



(21) 申请号 201780021716.1
(22) 申请日 2017.04.04
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109414442 A
(43) 申请公布日 2019.03.01
(30) 优先权数据
62/318,041 2016.04.04 US
62/323,452 2016.04.15 US
62/329,561 2016.04.29 US
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2018.09.29
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/025939 2017.04.04
(87) PCT国际申请的公布数据
W02017/176751 EN 2017.10.12
(73) 专利权人 洛克索肿瘤学股份有限公司
地址 美国印第安纳州
(72) 发明人 M·雷诺兹 S·A·史密斯
(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001
专利代理师 王颖煜 彭昶

(51) Int.Cl.
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(56) 对比文件
CN 107428760 A, 2017.12.01
Bayer. A Study to Test the Effect of the Drug Larotrectinib in Adults and Children With NTRK-fusion Positive Solid Tumors (NAVIGATE). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02576431>. 2015, 第1-13页.
Bayer. A Study to Test the Effect of the Drug Larotrectinib in Adults and Children With NTRK-fusion Positive Solid Tumors (NAVIGATE). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02576431>. 2015, 第1-13页.
Robert C. Doebele等. An Oncogenic NTRK Fusion in a Patient with Soft-Tissue Sarcoma with Response to the Tropomyosin-Related Kinase Inhibitor LOX0-101. *Cancer Discov.* 2015, 第5卷(第10期), 第1049-1057页.

审查员 段春启

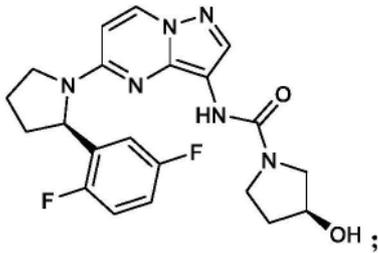
权利要求书2页 说明书70页
序列表9页 附图12页

(54) 发明名称
一种化合物的液体制剂

(57) 摘要
公开了(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡啶并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺、其药学上可接受的盐或其组合的液体制剂,以及该液体制剂在治疗疼痛、癌症、炎症和某些传染病中的用途。

1. 一种液体制剂,其包含:

具有式(I)的(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺、其药学上可接受的盐或其组合:



(I)

13重量%至17重量%的量的羟丙基-β-环糊精;

0.7重量%至1.5重量%的量的柠檬酸钠二水合物;

包括蔗糖、甘油、山梨糖醇和调味剂的甜味剂,其中所述甜味剂用柠檬酸和磷酸钠缓冲,其中所述甜味剂用对羟基苯甲酸甲酯和山梨酸钾保存,且其中所述甜味剂以45重量%至55重量%的量存在;和

苦味掩蔽剂;

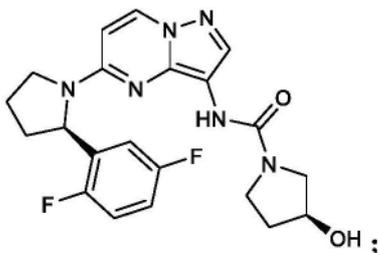
其中:

所述制剂的pH为2.5至5.5;和

所述式(I)化合物、其药学上可接受的盐或其组合在所述液体制剂中的浓度为20mg/mL至30mg/mL。

2. 一种液体制剂,其包含:

具有式(I)的(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺、其药学上可接受的盐或其组合:



(I)

13重量%至17重量%的量的羟丙基-β-环糊精;

0.7重量%至1.5重量%的量的柠檬酸钠二水合物;

包括三氯蔗糖的甜味剂;和

以0.01重量%至0.1重量%的量存在的调味剂;

其中:

所述制剂的pH为2.5至5.5;和

所述式(I)化合物、其药学上可接受的盐或其组合在所述液体制剂中的浓度为20mg/mL至30mg/mL。

3. (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺、其药学上可接受的盐或其组合用于制备用于在有需要的患者中治疗由Trk激酶介导的癌症的权利要求1或2的液体制剂的用途。

4. 权利要求3的用途,其中所述癌症与Trk激酶的过表达、活化、扩增和突变的一种或多种相关。

5. 权利要求3的用途,其中所述癌症被确定为具有NTRK基因、Trk蛋白、或其表达或水平的失调。

6. 权利要求5的用途,其中所述NTRK基因、Trk蛋白、或其表达或水平的失调是导致Trk融合蛋白翻译的染色体易位。

7. 权利要求6的用途,其中所述Trk融合蛋白选自TP53-TrkA、LMNA-TrkA、CD74-TrkA、TFG-TrkA、TPM3-TrkA、NFASC-TrkA、BCAN-TrkA、MPRIP-TrkA、TPR-TrkA、RFWD2-TrkA、IRF2BP2-TrkA、SQSTM1-TrkA、SSBP2-TrkA、RABGAP1L-TrkA、C18ORF8-TrkA、RNF213-TrkA、TBC1D22A-TrkA、C200RF112-TrkA、DNER-TrkA、ARHGEF2-TrkA、CHTOP-TrkA、PPL-TrkA、PLEKHA6-TrkA、PEAR1-TrkA、MRPL24-TrkA、MDM4-TrkA、LRRC71-TrkA、GRIPAP1-TrkA、EPS15-TrkA、DYNC2H1-TrkA、CEL-TrkA、EPHB2-TrkA、TGF-TrkA、NACC2-TrkB、QKI-TrkB、AFAP1-TrkB、PAN3-TrkB、SQSTM1-TrkB、TRIM24-TrkB、VCL-TrkB、AGBL4-TrkB、DAB2IP-TrkB、ETV6-TrkC、BTBD1-TrkC、LYN-TrkC、RBPMS-TrkC、EML4-TrkC、HOMER2-TrkC、TFG-TrkC、FAT1-TrkC和TEL-TrkC。

8. 权利要求5的用途,其中所述NTRK基因、Trk蛋白、或其表达或水平的失调是NTRK基因中的一个或多个点突变。

9. 权利要求8的用途,其中所述NTRK基因中的一个或多个点突变导致具有一个或多个以下氨基酸取代的TrkA蛋白的翻译:R33W、A336E、A337T、R324Q、R324W、V420M、R444Q、R444W、G517R、G517V、K538A、R649W、R649L、R682S、V683G、R702C和C1879T。

10. 权利要求8的用途,其中所述NTRK基因中的一个或多个点突变导致具有一个或多个以下氨基酸取代的TrkB蛋白的翻译:A13T、E142K、R136H、V619M、F663L、G639R、G709C、G709S和G709S。

11. 权利要求8的用途,其中所述NTRK基因中的一个或多个点突变导致具有一个或多个以下氨基酸取代的TrkC蛋白的翻译:V603M、F617L、G623R、G696C、G696A或G696S。

一种化合物的液体制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2016年4月4日提交的美国临时申请序列号62/318,041、2016年4月15日提交的美国临时申请序列号62/323,452、2016年4月29日提交的美国临时申请序列号62/329,561的优先权,其全部内容各自通过引用并入本文。

技术领域

[0003] 本公开涉及(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(式I),其药学上可接受的盐或其组合的液体制剂,以及该液体制剂在治疗疼痛,炎症,癌症和某些传染病中的用途。

背景技术

[0004] Trk是通过一组称为神经营养素(NT)的可溶性生长因子激活的高亲和力受体酪氨酸激酶。Trk受体家族具有三个成员—TrkA,TrkB和TrkC。神经营养素包括(i)激活TrkA的神经生长因子(NGF), (ii)激活TrkB的脑源性神经营养素(BDNF)和NT-4/5,以及(iii)激活TrkC的NT3。Trk在神经元组织中广泛表达,并且涉及神经元细胞的维持、信号传导和存活(Patapoutian,A.等,Current Opinion in Neurobiology,2001,11,272-280)。

[0005] 最近的文献已表明,Trk的过表达、激活、扩增和/或突变与许多癌症相关,包括神经母细胞瘤(Brodeur,G.M.,Nat.Rev.Cancer 2003,3,203-216),卵巢癌(Davidson.,B.等,Clin.Cancer Res.2003,9,2248-2259),乳腺癌(Kruettgen等,Brain Pathology 2006,16:304-310),前列腺癌(Dionne等,Clin.Cancer Res.1998,4(8):1887-1898),胰腺癌(Dang等,Journal of Gastroenterology and Hepatology 2006,21(5):850-858),多发性骨髓瘤(Hu等,Cancer Genetics and Cytogenetics 2007,178:1-10),星形细胞瘤和成神经管细胞瘤(Kruettgen等,Brain Pathology 2006,16:304-310),神经胶质瘤(Hansen等,Journal of Neurochemistry 2007,103:259-275),黑色素瘤(Nakagawara,A.(2001)Cancer Letters 169:107-114;Meyer,J.等(2007)Leukemia,1-10;Pierottia,M.A.和Greco A.,(2006)Cancer Letters 232:90-98;Eric Adriaenssens,E.等Cancer Res (2008)68:(2)346-351),甲状腺癌(Brzezianska等,Neuroendocrinology Letters 2007,28(3),221-229),肺腺癌(Perez-Pinera等,Molecular and Cellular Biochemistry 2007,295(1&2),19-26),大细胞神经内分泌肿瘤(Marchetti等,Human Mutation 2008,29(5),609-616)和结肠直肠癌(Bardelli,A.,Science 2003,300,949)。在癌症的临床前模型中,Trk抑制剂在抑制肿瘤生长和阻止肿瘤转移方面都是有效的。特别是,TrkA,TrkB,TrkC和Trk/Fc嵌合体的非选择性小分子抑制剂在抑制肿瘤生长和阻止肿瘤转移方面都是有效的(Nakagawara,A.(2001)Cancer Letters 169:107-114;Meyer,J.等(2007)Leukemia,1-10;Pierottia,M.A.和Greco A.,(2006)Cancer Letters232:90-98;Eric Adriaenssens,E.等Cancer Res (2008)68:(2)346-351)。因此,预期Trk激酶家族的抑制剂可用于治疗癌症。

[0006] 此外,已经证明Trk/神经营养途径的抑制剂在许多临床前疼痛动物模型中是有效的。例如,拮抗性NGF和TrkA抗体(例如RN-624)已经显示在炎症和神经性疼痛动物模型和人临床试验中是有效的(Woolf,C.J.等(1994)Neuroscience 62,327-331;Zahn,P.K.等(2004)J.Pain 5,157-163;McMahon,S.B.等(1995)Nat.Med.1,774-780;Ma,Q.P.和Woolf,C.J.(1997)Neuroreport 8,807-810;Shelton,D.L.等(2005)Pain 116,8-16;Delafoy,L.等(2003)Pain 105,489-497;Lamb,K.等(2003)Neurogastroenterol.Motil.15,355-361;Jaggar,S.I.等(1999)Br.J.Anaesth.83,442-448)。此外,最近的文献表明,在炎症后,背根神经节中BDNF水平和TrkB信号传导增加(Cho,L.等rain Research 1997,749,358),并且一些研究已显示通过BDNF/TrkB减少信号传导的抗体途径抑制神经元过敏和相关疼痛(Chang-Qi,L等Molecular Pain 2008,4:27)。

[0007] 已经显示肿瘤细胞和肿瘤侵入巨噬细胞分泌的NGF直接刺激位于外周疼痛纤维上的TrkA。在小鼠和大鼠中使用各种肿瘤模型,证明了用单克隆抗体中和NGF抑制癌症相关疼痛达到与最高耐受剂量的吗啡相似或更高的程度。此外,BDNF/TrkB途径的激活已经作为各种类型疼痛的调节剂涉及,包括炎性疼痛(Matayoshi,S.,J.Physiol.2005,569:685-95),神经性疼痛(Thompson,S.W.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA1999,96:7714-18)和手术疼痛(Li,C.-Q.等Molecular Pain,2008,4(28),1-11)。因为TrkA和TrkB激酶可以作为NGF驱动的生物反应的介质,TrkA和/或其它Trk激酶的抑制剂可以为慢性疼痛状态提供有效的治疗。

[0008] 目前用于疼痛病症的治疗方案使用几类化合物。阿片类药物(如吗啡)具有几个缺点,包括催吐、便秘和负面呼吸效应,以及成瘾的可能性。非甾体抗炎镇痛药(NSAID,例如COX-1或COX-2类型)也具有缺点,包括治疗严重疼痛的疗效不足。此外,COX-1抑制剂可以引起粘膜溃疡。因此,一直需要新的和更有效的治疗来缓解疼痛,特别是慢性疼痛。

[0009] 此外,已显示抑制神经营养途径/Trk途径在治疗炎性疾病的临床前模型中是有效的。例如,神经营养途径/Trk途径的抑制已经涉及炎性肺病的临床前模型,包括哮喘(Freund-Michel,V;Frossard,N.;Pharmacology&Therapeutics(2008),117(1),52-76),间质性膀胱炎(Hu Vivian Y;等The Journal of Urology(2005),173(3),1016-21),炎性肠病,包括溃疡性结肠炎和克罗恩病(Di Mola,F.F,等Gut(2000),46(5),670-678)和炎性皮肤病如特应性皮炎(Dou,Y.-C.;等Archives of Dermatological Research(2006),298(1),31-37),湿疹和牛皮癣(Raychaudhuri,S.P.;等Journal of Investigative Dermatology(2004),122(3),812-819)。

[0010] 神经营养途径/Trk途径,特别是BDNF/TrkB,也涉及神经退行性疾病的病因,包括多发性硬化症、帕金森病和阿尔茨海默病(Sohrabji,Farida;Lewis,Danielle K.Frontiers in Neuroendocrinology(2006),27(4),404-414)。调节中性粒细胞/Trk途径可用于治疗这些和相关疾病。

[0011] TrkA受体也被认为对人类宿主中克氏锥虫(恰加斯病)寄生虫感染的感染过程至关重要(de Melo-Jorge,M.等Cell Host&Microbe(2007),1(4),251-261)。因此,TrkA抑制可用于治疗恰加斯病和相关的原生动感染。

[0012] Trk抑制剂还可用于治疗与骨重塑调节失调有关的疾病,例如骨质疏松症,类风湿性关节炎和骨转移。骨转移是癌症的常见并发症,多达70%的晚期乳腺癌或前列腺癌患者和约15%-30%的肺癌,结肠癌,胃癌,膀胱癌,子宫癌,直肠癌,甲状腺癌或肾癌患者。骨溶

解性转移可能引起严重疼痛,病理性骨折,危及生命的高钙血症,脊髓压迫和其它神经压迫综合征。由于这些原因,骨转移是癌症的严重且昂贵的并发症。因此,可以诱导增殖成骨细胞凋亡的药剂将是非常有利的。已经在骨折小鼠模型的骨形成区域中观察到TrkA和TrkC受体的表达(K.Asaumi,等Bone(2000)26(6)625-633)。此外,在几乎所有骨形成细胞中都观察到NGF的定位(K.Asaumi等)。最近,证明了pan-Trk抑制剂抑制由神经营养素结合人hFOB成骨细胞中所有三种Trk受体激活的酪氨酸信号传导(J.Pinski,等(2002)62,986-989)。这些数据支持使用Trk抑制剂治疗骨重建疾病(例如癌症患者的骨转移)的基本原理。

[0013] 已知几类Trk激酶的小分子抑制剂可用于治疗疼痛或癌症(Expert Opin.Ther.Patents(2009)19(3))。

[0014] 国际专利申请公开W02006/115452和W02006/087538描述了几类小分子,据称是Trk激酶的抑制剂,其可用于治疗疼痛或癌症。

[0015] 吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物是已知的。例如国际专利申请公开W02008/037477公开了在3-位置携带有烷基、芳基或杂环基的吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物。这些化合物被认为是PI3K和/或mTOR脂质激酶抑制剂。

[0016] PCT专利公开号W02008/058126公开了在3-位置携带有苯基的吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物。这些化合物被认为是Pim-激酶抑制剂。

[0017] 美国专利公开号2006/0094699公开了在3-位置携带有-C(=O)NH-苯基,-C(=O)(4-甲基哌啶基)或-C(=O)NMe(CH₂-三甲基吡唑基)基团的吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物,其用于与糖皮质激素受体激动剂的联合治疗。

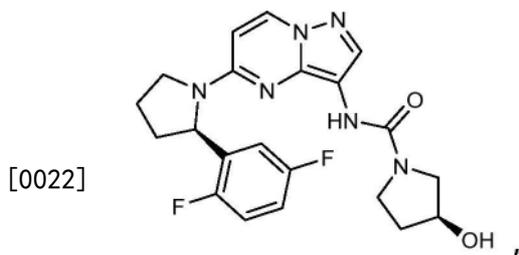
[0018] PCT专利公开号W02010/033941,W02010/048314,W02011/006074和W02011/146336公开了表现出Trk家族蛋白酪氨酸激酶抑制的化合物,其可用于治疗疼痛,癌症,炎症,神经退行性疾病和某些传染病。

[0019] W02010/048314在实施例14A中公开了(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的硫酸氢盐。当根据该文献中的实施例14A的方法制备时,W02010/048314没有公开本文所述的硫酸氢盐的特定形式。特别地,W02010/048314没有公开如下所述的结晶形式(I-HS)。

[0020] 本公开中引用的所有文献,包括科学文章、专利出版物和申请等,其全部内容各自通过引用并入本文。

发明内容

[0021] 本文提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含增溶剂和(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0023] 其药学上可接受的盐,或其组合。

[0024] 在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合的存在量为约0.5重量%至约7重量%。例如,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合可以以约1.5重量%至约2.5重量%的量存在于液体制剂中。

[0025] 在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合在液体制剂中具有约5mg/mL至约50mg/mL的浓度。例如,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合在液体制剂中可以具有约15mg/mL至约35mg/mL的浓度。在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合在液体制剂中具有约20mg/mL的浓度。

[0026] 增溶剂可以选自由环糊精,乙二醇,甘油及其组合组成的组。在一些实施方式中,增溶剂包括环糊精。例如,增溶剂可以选自由 β -环糊精衍生物, γ -环糊精及其组合组成的组。在一些实施方式中,增溶剂包括羟烷基- γ -环糊精。增溶剂可以包括选自由羟烷基- β -环糊精,磺烷基醚- β -环糊精及其组合组成的组中的 β -环糊精。在一些实施方式中,增溶剂包括羟丙基- β -环糊精。

[0027] 在一些实施方式中,增溶剂在液体制剂中的存在量为约5重量%至约35重量%。例如,增溶剂可以以约13重量%至约17重量%的量存在于液体制剂中。

[0028] 液体制剂可以进一步包括缓冲剂。在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸盐缓冲剂,乳酸盐缓冲剂,磷酸盐缓冲剂,马来酸盐缓冲剂,酒石酸盐缓冲剂,琥珀酸盐缓冲剂或乙酸盐缓冲剂中的至少一种。在一些实施方式中,缓冲剂包括乳酸锂,乳酸钠,乳酸钾,乳酸钙,磷酸锂,磷酸钠,磷酸钾,磷酸钙,马来酸锂,马来酸钠,马来酸钾,马来酸钙,酒石酸钠,酒石酸钾,酒石酸钙,琥珀酸锂,琥珀酸钠,琥珀酸钾,琥珀酸钙,乙酸钠,乙酸钾或乙酸钙中的至少一种。缓冲剂可以是柠檬酸盐缓冲剂。柠檬酸盐缓冲剂可以包括柠檬酸锂一水合物,柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸锂二水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸锂三水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸锂四水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸锂五水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸锂六水合物,柠檬酸六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸锂七水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物或柠檬酸钙七水合物中的至少一种。在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水

合物,柠檬酸钠六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物或柠檬酸钙七水合物中的至少一种。

[0029] 在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸钠二水合物。

[0030] 缓冲剂可以以约0.1重量%至约5重量%的量存在于液体制剂中。

[0031] 在一些实施方式中,制剂具有约2至约7的pH。例如,制剂可以具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,制剂具有约3.5的pH。

[0032] 在一些实施方式中,调节液体制剂的pH。在一些这样的实施方式中,制剂包括碱。例如,碱可以包括柠檬酸盐,乳酸盐,磷酸盐,马来酸盐,酒石酸盐,琥珀酸盐,乙酸盐,碳酸盐和氢氧化物中的一种或多种。在一些实施方式中,制剂包括乳酸锂,乳酸钠,乳酸钾,乳酸钙,磷酸锂,磷酸钠,磷酸钾,磷酸钙,马来酸锂,马来酸钠,马来酸钾,马来酸钙,酒石酸锂,酒石酸钠,酒石酸钾,酒石酸钙,琥珀酸锂,琥珀酸钠,琥珀酸钾,琥珀酸钙,醋酸锂,醋酸钠,醋酸钾,醋酸钙,碳酸钠,碳酸钾,碳酸钙,碳酸氢钠,碳酸氢钾,碳酸氢钙,氢氧化钠,氢氧化钾,氢氧化钙或其组合中的至少一种。在一些实施方式中,碱包括柠檬酸盐。柠檬酸盐可以包括柠檬酸锂一水合物,柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸锂二水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸锂三水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸锂四水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸锂五水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸锂六水合物,柠檬酸钠六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸锂七水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物或柠檬酸钙七水合物中的至少一种。在一些实施方式中,液体制剂包括柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸钠六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物或柠檬酸钙七水合物中的至少一种。

[0033] 在一些实施方式中,碱包括柠檬酸钠二水合物。

[0034] 在一些实施方式中,制剂包含约0.1重量%至约5重量%的碱,例如柠檬酸盐(例如柠檬酸钠二水合物)。

[0035] 液体制剂可以进一步包括甜味剂。在一些实施方式中,甜味剂包括糖。糖可以包括蔗糖。在一些实施方式中,甜味剂包括强甜味剂。强甜味剂可以包括三氯蔗糖。

[0036] 在一些实施方式中,甜味剂在液体制剂中的存在量为约30重量%至约70重量%。例如,甜味剂可以以约45重量%至约55重量%的量存在于液体制剂中。

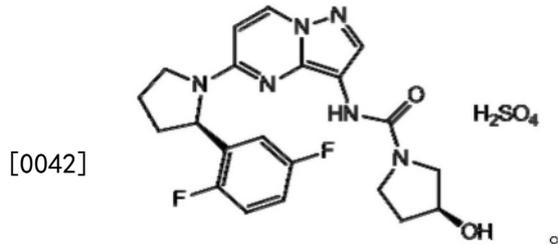
[0037] 液体制剂可以进一步包括苦味掩蔽剂。在一些实施方式中,苦味掩蔽剂在液体制剂中的存在量为约0.01重量%至约2重量%。例如,苦味掩蔽剂可以以约0.2重量%至约0.5重量%的量存在于液体制剂中。

[0038] 液体制剂可以进一步包括调味剂。调味剂可以包括天然调味剂,天然水果调味剂,人造调味剂,人造水果调味剂或增味剂中的至少一种。在一些实施方式中,调味剂在液体制剂中的存在量为约0.01重量%至约2重量%。例如,调味剂在液体制剂中的存在量可以为约0.01重量%至约0.1重量%。

[0039] 在一些实施方式中,液体制剂还包含着色剂。

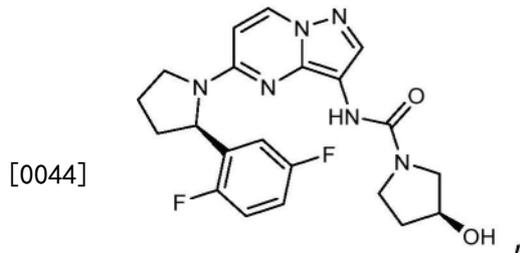
[0040] 在一些实施方式中,液体制剂由式(I)化合物的药学上可接受的盐制备。例如,液体制剂可以由式(I)化合物的硫酸氢盐制备。

[0041] 在一些实施方式中,液体制剂由式(I)化合物的结晶形式制备。在一些实施方式中,结晶形式具有式(I-HS) :



I-HS

[0043] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I) :



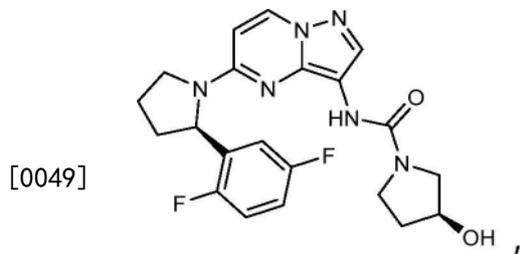
(I)

[0045] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含增溶剂和缓冲剂。液体制剂的pH为约2.5至约5.5。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约15mg/mL至约35mg/mL。

[0046] 在一些实施方式中,液体制剂具有约3至约4的pH。

[0047] 在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸钠二水合物。

[0048] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I) :



(I)

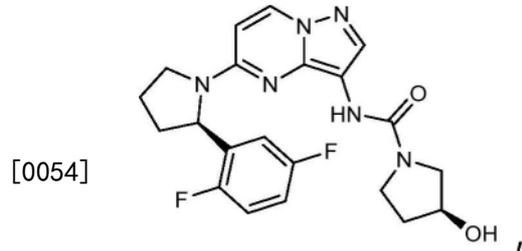
[0050] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含增溶剂和碱。液体制剂的pH为约2.5至约5.5。在一些实施方式中,碱包括柠檬酸盐(例如柠檬酸钠)。式(I)化合物,其药学上

可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约15mg/mL至约35mg/mL。

[0051] 在一些实施方式中,液体制剂具有约3至约4的pH。

[0052] 在一些实施方式中,碱包括柠檬酸钠二水合物。

[0053] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



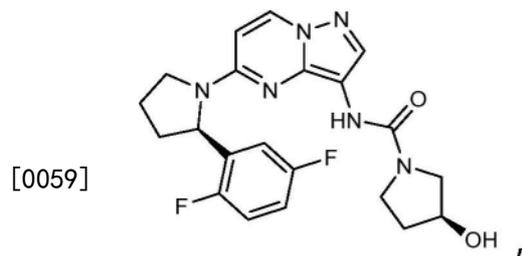
(I)

[0055] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含增溶剂,缓冲剂,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂。液体制剂的pH为约3至约4。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约15mg/mL至约35mg/mL。

[0056] 在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸钠二水合物。

[0057] 在一些实施方式中,甜味剂包括蔗糖。

[0058] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

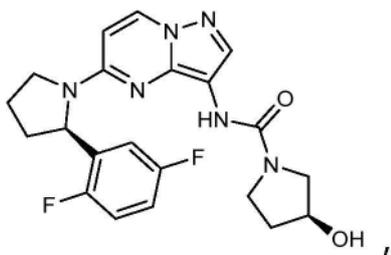
[0060] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含增溶剂,碱,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂。液体制剂的pH为约3至约4。在一些实施方式中,碱包括柠檬酸盐(例如柠檬酸钠)。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约15mg/mL至约35mg/mL。

[0061] 在一些实施方式中,碱包括柠檬酸钠二水合物。

[0062] 在一些实施方式中,甜味剂包括蔗糖。

[0063] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

[0064]

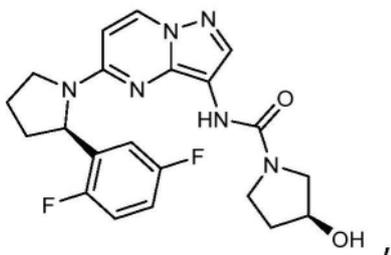


(I)

[0065] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含存在量为约5重量%至约35重量%的增溶剂和存在量为约0.1重量%至约5重量%的缓冲剂。液体制剂的pH为约2.5至约5.5。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约20mg/mL至约30mg/mL。

[0066] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

[0067]

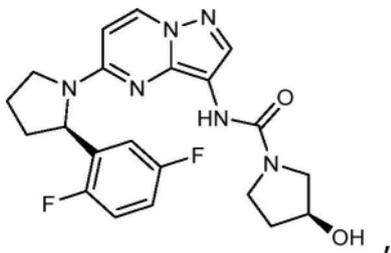


(I)

[0068] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含存在量为约5重量%至约35重量%的增溶剂;存在量为约0.1重量%至约5重量%的缓冲剂;存在量为约30重量%至约70重量%的甜味剂;存在量为约0.2重量%至约0.5重量%的苦味掩蔽剂;和存在量为约0.01重量%至约2重量%的调味剂。液体制剂的pH为约2.5至约5.5。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约20mg/mL至约30mg/mL。

[0069] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

[0070]

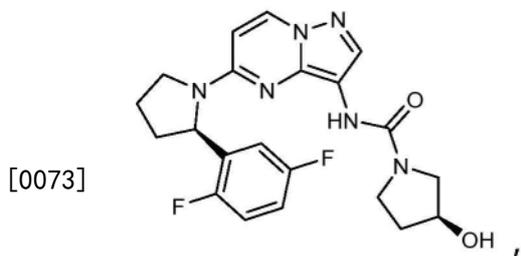


(I)

[0071] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂还包含存在量为约5重量%至约35重量%的增溶剂;存在量为约0.1重量%至约5重量%的碱;存在量为约30重量%至约70重量%的甜味剂;存在量为约0.2重量%至约0.5重量%的苦味掩蔽剂;和存在量为约0.01重

量%至约2重量%的调味剂。液体制剂的pH为约2.5至约5.5。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约20mg/mL至约30mg/mL。

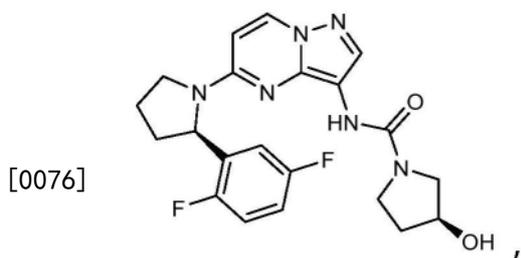
[0072] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0074] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂包含存在量为约5重量%至约35重量%的增溶剂。液体制剂还包含存在量为约0.1重量%至约5重量%的包含柠檬酸钠二水合物的缓冲剂。液体制剂还包含存在量为约30重量%至约70重量%的包含蔗糖的甜味剂。液体制剂还包含存在量为约0.2重量%至约0.5重量%的苦味掩蔽剂。液体制剂还包含存在量为约0.01重量%至约2重量%的调味剂。液体制剂的pH为约3至约4。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约20mg/mL至约30mg/mL。

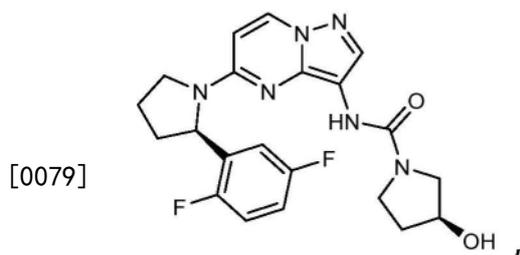
[0075] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0077] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂包含存在量为约5重量%至约35重量%的增溶剂。液体制剂还包含存在量为约0.1重量%至约5重量%的包含柠檬酸钠二水合物的碱。液体制剂还包含存在量为约30重量%至约70重量%的包含蔗糖的甜味剂。液体制剂还包含存在量为约0.2重量%至约0.5重量%的苦味掩蔽剂。液体制剂还包含存在量为约0.01重量%至约2重量%的调味剂。液体制剂的pH为约3至约4。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约20mg/mL至约30mg/mL。

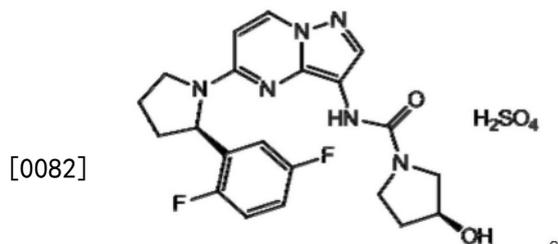
[0078] 本文还提供了一种液体制剂,所述液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0080] 其药学上可接受的盐,或其组合。液体制剂包含存在量为约5重量%至约35重量%的增溶剂。液体制剂还包含存在量为约0.1重量%至约5重量%的柠檬酸钠二水合物。液体制剂还包含存在量为约30重量%至约70重量%的包含蔗糖的甜味剂。液体制剂还包含存在量为约0.2重量%至约0.5重量%的苦味掩蔽剂。液体制剂还包含存在量为约0.01重量%至约2重量%的调味剂。液体制剂的pH为约3至约4。式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合在液体制剂中的浓度为约20mg/mL至约30mg/mL。

[0081] 本文提供的液体制剂可以由式(I)化合物的结晶形式制备,其具有式(I-HS):



I-HS

[0083] 在一些实施方式中,结晶形式可以特征在于在 18.4 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 19.2 ± 0.2 , 20.2 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 21.5 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 15.3 ± 0.2 , 16.5 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 19.2 ± 0.2 , 19.9 ± 0.2 , 20.2 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 21.5 ± 0.2 , 22.1 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 , 24.0 ± 0.2 , 24.4 ± 0.2 , 25.6 ± 0.2 , 26.5 ± 0.2 , 27.6 ± 0.2 , 28.2 ± 0.2 , 28.7 ± 0.2 , 30.8 ± 0.2 和 38.5 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。

[0084] 本文还提供了治疗有需要的患者的癌症的方法。该方法包括鉴定有需要的患有吞咽困难的患者,并向患者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0085] 本文还提供了治疗有需要的患者的癌症的方法,其包括鉴定有需要的患有吞咽困难的患者,确定癌症是否由Trk激酶介导,以及如果癌症是被确定为由Trk激酶介导,则向患者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。本文还提供了治疗有需要的患者的癌症的方法,其包括鉴定有需要的患有吞咽困难的患者,鉴定由Trk激酶介导的癌症并向患者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0086] 本文还提供了治疗有需要的患者的癌症的方法,其包括向患者施用治疗有效量的

