



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I746426 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：104137812

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 11 月 16 日

(51)Int. Cl. : C07D487/04 (2006.01)

A61K31/519 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2014/11/16 美國

62/080,374

2015/06/01 美國

62/169,545

(71)申請人：美商亞雷生物製藥股份有限公司(美國) ARRAY BIOPHARMA INC. (US)
美國(72)發明人：亞瑞果 亞麗莎 B ARRIGO, ALISHA B. (US)；裘恩斯特 德瑞克 JUENGST,
DERRICK (US)；雪德 可哈利 SHAH, KHALID (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2010/048314A1

審查人員：官速貞

申請專利範圍項數：項 圖式數： 共頁

(54)名稱

(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型

(57)摘要

本發明揭示(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺之新穎結晶型、含有該結晶型之醫藥組合物及該結晶型在治療疼痛、癌症、發炎、神經變性疾病或克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)感染中之用途。在一些實施例中，該新穎結晶型包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽之穩定多晶型。本發明進一步係關於製備該新穎結晶型之方法。

A novel crystalline form of (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorophenyl)pyrrolidin-1-yl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-3-hydroxypyrrolidine-1-carboxamide, pharmaceutical compositions containing said crystalline form and the use of said crystalline form in the treatment of pain, cancer, inflammation, neurodegenerative disease or *Trypanosoma cruzi* infection are disclosed. In some embodiments, the novel crystalline form comprises a stable polymorph of (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorophenyl)pyrrolidin-1-yl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-3-hydroxypyrrolidine-1-carboxamide hydrogen sulfate. The present invention is further directed to a process for the preparation of the novel crystalline form.

指定代表圖：

I746426

TW I746426 B

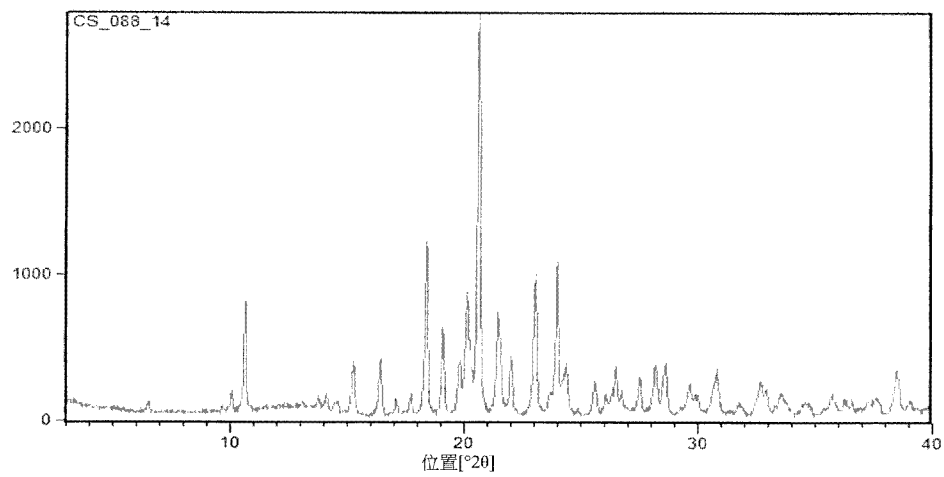
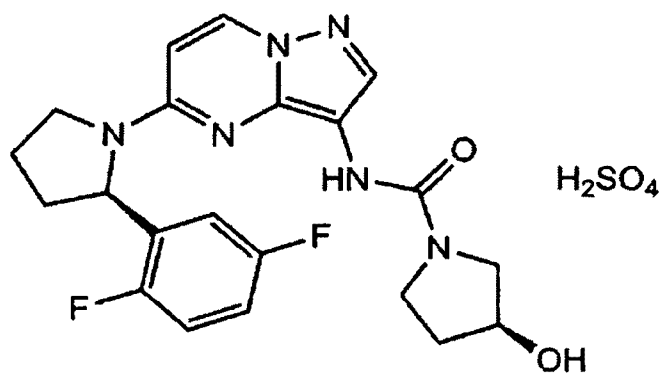


圖 1

特徵化學式：



I-HS

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：

※IPC 分類：

【發明名稱】

(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型

CRYSTALLINE FORM OF (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-DIFLUOROPHENYL)-PYRROLIDIN-1-YL)-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDIN-3-YL)-3-HYDROXYPYRROLIDINE-1-CARBOXAMIDE HYDROGEN SULFATE

【中文】

本發明揭示(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺之新穎結晶型、含有該結晶型之醫藥組合物及該結晶型在治療疼痛、癌症、發炎、神經變性疾病或克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)感染中之用途。在一些實施例中，該新穎結晶型包含(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽之穩定多晶型。本發明進一步係關於製備該新穎結晶型之方法。

【英文】

A novel crystalline form of (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorophenyl)pyrrolidin-1-yl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-3-hydroxypyrrolidine-1-carboxamide, pharmaceutical compositions containing said crystalline form and the use of said crystalline form in the treatment of pain, cancer, inflammation, neurodegenerative disease or Trypanosoma cruzi infection are disclosed. In some embodiments, the novel crystalline form comprises a stable polymorph of (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorophenyl)pyrrolidin-1-yl)-pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-3-hydroxypyrrolidine-1-carboxamide hydrogen sulfate. The present invention is further directed to a process for the preparation of the novel crystalline form.

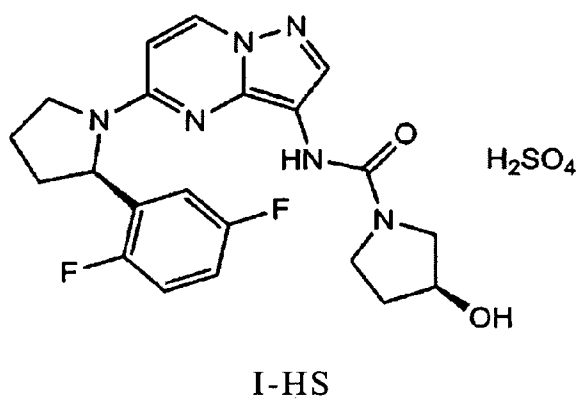
【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型

CRYSTALLINE FORM OF (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-DIFLUOROPHENYL)-PYRROLIDIN-1-YL)-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDIN-3-YL)-3-HYDROXYPYRROLIDINE-1-CARBOXAMIDE HYDROGEN SULFATE

相關申請案的交叉參考

此申請案主張2014年11月16日申請之美國臨時申請案第62/080,374號及2015年6月1日申請之62/169,545之優先權，二者係以全文引用方式併入本文中。

【技術領域】

本發明係關於(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺(式I)及其醫藥上可接受之鹽(例如硫酸氫鹽)，且進一步係關於硫酸氫鹽之新穎結晶型，其展現Trk家族蛋白酪胺酸激酶抑制；含有該結晶型之醫藥組合物；製備該結晶型之方法；及該化合物及結晶型在治療疼痛、發炎、癌症及某些傳染性疾病中之用途。

【先前技術】

Trk係由一組稱為神經滋養素(NT)之可溶性生長因子活化之高親和力受體酪胺酸激酶。Trk受體家族具有三個成員TrkA、TrkB及TrkC。神經滋養素尤其係(i)活化TrkA之神經生長因子(NGF)，(ii)活化TrkB之腦源性神經滋養因子(BDNF)及NT-4/5及(iii)活化TrkC之

5

NT3。Trk在神經元組織中廣泛表現且與神經元細胞之維持、信號傳導及存活相關(Patapoutian, A.等人, *Current Opinion in Neurobiology*, 2001, 11, 272-280)。

最近文獻已顯示Trk之過表現、活化、擴增及/或突變與許多癌症相關, 包括神經胚細胞瘤(Brodeur, G. M., *Nat. Rev. Cancer* 2003, 3, 203-216)、卵巢癌(Davidson., B.等人, *Clin. Cancer Res.* 2003, 9, 2248-2259)、乳癌(Kruettgen等人, *Brain Pathology* 2006, 16: 304-310)、前列腺癌(Dionne等人, *Clin. Cancer Res.* 1998, 4(8): 1887-1898)、胰臟癌(Dang等人, *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2006, 21(5): 850-858)、多發性骨髓瘤(Hu等人, *Cancer Genetics and Cytogenetics* 2007, 178: 1-10)、星形細胞瘤及神經管胚細胞瘤(Kruettgen等人, *Brain Pathology* 2006, 16: 304-310)、神經膠質瘤(Hansen等人, *Journal of Neurochemistry* 2007, 103: 259-275)、黑色素瘤²⁵、甲狀腺癌(Brzezianska等人, *Neuroendocrinology Letters* 2007, 28(3), 221-229)、肺腺癌(Perez-Pinera等人, *Molecular and Cellular Biochemistry* 2007, 295(1&2), 19-26)、大細胞神經內分泌腫瘤¹⁹(Marchetti等人, *Human Mutation* 2008, 29(5), 609-616)及結腸直腸癌(Bardelli, A., *Science* 2003, 300, 949)。在臨床前癌症模型中, Trk抑制劑可有效抑制腫瘤生長及終止腫瘤轉移。具體而言, TrkA、TrkB、TrkC及Trk/Fc嵌合體之非選擇性小分子抑制劑可有效抑制腫瘤生長及終止腫瘤轉移²⁵ (Nakagawara, A. (2001) *Cancer Letters* 169:107-114; Meyer, J.等人(2007) *Leukemia*, 1-10; Pierottia, M.A.及Greco A., (2006) *Cancer Letters* 232:90-98; Eric Adriaenssens, E.等人 *Cancer Res* (2008) 68:(2) 346-351)。因此, 預期Trk激酶家族之抑制劑可用於治療癌症。

另外, 已證實Trk/神經滋養素路徑之抑制劑在眾多臨床前動物疼痛模型中係有效的。例如, 已顯示拮抗性NGF及TrkA抗體(例如,

RN-624)在發炎性及神經病性疼痛動物模型及在人類臨床試驗中係有效的(Woolf, C.J.等人(1994) *Neuroscience* 62,327-331 ; Zahn, P.K.等人(2004) *J. Pain* 5, 157-163 ; McMahon, S. B.等人, (1995) *Nat. Med.* 1, 774-780 ; Ma, Q. P.及Woolf, C. J. (1997) *Neuroreport* 8, 807-810 ; Shelton, D. L.等人(2005) *Pain* 116, 8-16 ; Delafoy, L.等人(2003) *Pain* 105, 489-497 ; Lamb, K.等人(2003) *Neurogastroenterol. Motil.* 15, 355-361 ; Jaggar, S. I.等人(1999) *Br. J. Anaesth.* 83, 442-448)。另外，最近文獻指示在發炎後，BDNF含量及TrkB信號傳導在背根神經節中有所增加(Cho, L.等人 *Brain Research* 1997, 749, 358)，且若干研究已顯示經由BDNF/TrkB路徑降低信號傳導之抗體抑制神經元過敏作用及相關的疼痛(Chang-Qi, L等人 *Molecular Pain* 2008, 4:27)。

已顯示由腫瘤細胞及腫瘤侵襲之巨噬細胞分泌之NGF直接刺激位於外周疼痛纖維上之TrkA。使用小鼠及大鼠中之各種腫瘤模型，證實利用單株抗體中和NGF抑制癌症相關性疼痛之程度與最高耐受劑量之嗎啡(morphine)類似或優於其。另外，眾多研究中已涉及BDNF/TrkB路徑之活化作為各種類型疼痛(包括發炎性疼痛(Matayoshi, S., *J. Physiol.* 2005, 569:685-95)、神經病性疼痛(Thompson, S.W., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96:7714-18)及手術疼痛(Li, C.-Q.等人, *Molecular Pain*, 2008, 4(28), 1-11))之調節劑。由於TrkA及TrkB激酶可用作NGF驅動之生物反應之介導子，故TrkA及/或其他Trk激酶之抑制劑可有效治療慢性疼痛狀態。

用於疼痛病況之目前治療方案利用若干類別之化合物。類鴉片(opioid) (例如嗎啡)具有若干缺點，包括嘔吐、便秘及負呼吸效應，以及成癮之可能。非類固醇消炎鎮痛劑(NSAID，例如COX-1或COX-2類型)亦具有缺點，包括治療嚴重疼痛之功效不足。另外，COX-1抑制劑可造成黏膜潰瘍。因此，業內持續需要用於減輕疼痛、尤其慢性

疼痛之新的且較有效的治療。

另外，已顯示神經滋養素/Trk路徑之抑制可有效治療臨床前發炎性疾病模型。例如，以下疾病之臨床前模型中涉及神經滋養素/Trk路徑之抑制：發炎性肺病(包括氣喘) (Freund-Michel, V ; Frossard, N. ; *Pharmacology & Therapeutics* (2008), 117(1), 52-76)、間質性膀胱炎 (Hu Vivian Y等人*The Journal of Urology* (2005), 173(3), 1016-21)、發炎性腸病(包括潰瘍性結腸炎及克隆氏病(Crohn's disease)) (Di Mola, F. F等人, *Gut* (2000), 46(5), 670-678)及發炎性皮膚病(例如異位性皮膚炎) (Dou, Y.-C.等人*Archives of Dermatological Research* (2006), 298(1), 31-37)、濕疹及牛皮癬(Raychaudhuri, S. P.等人*Journal of Investigative Dermatology* (2004), 122(3), 812-819)。

神經滋養素/Trk路徑、具體而言BDNF/TrkB亦與神經變性疾病(包括多發性硬化症、帕金森病(Parkinson's disease)及阿茲海默氏病(Alzheimer's disease))之病因學相關(Sohrabji, Farida ; Lewis, Danielle K. *Frontiers in Neuroendocrinology* (2006), 27(4), 404-414)。神經滋養素/Trk路徑之調節可用於治療該等及相關性疾病。

亦認為TrkA受體對於人類宿主中克氏錐蟲之寄生蟲感染(卻格司氏病(Chagas disease))之感染中之疾病過程至關重要(de Melo-Jorge, M.等人*Cell Host & Microbe* (2007), 1(4), 251-261)。因此，TrkA抑制可用於治療卻格司氏病及相關性原蟲感染。

亦發現Trk抑制劑可用於治療與骨重塑調控之不平衡(例如骨質疏鬆症、類風濕性關節炎及骨轉移)相關之疾病。骨轉移係癌症之常見併發症，其佔患有晚期乳癌或前列腺癌之患者的高達70% (1)且佔患有肺癌、結腸癌、胃癌、膀胱癌、子宮癌、直腸癌、甲狀腺癌或腎癌之患者之約15%至30%。溶骨性轉移可造成嚴重疼痛、病理性骨折、危及生命性高鈣血症、脊髓壓迫及其他神經壓迫症候群。出於該等原

因，骨轉移係癌症之嚴重且代價高的併發症。因此，可誘導增殖成骨細胞細胞凋亡之藥劑可能高度有利。已在小鼠骨折模型之骨形成區域中觀察到TrkA及TrkC受體之表現(K. Asaumi,等人，Bone (2000) 26(6) 625-633)。另外，在幾乎所有骨形成細胞中皆觀察到NGF之定位(K. Asaumi等人)。最近，證實了pan-Trk抑制劑可抑制由結合至人類hFOB成骨細胞中之所有三種Trk受體之神經滋養素活化之酪胺酸信號傳導(J. Pinski,等人，(2002) 62, 986-989)。該等數據支持使用Trk抑制劑治療癌症患者之骨重塑疾病(例如骨轉移)之理論。

人們已知據稱可用於治療疼痛或癌症之Trk激酶之若干類小分子抑制劑(*Expert Opin. Ther. Patents* (2009) 19(3))。

國際專利申請公開案WO 2006/115452及WO 2006/087538闡述據稱為可用於治療疼痛或癌症之Trk激酶抑制劑之若干類小分子。

已知吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物。例如，國際專利申請公開案WO 2008/037477揭示在3位具有烷基、芳基或雜環基團之吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物。確定該等化合物為PI3K及/或mTOR脂質激酶抑制劑。

PCT專利公開案第WO 2008/058126號揭示在3位具有苯基之吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物。確定該等化合物為Pim-激酶抑制劑。

美國專利公開案第2006/0094699號揭示在3位具有-C(=O)NH-苯基、-C(=O)(4-甲基六氫吡啶基)或-C(=O)NMe(CH₂-三甲基吡唑基)之吡唑并[1,5-a]嘧啶化合物，其用於與糖皮質激素受體激動劑一起之組合療法中。

PCT專利公開案第WO 2010/033941號、第WO 2010/048314號、第WO 2011/006074號及第WO 2011/146336號揭示展現Trk家族蛋白酪胺酸激酶抑制且可用於治療疼痛、癌症、發炎、神經變性疾病及某些傳染性疾病之化合物。

WO 2010/048314在實例14A中揭示(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯

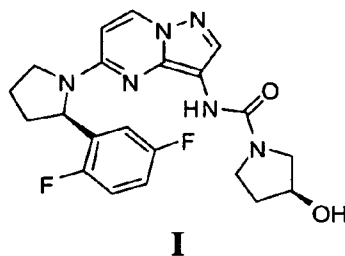
基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺之硫酸氫鹽。WO 2010/048314未揭示在根據該文件中之實例14A之方法製備時其中所述硫酸氫鹽之具體形式。具體而言，WO 2010/048314未揭示如下文所闡述之結晶型(I-HS)。

本發明中所提及之所有文件(包括科學論文、專利公開案及申請案及諸如此類)皆以全文引用方式併入本文中。

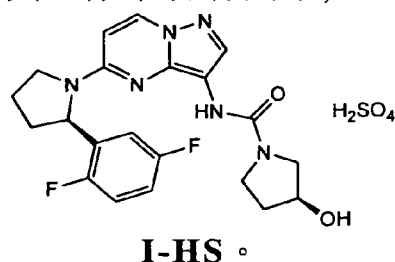
【發明內容】

本發明係關於(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺(式I)及其醫藥上可接受之鹽(例如硫酸氫鹽)，且進一步係關於硫酸氫鹽之新穎結晶型，其展現Trk家族蛋白酪胺酸激酶抑制；含有該結晶型之醫藥組合物；製備該結晶型之方法；及該化合物及結晶型在治療疼痛、發炎、癌症及某些傳染性疾病中之用途。

本文提供式I化合物之新穎結晶型：



該化合物亦稱為(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺。具體而言，新穎結晶型包含呈穩定多晶型之式I化合物之硫酸氫鹽(在下文中稱作結晶型(I-HS)，特徵可在於(例如)其X射線繞射圖案)，結晶型(I-HS)具有下式：



在一些實施例中，結晶型(I-HS)之特徵在於在約18.4、20.6、23.0及24.0處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。在一些實施例中，結晶型(I-HS)之特徵在於在約10.6、18.4、20.6、23.0及24.0處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。在一些實施例中，結晶型(I-HS)之特徵在於在約10.6、18.4、19.1、20.2、20.6、21.5、23.0及24.0處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。在一些實施例中，結晶型(I-HS)之特徵在於在約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及38.5處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有實質上如圖29中所顯示之XRPD圖案。

在一些實施例中，結晶型(I-HS)展現約197.9°C之峰值熔融溫度，如藉由差示掃描量熱法所量測。在一些實施例中，結晶型(I-HS)展現約2.415 mW之熔融熱，如藉由差示掃描量熱法所量測。在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有實質上如圖26中所顯示之DSC溫度記錄圖。在一些實施例中，結晶型(I-HS)係非吸濕性的。

一些實施例包括包含醫藥上可接受之載劑及結晶型(I-HS)之醫藥組合物。一些實施例包括藉由混合結晶型(I-HS)及醫藥上可接受之載劑製得之醫藥組合物。一些實施例包括製備醫藥組合物之製程，其包含混合結晶型(I-HS)及醫藥上可接受之載劑。

本發明亦係關於治療癌症、疼痛、發炎及某些傳染性疾病之方法，其包含向有需要之個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)。一些實施例包括結晶型(I-HS)在製備用於治療有需要之個體之癌症、疼痛、發炎及某些傳染性疾病之醫藥中之用途。

本文亦提供治療有需要之個體中由Trk激酶介導之癌症之方法，該方法包含向該個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)。在一些實施例

中，癌症係由Trk、TrkB或TrkA及TrkB介導。在一些實施例中，患者經診斷或鑒定具有Trk相關性癌症。

本文進一步提供治療有需要之個體之癌症之方法，該方法包含：(a) 確定該癌症是否與Trk激酶之過表現、活化、擴增及突變中之一或多者相關；及(b) 若確定該癌症與Trk激酶之過表現、活化、擴增及突變中之一或多者相關，則向該個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)。在一些實施例中，提供治療有需要之個體之癌症之方法，該方法包含：(a) 確定該癌症是否由Trk激酶介導；及(b)若確定該癌症由Trk激酶介導，則向該個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)。本文亦提供治療個體之方法，其包含：(a) 對自個體獲得之試樣實施分析以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或含量之失調；及(b) 向經確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)。

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或含量之失調為造成Trk融合蛋白轉譯之染色體轉譯。例如，Trk融合蛋白係選自由以下各項組成之群：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、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及TEL-TrkC。

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性之失調係基因中之一或多個點突變。例如，NTRK基因係NTRK1基因，且NTRK1基因中之一或多個點突變造成在以下胺基酸位置中之一或多者處具有取代之TrkA蛋白之轉譯：33、336、337、324、420、444、517、538、649、682、683、702及1879。在一些實施例中，NTRK1基因中之一或多個點突變造成具有以下胺基酸取代中之一或多者之TrkA蛋白之轉譯：R33W、A336E、A337T、R324Q、R324W、V420M、R444Q、R444W、G517R、G517V、K538A、R649W、R649L、R682S、V683G、R702C及C1879T。

