27M)	1.0445(17)	.6202(22)	.1382(13)	.256(13)
C(28)	1.0824(7)	.3750(11)	.2699(6)	.091(3)
O(28)	1.1827(4)	.3501(7)	.2818(4)	.108(2)

## 도면2

원자 좌표 및 등가 등방성 변위 매개변수 ( $\text{\AA}^2$ )

	x/a	y/b	z/c	U(eq)
C(29)	1.0329(7)	.2733(10)	.2922(5)	.073(3)
C(29M)	.9318(6)	.2995(10)	.2984(6)	.094(3)
C(30)	1.0764(7)	.1700(10)	.3100(5)	.077(3)
C(31)	1.0376(7)	.0581(10)	.3340(5)	.081(3)
C(31M)	1.0198(9)	-.0385(13)	.2723(7)	.124(4)
C(32)	1.1046(7)	.0210(10)	.4103(6)	.079(3)
O(32)	1.1436(7)	-.0747(9)	.4183(5)	.132(3)
C(33)	1.1271(6)	.1025(9)	.4776(5)	.071(3)
C(34)	1.0764(5)	.0601(8)	.5342(5)	.062(2)
O(34)	.9735(3)	.0853(5)	.4967(3)	.071(2)
C(35)	1.1115(5)	.1217(9)	.6132(5)	.064(2)
C(35M)	1.1060(7)	.2562(10)	.6069(6)	.092(3)
C(36)	1.2149(6)	.0757(9)	.6578(5)	.072(3)
C(37)	1.2650(6)	.1298(9)	.7370(5)	.074(3)
C(38)	1.2091(7)	.1198(14)	.7935(5)	.110(4)
C(39)	1.2680(9)	.1650(16)	.8735(6)	.128(5)
O(39)	1.2082(8)	.1584(20)	.9206(6)	.243(9)
C(39M)	1.2099(20)	.2512(47)	.9702(17)	.498(36)
C(40)	1.3640(9)	.0982(13)	.9048(6)	.0116(4)
O(40)	1.4177(7)	.1412(10)	.9790(5)	.151(4)
C(41)	1.4221(7)	.1138(13)	.8506(6)	.110(4)
C(42)	1.3653(6)	.0697(11)	.7702(5)	.096(3)
C(43)	1.4272(14)	.0621(20)	1.0408(9)	.171(7)
C(44)	1.5146(20)	-.0307(24)	1.0549(10)	.238(12)
O(45)	1.4956(12)	-.1215(13)	.9899(7)	.215(5)

## 도면3

결합 길이 (Å)

C(1)-O(1)	1.193(10)	C(24)-C(25)	1.52(2)
C(1)-O(34)	1.329(10)	C(25)-C(25M)	1.53(2)
C(1)-C(2)	1.545(11)	C(25)-C(26)	1.54(3)
C(2)-N(7)	1.465(10)	C(26)-O(26)	1.20(2)
C(2)-C(3)	1.500(13)	C(26)-C(27)	1.53(2)
C(3)-C(4)	1.511(14)	C(27)-O(27)	1.42(2)
C(4)-C(5)	1.502(13)	C(27)-C(28)	1.533(14)
C(5)-C(6)	1.518(14)	O(27)-C(27M)	1.34(2)
C(6)-N(7)	1.453(10)	C(28)-O(28)	1.415(10)
N(7)-C(8)	1.315(9)	C(28)-C(29)	1.471(14)
C(8)-O(8)	1.237(9)	C(29)-C(30)	1.311(13)
C(8)-C(9)	1.523(11)	C(29)-C(29M)	1.523(12)
C(9)-O(9)	1.178(9)	C(30)-C(31)	1.497(14)
C(9)-C(10)	1.532(11)	C(31)-C(32)	1.482(13)
C(10)-O(10)	1.398(9)	C(31)-C(31M)	1.53(2)
C(10)-O(14)	1.425(10)	C(32)-O(32)	1.201(11)
C(10)-C(11)	1.540(11)	C(32)-C(33)	1.487(13)
C(11)-C(11M)	1.491(13)	C(33)-C(34)	1.521(11)
C(11)-C(12)	1.546(12)	C(34)-O(34)	1.447(9)
C(12)-C(13)	1.51(2)	C(34)-C(35)	1.537(11)
C(13)-C(14)	1.506(13)	C(35)-C(35M)	1.517(13)
C(14)-O(14)	1.441(10)	C(35)-C(36)	1.540(11)
C(14)-C(15)	1.516(14)	C(36)-C(37)	1.525(12)
C(15)-C(16)	1.511(12)	C(37)-C(38)	1.503(11)
C(16)-O(16)	1.439(11)	C(37)-C(42)	1.532(12)
C(16)-C(17)	1.512(14)	C(38)-C(39)	1.526(14)
O(16)-C(16M)	1.392(11)	C(39)-O(39)	1.399(13)
C(17)-C(18)	1.301(12)	C(39)-C(40)	1.51(2)
C(17)-C(17M)	1.491(13)	O(39)-C(39M)	1.38(4)
C(18)-C(19)	1.441(14)	C(40)-O(40)	1.417(13)
C(19)-C(20)	1.333(14)	C(40)-C(41)	1.50(2)
C(20)-C(21)	1.48(2)	O(40)-C(43)	1.41(2)
C(21)-C(22)	1.30(2)	C(41)-C(42)	1.521(14)
C(22)-C(23)	1.52(2)	C(43)-C(44)	1.59(3)
C(23)-C(24)	1.49(2)	C(44)-O(45)	1.52(2)
C(23)-C(23M)	1.52(2)		