本文提供的液体制剂。

[0087] 在一些实施方式中,癌症选自由头颈癌,咽喉癌,食道癌或其组合组成的组。

[0088] 在一些实施方式中,患者是婴儿,儿童,青少年或老年患者。

[0089] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的癌症的方法。该方法包括确定癌症是否与Trk激酶的过表达,激活,扩增和突变中的一种或多种相关和/或表现出它们,并且如果癌症被确定为与Trk激酶的过表达,激活,扩增和突变中的一种或多种相关和/或表现出它们,则向受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。本文还提供了用于治疗有需要的受试者的癌症的方法。该方法包括鉴定癌症与Trk激酶的过表达,激活,扩增和突变中的一种或多种相关和/或表现出它们,并向受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0090] 本文还提供了治疗有需要的受试者的癌症的方法,其包括确定癌症是否由Trk激酶介导,并且如果确定癌症是由Trk激酶介导,则向受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。本文还提供了治疗有需要的受试者的癌症的方法,其包括鉴定由Trk激酶介导的癌症,并向受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0091] 本文还提供了治疗受试者的方法。该方法包括对从受试者获得的样品进行测定,以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白或其表达或水平的失调。该方法还包括向确定具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或水平的失调的受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0092] 在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白或其表达或水平的失调是导致Trk融合蛋白翻译的染色体翻译。Trk融合蛋白可以选自由以下组成的组:TP53-TrkA,LMNA-TrkA,CD74-TrkA,TFG-TrkA,TPM3-TrkA,NFASC-TrkA,BCAN-TrkA,MPRIIP-TrkA,TPR-TrkA,RFWD2-TrkA,IRF2BP2-TrkA,SQSTM1-TrkA,SSBP2-TrkA,RABGAP1L-TrkA,C18ORF8-TrkA,RNF213-TrkA,TBC1D22A-TrkA,C20ORF112-TrkA,DNER-TrkA,ARHGEF2-TrkA,CHTOP-TrkA,PPL-TrkA,PLEKHA6-TrkA,PEAR1-TrkA,MRPL24-TrkA,MDM4-TrkA,LRRC71-TrkA,GRIPAP1-TrkA,EPS15-TrkA,DYNC2H1-TrkA,CEL-TrkA,EPHB2-TrkA,TGF-TrkA,NACC2-TrkB,QKI-TrkB,AFAP1-TrkB,PAN3-TrkB,SQSTM1-TrkB,TRIM24-TrkB,VCL-TrkB,AGBL4-TrkB,DAB2IP-TrkB,ETV6-TrkC,BTBD1-TrkC,LYN-TrkC,RBPMS-TrkC,EML4-TrkC,HOMER2-TrkC,TFG-TrkC,FAT1-TrkC和TEL-TrkC。

[0093] 在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白或其表达或活性的失调是基因中的一个或多个点突变。NTRK基因可以是NTRK1基因,并且NTRK1基因中的一个或多个点突变可以导致在以下氨基酸位置中的一个或多个处具有取代的TrkA蛋白的翻译:33,336,337,324,420,444,517,538,649,682,683,702和1879。

[0094] 在一些实施方式中,NTRK1基因中的一个或多个点突变导致具有一个或多个以下氨基酸取代的TrkA蛋白的翻译:R33W,A336E,A337T,R324Q,R324W,V420M,R444Q,R444W,G517R,G517V,K538A,R649W,R649L,R682S,V683G,R702C和C1879T。

[0095] 本发明内容和以下详细描述中描述的特征和优点并非包括一切。鉴于附图,说明书和权利要求,许多附加特征和优点对于本领域普通技术人员将是显而易见的。

附图说明

[0096] 图1示出了根据一个实施方式根据实施例2制备的结晶形式(I-HS)的X射线粉末衍

射 (XRPD) 图。

[0097] 图2示出了根据一个实施方式根据实施例2制备的结晶形式 (I-HS) 的同时热重/差示热分析仪 (TG/DTA) 曲线。

[0098] 图3示出了根据一个实施方式根据实施例2制备的结晶形式 (I-HS) 的差示扫描量热法 (DSC) 曲线。

[0099] 图4A和4B示出了根据一个实施方式根据实施例2在 (A) 非偏振和 (B) 偏振光下制备的结晶形式 (I-HS) 的偏振光显微镜 (PLM) 图像。

[0100] 图5示出了根据一个实施方式根据实施例2制备的结晶形式 (I-HS) 的动态蒸汽吸附 (DVS) 等温曲线。

[0101] 图6示出了根据一个实施方式根据实施例2制备的结晶形式 (I-HS) 的红外 (IR) 光谱曲线。

[0102] 图7示出了根据一个实施方式的式I化合物的无定形游离碱形式的XRPD图。

[0103] 图8示出了结晶形式 (I-HS) 的X射线粉末衍射 (XRPD) 图。

[0104] 图9是用于结晶形式 (I-HS) 的儿科溶液制剂配方说明书的象形图。

[0105] 图10是一组六个MR图像,显示被诊断患有婴儿纤维肉瘤的患者颈部的脑。(A) 和 (B) 是脑和颈部的MR图像,显示20mm×19mm×18mm的过度增强肿块,包括中颅窝的颅底,在手术切除后五周,位于内耳结构的前方和下方。(C) 和 (D) 是脑和颈部的MR图像,显示在向患者施用(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺BID的第1周期结束(第28天)时,从基线开始,尺寸的显著间隔减少和质量增加超过90%。(E) 和 (F) 是在第2周期结束时拍摄的脑和颈部的MR图像,其确认尺寸减小并且显示增强的持续减少,证实了部分响应。

[0106] 图11是示例性野生型TrkA多肽 (SEQ ID NO:1) 的序列列表。

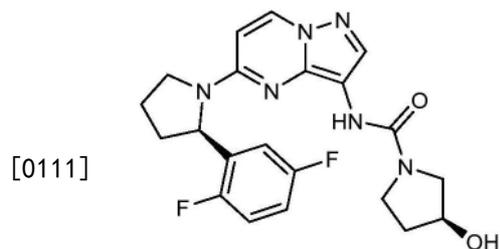
[0107] 图12是示例性野生型TrkA多肽 (SEQ ID NO:2) 的序列列表。

[0108] 图13是示例性野生型TrkA多肽 (SEQ ID NO:3) 的序列列表。

具体实施方式

[0109] 本公开涉及(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其药学上可接受的盐或其组合的液体制剂,以及该液体制剂在治疗疼痛,炎症,癌症和某些传染病中的用途。

[0110] 本发明提供了一种液体制剂,其包含增溶剂和(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺:



(I)

[0112] 其药学上可接受的盐,或其组合。

[0113] 在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合可以以约0.5重量%至约7%,约1重量%至约3重量%,或约1.5重量%至约2.5重量%的量存在于液体制剂中。例如,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合可以以约0.5重量%,1重量%,2重量%,3重量%,4重量%,5重量%,6重量%,或约7重量%的量存在于液体制剂中。在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合可以以约2重量%的量存在于液体制剂中。

[0114] 在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合在液体制剂中具有约5mg/mL至约50mg/mL,约15mg/mL至约35mg/mL,或约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。例如,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合可以在液体制剂中具有约5mg/mL,10mg/mL,15mg/mL,20mg/mL,25mg/mL,30mg/mL,35mg/mL,40mg/mL,45mg/mL或约50mg/mL的浓度。在一些实施方式中,式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合可以在液体制剂中以约20mg/mL的浓度存在。

[0115] 本文提供的制剂可以包括增溶剂,其起到增加式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合的溶解度的作用。增溶剂是具有一个或多个羟基的极性有机化合物。与在没有增溶剂的相似pH范围内的式(I)化合物的水相溶解相比,增溶剂还能够在水溶液中获得更高浓度的式(I)化合物(例如游离碱)。增溶剂可以包括例如环糊精,乙二醇,甘油,聚乙二醇,自乳化药物递送系统(SEDDS),或其组合。

[0116] 在一些实施方式中,环糊精可以包括 α -环糊精, β -环糊精衍生物, δ -环糊精衍生物, γ -环糊精或其组合衍生物。例如,增溶剂可以包括环糊精。增溶剂可以包括 β -环糊精衍生物, γ -环糊精或其混合物。例如,增溶剂可以包括羟烷基- γ -环糊精。在一些实施方式中,增溶剂包括 β -环糊精,其包括羟烷基- β -环糊精(例如羟丙基- β -环糊精)或磺烷基醚- β -环糊精(例如磺丁基醚- β -环糊精)中的至少一种。例如,增溶剂的液体可以包括羟丙基- β -环糊精。在一些实施方式中,环糊精是CAVASOL® W7 HP(羟丙基- β -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是KLEPTOSE®HP(羟丙基- β -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是CAVAMAX® W7(β -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是CAPTISOL®(磺烷基醚- β -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是CAVASOL® W7M(甲基- β -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是CAVASOL® W8 HP(羟丙基- γ -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是CAVAMAX® W8(γ -环糊精)。在一些实施方式中,环糊精是CAVAMAX® W6(α -环糊精)。

[0117] SEDDS是油,表面活性剂,溶剂和共溶剂/表面活性剂各向同性混合物,可用于改善高亲脂性药物化合物的口服吸收。参见例如Tarate, B.等人,Recent Patents on Drug Delivery&Formulation(2014)Vol.8。

[0118] 在一些实施方式中,聚(乙二醇)分子是线性聚合物。直链PEG的分子量可以为约1000Da至约100000Da。例如,本文使用的直链PEG可以具有约100000Da,95000Da,90000Da,85000Da,80000Da,75000Da,70000Da,65000Da,60000Da,55000Da,50000Da,45000Da,40000Da,35000Da,30000Da,25000Da,20000Da,15000Da,10000Da,9000Da,8000Da,7000Da,6000Da,5000Da,4000Da,3000Da,2000Da或1000Da的分子量。在一些实施方式中,直链PEG的分子量为约1000Da至约50000Da。在一些实施方式中,直链PEG的分子量为约1000Da至约

40000Da。在一些实施方式中,直链PEG的分子量为约5000Da至约40000Da。在一些实施方式中,直链PEG的分子量为约5000Da至约20000Da。

[0119] 在一些实施方式中,聚(乙二醇)分子是支化聚合物。支链PEG的分子量可以为约1000Da至约100000Da。例如,本文使用的支链PEG可以具有约100000Da,95000Da,90000Da,85000Da,80000Da,75000Da,70000Da,65000Da,60000Da,55000Da,50000Da,45000Da,40000Da,35000Da,30000Da,25000Da,20000Da,15000Da,10000Da,9000Da,8000Da,7000Da,6000Da,5000Da,4000Da,3000Da,2000Da或1000Da的分子量。在一些实施方式中,支链PEG的分子量为约1000Da至约50000Da。在一些实施方式中,支链PEG的分子量为约1000Da至约40000Da。在一些实施方式中,支链PEG的分子量为约5000Da至约40000Da。在一些实施方式中,支链PEG的分子量为约5000Da至约20000Da。

[0120] 在一些实施方式中,增溶剂可以以约5重量%至约35重量%,约10重量%至约25重量%,约10重量%至约20重量%,或约13重量%至约17重量%的量存在于液体制剂中。例如,增溶剂可以以约5重量%,7重量%,10重量%,13重量%,15重量%,17重量%,20重量%,23重量%,26重量%,30重量%或约35重量%的量存在。在一些实施方式中,增溶剂在液体制剂中的存在量为15重量%。

[0121] 可以向液体制剂中加入缓冲剂以将制剂的pH调节至所需的pH。在一些实施方式中,可以加入缓冲剂,其量可以将制剂的pH调节至约2至约7,约2.5至约5.5,或约3至约4的pH。例如,可以加入缓冲剂,其量将制剂的pH调节至约2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,6.0或约7.0的pH。在一些实施方式中,可以加入缓冲剂,其量将制剂的pH调节至约3.5的pH。在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸盐缓冲剂,乳酸盐缓冲剂,磷酸盐缓冲剂,马来酸盐缓冲剂,酒石酸盐缓冲剂,琥珀酸缓冲剂,乙酸盐缓冲剂或其组合。在一些实施方式中,缓冲器包括乳酸锂,乳酸钠,乳酸钾,乳酸钙,磷酸锂,磷酸钠,磷酸钾,磷酸钙,马来酸盐锂,马来酸钠,马来酸钾,马来酸钙,酒石酸锂,酒石酸钠,钾酒石酸盐,酒石酸钙,琥珀酸锂,琥珀酸钠,琥珀酸钾,琥珀酸钙,乙酸盐,乙酸钠,乙酸盐,乙酸盐或其组合。在一些实施方式中,缓冲剂是柠檬酸盐缓冲剂。例如,柠檬酸盐缓冲剂可以包括柠檬酸锂一水合物,柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸锂二水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸锂三水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸锂四水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸锂五水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸锂六水合物,柠檬酸六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸锂七水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物,柠檬酸钙七水合物或其混合物中的至少一种。缓冲剂可以包括柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸钠六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物或柠檬酸钙七水合物。在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸钠二水合物。

[0122] 在一些实施方式中,缓冲剂以约0.1重量%至约5重量%,约0.3重量%至约4重量%,约0.5重量%至约3.5重量%,约0.6重量%至约3重量%,0.7重量%至约2.5重量%,

约0.7重量%至约2.0重量%,或约0.7重量%至约1.5重量%的量存在于液体制剂中。例如,缓冲剂可以以约0.1重量%,0.3重量%,0.5重量%,0.7重量%,0.9重量%,1.1重量%,1.5重量%,2.0重量%,2.5重量%,3.0重量%,3.5重量%,4.0重量%,或约5重量%的量存在于液体制剂中。在一些实施方式中,缓冲剂在液体制剂中的存在量为约0.9重量%。

[0123] 可以将液体制剂的pH调节至所需的pH。在一些实施方式中,可以将制剂的pH调节至约2至约7,约2.5至约5.5,或约3至约4的pH。例如,可以将制剂的pH调节至约2.0,2.5,3.0,3.5,4.0,4.5,5.0,6.0或约7.0的pH。在一些实施方式中,将制剂的pH调节至约3.5的pH。在一些这样的实施方式中,当液体制剂的pH调节至所需pH时,液体制剂包括碱。在一些实施方式中,碱选自柠檬酸盐,乳酸盐,磷酸盐,马来酸盐,酒石酸盐,琥珀酸盐,乙酸盐,碳酸盐,氢氧化物或其组合。在一些实施方式中,碱包括乳酸锂,乳酸钠,乳酸钾,乳酸钙,磷酸锂,磷酸钠,磷酸钾,磷酸钙,马来酸盐锂,马来酸钠,马来酸钾,马来酸钙,酒石酸锂,酒石酸钠,钾酒石酸盐,酒石酸钙,丁二酸锂,琥珀酸钠,琥珀酸钾,琥珀酸钙,乙酸盐,乙酸钠,乙酸钾,乙酸盐,碳酸钠,碳酸钾,碳酸钙,碳酸氢钠,碳酸氢钾,碳酸氢钙,氢氧化钠,氢氧化钾,氢氧化钙或其组合。在一些实施方式中,碱包括柠檬酸盐。例如,柠檬酸可以包括柠檬酸锂一水合物,柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸锂二水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸锂三水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸锂四水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸锂五水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸锂六水合物,柠檬酸六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸锂七水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物,柠檬酸钙七水合物或其混合物中的至少一种。碱可以包括柠檬酸钠一水合物,柠檬酸钾一水合物,柠檬酸钙一水合物,柠檬酸钠二水合物,柠檬酸钾二水合物,柠檬酸钙二水合物,柠檬酸钠三水合物,柠檬酸钾三水合物,柠檬酸钙三水合物,柠檬酸钠四水合物,柠檬酸钾四水合物,柠檬酸钙四水合物,柠檬酸钠五水合物,柠檬酸钾五水合物,柠檬酸钙五水合物,柠檬酸钠六水合物,柠檬酸钾六水合物,柠檬酸钙六水合物,柠檬酸钠七水合物,柠檬酸钾七水合物或柠檬酸钙七水合物。在一些实施方式中,碱包括柠檬酸钠二水合物。

[0124] 在一些实施方式中,碱以约0.1重量%至约5重量%,约0.3重量%至约4重量%,约0.5重量%至约3.5重量%,约0.6重量%至约3重量%,0.7重量%至约2.5重量%,约0.7重量%至约2.0重量%,或约0.7重量%至约1.5重量%的量存在于液体制剂中。例如,碱可以以约0.1重量%,0.3重量%,0.5重量%,0.7重量%,0.9重量%,1.1重量%,1.5重量%,2.0重量%,2.5重量%,3.0重量%,3.5重量%,4.0重量%,或约5重量%的量存在于液体制剂中。在一些实施方式中,碱在液体制剂中的存在量为约0.9重量%。例如,柠檬酸盐以约0.1重量%至约5重量%,约0.3重量%至约4重量%,约0.5重量%至约3.5重量%,约0.6重量%至约3重量%,0.7重量%至约2.5重量%,约0.7重量%至约2.0重量%,或约0.7重量%至约1.5重量%的量存在于液体制剂中。在一些实施方式中,柠檬酸盐可以以约0.1重量%,0.3重量%,0.5重量%,0.7重量%,0.9重量%,1.1重量%,1.5重量%,2.0重量%,2.5重量%,3.0重量%,3.5重量%,4.0重量%,或约5重量%的量存在于液体制剂中。例如,柠檬酸盐在液体制剂中的存在量为约0.9重量%。

[0125] 液体制剂可以具有约2至约8,约2.5至约6,约3至约4,或约3至约4的pH。例如,液体

制剂可以具有约2, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5或约5的pH。在一些实施方式中, 制剂可以具有约3.5的pH。

[0126] 可以将甜味剂添加到液体制剂中以使其不那么苦或可口, 或两者。适合包含在制剂中的甜味剂可以包括天然和人造甜味剂。在一些实施方式中, 甜味剂是人造甜味剂并且可以包括强力或高强度的甜味剂。强甜味剂通常用作糖取代品或糖替代品, 因为它们比糖更甜, 但在添加到食物中时仅贡献少量至无卡路里。示例性的强甜味剂包括山梨糖醇, 蔗糖, 糖精如糖精钠, 环己基氨基磺酸盐如环己基氨基磺酸钠, 阿斯巴甜, 三氯蔗糖, 奇异果甜蛋白和乙酰磺胺酸钾。在一些实施方式中, 甜味剂是天然糖。例如, 糖类如单糖, 二糖和多糖可用于本文提供的液体制剂中。糖可以包括木糖, 核糖, 葡萄糖, 甘露糖, 半乳糖, 果糖, 右旋糖, 蔗糖, 麦芽糖, 部分水解的淀粉或玉米糖浆, 和糖醇如山梨糖醇, 木糖醇, 甘露糖醇, 甘油及其组合。在一些实施方式中, 液体制剂还包含甜味剂。甜味剂可以包括糖。例如, 甜味剂可以包括蔗糖。例如, 甜味剂可以是一种甜味剂ORA-SWEET®, 包括纯净水, 蔗糖, 甘油, 山梨糖醇和调味剂; 用柠檬酸和磷酸钠缓冲; 并用对羟基苯甲酸甲酯和山梨酸钾保存。甜味剂还可以包含强甜味剂。强甜味剂可以包括三氯蔗糖。例如, 甜味剂可以是一种无糖甜味剂ORA-SWEETSF®, 包括纯净水, 甘油, 山梨糖醇, 糖精钠, 黄原胶和调味剂; 用柠檬酸和柠檬酸钠缓冲; 并用对羟基苯甲酸甲酯(0.03%), 山梨酸钾(0.1%)和对羟基苯甲酸丙酯(0.008%)保存。

[0127] 在一些实施方式中, 甜味剂包括蔗糖, 甘油, 山梨糖醇和调味剂中的一种或多种。在一些这样的实施方式中, 甜味剂还包括柠檬酸和磷酸钠。在一些这样的实施方式中, 甜味剂可以包括防腐剂, 例如对羟基苯甲酸甲酯和山梨酸钾。例如, 甜味剂包括蔗糖, 甘油, 山梨糖醇, 调味剂, 柠檬酸, 磷酸钠, 对羟基苯甲酸甲酯和山梨酸钾。在一些实施方式中, 甜味剂包括甘油, 山梨糖醇, 糖精钠, 黄原胶和调味剂中的一种或多种。在一些这样的实施方式中, 甜味剂还包含柠檬酸和柠檬酸钠。在一些这样的实施方式中, 甜味剂包括防腐剂, 例如对羟基苯甲酸甲酯, 山梨酸钾和对羟基苯甲酸丙酯。例如, 甜味剂可以包括甘油, 山梨糖醇, 糖精钠, 黄原胶, 调味剂, 柠檬酸和柠檬酸钠, 对羟基苯甲酸甲酯(0.03%), 山梨酸钾(0.1%)和对羟基苯甲酸丙酯(0.008%)。

[0128] 在一些实施方式中, 甜味剂以约30重量%至约70重量%, 约35重量%至约65重量%, 约40重量%至约60重量%, 或约45重量%至约55重量%的量存在于液体制剂中。例如, 甜味剂可以以约30重量%, 35重量%, 40重量%, 45重量%, 50重量%, 55重量%, 60重量%, 65重量%, 或约70重量%的量存在于液体制剂中。在一些实施方式中, 甜味剂在液体制剂中的存在量为约50重量%。

[0129] 在一些实施方式中, 液体制剂还包含苦味掩蔽剂。苦味掩蔽剂可以包括231a12天然掩蔽型香料(Abelei®), 231a39天然苦味掩蔽型香料(Abelei®), 苦味掩蔽香料(天然)(FONA®)和FINATECH味道改良剂香料(天然)。

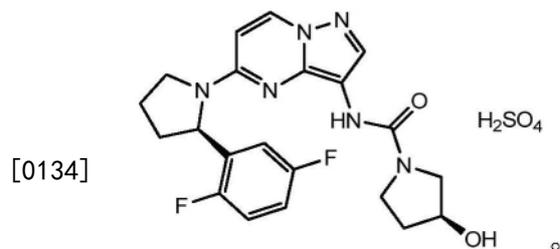
[0130] 苦味掩蔽剂可以以约0.01重量%至约2重量%, 约0.1重量%至约1.0重量%, 或约0.2重量%至约0.5重量%的量存在于液体制剂中。例如, 苦味掩蔽剂可以以约0.01重量%, 0.1重量%, 0.2重量%, 0.3重量%, 0.4重量%, 0.5重量%, 0.7重量%, 1.0重量%, 1.5重量%或2.0重量%的量存在于液体制剂中。在一些实施方式中, 苦味掩蔽剂在液体制剂中的

存在量为约0.4重量%。

[0131] 调味剂可以包含在液体制剂中,使得最终制剂具有基本上无苦和可口的味道。调味剂可以包括天然调味剂,天然水果调味剂,人造调味剂,人造水果调味剂,增味剂或其混合物中的至少一种。示例性调味剂可以在例如US CFR 21§172.515(2015年4月1日)中找到,其全部内容通过引用并入。例如,肉桂,覆盆子,橙,枫,奶油糖,甘草(欧亚甘草)糖浆,水果,浆果,香草,金合欢糖浆,古柯,巧克力薄荷,野樱桃,核桃,圣草,泡泡糖,葡萄柚,石灰,棉花糖,瓜,咖啡,桃,柠檬,茴香,杏,蜂蜜,薄荷,冬青和樱桃。在一些实施方式中,调味剂可以包括FONATECH®天然调味剂。调味剂以约0.01重量%至约2重量%,约0.01重量%至约0.1重量%,或约0.2重量%至约0.5重量%的量存在于液体制剂中。例如,调味剂可以以约0.01重量%,0.1重量%,0.2重量%,0.3重量%,0.4重量%,0.5重量%,0.7重量%,1.0重量%,1.5重量%或2.0重量%的量存在。在一些实施方式中,调味剂可以以约0.5重量%的量存在于液体制剂中。

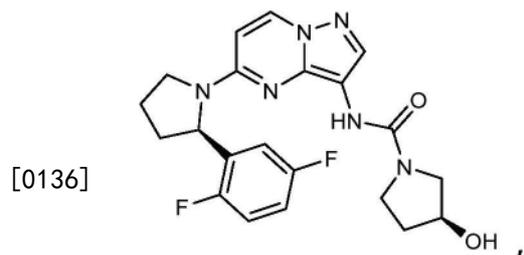
[0132] 液体制剂还可以包含着色剂。

[0133] 本文提供的液体制剂可以由式(I)化合物的结晶形式制备。结晶形式可以是式(I-HS):



I-HS

[0135] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

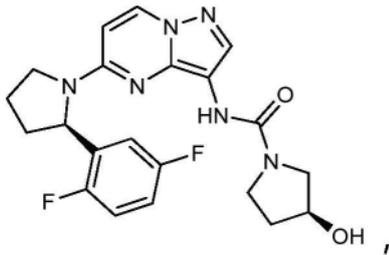


(I)

[0137] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂和缓冲剂。在一些实施方式中,制剂具有约2.5至约5.5的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物具有约15mg/mL至约35mg/mL的浓度。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH,并且式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其组合以约15mg/mL至约35mg/mL的浓度存在于液体制剂中。缓冲剂可以包括柠檬酸钠二水合物。

[0138] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

[0139]

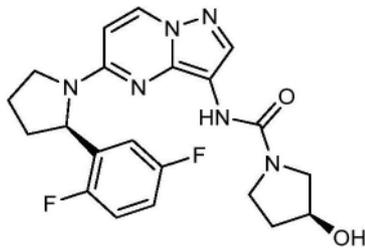


(I)

[0140] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂和碱。在一些实施方式中,制剂具有约2.5至约5.5的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物具有约15mg/mL至约35mg/mL的浓度。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH,并且式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其组合以约15mg/mL至约35mg/mL的浓度存在于液体制剂中。碱可以包括柠檬酸钠二水合物。

[0141] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

[0142]

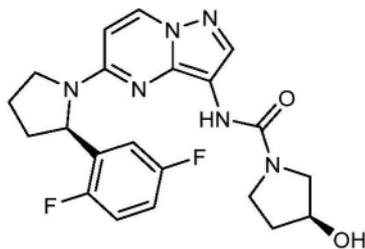


(I)

[0143] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂,缓冲剂,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH,并且式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其组合以约15mg/mL至约35mg/mL的浓度存在于液体制剂中。在一些实施方式中,缓冲剂包括柠檬酸钠二水合物。在一些实施方式中,甜味剂包括蔗糖。

[0144] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):

[0145]

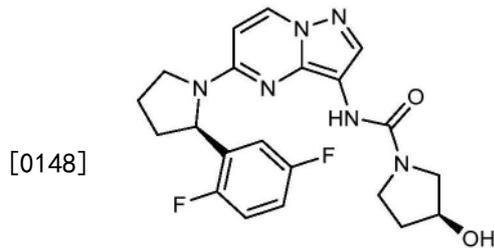


(I)

[0146] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂,碱,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH,并且式(I)化合物或其药学上可接受的盐或其组合以约15mg/mL至约35mg/mL的浓度存在于液体制剂中。在一些实施方式中,碱包括柠檬酸钠二水合物。在一些实施方式中,甜味剂包括蔗糖。

[0147] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-

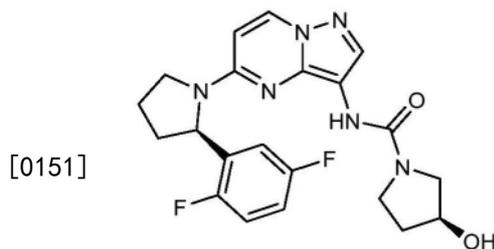
1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0149] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂,缓冲剂,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂,其中制剂具有约3至约4的pH。

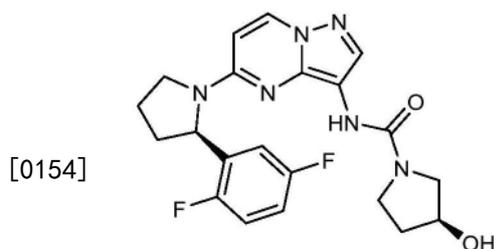
[0150] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0152] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂,碱,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂,其中制剂具有约3至约4的pH。

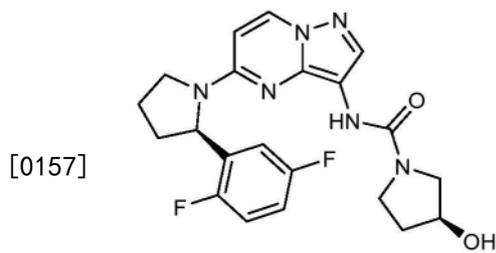
[0153] 文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0155] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂,缓冲剂,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂,其中式(I)化合物在液体制剂中具有约15mg/mL至约35mg/mL的浓度。

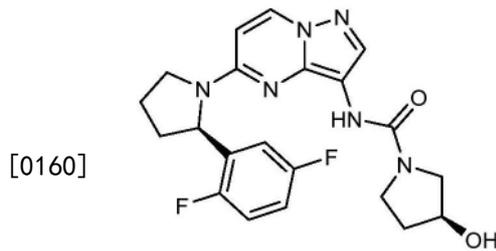
[0156] 本文还提供了一种液体制剂,其包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0158] 其药学上可接受的盐,或其组合,增溶剂,碱,甜味剂,苦味掩蔽剂和调味剂,其中式(I)化合物在液体制剂中具有约15mg/mL至约35mg/mL的浓度。

[0159] 本文还提供了一种液体制剂,其包含:(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



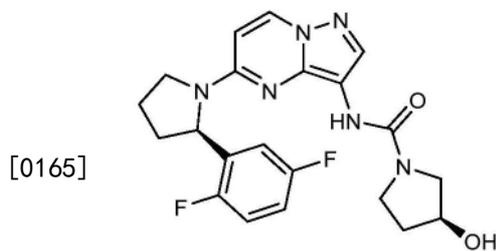
(I)

[0161] 其药学上可接受的盐,或其组合;

[0162] (b) 增溶剂,其存在量为约5%重量至约35%重量;和

[0163] (c) 缓冲剂,其存在量为约0.1%重量至约5%重量。在一些实施方式中,缓冲剂包含柠檬酸钠脱水物。在一些实施方式中,制剂还包含甜味剂,其存在量为约30重量%至约70重量%。在一些实施方式中,甜味剂包含蔗糖。在一些实施方式中,制剂还包含苦味掩蔽剂,其存在量为约0.2重量%至约0.5重量%。在一些实施方式中,制剂还包含调味剂,其存在量为约0.01重量%至约2重量%。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物在液体制剂中具有约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。

[0164] 本文还提供了一种液体制剂,其包含:(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

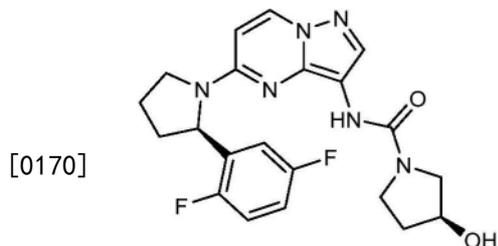
[0166] 其药学上可接受的盐,或其组合;

[0167] (b) 增溶剂,其存在量为约5%重量至约35%重量;和

[0168] (c) 碱,其存在量为约0.1%重量至约5%重量。在一些实施方式中,碱包含柠檬酸

钠脱水物。在一些实施方式中,制剂还包含甜味剂,其存在量为约30重量%至约70重量%。在一些实施方式中,甜味剂包含蔗糖。在一些实施方式中,制剂还包含苦味掩蔽剂,其存在量为约0.2重量%至约0.5重量%。在一些实施方式中,制剂还包含调味剂,其存在量为约0.01重量%至约2重量%。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物在液体制剂中具有约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。

[0169] 本文还提供了一种液体制剂,其包含:(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0171] 其药学上可接受的盐,或其组合;

[0172] (b) 增溶剂(例如环糊精,如羟丙基- β -环糊精),其存在量为约5重量%至约35重量%;和

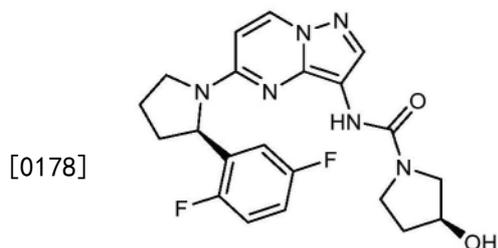
[0173] (c) 缓冲剂(例如柠檬酸盐缓冲剂,如柠檬酸钠),其存在量为约0.1%重量至约5%重量;

[0174] (d) 甜味剂(例如包含蔗糖或强甜味剂的甜味剂),其存在量为约30重量%至约70重量%;

[0175] (e) 苦味掩蔽剂,其存在量为约0.2%重量至约0.5%重量;和

[0176] (f) 调味剂,其存在量为约0.01%重量至约2%重量。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物在液体制剂中具有约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。

[0177] 本文还提供了一种液体制剂,其包含:(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0179] 其药学上可接受的盐,或其组合;

[0180] (b) 增溶剂(例如环糊精,如羟丙基- β -环糊精),其存在量为约5重量%至约35重量%;和

[0181] (c) 碱(例如柠檬酸盐,如柠檬酸钠),其存在量为约0.1%重量至约5%重量;

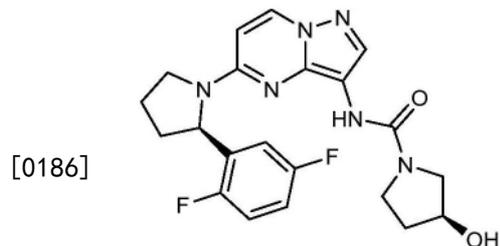
[0182] (d) 甜味剂(例如包含蔗糖或强甜味剂的甜味剂),其存在量为约30重量%至约70

重量%；

[0183] (e) 苦味掩蔽剂,其存在量为约0.2%重量至约0.5%重量;和

[0184] (f) 调味剂,其存在量为约0.01%重量至约2%重量。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物在液体制剂中具有约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。

[0185] 本文还提供了一种液体制剂,其包含:(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0187] 其药学上可接受的盐,或其组合;

[0188] (b) 羟丙基-β-环糊精,其存在量为约5%重量至约35%重量;和

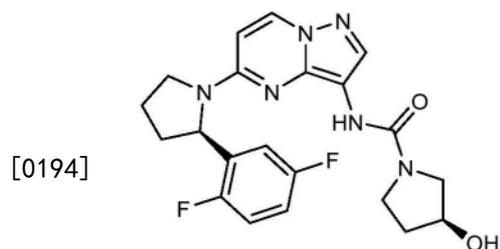
[0189] (c) 柠檬酸钠,其存在含量为约0.1%重量至约5%重量;

[0190] (d) 蔗糖或强甜味剂,其存在量为约30%重量至约70%重量;