此發明內容及以下實施方式中所闡述之特徵及優點並非詳盡的。熟習此項技術者鑒於本發明之附圖、說明書及申請專利範圍將明瞭許多其他特徵及優點。

【圖式簡單說明】

圖1圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之X射線粉末繞射(XRPD)圖案。

圖2圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之同時熱重/差示熱分析儀(TG/DTA)曲線。

圖3圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之差示掃描量熱(DSC)曲線。

圖4A及圖4B圖解說明根據一些實施例之在(A)非偏振光及(B)偏振光下結晶型(I-HS)之偏振光顯微術(PLM)影像。

圖5圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之動態蒸氣吸附(DVS)等溫線曲線。

圖6圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之紅外(IR)光譜曲線。

圖7圖解說明根據一個實施例之式I化合物之非晶形游離鹼形式之XRPD圖案。

圖8係顯示使用結晶型(I-HS)劑量依賴性抑制具有MPRIP-NTRK1融合蛋白之CUTO-3F肺腺癌細胞之增殖之圖形。

圖9係顯示使用結晶型(I-HS)劑量依賴性抑制具有TPM3-NTRK1融合蛋白之KM12結腸直腸癌細胞之增殖之圖形。

圖10係顯示使用結晶型(I-HS)劑量依賴性抑制具有ETV6-NTRK3融合蛋白之MO-91急性骨髓樣白血病細胞之增殖之圖形。

圖11係顯示結晶型(I-HS)抑制CUTO-3F細胞中MPRIP-TRKA激酶及ERK1/2之活化之免疫印跡。該等細胞經指示劑量下之結晶型(I-HS)處理2小時。

圖12係顯示結晶型(I-HS)抑制KM12細胞中TPM3-TRKA激酶之活化及下游ERK1/2及AKT活性之免疫印跡。該等細胞經指示劑量下之結晶型(I-HS)處理2小時。

圖13係顯示結晶型(I-HS)抑制MO-91細胞中之TEL-TRKC激酶及ERK1/2及AKT活性之免疫印跡。該等細胞經指示劑量下之結晶型(I-HS)處理2小時。

圖14係繪示在患者之腫瘤試樣中鑒定之LMNA-NTRK1基因融合之示意圖：LMNA (NM_170707)之前兩個外顯子與NTRK1 (NM_002529)之外顯子11-17結合。

圖15係來自NTRK1分離FISH分析之螢光顯微圖，其顯示對應於正常基因(黃色箭頭)之成對綠色(5' NTRK1)及紅色(3' NTRK1)信號，且在腫瘤細胞核(利用DAPI染成藍色)中觀察到經分離紅色信號(紅色箭頭)指示導致NTRK1基因融合之染色體缺失。

圖16係對使用LMNA (5')及NTRK1 (3')引子之RT-PCR產物進行DNA定序之層析圖，其指示在NTRK1之外顯子2 LMNA與外顯子11之

間之融合斷點。

圖17係TRK-SHC1鄰位連接分析(PLA)之示意圖。此卡通圖證實
在腫瘤細胞中檢測到近端(< 40 nM) TRK及SHC1蛋白。所用TRK抗體
(兔)可檢測TRKA (由NTRK1編碼)、TRKB (NTRK2)或TRKC (NTRK3)
蛋白之c末端。藉由SHC1抗體(小鼠)檢測SHC1。物種特異性二級抗體
與共價附接之互補核苷酸序列之結合允許原位PCR反應以生成DNA，
該DNA可藉由螢光原位雜交檢測，其在該方法中作為紅色點顯現。該
分析可檢測經活化TRK，無論TRK受體家族成員(TRKA/B/C)之活化之
機制如何(野生型之基因融合、突變或自分泌/旁分泌活化)。

圖18係驗證TRK-SHC1 PLA之數據集。(A)源於患有具有MPRIP-
NTRK1基因融合之IV期肺腺癌之患者之惡性胸膜滲出液之CUTO-3細
胞系經非靶向對照(non-targeting control, NTC) siRNA、NTRK1導向
之siRNA轉染或未經處理(對照)，並針對TRKA蛋白表現進行分析。西
方墨點分析證實TRKA蛋白含量顯著降低，且對應於以170 kD之表觀
分子量遷移之MPRIP-TRKA融合蛋白。在如(A)中經處理細胞中實施
TRK-SHC1 PLA，其證實在siRNA對照(B)中具有穩健陽性信號，但在
NTRK1 siRNA (C)中成比例減少。將CUTO-3細胞用DMSO (D)或100
nM濃度之結晶型(I-HS) (E)處理2小時，此證實與對照相比在結晶型
(I-HS)處理之試樣中TRKA-SHC1複合物被破壞。CULC001係源於與
CUTO-3細胞系相同之腫瘤之患者源性腫瘤異種移植物(PDX)且具有
MPRIP-NTRK1基因融合(未顯示)。CULC002係來自無已知驅動子
(ALK、ROS1、EGFR、KRAS及BRAF陰性)之NSCLC患者之PDX且藉
由NTRK1分裂分離FISH對於NTRK1基因融合而言為陰性(未顯示)。
TRK PLA分析證實在CULC001 (F)腫瘤細胞核中具有穩健信號而在
CULC002 (G)腫瘤細胞核中無信號。面板(H)及(I)顯示來自CULC001
PDX之神經束。TRK-SHC1 PLA僅在CULC002腫瘤試樣之此區域中為

E

陽性且表明TRKA、TRKB或TRKC受體中之自分泌信號傳導，乃因此家族在神經組織中表現且用作此在其他方面為陰性之腫瘤試樣之內部陽性對照。

圖19係來自TRK SHC1鄰位連接分析及對照之影像。(A) TRK-SHC1鄰位連接分析證實在腫瘤細胞核中具有穩健信號傳導而在厚壁血管中具有弱信號傳導。利用DAPI (藍色)將細胞核染色且紅色信號代表TRKA-SHC1蛋白複合物之陽性PLA指示物。血管經指示在部分橢圓(白色虛線)內。(B) 指示厚壁血管(在由白色虛線指示之部分橢圓內)及側腹腫瘤細胞核之經蘇木精及伊紅染色之毗鄰腫瘤組織切片。

圖20係顯示ALK+腫瘤試樣中TRK及ALK PLA之影像之集合。使用證實不存在信號之TRK-SHC1 PLA (A)或顯示穩健ALK信號傳導之ALK-GRB2 PLA (B)分析來自ALK+患者(屍體剖檢試樣)之FFPE腫瘤試樣。

圖21係來自具有未分化肉瘤之個體之三個電腦斷層攝影影像之集合。CT影像係在手術前化學療法及原發性腫瘤切除術(利用箭頭指示18 mm的右肺小結節之存在)之後(A)、在研究當天在即將利用結晶型(I-HS)給藥之前之基線成像(B)及在利用結晶型(I-HS)給藥之1個循環(28天)之後(C)獲得的。觀察到患者僅在肺中具有轉移性疾病，且因此CT掃描影像顯示聚焦於胸腔之軸影像(頂部)及冠狀(底部)影像。該等影像證實初始快速疾病進展(A-B，13週間隔)，隨後大小減小之顯著腫瘤反應及/或眾多肺轉移之消退(B-C，4週間隔)。

圖22係顯示經結晶型(I-HS)治療之具有未分化肉瘤之患者中之血清CA125含量隨時間之圖形。發現此患者中之血清CA125含量有所升高，且隨後將其作為潛在活性指示物進行追蹤。繪製在給藥前的基線(第-8天)及在第-3天至第56天在開始給藥後之指示時間點處之血清CA125，證實此腫瘤標記物之時間依賴性減少。紅色虛線指示此實驗

室測試之正常上限(35 U/mL)。

圖 23 係顯示使用結晶型(I-HS)劑量依賴性抑制具有 SLC34A2-ROS1 融合蛋白之 HCC78 細胞之增殖之圖形。

圖 24 係顯示 AM(HS)1 之溫度記錄圖數據之圖形。該圖形之頂部線係該化合物之熱重分析(TGA)之圖形，而底部線係差示掃描量熱法(DSC)之圖形。

圖 25 係顯示 AM(HS)2 之溫度記錄圖數據之圖形。該圖形之頂部線係該化合物之熱重分析(TGA)之圖形，而底部線係差示掃描量熱法(DSC)之圖形。

圖 26 係顯示結晶型(I-HS)之溫度記錄圖數據之圖形。該圖形之頂部線係該化合物之熱重分析(TGA)之圖形，而底部線係差示掃描量熱法(DSC)之圖形。

圖 27 圖解說明 AM(HS)1、AM(HS)2 及結晶型(I-HS)之 X 射線粉末繞射(XRPD)圖案之重疊。AM(HS)1 及 AM(HS)2 在該圖之下部係寬線，而結晶型(I-HS)展現尖銳峰。

圖 28 圖解說明 AM(HS)1 及 AM(HS)2 之 X 射線粉末繞射(XRPD)圖案。

圖 29 圖解說明結晶型(I-HS)之 X 射線粉末繞射(XRPD)圖案。

圖 30 係 AM(HS)1 之試樣在 20×放大倍數下之偏振光顯微術下之影像。

圖 31 係 AM(HS)2 之試樣在 20×放大倍數下之偏振光顯微術下之影像。

圖 32 係結晶型(I-HS)之試樣在 20×放大倍數下之偏振光顯微術下之影像。

圖 33 係使用動態蒸氣吸附(DVS)之 AM(HS)1 之吸濕性之圖形。

圖 34 圖解說明在 DVS 前(頂部線)及 DVS 後(底部線)的 AM(HS)1 之 X

射線粉末繞射(XRPD)圖案。

圖35係使用動態蒸氣吸附(DVS)之AM(HS)2之吸濕性之圖形。

圖36圖解說明在DVS前(頂部線)及DVS後(底部線)的AM(HS)2之X射線粉末繞射(XRPD)圖案。

圖37係使用動態蒸氣吸附(DVS)之結晶型(I-HS)之吸濕性之圖形。

圖38圖解說明在DVS前(頂部線)及DVS後(底部線)的結晶型(I-HS)之X射線粉末繞射(XRPD)圖案。

圖39係各種200 mg的納入結晶型(I-HS)或AM(HS)2之直接壓縮摻和緊實物之拉伸強度對壓縮壓力之圖形。在該圖形中，(1)係具有AM(HS)2之2:1 MCC:乳糖摻合物；(2)係具有結晶型(I-HS)之2:1 MCC:乳糖摻合物；(3)係具有AM(HS)2之1:1 MCC:澱粉摻合物；(4)係具有結晶型(I-HS)之1:1 MCC:澱粉摻合物。

圖40係在T0時(底部線)及在40°C /75%RH下5週後(頂部線)之AM(HS)1之DSC溫度記錄圖之重疊。

圖41係在T0時(底部線)及在40°C /75%RH下5週後(頂部線)之結晶型(I-HS)之DSC溫度記錄圖之重疊。

圖42圖解說明在T0時(寬線)及在40°C /75%RH下5週後(尖銳峰)之AM(HS)1之X射線粉末繞射(XRPD)圖案之重疊。

圖43圖解說明在T0時(底部)及在40°C /75%RH下5週後(頂部)之結晶型(I-HS)之X射線粉末繞射(XRPD)圖案之重疊。

圖44圖解說明在40°C /75%RH下5週後之結晶型(I-HS) (底部)及AM(HS)1 (頂部)之X射線粉末繞射(XRPD)圖案之重疊。

圖45係顯示未經處理的(三角形)或在將異種移植物植入小鼠中之後開始經口投與60 mg/kg (圓形)或200 mg/kg (正方形)之每日劑量之結晶型(I-HS)的小鼠中源於肺腺癌CUTO-3F細胞系(CUTO-3.29)之異

種移植植物(人類)腫瘤之體積隨時間變化之百分比之圖形。

圖46係顯示未經處理的(三角形)或在將異種移植植物植入小鼠中之後開始經口投與60 mg/kg (圓形)或200 mg/kg (正方形)之每日劑量之結晶型(I-HS)的小鼠中源於結腸直腸癌KM12細胞系之異種移植植物(人類)腫瘤之體積隨時間變化之百分比之圖形。

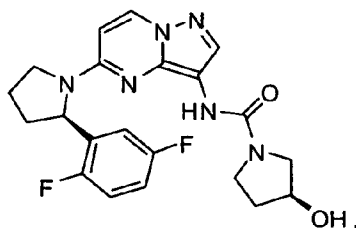
圖47係顯示未經處理的(三角形)或在將異種移植植物植入小鼠中之後開始經口投與60 mg/kg (圓形)或200 mg/kg (正方形)之每日劑量之結晶型(I-HS)的小鼠中源於急性骨髓樣白血病MO-91細胞系之異種移植植物(人類)腫瘤之體積隨時間變化之百分比之圖形。

各圖僅出於圖解說明之目的而繪示本發明之各種實施例。依據以下論述，熟習此項技術者將易於認識到，可採用本文中所圖解說明之結構及方法之替代實施例而不背離本文中所闡述之本發明之原理。

【實施方式】

本發明係關於(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺(式I)及其醫藥上可接受之鹽(例如硫酸氫鹽)，且進一步係關於硫酸氫鹽之新穎結晶型，其展現Trk家族蛋白酪胺酸激酶抑制；含有該結晶型之醫藥組合物及製備該結晶型之方法。

本文提供式I化合物之新穎結晶型：



I

具體而言，新穎結晶型包含呈穩定多晶型之式I化合物之硫酸氫鹽，其在下文中稱作結晶型(I-HS)，其特徵可在於(例如)其X射線繞射

圖案。

如圖1中所圖解說明，在一些實施例中，結晶型(I-HS)之特徵可在於其X射線粉末繞射圖案(XRPD)。XRPD係在來自Siemens之具有CuK α 1、0.1540562 nm長的細調焦密封管來源之D5000 X射線繞射計上藉由以0.0200 °2 θ 之步長大小及1秒時間/步長在3 °2 θ 與40 °2 θ 之間掃描試樣來實施。有效掃描速度為0.0200 °/s，且儀器電壓為40 kV且電流設定為40 mA。在以下實驗條件下使用具有2 mm大小之發散狹縫以反射模式分析試樣。

在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有至少20特徵峰(2 θ 度 $\pm$ 0.3)之XRPD圖案，如表1中所列示。

表1. 結晶型(I-HS)之XRPD峰

位置[°2- θ]	FWHM [°2- θ]	d間距[Å]	相對強度[%]
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

在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有至少8個特徵峰(2θ 度 $\pm$ 0.3)之XRPD圖案，該圖案包含相對強度大於或等於約15%之峰，如表2中所列示。

表2. 結晶型(I-HS) 之XRPD峰

位置[°2- θ]	FWHM [°2- θ]	d間距[Å]	相對強度[%]
10.63	0.12	8.32	27.44
18.37	0.13	4.82	43.65
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

在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有至少5個特徵峰(2θ 度 $\pm$ 0.3)之XRPD圖案，該圖案包含相對強度大於或等於約25%之峰，如表3中所列示。

表3. 結晶型(I-HS)之XRPD峰

位置[°2- θ]	FWHM [°2- θ]	d間距[Å]	相對強度[%]
10.63	0.12	8.32	27.44
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

在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有至少4個特徵峰(2θ 度 $\pm$ 0.3)之XRPD圖案，該圖案包含相對強度大於或等於約30%之峰，如表4中

所列示。

表4. 結晶型(I-HS)之XRPD峰

位置[°2- θ]	FWHM [°2- θ]	d間距[Å]	相對強度[%]
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

在某些實施例中，結晶型(I-HS)具有實質上與如圖1中所顯示相同之XRPD圖案之XRPD圖案。在某些實施例中，結晶型(I-HS)具有實質上與如圖29中所顯示相同之XRPD圖案之XRPD圖案。圖1與圖29之間之強度差異可能係由試樣製備及較佳晶體定向引起的。

將瞭解結晶型(I-HS)之X射線粉末繞射圖案之2 θ 值在儀器之間可略微不同且亦取決於試樣製備之變化及批次間之變化，且因此所引用之值不應視為絕對值。亦將瞭解峰之相對強度可端視定向效應而變化，使得本文所包括之XRPD跡線中所顯示之強度具有圖解說明性且並非意欲用於絕對比較。因此，應瞭解片語「實質上與如圖1中所顯示相同之XRPD圖案」意味著出於比較目的存在圖1中所顯示峰之至少90%。應瞭解相對峰位置可自圖1中所顯示之峰位置變化 ± 0.3 度。應進一步瞭解，出於比較目的允許峰強度自彼等顯示於圖1中者有一些變化。

圖2圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之同時熱重/差示熱分析儀(TG/DTA)曲線。為進行分析，將約5 mg結晶型(I-HS)稱重至開放鋁盤中並將其裝載至同時熱重/差示熱分析儀(TG/DTA)中，並保持在室溫下。然後以10°C/min之速率將試樣自25°C加熱至300°C，在該時間期間記錄試樣重量之變化以及任何差示熱事件。使用氮作為吹掃氣體，流速為100 cm³/min。結晶型(I-HS)之TG/DAT曲線顯示在27.4



℃至182.4℃間之0.8%之初始重量損失，此後在TG曲線中在182.4℃至225.0℃間之4.9%重量損失，亦將其視為DTA曲線中之吸熱。該等重量損失可為材料之分解。

圖3圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之差示掃描量熱法(DSC)曲線。試樣之DSC分析係使用Seiko DSC6200差示掃描熱量計(配備有冷卻器)實施。將約5 mg結晶型(I-HS)稱重至鋁DSC盤中且利用有孔鋁蓋進行非氣密性密封。然後，將試樣盤裝載至Seiko DSC6200 (配備有冷卻器)中，冷卻並在25℃下保持。在獲得穩定熱流反應後，將試樣及參考物以10℃/min之掃描速率加熱至270℃，同時監測所得熱流反應。在一些實施例中，結晶型(I-HS)具有實質上如圖3中所顯示之DSC溫度記錄圖。如本文所使用，「實質上如圖3中所顯示」意味著圖3中所顯示之吸熱事件之溫度可變化約 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

如圖3中所顯示，結晶型(I-HS)之DSC溫度記錄圖指示基線中在122.9℃至152.8℃之間之小的吸熱變化，隨後對應於結晶型(I-HS)在190.8℃之熔融起始溫度、197.9℃之熔融峰溫度及2.415 mW之熔融熱下之熔融之急劇吸熱。熔融吸熱後之轉變可由熔融結晶型(I-HS)之分解造成。

圖4A及圖4B圖解說明根據一些實施例之(A)非偏振光及(B)非偏振光下結晶型(I-HS)之偏振光顯微術(PLM)影像。使用配備有Motic相機及影像捕獲軟體(Motic Images Plus 2.0)之Olympus BX50偏振顯微鏡確定結晶性(雙折射)之存在。所有影像皆係使用20×物鏡記錄。結晶型(I-HS)在偏振光下檢查時展現雙折射而未展現明確形態或積聚物。

圖5圖解說明根據一個實施例之結晶型(I-HS)之動態蒸氣吸附(DVS)等溫線曲線。為進行DVS量測，藉助改變濕度條件使結晶型(I-HS)之試樣循環以確定其吸濕性。使用Surface Measurement System

DVS-1 Dynamic Vapor Sorption System System分析試樣。將約10 mg 結晶型(I-HS)放置至網型蒸氣吸附天平盤中並將其裝載至作為Surface Measurement System之部件之動態蒸氣吸附天平中。以1分鐘間隔收集數據。使用氮作為載氣。使經抽樣結晶型(I-HS)以10%增量經受20-90%相對濕度(RH)之升溫曲線，在每一步驟下維持試樣直至達成穩定重量(99.5%步驟完成)。在完成吸附循環後，使用相同程序乾燥試樣，但一直下降至0% RH且最後返回至20% RH之起始點。繪製吸附/解吸附循環期間之重量變化之圖形，允許確定試樣之吸濕性質。

如圖5中所顯示，結晶型(I-HS)似乎為非吸濕性的。在吸附循環期間在0% RH與90% RH之間觀察到質量方面約1.7%之小增加。另外，在吸附循環與解吸附循環之間觀察到極小滯後。DVS分析後結晶型(I-HS)之XRPD圖案(未顯示)與圖1中所顯示之其DVS前之XRPD圖案類似指示在DVS期間結晶型(I-HS)未發生變化。

圖6圖解說明根據一個實施例之式I化合物之結晶型(I-HS)之紅外(IR)光譜曲線。IR光譜係在Bruker ALPHA P分光計上實施。將充足的結晶型(I-HS)之材料放置至分光計板之中心上，且使用4 cm⁻¹之解析率、16次掃描之背景掃描時間、16次掃描之試樣掃描時間獲得透射率光譜，且自4000 cm⁻¹至400 cm⁻¹收集數據。所觀察到的結晶型(I-HS)之IR光譜顯示於圖6中。

結晶型(I-HS)具有多種使得其驚奇地優於(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽之非晶型(AM(HS))之性質。例如，結晶型(I-HS)具有有助於其可製造性及商業產品之產生之性質。如實例8中所顯示，結晶型(I-HS)具有與非晶形API (AM(HS))相比更好之流動性質，如藉由卡爾及豪斯納指數(Carr's and Hausner Index)所證實。例如，結晶型(I-HS)展現大於20%之卡爾指數值。在一些實施例中，結晶型(I-HS)展現小

於1.35之豪斯納比(例如，介於約1.26至約1.34之間之值)。流動性質之差異可使得非晶形API之固體口服劑型相對於結晶API更難研發。

結晶型(I-HS)亦在LDPE袋中在40°C /75% RH下執行5週之加速穩定性研究中證實較好穩定性。同時AM(HS)或結晶型(I-HS)在該研究之過程期間皆未展現化學雜質含量之顯著變化，該研究揭露了結晶型(I-HS)具有穩定的物理化學性質。但是，非晶形API轉化為實質上類似於結晶型(I-HS)之結晶型(藉由XRPD、DSC、TGA、KF及偏振光顯微術)。另外，非晶形API在穩定性測試之過程期間變成具有降低之流動性質之積聚粉末。儲存時化合物之該等物理性質變化(包括非晶形粉末變為結晶物質及/或具有降低之流動之積聚粉末)可使得其幾乎不可能製造出供患者使用之基於非晶形化合物固體口服劑型。然而，針對結晶型(I-HS)所觀察到的性質與針對商業產品所期望的性質一致，包括具有穩定的物理及化學結構。