도면4

결합 각 (°)

O(1)-C(1)-O(34)	125.1(7)	C(23)-C(24)-C(25)	116(2)
O(1)-C(1)-C(2)	126.8(8)	C(24)-C(25)-C(25M)	111.7(14)
O(34)-C(1)-C(2)	108.0(8)	C(24)-C(25)-C(26)	110(2)
N(7)-C(2)-C(3)	111.5(6)	C(25M)-C(25)-C(26)	111.9(12)
N(7)-C(2)-C(1)	111.3(7)	O(26)-C(26)-C(27)	120(2)
C(3)-C(2)-C(1)	110.4(7)	O(26)-C(26)-C(25)	122(2)
C(2)-C(3)-C(4)	111.6(9)	C(27)-C(26)-C(25)	118.5(12)
C(5)-C(4)-C(3)	111.8(9)	O(27)-C(27)-C(26)	112.2(12)
C(4)-C(5)-C(6)	110.6(7)	O(27)-C(27)-C(28)	105.4(12)
N(7)-C(6)-C(5)	111.4(8)	C(26)-C(27)-C(28)	109.5(12)
C(8)-N(7)-C(6)	123.5(7)	C(27M)-O(27)-C(27)	118.5(14)
C(8)-N(7)-C(2)	118.6(7)	O(28)-C(28)-C(29)	111.3(9)
C(6)-N(7)-C(2)	117.3(6)	O(28)-C(28)-C(27)	108.7(8)
O(8)-C(8)-N(7)	123.6(7)	C(29)-C(28)-C(27)	118.4(10)
O(8)-C(8)-C(9)	115.6(7)	C(30)-C(29)-C(28)	121.5(9)
N(7)-C(8)-C(9)	120.8(8)	C(30)-C(29)-C(29M)	122.9(10)
O(9)-C(9)-C(8)	121.3(7)	C(28)-C(29)-C(29M)	115.4(9)
O(9)-C(9)-C(10)	124.8(8)	C(29)-C(30)-C(31)	128.7(9)
C(8)-C(9)-C(10)	113.6(7)	C(32)-C(31)-C(30)	108.8(8)
O(10)-C(10)-O(14)	112.1(7)	C(32)-C(31)-C(31M)	113.7(10)
O(10)-C(10)-C(9)	109.7(6)	C(30)-C(31)-C(31M)	111.8(8)
O(14)-C(10)-C(9)	100.5(6)	O(32)-C(32)-C(31)	120.3(11)
O(10)-C(10)-C(11)	108.1(6)	O(32)-C(32)-C(33)	118.8(10)
O(14)-C(10)-C(11)	111.6(6)	C(31)-C(32)-C(33)	120.8(9)
C(9)-C(10)-C(11)	114.9(7)	C(32)-C(33)-C(34)	110.2(8)
C(11M)-C(11)-C(10)	114.3(7)	O(34)-C(34)-C(33)	104.8(6)
C(11M)-C(11)-C(12)	111.2(8)	O(34)-C(34)-C(35)	109.8(6)
C(10)-C(11)-C(12)	107.9(7)	C(33)-C(34)-C(35)	114.5(7)
C(13)-C(12)-C(11)	111.9(8)	C(1)-O(34)-C(34)	119.2(7)
C(14)-C(13)-C(12)	109.9(9)	C(35M)-C(35)-C(34)	112.6(8)
O(14)-C(14)-C(13)	109.8(8)	C(35M)-C(35)-C(36)	113.2(8)
O(14)-C(14)-C(15)	106.2(7)	C(34)-C(35)-C(36)	108.6(7)
C(13)-C(14)-C(15)	113.2(8)	C(37)-C(36)-C(35)	116.9(8)
C(10)-O(14)-C(14)	115.1(6)	C(38)-C(37)-C(36)	115.6(7)
C(16)-C(15)-C(14)	114.5(7)	C(38)-C(37)-C(42)	109.6(8)
O(16)-C(16)-C(15)	105.4(7)	C(36)-C(37)-C(42)	107.5(8)
O(16)-C(16)-C(17)	112.5(8)	C(37)-C(38)-C(39)	112.5(8)
C(15)-C(16)-C(17)	113.4(8)	O(39)-C(39)-C(40)	113.9(13)
C(16M)-O(16)-C(16)	114.0(7)	O(39)-C(39)-C(38)	108.2(10)
C(18)-C(17)-C(17M)	124.9(9)	C(40)-C(39)-C(38)	111.0(11)
C(18)-C(17)-C(16)	119.2(9)	C(39)-O(39)-C(39M)	119(2)
C(17M)-C(17)-C(16)	115.9(8)	O(40)-C(40)-C(41)	110.3(10)
C(17)-C(18)-C(19)	127.7(10)	O(40)-C(40)-C(39)	110.2(12)
C(20)-C(19)-C(18)	125.6(11)	C(41)-C(40)-C(39)	108.9(10)
C(19)-C(20)-C(21)	126.6(11)	C(43)-O(40)-C(40)	115.9(12)
C(22)-C(21)-C(20)	126.3(12)	C(40)-C(41)-C(42)	111.2(9)
C(21)-C(22)-C(23)	126.0(13)	C(41)-C(42)-C(37)	112.8(9)
C(24)-C(23)-C(23M)	111(2)	O(40)-C(43)-C(44)	114(2)
C(24)-C(23)-C(22)	111.4(10)	O(45)-C(44)-C(43)	112.2(14)
C(23M)-C(23)-C(22)	114.2(10)		