[0191] (e) 苦味掩蔽剂,其存在量为约0.2%重量至约0.5%重量;和

[0192] (f) 调味剂,其存在量为约0.01%重量至约2%重量。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物在液体制剂中具有约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。

[0193] 本文还提供了一种液体制剂,其包含:(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其具有式(I):



(I)

[0195] 其药学上可接受的盐,或其组合;

[0196] (b) 羟丙基-β-环糊精,其存在量为约5%重量至约35%重量;和

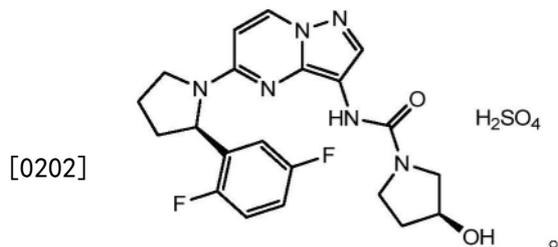
[0197] (c) 柠檬酸钠二水合物,其存在含量为约0.1%重量至约5%重量;

[0198] (d) 蔗糖或强甜味剂,其存在量为约30%重量至约70%重量;

[0199] (e) 苦味掩蔽剂,其存在量为约0.2%重量至约0.5%重量;和

[0200] (f) 调味剂,其存在量为约0.01%重量至约2%重量。在一些实施方式中,制剂具有约3至约4的pH。在一些实施方式中,式(I)化合物在液体制剂中具有约20mg/mL至约30mg/mL的浓度。

[0201] 在一些实施方式中,液体制剂由式(I)化合物的药学上可接受的盐制备。例如,药学上可接受的盐是硫酸氢盐。在一些实施方式中,液体制剂由式(I)化合物的结晶形式制备。例如,式(I)化合物的结晶形式可以具有式(I-HS):



I-HS

[0203] 在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 18.4 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 19.2 ± 0.2 , 20.2 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 21.5 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 15.3 ± 0.2 , 16.5 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 19.2 ± 0.2 , 19.9 ± 0.2 , 20.2 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 21.5 ± 0.2 , 22.1 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 , 24.0 ± 0.2 , 24.4 ± 0.2 , 25.6 ± 0.2 , 26.5 ± 0.2 , 27.6 ± 0.2 , 28.2 ± 0.2 , 28.7 ± 0.2 , 30.8 ± 0.2 和 38.5 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2θ 度)。

[0204] 在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)具有基本上如图1或图8中所示的XRPD图案。

[0205] 在一些实施方式中,通过差示扫描量热法测量,结晶形式表现出最大约193至约205°C的起始。在一些实施方式中,通过差示扫描量热法测量,结晶形式(I-HS)表现出约2.415mW的熔化热。

[0206] 本文还提供了在有需要的患者中治疗癌症的方法。该方法包括向患者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0207] 在一些实施方式中,癌症导致吞咽困难或难以吞咽。例如,癌症可以是头颈癌,口腔癌,咽喉癌或食道癌。在一些实施方式中,患有癌症的患者由于咽喉,食道或口腔纤维化;口腔或食道感染(例如来自放射疗法或化学疗法),咽喉或食道肿胀或变窄(例如来自放射疗法或手术);手术后口,颌,喉咙或食道的物理变化;粘膜炎,喉咙,食道或口腔疼痛,疼痛或炎症;口腔干燥症,通常称为口干(例如来自放射疗法或化学疗法)中的一种或多种而导致吞咽困难。

[0208] 在一些实施方式中,患者是婴儿,儿童,青少年或老年患者。

[0209] 在一些实施方式中,患者患有吞咽困难。吞咽困难可以是口咽性吞咽困难。口咽性吞咽困难可能由癌症(例如某些癌症和一些癌症治疗如放射可能导致吞咽困难),神经系统疾病(例如某些疾病如多发性硬化症,肌肉萎缩症和帕金森病可能导致吞咽困难),神经损伤(例如突然的神经损伤如来自中风或脑或脊髓损伤,影响一个人的吞咽能力)和咽憩室引起。

[0210] 在一些实施方式中,患者患有神经障碍(例如某些障碍如多发性硬化,肌营养不良和帕金森氏病可能导致吞咽困难),神经损伤(例如突然的神经损伤如来自中风或脑或脊髓

损伤,影响一个人的吞咽能力)和咽憩室。

[0211] 本文还提供了治疗有需要的患有吞咽困难(例如难以吞咽)的患者的癌症的方法。该方法包括识别有需要的患有吞咽困难的患者。该方法还包括向患者施用治疗有效量的本文所述的液体制剂。

[0212] 在一些实施方式中,吞咽困难是口咽性吞咽困难。

[0213] 本文还提供了治疗有需要的患有吞咽困难的患者的癌症的方法。该方法包括识别有需要的患有吞咽困难的患者。该方法还包括确定癌症是否由Trk激酶介导。如果确定癌症由Trk激酶介导,则向患者施用治疗有效量的本文所述的液体制剂。本文还提供了治疗有需要的患有吞咽困难的患者的癌症的方法。该方法包括识别有需要的患有吞咽困难的患者。该方法还包括鉴定由Trk激酶介导的癌症,并向患者施用治疗有效量的本文所述的液体制剂。

[0214] 在一些实施方式中,吞咽困难是口咽性吞咽困难。口咽性吞咽困难可能由癌症(例如某些癌症和一些癌症治疗如放射可能导致吞咽困难),神经系统疾病(例如某些疾病如多发性硬化症,肌肉萎缩症和帕金森病可能导致吞咽困难),神经损伤(例如突然的神经损伤如来自中风或脑或脊髓损伤,影响一个人的吞咽能力)和咽憩室引起。

[0215] 式(I)化合物的结晶形式

[0216] 如本文所讨论的,液体制剂可以由(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,其药学上可接受的盐或其组合的结晶形式制备。在一些实施方式中,结晶形式是结晶形式(I-HS)。

[0217] 如图1中所示,在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)可以通过其X射线粉末衍射图(XRPD)表征。XRPD在D5000X射线衍射仪上用来自Siemens的CuK α 1(0.1540562nm长)精细聚焦密封管源并通过在3和40°2- θ 之间扫描样品(步长为0.0200°2- θ ,每步的时间为1秒)来进行。有效扫描速度为0.0200°/s,仪器电压为40kV,电流设定为40mA。在以下实验条件下,使用反射模式中尺寸为2mm的发散狭缝分析样品。

[0218] 在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)具有XRPD图,其具有至少20个特征峰(2 θ 度 \pm 0.3),如表1中所列。

[0219] 表1. 结晶形式(I-HS)的XRPD峰

[0220]	位置[°2- θ]	FWHM [°2- θ]	d-间距[Å]	相对强度[%]
--------	-------------------	----------------------	---------	---------

[0221]

10.63	0.12	8.32	27.44
15.25	0.14	5.81	12.24
16.39	0.13	5.40	13.92
18.37	0.13	4.82	43.65
19.08	0.14	4.65	19.60
19.79	0.11	4.48	9.83
20.15	0.25	4.40	25.09
20.61	0.13	4.31	100.00
21.47	0.21	4.14	24.71
22.01	0.12	4.03	14.45
23.04	0.15	3.86	33.01
23.97	0.12	3.71	38.52
24.35	0.21	3.65	10.05
25.58	0.13	3.48	8.11
26.48	0.17	3.36	9.76
27.50	0.14	3.24	7.70
28.17	0.17	3.16	11.60
28.58	0.19	3.12	10.85
30.77	0.29	2.90	8.48
38.47	0.21	2.34	10.97

[0222] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 具有XRPD图, 其具有至少8个特征峰 (2θ 度 \pm 0.3), 该特征峰包含具有大于或等于约15%的相对强度的峰, 如表2中所列。

[0223] 表2. 结晶形式 (I-HS) 的XRPD峰

[0224]

位置[2θ]	FWHM [2θ]	d-间距[Å]	相对强度[%]
10.63	0.12	8.32	27.44
18.37	0.13	4.82	43.65

[0225]	19.08	0.14	4.65	19.60
	20.15	0.25	4.40	25.09
	20.61	0.13	4.31	100.00
	21.47	0.21	4.14	24.71
	23.04	0.15	3.86	33.01
	23.97	0.12	3.71	38.52

[0226] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 具有XRPD图, 其具有至少5个特征峰 (2θ 度 ± 0.3), 该特征峰包含具有大于或等于约25%的相对强度的峰, 如表3中所列。

[0227] 表3. 结晶形式 (I-HS) 的XRPD峰

[0228]	位置[$2-\theta$]	FWHM [$2-\theta$]	d-间距[Å]	相对强度[%]
		10.63	0.12	8.32
	18.37	0.13	4.82	43.65
	20.61	0.13	4.31	100.00
	23.04	0.15	3.86	33.01
	23.97	0.12	3.71	38.52

[0229] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 具有XRPD图, 其具有至少4个特征峰 (2θ 度 ± 0.3), 该特征峰包含具有大于或等于约30%的相对强度的峰, 如表4中所列。

[0230] 表4. 结晶形式 (I-HS) 的XRPD峰

[0231]	位置[$2-\theta$]	FWHM [$2-\theta$]	d-间距[Å]	相对强度[%]
		18.37	0.13	4.82
	20.61	0.13	4.31	100.00
	23.04	0.15	3.86	33.01
	23.97	0.12	3.71	38.52

[0232] 在某些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 具有与图1中所示的XRPD图基本上相同的XRPD图。

[0233] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约18.4, 20.6, 23.0和24.0处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约10.6, 18.4, 20.6, 23.0和24.0处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约10.6, 18.4, 19.1, 20.2, 20.6, 21.5, 23.0和24.0处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约10.6, 15.3, 16.4, 18.4, 19.1, 19.8, 20.2, 20.6, 21.5, 22.0, 23.0, 24.0, 24.4, 25.6, 26.5, 27.5, 28.2, 28.6, 30.8和38.5处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。

[0234] 在某些实施方式中,结晶形式(I-HS)具有与图8中所示的XRPD图案基本上相同的XRPD图案。

[0235] 在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)具有XRPD图,其具有至少20个特征峰(2θ 度 ± 0.3),如表1中所列。

[0236] 表5. 结晶形式(I-HS)的XRPD峰

位置(2θ)	相对强度(%)
10.76	29.85
15.38	13.22
16.52	16.46
18.50	48.07
19.22	22.92
[0237] 19.92	16.05
20.26	30.80
20.74	100.00
21.56	23.78
22.16	15.51
23.16	32.52
24.10	33.89
24.50	12.14
25.72	8.89
26.50	10.88
[0238] 27.62	8.61
28.32	11.44
28.74	10.73
30.92	8.23
38.60	8.88

[0239] 在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)具有XRPD图,其具有至少8个特征峰(2θ 度 ± 0.3),该特征峰包含具有大于或等于约15%的相对强度的峰,如表6中所列。

[0240] 表6. 结晶形式 (I-HS) 的XRPD峰

位置 ($^{\circ}2\theta$)	相对强度 (%)
10.76	29.85
18.50	48.07
19.22	22.92
20.26	30.80
20.74	100.00
21.56	23.78
23.16	32.52
24.10	33.89

[0242] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 具有XRPD图, 其具有至少5个特征峰 (2θ 度 \pm 0.3), 该特征峰包含具有大于或等于约25%的相对强度的峰, 如表7中所列。

[0243] 表7. 结晶形式 (I-HS) 的XRPD峰

位置($^{\circ}2\theta$)	相对强度(%)
10.76	29.85
18.50	48.07
20.74	100.00
23.16	32.52
24.10	33.89

[0246] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 具有XRPD图, 其具有至少4个特征峰 (2θ 度 \pm 0.3), 该特征峰包含具有大于或等于约30%的相对强度的峰, 如表8中所列。

[0247] 表8. 结晶形式 (I-HS) 的XRPD峰

位置 ($^{\circ}2\theta$)	相对强度 (%)
18.50	48.07
20.74	100.00
23.16	32.52
24.10	33.89

[0249] 在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约18.5, 20.7, 23.2和24.1处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约10.8, 18.5, 20.7, 23.2和24.1处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约10.8, 18.5, 19.2, 20.3, 20.7, 21.6, 23.2和24.1处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。在一些实施方式中, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于在约10.8, 15.4, 16.5, 18.5, 19.2, 19.9, 20.3, 20.7, 21.6, 22.2, 23.2, 24.1, 24.5, 25.7, 26.5, 27.6, 28.3, 28.7, 30.9和38.6处具有XRPD衍射峰 (2θ 度)。

[0250] 在一些实施方式中, 给定图1和8中提供的XRPD图案, 结晶形式 (I-HS) 的特征在于

具有XRPD峰(2 θ 度),如表9所示。

[0251] 表9. 结晶形式(I-HS)的XRPD峰

[0252]	图 1	图 8	差异	平均
	10.76	10.63	0.13	10.70
	15.38	15.25	0.13	15.32
	16.52	16.39	0.13	16.46
	18.50	18.37	0.13	18.44
	19.22	19.08	0.14	19.15
	19.92	19.79	0.13	19.86
	20.26	20.15	0.11	20.21
	20.74	20.61	0.13	20.68
	21.56	21.47	0.09	21.52
[0253]	22.16	22.01	0.15	22.09
	23.16	23.04	0.12	23.10
	24.10	23.97	0.13	24.04
	24.50	24.35	0.15	24.43
	25.72	25.58	0.14	25.65
	26.50	26.48	0.02	26.49
	27.62	27.50	0.12	27.56
	28.32	28.17	0.15	28.25
	28.74	28.58	0.16	28.66
	30.92	30.77	0.15	30.85
	38.60	38.47	0.13	38.54

[0254] 在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)的特征在于在 18.4 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 , 19.2 ± 0.2 , 20.2 ± 0.2 , 20.7 ± 0.2 , 21.5 ± 0.2 , 23.1 ± 0.2 和 24.0 ± 0.2 处具有XRPD衍射峰(2 θ 度)。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)的特征在于在 10.7 ± 0.2 , 15.3 ± 0.2 , 16.5 ± 0.2 , 18.4 ± 0.2 ,

19.2±0.2, 19.9±0.2, 20.2±0.2, 20.7±0.2, 21.5±0.2, 22.1±0.2, 23.1±0.2, 24.0±0.2, 24.4±0.2, 25.6±0.2, 26.5±0.2, 27.6±0.2, 28.2±0.2, 28.7±0.2, 30.8±0.2和38.5±0.2处具有XRPD衍射峰(2θ度)。

[0255] 应当理解, 结晶形式(I-HS)的X射线粉末衍射图的2-θ值可以从一种仪器到另一种仪器稍微变化, 并且还取决于样品制备变化和批次间变化, 因此引用的数值不应被解释为绝对值。还应理解, 峰的相对强度可以根据取向效应而变化, 使得本文包括的XRPD迹线中显示的强度是说明性的, 并不旨在用于绝对比较。因此, 应理解, 短语“与图1或图8中所示的基本上相同的XRPD图案”意指出于比较目的, 存在图1或图8中所示的至少90%的峰。应当理解, 相对峰值位置可以与图1或图8中所示的峰值位置变化±0.3度。应进一步理解, 为了比较目的, 峰值强度的一些变化与图1和图8中所示的那些相比是允许的。

[0256] 图2示出了根据一个实施方式的结晶形式(I-HS)的同时热重/差示热分析仪(TG/DTA)曲线。为了分析, 将约5mg结晶形式(I-HS)称入敞口铝盘中并装入同时热重/差示热分析仪(TG/DTA)中并保持在室温下。然后将样品以10°C/min的速率从25°C加热至300°C, 在此期间记录样品重量的变化以及任何差异热事件。使用氮气作为吹扫气体, 流速为100cm³/min。结晶形式(I-HS)的TG/DAT曲线显示在27.4°C至182.4°C之间初始重量损失为0.8%, 随后在182.4°C至225.0°C之间的TG曲线中重量损失4.9%, 也被视为DTA曲线中的吸热剂。这些重量损失可能是材料的分解。

[0257] 图3示出了根据一个实施方式的结晶形式(I-HS)的差示扫描量热法(DSC)曲线。使用Seiko DSC6200差示扫描量热计(配备有冷却器)进行样品的DSC分析。将约5mg结晶形式(I-HS)称入铝DSC盘中并用穿孔铝盖非密闭地密封。然后将样品盘装入Seiko DSC6200(配备冷却器)中, 冷却, 并保持在25°C。一旦获得稳定的热流响应, 将样品和参比物以10°C/min的扫描速率加热至270°C, 同时监测所得的热流响应。在一些实施方式中, 结晶形式(I-HS)具有基本上如图3中所示的DSC热分析图。如本文所用, “基本上如图3中所示”意指图3中所示的吸热事件的温度可以变化约±5°C。

[0258] 如图3所示, 结晶形式的DSC热分析图(I-HS)表明在122.9°C至152.8°C之间的基线中的吸热变化小, 接着是对应于结晶形式(I-HS)的熔化的急剧吸热。在190.8°C的熔化起始温度下, 熔化的峰值温度为197.9°C, 熔化热为2.415mW。熔融吸热后的转变可能是由熔融的结晶形式(I-HS)的分解引起的。

[0259] 图4A和4B示出了根据一些实施方式的在(A)非偏振光和(B)非偏振光下的结晶形式(I-HS)的偏振光显微镜(PLM)图像。使用配备有Motic相机和图像捕获软件(Motic Images Plus 2.0)的Olympus BX50偏光显微镜测定结晶度(双折射)的存在。使用20x物镜记录所有图像。当在偏振光下检查时, 结晶形式(I-HS)表现出双折射, 而没有表现出明确的形态或附聚物。

[0260] 图5示出了根据一个实施方式的结晶形式(I-HS)的动态蒸汽吸附(DVS)等温曲线。对于DVS测量, 通过改变湿度条件使结晶形式的样品(I-HS)循环以确定其吸湿性。使用表面测量系统DVS-1动态蒸汽吸附系统分析样品。将约10mg结晶形式(I-HS)置于网状蒸汽吸附平衡盘中并作为表面测量系统的一部分加载到动态蒸汽吸附天平中。以1分钟的间隔收集数据。氮气用作载气。取样的结晶形式(I-HS)经受20-90%相对湿度(RH)以10%增量的升温曲线, 在每个步骤保持样品直至达到稳定的重量(99.5%步骤完成)。在吸附循环完成后, 使

用相同的程序干燥样品,但一直到0%RH并最终回到20%RH的起始点。绘制吸附/解吸循环期间的重量变化,从而确定样品的吸湿性质。

[0261] 如图5所示,结晶形式(I-HS)似乎是非吸湿性的。在吸附循环期间,在0%和90%RH之间观察到质量的小幅增加约1.7%。此外,在吸附和解吸循环之间观察到非常小的滞后现象。DVS分析(未示出)后的结晶形式(I-HS)的XRPD图类似于图1或图8中所示的其DVS前XRPD图。图8表明在DVS期间没有发生结晶形式(I-HS)的变化。

[0262] 图6示出了根据一个实施方式的式I化合物的结晶形式(I-HS)的红外(IR)光谱曲线。IR光谱在Bruker ALPHA P光谱仪上进行。将足够的结晶形式的材料(I-HS)放置在光谱仪板的中心上,使用 4cm^{-1} 的分辨率获得透射光谱,背景扫描时间为16次扫描,样品扫描时间为16次扫描,并从 4000cm^{-1} 到 400cm^{-1} 收集数据。观察到的结晶形式(I-HS)的IR光谱示于图6中。

[0263] 结晶形式(I-HS)具有许多性能,使其出乎意料地优于无定形形式的(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐(AM(HS))。例如,结晶形式(I-HS)具有有助于其可制造性和商业产品生产的性质。如实施例8中所示,与无定形API(AM(HS))相比,结晶形式(I-HS)具有更好的流动性质,如Carr's和Hausner指数所证明的。例如,结晶形式(I-HS)表现出大于20%的Carr指数值。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)表现出小于1.35的Hausner比(例如在约1.26至约1.34之间的值)。流动性质的差异可以使得无定形API相比于结晶API的固体口服剂型的开发更加困难。

[0264] 结晶形式(I-HS)也证明在LDPE袋中在 $40^{\circ}\text{C}/75\% \text{RH}$ 下进行五周的加速稳定性研究中具有更好的稳定性。虽然AM(HS)或结晶形式(I-HS)在研究过程中都没有表现出化学杂质水平的显著变化,但该研究确实揭示了结晶形式(I-HS)具有稳定的物理化学性质。另一方面,无定形API通过XRPD,DSC,TGA,KF和偏振光显微镜转化成与结晶形式(I-HS)基本相似的结晶形式。另外,在稳定性测试过程中,无定形API变成具有降低流动性的团聚粉末。在储存时,化合物的物理性质的这种变化,包括从无定形能量到结晶材料和/或具有降低流动的团聚粉末的变化,将使得几乎不可能基于无定形化合物制造用于患者的固体口服剂型。然而,对于结晶形式(I-HS)观察到的性质与商业产品所需的性质一致,包括具有稳定的物理和化学结构。

[0265] 如前所述,结晶形式(I-HS)是非吸湿性的。如本文所用,“非吸湿性”是指在24至48小时后在 25°C 和80%RH下表现出小于2%重量增加的化合物(参见例如实施例10)。然而,发现AM(HS)化合物在暴露于湿气时会潮解。鉴于这种趋势,使用AM(HS)化合物在储存和制造期间需要大量的处理预防措施以防止形式发生这种变化,而结晶形式(I-HS)在API的制造期间不需要这样的预防措施。预期这种对湿度的稳定性也可以延续到使用结晶形式(I-HS)制备的任何固体口服剂量产品。

[0266] 与无定形API相比,结晶形式(例如I-HS)可以提供改善的杂质分布。控制杂质分布的能力对于患者安全,开发可重复的制造过程以及在用于人类之前满足管理机构的要求是重要的。多晶型物的其它性质和特征可以在美国申请序列号14/943,014中找到,其全部内容通过引用并入本文。

[0267] 本文提供的液体制剂包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡

唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(式I),其表现出Trk家族蛋白酪氨酸激酶抑制,并且可以用于治疗疼痛,炎症,癌症和某些传染病。

[0268] 一些实施方式包括使用本文提供的液体制剂治疗可以通过抑制TrkA,TrkB和/或TrkC激酶来治疗的病症和疾病,例如TrkA,TrkB和/或TrkC介导的病症,例如本文所述的一种或多种病症,包括Trk相关癌症。在一些实施方式中,液体制剂可用于治疗疼痛,包括慢性和急性疼痛。在一些实施方式中,液体制剂可用于治疗多种类型的疼痛,包括炎性疼痛,神经性疼痛,手术疼痛和与癌症,手术和骨折相关的疼痛。此外,液体制剂可用于治疗炎症,活动性和慢性神经变性疾病和某些传染病。

[0269] 式(I)化合物,其药学上可接受的盐形式或结晶形式(I-HS)作为TrkA,TrkB和/或TrkC抑制剂的能力可以通过实施例A和B中描述的测定证明。如2013年8月20日公布的美国专利号8,513,263中所公开的,该通过引用并入本文。

[0270] 在一些实施方式中,本文提供了用于治疗诊断患有TRK相关癌症的患者的方法,包括向患者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。神经营养素受体的Trk家族TrkA,TrkB和TrkC(分别由NTRK1,NTRK2和NTRK3基因编码)和它们的神经营养素配体调节神经元的生长,分化和存活。NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,例如涉及NTRK激酶结构域的易位,涉及TRK配体结合位点的突变,NTRK基因的扩增,Trk mRNA剪接变体,和Trk自分泌/旁分泌信号传导在不同数量的肿瘤类型中描述,并且可能有助于肿瘤发生。最近,在一组腺癌肺癌患者中描述了NTRK1融合²。导致组成型活性TrkA,TrkB和TrkC融合蛋白产生的NTRK1,NTRK2和NTRK3中的易位是致癌的并且在多种肿瘤类型中普遍存在,包括肺腺癌,甲状腺,头颈癌,胶质母细胞瘤,和其它。

[0271] 在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调包括野生型TrkA,TrkB或TrkC的过表达(例如导致自分泌激活)。在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调包括在包含NTRK1,NTRK2或NTRK3基因或其部分的染色体区段中的过表达,激活,扩增或突变。在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调包括分别导致NTRK1,NTRK2或NTRK3基因融合的一个或多个染色体易位或倒位。在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调是遗传易位的结果,其中表达的蛋白是含有来自非TrkA伴侣蛋白和TrkA,非TrkB伴侣蛋白和TrkB,或非TrkC伴侣蛋白和TrkC蛋白的残基的融合蛋白,分别包括最小功能性TrkA,TrkB或TrkC激酶结构域。

[0272] 在一些实施方式中,TrkA融合蛋白是表10中所示的TrkA融合蛋白之一,其中:

[0273] 表10. 示例性Trk融合蛋白和癌症

[0274]

融合蛋白	非TrkA融合伴侣	非限制示例性Trk相关癌症及同义词
TP53-TrkA ^{1,11}	融合蛋白P53	施皮茨黑色素瘤, 施皮茨肿瘤
LMNA-TrkA ^{1,12}	核纤层蛋白A/C	施皮茨黑色素瘤, 施皮茨肿瘤, 未分化肉瘤, 成人软组织肉瘤 (例如软组织肉瘤转移至肺), 软组织纤维肉瘤, 梭形细胞肉瘤 ^G , 先天性婴儿纤维肉瘤 ^H , 儿科血管外皮细胞瘤样肉瘤 ^I , 结肠直肠癌 ^K
CD74-TrkA ²	MHC II类不变链	非小细胞肺癌 (NSCLC) 肺腺癌
TFG-TrkA (TRK-T3) ³	TRK融合基因	乳头状甲状腺瘤 (PTC), 软组织孤立性纤维瘤
TPM3-TrkA ³	原肌球蛋白3	肺癌, 乳头状甲状腺癌 (PTC), 急性髓性白血病 (AML), 肉瘤, 儿科脑胶质瘤, 结直肠癌 (CRC), 软组织神经鞘瘤, 施皮茨黑色素细胞肿瘤 ^J
NFASC-TrkA ⁴	神经束蛋白	多形性胶质母细胞瘤 (GBM); 胶质母细胞瘤
BCAN-TrkA ⁴	短小蛋白聚糖	多形性胶质母细胞瘤 (GBM)
MPRIP-TrkA ^{5,E}	肌球蛋白磷酸酶Rho相互作用	非小细胞肺癌 (NSCLC)

[0275]

	蛋白或Rho相互作用蛋白3	
TPR-TrkA (TRK-T1或 TRK-T2) ³	易位启动子区, 核篮蛋白	乳头状甲状腺癌 (PTC), 结直肠癌 (CRC) ^A , 非小细胞肺癌 (NSCLC)
RFWD2-TrkA ⁶	无名指和WD重复结构域2	大细胞神经内分泌癌 (LCNEC); NSCLC
IRF2BP2-TrkA ⁷	干扰调节因子2 结合蛋白2	甲状腺癌; 甲状腺腺癌
SQSTM1-TrkA ⁷	死骨片1	甲状腺癌(例如乳头状甲状腺癌), 甲状腺腺癌, 软组织纤维肉瘤, 非 小细胞肺癌 ^L
SSBP2-TrkA ⁷	单链DNA结合蛋白2	甲状腺癌(例如乳头状甲状腺癌); 甲状腺腺癌
RABGAP1L-TrkA ⁸	RAB GTP酶激活蛋白1-样	肝内胆管细胞癌 (ICC)
C18ORF8-TrkA ⁹	染色体18开放阅读框架8	非小细胞肺癌 (NSCLC)
RNF213-TrkA ⁹	无名指蛋白213	非小细胞肺癌 (NSCLC)
TBC1D22A-TrkA ⁹	TBC结构域家族, 成员22A	非小细胞肺癌 (NSCLC)
C20ORF112-TrkA ⁹	染色体20开放阅读框架112	非小细胞肺癌 (NSCLC)
DNER-TrkA ⁹	含有Delta/Notch-样EGF重复	非小细胞肺癌 (NSCLC)
ARHGEF2-TrkA ¹³	Rho鸟嘌呤核苷酸交换因子2	胶质母细胞瘤
CHTOP-TrkA ¹³	PRMT1的染色质靶标	胶质母细胞瘤
PPL-TrkA ¹³	旁血小板蛋白	甲状腺癌
PLEKHA6-TrkA	含有PH结构域的家族A成员6	
PEAR1-TrkA	血小板内皮细胞聚集受体1	
MRPL24-TrkA	39S核糖体蛋白L24, 线粒体	
MDM4-TrkA	鼠双微粒体的人类同源物4	
LRRC71-TrkA	含有富含亮氨酸重复71	
GRIPAP1-TrkA	GRIP1相关蛋白1	

	EPS15-TrkA	表皮生长因子受体底物15	
	DYNC2H1-TrkA ^B	动力蛋白, 细胞质2, 重链1	肉瘤
	CEL-TrkA	羧基酯脂肪酶	胰腺癌样本 ^D
	EPHB2-TrkA ^B	EPH受体B2	低等级胶质瘤
	TGF-TrkA ^C	转化生长因子	乳头状甲状腺癌
[0276]	NELL1-TrkA ^F	含有表皮生长因子 (Egf) -样 重复的细胞质蛋白	非小细胞肺癌 (NSCLC)
	EPL4-TrkA ^F	EPH相关受体酪氨酸激酶配体 4/Ephrin-A4蛋白	非小细胞肺癌 (NSCLC)
	CTNND2-TrkA ^F	连环蛋白 (钙黏着蛋白相关蛋 白), Delta 2	非小细胞肺癌 (NSCLC)
	TCEANC2-TrkA ^F	转录延伸因子A (SII) N末端 和中心结构域	非小细胞肺癌 (NSCLC)

[0277] ^A Créancier等, Cancer Lett. 365(1):107-111, 2015. J

[0278] ^B U.S. 专利申请公开号2015/0315657.

[0279] ^C U.S. 专利申请公开号2015/0283132.

[0280] ^D Egren等, 癌症研究 (Cancer Res) .75(增补15):4793, 2015.

[0281] ^E U.S. 专利申请公开号2015/0073036.

[0282] ^F P.C.T. 专利申请公开号W02015184443A1.

[0283] ^G Haller等, 病理学杂志 (The Journal of pathology) 238.5(2016):700-710.

[0284] ^H Wong等, J Natl Cancer Inst 2016;108:djv307.

[0285] ^I Haller等, J. Pathol. 238(5):700-10.

[0286] ^J Wu等, Mod Pathol. 2016Apr;29(4):359-69.

[0287] ^K Konicek等, 癌症研究 (Cancer research), 第76卷, 第14号, 副补。摘要数:2647; 第107届癌症研究美国学会年会 (107th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research), AACR 2016. 路易斯安那新奥尔良; 2016年4月16-20日。

[0288] ^L Drilon等, Cancer research, 第76卷, 第14号, 副补。摘要数:CT007; 第107届癌症研究美国学会年会, AACR 2016. 路易斯安那新奥尔良; 2016年4月16-20日。

[0289] 在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括TrkA蛋白中的一个或多个缺失, 插入或点突变。在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括从TrkA蛋白中缺失一个或多个残基, 导致TrkA激酶结构域的组成型活性。在一些实施方式中, 缺失包括在TrkA同种型2中缺失氨基酸303-377。

[0290] 在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括NTRK1基因中的至少一个点突变, 其导致产生与野生型TrkA蛋白相比具有一个或多个氨基酸取代 (参见例如表11中列出的点突变) 的TrkA蛋白。示例性野生型TrkA多肽是SEQ ID NO:

1, 示例性野生型TrkB多肽是SEQ ID NO:2, 示例性TrkC多肽是SEQ ID NO:3。

[0291] 表11. 激活TrkA点突变^A

点突变	理论说明	存在突变的示例性同种型(如果已知)
R33W ^B		NP_001007793.1 ^F
A336E	靠近NGF结合位点	参考TrkA序列
A337T	靠近NGF结合位点	参考TrkA序列
R324Q或R324W	靠近NGF结合位点	未知
V420M	靠近膜	参考TrkA序列
R444Q或R444W	靠近膜	参考TrkA序列
G517R或G517V	P-循环	参考TrkA序列
K538A	激活	参考TrkA序列
V573M ^E		参考TrkA序列
F589L ^E		参考TrkA序列
G595R或G667C ^D	催化结构域	参考TrkA序列
F598L ^E		未知
R649W或R649L	精氨酸可以稳定自身抑制的构象。	参考TrkA序列
R682S	激活循环	参考TrkA序列
V683G	激活循环	参考TrkA序列
R702C	暴露, 可能形成面对面二硫键连接的二聚体	参考TrkA序列
Q627X ^C , Q597X ^C ,		分别是NP_001012331.1 ^G ,
[0292] Q633X ^C		NP_001007793.1 ^F , 和参考TrkA序列

[0294] ^A参考TrkA序列是UniProtKB/Swiss-Prot:P04629.4, 并且可以在URL找到: [www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0) (SEQ ID NO.1)

[0295] ^B Zhang等Blood 124(21):1682, 2014. 在T细胞幼淋巴细胞白血病中发现突变。

[0296] ^C Park等Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.112(40):12492-12497, 2015. 在结直肠癌中发现突变。

[0297] ^D Russo等Cancer Discov.Jan;6(1):36-44, 2016.

[0298] ^E PCT申请号W02016196141A1.