如先前所闡述，結晶型(I-HS)為非吸濕性的。如本文所使用，「非吸濕性」係指化合物在25°C及80% RH下展現小於2%之重量增加。然而，發現AM(HS)化合物在暴露於濕度後會潮解。鑒於此趨勢，AM(HS)化合物之使用可能在儲存及製造期間需要顯著處置防範措施以防止發生此形式變化，而結晶型(I-HS)在API之製造期間不需要該等防範措施。亦可預期此濕度穩定性延續至使用結晶型(I-HS)製備之任一固體口服劑量產品。

最後，結晶型(I-HS)相對於非晶形API提供顯著改良之雜質概況。控制雜質概況之能力對於患者安全、研發可重複製程及在用於人類中前滿足監管機構之要求至關重要。

本文所提供之化合物(包括(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺(式I))及其醫藥上可接受之鹽(例如硫酸氫鹽)及另外硫酸氫鹽之新穎結晶型(結晶型

(I-HS))展現Trk家族蛋白酪胺酸激酶抑制，且該化合物、其硫酸氫鹽及結晶型可用於治療疼痛、發炎、癌症及某些傳染性疾病。

一些實施例包括結晶型(I-HS)用於治療可藉由抑制TrkA、TrkB及/或TrkC激酶治療之病症及疾病(例如TrkA、TrkB及/或TrkC介導之病況，例如本文所闡述之一或多種病況，包括Trk相關性癌症)之用途。在一些實施例中，結晶型(I-HS)亦可用於治療疼痛(包括慢性及急性疼痛)。在一些實施例中，結晶型(I-HS)可用於治療多種類型之疼痛，包括發炎性疼痛、神經病性疼痛、手術疼痛及與癌症、手術及骨折相關之疼痛。另外，結晶型(I-HS)可用於治療發炎、活性及慢性神經變性疾病及某些傳染性疾病。本發明進一步係關於包含結晶型(I-HS)之醫藥組合物。在一些實施例中，醫藥組合物包含結晶型(I-HS)及醫藥上可接受之稀釋劑或載劑。

結晶型(I-HS)充當TrkA、TrkB及/或TrkC抑制劑之能力可藉由如2013年8月20日發佈之美國專利第8,513,263號中所揭示之實例A及B中所闡述之分析來證實，該案係以引用方式併入本文中。

在一些實施例中，本文提供治療經診斷患有Trk相關性癌症之患者之方法，該方法包含向該患者投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。神經滋養素受體之Trk家族TrkA、TrkB及TrkC(分別由NTRK1、NTRK2及NTRK3基因編碼)及其神經滋養素配體調控神經元之生長、分化及存活。NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調(例如涉及NTRK激酶結構域之易位、涉及TRK配體-結合位點之突變、NTRK基因之擴增、Trk mRNA剪接變體及Trk自分泌/旁分泌信號傳導)闡述於各種各樣的腫瘤類型且可有助於腫瘤形成。最近，在腺癌肺癌患者之子集中闡述了NTRK1融合²。導致組成性活性TrkA、TrkB及TrkC融合蛋白產生之NTRK1、NTRK2及NTRK3之易位在大量

腫瘤類型(包括肺腺癌、甲狀腺、頭頸癌、神經膠質胚細胞瘤及其他)中係致癌且普遍的。

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括野生型TrkA、TrkB或TrkC之過表現(例如，導致自分泌活化)。在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括染色體片段(包含NTRK1、NTRK2或NTRK3基因或其一部分)之過表現、活化、擴增或突變。在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括分別造成NTRK1、NTRK2或NTRK3基因融合之一或多個染色體易位或倒位。在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調係基因易位之結果，其中所表現蛋白係含有來自非TrkA伴侶蛋白及TrkA、非TrkB伴侶蛋白及TrkB或非TrkC伴侶蛋白及TrkC蛋白之殘基之融合蛋白，且分別包括最小之功能TrkA、TrkB或TrkC激酶結構域。

在一些實施例中，TrkA融合蛋白係如表5中所顯示之TrkA融合蛋白中之一者，其中：

表5. 例示性TrkA融合蛋白及癌症

融合蛋白	非TrkA融合伴侶	非限制性例示性Trk相關性癌症及其同義詞
TP53-TrkA ^{1,11}	腫瘤蛋白P53	施皮茨樣黑色素瘤 (Spitzoid melanoma)，施皮茨腫瘤
LMNA-TrkA ^{1, 12}	核片層蛋白A/C	施皮茨樣黑色素瘤，施皮茨腫瘤，未分化肉瘤，成年軟組織肉瘤(例如，肺轉移性軟組織肉瘤)，軟組織纖維肉瘤
CD74-TrkA ²	MHC II類恆定鏈	非小細胞肺癌(NSCLC) 肺腺癌
TFG-TrkA (TRK-T3) ³	TRK融合之基因	乳突狀腺癌(PTC)，軟組織孤立性纖維腫瘤

融合蛋白	非TrkA融合伴侶	非限制性例示性Trk相關性癌症及其同義詞
TPM3-TrkA ³	原肌凝蛋白3	肺癌，乳突狀甲狀腺癌(PTC，急性骨髓樣白血病(AML)，肉瘤，小兒神經膠質瘤，結腸直腸癌(CRC)，軟組織神經鞘瘤
NFASC-TrkA ⁴	神經束蛋白	多形性神經膠質胚細胞瘤(GBM)；神經膠質胚細胞瘤
BCAN-TrkA ⁴	短蛋白聚糖	多形性神經膠質胚細胞瘤(GBM)
MPRIIP-TrkA ⁵	肌凝蛋白磷酸酶Rho互作蛋白或Rho互作蛋白3	非小細胞肺癌(NSCLC)，肺腺癌
TPR-TrkA (TRK-T1或TRK-T2) ³	經易位啟動子區域，核籃蛋白 (Nuclear Basket Protein)	乳突狀甲狀腺癌(PTC)，結腸直腸癌(CRC) ^A ，非小細胞肺癌(NSCLC)
RFWD2-TrkA ⁶	環指及WD重複結構域2	大細胞神經內分泌癌(LCNEC)；NSCLC
IRF2BP2-TrkA ⁷	干擾素調控因子2結合蛋白2	甲狀腺癌(Thyroid Cancer)；甲狀腺癌(Thyroid Gland Carcinoma)；
SQSTM1-TrkA ⁷	死骨片1	甲狀腺癌(例如，乳突狀甲狀腺癌)，甲狀腺癌，軟組織纖維肉瘤
SSBP2-TrkA ⁷	單鏈DNA結合蛋白2	甲狀腺癌(例如，乳突狀甲狀腺癌)；甲狀腺癌
RABGAP1L-TrkA ⁸	RAB GTP酶活化蛋白1-樣	肝內膽管癌(ICC)
C18ORF8-TrkA ⁹	染色體18開放閱讀框8	非小細胞肺癌(NSCLC)
RNF213-TrkA ⁹	環指蛋白213	非小細胞肺癌(NSCLC)
TBC1D22A-TrkA ⁹	TBC1結構域家族，成員22A	非小細胞肺癌(NSCLC)
C20ORF112-	染色體20開放閱讀框	非小細胞肺癌(NSCLC)

融合蛋白	非TrkA融合伴侶	非限制性例示性Trk相關性癌症及其同義詞
TrkA ⁹	112	
DNER-TrkA ⁹	含δ/Notch樣EGF重複	非小細胞肺癌(NSCLC)
ARHGEF2-TrkA ¹³	Rho鳥嘌呤核苷酸交換因子2	神經膠質胚細胞瘤
CHTOP-TrkA ¹³	PRMT1之染色質靶標	神經膠質胚細胞瘤
PPL-TrkA ¹³	旁血小板溶蛋白(Periplakin)	甲狀腺癌
PLEKHA6-TrkA	含普列克受質蛋白(Pleckstrin)同源性結構域之家族A成員6	
PEAR1-TrkA	血小板內皮聚集受體受體1	
MRPL24-TrkA	39S核糖體蛋白L24，線粒體	
MDM4-TrkA	小鼠雙微體4之人類同源物	
LRRC71-TrkA	含富白胺酸重複之71	
GRIPAP1-TrkA	GRIP1相關性蛋白1	
EPS15-TrkA	表皮生長因子受體受質15	
DYNC2H1-TrkA ^B	動力蛋白，細胞質2，重鏈1	肉瘤
CEL-TrkA	羧基酯脂肪酶	胰臟腺癌試樣 ^D
EPHB2-TrkA ^B	EPH受體B2	低分級之神經膠質瘤
TGF-TrkA ^C	轉變生長因子	乳突狀甲狀腺癌

^A Créancier等人，*Cancer Lett.* 365(1):107-111, 2015。

^B 美國專利申請公開案第2015/0315657號。

^C 美國專利申請公開案第2015/0283132號。

^D Egren等人， *Cancer Res.* 75(15增刊): 4793, 2015。

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括TrkA蛋白中之一或多個缺失、插入或點突變。在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括導致TrkA激酶結構域之組成性活性之TrkA蛋白之一或多個殘基之缺失。在一些實施例中，缺失包括TrkA同種型2中胺基酸303-377之缺失。

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括使得與野生型TrkA蛋白相比具有一或多個胺基酸取代之TrkA蛋白產生之於NTRK1基因中之至少一個點突變(例如參見列示於表6中之點突變)。

表6. 活化TrkA點突變

點突變	理論
R33W ¹	
A336E	近NGF結合位點
A337T	近NGF結合位點
R324Q或R324W	近NGF結合位點
V420M	靠近膜
R444Q或R444W	靠近膜
G517R或G517V	P環
K538A	活化
R649W或R649L	精胺酸可使自抑制之構型穩定。
R682S	活化環
V683G	活化環
R702C	經暴露，可形成面對面的二硫鍵連接之二聚體
C1879T ²	

¹ Zhang等人， *Blood* 124(21):1682, 2014. Mutation found in T-cell prolymphocytic leukemia。

² Park等人， *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112(40):12492-12497,



2015. Mutation found in colorectal cancer。

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括TrkA mRNA之剪接變異，該剪接變異產生為TrkA之缺失至少一個殘基之另一選擇經剪接之變體之經表現蛋白(如與野生型TrkA蛋白相比)從而引起TrkA激酶結構域之組成性活性。在一些實施例中，具有組成性活性之TrkA之另一替代性剪接形式具有導致相對於TrkA同種型2缺少殘基192-284及393-398之經表現蛋白之外顯子8、9及11之缺失，在TrkA中具有外顯子10之缺失，或在編碼在跨膜結構域中具有75胺基酸缺失之TrkA蛋白之NTRK1基因中具有缺失(Reuther等人，*Mol. Cell Biol.*20:8655-8666, 2000)。

經鑒定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之癌症(參見本文引用之參考文獻亦及 www.cancer.gov 及 www.nccn.org網站)包括：

(A) 如下癌症：其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括產生TrkA融合蛋白之一或多個染色體易位或倒位，例如包括：

癌症	照護標準
非小細胞肺癌 ²	放射療法(例如，放射性碘化物療法，外部束輻射或鐳223療法)，單一藥劑形式之化學治療劑(例如，馬來酸阿法替尼(afatinib dimaleate)、貝伐珠單抗(bevacizumab)、卡鉑(carboplatin)、西妥昔單抗(cetuximab)、順鉑(cisplatin)、克唑替尼(crizotinib)、埃羅替尼(erlotinib)、吉非替尼(gefitinib)、吉西他濱(gemcitabine)、胺甲喋呤(methotrexate)、紫杉醇(paclitaxel)或培美曲塞(pemetrexed)或組合(例如，卡鉑-紫杉醇、吉西他濱-紫杉醇或化學輻射)
乳突狀甲狀腺癌 ¹⁴	放射療法(例如，放射性碘化物療法或外部束輻射)及化學治療劑(例如，索拉非尼(sorafenib)、舒尼替尼(sunitinib)或帕唑帕尼

癌症	照護標準
	(pazopanib))
多形性神經膠質胚細胞瘤 ¹⁵	化學治療劑(例如，貝伐珠單抗、依維莫司(everolimus)、洛莫司汀(lomustine)或替莫唑胺(temozolomide))
結腸直腸癌 ¹⁶	單一藥劑形式之化學治療劑(例如，阿柏西普(aflibercept)、貝伐珠單抗、卡培他濱(capecitabine)、西妥昔單抗、氟尿嘧啶(fluorouracil)、伊立替康(irinotecan)、菊白葉酸(leucovorin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、帕尼單抗(panitumumab)或瑞格非尼(regorafenib)或組合(例如氟魯克斯(folfox)、氟魯氟裡(folfiri)、卡普克斯(capox)、氟魯氟裡-貝伐珠單抗、氟魯氟裡-西妥昔單抗或仙洛克斯(xelox))
黑色素瘤 ¹²	化學治療劑(例如，阿地白介素(aldesleukin)、達拉非尼(dabrafenib)、達卡巴嗪(dacarbazine)、干擾素 α -2b、伊匹單抗(ipilimumab)、聚乙二醇干擾素(peginterferon) α -2b、曲美替尼(trametinib)或維羅非尼(vemurafenib))

(B) 如下癌症：其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括在TrkA蛋白中之一或多個缺失、插入或突變，例如包括：

癌症	照護標準
急性骨髓樣白血病 ^{17, 18}	單一藥劑形式之化學治療劑(例如，三氧化二砷、環磷醯胺、阿糖胞苷(cytarabine)、道諾黴素(daunorubicin)、多柔比星(doxorubicin)或長春新鹼(vincristine))或組合(例如，ADE)
大細胞神經內分泌癌 ¹⁹	放射療法(例如，放射性碘化物療法、外部束輻射或鐳223療法)及/或化學治療劑(例如，順鉑、卡鉑或依託泊苷(etoposide))
神經胚細胞瘤 ²⁰	化學治療劑(例如，環磷醯胺、多柔比星或長春新鹼)

(C) 如下癌症：其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含

量之失調包括野生型TrkA之過表現(自分泌活化)，例如包括：

癌症	照護標準
前列腺癌 ^{21, 22}	放射療法(例如，鐳223療法)或化學治療劑(例如阿比特龍(abiraterone)、卡巴他賽(cabazitaxel)、地加瑞克(degarelix)、地諾單抗(denosumab)、多西他賽(docetaxel)、恩紮魯胺(enzalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)、潑尼松(prednisone)或思普留昔-T (sipuleucel-T)
神經胚細胞瘤 ²³	化學治療劑(例如，環磷醯胺、多柔比星或長春新鹼)
胰臟癌 ²⁴	單一藥劑形式之化學治療劑 (例如，埃羅替尼、氟尿嘧啶、吉西他濱或絲裂黴素C (mitomycin C))或組合(例如，吉西他濱-奧沙利鉑)
黑色素瘤 ²⁵	化學治療劑(例如，阿地白介素、達拉非尼、達卡巴嗪、干擾素 α -2b、伊匹單抗、聚乙二醇干擾素 α -2b、曲美替尼或維羅非尼)
頭頸鱗狀細胞癌 ²⁶	放射療法及/或化學治療劑(例如，博來黴素(bleomycin)、西妥昔單抗、順鉑、多西他賽、氟尿嘧啶或胺甲喋呤)
胃癌 ²⁷	化學治療劑(例如，多西他賽、多柔比星、氟尿嘧啶、絲裂黴素C或曲妥珠單抗(trastuzumab))

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括造成TrkB融合蛋白(例如表7中所顯示之TrkB融合蛋白中之一者)之表現之易位。

表7. 例示性TrkB融合蛋白及癌症

融合蛋白	非TrkB融合伴侶	非限制性例示性Trk相關性癌症及其同義詞
NACC2-TrkB ¹⁰	NACC 家族成員2，含 BEN及BTB (POZ)結構域	纖維細胞型星形細胞瘤
QKI-TrkB ¹⁰	QKI，含 KH 結構域，RNA結合	纖維細胞型星形細胞瘤

AFAP1-TrkB ⁷	肌動蛋白纖維相關蛋白1	低分級之神經膠質瘤
PAN3-TrkB ⁷	PAN3多聚(A)特異性核糖核酸酶亞單元	頭頸鱗狀細胞癌
SQSTM1-TrkB ⁷	死骨片1	低分級之神經膠質瘤
TRIM24-TrkB ⁷	含三聯基序24	肺腺癌
VCL-TrkB ¹¹	黏著斑蛋白	小兒神經膠質瘤
AGBL4-TrkB ¹¹	ATP/GTP結合蛋白-樣4	小兒神經膠質瘤
DAB2IP-TrkB	失效同源物2-互作蛋白	

在一些實施例中，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調包括造成TrkC融合蛋白(例如，表8中所顯示之TrkC融合蛋白中之一者)之表現之易位。

表8. 例示性TrkC融合蛋白及癌症

融合蛋白	非TrkB融合伴侶	非限制性例示性Trk相關性癌症及其同義詞
ETV6-TrkC ¹¹	ETS變體6	唾液腺癌，分泌型乳癌，急性骨髓樣白血病，纖維肉瘤，腎瘤，黑色素瘤，結腸直腸癌(CRC)，乳癌，小兒神經膠質瘤，甲狀腺癌(例如，乳突狀甲狀腺癌)，嬰兒型纖維肉瘤，軟組織血管瘤，胃腸基質腫瘤(GIST) (例如，c-kit- 陰 性 GIST) ， 乳 癌 (Mammary Carcinoma) (例如，乳房類似分泌型癌)
BTBD1-TrkC ¹¹	含BTB (POZ)結構域1	小兒神經膠質瘤

LYN-TrkC ⁷	V-Yes-1 山 口 肉 瘤 (Yamaguchi Sarcoma)病毒 相關性致癌基因同源物(亦 稱為Lck/Yes-相關新穎蛋 白酪胺酸激酶)	頭頸鱗狀細胞癌
RBPM5-TrkC ⁷	具有多種剪接之RNA結合 蛋白	甲狀腺癌(例如，乳突狀甲狀 腺癌)
EML4-TrkC ^B	棘皮動物微管-相關蛋白- 樣4	纖維肉瘤
HOMER2- TrkC	Homer蛋白同源物2	軟組織肉瘤
TFG-TrkC	TRK融合之基因	軟組織孤立性纖維腫瘤
FAT1-TrkC		頸部鱗狀細胞癌 ^C
TEL-TrkC		先天性纖維肉瘤，急性骨髓 性白血病

^B Tannenbaum 等 人， *Cold Spring Harb. Mol. Case Stud.* 1:a000471, 2015。

^C美國專利申請公開案第2015/0315657號。

在一些實施例中，本文提供治療經診斷具有Trk相關性癌症之患者之方法，其包含向該患者投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。例如，Trk相關性癌症可選自以下之群：非小細胞肺癌症、乳突狀甲狀腺癌、多形性神經膠質胚細胞瘤、急性骨髓樣白血病、結腸直腸癌、大細胞神經內分泌癌、前列腺癌症、神經胚細胞瘤、胰臟癌、黑色素瘤、頭頸鱗狀細胞癌、胃癌、施皮茨癌症、乳突狀甲狀腺癌、結腸癌、急性骨髓樣白血病、肉瘤、小兒神經膠質瘤、肝內膽管癌、纖維細胞型星形細胞瘤、低分級之神經膠質瘤、肺腺癌、唾液腺癌、分泌型乳癌、纖維肉瘤、腎瘤及乳癌。

在一些實施例中，Trk相關性癌症係選自以下之群：Trk相關性癌症之非限制性實例包括：施皮茨樣黑色素瘤、施皮茨腫瘤(例如，轉移性施皮茨腫瘤)、非小細胞肺癌(NSCLC)、甲狀腺癌(例如，乳突狀甲狀腺癌(PTC))、急性骨髓樣白血病(AML)、肉瘤(例如，未分化肉瘤或成年軟組織肉瘤)、小兒神經膠質瘤、結腸直腸癌(CRC)、多形性神經膠質胚細胞瘤(GBM)、大細胞神經內分泌癌(LCNEC)、甲狀腺癌、肝內膽管癌(ICC)、纖維細胞型星形細胞瘤、低分級之神經膠質瘤、頭頸鱗狀細胞癌、腺癌(例如，肺腺癌)、唾液腺癌、分泌型乳癌、乳癌、急性骨髓樣白血病、纖維肉瘤、腎瘤、黑色素瘤、支氣管癌(bronchogenic carcinoma)、B細胞癌、支氣管癌(Bronchus cancer)、口腔或咽之癌症、血液組織之癌症、頸部癌症、胃癌、腎癌、肝癌、多發性骨髓瘤、卵巢癌、胰臟癌、唾液腺癌、小腸或闌尾癌、睪丸癌、膀胱癌、子宮或子宮內膜癌、發炎性肌纖維母細胞瘤、胃腸基質瘤、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)、神經胚細胞瘤、小細胞肺癌、鱗狀細胞癌、食道-胃癌、皮膚癌、贅瘤(例如，黑色素細胞贅瘤)、施皮茨痣、星形細胞瘤、神經管胚細胞瘤、神經膠質瘤、大細胞神經內分泌腫瘤、骨癌及直腸癌。

在一些實施例中，本文所提供之化合物可用於治療小兒患者之Trk相關性癌症。例如，本文所提供之化合物可用於治療嬰兒型肉瘤、神經胚細胞瘤、先天性中胚層腎瘤、腦低分級神經膠質瘤及橋腦神經膠質瘤。

在一些實施例中，本文所提供之化合物可與一或多種藉由相同或不同的作用機制起作用之其他治療劑或療法組合用於治療Trk相關性癌症。

在一些實施例中，其他治療劑係選自以下之群：靶向受體酪氨酸激酶之治療劑，包括卡博替尼(cabozantinib)、克唑替尼、埃羅替

尼、吉非替尼、伊馬替尼(imatinib)、拉帕替尼(lapatinib)、尼羅替尼(nilotinib)、帕唑帕尼、帕妥珠單抗(pertuzumab)、瑞格非尼、舒尼替尼及曲妥珠單抗。

在一些實施例中，其他治療劑係選自信號轉導路徑抑制劑，包括(例如) Ras-Raf-MEK-ERK路徑抑制劑(例如，索拉非尼、曲美替尼或維羅非尼)、PI3K-Akt-mTOR-S6K路徑抑制劑(例如，依維莫司、雷帕黴素(rapamycin)、派立福辛(perifosine)或坦西莫司(temsirolimus))及細胞凋亡路徑之調節劑(例如，奧巴克拉(obataclax))。

在一些實施例中，其他治療劑係選自以下之群：細胞毒性化學治療劑，包括(例如)三氧化二砷、博來黴素、卡巴他賽、卡培他濱、卡鉑、順鉑、環磷醯胺、阿糖胞苷、達卡巴嗪、道諾黴素、多西他賽、多柔比星、依託泊苷、氟尿嘧啶、吉西他濱、伊立替康、洛莫司汀、胺甲喋呤、絲裂黴素C、奧沙利鉑、紫杉醇、培美曲塞、替莫唑胺及長春新鹼。

在一些實施例中，其他治療劑係選自以下之群：靶向血管生成之療法，包括(例如)阿柏西普及貝伐珠單抗。

在一些實施例中，其他治療劑係選自以下之群：靶向免疫之藥劑，例如包括阿地白介素、伊匹單抗、拉洛利單抗(lambrolizumab)、納武單抗(nivolumab)及思普留昔-T。

在一些實施例中，其他治療劑係選自有效抵抗下游Trk路徑之藥劑，包括(例如)靶向NGF之生物醫藥，例如NGF抗體及panTrk抑制劑。

在一些實施例中，其他治療劑或療法係放射療法，包括(例如)放射性碘化物療法、外部束輻射及鐳223療法。

在一些實施例中，其他治療劑包括上文所列示療法或治療劑中之任一者，該等療法或治療劑係其中癌症具有NTRK基因、Trk蛋白或

其表現或活性或含量之失調之癌症之照護標準。

檢測NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之方法包括(例如)使用(例如)螢光原位雜交(FISH)檢測NTRK基因易位(例如，如國際申請案第PCT/US2013/061211號、第PCT/US2013/057495號中所闡述，該等案件係以引用方式併入本文中)。

在一些實施例中，本文提供治療患者之癌症(例如，Trk相關性癌症)之方法，其包含與至少一種其他療法或治療劑組合向該患者投與結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。在一些實施例中，該至少一種其他療法或治療劑係選自放射療法(例如，放射性碘化物療法、外部束輻射、或鐳223療法)、細胞毒性化學治療劑(例如，三氧化二砷、博來黴素、卡巴他賽、卡培他濱、卡鉑、順鉑、環磷醯胺、阿糖胞苷、達卡巴嗪、道諾黴素、多西他賽、多柔比星、依託泊苷、氟尿嘧啶、吉西他濱、伊立替康、洛莫司汀、胺甲喋呤、絲裂黴素C、奧沙利鉑、紫杉醇、培美曲塞、替莫唑胺、或長春新鹼)、靶向酪胺酸激酶之治療劑(例如，阿法替尼、卡博替尼、西妥昔單抗、克唑替尼、達拉非尼、埃羅替尼、吉非替尼、伊馬替尼、拉帕替尼、尼羅替尼、帕唑帕尼、帕尼單抗、帕妥珠單抗、瑞格非尼、舒尼替尼,或曲妥珠單抗)、細胞凋亡調節劑及信號轉導抑制劑(例如依維莫司、派立福辛、雷帕黴素、索拉非尼、坦西莫司、曲美替尼、或維羅非尼)、靶向免疫之療法(例如，阿地白介素、干擾素 α -2b、伊匹單抗、拉洛利單抗、納武單抗、潑尼松或思普留昔-T)及靶向血管生成之療法(例如，阿柏西普或貝伐珠單抗)，其中本文所提供化合物或其醫藥上可接受之鹽之量與其他療法或治療劑組合可有效治療該癌症。

在一些實施例中，其他治療劑係不同的Trk抑制劑。其他Trk抑制劑之非限制性實例包括(R)-2-苯基吡咯啶取代之咪唑并噻嗪、

AZD6918、GNF-4256、GTx-186、GNF-5837、AZ623、AG-879、altiratinib、CT327、AR-772、AR-523、AR-786、AR-256、AR-618、AZ-23、AZD7451、卡博替尼、CEP-701、CEP-751、PHA-739358、多韋替尼(dovitinib)、厄洛替尼(entrectinib)、PLX7486、Gö 6976、GW441756、MGCD516、ONO-5390556、PHA-848125AC、瑞格非尼、索拉非尼、舒尼替尼、TSR-011、VM-902A、K252a、4-胺基吡啶基嘧啶及經取代之吡啶并[1,5-a]嘧啶化合物。

在一些實施例中，其他治療劑包括：靶向受體酪胺酸激酶之治療劑，例如阿法替尼、卡博替尼、西妥昔單抗、克唑替尼、達拉非尼、埃羅替尼、吉非替尼、伊馬替尼、拉帕替尼、來他替尼(lestaurtinib)、尼羅替尼、帕唑帕尼、帕尼單抗、帕妥珠單抗、舒尼替尼、曲妥珠單抗、AG 879、AZ-23、AZ623、Gö 6976、GNF-5837、GTx-186、GW 441756、MGCD516、RPI-1、RXDX101及TSR-011；靶向RET之治療劑，例如艾樂替尼(alectinib)、阿帕替尼(apatinib)、卡博替尼、多韋替尼、樂伐替尼(lenvatinib)、莫特替尼(motesanib)、尼達尼布(nintedanib)、帕納替尼(ponatinib)、瑞格非尼、舒尼替尼、索拉非尼、瓦他拉尼(vatalanib)、凡德他尼(vandetanib)、AUY-922、BLU6864、DCC-2157、MGCD516、NVP-AST487、PZ-1、RXDX105、SPP86、TG101209及XL-184；信號轉導路徑抑制劑，例如Ras-Raf-MEK-ERK路徑抑制劑(例如，濱美替尼(binimetinib)、司美替尼(selumetinib)、恩拉非尼(encorafenib)、索拉非尼、曲美替尼及維羅非尼)、PI3K-Akt-mTOR-S6K路徑抑制劑(例如依維莫司、雷帕黴素、派立福辛、坦西莫司)；其他激酶抑制劑，例如巴瑞替尼(baricitinib)、布咖替尼(brigatinib)、卡瑪替尼(capmatinib)、達魯舍替(danuserib)、依魯替尼(ibrutinib)、米昔裡布(milciclib)、槲皮素(quercetin)、瑞格非尼、魯索替尼(ruxolitinib)、司

馬沙尼 (semaxanib)、AP32788、BLU285、BLU554、INCB39110、INCB40093、INCB50465、INCB52793、INCB54828、MGCD265、NMS-088、NMS-1286937、PF 477736、PLX3397、PLX7486、PLX8394、PLX9486、PRN1008、PRN1371、RXDX103、RXDX106、RXDX108及TG101209；檢查點抑制劑，例如伊匹單抗、曲美木單抗 (tremelimumab)、納武單抗、匹地珠單抗 (pidilizumab)、MPDL3208A、MEDI4736、MSB0010718C、BMS-936559、BMS-956559、BMS-935559 (MDX-1105)、AMP-224及培羅珠單抗 (pembrolizumab)；細胞凋亡路徑之調節劑(例如奧巴克拉)；細胞毒性化學治療劑，例如三氧化二砷、博來黴素、卡巴他賽、卡培他濱、卡鉑、順鉑、環磷醯胺、阿糖胞苷、達卡巴嗪、道諾黴素、多西他賽、多柔比星、依託泊苷、氟尿嘧啶、吉西他濱、伊立替康、洛莫司汀、胺甲喋呤、絲裂黴素C、奧沙利鉑、紫杉醇、培美曲塞、替莫唑胺及長春新鹼；靶向血管生成之療法，例如阿柏西普及貝伐珠單抗；靶向免疫之藥劑，例如阿地白介素、干擾素 α -2b、伊匹單抗、拉洛利單抗、納武單抗、潑尼松、思普留昔-T；放射療法，例如放射性碘化物療法、外部束輻射及鐳223療法。

再其他治療劑包括RET抑制劑，例如彼等闡述於以下各項中者：例如美國專利第8,299,057號、第8,399,442號、第8,937,071號、第9,006,256號及第9,035,063號；美國公開案第2014/0121239號、第2011/0053934號、第2011/0301157號、第2010/0324065號、第2009/0227556號、第2009/0130229號、第2009/0099167號、第2005/0209195；國際公開案第WO 2014/184069號、第WO 2014/072220號、第WO 2012/053606號、第WO 2009/017838號、第WO 2008/031551號、第WO 2007/136103號、第WO 2007/087245號、第WO 2007/057399號、第WO 2005/051366號及第WO 2005/044835

號；及 *J. Med.Chem.* 2012, 55 (10), 4872-4876。

該等其他治療劑可與本文所提供之一或多種化合物一起作為相同或單獨劑型之一部分經由相同或不同的投與途徑且基於相同或不同的投與時間表根據熟習此項技術者已知之標準醫藥實踐來投與。

本文亦提供(i)用於治療有需要之患者之癌症(例如，Trk相關性癌症)之醫藥組合，其包含(a) 結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)、(b) 另一治療劑及(c)視情況至少一種同時、單獨或依序用於治療腫瘤疾病之醫藥上可接受之載劑，其中化合物或其鹽及其他治療劑之量一起可有效治療該癌症；(ii) 包含此一組合之醫藥組合物；(iii)此一組合用於製備用以治療癌症(例如，Trk相關性癌症)之醫藥之用途；及(iv) 包含此一組合作為以同時、單獨或依序使用之組合製劑之商業包裝或產品；及治療有需要之患者之癌症(例如，Trk相關性癌症)之方法。

本文亦提供治療經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症(例如，本文所闡述或業內已知之Trk相關性癌症中之任一者)之個體之方法(例如，已藉助使用監管機構批准(例如FDA批准)之用於鑒定個體或來自個體之生檢試樣中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之套組經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體)，其包括投與給個體治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。本文亦提供結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)的用途，其用於治療經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體(例如，已藉助使用監管機構批准(例如，FDA批准)之用於鑒定個體或來自個體之生檢試樣中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之套組經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體)之Trk相關性癌症(例如，本文所闡述或業內已知之Trk相關性癌症中之任一者)。

本文亦提供結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之用途，其用於製造用以治療經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體(例如，已藉助使用監管機構批准(例如，FDA批准)之用於鑒定個體或來自個體之生檢試樣中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之套組經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體)之Trk相關性癌症(例如，本文所闡述或業內已知之Trk相關性癌症中之任一者)之醫藥。

本文亦提供治療個體(例如，懷疑具有Trk相關性癌症之個體、呈現具有Trk相關性癌症之一或多個症狀之個體，或發展Trk相關性癌症之風險有所升高之個體)之方法，其包括對自個體獲得之試樣實施分析(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調，及向經確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體投與(例如，特定地或選擇性投與)治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。本文闡述可用於該等方法中之其他分析、非限制性分析。業內亦已知其他分析。本文亦提供結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之用途，其用於治療經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體之Trk相關性癌症，其係藉助對自個體獲得之試樣實施分析(例如，活體外分析)(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之步驟達成，其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之存在鑒定該個體具有Trk相關性癌症。本文亦提供結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例

如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之用途，其用於製造用以治療經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體之Trk相關性癌症之醫藥，其係藉助對自個體獲得之試樣實施分析(例如，活體外分析)(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之步驟來達成，其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之存在鑒定該個體具有Trk相關性癌症。本文所闡述之方法或用途中任一者之一些實施例進一步包括在個體之臨床記錄(例如，電腦可讀媒體)中記錄以下情況：藉助實施分析經確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體應投與結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。

在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，個體已經鑒定或診斷具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之癌症(例如，如使用監管機構批准(例如，FDA批准)之分析或套組確定)。在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，個體具有對於NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調為陽性之腫瘤(例如，如使用監管機構批准之分析或套組確定)。在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，個體可為具有對於NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調為陽性之腫瘤之個體(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之分析或套組經鑒定為陽性)。在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，個體可為腫瘤具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體(例如，其中腫瘤同樣使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組或分析經鑒定)。在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，懷疑個體具有Trk相關性

癌症。在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，個體之臨床記錄指示該個體具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之腫瘤(且視情況該臨床記錄指示該個體應利用本文所提供之任一組合物進行治療)。

本文亦提供治療個體之方法，其包括向臨床記錄指示該個體具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。本文亦提供結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之用途，其用於製造用以治療臨床記錄指示該個體具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體之Trk相關性癌症之醫藥。本文亦提供結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之用途，其用於製造用以治療臨床記錄指示該個體具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體之Trk相關性癌症之醫藥。該等方法及用途之一些實施例可進一步包括：對自個體獲得之試樣實施分析(例如，活體外分析)(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之步驟，及在個體之臨床檔案(例如，電腦可讀介質)中記錄該個體已經鑒定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之資訊。

本文亦提供針對個體選擇治療之方法(例如，活體外方法)，其包括針對經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症(例如，本文所闡述或業內已知之Trk相關性癌症中之任一者)之個體(例如，已藉助使用監管機構批准(例如，FDA批准)之用於鑒定個體或來自個體之生檢試樣中

NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之套組鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體)選擇包括投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之治療。一些實施例可進一步包括向經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體投與經選擇治療。一些實施例可進一步包括對自個體獲得之試樣實施分析(例如，活體外分析)(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之步驟，及鑒定或診斷經確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體具有Trk相關性癌症。

本文亦提供針對個體選擇治療之方法，其包括投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)，該其中該等方法包括對自個體獲得之試樣實施分析(例如，活體外分析)(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之步驟，及鑒定或診斷經確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體具有Trk相關性癌症，及針對經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體選擇包括投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之治療性治療。一些實施例進一步包括向經鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體投與經選擇治療。

本文亦提供選擇個體以進行包括投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263

號之實例14A)之治療之方法，該方法包括選擇、鑒定或診斷具有Trk相關性癌症之個體，及選擇個體以進行包括投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)之治療。在一些實施例中，鑒定或診斷個體具有Trk相關性癌症可包括對自個體獲得之試樣實施分析(例如，活體外分析)(例如，利用次世代定序、免疫組織化學或分離FISH分析之分析)(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組)以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之步驟，及鑒定或診斷經確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體具有Trk相關性癌症。在一些實施例中，選擇治療可用作包括投與Alk相關性癌症之各種治療之臨床研究之一部分。

在本文所闡述之任一方法或用途之一些實施例中，所使用之利用來自個體(例如，懷疑具有Trk相關性癌症之個體、具有Trk相關性癌症之一或多個症狀之個體及/或發展Trk相關性癌症之風險有所增加之個體)之試樣(例如，生物試樣或生檢試樣(例如，石蠟包埋之生檢試樣)確定個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之分析可包括(例如)次世代定序、免疫組織化學、螢光顯微鏡術、分離FISH分析、南方墨點、西方墨點、FACS分析、北方墨點及基於PCR之擴增(例如，RT-PCR)。如業內熟知，該等分析通常係利用(例如)至少一種經標記核酸探針或至少一種經標記抗體或其抗原結合片段來實施。分析可利用業內已知用於檢測NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之其他檢測方法(例如參見本文中所引用之參考文獻)。

在一些實施例中，結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)可用於治療慢性及急性疼痛，包括與癌症、手術及骨折相關之疼痛。結晶型(I-HS)或式I

化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)可用於治療多種類型之疼痛, 包括發炎性疼痛、神經病性疼痛及與癌症、手術及骨折相關之疼痛。結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)亦可用於治療癌症, 包括神經胚細胞瘤、卵巢癌、胰臟癌及結腸直腸癌。結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)亦可用於治療發炎及某些傳染性疾病。另外, 結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)亦可用於治療間質性膀胱炎(IC)、膀胱疼痛症候群(PBS)、尿失禁、氣喘、厭食症、異位性皮膚炎及牛皮癬。結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)亦可用於藉由經由阻斷Sp35-TrkA相互作用而促進髓鞘形成、神經元存活及寡樹突細胞分化來治療脫髓鞘及髓鞘形成障礙。結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)可用於治療多種類型之疼痛, 包括發炎性疼痛、神經病性疼痛、手術疼痛及與癌症相關之疼痛。結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如, 參見美國專利第8,513,263號之實例14A)可用於治療骨相關性疾病(例如彼等涉及骨吸收者)。骨相關性疾病之實例包括轉移性骨病、治療誘導之骨損失、骨質疏鬆症、類風濕性關節炎、關節黏連性脊椎炎、佩吉特氏病(Paget's disease)及牙周病。骨質疏鬆症可歸因於(1)女性之停經、(2)男性或女性之老化、(3)兒童及青春期間造成無法達到峰值骨質量之次最佳骨生長及/或(4)繼發於其他疾病病況、飲食病症、藥物及/或醫學治療之骨損失。可根據本文提供之方法治療之其他溶骨性疾病更有侷限性。具體實例係轉移性腫瘤誘導之骨質溶解。在此病況中, 骨癌或骨轉移誘導局部骨質溶解, 從而造成疼痛、

骨脆弱及骨折。該局部骨質溶解亦因在骨中產生於該等腫瘤而言更多之空間及自骨基質釋放生長因子而允許腫瘤生長增大。目前已知造成腫瘤誘導之骨質溶解之癌症包括血液惡性腫瘤(例如，骨髓瘤及淋巴瘤)及實體腫瘤(例如，乳房、前列腺、肺、腎及甲狀腺)，本發明涵蓋所有該等腫瘤之治療。如本文所使用，術語治療包括預防以及現有病況之治療。

因此，本文亦提供治療有需要之個體之疾病或醫學病況之方法，其中該疾病或病況可利用TrkA及/或TrkB之抑制劑來治療(例如，Trk相關性癌症)，其包含向該個體投與有效治療或預防該病症之量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。在具體實施例中，本文提供治療哺乳動物之疼痛、癌症、發炎、神經變性疾病或克氏錐蟲感染之方法，其包含向該哺乳動物投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。在另一實施例中，本文提供治療哺乳動物之溶骨性疾病之方法，其包含向該有需要之個體投與治療有效量之結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)。

結晶型(I-HS)或式I化合物或其鹽(例如硫酸氫鹽)(例如，參見美國專利第8,513,263號之實例14A)可與一或多種藉由相同或不同的作用機制起作用之其他藥物組合使用。此聯合治療可藉助同時、依序或分開投與治療之個別組份來達成。實例包括消炎化合物、類固醇(例如，地塞米松(dexamethasone)、可的松(cortisone)及氟替卡松(fluticasone))、鎮痛劑(例如NSAID(例如，阿司匹林(aspirin))、布洛芬(ibuprofen)、吲哚美辛(indomethacin)及酮洛芬(ketoprofen))及類鴉片(例如嗎啡)及化學治療劑。

在醫學腫瘤學之領域中，通常實踐使用不同形式治療之組合來

治療每一患有癌症之患者。在醫學腫瘤學中，該聯合治療除本文所提供組合物以外之其他組份可為(例如)手術、放射療法、化學療法、信號轉導抑制劑及/或單株抗體。

因此，結晶型(I-HS)可與一或多種選自以下各項之藥劑組合投與：有絲分裂抑制劑、烷基化劑、抗代謝物、反義DNA或RNA、嵌入抗生素、生長因子抑制劑、信號轉導抑制劑、細胞循環抑制劑、酶抑制劑、類視色素受體調節劑、蛋白酶體抑制劑、拓撲異構酶抑制劑、生物反應調節劑、抗激素、血管生成抑制劑、細胞生長抑制劑抗雄性素、目標抗體、HMG-CoA還原酶抑制劑及異戊二烯基-蛋白質轉移酶抑制劑。

倘若本文所揭示之化合物具有至少一個對掌性中心，則因此該等化合物可作為鏡像異構物存在。倘若化合物具有兩個對掌性中心，則該等化合物可另外作為非鏡像異構物存在。亦即，式I化合物除具有藉由命名法命名之期望組態「(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽」(在下文中稱作(S,R)異構物)以外，其亦可以極少量作為異構物(R)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽(在下文中稱作(R,R)異構物)存在及/或亦可以極少量作為(S)-N-(5-((S)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽(在下文中稱作(S,S)異構物)存在，及/或可以極少量作為異構物(R)-N-(5-((S)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽(在下文中稱作(R,S)異構物)存在。應瞭解所有該等異構物及其混合物皆涵蓋在本發明之範圍內。較佳地，其中該化合物係作為(S,R)異構物存在，(S,R)異構物係以大於或等於約80%之過量、更佳地以大於或等於約90%之過量、再更佳地以大於或等於約95%之過

量、再更佳地以大於或等於約98%之過量、更佳地以大於或等於約99%之過量存在。

應瞭解結晶型(I-HS)含有兩個不對稱中心且因此可以異構物之混合物(例如外消旋或非鏡像異構物混合物)或以鏡像異構物純的形式來製備及分離。倘若立體化學係藉由代表具體組態之實心楔形線或虛線指定，則立體異構物係如此指定及定義的。

如本文所使用，除非另有闡述，否則術語「經分離形式」應意指以自具有另一化合物之任一固體混合物、溶劑系統或生物環境分離之形式存在之化合物。在一些實施例中，結晶型(I-HS)係以經分離形式存在。

如本文所使用，除非另有闡述，否則術語「實質上純的形式」應意味著經分離化合物或結晶型中雜質之莫耳%小於約5莫耳%，較佳地小於約2莫耳%，更佳地小於約0.5莫耳%，最佳地小於約0.1莫耳%。在一些實施例中，結晶型(I-HS)係以實質上純的形式存在。