[0299] ^F [www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/56118210?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=3&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/56118210?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=3&RID=0)

[0300] ^G www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/59889558

[0301] 在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括 TrkA mRNA中的剪接变异, 其导致表达的蛋白质是 TrkA的可变剪接变体, 其具有至少一个残基缺失(与野生型 TrkA蛋白相比), 导致 TrkA激酶结构域的组成型活性。在一些实施方式中, 具有组成型活性的可变剪接形式的 TrkA具有外显子8, 9和11的缺失, 导致表达的蛋白相对于 TrkA同种型2缺失残基192-284和393-398, 具有 TrkA的外显子10的缺失, 或在 NTRK1基因中具有缺失, 该基因编码在跨膜结构域中具有75个氨基酸缺失的 TrkA蛋白 (Reuther等 Mol.Cell Biol.20:8655-8666, 2000)。

[0302] 被鉴定为具有 NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调的癌症(参见本文引用的参考文献以及 www.cancer.gov 和 www.nccn.org 网站) 包括:

[0303] (A) 其中 NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括一个或多个染色体易位或倒位以产生 TrkA融合蛋白的癌症, 例如包括:

癌症	护理标准
[0304] 非小细胞肺癌 ²	放射治疗(例如放射性碘治疗, 外束放射治疗或镭 223 治疗), 化学治疗药物作为单一药物(例如阿法替尼, 马来西泮, 卡铂, 西妥昔单抗, 顺铂, 克唑替尼, 厄洛替尼, 吉非替尼, 吉西他滨, 甲氨蝶呤, 紫杉醇或培美曲塞)或组合(例如卡铂-紫杉醇, 吉西他滨-紫杉醇或化学放射)
乳头状甲状腺癌 ¹⁴	放射治疗(例如放射性碘治疗或外束放射)和化学治疗(例如索拉非尼, 舒尼替尼或帕唑帕尼)
多形性胶质母细胞	化学治疗(例如贝伐单抗, 依维莫司, 洛莫司汀或替莫唑胺)
[0305] 瘤 ¹⁵	
结直肠癌 ¹⁶	化学治疗作为单一药剂(例如阿柏西普, 贝伐单抗, 卡培他滨, 西妥昔单抗, 氟尿嘧啶, 伊立替康, 亚叶酸钙, 奥沙利铂, 帕尼单抗或瑞格非尼)或其组合(例如 folfox, folfiri, capox, folfiri-贝伐单抗, folfiri-西妥昔单抗或 xelox)
黑色素瘤 ¹²	化学治疗(例如阿地白介素, 达布拉非尼, 达卡巴嗪, 干扰素 α -2b, 伊匹单抗, 聚乙二醇干扰素 α -2b, 曲美替尼或维罗非尼)

[0306] (B) 其中 NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括 TrkA蛋白中的

一个或多个缺失,插入或突变的癌症,例如包括:

癌症	护理标准
[0307] 急性髓细胞白血病 ^{17, 18}	化学治疗作为单一药剂(例如三氧化二砷, 环磷酰胺, 阿糖胞苷, 柔红霉素, 多柔比星或长春新碱)或其组合(例如 ADE)
大细胞神经内分泌癌 ¹⁹	放射治疗(例如放射性碘治疗, 外束放射治疗或镭 223 治疗)和/或化学治疗(例如顺铂, 卡铂或依托泊苷)
神经母细胞瘤 ²⁰	化学治疗(例如环磷酰胺, 多柔比星或长春新碱)

[0308] (C) 其中NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括野生型TrkA的过表达(自分泌激活)的癌症, 例如包括:

癌症	护理标准
[0309] 前列腺癌 ^{21, 22}	放射治疗(例如镭 223 治疗)或化学治疗(例如阿比特龙, 卡巴他赛, 地加瑞克, 地诺沙单抗, 多西紫杉醇, 恩杂鲁胺, 亮丙瑞林, 泼尼松或 sipuleucel-T)
神经母细胞瘤 ²³	化学治疗(例如环磷酰胺, 多柔比星或长春新碱)
胰腺癌 ²⁴	化学治疗作为单一药剂(例如厄洛替尼, 氟尿嘧啶, 吉西他滨或丝裂霉素 C)或组合(例如吉西他滨-奥沙利铂)
黑色素瘤 ²⁵	化学治疗剂(例如阿地白介素, 达布拉非尼, 达卡巴嗪, 干扰素 α -2b, 伊匹单抗, 聚乙二醇干扰素 α -2b, 曲美替尼或维罗非尼)
[0310] 头颈部鳞状细胞癌 ²⁶	放射治疗和/或化学治疗(例如博来霉素, 西妥昔单抗, 顺铂, 多西紫杉醇, 氟尿嘧啶或甲氨蝶呤)
胃癌 ²⁷	化学治疗(例如多西紫杉醇, 多柔比星, 氟尿嘧啶, 丝裂霉素 C 或曲妥珠单抗)

[0311] 在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括导致TrkB融合蛋白表达的易位, 例如表12中所示的TrkB融合蛋白之一。

[0312] 表12. 示例性TrkB融合蛋白和癌症

	融合蛋白	非TrkB融合伴侣	非限制示例性Trk相关癌症及同义词
	NACC2-TrkB ¹⁰	NACC家族成员2, 含有BEN和BTB (POZ)结构域	毛细胞星形细胞瘤
	QKI-TrkB ¹⁰	QKI, 含有KH结构域, RNA 结合	毛细胞星形细胞瘤
[0313]	AFAP1-TrkB ⁷	肌动蛋白丝相关蛋白1	低等级胶质瘤, 体外 (鼠Ba/F3细胞) ^B , 具有间变性的毛细胞星形细胞瘤 (PAA) ^E
	PAN3-TrkB ⁷	PAN3聚 (A) 特异性核糖核酸酶亚基	头颈部鳞状细胞癌
	SQSTM1-TrkB ⁷	死骨片1	低等级胶质瘤
	TRIM24-TrkB ⁷	含有三方基序24	肺腺癌
	VCL-TrkB ¹¹	纽蛋白	儿科神经胶质瘤
	AGBL4-TrkB ¹¹	ATP/GTP结合蛋白-样4	儿科神经胶质瘤
	DAB2IP-TrkB	缺陷同源物2-相互作用蛋白	
	NTRK2-TERT ^A	端粒酶逆转录酶	甲状腺瘤
	TEL-TrkB ^C	ETS变体6	体外 (鼠Ba/F3细胞)
[0314]	(ETV6)		
	QKI-TrkB ^D	蛋白质震动	星形细胞瘤

[0315] ^A PCT专利申请公开号W0 2015/183836A1

[0316] ^B Drilon等, Ann Oncol. 2016年5月 (May); 27 (5): 920-6.

[0317] ^C Yuzugullu等, Cell Discov. 2: 16030, 2016.

[0318] ^D Ni等, Neuro Oncol. 2017年1月 (Jan); 19 (1): 22-30.

[0319] ^E Lin等, 神经-肿瘤学 (Neuro-Oncol), 第18卷, 副补3, 第iii58页, 摘要数: HG-48; 第17届小儿神经肿瘤学国际研讨会 (17th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology), ISPN0 2016. 英国利物浦, 2016年6月12日-2016年6月15日。

[0320] 在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括NTRK1基因中的至少一个点突变, 其导致产生与野生型TrkB蛋白相比具有一个或多个氨基酸取代的TrkB蛋白 (参见例如表13中列出的点突变)。

[0321] 表13. 激活TrkB点突变^A

点突变	理论说明	存在突变的示例性同种型(如果已知)
A13T ^C		参考TrkB序列
E142K ^C		参考TrkB序列
R136H ^C		参考TrkB序列
V619M ^B		位置
F633L ^B		NP_006171.2 ^D (对应于参考TrkB序列的位置617)
G639R ^B		NP_006171.2 ^D (对应于参考TrkB序列的位置623)
G709C或G709A 或G709S ^B		NP_006171.2 ^D (对应于参考TrkB序列的位置693)

[0323] ^A参考TrkB序列是UniProtKB/Swiss-Prot:Q16620.1,并且可以在URL找到:
www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log\$=protalign&blast_rank=0&RID=0(SEQ ID NO.2)

[0324] ^B PCT申请号W02016196141A1.

[0325] ^C Bonanno等,胸部肿瘤学杂志(Journal of Thoracic Oncology),第11卷,第4号,副补1,S67页.摘要数:28P;第6届欧洲肺癌会议(6thEuropean Lung Cancer Conference),ELCC 2016,瑞士日内瓦。

[0326] ^D www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_006171.2

[0327] 在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调包括导致TrkC融合蛋白表达的易位,例如表14中所示的TrkC融合蛋白之一。

[0328] 表14. 示例性TrkC融合蛋白和癌症

[0329]

融合蛋白	非TrkC融合伴侣	非限制示例性Trk相关癌症及同义词
ETV6-TrkC ¹¹ (TEL;或染色体 易位t(12;15) (p13;q25)) ^J	ETS变体6	唾液腺癌, 分泌性乳腺癌, 急性髓性白血病, 纤维肉瘤, 肾病, 黑色素瘤, 结直肠癌 (CRC), 乳腺癌, 儿科胶质瘤, 甲状腺癌 (例如乳头状甲状腺癌), 婴儿纤维肉瘤, 软组织血管瘤, 胃肠道间质瘤 (GIST) (例如c-kit阴性GIST), 乳腺癌 (例如乳腺类似物分泌性癌, 分泌性乳腺癌 (SBSC) ^K , 先天性纤维肉瘤, 急性髓性白血病, 多形性低等级恶性腺癌 ^D , ALK阴性炎症肌纤维母细胞瘤 (IMT) ^E , 婴儿纤维肉瘤 (IFS) ^{F,M} , 腺泡细胞癌 (AcCC) ^G , 细胞中膜肾病 ^H , 早幼粒细胞白血病 ^I , 伯基特淋巴瘤 ^I , B细胞淋巴瘤 ^I , 多发性骨髓瘤 ^I , 成神经管细胞瘤 ^I , 神经母细胞瘤 ^I , 卵巢癌 ^I , 肠癌 ^I , 急性淋巴细胞白血病 ^K
BTBD1-TrkC ¹¹	含有BTB (POZ)结构域1	儿科胶质瘤
LYN-TrkC ⁷	V-Yes-1山口肉瘤病毒相关致癌基因同源物 (也称为Lck/Yes-相关新型蛋白酪氨酸激酶)	头颈部鳞状细胞癌

[0330]	RBPMS-TrkC ⁷	具有多个剪接的RNA结合蛋白	甲状腺癌（例如乳头状甲状腺癌）
	EML4-TrkC ^A	棘皮动物微管相关蛋白-样4	纤维肉瘤（例如儿科纤维肉瘤 ^L ）
	HOMER2-TrkC	荷马蛋白质同源物2	软组织肉瘤
	TFG-TrkC	TRK融合基因	软组织孤立性纤维瘤
	FAT1-TrkC	FAT非典型钙粘蛋白1	宫颈鳞状细胞癌 ^B
	MYO5A-TrkC	肌球蛋白VA	施皮茨肿瘤 ^C
	MYH9-TrkC	肌球蛋白重链9	施皮茨肿瘤 ^C

[0331] ^A Tannenbaum等, Cold Spring Harb. Mol. Case Stud. 1:a000471, 2015.

[0332] ^B U.S. 专利申请公开号2015/0315657.

[0333] ^C Yeh等, JPathol. 240(3):282-90, 2016

[0334] ^D Montalli等, JOralPatholMed. doi:10.1111/jop.12491, 2016

[0335] ^E Alassiri等, Am J Surg Pathol., Aug; 40(8):1051-61, 2016.

[0336] ^F Nagasubramanian等, 儿科血癌 (Pediatr Blood Cancer) 2016年8月 (Aug); 63(8):1468-70, 2016.

[0337] ^G Chintakuntlawar等, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2016 May; 121(5):542-549.e1.

[0338] ^H U.S. 专利号US9511050B2.

[0339] ^I U.S. 专利号US9447135B2.

[0340] ^J Skalova等, Modern Pathology 30, S27-S43, 2017.

[0341] ^K Hycza等, 第469卷, 副补1, S17页. 摘要数: 0FP-1997-7; 第31届国际病理学会国际会议和第28届欧洲病理学会大会 (31st International Congress of the International Academy of Pathology and the 28th Congress of the European Society of Pathology), 德国科隆. 2016年9月25-29日. ^L Sims等, 癌症免疫疗法杂志 (Journal of Immunotherapy of Cancer), 第4卷, 副补1; 摘要数: P280; 第31届癌症免疫治疗学会年会和相关程序, SITC 2016. 马里兰州国家港口; 2016年11月9-13日。

[0342] ^K Roberts等, 血液 (Blood), 第128卷, 第22号, 摘要数: 278, 第58届美国血液学会年会 (58th Annual Meeting of the American Society of Hematology), ASH 2016. 美国加州圣地亚哥. 2016年12月3日到2016年12月6日。

[0343] ^M Pavlick等, 儿科血癌 (Pediatr Blood Cancer), doi:10.1002/pbc.26433, 2017.

[0344] 在一些实施方式中, NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调包括NTRK1基因中的至少一个点突变, 其导致产生与野生型TrkC蛋白相比具有一个或多个氨基酸取代的TrkC蛋白 (参见例如表15中列出的点突变)。

[0345] 表15. 激活TrkC点突变^A

[0346]	点突变	理论说明	存在突变的示例性同种型 (如
--------	-----	------	----------------

		果已知)
[0347]	V603M ^C	NP_001007157.1 ^D
	F617L ^C	参考TrkC序列
	G623R ^{B,C}	位阻 参考TrkC序列
	G696C或G696A或 G696S ^C	参考TrkC序列

[0348] ^A参考TrkC序列UniProtKB/Swiss-Prot:Q16288.2,并且可以在URL找到:
www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/134035335?report=genbank&log\$=protalign&blast_rank=0&RID=0(SEQ ID NO.3)

[0349] ^B Drilon等Ann Oncol.2016May;27(5):920-6.doi:10.1093/annonc/mdw042.Epub 2016Feb15.

[0350] ^C PCT申请号W02016196141A1.

[0351] ^D www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001007157

[0352] 在一些实施方式中,已经鉴定TRK相关癌症具有一种或多种TRK抑制剂抗性突变(其导致对TRK抑制剂的抗性增加。表17-19中列出了TRK抑制剂抗性突变的非限制性实例。

[0353] 表17. 示例性TrkA抗性突变

[0354]	氨基酸位置517(例如G517R)
	氨基酸位置542(例如A542V)
	氨基酸位置568(例如Q568x)
	氨基酸位置573(例如V573M)
	氨基酸位置589(例如F589L,F589C)
	氨基酸位置595(例如G595S,G595R ¹)
	氨基酸位置599(例如D596V)
	氨基酸位置600(例如F600L)
	氨基酸位置602(例如R602x)
	氨基酸位置646(例如F646V)
	氨基酸位置656(例如C656Y,C656F)
	氨基酸位置657(例如L657V)
	氨基酸位置667(例如G667C ¹ ,G667S)
	氨基酸位置676(例如Y676S)

[0355] ¹Russo等,在结直肠癌中对TRK抑制剂Entrectinib的获得性耐药(Acquired Resistance to the TRK Inhibitor Entrectinib in Colorectal Cancer),癌症发现(Cancer Discov.)2016年1月(Jan);6(1):36-44,2016.

[0356] 表18. 示例性TrkB抗性突变

[0357]	氨基酸位置545(例如G545R)
	氨基酸位置570(例如A570V)

氨基酸位置596 (例如Q596E, Q596P)
氨基酸位置601 (例如V601G)
氨基酸位置617 (例如F617L, F617C, F617I)
氨基酸位置623 (例如G623S, G623R)
氨基酸位置624 (例如D624V)
氨基酸位置628 (例如F628x)
氨基酸位置630 (例如R630K)
氨基酸位置672 (例如F672x)
氨基酸位置682 (例如C682Y, C682F)
氨基酸位置683 (例如L683V)
氨基酸位置693 (例如G693S)
氨基酸位置702 (例如Y702x)

[0358] 表19. 示例性TrkC抗性突变

氨基酸位置 545 (例如 G545R)
氨基酸位置 570 (例如 A570V)
氨基酸位置 596 (例如 Q596x)
氨基酸位置 601 (例如 V601)
氨基酸位置 617 (例如 F617x, F617L)
氨基酸位置 623 (例如 G623R ¹)
氨基酸位置 624 (例如 D624V)
氨基酸位置 628 (例如 F628x)

[0359]

氨基酸位置 630 (例如 R630x)
氨基酸位置 675 (例如 F675x)
氨基酸位置 685 (例如 C685Y, C684F)
氨基酸位置 686 (例如 L686V)
氨基酸位置 696 (例如 G696x, G696A)
氨基酸位置 705 (例如 Y705x)

[0360]

[0361] ¹ Drilon等, MASC后面隐藏了什么: 在ETV6-NTRK3识别乳腺类似的分泌性癌(MASC)后对于entrectinib的临床应答和获得性耐药(What hides behind the MASC: clinical response and acquired resistance to entrectinib after ETV6-NTRK3 identification in a mammary analogue secretory carcinoma (MASC)), 肿瘤学年鉴(Ann Oncol.) 2016年5月(2016 May); 27(5): 920-6. doi:10.1093/annonc/mdw042.Epub

2016 Feb 15.

[0362] 在一些实施方式中,本文提供了用于治疗被诊断患有Trk相关癌症的患者的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。例如,Trk相关癌症可以选自由以下组成的组:非小细胞肺癌,乳头状甲状腺癌,多形性胶质母细胞瘤,急性髓性白血病,结肠直肠癌,大细胞神经内分泌癌,前列腺癌,神经母细胞瘤,胰腺癌,黑色素瘤,头颈部鳞状细胞癌,胃癌,斯皮茨癌,甲状腺乳头状癌,结肠癌,急性髓性白血病,胃肠道间质瘤(GIST)(例如KIT/PDGFR/BRAF/SDH的GIST检测野生型),肉瘤,儿科神经胶质瘤,肝内胆管细胞癌,毛细胞星形细胞瘤,低等级胶质瘤,肺腺癌,唾液腺癌,分泌性乳腺癌,纤维肉瘤,肾瘤和乳腺癌。

[0363] 在一些实施方式中,Trk相关癌症选自由以下组成的组:TRK相关癌症的非限制性实例包括:施皮茨黑色素瘤,施皮茨肿瘤(例如转移性施皮茨肿瘤),非小细胞肺癌(NSCLC),甲状腺癌(例如甲状腺乳头状癌(PTC)),急性髓性白血病(AML),肉瘤(例如未分化肉瘤或成人软组织肉瘤),儿科神经胶质瘤,结直肠癌(CRC),多形性胶质母细胞瘤(GBM),大细胞神经内分泌癌(LCNEC),甲状腺癌,肝内胆管细胞癌(ICC),毛细胞星形细胞瘤,低等级胶质瘤,头颈部鳞状细胞癌,腺癌(例如肺腺癌),唾液腺癌,分泌性乳腺癌,乳腺癌,急性骨髓性白血病,纤维肉瘤,肾瘤,黑色素瘤,支气管肺癌,B细胞癌,支气管癌,口腔癌或咽癌,血液组织癌,宫颈癌,胃癌,肾癌,肝癌,多发性骨髓瘤,卵巢癌,胰腺癌,唾液腺癌,小肠或阑尾癌,睾丸癌,膀胱癌,子宫或子宫内膜癌,炎性肌纤维母细胞瘤,胃肠道间质瘤,非霍奇金淋巴瘤,神经母细胞瘤,小细胞肺癌,鳞状细胞癌,食道胃癌,皮肤癌,肿瘤(例如黑色素细胞肿瘤),施皮茨痣,星形细胞瘤,成神经管细胞瘤,胶质瘤,大细胞神经内分泌肿瘤,乳腺类似物分泌性癌,非乳头状细胞癌,骨癌和直肠癌。

[0364] 在一些实施方式中,纤维肉瘤是婴儿纤维肉瘤。

[0365] 在一些实施方式中,Trk相关癌症是LMNAa-NTRK1融合软组织肉瘤或EVT6-NTRK3融合乳头状甲状腺癌。

[0366] 在一些实施方式中,本文所述的液体制剂可用于治疗儿科患者的Trk相关癌症。例如,本文提供的液体制剂可用于治疗婴儿肉瘤,神经母细胞瘤,先天性中胚层肾瘤,脑低等级神经胶质瘤和脑桥神经胶质瘤。

[0367] 在一些实施方式中,本文提供的液体制剂可用于与一种或多种通过相同或不同作用机制起作用的其它治疗剂或疗法组合治疗Trk相关癌症。

[0368] 在一些实施方式中,其它治疗剂选自由以下组成的组:受体酪氨酸激酶靶向治疗剂,包括卡博替尼,克唑替尼,厄洛替尼,吉非替尼,伊马替尼,拉帕替尼,尼罗替尼,帕唑帕尼,帕妥珠单抗,瑞格非尼,舒尼替尼和曲妥珠单抗。

[0369] 在一些实施方式中,其它治疗剂选自信号转导途径抑制剂,包括例如Ras-Raf-MEK-ERK途径抑制剂(例如索拉非尼,曲美替尼或维罗非尼),PI3K-Akt-mTOR-S6K途径抑制剂(例如依维莫司,雷帕霉素,哌立福辛或替西罗莫司)和凋亡途径的调节剂(例如奥巴克拉)。

[0370] 在一些实施方式中,其它治疗剂选自由以下组成的组:细胞毒性化学治疗,包括例如三氧化二砷,博来霉素,卡巴他赛,卡培他滨,卡铂,顺铂,环磷酰胺,阿糖胞苷,达卡巴嗪,柔红霉素,多西紫杉醇,多柔比星,依托泊苷,氟尿嘧啶,吉西他滨,伊立替康,洛莫司汀,甲氨蝶呤,丝裂霉素C,奥沙利铂,紫杉醇,培美曲塞,替莫唑胺和长春新碱。

[0371] 在一些实施方式中,其它治疗剂选自血管生成靶向疗法的组,包括例如阿柏西普和贝伐单抗。

[0372] 在一些实施方式中,其它治疗剂选自免疫靶向剂的组,例如包括阿地白介素,伊匹单抗,兰洛丽珠单抗,纳武单抗和sipuleucel-T。

[0373] 在一些实施方式中,其它治疗剂选自对下游Trk途径有活性的药剂,包括例如NGF靶向的生物药物,例如NGF抗体和panTrk抑制剂。

[0374] 在一些实施方式中,其它治疗剂或疗法是放射疗法,包括例如放射性碘疗法,外部束放射疗法和镭223疗法。

[0375] 在一些实施方式中,其它治疗剂包括上面所列疗法或治疗剂中的任一种,其是癌症中的护理标准,其中癌症具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调。

[0376] 检测NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的方法包括例如检测NTRK基因易位,例如使用荧光原位杂交(FISH)(例如国际申请号PCT/US2013/061211和PCT/US2013/057495中描述的,其通过引用并入本文)。

[0377] 在一些实施方式中,本文提供了治疗患者的癌症(例如Trk相关癌症)的方法,其包括向所述患者施用本文提供的液体制剂与至少一种其它疗法或治疗剂的组合。在一些实施方式中,至少一种其它疗法或治疗剂选自放射疗法(例如放射性碘疗法,外束放射疗法或镭223疗法),细胞毒性化学疗法(例如三氧化二砷,博来霉素,卡巴他赛,卡培他滨,卡铂,顺铂,环磷酰胺,阿糖胞苷,达卡巴嗪,柔红霉素,多西紫杉醇,多柔比星,依托泊苷,氟尿嘧啶,吉西他滨,伊立替康,洛莫司汀,甲氨蝶呤,丝裂霉素C,奥沙利铂,紫杉醇,培美曲塞,替莫唑胺或长春新碱),酪氨酸激酶靶向治疗(例如阿法替尼,卡博替尼,西妥昔单抗,克唑替尼,达拉非尼,厄洛替尼,吉非替尼,伊马替尼,拉帕替尼,尼罗替尼,帕唑帕尼,帕尼单抗,帕妥珠单抗,瑞格非尼,舒尼替尼或曲妥珠单抗),凋亡调节因子和信号转导抑制剂(例如依维莫司,哌嗪,雷帕霉素,索拉非尼,替西罗莫司,曲美替尼或维罗非尼),免疫靶向疗法(如阿地白介素,干扰素 α -2b,伊匹单抗,兰洛丽珠单抗,纳武单抗,泼尼松或sipuleucel-T)和血管生成靶向疗法(例如阿柏西普或贝伐单抗),其中本文提供的液体制剂与其它疗法或治疗剂组合的量有效治疗所述癌症。

[0378] 在一些实施方式中,其它治疗剂是不同的Trk抑制剂。在一些实施方式中,受体酪氨酸激酶靶向治疗是表现出TRK抑制活性的多激酶抑制剂(例如TRK靶向治疗抑制剂)。在一些实施方式中,TRK靶向治疗抑制剂对TRK激酶具有选择性。如本文所述的测定中测量的,示性TRK激酶抑制剂可以针对TRK激酶显示抑制活性(IC_{50})为小于约1000nM,小于约500nM,小于约200nM,小于约100nM,小于约50nM,小于约25nM,小于约10nM,或小于约1nM。在一些实施方式中,如在测定中测量的,TRK激酶抑制剂可以针对TRK激酶显示抑制活性(IC_{50})为小于约25nM,小于约10nM,小于约5nM,或小于约1nM。例如,TRK抑制剂测定可以是美国专利号8,933,084(例如实施例A或B)中提供的任何测定。

[0379] 受体酪氨酸激酶(例如Trk)靶向治疗剂的非限制性实例包括阿法替尼,卡博替尼,西妥昔单抗,克唑替尼,达拉非尼,恩曲替尼,厄洛替尼,吉非替尼,伊马替尼,拉帕替尼,来他替尼,尼罗替尼,帕唑帕尼,帕尼单抗,帕妥珠单抗,舒尼替尼,曲妥珠单抗,1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基))-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲,AG 879,AR-772,AR-786,AR-256,AR-618,AZ-23,AZ623,DS-6051,

Gö6976,GNF-5837,GTx-186,GW 441756,LOX0-101,MGCD516,PLX7486,RXDX101,TPX-0005和TSR-011。其它Trk靶向治疗剂包括美国专利号8,450,322;8,513,263;8,933,084;8,791,123;8,946,226;8,450,322;8,299,057和8,912,194;美国公开号2016/0137654;2015/0166564;2015/0051222;2015/0283132和2015/0306086;国际公开号W02010/033941;W02010/048314;W02016/077841;W02011/146336;W02011/006074;W02010/033941;W02012/158413;W02014078454;W02014078417;W02014078408;W02014078378;W02014078372;W02014078331;W02014078328;W02014078325;W02014078323;W02014078322;W02015175788;W02009/013126;W02013/174876;W02015/124697;W02010/058006;W02015/017533;W02015/112806;W02013/183578和W02013/074518中描述的那些,其全部内容各自通过引用并入本文。

[0380] Trk抑制剂的其它实例可以在美国专利号8,637,516,国际公开号W02012/034091,美国专利号9,102,671,国际公开号W02012/116217,美国公开号2010/0297115,国际公开号W02009/053442,美国专利号8,642,035,国际公开号W02009092049,美国专利号8,691,221,国际公开号W02006131952中找到,其全部内容各自通过引用并入本文。示例性Trk抑制剂包括Cancer Chemother. Pharmacol. 75 (1) : 131-141, 2015中描述的GNF-4256;和ACS Med. Chem. Lett. 3 (2) : 140-145, 2012中描述的GNF-5837 (N-[3-[[2,3-二氢-2-氧代-3-(1H-吡咯-2-基亚甲基)-1H-吡啶-6-基]氨基]-4-甲基苯基]-N'-[2-氟-5-(三氟甲基)苯基]-脲),其全部内容各自通过引用并入本文。

[0381] Trk抑制剂的其它实例包括美国公开号2010/0152219,美国专利号8,114,989和国际公开号W02006/123113中公开的那些,其全部内容各自通过引用并入本文。示例性Trk抑制剂包括Cancer 117 (6) : 1321-1391, 2011中描述的AZ623;Cancer Biol. Ther. 16 (3) : 477-483, 2015中描述的AZD6918;Cancer Chemother. Pharmacol. 70 : 477-486, 2012中描述的AZ64;Mol. Cancer Ther. 8 : 1818-1827, 2009中描述的AZ-23 ((S)-5-氯-N-(1-(5-氟吡啶-2-基)乙基)-N4-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2,4-二胺);和AZD7451;其全部内容各自通过引用并入本文。

[0382] Trk抑制剂可以包括美国专利号7,615,383;7,384,632;6,153,189;6,027,927;6,025,166;5,910,574;5,877,016和5,844,092中描述的那些,其全部内容各自通过引用并入本文。

[0383] Trk抑制剂的其它实例包括Int. J. Cancer 72 : 672-679, 1997中描述的CEP-751;Acta Derm. Venereol. 95 : 542-548, 2015中描述的CT327;国际公开号W02012/034095中描述的化合物;美国专利号8,673,347和国际公开号W02007/022999中描述的化合物;美国专利8,338,417中描述的化合物;国际公开号W02016/027754中描述的化合物;美国专利No. 9,242,977中描述的化合物;美国专利公开号2016/0000783中描述的化合物;PLoS One 9 : e95628, 2014中描述的舒尼替尼 (N-(2-二乙基氨基乙基)-5-[(Z)-(5-氟-2-氧代-1H-吡啶-3-亚基)甲基]-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-甲酰胺);国际公开号W02011/133637中描述的化合物;美国专利8,637,256中描述的化合物;Expert Opin. Ther. Pat. 24 (7) : 731-744, 2014中描述的化合物;Expert Opin. Ther. Pat. 19 (3) : 305-319, 2009中描述的化合物;ACS Med. Chem. Lett. 6 (5) : 562-567, 2015中描述的(R)-2-苯基吡咯烷基取代的咪唑并吡嗪,例如GNF-8625, (R)-1-(6-(6-(2-(3-氟苯基)吡咯烷-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)-[2,

4'-联吡啶]-2'-基)哌啶-4-醇;PLoS One 8(12):e83380,2013中描述的GTx-186和其它;Mol.Cell Biochem.339(1-2):201-213,2010中描述的K252a((9S-(9 α ,10 β ,12 α))-2,3,9,10,11,12-六氢-10-羟基-10-(甲氧基羰基)-9-甲基-9,12-环氧-1H-二吡啶[1,2,3-fg:3',2',1'-k1]吡咯并[3,4-i][1,6]苯并二嗪辛-1-酮);J.Med.Chem.51(15):4672-4684,2008中描述的4-氨基吡啶基嘧啶,例如AZ-23(((S)-5-氯-N2-(1-(5-氟吡啶-2-基)乙基)-N4-(5-异丙氧基-1H-吡啶-3-基)嘧啶-2,4-二胺));Mol.Cancer Ther.6:3158,2007中描述的PHA-739358(达鲁舍替);J.Neurochem.72:919-924,1999中描述的Gö6976(5,6,7,13-四氢-13-甲基-5-氧代-12H-吡啶并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咪唑-12-丙腈);IJA 115:117,2010中描述的GW441756((3Z)-3-[(1-甲基吡啶-3-基)亚甲基]-1H-吡咯并[3,2-b]吡啶-2-酮);J.Carcinog.12:22,2013中描述的milciclib(PHA-848125AC);AG-879((2E)-3-[3,5-双(1,1-二甲基乙基)-4-羟基苯基]-2-氰基-2-丙烯硫基酰胺);altiratinib(N-(4-((2-(环丙烷甲酰胺基)吡啶-4-基)氧基)-2,5-二氟苯基)-N-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);卡博替尼(N-(4-((6,7-二甲氧基喹啉-4-基)氧基)苯基)-N'-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);来他替尼((5S,6S,8R)-6-羟基-6-(羟甲基)-5-甲基-7,8,14,15-四氢-5H-16-氧杂-4b,8a,14-三氮杂-5,8-甲烷二苯并[b,H]环辛并[jk1]环戊并[e]-as-茛-13(6H)-酮);多拉替尼(4-氨基-5-氟-3-[6-(4-甲基哌嗪-1-基)-1H-苯并咪唑-2-基]喹啉-2(1H)-酮单2-羟基丙酸酯水合物);sitravatinib(N-(3-氟-4-((2-(5-((2-甲氧基乙基)氨基)甲基)吡啶-2-基)噻吩并[3,2-b]吡啶-7-基)氧基)苯基)-N-(4-氟苯基)环丙烷-1,1-二甲酰胺);ONO-5390556;瑞格非尼(4-[4-({[4-氯-3-(三氟甲基)苯基]氨基甲酰基}氨基)-3-氟苯氧基]-N-甲基吡啶-2-甲酰胺水合物);和VSR-902A;其全部内容各自通过引用并入本文。

[0384] Trk抑制剂作为TrkA,TrkB和/或TrkC抑制剂的能力可以使用美国专利号8,513,263中实施例A和B中描述的测定进行测试,该专利通过引用并入本文。

[0385] 在一些实施方式中,信号转导途径抑制剂包括Ras-Raf-MEK-ERK途径抑制剂(例如binimetinib,司美替尼,encorafenib,索拉非尼,曲美替尼和维罗非尼),PI3K-Akt-mTOR-S6K途径抑制剂(例如依维莫司,雷帕霉素,perifosib,西罗莫司)和其它激酶抑制剂,例如巴西替尼,布格替尼,capmatinib,danuserib,伊布替尼,milciclib,槲皮素,瑞格非尼,鲁索利替尼,semaxanib,AP32788,BLU285,BLU554,INCB39110,INCB40093,INCB50465,INCB52793,INCB54828,MGCD265,NMS-088,NMS-1286937,PF 477736((R)-氨基-N-[5,6-二氢-2-(1-甲基-1H-吡啶-4-基)-6-氧代-1H-吡咯并[4,3,2-ef][2,3]苯并二氮杂-8-基]-环己烷乙酰胺),PLX3397,PLX7486,PLX8394,PLX9486,PRN1008,PRN1371,RXDX103,RXDX106,RXDX108和TG101209(N-叔丁基-3-(5-甲基-2-(4-(4-甲基哌嗪-1-基)苯基氨基)嘧啶-4-基氨基)苯磺酰胺)。

[0386] 检查点抑制剂的非限制性实例包括伊匹单抗,曲美单抗,纳武单抗,pidilizumab,MPDL3208A,MEDI4736,MSB0010718C,BMS-936559,BMS-956559,BMS-935559(MDX-1105),AMP-224和派姆单抗。

[0387] 在一些实施方式中,细胞毒性化学治疗剂选自三氧化二砷,博来霉素,卡巴他赛,卡培他滨,卡铂,顺铂,环磷酰胺,阿糖胞苷,达卡巴嗪,柔红霉素,多西紫杉醇,多柔比星,依托泊苷,氟尿嘧啶,吉西他滨,伊立替康,洛莫司汀,甲氨蝶呤,丝裂霉素C,奥沙利铂,紫杉醇,培美曲塞,替莫唑胺和长春新碱。