如本文所使用，除非另有闡述，否則術語「實質上不含其他非晶型、多晶型或結晶型」在用於闡述結晶型(I-HS)時應意味著結晶型(I-HS)之經分離鹼之其他非晶型、多晶型或結晶型之莫耳%小於約5莫耳%，較佳地小於約2莫耳%，更佳地小於約0.5莫耳%，最佳地小於約0.1莫耳%。在一些實施例中，結晶型(I-HS)係以實質上不含其他非晶型、多晶型或結晶型之形式存在。

術語「多晶型(polymorph及polymorphic form)」係指單一化合物之不同結晶型。亦即，多晶型係具有相同分子式之不同固體，但每一多晶型可具有不同的固體狀態物理性質。因此，單一化合物可產生各種多晶型，其中每一形式具有不同及不同的固體狀態物理性質，例如不同的溶解度性質、溶解率、熔點溫度、流動性及/或不同的X射線繞射峰。物理性質之差異可影響醫藥參數，例如儲存穩定性、可壓縮性

及密度(在調配及產物製造中可係重要的)及溶解率(其可為生物可用度中之重要因素)。表徵多晶型之技術包括(但不限於) X射線粉末繞射(XRPD)、差示掃描量熱法(DSC)、熱重分析(TGA)、單一晶體X射線繞射(XRD)、振動光譜(例如, 紅外(IR)光譜及拉曼光譜(Raman spectroscopy)、固體狀態及溶液核磁共振(NMR)光譜)、光學顯微鏡術、熱臺式光學顯微鏡術、掃描電子顯微鏡術(SEM)、電子結晶學及定量分析、粒徑分析(PSA)、表面積分析、溶解度量測、溶解量測、元素分析及卡爾費雪分析(Karl Fischer analysis)。

術語「非晶形」意指為非結晶狀態之呈固體狀態之固體。非晶形固體係無序的分子排列且因此無可區別之晶格或晶胞且因此無可定義之長程有序。固體之固體狀態形式可藉由偏振光顯微術、X射線粉末繞射(「XRPD」)、差示掃描量熱法(「DSC」)或業內已知之其他標準技術來確定。

如本文所使用, 除非另有闡述, 否則術語「治療(treating、treatment)」及諸如此類應包括出於對抗疾病、病況或病症之目的對個體或患者(較佳地哺乳動物, 更佳地人類)之管理及照護且包括所揭示化合物之投與以減輕症狀或併發症或降低疾病、病況或病症進展之速率。

如本文所使用, 除非另有闡述, 否則術語「預防」應包括(a)降低一或多個症狀之頻率; (b)降低一或多個症狀之嚴重性; (c)延遲或避免其他症狀之發展; 及/或(d)延遲或避免病症或病況之發展。

如本文所使用, 術語「Trk相關性癌症」應經定義包括與NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調(例如, 本文所闡述之NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調類型中之任一者)相關或具有該失調之癌症。本文闡述Trk相關性癌症之非限制性實例。

如本文所使用，術語「疼痛」應經定義包括極性、慢性、發炎性及神經病性疼痛，包括糖尿病性神經病變。另外，疼痛可經中樞介導、外周介導、由結構組織損傷造成、由軟組織損傷造成或由進展性疾病造成。任一中樞介導、外周介導、結構組織損傷、軟組織損傷或進展性疾病相關性疼痛均可為急性的或慢性的。

如本文所使用，除非另有闡述，否則疼痛應包括發炎性疼痛、中樞介導之疼痛、外周介導之疼痛、內臟疼痛、結構相關性疼痛、癌症疼痛、軟組織損傷相關性疼痛、進展性疾病相關性疼痛、神經病性疼痛、來自急性損傷之急性疼痛、來自創傷之急性疼痛、來自手術之急性疼痛、頭痛、牙齒疼痛、背部疼痛(較佳地下背部疼痛)、來自神經病性病況之慢性疼痛及來自中風後病況之慢性疼痛。

一些實施例包括治療疼痛之方法，其中疼痛為急性疼痛。一些實施例包括治療疼痛之方法，其中疼痛為慢性疼痛。一些實施例包括治療疼痛之方法，其中疼痛為神經病性疼痛，包括糖尿病性神經病變。一些實施例包括治療疼痛之方法，其中疼痛為發炎性疼痛。

在一些實施例中，疼痛係選自由以下各項組成之群：骨關節炎、類風濕性關節炎、纖維肌痛、頭痛、牙痛、燒傷、曬傷、動物咬傷(例如狗咬傷、貓咬傷、蛇咬傷、蜘蛛咬傷、昆蟲刺傷及諸如此類)、神經性膀胱障礙、良性前列腺肥大、間質性膀胱炎、鼻炎、接觸皮膚炎/過敏、癬、濕疹、咽炎、黏膜炎、腸炎、浮肉、灼痛、坐骨神經炎、下頷關節神經痛、外周神經炎、多發性神經炎、殘肢疼痛、幻肢疼痛、術後腸阻塞、膽囊炎、乳房切除術後疼痛症候群、口腔神經病性疼痛、夏科氏疼痛(Charcot's pain)、反射交感性營養不良、格林巴利症候群(Guillain-Barre syndrome)、感覺異常性股痛、口腔灼痛症候群、疱疹後神經痛(post-herpetic neuralgia)、三叉神經痛、外周神經病變、雙側外周神經病變、糖尿病性神經病變、疱疹後

神經痛(postherpetic neuralgia)、三叉神經痛、視神經炎、發熱後神經炎、遊走性神經炎、節段性神經炎、汞博特氏神經炎(Gombault's neuritis)、神經元炎、頸臂神經痛、腦神經痛、膝神經節神經痛、舌咽神經痛、偏頭痛性神經痛、特發性神經痛、肋間神經痛、乳房神經痛、莫爾通氏神經痛(Morton's neuralgia)、鼻睫神經痛、枕部神經痛、紅斑性神經痛、斯路德神經痛(Sluder's neuralgia)、蝶齶節神經痛、眶上神經痛、翼管神經痛、發炎性腸病、腸易激症候群、分娩、生產、經期痙攣、癌症、背部疼痛、下背部疼痛及腕隧道症候群疼痛。

急性疼痛包括因急性損傷、創傷、患病或手術(例如，開胸手術(包括心臟直視手術或繞道手術))造成之疼痛。急性疼痛亦包括(且不限於)頭痛、術後疼痛、腎結石疼痛、膽囊疼痛、膽石疼痛、分娩疼痛、風濕病性疼痛、牙齒疼痛或由運動醫學損傷造成之疼痛、腕隧道症候群、燒傷、肌骨骼扭傷及應變、肌腱應變、頸臂疼痛症候群、消化不良、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、痛經或子宮內膜異位症。

慢性疼痛包括由發炎性病況、骨關節炎、類風濕性關節炎或疾病、急性損傷或創傷之後遺症造成之疼痛。慢性疼痛亦包括(且不限於)頭痛、上背部疼痛或下背部疼痛(選自由全身性、區域性或原發性脊椎疾病(選自神經根病變)引起之背部疼痛)、骨疼痛(選自由骨關節炎、骨質疏鬆症、骨轉移或未知原因引起之骨疼痛)、骨盤疼痛、脊髓損傷相關性疼痛、心源性胸痛、非心源性胸痛、中樞性中風後疼痛、肌筋膜疼痛、癌症疼痛、AIDS疼痛、鎌狀細胞疼痛、老年性疼痛或由頭痛、偏頭痛、三叉神經痛、顳骨下頷關節症候群、纖維肌痛症候群、骨關節炎、類風濕性關節炎、痛風、纖維組織炎或胸腔出口症候群造成之疼痛。

神經病性疼痛包括由慢性或衰竭性病況或病症引起之疼痛。可

導致神經病性疼痛之慢性或衰竭性病況或病症包括(但不限於)疼痛糖尿病性外周神經病變、疱疹後神經痛、三叉神經痛、中風後疼痛、多發性硬化症相關性疼痛、神經病變相關性疼痛(例如在特發性或創傷後神經病變及單神經炎中)、HIV相關性神經病性疼痛、癌症相關性神經病性疼痛、腕隧道相關性神經病性疼痛、脊髓損傷相關性疼痛、複雜區域性疼痛症候群、纖維肌痛相關性神經病性疼痛、腰部及頸部疼痛、反射交感性營養不良、幻肢症候群及其他慢性及衰竭性病況相關性疼痛症候群。

「急性神經變性病或疾病」包括(但不限於)與神經元死亡或損害相關之各種類型之急性神經變性病或疾病，包括腦血管功能不全、局灶性腦創傷、瀰漫性腦損害及脊髓損傷，亦即，腦局部缺血或梗塞(包括栓塞性阻塞及血栓形成性阻塞)、急性局部缺血後再灌注、圍產期缺氧性局部缺血損傷、心跳停止、以及任一類型之顱內出血(包括(但不限於)硬膜外、硬膜下、蛛網膜下及腦內)、及顱內及脊柱內病灶(包括(但不限於)挫傷、穿透、剪切、壓迫及撕裂)及鞭梢搖動嬰兒症候群。在一些實施例中，急性神經變性病或疾病係中風、急性局部缺血損傷、頭部損傷或脊髓損傷之結果。

「慢性神經變性病或疾病」包括(但不限於)阿茲海默氏病、皮克氏病(Pick's disease)、瀰漫性路易體病(diffuse Lewy body disease)、進行性核上性麻痺(斯蒂爾-理查森症候群(Steel-Richardson syndrome))、多系統變性(夏伊-德雷格爾症候群(Shy-Drager syndrome))、與神經變性相關之慢性癲癇病況、運動神經元疾病(包括肌肉萎縮性脊髓側索硬化症)、變性失調症、皮層基底變性、關島ALS-帕金森氏-癡呆複合症(ALS-Parkinson's-Dementia complex of Guam)、亞急性硬化性全腦炎、亨廷頓氏病(Huntington's disease)、帕金森氏病、突觸核蛋白病(包括多系統萎縮)、原發性進行性失語症、紋狀體黑質變性、馬查多-約瑟夫病(Machado-Joseph disease) /3型脊

髓小腦性失調症及橄欖體橋腦小腦變性、抽動穢語疾病(Gilles De La Tourette's disease)、延髓及假延髓性麻痺、脊髓及脊髓延髓性肌肉萎縮(肯尼迪氏病(Kennedy's disease))、多發性硬化症、原發性側索硬化症、家族性痙攣性截癱、沃-霍二氏病(Werdnig-Hoffmann disease)、庫-韋二氏病(Kugelberg-Welander disease)、泰-塞二氏病(Tay-Sach's disease)、桑德霍夫病(Sandhoff disease)、家族性痙攣性疾病、沃-庫-韋三氏病(Wohlfart-Kugelberg-Welander disease)、痙攣性後軀輕癱、進行性多灶性腦白質病、家族性自主神經障礙(賴利-戴症候群(Riley-Day syndrome))及普裡昂疾病(prion disease) (包括(但不限於)克-雅二氏病(Creutzfeldt-Jakob)、格-施-謝三氏病(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease)、庫魯病(Kuru)及致死性家族性失眠症))。在一些實施例中，慢性神經變性病係選自阿茲海默氏病、帕金森氏病、多發性硬化症或腦麻痺。

如本文所使用，術語「個體」係指動物，較佳地哺乳動物，最佳地人類，其為治療、觀察或實驗之目標。在一些實施例中，個體已經歷及/或展現欲治療及/或預防之疾病或病症之至少一個症狀。在一些實施例中，患者係小兒患者(即在診斷或治療時年齡在21歲以下之患者)。術語「小兒」可進一步分成各種亞群，包括：新生兒(自出生至生命的前28天)；嬰兒(29天齡至小於2歲)；兒童(2歲至小於12歲)；及青少年(12歲至21歲(最大至(但不包括) 22歲生日))。

在一些實施例中，個體已經鑒定或診斷患有具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之癌症(例如，如使用監管機構批准(例如，FDA批准)之分析或套組所確定)。在一些實施例中，個體具有對於NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調為陽性之腫瘤(例如，如使用監管機構批准之分析或套組所確定)。個體可為具有對於NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調為陽性之腫

瘤之個體(例如，使用監管機構批准(例如，FDA批准)之分析或套組經鑒定為陽性)。個體可為其腫瘤具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體(例如，其中腫瘤同樣係使用監管機構批准(例如，FDA批准)之套組或分析進行鑒定)。在一些實施例中，懷疑個體具有Trk相關性癌症。在一些實施例中，個體具有指示個體患有具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之腫瘤之臨床記錄(且視情況該臨床記錄指示個體應利用本文所提供之任一組合物進行治療)。

術語「Trk」或「Trk蛋白」包括本文所闡述Trk蛋白中之任一者(例如，TrkA、TrkB或TrkC蛋白)。

術語「NTRK基因」包括本文所闡述NTRK基因中之任一者(例如，NTRK1、NTRK2或NTRK3基因)。

術語「野生型(wildtype或wild-type)」闡述核酸(例如，NTRK基因或Trk mRNA)或蛋白質(例如，Trk蛋白)，其見於不具有Trk相關性癌症(且視情況亦不具有發展Trk相關性癌症或病況之增加之風險及/或未懷疑具有Trk相關性癌症或病況)之個體中或見於來自不具有Trk相關性癌症或病況(且視情況亦不具有發展Trk相關性癌症或病況之增加之風險及/或未懷疑具有Trk相關性癌症或病況)之個體之細胞或組織中。

術語「監管機構」係國家批准醫藥藥劑之醫學使用之國家機構。例如，監管機構之非限制性實例係美國食品藥物監督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)。

片語「NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調」係遺傳突變(例如，造成融合蛋白表現之NTRK基因易位、造成Trk蛋白表現之NTRK基因缺失(其包括與野生型Trk蛋白相比缺失至少一個胺基酸)，或造成具有一或多個點突變之Trk蛋白之表現之NTRK基因突

變、產生造成與野生型Trk蛋白相比在Trk蛋白中缺失至少一個胺基酸之Trk蛋白之Trk mRNA之替代剪接版本)，或造成Trk蛋白過表現之NTRK基因複製)或由細胞中NTRK基因之過表現引起之自分泌活性，其引起細胞中Trk蛋白之激酶結構域之活性(例如，Trk蛋白之組成性活性激酶結構域)之病原性增加。例如，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調可為NTRK1、NTRK2或NTRK3基因之突變，該突變編碼具有組成性活性或與由不包括突變之NTRK1、NTRK2或NTRK3基因編碼之蛋白質相比具有增加之活性之Trk蛋白。例如，NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調可為造成融合蛋白表現之基因易位之結果，該融合蛋白含有TrkA、TrkB或TrkC之第一部分(其包括功能激酶結構域)及伴侶蛋白之第二部分(即，其不為TrkA、TrkB或TrkC)。編碼融合蛋白之基因可包括(例如)，野生型NTRK1基因之以下外顯子：外顯子10-19、外顯子12-19、外顯子12-19、外顯子13-19、外顯子14-19或外顯子15-19。編碼融合蛋白之基因可包括(例如)野生型NTRK2基因之以下外顯子：外顯子12-21、外顯子13-21、外顯子15-21、外顯子16-21、或外顯子17-21。編碼融合蛋白之基因可包括(例如)野生型NTRK3基因之以下外顯子：外顯子17-22或外顯子16-22。為NTRK基因易位之結果之融合蛋白之非限制性實例闡述於表1、3及4中。

NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調可包括(例如)NTRK1、NTRK2或NTRK3基因之突變，該(等)突變產生含有至少一個(例如，2個、3個、4個或5個)點突變(例如，表6中所列示點突變之一或多者)之TrkA、TrkB或TrkC。NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調可包括(例如)NTRK2基因之突變，該突變產生包括V673M之點突變之TrkB蛋白。NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調可包括(例如)NTRK3基因之突變，該突變產生包括

H677Y之點突變之TrkC蛋白。

NTRK 基因、Trk 蛋白或其表現或活性或含量之失調可為 NTRK1、NTRK2 或 NTRK3 基因之突變，該突變造成 TrkA、TrkB 或 TrkC 蛋白中一或多個鄰近胺基酸(例如，至少2個、至少3個、至少4個、至少5個、至少6個、至少7個、至少8個、至少9個、至少10個、至少15個、至少20個、至少30個、至少40個、至少50個、至少60個、至少70個、至少80個、至少90個、至少100個、至少110個、至少120個、至少130個、至少140個、至少150個、至少160個、至少170個、至少180個、至少190個、至少200個、至少210個、至少220個、至少230個、至少240個、至少250個、至少260個、至少270個、至少280個、至少290個、至少300個、至少310個、至少320個、至少330個、至少340個、至少350個、至少360個、至少370個、至少380個、至少390個或至少400個胺基酸)之缺失(TrkA、TrkB或TrkC之激酶結構域中可造成激酶結構域之去活化之胺基酸缺失除外)。在一些實施例中，NTRK 基因、Trk 蛋白或其表現或活性或含量之失調可包括 NTRK1 基因之缺失，該缺失產生缺乏 NGF 結合位點或外顯子 10(其包括 NGF 結合位點)之 TrkA 蛋白，缺乏外顯子 10 與急性骨髓樣白血病相關。

在一些實例中，NTRK 基因、Trk 蛋白或其表現或活性或含量之失調可包括 Trk mRNA 之替代經剪接形式，例如，TrkAIII 經剪接變體或 TrkA mRNA 之替代經剪接形式，其使得產生缺乏由外顯子 10 編碼之胺基酸之 TrkA 蛋白。在一些實例中，NTRK 基因、Trk 蛋白或其表現或活性或含量之失調包括 NTRK 基因(例如，NTRK 基因之 1 個、2 個、3 個或 4 個其他拷貝)之擴增，該等擴增可造成(例如)細胞中 NTRK 基因之自分泌表現。

術語「Trk 相關性癌症或腫瘤」係與 NTRK 基因、Trk 蛋白或其表現或活性或含量之失調相關之癌症(例如，與本文所闡述之 NTRK 基

因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之至少一個實例(例如，2個、3個、4個或5個實例)相關之癌症)。

如本文所使用，術語「哺乳動物」係指具有本文所闡述疾病或具有發展該疾病之風險之溫血動物且包括(但不限於)天竺鼠、狗、貓、大鼠、小鼠、倉鼠及靈長類動物(包括人類)。

如本文所使用，術語「治療有效量」意指活性化合物或醫藥劑在組織、系統、動物或人類中誘發研究者、獸醫、醫師或其他臨床醫師所尋求之生物或醫學反應的量，該生物或醫學反應包含所治療疾病或病症之症狀之減輕。具體而言，治療有效量在投與需要該治療之個體時足以(i)治療或預防可利用TrkA及/或TrkB之抑制劑治療之具體疾病、病況或病症，(ii)減弱、改善或消除該具體疾病、病況或病症之一或多個症狀，或(iii)預防或延遲本文所闡述之具體疾病、病況或病症之一或多個症狀之起始。結晶型(I-HS)之將對應於此一治療有效量之量將端視諸如疾病病況及其嚴重程度、需要治療之哺乳動物之同一性(例如，重量)等因素而變化，但仍可由熟習此項技術者常規地確定。

如本文所使用，術語「組合物」意欲涵蓋包含指定量之指定成份之產品以及自指定量之指定成份之組合直接或間接產生之任一產品。

為提供更簡明之闡述，本文所給出之一些定量表達未經術語「約」限制。應瞭解術語「約」無論明確使用與否，本文所給出之每一數量均意欲指實際給定值，且其亦意欲指熟習此項技術者可合理地推斷之該給定值之近似值，包括該給定值之由實驗及/或量測條件引起之近似值。

在一些實施例中，本文所用術語「約」意指大約、在附近、概略地或左右。當術語「約」結合數值範圍使用時，其藉由將邊界延伸

至高於及低於所述數值來修改該範圍。通常，本文所用術語「約」將數值修改為在所述數值上下變動10%。

在X射線粉末繞射圖案中之一或多個峰位置之前之術語「約」意味著該術語在其之前之群組的所有峰皆以具有 $\pm 0.3^\circ$ 之可允許變化度之角度位置(2θ)來報告。當比較兩個粉末X射線繞射圖案時，意欲使用 $\pm 0.3^\circ$ 之變化度。在實踐中，若為一個圖案之繞射圖案峰指派所量測峰位置 $\pm 0.3^\circ$ 之角度位置(2θ)範圍且若該等峰位置範圍重疊，則認為兩個峰具有相同的角度位置。例如，若一個圖案之峰經測定具有 11.0° 之位置，則出於比較目的，可允許變化度允許峰經指派在 10.7° 至 11.3° 範圍內之位置。

在以攝氏度報告之DSC、TGA、TG或DTA之值之前之術語「約」具有 $\pm 5^\circ\text{C}$ 之可允許變化度。

為提供更簡明之闡述，本文之一些定量表達係以約量X至約量Y之範圍來列舉。應瞭解倘若列舉範圍，則該範圍並非限於所列舉之上界及下界，而是包括約量X至約量Y之全部範圍或其中之任一範圍。

本文進一步提供含有結晶型(I-HS)以及醫藥上可接受之載劑之醫藥組合物。含有結晶型(I-HS)作為活性成份之醫藥組合物可藉由根據習用醫藥混合技術充分混合結晶型(I-HS)與醫藥載劑來製備。載劑可端視期望之投與途徑(例如，經口、非經腸)而採用眾多種形式。因此，對於液體口服製劑(例如懸浮液、酏劑及溶液)，適宜載劑及添加劑包括水、二醇、油、醇、矯味劑、防腐劑、穩定劑、著色劑及諸如此類；對於固體口服製劑(例如粉末、膠囊及錠劑)，適宜載劑及添加劑包括澱粉、糖、稀釋劑、造粒劑、潤滑劑、黏合劑、崩解劑及諸如此類。固體口服製劑亦可經諸如糖等物質包覆或經腸溶衣包覆以便調節吸收之主要位點。對於非經腸投與，載劑將通常由無菌水組成，且可添加其他成份以增加溶解度或防腐。可注射懸浮液或溶液亦可利用

水性載劑以及適當添加劑來製備。

結晶型(I-HS)可藉由任一便利途徑投與至(例如)胃腸道(例如經直腸或經口)、鼻、肺、肌肉系或血管系中或經皮或經真皮投與。結晶型(I-HS)可以任何便利投與形式投與，例如錠劑、粉劑、膠囊、溶液、分散液、懸浮液、糖漿、噴霧劑、栓劑、凝膠、乳液、貼劑等。該等組合物可含有醫藥製劑中之習用組份，例如稀釋劑、載劑、pH改變劑、甜味劑、贈積劑及其他活性劑。若期望非經腸投與，則組合物將為無菌的且呈適於注射或輸注之溶液或懸浮液形式。該等組合物形成本發明之另一態樣。

本文亦提供包含結晶型(I-HS)之醫藥組合物。為製備本文所提供之醫藥組合物，根據習用醫藥混合技術將作為活性成份之結晶型(I-HS)與醫藥載劑充分混合，該載劑可端視投與(例如，經口或非經腸(例如肌內))所期望之製劑形式而採用眾多種形式。在製備呈口服劑型之組合物中，可採用任一常用醫藥介質。因此，對於液體口服製劑(例如，懸浮液、酏劑及溶液)，適宜載劑及添加劑包括水、二醇、多元醇、油、環糊精、醇(例如，乙醇)、矯味劑、防腐劑、著色劑及諸如此類；對於固體口服製劑(例如，粉末、膠囊、膜衣錠、明膠膠囊及錠劑)，適宜載劑及添加劑包括澱粉、糖、稀釋劑、造粒劑、潤滑劑、黏合劑、崩解劑及諸如此類。適宜黏合劑包括(但不限於)澱粉、明膠、天然糖(例如葡萄糖或 β 乳糖)、玉米甜味劑、天然及合成樹膠(例如阿拉伯膠(acacia)、黃蓍膠)或油酸鈉、硬脂酸鈉、硬脂酸鎂、苯甲酸鈉、乙酸鈉、氯化鈉及諸如此類。崩解劑包括(但不限於)澱粉、甲基纖維素、瓊脂、膨潤土、黃原膠及諸如此類。

因錠劑及膠囊易於投與，故其代表最有利的口服劑量單位形式，在該情形下，顯然採用固體醫藥載劑。若期望，則可藉由標準技術對錠劑進行糖包覆或腸溶衣包覆。對於非經腸，載劑將通常包含無

菌水，且例如出於諸如輔助溶解度或用於防腐等的目的可包括其他成份。亦可製備可注射懸浮液，在該情形下可採用適當的液體載劑、懸浮劑及諸如此類。本文之醫藥組合物將每劑量單位(例如，錠劑、膠囊、粉末、注射劑、茶匙及諸如此類)含有遞送如上所述之有效劑量所必需之量之活性成份。

本文之醫藥組合物每劑量單位 (例如，錠劑、膠囊、粉末、注射、栓劑、茶匙及諸如此類)將含有約0.1 mg至1000 mg或其中之任一範圍，且可以約0.01 mg/kg/天至300 mg/kg/天或其中之任一範圍、較佳地約0.5 mg/kg/天至50 mg/kg/天或其中之任一範圍之劑量給予。在一些實施例中，本文所提供之醫藥組合物每劑量單位含有約25 mg至約500 mg之本文所提供之化合物(例如，約25 mg至約400 mg、約25 mg至約300 mg、約25 mg至約250 mg、約25 mg至約200 mg、約25 mg至約150 mg、約25 mg至約100 mg、約25 mg至約75 mg、約50 mg至約500 mg、約100 mg至約500 mg、約150 mg至約500 mg、約200 mg至約500 mg、約250 mg至約500 mg、約300 mg至約500 mg、約400 mg至約500 mg、約50 mg至約200 mg、約100 mg至約250 mg、約50 mg至約150 mg)。在一些實施例中，本文所提供之醫藥組合物每劑量單位含有約25 mg、約50 mg、約100 mg、約150 mg、約200 mg、約250 mg、約300 mg、約400 mg或約500 mg之本文所提供之化合物。然而，劑量可端視患者需求、所治療病況之嚴重程度及所採用化合物而變化。在一些實施例中，劑量係每日一次(QD)或每日兩次(BID)投與。

較佳地，該等組合物呈來自以下之單位劑型形式：例如錠劑、丸劑、膠囊、粉末、顆粒、無菌非經腸溶液或懸浮液、定量氣溶膠或液體噴霧劑、滴劑、安瓿(ampoule)、自動注射器裝置或栓劑；對於經口非經腸、經鼻內、經設下或經直腸投與或對於藉由吸入或灌氣之

投與而言。另一選擇為，組合物可呈現為適於每週一次或每月一次投與之形式；例如，活性化合物之不溶性鹽(例如癸酸鹽)可適於提供用於肌內注射之儲積製劑。對於製備諸如錠劑等固體組合物，將結晶型(I-HS)混合與醫藥載劑(例如習用製錠劑成份，例如玉米澱粉、乳糖、蔗糖、山梨醇、滑石粉、硬脂酸、硬脂酸鎂、磷酸二鈣或樹膠)及其他醫藥稀釋劑(例如水)混合以形成含有結晶型(I-HS)之均質混合物之固體預調配組合物。當提及該等預調配組合物為均質時，意指活性成份係均勻分散於整個組合物中，以使得可容易地將組合物再分成相等有效之單位劑型，例如，錠劑、丸劑及膠囊。然後，將此固體預調配組合物再分成含有0.1 mg至約1000 mg或其任一量或範圍之本文所提供活性成份之上文所述類型之單位劑型。本發明之錠劑或丸劑可經包覆或者複合以提供具有持久作用優點之劑型。例如，錠劑或丸劑可包含內部劑量組份及外部劑量組份，後者為前者之包膜形式。該兩種組份可藉由腸溶性層分開，該腸溶性層用以抵抗胃內的崩解並允許內部組份完整地進入十二指腸或延遲釋放。該等腸溶性層或包衣可使用各種材料，該等材料包括大量聚合酸及諸如蟲膠、鯨蠟醇及乙酸纖維素等材料。

可納入本文所提供新穎組合物用於經口或藉由注射投與之液體形式包括水溶液、環糊精、適當矯味之糖漿、水性或油性懸浮液及利用可食用油(例如棉籽油、芝麻油、椰子油或花生油)矯味之乳液以及酞劑及類似醫藥媒劑。適於水性懸浮液之分散劑或懸浮劑包括合成及天然樹膠，例如黃蓍膠、阿拉伯膠、海藻酸鹽、葡聚糖、羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、聚乙烯基吡咯啶酮或明膠。對於非經腸投與，無菌懸浮液及溶液係合意的。在期望靜脈內投與時採用通常含有適宜防腐劑之等滲製劑。

結晶型(I-HS)可經由局部使用適宜鼻內媒劑以鼻內形式或經由熟

習此項技術者熟知之經皮皮膚貼劑投與。欲以經皮遞送系統形式投與，在整個劑量方案中劑量投與當然將為連續的而非間歇的。

為製備本文所提供之醫藥組合物，根據習用醫藥混合技術將作為活性成份之結晶型(I-HS)與醫藥載劑充分混合，該載劑可端視投與(例如經口或非經腸)所期望之製劑形式而採用眾多種形式。業內熟知適宜的醫藥上可接受之載劑。一些該等醫藥上可接受之載劑之闡述可參見由美國製藥協會(American Pharmaceutical Association)及英國製藥協會(Pharmaceutical Society of Great Britain)出版之*The Handbook of Pharmaceutical Excipients*。

調配醫藥組合物之方法已闡述於眾多出版物中，例如由Marcel Dekker公司出版之*Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Second Edition, Revised and Expanded*，第1卷至第3卷，由Lieberman等人編輯；*Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*，第1卷至第2卷，由Avis等人編輯；及*Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*，第1卷至第2卷，由Lieberman等人編輯。

每當需要治療癌症、疼痛、發炎、神經變性疾病或克氏錐蟲感染時，本文所提供之化合物均可以上述組合物中之任一者且根據業內確立之劑量方案進行投與。

結晶型(I-HS)之每日劑量可在1.0 mg/成年人類/天至10,000 mg/成年人類/天或更高之寬範圍內或其中之任一範圍內變化。就經口投與而言，組合物較佳地以含有0.01毫克、0.05毫克、0.1毫克、0.5毫克、1.0毫克、2.5毫克、5.0毫克、10.0毫克、15.0毫克、25.0毫克、50.0毫克、100毫克、150毫克、200毫克、250毫克及500毫克活性成份(根據症狀調節劑量)之錠劑形式提供給欲治療之患者。藥物之有效量通常以約0.1 mg/kg體重/天至約1000 mg/kg體重/天或其中之任一範圍之劑量量提供。較佳地，該範圍為約0.5 mg/kg體重/天至約500

mg/kg體重/天或其中之任一範圍。更佳地，約1.0 mg/kg體重/天至約250 mg/kg體重/天或其中之任一範圍。更佳地，約0.1 mg/kg體重/天至約100 mg/kg體重/天或其中之任一範圍。在實例中，該範圍可為約0.1 mg/kg體重/天至約50.0 mg/kg體重/天或其中之任一量或範圍。在另一實例中，該範圍可為約0.1 mg/kg體重/天至約15.0 mg/kg體重/天或其中之任一範圍。在再一實例中，該範圍可為約0.5 mg/kg體重/天至約7.5 mg/kg體重/天或其中之任一量至範圍。結晶型(I-HS)可基於每天1次至4次或以單一日劑量之方案投與。

欲投與之最佳劑量可易於由熟習此項技術者來確定，且將隨投與模式、製劑強度、投與模式及疾病病況之推進而變化。另外，與所治療之具體患者相關之因素(包括患者年齡、重量、飲食及投與時間)將使得需要調節劑量。

熟習此項技術者將認識到，使用適宜的已知且通常被接受之細胞及/或動物模型之活體內及活體外試驗可預測測試化合物治療或預防給定病症之能力。

熟習此項技術者將進一步認識到，在健康患者及/或彼等罹患給定病症者中之人類臨床試驗(包括初次用於人類試驗、劑量範圍確定試驗及功效試驗)可根據臨床及醫學界內熟知之方法來完成。

見於說明書中之首字母縮略詞具有以下含義：

ATP	三磷酸腺苷
DI	去離子
EtOH	乙醇
GC	氣相層析
MOPS	3-(N-嗎啉基)-丙磺酸
MTBE	甲基第三丁基醚
PDA	光二極體陣列
RRT	相對保留時間

RT	室溫
THF	四氫呋喃
TMB	3,3',5,5'-四甲基聯苯胺

以下實例圖解說明本發明且經闡述以輔助瞭解本發明，且其並非意欲且不應視為以任一方式限制其後的申請專利範圍中所闡述之本發明。

除非另有指示，否則在下述實例中，所有溫度皆以攝氏度闡述。試劑係購自商業供應商(例如 Sigma-Aldrich Chemical 公司、EMD、JT Baker 或 Pharco-Aaper)，且除非另有指示，否則其未經進一步純化即使用。四氫呋喃(THF)、庚烷及其他有機溶劑係購自商業供應商(例如 Sigma-Aldrich Chemical 公司、ACROS、 α -Aesar、Lancaster、TCI 或 Maybridge)，且係以接受狀態使用。

熟習此項技術者將認識到，倘若未另外說明，否則反應步驟係在適宜條件下根據已知方法來實施，以提供期望之產品。熟習此項技術者將亦認識到，倘若如本文所揭示之反應步驟可在各種溶劑或溶劑系統中實施，則該反應步驟亦可在適宜溶劑或溶劑系統之混合物中實施。熟習此項技術者將亦認識到，在如本文所呈現之說明書及申請專利範圍中，倘若試劑或試劑類別/類型(例如鹼、溶劑等)在製程之一個以上步驟中列舉，則個別試劑經獨立地選擇用於每一反應步驟且彼此可相同或不同。例如，倘若製程之兩個步驟列舉有機鹼或無機鹼作為試劑，則經選擇用於第一步驟之有機或無機鹼與第二步驟之有機或無機鹼可相同或不同。

下文所闡述之反應通常係在正氬壓力下(除非另有說明)在「ACS 級」溶劑中進行，且反應燒瓶通常配備有橡膠隔膜用於經由注射器或加料漏斗引入基底物及試劑。

使用兩個反相高效液相層析(HPLC)系統用於過程監測及分析，

使用乙腈及水/三氟乙酸作為流動相。一個系統採用Agilent Zorbax Extend C18管柱(在264 nm下)，而另一系統(下文中，「TRK1PM1 HPLC」)包括Waters Xbridge Phenyl管柱(在268 nm下)。除非另有說明，否則使用前一系統。在具有化合物之燒瓶中攪拌用於兩個系統之二氧化矽，且然後經由聚丙烯布過濾，之後進行分析。

式I化合物之非晶形游離鹼形式：將約1克(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺溶解於最少量水中並冷卻至約-26°C之溫度，隨後在冷凍乾燥機中乾燥24小時。將自冷凍乾燥機獲得之約20 mg非晶形材料稱重於小瓶中，向該小瓶中添加5體積等份的適當溶劑系統試樣。檢查混合物之溶解且若溶解不明顯，則將混合物加熱至約40°C並再次檢查。繼續此程序直至觀察到溶解為止或直至已添加100體積之溶劑為止。自冷凍乾燥實驗獲得之非晶形材料之XRPD圖案顯示於圖7中。

如WO 2010/048314中之實例14A中所闡述製備式I化合物之非晶形硫酸氫鹽。藉由此方法製備之兩個不同批次之非晶形材料之XRPD圖案顯示於圖28中。

本文亦提供製備結晶型(I-HS)之製程。在一些實施例中，該製程包含如方案1中所顯示之步驟。

在一些實施例中，本文所提供製備結晶型(I-HS)之製程，其包含：

(a) 向(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺於EtOH中之溶液中添加濃硫酸，以形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺之硫酸氫鹽；

(b) 向步驟(a)中之溶液中添加庚烷以形成漿液；

(c) 過濾該漿液以分離(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-

基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽；

(d) 混合該(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽與水/2-丁酮之5:95 w/w溶液；

(e) 在約65-70°C下在攪拌下加熱步驟(d)之混合物直至乙醇之重量%為約0.5%，以形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型之漿液；及

(f) 藉由過濾分離(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型。

在一些實施例中，上述方法進一步包含：(b1) 在室溫下利用(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽對步驟(a)之溶液加晶種且允許攪拌溶液直至形成漿液為止。

在一些實施例中，本文所提供製備結晶型(I-HS)之製程，其包含：

(a) 在鹼存在下使5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶與(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉(R)-2-羥基琥珀酸酯反應以形成(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶；

(b) 利用Zn及鹽酸處理該(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-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)吡咯啉-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-胺；

(c) 利用鹼及氯甲酸苯基酯處理該(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-胺以形成(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)胺基甲酸苯基酯；

(d) 使該(R)-5-(2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)吡唑并[1,5-a]嘧

啉-3-基)胺基甲酸苯基酯與(*S*)-吡咯啉-3-醇反應以形成(*S*)-*N*-(5-((*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)吡唑并[1,5-*a*]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺；

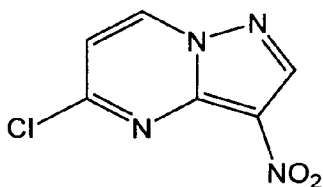
(e) 向該(*S*)-*N*-(5-((*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)吡唑并[1,5-*a*]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺中添加硫酸以形成(*S*)-*N*-(5-((*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-*a*]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽；及

(f) 分離(*S*)-*N*-(5-((*R*)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-*a*]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型。

在上述步驟(a)之一些實施例中，鹼係胺鹼，例如三乙胺。

在上述步驟(c)之一些實施例中，鹼係鹼金屬鹼，例如鹼金屬碳酸鹽，例如碳酸鉀。

製備 A



5-氯-3-硝基吡唑并[1,5-*a*]嘧啶之製備

步驟 A - 吡唑并[1,5-*a*]嘧啶-5-醇鈉之製備：將1H-吡唑-5-胺及1,3-二甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮之溶液(1.05當量)裝填至配備有機械攪拌器、蒸汽鍋、回流冷凝器、J-Kem溫度探針及用於正N₂壓力控制之N₂適配器之圓底燒瓶中。在機械攪拌下，在氮氣氛下用4 vol. (4 mL/g)無水EtOH使固體懸浮，然後用2.1當量NaOEt (於EtOH中之21 wt%溶液)裝填，其隨後用1 vol. (1 mL/g)無水EtOH沖洗管線。使漿液升溫至約75°C且在輕輕回流下攪拌直至藉由TRK1PM1 HPLC觀察到小於1.5面積%之1H-吡唑-5-胺為止，以注視使用20 μL在4 mL去離子水中稀釋之漿液及5 μL注射液在220 nm下之反應之進展。

再過1小時後，用2.5 vol. (2.5 mL/g)庚烷裝填混合物且然後在70℃下回流1小時。然後使漿液冷卻至室溫過夜。藉由在臺式漏斗及聚丙烯過濾布上過濾來收集固體。沖洗反應器並用4 vol. (4 mL/g)庚烷在濾餅上裝填，並拉出濾餅，並將固體轉移至配衡乾燥盤中並在45℃下在高真空下烘箱乾燥，直至其重量恆定為止。以93-96%產率(經校正)獲得淺黃色固體吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇鈉且藉由HPLC (在去離子水中之1 mg/mL稀釋液，TRK1PM1在220 nm下)觀察到大於99.5面積%。

步驟B - 3-硝基吡唑并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮之製備：用在40-45℃下溶解於3.0 vol. (3.0 mL/g)去離子水中之吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇鈉裝填配衡圓底燒瓶，且然後在高真空下在65℃下在水浴中在旋轉蒸發器上濃縮直至觀察到2.4 ×起始材料之重量(1.4 vol/1.4 mL/g去離子水含量)。針對殘餘EtOH (30 µL溶解於約1 mL MeOH中之溶液)實施之氣相層析(GC)顯示小於100 ppm，其中在稍後添加HNO₃後在下面觀察到痕量硝酸乙酯煙霧。在一些情形下，用另一1.5 vol. (1.5 mL/g) DI水裝填初始溶液，然後在高真空下在65℃下在旋轉蒸發器上之水浴中濃縮，直至觀察到2.4 ×起始材料之重量(1.4 vol/1.4 mL/g DI水含量)。針對殘餘EtOH (30 µL溶解於約1 mL MeOH中之溶液)實施之氣相層析顯示<<100 ppm之殘餘EtOH，且在稍後添加HNO₃後在下面未觀察到任何硝酸乙酯煙霧。

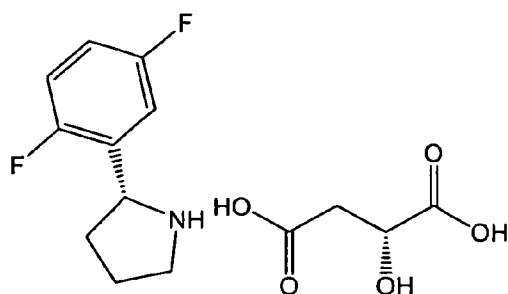
用3 vol. (3 mL/g, 10當量) >90 wt% HNO₃裝填配備有機械攪拌器、蒸汽鍋、回流冷凝器、J-Kem溫度探針及用於正N₂壓力控制之N₂適配器之圓底器皿，並在氮氣氛下使用外部冰水冷卻浴在氮氣氛下冷卻至約10℃。使用壓力均衡加料漏斗，以在冷卻下維持35-40℃內部溫度之速率用1.75-1.95體積之吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇鈉之去離子水溶液(1.16-1.4 mL DI水/g吡唑并[1,5-a]嘧啶-5-醇鈉)裝填HNO₃溶液。觀

察到兩種共沸物且沒有任何硝酸乙酯煙霧。用 $2 \times 0.1 \text{ vol.}$ ($2 \times 0.1 \text{ mL/g}$) 去離子水沖洗共沸物燒瓶、轉移管線(若可應用)及加料漏斗，添加至反應混合物中。在完成添加後，使溫度逐漸增加至約 $45\text{-}50^\circ\text{C}$ 並保持約3小時，且HPLC顯示吡啶并[1,5-a]嘧啶-5-醇鈉至3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮之 > 99.5 面積%轉化。

步驟C - 5-氯-3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶之製備：將3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮裝填至配備有機械攪拌器、加熱包、回流冷凝器、J-Kem溫度探針及用於正 N_2 壓力控制之 N_2 適配器之圓底燒瓶中。在機械攪拌下，利用8體積(8 mL/g) CH_3CN 使固體懸浮，且然後用2,6-二甲基吡啶(1.05當量)裝填，隨後使漿液升溫至約 50°C 。使用壓力均衡加料漏斗，用0.33當量 POCl_3 逐滴裝填混合物。此裝填得到濃稠灰棕色的三聚體漿液，在攪拌的同時將該漿液均質化，直至觀察到半流動物質為止。將另一1.67當量 POCl_3 裝填至混合物中，同時允許溫度穩定，隨後使反應混合物升溫至輕輕回流(78°C)。在使混合物升溫後觀察到些許吹噴，此後來在濃稠漿液變薄時有所減退。

使反應混合物回流直至完全溶解為深色溶液且直至HPLC (在 $5 \text{ mL CH}_3\text{CN}$ 中稀釋之 $20 \mu\text{L}$, TRK1PM1 HPLC, $5 \mu\text{L}$ 注射液, 268 nm)證實藉由自面積積分手動去除任何干擾峰及早期洗脫峰(相對於二甲基吡啶)不再存在三聚體(RRT 0.92)且觀察到小於 0.5 面積%之3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮(RRT 0.79)。在 1.9 kg 規模上，在19小時輕輕回流後使用TRK1PM1 HPLC在 268 nm 下觀察到0面積%之三聚體、 0.25 面積%之3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶-5(4H)-酮及 99.5 面積%之5-氯-3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶。