[0388] 血管生成靶向疗法的非限制性实例包括阿柏西普和贝伐单抗。

[0389] 在一些实施方式中,免疫靶向剂选自阿地白介素,干扰素 α -2b,伊匹单抗,兰洛丽珠单抗,纳武单抗,泼尼松和sipuleucel-T。

[0390] 放射疗法的非限制性实例包括放射性碘疗法,外束放射疗法和镭223疗法。

[0391] 其它激酶抑制剂包括在例如美国专利号7,514,446;7,863,289;8,026,247;8,501,756;8,552,002;8,815,901;8,912,204;9,260,437;9,273,051;美国公开号US2015/0018336;国际公开号W02007/002325;W02007/002433;W02008/080001;W02008/079906;W02008/079903;W02008/079909;W02008/080015;W02009/007748;W02009/012283;W02009/143018;W02009/143024;W02009/014637;2009/152083;W02010/111527;W02012/109075;W02014/194127;W02015/112806;W02007/110344;W02009/071480;W02009/118411;W02010/031816;W02010/145998;W02011/092120;W02012/101032;W02012/139930;W02012/143248;W02012/152763;W02013/014039;W02013/102059;W02013/050448;W02013/050446;W02014/019908;W02014/072220;W02014/184069和W02016/075224中描述的那些,其全部内容各自通过引用并入本文。

[0392] 激酶抑制剂的其它实例包括在例如W02016/081450;W02016/022569;W02016/011141;W02016/011144;W02016/011147;W02015/191667;W02012/101029;W02012/113774;W02015/191666;W02015/161277;W02015/161274;W02015/108992;W02015/061572;W02015/058129;W02015/057873;W02015/017528;W0/2015/017533;W02014/160521和W02014/011900中描述的那些,其全部内容各自通过引用并入本文。

[0393] 再其它治疗剂包括RET抑制剂,例如在美国专利号8,299,057;8,399,442;8,937,071;9,006,256和9,035,063;美国公开号2014/0121239;2011/0053934;2011/0301157;2010/0324065;2009/0227556;2009/0130229;2009/0099167;2005/0209195;国际公开号W02014/184069;W02014/072220;W02012/053606;W02009/017838;W02008/031551;W02007/136103;W02007/087245;W02007/057399;W02005/051366和W0 2005/044835以及J.Med.Chem.2012,55(10),4872-4876中描述的那些。

[0394] 这些其它治疗剂可以与一种或多种本文提供的液体制剂通过相同或不同的施用途作为相同或不同剂型的一部分,并且根据本领域技术人员已知的标准药学实践在相同或不同的施用方案中施用。

[0395] 本文还提供了(i)用于治疗有需要的患者的癌症(例如Trk相关癌症)的药物组合,其包含:(a)本文提供的液体制剂,(b)其它治疗剂以及(c)任选的至少一种其它添加剂,用于同时、分别或依次用于治疗肿瘤疾病,其中本文提供的液体制剂和其它治疗剂的量一起有效治疗所述癌症;(ii)包含这种组合的药物组合物;(iii)这种组合在制备治疗癌症的药物(例如Trk相关癌症)中的用途;(iv)包括这种组合作为用于同时,分开或依次使用的组合制剂的商业包装或产品;以及治疗有需要的患者的癌症(例如Trk相关癌症)的方法。

[0396] 还提供了治疗被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症(例如本文所述或本领域已知的任何Trk相关癌症)的受试者(例如通过使用经管理机构批准的(例如FDA批准的)试剂盒鉴定受试者或受试者的活检样本中NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调而已被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者)的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。还提供了本文提供的液体制剂在治疗被鉴定或诊断为患有Trk相关癌

症(例如本文所述或本领域已知的任何Trk相关癌症)的受试者(例如通过使用经管理机构批准的(例如FDA批准的)试剂盒鉴定受试者或受试者的活检样本中NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调而已被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者)的Trk相关癌症中的用途。还提供了本文提供的液体制剂在制备用于治疗被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症(例如本文所述或本领域已知的任何Trk相关癌症)的受试者(例如通过使用经管理机构批准的(例如FDA批准的)试剂盒鉴定受试者或受试者的活检样本中NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调而已被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者)的Trk相关癌症的药物中的用途。

[0397] 还提供了治疗受试者的方法(例如怀疑患有Trk相关癌症的受试者,呈现Trk相关癌症的一种或多种症状的受试者,或具有高风险发展Trk相关癌症的受试者),其包括对从受试者获得的样品进行测定(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒),以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,并且向确定具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的受试者施用(例如特异性或选择性施用)治疗有效量的本文提供的液体制剂。本文描述了可用于这些方法的其它测定,非限制性测定。其它测定也是本领域已知的。还提供了本文提供的液体制剂在治疗通过以下步骤被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者的Trk相关癌症中的用途,所述步骤包括对从受试者获得的样品进行测定(例如体外测定)(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒),以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,其中存在NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调表明受试者患有Trk相关癌症。还提供了本文提供的液体制剂在制造用于治疗通过以下步骤被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者的Trk相关癌症的药物中的用途,所述步骤包括对从受试者获得的样品进行测定(例如体外测定)(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒),以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,其中存在NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调表明受试者患有Trk相关癌症。本文所述的任何方法或用途的一些实施方式还包括在受试者的临床记录(例如计算机可读介质)中记录,通过进行测定而确定具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性的失调的受试者应被施用本文提供的液体制剂。

[0398] 在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试者已被鉴定或诊断为患有癌症,其具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒确定)。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试者患有对NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调呈阳性的肿瘤(例如使用经管理机构批准的测定或试剂盒确定)。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试者可以是患有对NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调呈阳性的肿瘤的受试者(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒鉴定为阳性)。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试者可以是其肿瘤具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的受试者(例如其中使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒或测定鉴定的肿瘤)。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试

者怀疑患有Trk相关癌症。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试者具有临床记录,其表明受试者患有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平失调的肿瘤(并且任选地临床记录表明应该用本文提供的任何组合物治疗受试者)。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,怀疑受试者患有Trk相关癌症。在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,受试者具有临床记录,其表明受试者患有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平失调的肿瘤(并且任选地临床记录表明受试者应该用本文提供的任何组合物治疗)。

[0399] 还提供了治疗受试者的方法,其包括向受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂,所述受试者具有表明该受试者具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的临床记录。还提供了本文提供的液体制剂在制造用于治疗受试者的Trk相关癌症的药物中的用途,所述受试者具有表明该受试者具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的临床记录。还提供了本文提供的液体制剂在制造用于治疗受试者的Trk相关癌症的药物中的用途,所述受试者具有表明该受试者具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的临床记录。这些方法和用途的一些实施方式可以进一步包括:对从受试者获得的样品进行测定(例如体外测定)(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒)的步骤,以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,以及在受试者的临床记录(例如计算机可读介质)中记录该受试者已被鉴定为具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的信息。

[0400] 还提供了选择受试者的治疗的方法(例如体外方法),其包括选择治疗,所述治疗包括向被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症(例如本文所述或本领域中已知的任何Trk相关癌症)的受试者(例如通过使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒鉴定受试者或受试者的活检样品中的NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调而已被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者)施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。一些实施方式可以进一步包括向被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者施用选择的治疗。一些实施方式可以进一步包括对从受试者获得的样品进行测定的步骤(例如体外测定)(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒),以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,以及鉴定或诊断确定具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或水平失调的受试者患有Trk相关癌症。

[0401] 还提供了选择受试者的治疗的方法,所述治疗包括施用治疗有效量的本文提供的液体制剂,其中所述方法包括对从受试者获得的样品进行测定的步骤(例如体外测定)(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒),以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,以及鉴定或诊断确定具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的受试者患有Trk相关癌症,以及选择治疗性治疗,所述治疗包括向被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。一些实施方式还包括向被鉴定或诊断为患有Trk相关癌症的受试者施用选择的治疗。

[0402] 还提供了选择受试者的治疗的方法,所述治疗包括施用治疗有效量的本文提供的

液体制剂,所述方法包括选择,鉴定或诊断患有Trk相关癌症的受试者,以及选择儿科受试者的治疗,所述治疗包括施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。在一些实施方式中,将受试者鉴定或诊断为患有Trk相关癌症可以包括对从受试者获得的样品进行测定的步骤(例如体外测定)(例如利用下一代测序,免疫组织化学,分离FISH,或双重融合FISH分析的测定)(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒),以确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白质或其表达或活性或其水平的失调,以及鉴定或诊断确定具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的儿科受试者患有Trk相关癌症。在一些实施方式中,选择治疗可以用作临床研究的一部分,其包括施用Trk相关癌症的各种治疗。

[0403] 在本文所述的任何方法或用途的一些实施方式中,使用的测定使用来自受试者(例如怀疑患有Trk相关癌症的受试者,患有Trk相关癌症的一种或多种症状的受试者和/或患有Trk相关癌症的风险增加的受试者)的样品(例如生物样品或活检样品(例如石蜡包埋的活检样品))确定受试者是否具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调,其可以包括例如下一代测序,免疫组织化学,荧光显微镜,分离FISH分析,Southern印迹,Western印迹,FACS分析,Northern印迹和基于PCR的扩增(例如RT-PCR)。如本领域所熟知的,通常例如用至少一种标记的核酸探针或至少一种标记的抗体或其抗原结合片段进行测定。测定可以利用本领域已知的其它检测方法来检测NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调(参见例如本文引用的参考文献)。

[0404] 在一些实施方式中,本文提供的液体制剂可用于治疗慢性和急性疼痛,包括与癌症,手术和骨折相关的疼痛。本文提供的液体制剂可用于治疗多种类型的疼痛,包括炎性疼痛,神经性疼痛和与癌症,手术和骨折相关的疼痛。本文提供的液体制剂还可用于治疗癌症,包括神经母细胞瘤,卵巢癌,胰腺癌和结肠直肠癌。本文提供的液体制剂也可用于治疗炎症和某些传染病。此外,本文提供的液体制剂还可用于治疗间质性膀胱炎(IC),疼痛性膀胱综合征(PBS),尿失禁,哮喘,厌食症,特应性皮炎和牛皮癣。本文提供的液体制剂还可以通过阻断Sp35-TrkA相互作用,通过促进髓鞘形成,神经元存活和少突胶质细胞分化来治疗脱髓鞘和髓鞘形成。本文提供的液体制剂可用于治疗多种类型的疼痛,包括炎性疼痛,神经性疼痛,手术疼痛和与癌症相关的疼痛。本文提供的液体制剂可用于治疗骨相关疾病(例如涉及骨吸收的疾病)。骨相关疾病的实例包括转移性骨病,治疗诱导的骨丢失,骨质疏松症,类风湿性关节炎,强直性脊柱炎,佩吉特病和牙周病。骨质疏松症可归因于(1)女性绝经,(2)男性或女性老化,(3)儿童期和青春期期间骨质增长不佳导致未达到峰值骨量,和/或(4)骨丢失继发于其它疾病,饮食失调,药物和/或医学治疗。可以根据本文提供的方法治疗的其它溶骨性疾病更局部化。一个特定实例是转移性肿瘤诱导的骨溶解。在这种情况下,骨癌或骨转移引起局部骨溶解,其引起疼痛,骨质无力和骨折。这种局部骨溶解还允许肿瘤通过在骨中为它们创造更多空间并从骨基质释放生长因子而变大。目前已知引起肿瘤诱导的骨溶解的癌症包括血液恶性肿瘤(例如骨髓瘤和淋巴瘤)和实体瘤(例如乳腺癌,前列腺癌,肺癌,肾癌和甲状腺癌),本公开考虑了所有这些的治疗。如本文所用,术语治疗包括预防以及现有病症的治疗。

[0405] 因此,本文还提供了治疗有需要的受试者的疾病或医学病症的方法,其中所述疾病或病症可用TrkA和/或TrkB的抑制剂治疗(例如Trk相关癌症),包括施用本发明提供的液体制剂,其用量可有效治疗或预防所述疾病。在一个具体实施方式中,本文提供了治疗哺乳

动物的疼痛,癌症,炎症,神经变性疾病或克氏锥虫感染的方法,其包括向所述哺乳动物施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。在另一个实施方式中,本文提供了治疗哺乳动物的溶骨性疾病的方法,其包括向有需要的所述受试者施用治疗有效量的本文提供的液体制剂。

[0406] 本文提供的液体制剂可以与一种或多种通过相同或不同的作用机制起作用的其它药物组合使用。这种联合治疗可以通过同时,依次或分开施用治疗的各个组分来实现。实例包括抗炎化合物,类固醇(例如地塞米松,可的松和氟替卡松),镇痛药例如NSAID(例如阿司匹林,布洛芬,吲哚美辛和酮洛芬)和阿片类药物(例如吗啡)和化学治疗剂。

[0407] 在医学肿瘤学领域中,通常的做法是使用不同形式的治疗的组合来治疗患有癌症的每个患者。在医学肿瘤学中,除了本文提供的组合物之外,这种联合治疗的其它组分可以是例如手术,放射疗法,化学疗法,信号转导抑制剂和/或单克隆抗体。因此,式(I)化合物也可用作癌症治疗的佐剂,即它们可以与一种或多种其它疗法或治疗剂组合使用,例如通过相同或不同的作用机制起作用的化学治疗剂。

[0408] 因此,本文提供的液体制剂可以与选自有丝分裂抑制剂,烷化剂,抗代谢物,反义DNA或RNA,嵌入抗生素,生长因子抑制剂,信号转导抑制剂,细胞周期抑制剂,酶抑制剂,类视黄醇受体调节剂,蛋白酶体抑制剂,拓扑异构酶抑制剂,生物反应调节剂,抗激素,血管生成抑制剂,细胞抑制剂抗雄激素,靶向抗体,HMG-CoA还原酶抑制剂和异戊二烯基蛋白转移酶抑制剂中的一种或多种药剂组合施用。

[0409] 在本文所述的任何方法的一些实施方式中,本文提供的液体制剂与治疗有效量的至少一种选自一种或多种其它疗法或治疗(例如化学治疗)剂的其它治疗剂组合施用。

[0410] 其它治疗剂的非限制性实例包括:其它受体酪氨酸激酶靶向治疗剂(例如TRK激酶抑制剂),激酶靶向治疗剂,信号转导途径抑制剂,检查点抑制剂,凋亡途径的调节剂(例如奥布克拉);细胞毒性化学治疗,血管生成靶向治疗,免疫靶向药物和放射治疗。

[0411] 在本文所述的治疗方法中,本文提供的液体制剂可特别用于治疗患有吞咽困难(例如难以吞咽)的受试者。例如,本文提供的液体制剂可用于治疗患有口咽性吞咽困难的受试者的癌症的方法。

[0412] 当本文公开的化合物具有至少一个手性中心时,化合物可以相应作为对映体存在。当化合物具有两个手性中心时,化合物可以另外作为非对映异构体存在。也就是说,式I化合物除了具有由术语“(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺”(以下简称(S,R)异构体)指定的所需构型外,也可以少量存在为异构体(R)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐(以下称为(R,R)异构体),和/或也可以少量存在为(S)-N-(5-((S)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐(以下称为(S,S)异构体),和/或可以少量存在为异构体(R)-N-(5-((S)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐(以下简称(R,S)异构体)。应理解,所有这些异构体及其混合物都包括在本发明的范围内。优选地,其中化合物作为(S,R)异构体存在,(S,R)异构体以大于或等于约80%的过量,更优选以大于或等于大于或等于约90%的过量存在,再更优选以大于或等于约95%的过量,再更优选以大于或等于约98%的过量,更优选以大于或等于约99%的过

量存在。

[0413] 应理解,结晶形式(I-HS)含有两个不对称中心,因此可以在异构体的混合物中制备和分离,例如外消旋或非对映异构体混合物,或以对映体纯的形式。当立体化学由表示特定构型的实心楔形或虚线指定时,则立体异构体如此指定和定义。

[0414] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指保留主题化合物的所需生物活性并且表现出最小的不希望毒理学作用的盐。这些药学上可接受的盐可以在化合物的最终分离和纯化过程中原位制备,或者通过分别使纯化的化合物以其游离酸或游离碱形式与合适的碱或酸反应而制备。在一些实施方式中,药学上可接受的盐优于相应的游离碱或游离酸,因为这些盐赋予分子更大的稳定性或溶解性,从而促进配制成剂型。碱性化合物通常能够通过用合适的酸处理形成药学上可接受的酸加成盐。合适的酸包括药学上可接受的无机酸和药学上可接受的有机酸。代表性的药学上可接受的酸加成盐包括盐酸盐,氢溴酸盐,硝酸盐,硝酸甲酯,硫酸盐,硫酸氢盐,氨基磺酸盐,磷酸盐,乙酸盐,羟基乙酸盐,苯基乙酸盐,丙酸盐,丁酸盐,异丁酸盐,戊酸盐,马来酸盐,羟基马来酸盐,丙烯酸盐,富马酸盐,苹果酸盐,酒石酸盐,柠檬酸盐,水杨酸盐,对氨基水杨酸盐,乙醇酸盐,乳酸盐,庚酸盐,邻苯二甲酸盐,草酸盐,琥珀酸盐,苯甲酸盐,邻乙酰氧基苯甲酸盐,氯苯甲酸盐,苯甲酸甲酯,二硝基苯甲酸盐,羟基苯甲酸盐,甲氧基苯甲酸盐,扁桃酸盐,丹宁酸盐,甲酸盐,硬脂酸盐,抗坏血酸盐,棕榈酸盐,油酸盐,丙酮酸盐,双羟萘酸盐,丙二酸盐,月桂酸盐,戊二酸盐,谷氨酸盐,乙醇盐,甲磺酸盐(甲磺酸盐),乙磺酸盐(乙磺酸盐),2-羟基乙磺酸盐,苯磺酸盐(苯磺酸盐),对氨基苯磺酸盐,对甲苯磺酸盐(甲苯磺酸盐),萘-2-磺酸盐,乙二磺酸盐和2,5-二羟基苯甲酸酯。

[0415] 除非另有说明,否则本文所用的术语“分离形式”是指化合物以与具有另一种化合物的任何固体混合物,溶剂体系或生物环境分开形式存在。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)以分离形式存在。

[0416] 除非另有说明,本文所用的术语“基本上纯的形式”是指分离化合物或结晶形式中杂质的摩尔百分比小于约5摩尔%,优选小于约2摩尔%,更优选小于约0.5摩尔%,最优选小于约0.1摩尔%。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)以基本上纯的形式存在。

[0417] 如本文所用,除非另有说明,否则当用于描述结晶形式(I-HS)时,术语“基本上不含其它无定形,多晶型或结晶形式”应表示结晶形式(I-HS)的分离碱的其它无定形,多晶型或结晶形式的摩尔百分比小于约5摩尔%,优选小于约2摩尔%,更优选小于约0.5摩尔%,最优选小于约0.1摩尔%。在一些实施方式中,结晶形式(I-HS)以基本上不含其它无定形,多晶型或结晶形式的形式存在。

[0418] 术语“多晶型物”和“多晶型形式”是指单一化合物的不同晶型。也就是说,多晶型物是具有相同分子式的不同固体,但每种多晶型物可以具有不同的固态物理性质。因此,单一化合物可以产生多种多晶型形式,其中每种形式具有不同且相异的固态物理性质,例如不同的溶解度曲线,溶解速率,熔点温度,流动性和/或不同的X射线衍射峰。物理性质的差异可能影响药物参数,例如储存稳定性,可压缩性和密度(在制剂和产品制造中可能是重要的)和溶解速率(这可能是生物利用度的重要因素)。表征多晶型的技术包括但不限于X射线粉末衍射(XRPD),差示扫描量热法(DSC),热重分析(TGA),单晶X射线衍射(XRD),振动光谱例如红外(IR)和拉曼光谱,固态和溶液核磁共振(NMR)光谱,光学显微镜,热台光学显微镜,

扫描电子显微镜 (SEM), 电子晶体学和定量分析, 粒度分析 (PSA), 表面积分析, 溶解度测量, 溶解测量, 元素分析和卡尔费休分析。

[0419] 术语“无定形”是指固态的固体, 其为非晶态。无定形固体是分子的无序排列, 因此不具有可区分的晶格或晶胞, 因此没有可定义的长程有序。固体形式的固体可以通过偏振光显微镜, X射线粉末衍射 (“XRPD”), 差示扫描量热法 (“DSC”) 或本领域技术人员已知的其它标准技术来确定。

[0420] 如本文所用, 除非另有说明, 术语“治疗”等应包括受试者或患者 (优选哺乳动物, 更优选人) 的管理和护理, 以对抗疾病, 病症或紊乱, 并且包括施用所公开的化合物以缓解症状或并发症, 或降低疾病, 病症或紊乱的进展速度。

[0421] 除非另有说明, 否则本文所用的术语“预防”应包括: (a) 减少一种或多种症状的频率; (b) 减轻一种或多种症状的严重程度; (c) 延迟或避免产生其它症状; 和/或 (d) 延迟或避免疾病或病症的发展。

[0422] 如本文所用, 术语“Trk相关癌症”应定义为包括与NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调 (例如本文所述的任何类型的NTRK基因, Trk蛋白, 或其表达或活性或其水平的失调) 相关或具有该失调的癌症。本文描述了Trk相关癌症的非限制性实例。

[0423] 如本文所用, 术语“疼痛”应定义为包括急性, 慢性, 炎性和神经性疼痛, 包括糖尿病性神经病。此外, 疼痛可以是中枢介导的, 外周介导的, 由结构组织损伤引起, 由软组织损伤引起或由进行性疾病引起。任何中枢介导的, 外周介导的, 结构组织损伤, 软组织损伤或进行性疾病相关的疼痛可以是急性的或慢性的。

[0424] 如本文所用, 除非另有说明, 疼痛应包括炎性疼痛, 中枢介导的疼痛, 外周介导的疼痛, 内脏疼痛, 结构相关疼痛, 癌症疼痛, 软组织损伤相关疼痛, 进行性疾病相关疼痛, 神经性疼痛, 急性损伤的急性疼痛, 创伤的急性疼痛, 手术的急性疼痛, 头痛, 牙痛, 背痛 (优选腰痛), 神经性疾病的慢性疼痛和卒中后病症的慢性疼痛。

[0425] 一些实施方式包括治疗疼痛的方法, 其中疼痛是急性疼痛。一些实施方式包括治疗疼痛的方法, 其中疼痛是慢性疼痛。一些实施方式包括治疗疼痛的方法, 其中疼痛是神经性疼痛, 包括糖尿病性神经病。一些实施方式包括治疗疼痛的方法, 其中疼痛是炎性疼痛。

[0426] 在一些实施方式中, 疼痛选自自由骨关节炎, 类风湿性关节炎, 纤维肌痛, 头痛, 牙痛, 烧伤, 晒伤, 动物咬伤 (例如狗咬, 猫咬, 蛇咬, 蜘蛛咬伤和昆虫叮咬等), 神经源性膀胱, 良性前列腺肥大, 间质性膀胱炎, 鼻炎, 接触性皮炎/过敏, 瘙痒, 湿疹, 咽炎, 粘膜炎, 肠炎, 橘皮组织, 灼痛, 坐骨神经炎, 下颌关节神经痛, 周围神经炎, 多发性神经炎, 残端疼痛, 幻影肢体疼痛, 术后肠梗阻, 胆囊炎, 乳房切除术后疼痛综合征, 口腔神经性疼痛, 夏科氏疼痛, 反射性交感神经营养不良, 格林-巴利综合征, 意志痛, 灼口综合征, 疱疹后神经痛, 三叉神经痛, 周围神经病, 双侧周围神经病变, 糖尿病神经病变, 带状疱疹后神经痛, 三叉神经痛, 视神经炎, 发热后神经炎, 迁移性神经炎, 段神经炎, Gombault神经炎, 神经炎, 颈神经痛, 颅神经痛, 膝状神经痛, 舌咽神经痛, 偏头痛神经痛, 特发性神经痛, 肋间神经痛, 乳腺神经痛, 跖骨痛症, 鼻睫神经痛, 枕神经痛, 红色神经痛, Sluder神经痛, 蝶腭神经痛, 眶上神经痛, 视网膜神经痛, 炎症性肠病, 肠易激综合征, 分娩, 生娃, 月经来潮, 癌症, 腰痛, 腰痛和腕管综合征疼痛组成的组。

[0427] 急性疼痛包括由急性损伤, 创伤, 疾病或手术引起的疼痛 (例如开胸手术 (包括开

胸或旁路手术)。急性疼痛还包括但不限于头痛,术后疼痛,肾结石疼痛,胆囊疼痛,胆结石疼痛,产科疼痛,风湿性疼痛,牙痛或由运动医学损伤引起的疼痛,腕管综合征,烧伤,肌肉骨骼扭伤和拉伤,肌腱炎,颈部疼痛综合征,消化不良,胃溃疡,十二指肠溃疡,痛经或子宫内膜异位症。

[0428] 慢性疼痛包括由炎性病症,骨关节炎,类风湿性关节炎或疾病后遗症,急性损伤或创伤引起的疼痛。慢性疼痛还包括但不限于头痛,上背部疼痛或下背部疼痛(选自系统性,区域性或原发性脊柱疾病(选自神经根病)引起的背痛),骨痛(选自由于骨关节炎,骨质疏松症,骨转移或未知原因的骨痛),骨盆疼痛,脊髓损伤相关疼痛,心脏胸痛,非心脏性胸痛,中枢性中风后疼痛,肌筋膜疼痛,癌症疼痛,艾滋病疼痛,镰状细胞疼痛,老年疼痛或由头痛引起的疼痛,偏头痛,三叉神经痛,颞下颌关节综合征,纤维肌痛综合征,骨关节炎,类风湿性关节炎,痛风,纤维组织炎或胸廓出口综合征。

[0429] 神经性疼痛包括由慢性或衰弱的病症或紊乱引起的疼痛。可导致神经性疼痛的慢性或衰弱性病症或紊乱包括但不限于疼痛性糖尿病周围神经病,带状疱疹后神经痛,三叉神经痛,中风后疼痛,多发性硬化相关疼痛,神经病相关疼痛例如特发性或创伤后神经病和单神经炎,HIV相关神经性疼痛,癌症相关神经性疼痛,腕管相关神经性疼痛,脊髓损伤相关疼痛,复杂区域疼痛综合征,纤维肌痛相关神经性疼痛,腰椎和颈椎疼痛,反射性同情性营养不良,幻肢综合症和其它慢性和衰弱性疾病相关的疼痛综合征。

[0430] “急性神经变性疾病或疾病”包括但不限于与神经元死亡或损伤相关的各种类型的急性神经变性疾病,包括脑血管功能不全,局灶性脑外伤,弥漫性脑损伤和脊髓损伤,即脑缺血或梗死包括栓塞闭塞和血栓性闭塞,急性缺血后再灌注,围产期缺氧缺血性损伤,心脏骤停,以及任何类型(包括但不限于硬膜外,硬膜下,蛛网膜下腔和脑内)的颅内出血,以及颅内和椎间病变(包括但不限于挫伤,穿透,剪切,压迫和撕裂)和婴儿摇晃综合症。在一些实施方式中,急性神经变性疾病是中风,急性缺血性损伤,头部损伤或脊髓损伤的结果。

[0431] “慢性神经退行性病症或疾病”包括但不限于阿尔茨海默病,皮克氏病,弥漫性路易体病,进行性核上性麻痹(Stein-Richardson综合征),多系统变性(Shy-Drager综合征),与神经变性相关的慢性癫痫病症,运动神经元疾病包括肌萎缩侧索硬化症,退行性共济失调,皮质基底变性,关岛ALS-帕金森氏症-痴呆综合征,亚急性硬化性全脑炎,亨廷顿病,帕金森病,原发性发病性疾病(包括多系统萎缩),原发性进行性失语症,纹状体黑质变性,Machado-Joseph病/脊髓小脑性共济失调3型和橄榄体脑小脑退化,Gilles De La Tourette病,延髓和假性延髓麻痹,脊髓和脊髓性肌萎缩症(肯尼迪病),多发性硬化症,原发性侧索硬化,家族性痉挛性截瘫,Werdnig-Hoffmann病,Kugelberg-Welander病,Tay-Sach病,Sandhoff病,家族性痉挛性疾病,Wohlfart-Kugelberg-Welander病,痉挛性下肢瘫痪,进行性多灶性白质脑病,家族性自主神经功能障碍(Riley-Day综合征)和朊病毒病(包括但不限于Creutzfeldt-Jakob, Gerstmann-Straussler-Scheinker病,Kuru和致命的家族性失眠症)。在一些实施方式中,慢性神经变性疾病选自阿尔茨海默病,帕金森病,多发性硬化症或脑瘫。

[0432] 如本文所用的术语“受试者”是指已成为治疗、观察或实验对象的动物,优选哺乳动物,最优选人。在一些实施方式中,受试者已经历和/或表现出待治疗和/或预防的疾病或病症的至少一种症状。在一些实施方式中,患者从出生至出生的前28天,29天至小于2岁,2

岁至小于12岁,12岁到至21岁(最多但不包括二十二岁生日),22岁至35岁,35岁至65岁,或者大于65岁。在一些实施方式中,患者是儿科患者(即在诊断或治疗时未满21岁的患者)。术语“儿科”可以进一步分为各种亚群,包括:新生儿(从出生到出生后的前28天);婴儿(29日至小于两岁);儿童(两岁至小于12岁);和青少年(12岁至21岁(最多但不包括二十二岁生日))。Berhman RE,Kliegman R,Arvin AM,Nelson WE.Nelson Textbook of Pediatrics,15th Ed.Philadelphia:W.B.Saunders Company,1996;Rudolph AM,等Rudolph's Pediatrics,21st Ed.New York:McGraw-Hill,2002;和Avery MD,First LR.Pediatric Medicine,2nd Ed.Baltimore:Williams&Wilkins;1994。在一些实施方式中,患者是老年患者(例如大于65岁的患者)。

[0433] 在一些实施方式中,受试者已被鉴定或诊断为患有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平失调的癌症(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒确定)。在一些实施方式中,受试者患有对NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调呈阳性的肿瘤(例如使用经管理机构批准的测定或试剂盒确定)。受试者可以是患有对NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调呈阳性的肿瘤的受试者(例如使用经管理机构批准的,例如FDA批准的测定或试剂盒鉴定为阳性)。受试者可以是其肿瘤具有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的受试者(例如其中使用经管理机构批准的,例如FDA批准的试剂盒或测定鉴定肿瘤)。在一些实施方式中,受试者被怀疑患有Trk相关癌症。在一些实施方式中,受试者具有临床记录,其表明受试者患有NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平失调的肿瘤(并且任选地临床记录进一步表明受试者应该用本文提供的任何组合物治疗)。

[0434] 术语“Trk”或“Trk蛋白”包括本文所述的任何Trk蛋白(例如TrkA,TrkB或TrkC蛋白)。

[0435] 术语“NTRK基因”包括本文所述的任何NTRK基因(例如NTRK1,NTRK2或NTRK3基因)。

[0436] 术语“野生型”或“野生-型”描述了在未患有Trk相关癌症(并且任选地也没有增加发生Trk相关癌症或病症的风险和/或未怀疑患有Trk相关癌症或病症)的受试者中发现的或在未患有Trk相关癌症或病症(并且任选地也没有增加发生Trk相关癌症或病症的风险和/或未怀疑患有Trk相关癌症或病症的风险)的受试者的细胞或组织中发现的核酸(例如NTRK基因或Trk mRNA)或蛋白质(例如Trk蛋白质)。

[0437] 术语“管理机构”是批准国家的医药试剂的医疗用途的国家机构。例如,管理机构的非限制性实例是美国食品和药物管理局(FDA)。

[0438] 短语“NTRK基因,Trk蛋白,或表达或活性或其水平的失调”是基因突变(例如导致融合蛋白表达的NTRK基因易位,导致与野生型Trk蛋白相比包括至少一个氨基酸缺失的Trk蛋白表达的NTRK基因中的缺失,或导致具有一个或多个点突变的Trk蛋白表达的NTRK基因中的突变,导致Trk蛋白导致与野生型Trk蛋白相比在Trk蛋白中缺失至少一个氨基酸的Trk mRNA的另一种拼接形式),或导致在细胞中过表达Trk蛋白或过表达NTRK基因所产生的自分泌活性的NTRK基因重复,这导致细胞中Trk蛋白的激酶结构域(例如Trk蛋白的组成型活性激酶结构域)的活性的致病性增加。例如,NTRK基因,Trk蛋白,或表达或活性或其水平的失调可以是NTRK1,NTRK2或NTRK3基因中的突变,其编码组成型活性或不包括突变的NTRK1,NTRK2或NTRK3基因编码的蛋白质相比具有增加的活性。例如,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达

或活性或其水平的失调可以是基因易位的结果,其导致含有TrkA,TrkB或TrkC(包含功能性激酶结构域)的第一部分,和伴侣蛋白(即不是TrkA,TrkB或TrkC)的第二部分的融合蛋白的表达。编码融合蛋白的基因可以包括例如野生型NTRK1基因的以下外显子:外显子10-19,外显子12-19,外显子12-19,外显子13-19,外显子14-19或外显子15-19。编码融合蛋白的基因可以包括例如野生型NTRK2基因的以下外显子:外显子12-21,外显子13-21,外显子15-21,外显子16-21或外显子17-21。编码融合蛋白的基因可以包括例如野生型NTRK3基因的以下外显子:外显子17-22或外显子16-22。表1、3和4中描述了由于NTRK基因易位的融合蛋白的非限制性实例。

[0439] NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调可以例如包括NTRK1,NTRK2或NTRK3基因中的突变,其导致TrkA,TrkB或TrkC含有至少一个(例如两个,三个,四个或五个)点突变(例如表6中列出的一个或多个点突变)。NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调可以例如包括NTRK2基因中的突变,其导致TrkB蛋白包括V673M的点突变。NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调可以例如包括NTRK3基因中的突变,其导致TrkC蛋白包括H677Y的点突变。