製備B



(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉(R)-2-羧基琥珀酸酯之製備

步驟A - (4-(2,5-二氟苯基)-4-側氧基丁基)-胺基甲酸第三丁基酯之製備：將2-溴-1,4-二氟苯(1.5當量)溶解於4體積THF (基於2-側氧基吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯之重量)中並冷卻至約5°C。經2小時將2.0 M *i*PrMgCl於THF中之溶液(1.4當量)添加至混合物中，同時將反應溫度維持在25°C以下。使溶液冷卻至約5°C並攪拌1小時(GC分析證實格氏(Grignard)形成)。經約30 min添加2-側氧基吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯(1.0當量)於1 體積THF中之溶液，同時將反應溫度維持在25°C以下。將反應在約5°C下攪拌90 min (證實2-側氧基吡咯啉-1-甲酸第三丁基酯小於0.5面積% (藉由HPLC))。用5體積2 M HCl水溶液淬滅反應，同時將反應溫度維持在45°C以下。然後，將反應物轉移至分液漏斗中，添加10體積庚烷並去除水層。用4體積飽和NaCl水溶液洗滌有機層，隨後添加2 × 1體積之飽和NaCl水溶液。將有機層之溶劑切換為庚烷(<1%wt THF，藉由GC證實)，蒸餾溫度為35-55°C且蒸餾壓力為100-200 mm Hg，代為添加2 × 4體積之庚烷且最小蒸餾體積為約7體積。然後，用庚烷將混合物稀釋至10體積，同時加熱至約55°C，得到稠密固體，且使混合物冷卻至室溫過夜。使漿液冷卻至小於5°C且經由聚丙烯過濾布過濾。用2 × 2體積之庚烷洗滌濕濾餅。將固體在真空下在55°C下乾燥，直至重量恆定為止，得到約75%至85%理論產率之白色固體狀(4-(2,5-二氟苯基)-4-側氧基丁基)-胺基甲酸第三丁基酯。

步驟B - 5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氫-2H-吡咯之製備：將(4-(2,5-二

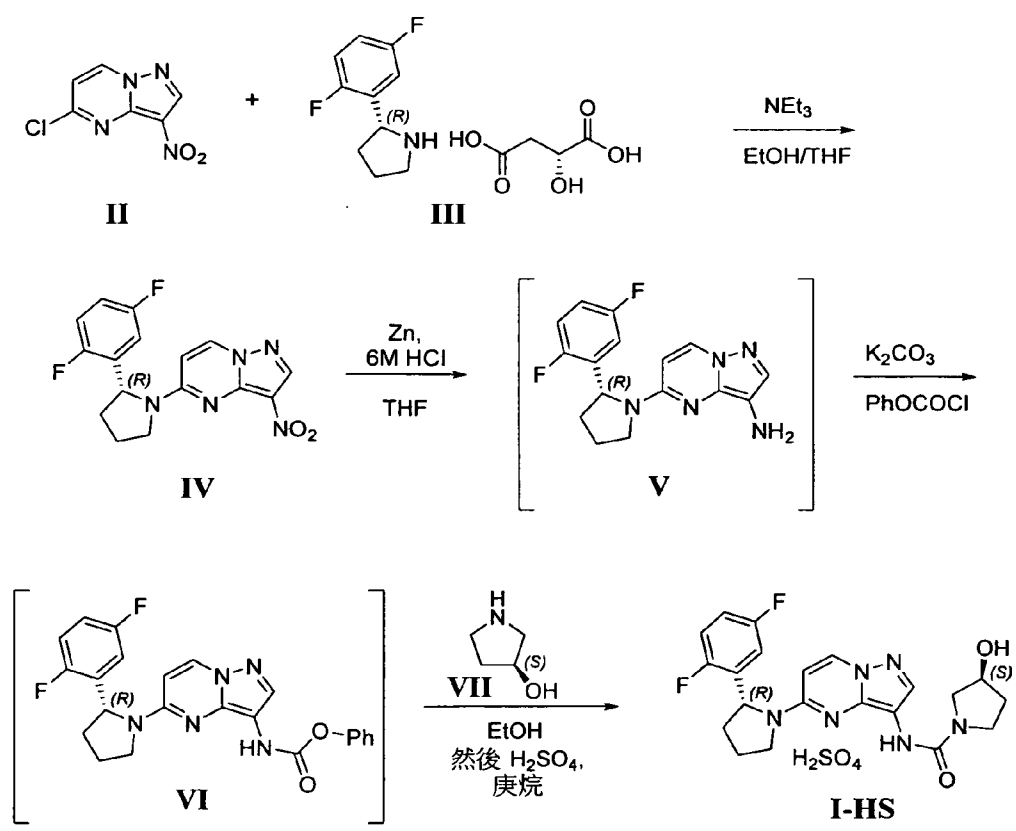
氟苯基)-4-側氧基丁基)-胺基甲酸第三丁基酯溶解於5 vol.甲苯中，且添加2.2當量12M HCl，觀察到輕微放熱及氣體釋放。將反應物加熱至65°C並保持12-24小時且藉由HPLC監測。完成後，用冰/水浴使反應物冷卻至小於15°C。用3當量2M NaOH水溶液(4.7 vol.)將pH調節至約14。將反應物在室溫下攪拌1-2小時。將混合物轉移至具有甲苯之分液漏斗中。去除水層並用3體積飽和NaCl水溶液洗滌有機層。將有機層濃縮為油並再溶解於1.5體積庚烷中。經由GF/F過濾紙過濾所得懸浮液並濃縮為90%至100%理論產率之5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氫-2*H*-吡咯之淺黃色油。

步驟C - (*R*)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉之製備：在室溫下將氯-1,5-環辛二烯鋇二聚物(0.2 mol%)及(*R*)-2-(2-(二苯基膦基)苯基)-4-異丙基-4,5-二氫噁唑(0.4 mol%)懸浮於5體積之MTBE (基於5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氫-2*H*-吡咯)中。將混合物攪拌1小時且大多數固體溶解，且溶液變為深紅色。使用HPLC/PDA檢測器監測觸媒形成。使反應物冷卻至小於5°C且添加5-(2,5-二氟苯基)-3,4-二氫-2*H*-吡咯(1.0當量)，使用0.5體積MTBE沖洗。經約20分鐘添加二苯基矽烷(1.5當量)，同時將反應溫度維持在10°C以下。將反應物攪拌30分鐘低於10°C且然後升溫至室溫。在室溫下將反應物攪拌過夜。藉由HPLC證實反應之完成且然後冷卻至小於5°C。用5體積2M HCl水溶液淬滅反應，將溫度維持在20°C以下。10分鐘後，去除冰/水浴且使反應溫度增加至室溫同時攪拌2小時。將混合物轉移至具有3體積MTBE之分液漏斗中。用3.5體積MTBE洗滌水層，隨後將5體積MTBE添加至水層中，同時藉由添加0.75體積50% NaOH水溶液將pH調節至約14。用5體積飽和NaCl水溶液洗滌有機層，然後濃縮為油，並用3 體積MTBE稀釋。經由聚丙烯過濾布過濾溶液且用1體積MTBE沖洗。將濾液濃縮為95%至100%理論產率及75-85%ee之(*R*)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉之油。

步驟 D - (R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉(R)-2-羥基-琥珀酸酯之製備：將(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉(1.0當量)轉移至裝填有15體積(校正效能) EtOH (200 prf)之圓底燒瓶中。添加D-蘋果酸(1.05當量)且將混合物加熱至65℃。在約64℃下固體全部溶解。使溶液冷卻至RT。在約55℃下，利用(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉(R)-2-羥基-琥珀酸酯(約50 mg, >97%ee)對溶液加晶種並在室溫下攪拌過夜。然後經由聚丙烯過濾布過濾懸浮液並用2 × 1體積之EtOH (200 prf)洗滌。在真空下在55℃下乾燥固體，得到75%至90%理論產率及>96%ee之(R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉(R)-2-羥基-琥珀酸酯。

參考方案1，適宜鹼包括三級胺鹼(例如三乙胺)及K₂CO₃。適宜溶劑包括乙醇、庚烷及四氫呋喃(THF)。該反應在介於5℃與50℃之間之溫度下便利地實施。通常藉由HPLC TRK1PM1監測反應進展。

方案1



將化合物II (5-氯-3-硝基吡啶并[1,5-a]嘧啶)及III ((*R*)-2-(2,5-二氯苯基)-吡咯啉(*R*)-2-羥基琥珀酸酯, 1.05當量)裝填至配備有機械攪拌器、J-Kem溫度探針及用於正N₂壓力控制之N₂適配器之圓底燒瓶中。添加4:1 EtOH:THF之溶液(10 mL/g化合物II)且隨後經由加料漏斗添加三乙胺(NEt₃, 3.50當量), 且在添加期間溫度達到約40°C。在完成添加後, 將反應混合物加熱至50°C並攪拌0.5-3小時從而得到化合物IV。

向配備有機械攪拌器、J-Kem溫度探針及N₂入口之圓底燒瓶中添加化合物IV且隨後添加四氫呋喃(10 mL/g化合物IV)。使溶液在冰浴中冷卻至小於5°C, 且添加Zn (9-10當量)。然後以使得將溫度保持在30°C以下之速率逐滴添加6M HCl (9-10當量)(對於1 kg規模, 添加耗費約1.5小時)。在放熱減退後, 使反應物升溫至室溫且攪拌30-60 min直至藉由HPLC檢測不到化合物IV。此時, 一次性添加碳酸鉀(K₂CO₃, 2.0當量)之水溶液(5 mL/g化合物IV)且隨後快速逐滴添加氯甲酸苯基酯(PhOCOCl, 1.2當量)。在上述兩次添加期間均觀察到氣體釋放(CO₂)且在添加氯甲酸苯基酯後溫度增加至約30°C。將胺基甲酸酯形成在室溫下攪拌30-90 min。隨後立即運行HPLC分析以確保在溶液中存在小於1面積%之胺及高的化合物VI產率。

向上述溶液中添加胺VII ((*S*)-吡咯啉-3-醇, 1.1當量, 基於化合物VI之理論產率)及EtOH (10mL/g of化合物VI)。在EtOH之前或與EtOH同時添加化合物VII以避免形成胺基甲酸乙酯雜質。在減壓下使用分批濃縮器將上述EtOH溶液濃縮至最小體積(4-5mL/g) (THF含量應<5%, 藉由GC), 且返添加EtOH (10mL/g化合物VI)從而得到總共10mL/g。然後, 將反應物在50°C下加熱9-19小時或直至HPLC顯示化合物VI小於0.5面積%為止。然後, 使反應物冷卻至室溫, 且經由加料漏斗添加硫酸(H₂SO₄, 相對於化合物VI 1.0當量)以得到化合物I-HS, 且溫度通常在約30°C下放熱。

實例1

結晶型(I-HS)之製備(方法1)

將(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺(0.500 g, 1.17 mmol)溶解於EtOH (2.5 mL)中並冷卻至約5°C。將濃硫酸(0.0636 mL, 1.17 mmol)添加至冷卻溶液中並攪拌約10 min，同時升溫至室溫。將甲基第三丁基醚(MTBE) (2 mL)緩慢添加至混合物中，使得產物脫膠。然後，將EtOH (2.5 mL)添加至混合物中並加熱至約回流直至所有固體皆溶解為止。在冷卻至室溫並攪拌約1小時後，形成一些固體。在冷卻至約5°C後，過濾固體並用MTBE洗滌。在過濾並風乾約15分鐘後，作為固體分離(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽。

實例2

結晶型(I-HS)之製備(方法2)

將濃硫酸(392 mL)添加至3031 g (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺於18322 mL EtOH中之溶液中以形成硫酸氫鹽。利用2 g (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽對溶液加晶種並將溶液在室溫下攪拌至少2小時以形成硫酸氫鹽之漿液。添加庚烷(20888 g)並將漿液在室溫下攪拌至少60 min。過濾漿液並用1:1庚烷/EtOH洗滌濾餅。然後，在真空下在環境溫度(設為15°C之烘箱溫度)下乾燥固體。

將經乾燥硫酸氫鹽(6389 g，來自4個合併批次)添加至水/2-丁酮之5:95 w/w溶液中(總重量41652 g)。在約68°C下在攪拌下加熱混合物直至乙醇之重量%為約0.5%，在該時間期間形成漿液。過濾漿液，並用水/2-丁酮之5:95 w/w溶液洗滌濾餅。然後，在真空下在環境溫度

(設為15℃之烘箱溫度)下乾燥固體，從而得到(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽結晶型。

實例3

(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺鹽之比較

將(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺之其他鹽形式(例如，氫氯酸鹽、氫溴酸鹽、甲磺酸鹽及右旋樟腦磺酸鹽)與結晶型(I-HS)相比較，其係藉由測定其差示掃描量熱法(DSC)熔點、動態蒸氣吸附(DVS)重量增加及在鋁片上在40℃及75%相對濕度(RH)下之穩定性達成。如上所述實施DSC及DVS量測，且結果概述於表9中。

表9. (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺之結晶鹽之物理化學性質

結晶鹽	DSC熔點 起始至最大	DVS重量增加(結果)	在40℃/75%RH下(鋁片)之 穩定性
硫酸氫鹽 (I-HS)	186-206℃	在80% RH下約1%增加 在95% RH下2%增加未變化	10天 形式未變化
HCl	124-134℃	在50% RH下約1%增加 在50-60% RH下發生形式變化	1小時後發生形式變化
HBr	177-185℃	在80% RH下約3.9%增加 在90% RH下約25%增加 (潮解)	2週後變為 非晶形
甲磺酸鹽	183-186℃	在80% RH下約9%增加 在90% RH下約50%增加 (結晶)	潮解過夜

右旋樟腦磺 酸鹽	170-183°C	未測試	未測試
-------------	-----------	-----	-----

實例4

TrkA及TrkB酶分析

使用Invitrogen之LanthaScreen™ Eu激酶結合技術量測化合物與Trk激酶結合之親和力。簡言之，在由25 mM MOPS(pH 7.5)、5 mM MgCl₂, 0.005% Triton X-100及2% DMSO組成之緩衝液中將來自Invitrogen之His標記之重組人類Trk細胞質結構域(5 nM TRK A – 目錄號PV3144或10 nM TRK B – 目錄號PV3616)與5 nM Alexa-Fluor® Tracer 236 (PR9078A)、2 nM生物素化之抗His (目錄號M4408)及2 nM鎗標記之鏈黴親和素(Streptavidin) (目錄號PV5899)連同測試化合物一起培育。通常以DMSO中之三倍連續稀釋製備化合物並添加至分析中以得到適當的最終濃度。在22°C下培育60分鐘後，使用PerkinElmer EnVision多模式板讀取器經由TR-FRET雙波長檢測來量測反應，且使用比率發射因子計算控制百分比(POC)。100 POC係使用無測試化合物測定且0 POC係使用完全抑制酶之濃度之對照化合物測定。將POC值擬合至4參數邏輯曲線且IC₅₀值係其中曲線與50 POC交叉之點。結晶型(I-HS)在此分析中針對TrkA測試時具有8.4 nM之平均IC₅₀，且在此分析中針對TrkB測試時具有4.2之平均IC₅₀。

實例5

TRK融合蛋白驅動腫瘤形成且受結晶型(I-HS)抑制

實施一組實驗以確定結晶型(I-HS)在具有不同Trk基因融合之三種不同癌症細胞系模型：CUTO-3F細胞系、KM12細胞系及MO-91細胞系中是否可抑制細胞增殖。CUTO-3F細胞源於患有具有MPRI-PNTRK1基因融合之肺腺癌之患者。KM12細胞系係具有TPM3-NTRK1融合之結腸直腸癌細胞系(Vaishnavi等人, *Nature Med.* 19:1469-1472,

2013)。MO-91細胞系源於具有ETV6-NTRK3融合之急性骨髓樣白血病患者(Taipale等人, *Nature Biotech.* 31:630-637, 2013)。在利用結晶型(I-HS)治療後對細胞增殖之量測證實所有三種經測試細胞系中細胞增殖之劑量依賴性抑制(圖8-10)。IC₅₀對於CUTO-3F細胞(圖8)小於100 nm且對於KM12細胞及MO-91細胞(分別圖9及圖10)小於10 nm。

與對細胞增殖之抑制一致, 使用低劑量之結晶型(I-HS)在CUTO-3F細胞中觀察到對MPRIIP-TRKA癌蛋白及ERK1/2之磷酸化之抑制(圖11), 使用低劑量之結晶型(I-HS)在KM12細胞中觀察到對TPM3-TRKA、pAKT及pERK1/2之磷酸化之抑制(圖12), 且使用低劑量之結晶型(I-HS)在MO-91細胞中觀察到對TEL-TRKC癌蛋白(由ETV6-NTRK3編碼)、pAKT及pERK1/2之磷酸化之抑制(圖13)。該等數據一起顯示Trk融合蛋白具有組成性活性且調控關鍵下游信號傳導路徑(例如MAPK及AKT), 且受結晶型(I-HS)抑制。該等數據亦指示結晶型(I-HS)可用於治療表現失調之Trk (例如, Trk蛋白之組成性活性形式(例如, Trk融合蛋白或Trk點突變))之不同癌症。

實例6

結晶型(I-HS)成功治療具有未分化肉瘤之個體

41歲女性在其左腹股溝中呈現具有堅硬腫塊。使用初始成像來證實其大腿前之肌肉系內之10 cm腫塊。開放性生檢揭露未分化肉瘤。初始分段掃描證實與轉移性疾病一致之多個雙側4-13 mm的肺小結節。該女性登記索拉非尼與化學療法、手術前輻射及保肢手術之2期試驗(ClinicalTrials.gov編號NCT02050919)。在每日投與400 mg之索拉非尼2週之後, 患者接受每日30 mg/m²之表柔比星(epirubicin)及每日2,500 mg/m²之異環磷醯胺(ifosfamide)以及連續3天之美司鈉(mesna), 且繼續每日投與索拉非尼。在該5週之系統療法期間腫瘤變得愈來愈疼痛。在模擬手術前輻射期間, 在腰肌內注意到腫瘤頭蓋形

地擴展，此由於預計腸毒性而阻礙有效輻射劑量之安全投與。因此，患者停止了該方案且轉至手術切除。

原發性腫瘤之切除達成陰性邊緣且病理樣本之檢查證實90%腫瘤壞死。在初始掃描後9週獲得之再分期胸部CT (顯示於圖21A中)顯示惡化轉移性疾病，且現在所量測之最大的小結節為18 mm。患者之手術後病程併發有多種微生物的創傷感染，其需要重複的創傷清創術且延長抗生素療法。在恢復化學療法之前獲得重複胸部CT，且證實在前9週期間急劇進展，且多個肺小結節大於3 cm，最大的接近7 cm，及大量左胸膜滲出液。在實施隧道式胸膜引流及開始補充性家庭氧後，患者接受一次75 mg/m²之多柔比星，同時等候登記利用結晶型(I-HS)之治療。

使用FoundationOneHeme面板(Foundation Medicine, Cambridge, MA)測試患者之診斷性開放性腫瘤生檢。使用數百個癌症相關性基因之DNA及RNA定序之此多靶標全面基因體剖析(CGP)分析證實存在產生LMNA-NTRK1融合基因之編碼核片層蛋白A/C基因(LMNA)之外顯子1-2及NTRK1基因之外顯子11-17之基因融合(圖14)。CGP亦顯示喪失腫瘤抑制因子CDKN2A/B(未顯示)，但沒有其他已知之致癌突變。

隨後，對患者之腫瘤試樣實施之分離螢光原位雜交(FISH)分析在64%之腫瘤細胞核中展現主要地單一3' NTRK1 (紅色螢光信號)圖案，此與涉及NTRK1基因座之基因體改變一致，鑒於LMNA及NTRK1於染色體1之大臂上之位置及定向，此最可能繼發於兩個基因之間之基因體缺失(圖15)。藉由RT-PCR及定序證實來自基因融合之新穎融合轉錄本之mRNA表現(圖16)。

使用患者之腫瘤試樣實施新穎鄰位連接分析(PLA)以便評價融合癌蛋白之蛋白質表現及功能活性。PLA係獨特的，乃因其可原位檢測激酶與其轉接子之一之間之功能信號傳導複合物。在此分析中，量測

與結合至TRKA激酶結構域中之Y496之其較佳轉接子SHC1複合之TRKA (圖17)。該分析在人類細胞系及福爾馬林(formalin)固定之患者源性腫瘤異種移植物(PDX)腫瘤試樣中均得到驗證(圖18)。發現NTRK1之RNAi敲除如同結晶型(I-HS)之抑制(圖18D及18E)一般可破壞具有MPRIIP-NTRK1融合基因之CUTO-3細胞系中之TRKA-SHC1複合物(圖18A-C)。TRK PLA檢測來自具有MPRIIP-NTRK1基因融合之患者源性異種移植物(PDX) CULC001而非沒有已知致癌驅動子突變之PDX CULC002之FFPE腫瘤試樣中之功能信號傳導複合物(圖18F及18G)。TRK-SHC PLA亦可檢測非致癌的信號傳導複合物，如藉由CULC001 PDX之外周神經組織之區域中之陽性信號所顯示，其中TRK家族之受體具有高表現，活性由神經滋養素介導。將此分析應用至患者之腫瘤試樣證實與腫瘤細胞核相關之穩健信號傳導，但在血管中僅微弱信號(人類內皮細胞表現TRKA，與藉由LMNA-TRKA癌蛋白之致癌信號傳導一致(圖19A及B)。TRK-SHC1 PLA在來自ALK+ NSCLC患者之腫瘤試樣上證實陰性結果，而ALK-GRB2 PLA為陽性(圖20)，此進一步證實此分析檢測人類腫瘤試樣中之致癌信號傳導之能力。

藉由FoundationOneHeme分析檢測且然後藉由FISH及RT-PCR驗證連同患者腫瘤試樣中之TRKA蛋白表現及TRK路徑之功能活性之證據證明之LMNA-NTRK1融合之存在表明患者具有TRK驅動適於利用TRK特異性抑制劑治療之癌症。