[0440] NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调可以是NTRK1,NTRK2或NTRK3基因中的突变,其导致TrkA,TrkB或TrkC蛋白中的一个或多个连续氨基酸的缺失(例如至少两个,至少三个,至少四个,至少5个,至少6个,至少7个,至少8个,至少9个,至少10个,至少15个,至少20个,至少30个,至少30个40,至少50,至少60,至少70,至少80,至少90,至少100,至少110,至少120,至少130,至少140,至少150,至少160,至少170,至少180,至少190,至少200,至少210,至少220,至少230,至少240,至少250,至少260,至少270,至少280,至少290,至少300,至少310,至少320,至少330,至少340,至少350,至少360,至少370,至少380,至少390,或至少400个氨基酸)(除了会导致激酶结构域失活的TrkA,TrkB或TrkC激酶域中氨基酸的缺失)。在一些实施方式中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调可以包括NTRK1基因中的缺失,其导致缺乏NGF结合位点或包括NGF结合位点的外显子10的TrkA蛋白,后者与急性髓性白血病有关。

[0441] 在一些实例中,NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调可以包括Trk mRNA的可变剪接形式,例如TrkAIII剪接变体或TrkA mRNA的替代剪接形式导致产生缺乏外显子10编码的氨基酸的TrkA蛋白。在一些实例中,NTRK基因,Trk蛋白,或表达或活性或其水平的失调包括NTRK基因的扩增(例如NTRK基因的一个,两个,三个或四个其它拷贝),其可以导致NTRK基因在细胞中的自分泌表达。

[0442] 术语“Trk相关癌症或肿瘤”是与NTRK基因,Trk蛋白,或表达或活性或其水平的失调相关的癌症(例如与本文所述的NTRK基因,Trk蛋白,或其表达或活性或其水平的失调的至少一个实例(例如两个,三个,四个或五个实例)相关的癌症)。

[0443] 本文所用的术语“哺乳动物”是指具有或有风险发展本文所述疾病的温血动物,包括但不限于豚鼠,狗,猫,大鼠,小鼠,仓鼠和灵长类动物,包括人类。

[0444] 本文所用的术语“治疗有效量”是指在研究人员,兽医,医生或其它临床医生正在寻求的组织系统,动物或人类中引发生物或药物反应的活性化合物或药剂的量,包括减轻所治疗的疾病或病症的症状。特别地,当给予需要这种治疗的受试者时,治疗有效量足以:(i) 治疗或预防可以用TrkA和/或TrkB抑制剂治疗的特定疾病,病症或紊乱,(ii) 减弱,改善

或消除特定疾病,病症或紊乱的一种或多种症状,或(iii)预防或延迟本文所述的特定疾病,病症或紊乱的一种或多种症状的发作。对应于这种治疗有效量的结晶形式(I-HS)的量将根据诸如疾病状况及其严重性,需要治疗的哺乳动物的特性(例如体重)等因素而变化,但是仍然可以由本领域技术人员常规确定。

[0445] 如本文所用,术语“组合物”旨在涵盖包含特定量的特定成分的产品,以及直接或间接由特定量的特定成分的组合物产生的任何产品。

[0446] 为了提供更简洁的描述,本文给出的一些定量表达不具有术语“约”的限定。应理解,无论是否明确使用术语“约”,本文给出的每个数量意指实际给定值,并且还意味着参考基于本领域普通技术可合理推断的这种给定值的近似值,包括由于这种给定值的实验和/或测量条件引起的近似值。

[0447] 在一些实施方式中,术语“约”在本文中用于表示大约,在…区域中,近似或约。当术语“约”与数值范围结合使用时,它通过扩展上述数值的上下边界来修改该范围。通常,术语“约”在本文中用于将所述值之上和之下的数值修改10%的差异。

[0448] 在X射线粉末衍射图中的一个或多个峰位置之前的术语“约”表示其前面的组的所有峰以角位置(2θ)报告,允许的变化为 $\pm 0.3^\circ$ 。当比较两种粉末X射线衍射图时,旨在使用 $\pm 0.3^\circ$ 的变化。实际上,如果来自一个图的衍射图峰值指定为一个角位置(2θ)范围,即测量的峰值位置 $\pm 0.3^\circ$,并且如果这些峰值位置范围重叠,那么这两个峰值被认为具有相同的角位置。例如,如果确定来自一个图的峰值具有 11.0° 的位置,则出于比较目的,允许的变化允许峰值指定为在 10.7° - 11.3° 范围内的位置。

[0449] 在DSC,TGA,TG或DTA值之前的术语“约”以 $^\circ\text{C}$ 报告,具有 $\pm 5^\circ\text{C}$ 的允许变化。

[0450] 为了提供更简明的描述,本文中的一些定量表达指定为从大约X量至大约量Y的范围。应当理解,其中列举了一个范围,该范围不限于所述的上限和下限,而是包括从大约数量X至大约数量Y的全部范围,或其中的任何范围。

[0451] 在一些实施方式中,本文提供的液体制剂含有每单位剂量单位约20mg,约30mg,约40mg,约50mg,约100mg,约150mg,约200mg,约250mg,约300mg,约400mg,或约500mg式(I)化合物,其药学上可接受的盐,或其组合。然而,剂量可以根据患者的需要,所治疗病症的严重程度和所用化合物而变化。在一些实施方式中,剂量每日一次(QD)或每日两次(BID)施用。

[0452] 本文所述的液体制剂中式(I)化合物,其药学上可接受的盐或其组合的日剂量可以在1.0至10000mg/成年人/天的宽范围,或更高,或其中任何范围内变化。对于口服施用,组合物优选以含有0.01,0.05,0.1,0.5,1.0,2.5,5.0,10.0,15.0,25.0,50.0,100,150,200,250和500毫克用于对待治疗患者的剂量的症状调整的活性成分的片剂形式提供。通常以每天约0.1mg/kg至约1000mg/kg体重或其中任何范围的剂量水平提供有效量的药物。该范围可以是每天约0.5至约500mg/kg体重,或其中的任何范围。该范围可以是每天约1.0至约250mg/kg体重,或其中的任何范围。该范围可以是每天约0.1至约100mg/kg体重,或其中的任何范围。在一个实例中,该范围可以是每天约0.1至约50.0mg/kg体重,或其中的任何量或范围。在另一个实例中,该范围可以是每天约0.1至约15.0mg/kg体重,或其中的任何范围。在又一个实例中,该范围可以是每天约0.5至约7.5mg/kg体重,或其中的任何量至范围。本文提供的液体制剂可以按每天1至4次或以单一日剂量的方案施用。

[0453] 强度,施用方式和疾病状况的进展而变化。此外,与所治疗的特定患者相关的因

素,包括患者年龄,体重,饮食和施用时间,将导致需要调整剂量。待施用的最佳剂量可以由本领域技术人员容易地确定,并且将随施用方式,制剂强度,施用方式和疾病状况的进展而变化。此外,与所治疗的特定患者相关的因素,包括患者年龄,体重,饮食和施用时间,将导致需要调整剂量。

[0454] 本领域技术人员将认识到,使用合适、已知和通常接受的细胞和/或动物模型的体内和体外试验都可以预测试验化合物治疗或预防给定病症的能力。

[0455] 本领域技术人员将进一步认识到,可以根据临床和医学领域中众所周知的方法完成人体临床试验,包括在健康患者和/或患有给定病症的患者中的首次人类剂量范围和功效试验。例如,可以使用已知方法确定儿科患者的合适剂量,包括体重,年龄和模型,例如 **Simcyp®** 儿科模拟模型 (CERTARA, Princeton, New Jersey), 其可用于建立用于给药的药代动力学方法,该方法考虑到患者年龄,式 (I) 化合物,其药学上可接受的盐或其组合的清除途径的个体发育,以及体表面积 (BSA)。

[0456] 本文提供的液体制剂可以通过许多不同途径施用,包括口服施用,鼻内施用和通过肠内喂养或胃造口术管施用。

[0457] 在说明书中找到的缩略语具有以下含义:

[0458]

ATP	三磷酸腺苷
DI	去离子的
EtOH	乙醇
GC	气相色谱法
MOPS	3- (N-吗啉) -丙磺酸
MTBE	甲基叔丁基醚
PDA	光电二极管阵列
RRT	相对保留时间
RT	室温
THF	四氢呋喃
TMB	3,3',5,5'-四甲基联苯胺

[0459] 以下实施例用于说明本发明,并且用于帮助理解本发明,并不意图也不应解释为以任何方式限制随后的权利要求中所述的本发明。

[0460] 在下面描述的实施例中,除非另有说明,否则所有温度均以 °C 表示。试剂购自商业供应商,例如 Sigma-Aldrich Chemical Company, EMD, JT Baker 或 Pharco-Aaper, 除非另有说明,否则无需进一步纯化即可使用。四氢呋喃 (THF), 庚烷和其它有机溶剂购自商业供应商,例如 Sigma-Aldrich Chemical Company, ACROS, Alfa-Aesar, Lancaster, TCI 或 Maybridge, 并按原样使用。

[0461] 本领域技术人员将认识到,在没有另外说明的情况下,根据已知方法在合适的条件下进行反应步骤,以提供所需产物。本领域技术人员还将认识到,其中本文公开的反应步骤可以在各种溶剂或溶剂体系中进行,所述反应步骤也可以在合适的溶剂或溶剂体系的混合物中进行。本领域技术人员将认识到,在本文提出的说明书和权利要求书中,其中在一个以上的方法步骤中列举了试剂或试剂类别/类型 (例如碱,溶剂等), 各个试剂是对于每个反

应步骤独立地选择,并且可以彼此不同。例如,其中方法的两个步骤列举了有机或无机碱作为试剂,选择用于第一步的有机或无机碱可以与第二步的有机或无机碱相同或不同。

[0462] 下面列出的反应通常在“ACS级”溶剂中在氮气的正压力下进行(除非另有说明),并且反应烧瓶通常装有橡胶隔片,用于通过注射器或加料漏斗引入底物和试剂。

[0463] 使用乙腈和水/三氟乙酸作为流动相,使用两个反相高效液相色谱(HPLC)系统进行过程监测和分析。一个系统在264nm处使用Agilent Zorbax Extend C18柱,而另一个系统(在下文中,“TRK1PM1HPLC”)包括在268nm处的WatersXbridge Phenyl柱。除非另有说明,否则使用前一种系统。将两种系统的二氧化硅在烧瓶中与化合物一起搅拌,然后通过聚丙烯布过滤,然后进行分析。

[0464] 式I化合物的无定形游离碱形式:将约1克(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺溶于最少量的水中并冷却至约-26°C的温度,然后在冷冻干燥器中干燥24小时。将约20mg从冷冻干燥器获得的无定形物质在小瓶中称重,向其中加入5体积等份的适当溶剂体系。检查混合物的溶解,如果没有明显溶解,则将混合物加热至约40°C并再次检查。继续该过程直至观察到溶解或直至加入100体积的溶剂。由冷冻干燥实验获得的无定形材料的XRPD图显示在图7中。

[0465] 式I化合物的无定形硫酸氢盐如W02010/048314中的实施例14A中所述制备(参见实施例3)。

[0466] 本文还提供了制备结晶形式(I-HS)的方法。在一些实施方式中,该方法包括方案1中所示的步骤。

[0467] 在一些实施方式中,本文提供了制备结晶形式(I-HS)的方法,其包括:

[0468] (a) 将浓硫酸加入(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的EtOH溶液,以形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的硫酸氢盐;

[0469] (b) 在步骤(a)中向溶液中加入庚烷以形成浆液;

[0470] (c) 过滤浆液以分离(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐;

[0471] (d) 使所述(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐与5:95w/w水/2-丁酮溶液混合;

[0472] (e) 在约65-70°C下在搅拌下加热步骤(d)的混合物,直至乙醇的重量百分比为约0.5%,以形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐的结晶形式的浆液;以及

[0473] (f) 通过过滤分离(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐的结晶形式。

[0474] 在一些实施方式中,上述方法还包括:(b1) 在室温下向步骤(a)的溶液中加入(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺,并且搅拌溶液直至形成浆液。

[0475] 在一些实施方式中,本文提供了制备结晶形式(I-HS)的方法,其包括:

[0476] (a) 使5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶与(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(R)-2-羟基琥珀酸酯在碱的存在下反应,以形成(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-3-硝基

吡唑并[1,5-a]嘧啶；

[0477] (b) 用Zn和盐酸处理所述(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶,以形成(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-胺；

[0478] (c) 用碱和氯甲酸苯酯处理所述(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-胺,以形成苯基(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯；

[0479] (d) 使所述苯基(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)氨基甲酸叔丁酯与(S)-吡咯烷-3-醇反应,以形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺；

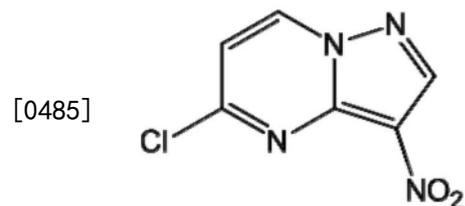
[0480] (e) 向所述(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺中加入硫酸,以形式(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐；以及

[0481] (f) 分离(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐的结晶形式。

[0482] 在上述步骤(a)的一些实施方式中,碱是胺碱,例如三乙胺。

[0483] 在上述步骤(c)的一些实施方式中,碱是碱金属碱,例如碱金属碳酸盐,例如碳酸钾。

[0484] 制剂A



[0486] 5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶的制备

[0487] 步骤A—吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇钠盐的制备:将1H-吡唑-5-胺和1,3-二甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1.05当量)的溶液装入配有机械搅拌器,蒸汽锅,回流冷凝器,J-Kem温度探针和用于正N₂压力控制的N₂适配器的圆底烧瓶中。在机械搅拌下,将固体在氮气氛下悬浮4体积(4mL/g)无水EtOH,然后加入2.1当量的NaOEt(21重量%的EtOH溶液),然后用1体积(1mL/g)无水EtOH直线冲洗。将浆液温热至约75℃并在温和回流下搅拌直至通过TRK1PM1HPLC观察到小于1.5面积%的1H-吡唑-5-胺,以使用20μL稀释于4mL去离子水的浆液和220nm处的5μL进样跟踪反应进程。

[0488] 再过1小时后,向混合物中加入2.5体积(2.5mL/g)庚烷,然后在70℃下回流1小时。然后将浆液冷却至室温过夜。通过在桌面漏斗和聚丙烯滤布上过滤收集固体。冲洗反应器并在滤饼上加入4体积(4mL/g)庚烷,将滤饼拉出,将固体转移到配衡的干燥盘中,并在45℃下在高真空下烘箱干燥,直至其重量恒定。得到淡黄色固体吡唑并[1,5-a]-嘧啶-5-醇钠盐,产率93-96%(校正),HPLC观察到大于99.5面积%(去离子水中1mg/mL稀释,220nm处的TRK1PM1)。

[0489] 步骤B—3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮的制备:在配衡的圆底烧瓶中加入在40-45℃下溶于3.0体积(3.0mL/g)去离子水的吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇钠盐,然后在65

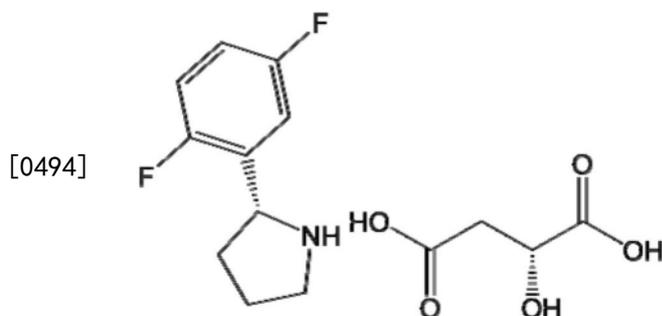
℃下在高真空下在旋转蒸发器上的水浴中浓缩,直至观察到2.4x重量的起始材料(1.4体积/1.4mL/g去离子水含量)。对残留EtOH(30μL溶于约1mL MeOH中的溶液)进行气相色谱法(GC),显示小于100ppm,随后在加入HNO₃后观察到痕量的硝酸乙酯烟雾。在某些情况下,向原始溶液中另外加入1.5体积(1.5mL/g)DI水,然后在65℃下在高真空下在旋转蒸发器上的水浴中浓缩,直至观察到2.4x重量的起始材料(1.4体积/1.4mL/g DI水含量)。对残留EtOH(30μL溶于约1mL MeOH中的溶液)进行气相色谱法,显示<<100ppm残留EtOH,未观察到下面加入HNO₃后的任何硝酸乙酯烟雾。

[0490] 向配有机械搅拌器,蒸汽锅,回流冷凝器,J-Kem温度探针和用于正N₂压力控制的N₂适配器的圆底容器中装入3体积%(3mL/g,10当量)>90重量%的HNO₃并在氮气氛下使用外部冰水冷却浴在氮气氛下冷却至约10℃。使用压力平衡加料漏斗,向HNO₃溶液中以在冷却下保持35-40℃的内部温度的速率加入1.75-1.95体积的吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇钠盐的去离子水溶液(1.16-1.4mL去离子水/g吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇钠盐)。观察到两种共沸物,没有任何硝酸乙酯烟雾。将共沸烧瓶,输送管线(如果适用)和加料漏斗用加入反应混合物中的2×0.1体积(2×0.1mL/g)去离子水冲洗。一旦添加完成,温度逐渐升高至约45-50℃约3小时,HPLC显示吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇钠盐转化为3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮>99.5面积%。

[0491] 步骤C—5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶的制备:将3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮加入配有机械搅拌器,加热套,回流冷凝器,J-Kem温度探头和用于正N₂压力控制的N₂适配器的圆底烧瓶中。在机械搅拌下,将固体用8体积(8mL/g)的CH₃CN悬浮,然后加入2,6-二甲基吡啶(lutidine)(1.05当量),接着将浆液温热至约50℃。使用压力平衡加料漏斗,向混合物中滴加0.33当量的POCl₃。该加入产生厚的米色三聚体浆液,在搅拌下均化,直至观察到半移动物质。向混合物中加入另外1.67当量的POCl₃,同时使温度稳定,然后将反应混合物温热至温和回流(78℃)。在温热混合物时观察到一些膨化,随着厚浆料变薄随后平息。

[0492] 使反应混合物回流直至完全溶解至深色溶液,直至HPLC(20μL稀释于5mLCH₃CN,TRK1PM1HPLC,5μL进样,268nm)证实了通过从区域整合中手动除去与二甲基吡啶相关的任何干扰和早期洗脱峰而观察到不存在更多三聚体(RRT 0.92)小于0.5面积%的3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮(RRT 0.79)。在1.9kg规模上,在温和回流19小时后使用在268nm处的TRK1PM1HPLC观察到0面积%的三聚体,0.25面积%的3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮和99.5面积%的5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶。

[0493] 制剂B



[0495] (R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(R)-2-羟基琥珀酸盐的制备

[0496] 步骤A—(4-(2,5-二氟苯基)-4-氧代丁基)-氨基甲酸叔丁酯的制备:将2-溴-1,4-

二氟苯(1.5当量)溶于4体积的THF中(基于加入2-氧代吡咯烷-1-羧酸叔丁酯的重量),并冷却至约5°C。在2小时内向混合物中加入2.0M iPrMgCl的THF(1.4当量)溶液,同时保持反应温度低于25°C。将溶液冷却至约5°C并搅拌1小时(GC分析证实格氏形成)。在约30分钟内加入2-氧代吡咯烷-1-羧酸叔丁酯(1.0当量)在1体积THF中的溶液,同时保持反应温度低于25°C。将反应在约5°C下搅拌90分钟(通过HPLC确认2-氧代吡咯烷-1-羧酸叔丁酯小于0.5面积%)。用5体积的2M HCl水溶液淬灭反应,同时保持反应温度低于45°C。然后将反应物转移到分液漏斗中,加入10体积的庚烷并除去水层。用4体积的饱和NaCl水溶液洗涤有机层,然后加入2×1体积的饱和NaCl水溶液。在35-55°C的蒸馏温度下将有机层溶剂转换为庚烷(通过GC确认<1重量% THF),并且对于加入的2×4体积的庚烷,蒸馏压力为100-200mm Hg,最小化蒸馏量为约7体积。然后将混合物用庚烷稀释至10体积,同时加热至约55°C,得到更致密的固体,将混合物冷却至室温过夜。将浆液冷却至低于5°C并通过聚丙烯滤布过滤。用2×2体积的庚烷洗涤湿滤饼。将固体在55°C下真空干燥直至重量恒定,得到(4-(2,5-二氟苯基)-4-氧代丁基)-氨基甲酸叔丁酯,为白色固体,理论收率为约75%至85%。

[0497] 步骤B—5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氢-2H-吡咯的制备:将(4-(2,5-二氟苯基)-4-氧代丁基)-氨基甲酸叔丁酯溶于加入2.2当量12M HCl的5体积甲苯中,观察到温和放热和气体逸出。将反应加热至65°C达12-24小时,并通过HPLC监测。完成后,用冰/水浴将反应冷却至低于15°C。用3当量的2M NaOH水溶液(4.7体积)将pH调节至约14。将反应在室温下搅拌1-2小时。将混合物用甲苯转移到分液漏斗中。除去水层,用3体积的饱和NaCl水溶液洗涤有机层。将有机层浓缩成油状物并重新溶解在1.5体积的庚烷中。将得到的悬浮液通过GF/F滤纸过滤,浓缩成5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氢-2H-吡咯的淡黄色油状物,理论收率为90%至100%。

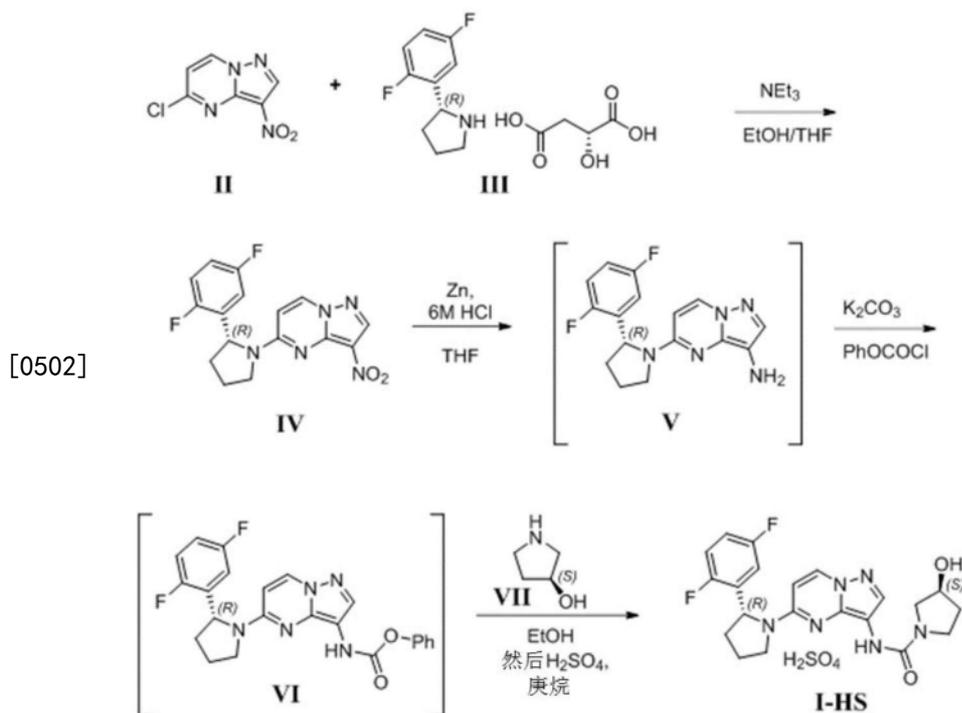
[0498] 步骤C—(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷的制备:将氯-1,5-环辛二烯铯二聚物(0.2mol%)和(R)-2-(2-(二苯基膦基)苯基)-4-异丙基-4,5-二氢恶唑(0.4mol%)在室温下悬浮于5体积的MTBE(基于5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氢-2H-吡咯)中。将混合物搅拌1小时,大部分固体溶解,溶液变为深红色。使用HPLC/PDA检测器监测催化剂的形成。将反应冷却至低于5°C并使用0.5体积的MTBE冲洗加入5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氢-2H-吡咯(1.0当量)。在约20分钟内加入二苯基硅烷(1.5当量),同时保持反应温度低于10°C。将反应在10°C以下搅拌30分钟,然后使其温热至室温。将反应在室温下搅拌过夜。通过HPLC确认反应完成,然后冷却至低于5°C。用5体积的2M HCl水溶液淬灭反应,保持温度低于20°C。10分钟后,除去冰/水浴,使反应温度升至室温,同时搅拌2小时。将混合物转移至含有3体积MTBE的分液漏斗中。用3.5体积的MTBE洗涤水层,然后向水层中加入5体积的MTBE,同时通过加入0.75体积的50%NaOH水溶液将pH调节至约14。用5体积的饱和NaCl水溶液洗涤有机层,然后浓缩成油状物,并用3体积的MTBE稀释。将溶液通过聚丙烯滤布过滤并用1体积的MTBE冲洗。将滤液浓缩成(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷的油状物,理论收率为95%-100%,ee为75-85%。

[0499] 步骤D—(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(R)-2-羟基-琥珀酸酯的制备:将(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(1.0当量)转移至装有15体积(校正效力)的EtOH(200prf)的圆底烧瓶中。加入D-苹果酸(1.05当量),将混合物加热至65°C。固体全部在约64°C下溶解。将溶液冷却至室温。在约55°C下,向溶液中加入(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(R)-2-羟基-琥珀酸酯(约50mg,>97% ee)并在室温下搅拌过夜。然后将悬浮液通过聚丙烯滤布过滤并用2

×1体积的EtOH(200prf)洗涤。将固体在55℃下真空干燥,得到(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(R)-2-羟基-琥珀酸酯,理论收率为75%至90%,ee为>96%。

[0500] 参考方案1,合适的碱包括叔胺碱,例如三乙胺和 K_2CO_3 。合适的溶剂包括乙醇,庚烷和四氢呋喃(THF)。该反应可以在5℃至50℃的温度下方便地进行。通常通过HPLC TRK1PM1监测反应进程。

[0501] 方案1



[0503] 将化合物II(5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶)和III((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷(R)-2-羟基琥珀酸酯,1.05当量)装入配有机械搅拌器,J-Kem温度探头和用于正 N_2 压力控制的 N_2 适配器的圆底烧瓶中。加入4:1EtOH:THF(10mL/g化合物II)的溶液,然后通过加料漏斗加入三乙胺(NEt_3 ,3.50当量),加入期间温度达到约40℃。一旦添加完成,将反应混合物加热至50℃并搅拌0.5-3小时以得到化合物IV。

[0504] 向配有机械搅拌器,J-Kem温度探针和 N_2 入口的圆底烧瓶中加入化合物IV,然后加入四氢呋喃(10mL/g化合物IV)。将溶液在冰浴中冷却至低于5℃,并加入Zn(9-10当量)。然后以这样的速率滴加6M HCl(9-10当量)以保持温度低于30℃(对于1kg规模,加入需要约1.5小时)。一旦放热平息,使反应温热至室温并搅拌30-60分钟直至HPLC未检测到化合物IV。此时,一次性加入碳酸钾(K_2CO_3 ,2.0当量)的水溶液(5mL/g化合物IV),然后快速滴加氯甲酸苯酯($PhOCOCl$,1.2当量)。在上述两种添加过程中观察到气体逸出(CO_2),并且在加入氯甲酸苯酯后温度升高至约30℃。将氨基甲酸酯形成物在室温下搅拌30-90分钟。然后立即进行HPLC分析以确保存在的胺小于1面积%并且溶液中化合物VI的收率高。

[0505] 向上述溶液中加入胺VII((S)-吡咯烷-3-醇,基于化合物VI的理论收率为1.1当量)和EtOH(10mL/g化合物VI)。在EtOH之前或同时加入化合物VII,以避免形成氨基甲酸乙酯杂质。使用分批浓缩器在减压下将上述EtOH溶液浓缩至最小体积(4-5mL/g)(HF水平通过GC应<5%),并且回添加EtOH(10mL/g化合物VI)至给予总共10mL/g。然后将反应在50℃加热9-19小时或直到HPLC显示化合物VI小于0.5面积%。然后将反应冷却至室温,通过加料漏斗

加入硫酸(H_2SO_4 , 1.0当量至化合物VI)以得到化合物I-HS,温度通常在约30°C放热。

[0506] 实施例1

[0507] 结晶形式(I-HS)的制备(方法1)

[0508] 将(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(0.500g, 1.17mmol)溶解在EtOH(2.5mL)中并冷却至约5°C。将浓硫酸(0.0636mL, 1.17mmol)加入到冷却的溶液中并搅拌约10分钟,同时升温至室温。将甲基叔丁基醚(MTBE)(2mL)缓慢加入混合物中,导致产物胶结出来。然后将EtOH(2.5mL)加入混合物中并加热至回流温度直至所有固体溶解。冷却至室温并搅拌约1小时后,形成一些固体。冷却至约5°C后,过滤固体并用MTBE洗涤。过滤并在空气中干燥约15分钟后,分离出(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐,为固体。

[0509] 实施例2

[0510] 结晶形式(I-HS)的制备(方法2)

[0511] 将浓硫酸(392mL)加入到3031g(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的18322mL EtOH溶液中以形成硫酸氢盐。向溶液中加入2g(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐溶液,并在室温下搅拌至少2小时以形成硫酸氢盐的浆液。加入庚烷(20888g)并将浆液在室温下搅拌至少60分钟。过滤浆液,滤饼用1:1庚烷/EtOH洗涤。然后将固体在环境温度(烘箱温度设定在15°C)下真空干燥。

[0512] 将干燥的硫酸氢盐(6389g,来自4个合并批次)加入到5:95w/w水/2-丁酮溶液(总重量41652g)中。在搅拌下将混合物在约68°C加热直至乙醇的重量百分比为约0.5%,在此期间形成浆液。过滤浆液,滤饼用5:95w/w水/2-丁酮溶液洗涤。然后将固体在环境温度(烘箱温度设定在15°C)下真空干燥,以得到(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸氢盐的结晶形式。

[0513] 实施例3

[0514] 无定形AM(HS)的制备

[0515] 在环境温度下在快速搅拌下,向(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(9.40g, 21.94mmol)的MeOH(220mL)溶液中缓慢加入硫酸(0.1M的MeOH溶液, 219.4mL, 21.94mmol)。30分钟后,首先通过旋转蒸发器将反应浓缩至接近干燥,然后在高真空下浓缩48小时以提供(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺硫酸盐的无定形形式(11.37g, 21.59mmol, 98.43%收率)。LCMS(apci m/z 429.1, M+H)。

[0516] 实施例4

[0517] 式I的结晶HCl盐的制备

[0518] 将(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(0.554g, 1.29mmol)的EtOH(6mL, 200标准)溶液和MTBE(10mL)的混合物加热至50°C,同时搅拌以得到溶液,然后一次性加入氯化氢(浓)(0.108mL, 1.29mmol)。然后使反应混合物首先冷却至环境温度,然后在搅拌下在冰水浴中冷却至约5°C以诱导结晶。将悬浮液在冰水浴中搅拌4小时,然后真空过滤,滤饼用MTBE冲洗并在55°C下真空干燥

至恒重,得到结晶(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺盐酸盐(0.534g,89%收率)。LCMS(apci m/z 429.2,M+H)。

[0519] 式I的结晶HBr盐的制备

[0520] 将(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(0.505g,1.18mmol)的EtOH(6mL,200标准)溶液和MTBE(10mL)的混合物加热至50℃,同时搅拌以得到溶液,然后一次性加入溴化氢(33%水溶液)(0.213mL,1.18mmol)。将反应混合物加热至回流以得到大部分澄清的溶液,在反应容器的玻璃壁上加入少量油状残余物。冷却至环境温度后,出现沉淀,油状残余物固化。将混合物再次加热至50℃,然后冷却至室温并搅拌过夜。将悬浮液真空过滤,滤饼用MTBE冲洗并在55℃下真空干燥至恒重,得到结晶(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺氢溴酸盐(0.51g,85%收率)。LCMS(apci m/z 429.3,M+H)。

[0521] 式I的结晶甲磺酸盐的制备

[0522] 将(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(0.532g,1.24mmol)的EtOH(2.7mL,200标准)溶液和MTBE(5.3mL)的混合物加热至50℃,同时搅拌以得到溶液,然后一次性加入甲磺酸(0.076mL,1.24mmol)。将反应混合物加热至回流以得到含有少量颗粒的大部分澄清溶液。冷却至环境温度后,出现沉淀以及一些油性残余物。加入另外的EtOH(0.5mL,200-标准)和甲磺酸(0.010mL)以获得溶液。将反应混合物再次加热至50℃,然后冷却至室温并搅拌1小时。将悬浮液真空过滤,滤饼用MTBE冲洗并在55℃下真空干燥至恒重,得到结晶(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺甲磺酸酯(0.51g,78%收率)。LCMS(apci m/z 429.4,M+H)。

[0523] 式I的结晶樟脑磺酸盐的制备

[0524] 将(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺(0.500g,1.17mmol)和S-(+)-樟脑磺酸(0.271g,1.17mmol)的EtOH(3mL,200标准)溶液和MTBE(5mL)的混合物加热回流,同时搅拌以得到溶液。冷却至环境温度后,出现沉淀。将悬浮液在室温下搅拌过夜,然后真空过滤,滤饼用MTBE冲洗并在55℃下真空干燥至恒重,得到结晶(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺((1S,4R)-7,7-二甲基-2-氧代双环[2.2.1]庚-1-基)甲磺酸盐。

[0525] 实施例5

[0526] 使用(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的液体制剂成功治疗具有NTRK3-ETV6融合的婴儿纤维肉瘤

[0527] 材料和方法

[0528] 2015年12月开始对患有晚期实体或原发性中枢神经系统肿瘤的患者进行多中心儿科1期剂量递增研究(ClinicalTrials.gov Identifier:NCT02637687),以评估化合物I-HS(即(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的硫酸氢盐)的安全性和耐受性。无论是否存在已知的TRK改变,以及具有已知NTRK融合和诊断为婴儿纤维肉瘤或先天性中胚层肾瘤的1个月或更大年龄的患者,

资格标准包括1-21岁。为不能吞咽胶囊的患者开发了化合物I-HS的口服液体制剂。使用 **Simcyp®** 儿科模拟建模 (CERTARA, Princeton, New Jersey) 建立剂量的药代动力学方法, 其考虑患者年龄, 消除化合物I-HS的清除途径的个体发育和体表面积 (BSA)。预计初始队列选择的儿科剂量等于服用100mg BID剂量的成年患者中实现的暴露, 即推荐的2期成人剂量。循环以28天为增量测量, 连续给药。每八周安排一次适当成像方式的反应评估。患者继续接受治疗直至疾病进展或无法忍受的毒性证据。

[0529] 提供了一种试剂盒, 其包括含有7.6g化合物I-HS的密封刻度琥珀色瓶; 含有51克 **CAVASOL® W7 HP Pharma** 的密封瓶; 含有500克柠檬酸三钠二水合物的密封瓶; 装有100mL无菌水的密封瓶; **ORA-Sweet®SF** 的密封品脱 (约473mL) 瓶; 漏斗; 28mm压入式瓶适配器; 含有56单位1-mL一次性剂量注射器的盒子; 含有56单位5-mL一次性剂量注射器的盒子; 表明化合物I-HS浓度 (20mg/mL) 的药品标签; 和组合指令。

[0530] 如图9所示制备液体溶液。首先, 从含有**CAVASOL® W7 HP Pharma**的瓶子中移除密封 (盖子)。接下来, 使用漏斗, 将100mL无菌水瓶的内容物添加到含有**CAVASOL® W7 HP Pharma**的瓶子中。然后关闭带有其盖子的瓶子, 摇动含有**CAVASOL® W7 HP Pharma**和无菌水的瓶子直至所有**CAVASOL® W7 HP Pharma**溶解。允许10分钟以使**CAVASOL® W7 HP Pharma**完全溶解。检查瓶子的底部和侧面以确保所有**CAVASOL® W7 HP Pharma**溶解并且没有在底部结块或在侧面粘附。接下来, 使瓶子在不搅拌下静置约5分钟, 以使由溶解的**CAVASOL® W7 HP Pharma**产生的气泡消散。然后移除含有化合物I-HS的刻度瓶的密封 (盖子)。使用前面的相同漏斗, 将**CAVASOL® W7 HP Pharma**溶液加入到含有化合物I-HS的刻度瓶中。盖上瓶子并用手摇动直至溶解。允许气泡到达表面并产生澄清的红色溶液。使用前面的相同漏斗, 使用供应的**ORA-Sweet®SF** 适量至300mL。盖上刻度瓶并轻轻倒置10次以将**ORA-Sweet®SF**与化合物I-HS/**CAVASOL® W7 HP Pharma**溶液混合, 同时小心不要在制剂中引入太多气泡。接下来, 将来自所提供的柠檬酸三钠二水合物容器的3.5g柠檬酸三钠二水合物称重并使用试剂盒中的第二漏斗加入到液体制剂中, 随后盖上瓶子并将瓶子倒置十次。使气泡上升至顶部并检查瓶中的内容物以确保所有柠檬酸三钠二水合物完全溶解; 如果不是, 则将瓶子再倒置10次。随后, 移除刻度瓶上的盖子, 将所提供的28mm压入式瓶适配器 (注射器适配器) 插入瓶中。然后通过将盖子牢固地放在瓶子上来封闭瓶子。然后根据患者给药方案, 使用1mL或5mL注射器将液体制剂施用所需量的化合物I-HS。

[0531] 结果

[0532] 一个健康的女性出生时有大的血管, 右侧颈部肿块延伸到面部, 最初作为快速侵入的先天性血管瘤进行诊断和治疗。在6个月大时, 肿块迅速增长并且手术切除/减瘤显示通过荧光原位杂交 (FISH) 通过ETV6易位证实IFS的诊断。在手术后的前7天内, 肿瘤迅速发展, 侵入口腔。开始使用长春新碱, 放线菌素-D和环磷酰胺进行化学疗法, 但患者在第1周期间经历疾病进展。开始由异环磷酰胺和阿霉素 (ID) 组成的新化疗方案, 同时进行减瘤手术, 并且进行气管切开术-用于口咽阻塞。ID的另外两个疗程以及异环磷酰胺和依托泊苷的四个疗程对肿瘤的影响很小。肿瘤进展到涉及颅底, 乳突和颈部脉管系统。2015年10月由一个多学科外科医生组进行了大手术切除, 但无法实现明确的手术切缘。

[0533] 手术切除后5周,脑和颈部的MR显示出20mm×19mm×18mm的过度增强肿块,涉及中颅窝的颅底,仅位于内耳结构的前方和下方,图10A和图10B。由于缺乏对所有标准方案的反应,进一步化疗被确定为徒劳。重复手术切除被认为是不可能的。治疗放射治疗是可能的,但根据患者的年龄和疾病的位置,预计会产生毁灭性的长期后遗症。

[0534] 在16个月时,患者参加了口服选择性TRK抑制剂化合物I-HS的1期儿科研究。父母注意到整个第1周期的参与度和游戏性都有所提高。在第1周期(第28天)结束时,大脑和颈部的MR显示了显著间隔减小,质量增加超过基线的90%,图10C和图10D。在第2周期结束时,重复扫描确认尺寸减小并显示增强的持续减少,证实了部分响应,图10E和图10F。在前两个周期期间,患者经历发热和PCR证实的甲型流感(被认为不相关)但没有与化合物I-HS相关的不良事件。

[0535] -N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的液体制剂

[0536] (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的液体制剂用表16中列出的组分制备。

[0537] 表16. (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的液体制剂。

材料名称	重量% (a)	总制剂质量克数 (b)	所需理论质量 (a x b) / 100	每瓶的量 ⁽¹⁾
[0538] 化合物 I-HS API	2.05%	171648	3518.8g ⁽¹⁾⁽²⁾	1.47g
纯水, USP	33.55%		57587.9g	24.01g
KLEPTOSE® HPB Parenteral Grade EP, USP	14.55%		24974.8g	10.48g
ORA-SWEET®	48.51%		83266.4g	34.93g
[0539] 柠檬酸钠, 二水合物, 粒状, USP (Spectrum)	0.94%		1613.5g (1694.2g) ⁽³⁾	0.68g
231a12 天然掩蔽型香料(Abelei)	0.10%		171.6g	0.07g
231a39 天然苦味掩蔽型香料 (Abelei)	0.20%		343.3g	0.14g
苦味掩蔽香料(天然) (FONA-Liquid)	0.05%		85.8g	0.04g
FONATECH®味道改良剂香料 (天然)	0.05%		85.8g	0.04g

[0540] (1) 包括API修正系数0.8137。计算:游离碱分子量/盐分子量=428.44/526.51。液体制剂的密度为1.2mg/mL。

- [0541] (2) 标签声明=3518.8克盐形式API×0.8137/171,648克总制剂*1.2g/mL密度*1000mg/g。
- [0542] (3) 根据需要,在制剂中另外添加柠檬酸钠总量的5%,用于调节pH值。
- [0543] 参考文献:
- [0544] 1.Wiesner等人,Nature Comm.5:3116,2014.
- [0545] 2.Vaishnavi等人,Nature Med.19:1469-1472,2013.
- [0546] 3.Greco等人,Mol.Cell.Endocrinol.28:321,2010.
- [0547] 4.Kim等人,PloS ONE 9(3):e91940,2014.
- [0548] 5.Vaishnavi等人,Nature Med.19:1469-1472,2013.
- [0549] 6.Fernandez-Cuesta等人,“肺部神经内分泌肿瘤遮蔽光线进入其分子源并识别新治疗靶向的交叉实体突变分析(Cross-entity mutation analysis of lung neuroendocrine tumors sheds light into their molecular origin and identifies new therapeutic targets)”AACR年会2014,摘要,2014年4月。
- [0550] 7.Stransky等人,Nature Comm.5:4846,2014.
- [0551] 8.Ross等人,Oncologist 19:235-242,2014.
- [0552] 9.Doebele等人,J.Clin.Oncol.32:5s,2014.
- [0553] 10.Jones等人,Nature Genetics 45:927-932,2013.
- [0554] 11.Wu等人,Nature Genetics 46:444-450,2014.
- [0555] 12.WO 2013/059740
- [0556] 13.Zheng等人,“用于靶向下一代序列的锚定多路复用的PCR(Anchored multiplex PCR for targeted next-generation sequencing)”Nature Med.,2014年11月10日网上公开。
- [0557] 14.Carria等人,Cancer Genet.Cytogenet.203:21-29,2010.
- [0558] 15.Frattini等人,Nature Genet.45:1141-1149,2013.
- [0559] 16.Martin-Zanca等人,Nature 319:743,1986.
- [0560] 17.Meyer等人,Leukemia 21:2171-2180,2007.
- [0561] 18.Reuther等人,Mol.Cell.Biol.20:8655-8666,2000.
- [0562] 19.Marchetti等人,Human Mutation 29(5):609-616,2008.
- [0563] 20.Tacconelli等人,Cancer Cell 6:347,2004.
- [0564] 21.Walch等人,Clin.Exp.Metastasis 17:307-314,1999.
- [0565] 22.Papatsoris等人,Expert Opin.Invest.Drugs 16(3):303-309,2007.
- [0566] 23.Van Noesel等人,Gene 325:1-15,2004.
- [0567] 24.Zhang等人,Oncology Reports 14:161-171,2005.
- [0568] 25.Truzzi等人,J.Invest.Dermatol.128(8):2031,2008.
- [0569] 26.Kolokythas等人,J.OralMaxillofacial Surgery 68(6):1290-1295,2010.
- [0570] 27.Ni等人,亚太癌症预防杂志(Asian Pacific Journal ofCancer Prevention) 13:1511,2012。

[0001] 序列表

[0002] <110> 洛克索肿瘤学股份有限公司(LOXO ONCOLOGY, INC.)

[0003] <120> (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯烷-1-基)-吡唑并[1,5-A]嘧啶-3-基)-3-羟基吡咯烷-1-甲酰胺的液体制剂

[0004] <130> 42001-0005W01

[0005] <150> 62/329,561

[0006] <151> 2016-04-29

[0007] <150> 62/323,452

[0008] <151> 2016-04-15

[0009] <150> 62/318,041

[0010] <151> 2016-04-04

[0011] <160> 3

[0012] <170> PatentIn version 3.5

[0013] <210> 1

[0014] <211> 796

[0015] <212> PRT

[0016] <213> 智人

[0017] <400> 1

[0018] Met Leu Arg Gly Gly Arg Arg Gly Gln Leu Gly Trp His Ser Trp Ala

[0019] 1 5 10 15

[0020] Ala Gly Pro Gly Ser Leu Leu Ala Trp Leu Ile Leu Ala Ser Ala Gly

[0021] 20 25 30

[0022] Ala Ala Pro Cys Pro Asp Ala Cys Cys Pro His Gly Ser Ser Gly Leu

[0023] 35 40 45

[0024] Arg Cys Thr Arg Asp Gly Ala Leu Asp Ser Leu His His Leu Pro Gly

[0025] 50 55 60

[0026] Ala Glu Asn Leu Thr Glu Leu Tyr Ile Glu Asn Gln Gln His Leu Gln

[0027] 65 70 75 80

[0028] His Leu Glu Leu Arg Asp Leu Arg Gly Leu Gly Glu Leu Arg Asn Leu

[0029] 85 90 95

[0030] Thr Ile Val Lys Ser Gly Leu Arg Phe Val Ala Pro Asp Ala Phe His

[0031] 100 105 110

[0032] Phe Thr Pro Arg Leu Ser Arg Leu Asn Leu Ser Phe Asn Ala Leu Glu

[0033] 115 120 125

[0034] Ser Leu Ser Trp Lys Thr Val Gln Gly Leu Ser Leu Gln Glu Leu Val

[0035] 130 135 140

[0036] Leu Ser Gly Asn Pro Leu His Cys Ser Cys Ala Leu Arg Trp Leu Gln

[0037] 145 150 155 160

[0038]	Arg Trp Glu Glu Glu Gly Leu Gly Gly Val Pro Glu Gln Lys Leu Gln
[0039]	165 170 175
[0040]	Cys His Gly Gln Gly Pro Leu Ala His Met Pro Asn Ala Ser Cys Gly
[0041]	180 185 190
[0042]	Val Pro Thr Leu Lys Val Gln Val Pro Asn Ala Ser Val Asp Val Gly
[0043]	195 200 205
[0044]	Asp Asp Val Leu Leu Arg Cys Gln Val Glu Gly Arg Gly Leu Glu Gln
[0045]	210 215 220
[0046]	Ala Gly Trp Ile Leu Thr Glu Leu Glu Gln Ser Ala Thr Val Met Lys
[0047]	225 230 235 240
[0048]	Ser Gly Gly Leu Pro Ser Leu Gly Leu Thr Leu Ala Asn Val Thr Ser
[0049]	245 250 255
[0050]	Asp Leu Asn Arg Lys Asn Val Thr Cys Trp Ala Glu Asn Asp Val Gly
[0051]	260 265 270
[0052]	Arg Ala Glu Val Ser Val Gln Val Asn Val Ser Phe Pro Ala Ser Val
[0053]	275 280 285
[0054]	Gln Leu His Thr Ala Val Glu Met His His Trp Cys Ile Pro Phe Ser
[0055]	290 295 300
[0056]	Val Asp Gly Gln Pro Ala Pro Ser Leu Arg Trp Leu Phe Asn Gly Ser
[0057]	305 310 315 320
[0058]	Val Leu Asn Glu Thr Ser Phe Ile Phe Thr Glu Phe Leu Glu Pro Ala
[0059]	325 330 335
[0060]	Ala Asn Glu Thr Val Arg His Gly Cys Leu Arg Leu Asn Gln Pro Thr
[0061]	340 345 350
[0062]	His Val Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Leu Leu Ala Ala Asn Pro Phe Gly
[0063]	355 360 365
[0064]	Gln Ala Ser Ala Ser Ile Met Ala Ala Phe Met Asp Asn Pro Phe Glu
[0065]	370 375 380
[0066]	Phe Asn Pro Glu Asp Pro Ile Pro Val Ser Phe Ser Pro Val Asp Thr
[0067]	385 390 395 400
[0068]	Asn Ser Thr Ser Gly Asp Pro Val Glu Lys Lys Asp Glu Thr Pro Phe
[0069]	405 410 415
[0070]	Gly Val Ser Val Ala Val Gly Leu Ala Val Phe Ala Cys Leu Phe Leu
[0071]	420 425 430
[0072]	Ser Thr Leu Leu Leu Val Leu Asn Lys Cys Gly Arg Arg Asn Lys Phe
[0073]	435 440 445
[0074]	Gly Ile Asn Arg Pro Ala Val Leu Ala Pro Glu Asp Gly Leu Ala Met
[0075]	450 455 460
[0076]	Ser Leu His Phe Met Thr Leu Gly Gly Ser Ser Leu Ser Pro Thr Glu

[0077]	465	470	475	480
[0078]	Gly Lys Gly Ser Gly Leu Gln Gly His Ile Ile Glu Asn Pro Gln Tyr			
[0079]		485	490	495
[0080]	Phe Ser Asp Ala Cys Val His His Ile Lys Arg Arg Asp Ile Val Leu			
[0081]		500	505	510
[0082]	Lys Trp Glu Leu Gly Glu Gly Ala Phe Gly Lys Val Phe Leu Ala Glu			
[0083]		515	520	525
[0084]	Cys His Asn Leu Leu Pro Glu Gln Asp Lys Met Leu Val Ala Val Lys			
[0085]		530	535	540
[0086]	Ala Leu Lys Glu Ala Ser Glu Ser Ala Arg Gln Asp Phe Gln Arg Glu			
[0087]		545	550	555
[0088]	Ala Glu Leu Leu Thr Met Leu Gln His Gln His Ile Val Arg Phe Phe			
[0089]		565	570	575
[0090]	Gly Val Cys Thr Glu Gly Arg Pro Leu Leu Met Val Phe Glu Tyr Met			
[0091]		580	585	590
[0092]	Arg His Gly Asp Leu Asn Arg Phe Leu Arg Ser His Gly Pro Asp Ala			
[0093]		595	600	605
[0094]	Lys Leu Leu Ala Gly Gly Glu Asp Val Ala Pro Gly Pro Leu Gly Leu			
[0095]		610	615	620
[0096]	Gly Gln Leu Leu Ala Val Ala Ser Gln Val Ala Ala Gly Met Val Tyr			
[0097]		625	630	635
[0098]	Leu Ala Gly Leu His Phe Val His Arg Asp Leu Ala Thr Arg Asn Cys			
[0099]		645	650	655
[0100]	Leu Val Gly Gln Gly Leu Val Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ser			
[0101]		660	665	670
[0102]	Arg Asp Ile Tyr Ser Thr Asp Tyr Tyr Arg Val Gly Gly Arg Thr Met			
[0103]		675	680	685
[0104]	Leu Pro Ile Arg Trp Met Pro Pro Glu Ser Ile Leu Tyr Arg Lys Phe			
[0105]		690	695	700
[0106]	Thr Thr Glu Ser Asp Val Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp Glu Ile			
[0107]		705	710	715
[0108]	Phe Thr Tyr Gly Lys Gln Pro Trp Tyr Gln Leu Ser Asn Thr Glu Ala			
[0109]		725	730	735
[0110]	Ile Asp Cys Ile Thr Gln Gly Arg Glu Leu Glu Arg Pro Arg Ala Cys			
[0111]		740	745	750
[0112]	Pro Pro Glu Val Tyr Ala Ile Met Arg Gly Cys Trp Gln Arg Glu Pro			
[0113]		755	760	765
[0114]	Gln Gln Arg His Ser Ile Lys Asp Val His Ala Arg Leu Gln Ala Leu			
[0115]		770	775	780

[0155]	Ser Asp Asp Ser Gly Lys Gln Ile Ser Cys Val Ala Glu Asn Leu Val
[0156]	260 265 270
[0157]	Gly Glu Asp Gln Asp Ser Val Asn Leu Thr Val His Phe Ala Pro Thr
[0158]	275 280 285
[0159]	Ile Thr Phe Leu Glu Ser Pro Thr Ser Asp His His Trp Cys Ile Pro
[0160]	290 295 300
[0161]	Phe Thr Val Lys Gly Asn Pro Lys Pro Ala Leu Gln Trp Phe Tyr Asn
[0162]	305 310 315 320
[0163]	Gly Ala Ile Leu Asn Glu Ser Lys Tyr Ile Cys Thr Lys Ile His Val
[0164]	325 330 335
[0165]	Thr Asn His Thr Glu Tyr His Gly Cys Leu Gln Leu Asp Asn Pro Thr
[0166]	340 345 350
[0167]	His Met Asn Asn Gly Asp Tyr Thr Leu Ile Ala Lys Asn Glu Tyr Gly
[0168]	355 360 365
[0169]	Lys Asp Glu Lys Gln Ile Ser Ala His Phe Met Gly Trp Pro Gly Ile
[0170]	370 375 380
[0171]	Asp Asp Gly Ala Asn Pro Asn Tyr Pro Asp Val Ile Tyr Glu Asp Tyr
[0172]	385 390 395 400
[0173]	Gly Thr Ala Ala Asn Asp Ile Gly Asp Thr Thr Asn Arg Ser Asn Glu
[0174]	405 410 415
[0175]	Ile Pro Ser Thr Asp Val Thr Asp Lys Thr Gly Arg Glu His Leu Ser
[0176]	420 425 430
[0177]	Val Tyr Ala Val Val Val Ile Ala Ser Val Val Gly Phe Cys Leu Leu
[0178]	435 440 445
[0179]	Val Met Leu Phe Leu Leu Lys Leu Ala Arg His Ser Lys Phe Gly Met
[0180]	450 455 460
[0181]	Lys Gly Pro Ala Ser Val Ile Ser Asn Asp Asp Asp Ser Ala Ser Pro
[0182]	465 470 475 480
[0183]	Leu His His Ile Ser Asn Gly Ser Asn Thr Pro Ser Ser Ser Glu Gly
[0184]	485 490 495
[0185]	Gly Pro Asp Ala Val Ile Ile Gly Met Thr Lys Ile Pro Val Ile Glu
[0186]	500 505 510
[0187]	Asn Pro Gln Tyr Phe Gly Ile Thr Asn Ser Gln Leu Lys Pro Asp Thr
[0188]	515 520 525
[0189]	Phe Val Gln His Ile Lys Arg His Asn Ile Val Leu Lys Arg Glu Leu
[0190]	530 535 540
[0191]	Gly Glu Gly Ala Phe Gly Lys Val Phe Leu Ala Glu Cys Tyr Asn Leu
[0192]	545 550 555 560
[0193]	Cys Pro Glu Gln Asp Lys Ile Leu Val Ala Val Lys Thr Leu Lys Asp

[0233]	1	5	10	15
[0234]	Leu Leu Gly Ser Val Trp Leu Asp Tyr Val Gly Ser Val Leu Ala Cys			
[0235]		20	25	30
[0236]	Pro Ala Asn Cys Val Cys Ser Lys Thr Glu Ile Asn Cys Arg Arg Pro			
[0237]		35	40	45
[0238]	Asp Asp Gly Asn Leu Phe Pro Leu Leu Glu Gly Gln Asp Ser Gly Asn			
[0239]		50	55	60
[0240]	Ser Asn Gly Asn Ala Ser Ile Asn Ile Thr Asp Ile Ser Arg Asn Ile			
[0241]		65	70	75
[0242]	Thr Ser Ile His Ile Glu Asn Trp Arg Ser Leu His Thr Leu Asn Ala			
[0243]		85	90	95
[0244]	Val Asp Met Glu Leu Tyr Thr Gly Leu Gln Lys Leu Thr Ile Lys Asn			
[0245]		100	105	110
[0246]	Ser Gly Leu Arg Ser Ile Gln Pro Arg Ala Phe Ala Lys Asn Pro His			
[0247]		115	120	125
[0248]	Leu Arg Tyr Ile Asn Leu Ser Ser Asn Arg Leu Thr Thr Leu Ser Trp			
[0249]		130	135	140
[0250]	Gln Leu Phe Gln Thr Leu Ser Leu Arg Glu Leu Gln Leu Glu Gln Asn			
[0251]		145	150	155
[0252]	Phe Phe Asn Cys Ser Cys Asp Ile Arg Trp Met Gln Leu Trp Gln Glu			
[0253]		165	170	175
[0254]	Gln Gly Glu Ala Lys Leu Asn Ser Gln Asn Leu Tyr Cys Ile Asn Ala			
[0255]		180	185	190
[0256]	Asp Gly Ser Gln Leu Pro Leu Phe Arg Met Asn Ile Ser Gln Cys Asp			
[0257]		195	200	205
[0258]	Leu Pro Glu Ile Ser Val Ser His Val Asn Leu Thr Val Arg Glu Gly			
[0259]		210	215	220
[0260]	Asp Asn Ala Val Ile Thr Cys Asn Gly Ser Gly Ser Pro Leu Pro Asp			
[0261]		225	230	235
[0262]	Val Asp Trp Ile Val Thr Gly Leu Gln Ser Ile Asn Thr His Gln Thr			
[0263]		245	250	255
[0264]	Asn Leu Asn Trp Thr Asn Val His Ala Ile Asn Leu Thr Leu Val Asn			
[0265]		260	265	270
[0266]	Val Thr Ser Glu Asp Asn Gly Phe Thr Leu Thr Cys Ile Ala Glu Asn			
[0267]		275	280	285
[0268]	Val Val Gly Met Ser Asn Ala Ser Val Ala Leu Thr Val Tyr Tyr Pro			
[0269]		290	295	300
[0270]	Pro Arg Val Val Ser Leu Glu Glu Pro Glu Leu Arg Leu Glu His Cys			
[0271]		305	310	315
				320

[0272]	Ile Glu Phe Val Val Arg Gly Asn Pro Pro Pro Thr Leu His Trp Leu
[0273]	325 330 335
[0274]	His Asn Gly Gln Pro Leu Arg Glu Ser Lys Ile Ile His Val Glu Tyr
[0275]	340 345 350
[0276]	Tyr Gln Glu Gly Glu Ile Ser Glu Gly Cys Leu Leu Phe Asn Lys Pro
[0277]	355 360 365
[0278]	Thr His Tyr Asn Asn Gly Asn Tyr Thr Leu Ile Ala Lys Asn Pro Leu
[0279]	370 375 380
[0280]	Gly Thr Ala Asn Gln Thr Ile Asn Gly His Phe Leu Lys Glu Pro Phe
[0281]	385 390 395 400
[0282]	Pro Glu Ser Thr Asp Asn Phe Ile Leu Phe Asp Glu Val Ser Pro Thr
[0283]	405 410 415
[0284]	Pro Pro Ile Thr Val Thr His Lys Pro Glu Glu Asp Thr Phe Gly Val
[0285]	420 425 430
[0286]	Ser Ile Ala Val Gly Leu Ala Ala Phe Ala Cys Val Leu Leu Val Val
[0287]	435 440 445
[0288]	Leu Phe Val Met Ile Asn Lys Tyr Gly Arg Arg Ser Lys Phe Gly Met
[0289]	450 455 460
[0290]	Lys Gly Pro Val Ala Val Ile Ser Gly Glu Glu Asp Ser Ala Ser Pro
[0291]	465 470 475 480
[0292]	Leu His His Ile Asn His Gly Ile Thr Thr Pro Ser Ser Leu Asp Ala
[0293]	485 490 495
[0294]	Gly Pro Asp Thr Val Val Ile Gly Met Thr Arg Ile Pro Val Ile Glu
[0295]	500 505 510
[0296]	Asn Pro Gln Tyr Phe Arg Gln Gly His Asn Cys His Lys Pro Asp Thr
[0297]	515 520 525
[0298]	Tyr Val Gln His Ile Lys Arg Arg Asp Ile Val Leu Lys Arg Glu Leu
[0299]	530 535 540
[0300]	Gly Glu Gly Ala Phe Gly Lys Val Phe Leu Ala Glu Cys Tyr Asn Leu
[0301]	545 550 555 560
[0302]	Ser Pro Thr Lys Asp Lys Met Leu Val Ala Val Lys Ala Leu Lys Asp
[0303]	565 570 575
[0304]	Pro Thr Leu Ala Ala Arg Lys Asp Phe Gln Arg Glu Ala Glu Leu Leu
[0305]	580 585 590
[0306]	Thr Asn Leu Gln His Glu His Ile Val Lys Phe Tyr Gly Val Cys Gly
[0307]	595 600 605
[0308]	Asp Gly Asp Pro Leu Ile Met Val Phe Glu Tyr Met Lys His Gly Asp
[0309]	610 615 620
[0310]	Leu Asn Lys Phe Leu Arg Ala His Gly Pro Asp Ala Met Ile Leu Val

[0311]	625	630	635	640
[0312]	Asp Gly Gln Pro Arg Gln Ala Lys Gly Glu Leu Gly Leu Ser Gln Met			
[0313]		645	650	655
[0314]	Leu His Ile Ala Ser Gln Ile Ala Ser Gly Met Val Tyr Leu Ala Ser			
[0315]		660	665	670
[0316]	Gln His Phe Val His Arg Asp Leu Ala Thr Arg Asn Cys Leu Val Gly			
[0317]		675	680	685
[0318]	Ala Asn Leu Leu Val Lys Ile Gly Asp Phe Gly Met Ser Arg Asp Val			
[0319]		690	695	700
[0320]	Tyr Ser Thr Asp Tyr Tyr Arg Leu Phe Asn Pro Ser Gly Asn Asp Phe			
[0321]		705	710	715
[0322]	Cys Ile Trp Cys Glu Val Gly Gly His Thr Met Leu Pro Ile Arg Trp			
[0323]		725	730	735
[0324]	Met Pro Pro Glu Ser Ile Met Tyr Arg Lys Phe Thr Thr Glu Ser Asp			
[0325]		740	745	750
[0326]	Val Trp Ser Phe Gly Val Ile Leu Trp Glu Ile Phe Thr Tyr Gly Lys			
[0327]		755	760	765
[0328]	Gln Pro Trp Phe Gln Leu Ser Asn Thr Glu Val Ile Glu Cys Ile Thr			
[0329]		770	775	780
[0330]	Gln Gly Arg Val Leu Glu Arg Pro Arg Val Cys Pro Lys Glu Val Tyr			
[0331]		785	790	800
[0332]	Asp Val Met Leu Gly Cys Trp Gln Arg Glu Pro Gln Gln Arg Leu Asn			
[0333]		805	810	815
[0334]	Ile Lys Glu Ile Tyr Lys Ile Leu His Ala Leu Gly Lys Ala Thr Pro			
[0335]		820	825	830
[0336]	Ile Tyr Leu Asp Ile Leu Gly			
[0337]		835		

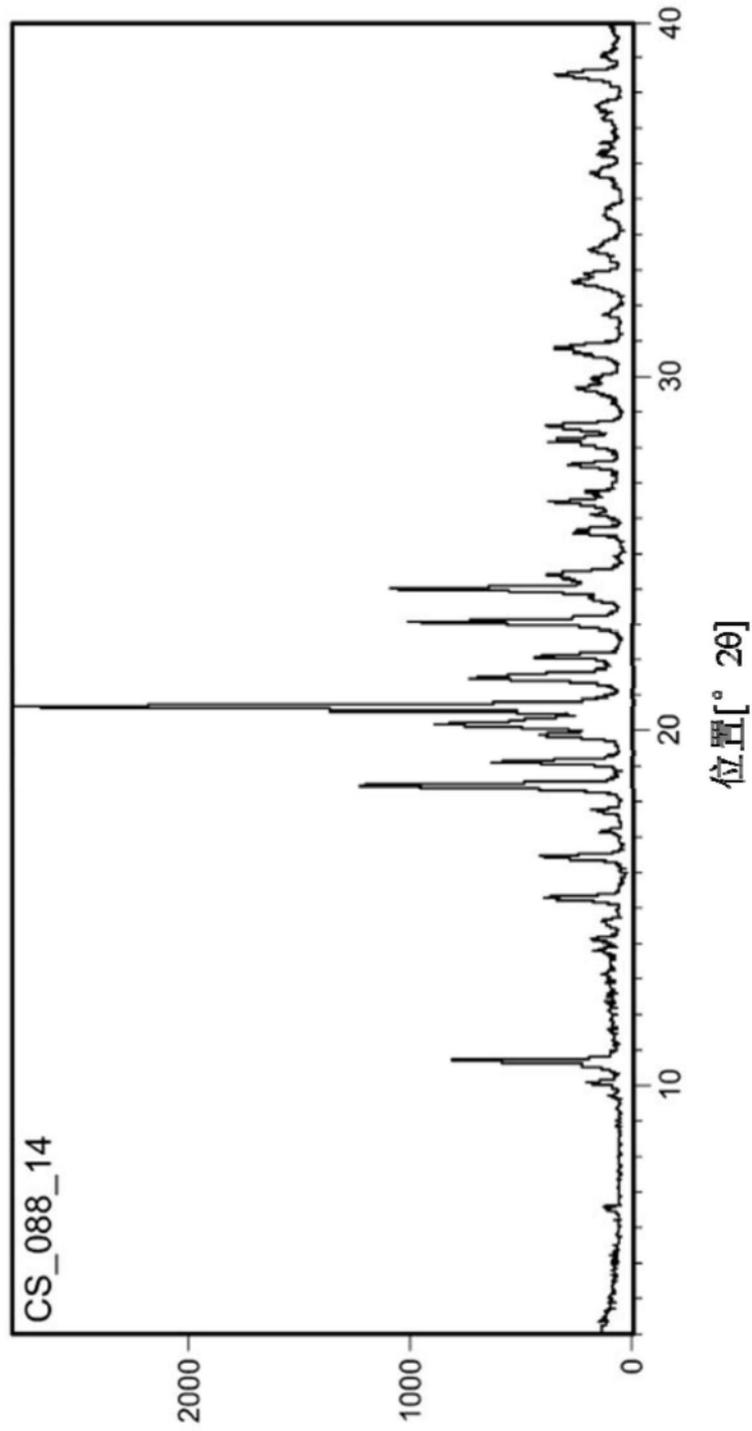


图1

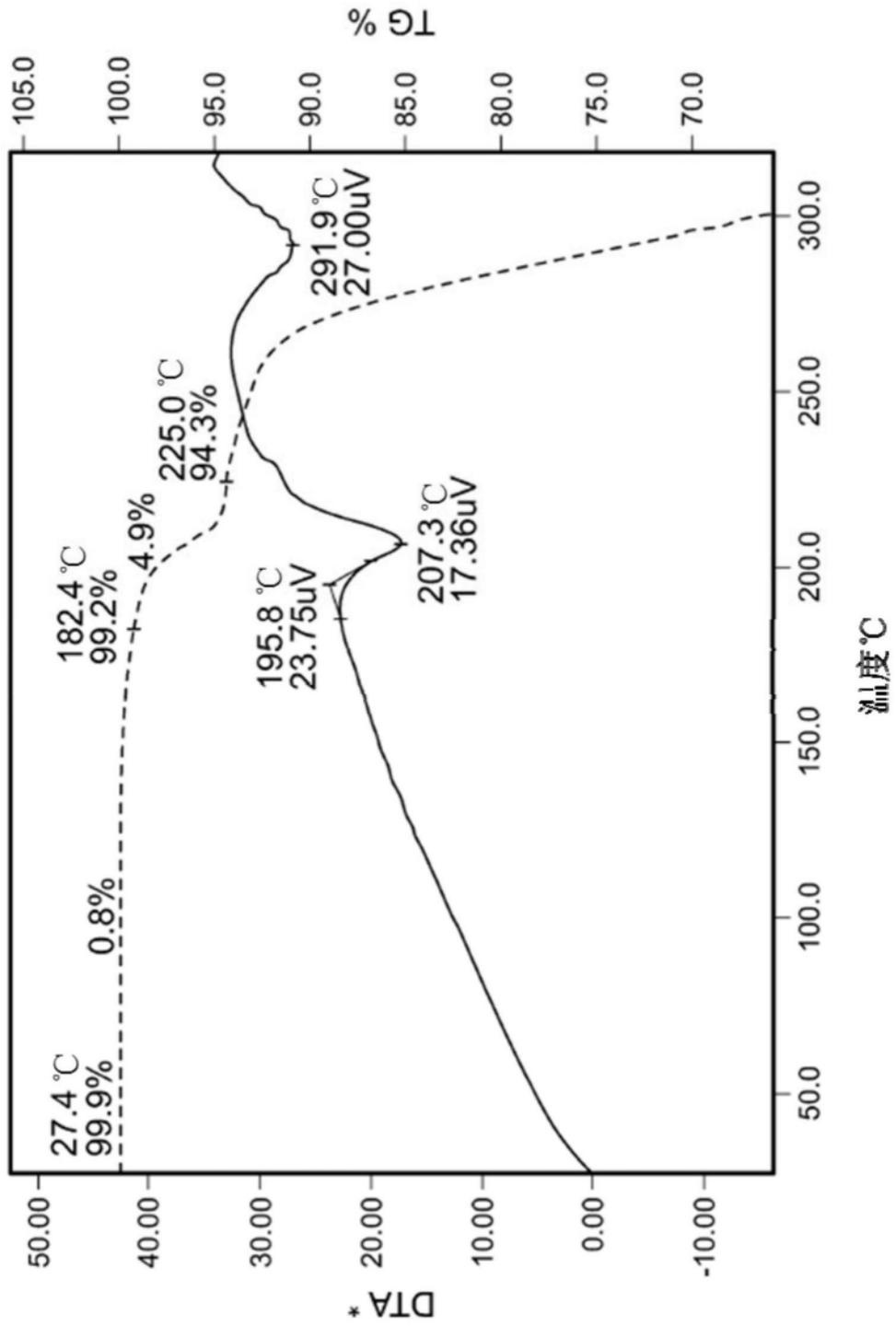


图2

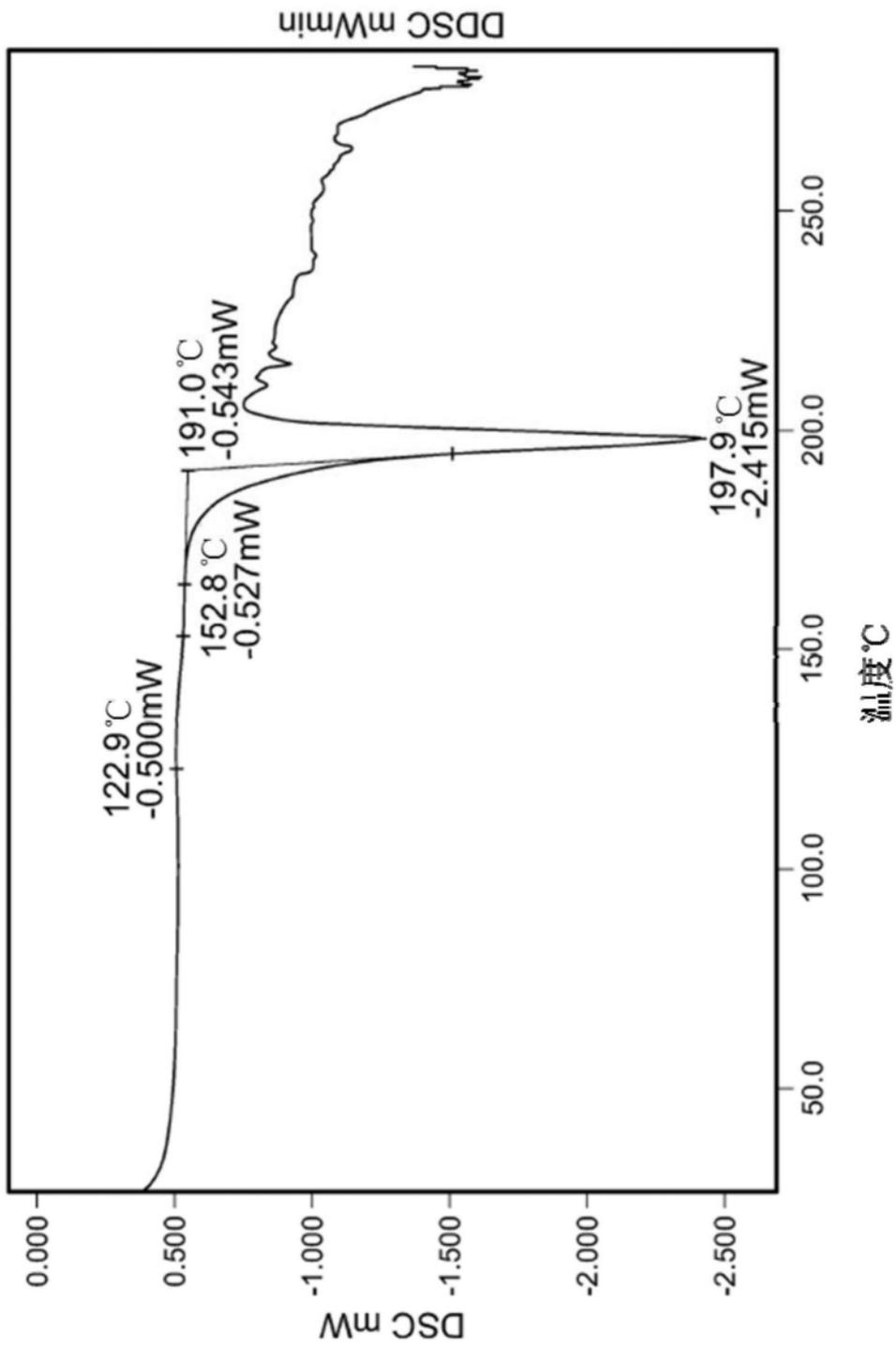
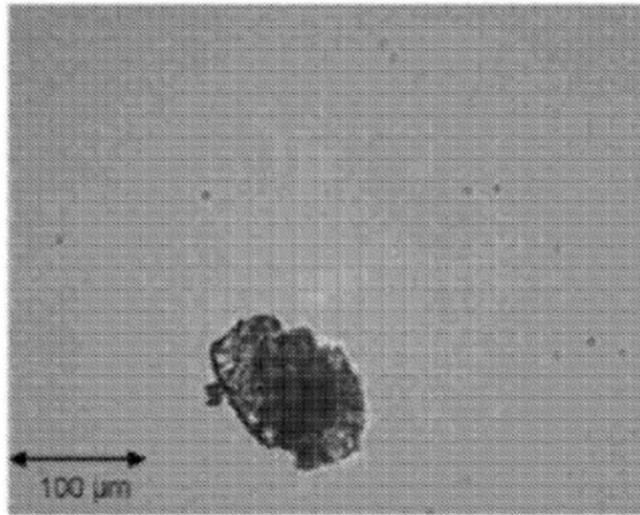
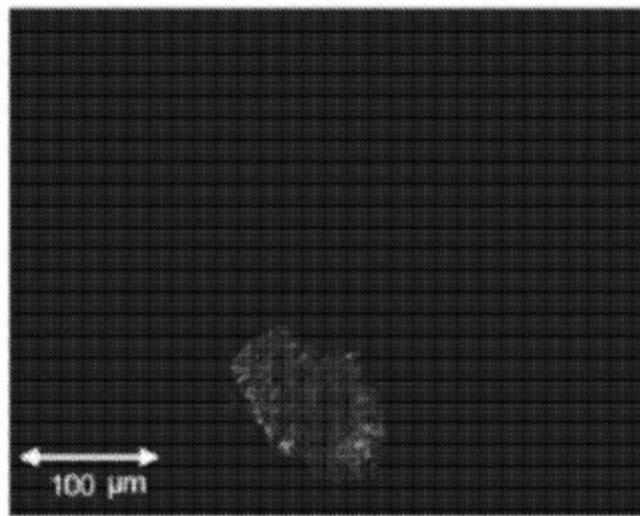


图3



非偏振光

图4A



偏振光

图4B

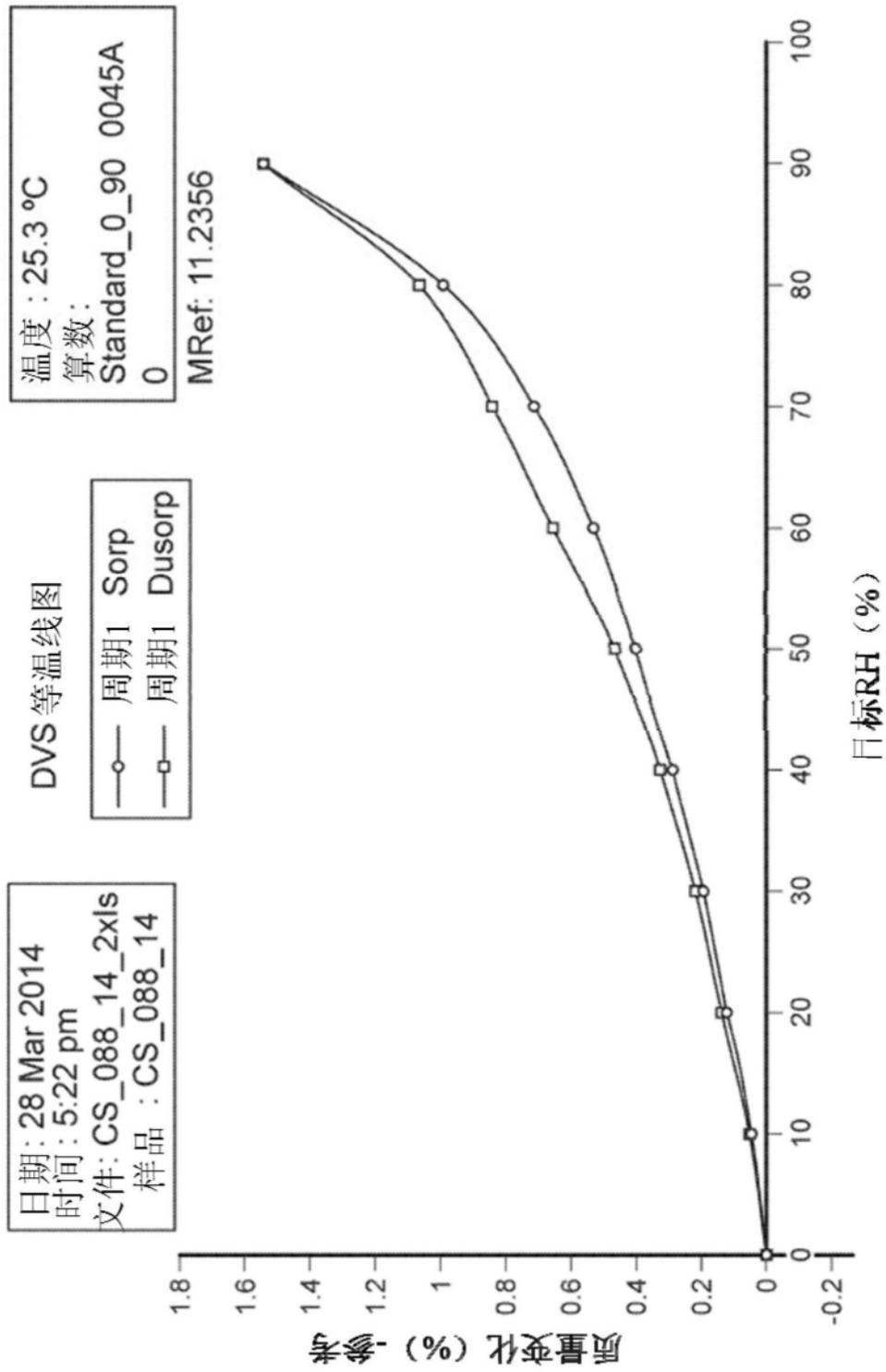


图5

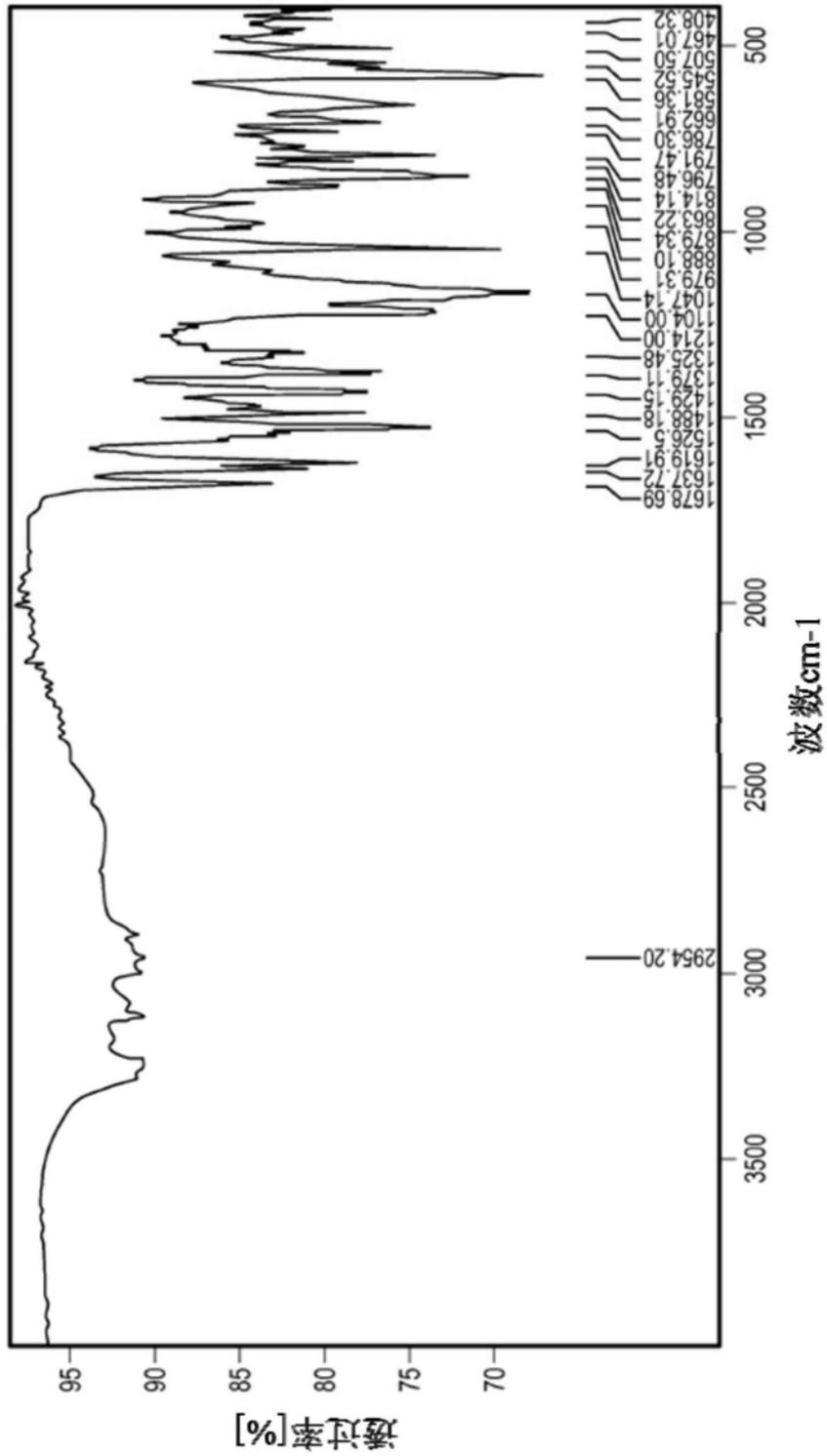


图6

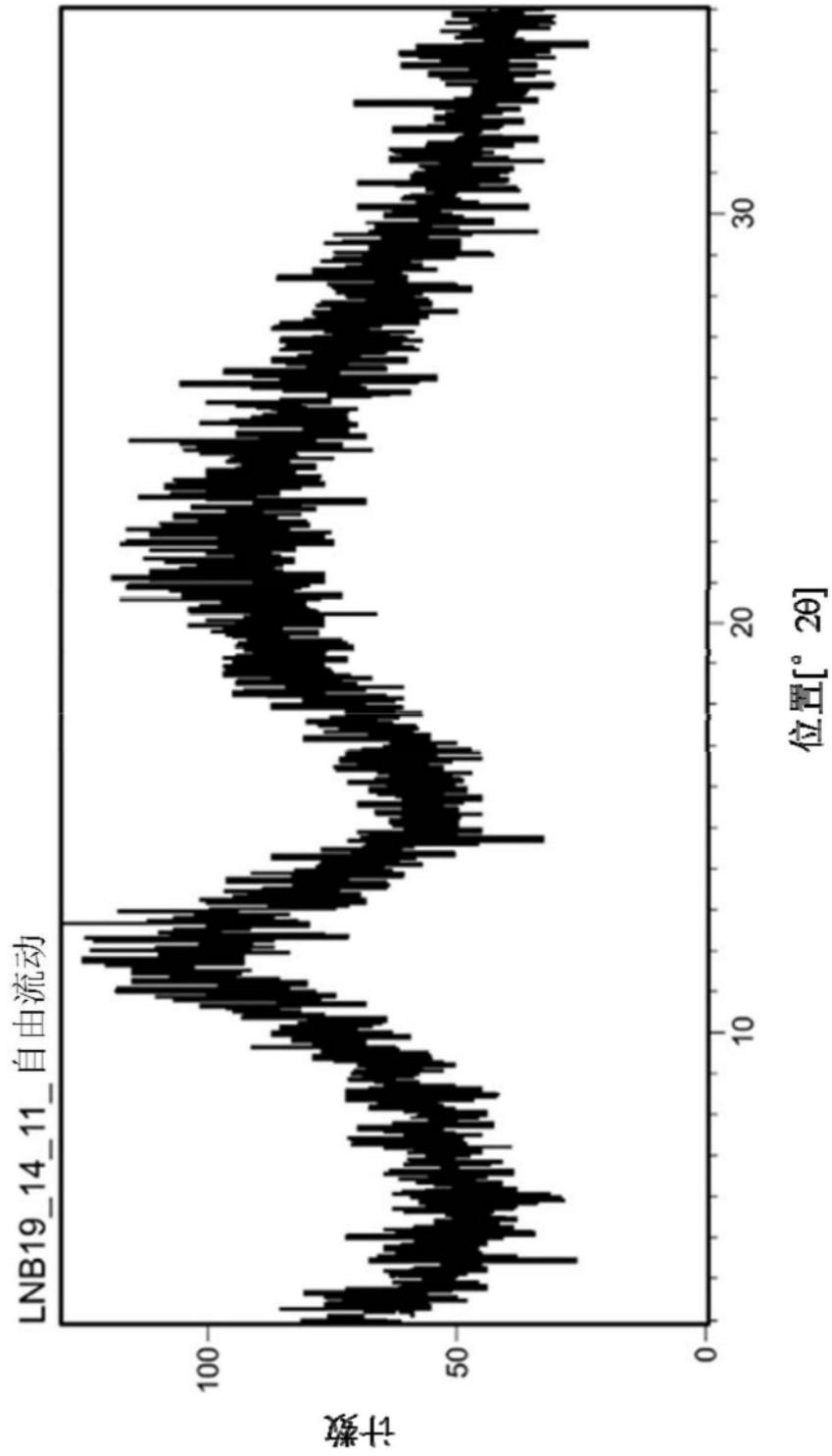


图7

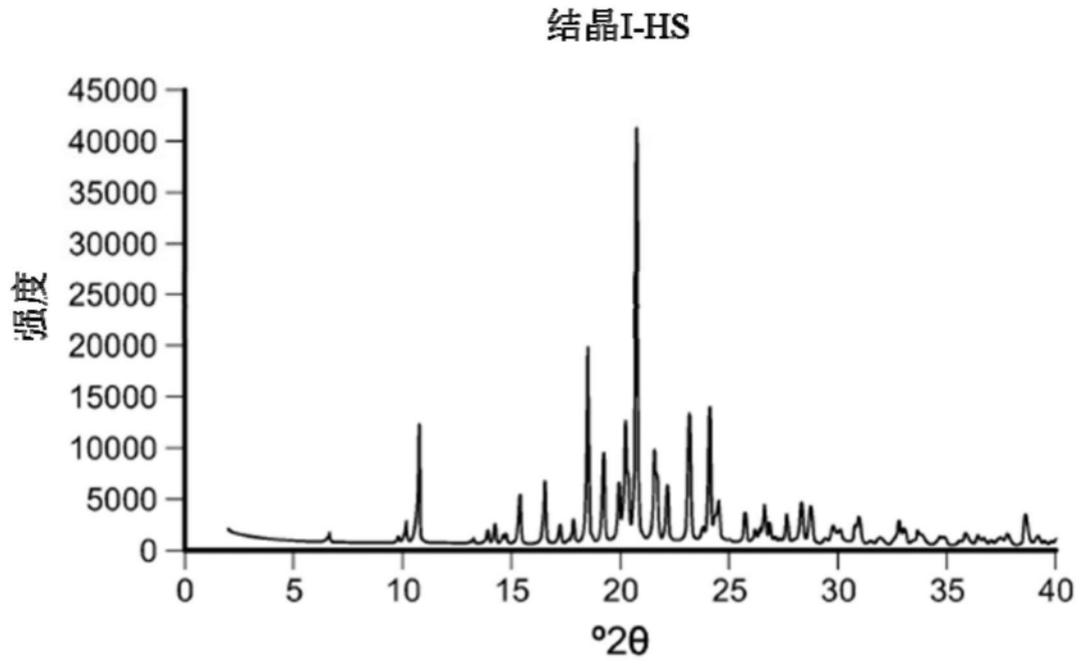


图8

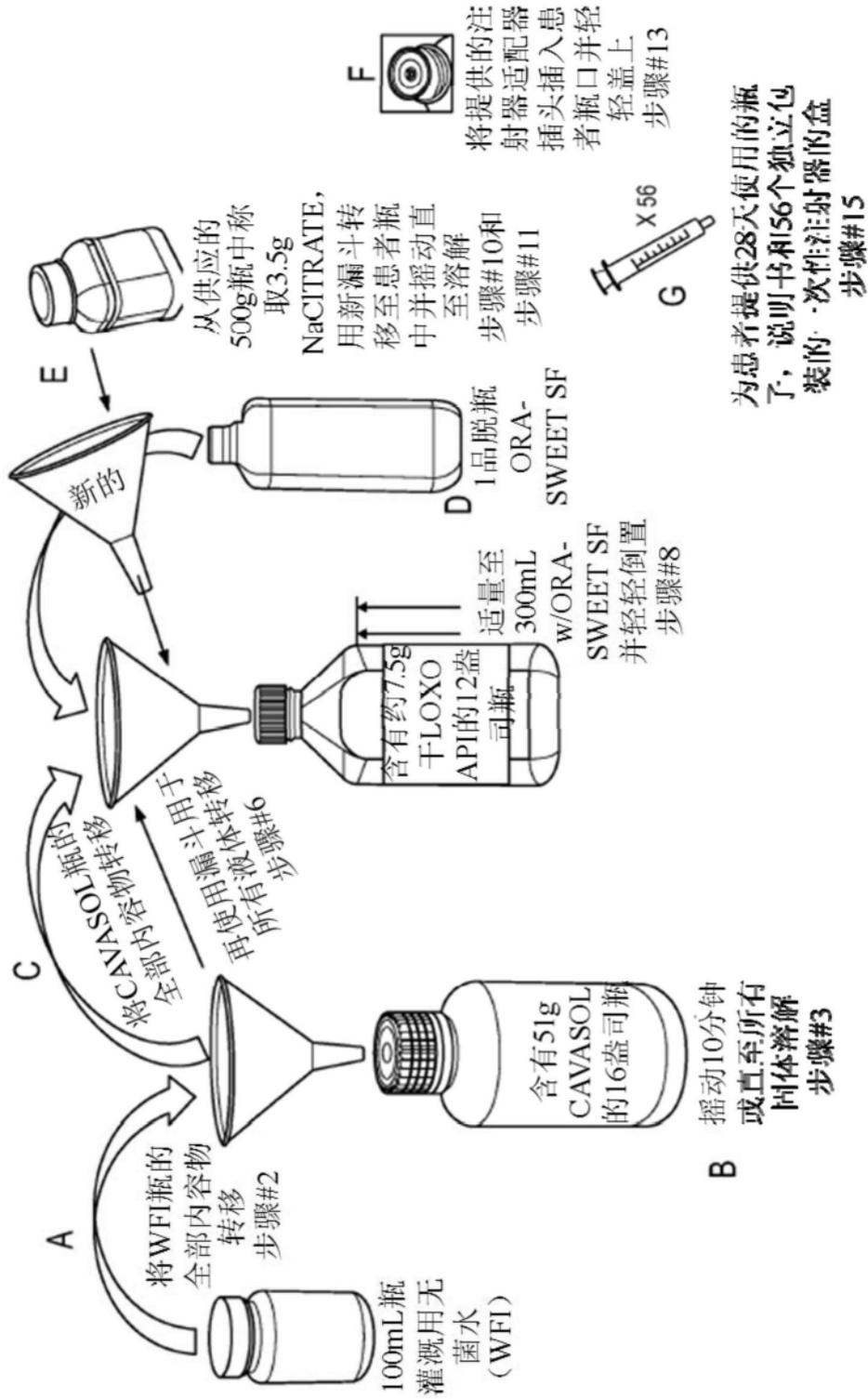


图9

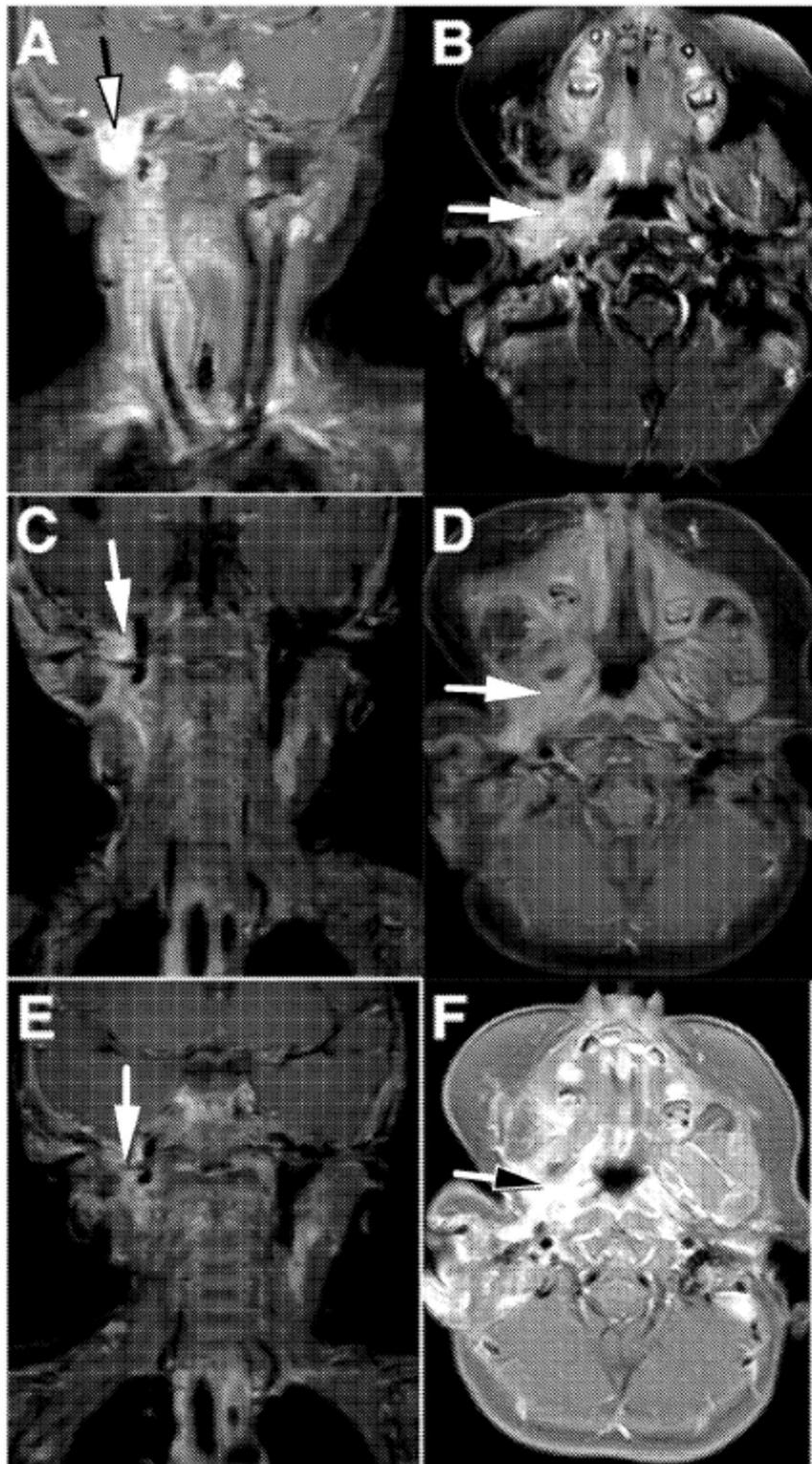


图10

SEQ ID NO: 1
 PRT
 智人
 野生型TrkA蛋白前体
 氨基酸1-32编码信号序列

```

1 mlrggrrgql gwhswaagpg sllawlilas agaapcpdac cphgssglrc trdgaldslh
61 hlpgaenlte lyienqghlg hlelrdirgl gelrnlivk sglrfvapda fhftprlsrl
121 nlsfnalesl swktvqglsl qelvlsgnpl hcscalrlwq rweeeglggv peqklqchqq
181 gplahmpnas cgvpstkqvq pnavsvdvgdd vllrcqvegr glegagwilt elegsatvmk
241 sggplslglt lanvtsdlnr knvtcwaend vgraevsvqv nvspasvql htavemhhwc
301 ipfsvdggpa pslrwlfnsg vlnetsfift efllepaanet vrhgclrlng pthvnnngnyt
361 llaanpfgga sasimaafmd npfefnpepd ipvsfspvdt nstsgdpvek kdetpfgvsv
421 avglavfacl flstlllvln kcgrrnkfgi nrpavlaped glamslhfmt lggsslspte
481 gkgsglqghi ienpqyfsda cvhhikrrdi vlkwelgega fgkvflaech nllpeqdkml
541 vavkalkeas esarqdfqre aelltmlqhg hivrffgvct egrpllmvfe ymrhgdlnrq
601 lrshgpdakl laggedvapg plglgqllav asqvaagmvy laglhfvhrd latrnclvqq
661 glvvkigdfg msrdiystdy yrvggtrmlp irwmpesil yrkfttesdv wsfgvvlwei
721 ftygkqpyq lsnteaidci tqgrelerpr acppevyaim rgcwqrepqq rhsikdvhar
781 lqalaqappv yldvlq

```

[www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0)

图11

SEQ ID NO: 2
 PRT
 智人
 野生型TrkB蛋白前体
 氨基酸1-31编码信号序列

```

1 msswirwhgp amarlwgcw lvvgfwraaf acptsckcsa sriwcdpsp givafprlep
61 nsvdpenite ifianqrle iineddveay vglrnlivd sglkfvaaha flknsnlqhi
121 nftrnkltsl srkhfrhldl selilvgnpf tcscdimwik tlqeaksspd tqdlyclnes
181 skniplanlq ipncglpsan laapnlvee gksitlscsv agdpvpmnyw dvgnlvskhm
241 netshtqgs1 ritnissdds gkqiscvaen lvgedqdsn ltvhfaptit flesptsdhh
301 wcipftvkgn pkpalqwfyg gailneskyi ctkihvtnt eyhgclqln pthmngdyt
361 liakneygkd ekqisahfmg wpgiddganp nypdviyedy gtaandigdt tnrsneipst
421 dvtddktgrh lsvyavvvia svvgfcllvml flllklarhs kfgmkgpasv isndddsasp
481 lhhisngsnt pssseggpda viigmtkipv ienpqyfgit nsqkpdftfv qhikrhnivl
541 krelgegafg kvflaeynl cpegdkilva vktlkdasn arkdfhreae lltnlqhehi
601 vkfygvcevg dplimvfeym khgdlnkflr ahgpdavlma egnpdteltq sqmlhiaqqi
661 aagmvyasq hfvhrdlatr nclvgenllv kigdfgmsrd vystdyrvy ghtmlpirwm
721 ppesimyrkf ttesdvslg vvlweiftyg kqpyqlsnn eviecitqgr vlqrpctcpq
781 evyelmlgcw grephmrkni kgihtllqnl akaspvyldi lg

```

[www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0)

图12

SEQ ID NO: 3

PRT

智人

野生型TrkC蛋白前体

氨基酸1-31编码信号序列

```
1 mdvslcpakc sfwrifllgs vwldyvgsvl acpancvcsk teincrrpdd gnlfpllegg
61 dsqnsngnas initdisrni tsihienwrs lhtlnavdme lytqlqklti knsglrsiqp
121 rafaknphlr yinlssnrlt tlswqlfqt1 slrelqleqn ffncscdirw mqlwqeggea
181 klnsqnlyci nadgsqplf rmnisqcdlp eisvshvnlv vregdnavit cngsgsplpd
241 vdwiwtglqs inthqtlnlw tnvhainltl vnvtsedngf tltdciaenvv gmsnasvalt
301 vyypprvvsl eepelrlehc iefvvrngpp ptlhwlhngq plreskiihv eyyqegeise
361 gcllfnkpth ynngnytia knplgtanqt inghflkepf pestdnfilf devspptppit
421 vthkpeedtf gvsiavglaa facvllvvlv vminkygrrs kfgmkgpvav isgeedsasp
481 lhhinhgitt pssldagpdt vvigmtripv ienpqyfrqg hnchkpptyv qhikrrdivl
541 krelgegafg kvflaecynl sptkdkmlva vkalkdptla arkdfgreae lltnlqhehi
601 vkfygvcgdg dplimvfeym khgdlnkflr ahgpdamilv dgqprqakge lglsqmhia
661 sqiasgmvy1 asqhfvhrdl atrnclvgan llvkigdfgm srdvystdy rlfnpsgndf
721 ciwcevght mlpirwmppe simyrkftte sdvwsfgvil weiftygkqp wfqlsntevi
781 ecitqgrvle rprvcpkevy dvmlgcwqre pqqrlnikei ykilhalgka tpiyldilg
```

[www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/134035335?report=genbank&log\\$=protalign&last_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/134035335?report=genbank&log$=protalign&last_rank=0&RID=0)

图13