基於表明存在TRK驅動子致癌基因之多列遺傳及功能生物標記物數據，建議患者考慮登記於結晶型(I-HS)之1期試驗中。1個月後，發現患者有資格進行該試驗且提供書面知情同意書。基線CT掃描顯示持續之腫瘤進展以及兩個肺中多個大的肺轉移，但在實施胸膜引流後胸膜滲出液消退(圖21C)。基於臨床表現，患者具有顯著的運動性呼吸困難且需要5L補充性氧來維持90%之氧飽和度。基線實驗室值因升

高之CA125腫瘤標記物含量而值得注意(圖22)。患者在開始連續給藥前3天接受100 mg初始劑量之結晶型(I-HS)，隨後在同一天在約12小時後接受相同劑量，且根據研究方案進行48小時之藥物動力學及安全性評價。患者在3天後開始循環1第1天。每週看望該患者以進行藥物動力學及安全性分析。未注意到藥物相關性不利事件，且患者在此4週之時段期間每週均經歷運動性呼吸困難之改良。CA125含量在循環1期間正常化。在開始循環2第1天之前實施CT，該CT證實多個肺轉移之顯著改良且藉由RECIST 1.1認為係部分反應。在循環3第1天之前實施重複CT且證實持續反應且因此藉由RECIST 1.1證實部分反應(圖21C)。臨床上，患者具有顯著改良之運動性呼吸困難且不再需要補充性氧且在室內空氣中具有97%之氧飽和度。在給藥之4個月後，患者沒有任何歸因於結晶型(I-HS)之不利事件。該等數據顯示，結晶型(I-HS)可治療個體之未分化肉瘤，以及具有失調之Trk蛋白(例如，Trk蛋白之組成性活性形式，例如，Trk融合蛋白或Trk點突變)之其他癌症。

LMNA-NTRK1基因融合已於先前在施皮茨痣中報道且在細胞中表現時經組成性活化從而引起ERK1/2、AKT及PLC γ 之活化，此證實其致癌性(Taipale等人，*Nature Biotech.* 31:630-637, 2013)。基礎醫學(Foundation Medicine, FM)先前已利用FoundationOneHeme CGP測試測試了1272個軟組織肉瘤試樣，檢測到8種NTRK1或NTRK3融合，包括闡述於此宗報道中之患者(表10)。值得注意的是，具有NTRK融合之8名肉瘤患者中之6名在25歲以下(費雪精確(Fisher's exact), P 值 = 4×10^{-4})，且8名中之4名在5歲以下(費雪精確, P 值 = 2×10^{-5})，指示在小兒患者中(4.1%；95% CI 1.8%-9.3%)且具體而言在5歲以下者(14.3%；95% CI 5.7%-31.5%)中NTRK融合之檢測率有所增加。亦感興趣的是，經檢測基因融合中之一者將大多數NTRK3基因(外顯子1-

17)與HOMER2基因(外顯子2-9)之3'端組合，其含有二聚合結構域(纏繞線圈結構域)，且因此代表現已針對多種其他RTK編碼基因(例如EGFR、AXL及FGFR3)闡述之3'基因融合事件(Sleijfer等人，*Eur. J. Cancer* 46:72-83, 2010；Linch等人，*Clin. Oncol.* 11:187-202, 2014；Rutkowski等人，*J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 25:264-270, 2011)。

表10. 軟組織肉瘤患者之臨床特徵及NTRK融合基因細節

組織學	5'基因	5'末端外		3'前端		性別	年齡
		顯子	3'基因	外顯子			
軟組織肉瘤(nos)							
(n=179)	LMNA	2	NTRK1	11	F	41	
軟組織肉瘤(nos)							
(n=179)	LMNA	10	NTRK1	11	M	22	
軟組織纖維肉瘤							
(n=28)	LMNA	10	NTRK1	12	M	5歲以下	
軟組織纖維肉瘤							
(n=28)	SQSTM1	2	NTRK1	10	F	5歲以下	
軟組織神經鞘瘤							
(n=3)	TPM3	7	NTRK1	10	M	5歲以下	
軟組織血管瘤(n=4)	ETV6	5	NTRK3	15	F	5歲以下	
軟組織孤立性纖維							
瘤(n=28)	TFG	6	NTRK3	14	M	17	
軟組織肉瘤(nos)							
(n=179)	NTRK3	17	HOMER2	2	F	68	

另外，實施實驗以顯示結晶型(I-HS)特異性地抑制Trk激酶之活性。例如，結晶型(I-HS)未抑制源於表現SLC34A2-ROS1融合蛋白之非小細胞肺癌之HCC78細胞系之細胞增殖(圖23) (Vaishnavi等人，*Nat Med.* 19:1469-72, 2013)。

材料及方法

臨床試驗

NCT02122913係持續的多中心1期劑量遞增研究，其評估結晶型(I-HS) (選擇性pan-TRK)在未利用標準療法選項之患有轉移性或晚期實體腫瘤之未經治療患者中之安全性及藥物動力學。該研究在所有登記患者之機構處皆經機構審查委員會(Institutional Review Boards)批准，且合格患者提供書面知情同意書以參加。結晶型(I-HS)係以100 mg膠囊提供。經登記患者根據修改之3+3設計接受遞增劑量之結晶型(I-HS)，且每天或每天兩次接受結晶型(I-HS)直至不可耐受的毒性、疾病進展或撤銷同意書為止。在患有可量測疾病之患者中，根據RECIST 1.1準則評價功效。

次世代定序(NGS)

提取DNA及RNA且藉由使用靶向405個癌症相關性基因及31個頻繁重排基因(藉由DNA-seq)及265個頻繁重排基因(藉由RNA-seq)(FoundationOne Heme)之定製誘餌集進行溶液雜交來捕獲轉接子連接之定序文庫。所有經捕獲文庫皆在CLIA認證之CAP認可之實驗室(基礎醫學)中經高深度定序(Illumina HiSeq)，平均>500×(於DNA而言)且>6M獨特對(於RNA而言)。將gDNA及cDNA之序列數據映射至參考人類基因組(hg19)且藉助計算分析管線進行分析以呼叫試樣中存在之基因體改變，包括取代、短插入及缺失、重排及拷貝數變化。

螢光原位雜交(FISH)

使用Vysis LSI NTRK1 (Cen) SpectrumGreen (目錄號08N43-030)及Vysis LSI NTRK1 (Tel) SpectrumRed (Abbott Molecular, 分別編號08N43-030及08N43-020)對如先前所闡述之福爾馬林固定、石蠟包埋(FFPE)之腫瘤試樣之4微米載玻片實施NTRK1分離FISH (Vaishnavi等人, *Cancer Discov.*5:25-34, 2015)。

RT-PCR及DNA定序

如先前所闡述使用 LMNA 之正向引子 (LMNA F1, 5'gagggcgagctgcatgat3'; SEQ ID NO: 1) (Weisner等人, *Nat. Comm.* 5:3116, 2014) 及 NTRK1 之反向引子 (NTRK1 Y490rev, 5'cggcgccttgatgtggtgaac3'; SEQ ID NO: 2)實施反轉錄聚合酶鏈式反應 (RT-PCR)。在 University of Colorado之 Pathology Core處使用 Sanger DNA定序實施RT-PCR產物之DNA定序。

細胞系

獲得知情同意書以自患者取得永生細胞系。CUTO-3細胞系及其衍生物係源於具有如先前所闡述之MPRIP-NTRK1基因融合之IV期肺腺癌患者之惡性胸膜滲出液(Vaishnavi等人, *Cancer Discov.* 5:25-34, 2015; Davies等人, *PLoS One* 8:e82236, 2013)。先前已闡述KM12及MO-91 (Vaishnavi等人, *Nature Med.* 19:1469-1472, 2013; Taipale等人, *Nat. Biotech.* 31:630-637, 2013)。

患者源性異種移植物生成

自患者獲得知情同意書以生成患者源性鼠類異種移植物。將來自致癌基因陰性肺腺癌患者(CULC001)之腫瘤組織切割成3 × 3 × 3 mm碎片，將該等碎片轉移至補充有10%胎牛血清(FBS)及200單位/mL青黴素(penicillin)及200u g/mL鏈黴素(streptomycin)之DMEM中。將腫瘤碎片浸入基質膠(Corning)中並將其插入5隻裸小鼠之每一側腹上之切口中。將來自具有MRPIP-NTRK1基因融合之肺腺癌患者之胸膜流體(CULC002)離心並將所得細胞糰粒於5 ml ACK緩衝液(Lonza)中懸浮2 min，允許紅血球完全溶解。藉由添加20 mL PBS停止溶解並將試樣離心。用PBS將糰粒洗滌兩次，之後將其懸浮於上述DMEM補充之培養基中。將100 μ l細胞(1×10^6 個/側腹)懸浮於DMEM及基質膠之1:1混合物(BD)中，將其經皮下注射至5隻裸小鼠之側腹中。所得異種移

植物之繁殖及維持係如先前所闡述(Keysar等人, *Mol. Oncol.* 7:776-790, 2013)。

鄰位連接分析

以25-75k細胞/孔將細胞接種至玻璃蓋玻片(在48孔板中)或腔室載玻片上。用指示劑量及次數處理細胞，然後藉由在室溫下在4%多聚甲醛中振盪固定15分鐘。將細胞在PBS中沖洗兩次，且然後根據製造商之方案(目錄號DUO92101)在小鼠/兔(Red)中使用來自SigmaAldrich之Duolink®原位PLA®套組。在PLA實驗前使用免疫螢光最佳化抗體濃度。如組織學中所闡述製備小鼠或患者之FFPE組織PLA。另外，在阻斷步驟之前利用300 mM甘胺酸將試樣處理15分鐘，在其他方面根據製造商之方案實施分析。使用Prolong® gold抗螢光衰減試劑(具有DAPI)固定細胞且固化過夜，之後使其成像。在Nikon標準倒置螢光顯微鏡上在40×下或在University of Colorado Anschutz Medical Campus Advance Light Microscopy Core中之3I Marianas旋轉盤式共聚焦上在40×或100×下拍攝影像。使用以下抗體：來自Cell Signaling之TRK (C17F1)及ALK (D5F3)、來自Novus之SHC1，及來自BD之Grb2 (610111)。

增殖分析

所有增殖分析皆在如先前所闡述之補充有5% FBS之培養基中使用Cell Titer 96 MTS (Promega)來實施 (Bouhana等人, EORTC-NCI-AACR 26th Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics, Barcelona, Spain 2014)。以500-2000個細胞/孔接種細胞並在對每一圖表中所闡述之藥物濃度下處理72小時。以至少3個獨立的生物複製物一式三份實施每一分析。繪製數據之圖形且使用GraphPad軟體計算IC50值。

免疫印跡

如先前所闡述實施免疫印跡(Vaishnavi等人, *Nature Med.* 19:1469-1472, 2013)。簡言之, 在具有Halt蛋白酶及磷酸酶抑制劑混合劑(Thermo Scientific)之RIPA緩衝液中裂解細胞並在加樣緩衝液(LI-COR Biosciences)中稀釋。掃描m個膜且使用Odyssey Imaging System及軟體(LI-COR)進行分析。使用來自Cell Signaling之以下抗體: pTRK Y490 (兔多株抗體, 編號9141)、pERK1/2 XP T202/Y204 (編號9101)、總ERK1/2、pAKT S473 (兔mAb, 編號4060)及總AKT小鼠純系D3A7 (編號2920)。TRK (C-14)兔多株抗體係購自Santa Cruz Biotechnology。GAPDH (MAB374)及pTYR (4G10)係來自Millipore。

統計學分析

使用1-試樣比例測試計算肉瘤患者之試樣中之NTRK融合之檢測率之置信區間。疾病組織學分類係基於基礎醫學疾病發生學。使用費雪精確測試測試NTRK融合在較年輕患者群組中之富集。所有統計測試皆根據R v 3.1.3實施。

實例7

具有NTRK基因融合之實體腫瘤患者中結晶型(I-HS)選擇性TRKA/B/C抑制劑之1期研究之臨床安全性及活性

方法

在結晶型(I-HS)之此持續的開放性標記的多中心的3+3劑量遞增I期研究中, 23名患有標準療法、正常造血藥及主要器官功能難以治癒之實體腫瘤之患者登記。以單一劑量經口投與結晶型(I-HS), 隨後QD或BID劑量保持連續28天的循環。藉由RECIST準則版本1.1量測反應。在循環1第1天及第8天收集血清用於藥物動力學分析。對所有患者收集安全性資訊且無論與研究產品之關係如何均將劑量限制性毒性之定義應用至不利事件。

結果

迄今，以在50 mg QD至150 mg BID範圍內之前5個劑量量中之每一者治療23名患者。結晶型(I-HS)耐受良好；尚未達到MTD且最常見之不利事件為1級及2級疲勞(35%)、暈眩(26%)及貧血(22%)。兩個患者具有劑量限制性毒性(升高之AST，3級(劑量量150 mg BID)及譫妄，3級，不相關(劑量量100 mg BID))。

PK分析顯示在給藥後30-60分鐘達到結晶型(I-HS)之最大血漿濃度且暴露以與劑量近似之比例增加。結晶型(I-HS)之未結合藥物量對於在峰濃度下在所有劑量量下對TRKA/B/C之約98%抑制似乎係足夠的。

23名患者中之3名具有NTRK融合且在100 mg BID或150 mg BID下進行治療。該等患者達成部分反應：具有*LMNA-NTRK1*融合之未分化肉瘤(59%降低；7個循環+)、具有*ETV6-NTRK3*融合之c-kit陰性GI基質瘤(GIST) (30%降低；2個循環+)，及具有*ETV6-NTRK3*融合之乳房類似分泌型癌(64%降低；2個循環+)。該等數據係藉由TRK融合之異種移植物小鼠模型中之活體內腫瘤生長抑制及消退來支持。

結論

結晶型(I-HS)耐受良好且對於NTRK融合之穩健抑制具有足夠的系統暴露，如藉由藥物動力學藥物含量及在登記此研究之3名NTRK融合患者中觀察到之持續臨床反應來證實。該等數據進一步驗證此分子靶標作為各種腫瘤組織學中之致癌驅動子。

實例8

結晶型(I-HS)與非晶形硫酸鹽之比較

實施各種實驗來比較非晶形(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽及結晶型(I-HS)之性質。該等研究包括雜質概況、穩定性、流動性質及吸濕性。在以下研究中，將兩批非晶形材料(AM(HS)1及AM(HS)2)與

單一批次結晶型(I-HS)相比較。

方法

殘餘溶劑

使用GC-MS頂部空間分析分析AM(HS)1、AM(HS)2及結晶型(I-HS)之溶液。

熱重分析(TGA)

將試樣置於鉑盤上並經受10°C /分鐘至300°C。

差示掃描量熱(DSC)

將試樣置於在蓋中具有針孔之波紋狀鋁坩堝中並在氮下經受10°C /分鐘至250°C。

X射線繞射(XRD)

Cu K α 輻射，在44kV下，40mA，藉助Ni過濾，利用2/3°之發散狹縫，10mm之發散H.L.狹縫，散射狹縫設為「Auto」（散射狹縫係藉由電腦/儀器來確定），0.3mm之接收狹縫。以2°/min自3° 2 θ 至40° 2 θ 連續掃描；0.02°/秒之抽樣寬度(步長大小)，0.4點/秒之步長時間。將試樣在平行於試樣表面之平面上以60rpm旋轉。

偏振光顯微術(PLM)

將試樣置於玻璃顯微鏡載玻片上，將其浸沒於低黏度油中並用玻璃蓋玻片覆蓋。利用正交偏光鏡片及530 nm截止濾波器在20×物鏡下檢查。利用PAX-It相機進行成像且藉由PAX-It軟體處理。

動態蒸氣吸附(DVS)

- 1.使用IGAsorp分析儀在25°C下研究吸濕性。
- 2.將約15 mg試樣置於配衡網式試樣架中，將初始環境室內濕度設為約35%。
- 3.在整個研究中使用250 cc/min之總濕/乾氮流速。
- 4.藉由實施一個以下程式之完整循環研究固體：在40°C下在乾N₂

下乾燥60分鐘，隨後設定0% RH、10% RH、20% RH、30% RH、40% RH、50% RH、60% RH、70% RH、80% RH、90% RH及95% RH，其中在每一濕度設定點下之暴露時間取決於F1擬合模型中之99.5%置信度或60分鐘。任何一個濕度設定點下之允許最大時間允許為120 min。在完成循環後在乾N₂下維持試樣。

以乾重量為基礎計算重量增加%。

非對掌性LC方法

在能夠精確監測264 nm並控制管柱溫度($35 \pm 5.0^{\circ}\text{C}$)之HPLC (管柱Agilent Zorbax Extend C18, 4.6 mm $\times$ 150 mm, 3.5 μm 粒徑)上運行AM(HS)1、AM(HS)2及結晶型(I-HS)之試樣。使用兩種流動相：流動相A：0.05%三氟乙酸水溶液；及流動相B：乙腈(ACN)。在50:50 H₂O:CAN (50 $\pm$ 4 mg於200 mL中)之溶液中製備化合物(即AM(HS)1、AM(HS)2或結晶型(I-HS))之溶液。使用以下設定來分析試樣：

儀器操作參數

管柱	Agilent Zorbax Extend C18, 3.5 μm , 4.6 $\times$ 150 mm PN 763953-902
檢測波長	264 nm
管柱溫度	35 $^{\circ}\text{C} \pm 5.0^{\circ}\text{C}$
試樣溫度	未控制
流速	1.2 mL/min
注入體積	10 μL
檢測器抽樣速率*	10
數位濾波器*	ON
濾波器反應*	10
暴露*	自動暴露
針洗滌時間	雙重
數據採集時間	20 min
停止時間	20 min

*所列示參數(Waters 2996 PDA)為儀器特定的。

梯度條件：

時間(min)	流動相A (%)	流動相B (%)
0.00	95	5
12.50	50	50
16.50	2	98
16.60	95	5
20.00	95	5

對掌性LC方法

在配備有PDA或能夠精確監測264 nm之雙波長檢測器之HPLC (管柱CHIRALPAK IC, 4.6 mm × 150 mm, 5.0 μm粒徑)上運行AM(HS)1、AM(HS)2及結晶型(I-HS)之試樣。使用兩種流動相：流動相A：己烷；及流動相B：於(50:50)甲醇:乙醇中之0.05%二乙胺(DEA)。在甲醇中製備化合物(即AM(HS)1、AM(HS)2或結晶型(I-HS))之1.0 mg/mL溶液。使用以下設定來分析試樣：

儀器操作參數

利用以下操作參數設定HPLC：

管柱	CHIRALPAK IC, 4.6 mm內徑× 150 mm 長度× 5.0 μm 粒徑
管柱溫度	40°C
檢測波長	264 nm
數據速率	5pt/sec
帶寬*	10 nm
參考波長*	400 nm
試樣溫度	未控制
流速	0.8 mL/min
幫浦程式	梯度，參見下文
注入體積	15 μL

數據採集時間	25 min
總運行時間	25 min

*建議：此可為儀器依賴性的。

梯度條件：

時間(min)	流動相A(%)	流動相B(%)
0.00	50	50
10.00	50	50
20.00	5	95
23.00	5	95
23.05	50	50
25.00	50	50

將AM(HS)1、AM(HS)2及結晶型(I-HS)之試樣之層析峰面積與具有純(S,S)、(R,R)及(S,R)非鏡像異構物峰之標準品相比較。

第一部分：結晶型(I-HS)之物理表徵

藉由外觀、殘餘溶劑、熱重分析(TGA)、卡爾費雪水含量(KF)、差示掃描量熱法(DSC)、X射線繞射(XRD)、偏振光顯微術(PLM)及藉由動態蒸氣吸附(DVS)之吸濕性來表徵AM(HS)1、AM(HS)2及結晶型(I-HS)。三個批料之物理表徵之數據可參見表11至14及圖24至38。

表11. 外觀

化合物	外觀	蒙賽爾(Munsell)編號
AM(HS)1	黃色粉末，不含聚結物	7.5Y 9/10
AM(HS)2	黃色粉末，不含聚結物	7.5Y 9/10
結晶I-HS	橙色粉末，不含聚結物	2.5YR 7/10

表12. 殘餘溶劑

化合物	溶劑(ppm)					
	乙醇	甲醇	甲基第三丁基醚	庚烷	四氫呋喃	甲基乙基酮
AM(HS)1	未檢測	1075	未測試	未測試	未測試	未測試
AM(HS)2	174	7369	未測試	未測試	未測試	未測試
結晶 I-HS	4783	未測試	未檢測	未檢測	未檢測	3046

表13. 熱重及卡爾費雪(水含量)分析

化合物	熱重分析			KF (w/w %)
	開始(°C)	停止(°C)	變化(%)	
AM(HS)1	24.78	111.94	3.78	2.00
	111.94	186.94	3.09	
AM(HS)2	31.53	100.21	1.94	0.88
	100.21	174.86	3.07	
結晶I-HS	23.77	218.58	6.01	0.28

表14. 差示掃描量熱法分析

化合物	差示掃描量熱法					
	類型	開始(°C)	起始(°C)	最大(°C)	停止(°C)	ΔH (J/g)
AM(HS)1	吸熱	28.7	29.9	68.3	115.8	153.7
	吸熱	124.1	126.1	152.8	191.0	58.3
	吸熱	204.7	205.6	211.2	220.1	7.5
AM(HS)2	吸熱	29.6	29.8	70.7	107.2	70.0
	吸熱	113.7	116.0	140.3	167.0	32.7
	吸熱	205.6	207.2	213.8	221.3	4.8
結晶I-HS	吸熱	181.9	193.7	204.6	213.8	98.9

物理表徵結論

API形式AM(HS)1及AM(HS)2係藉由偏振光顯微術無雙折射之非晶形，且無可辨別之x射線繞射峰之兩個批次之XRPD圖案亦係不同的

非晶形。非晶形化合物之TGA顯示逐步重量損失，此與在差示掃描量熱法中觀察到之吸熱事件一致。前兩個吸熱事件相當顯著且可指示蒸發及/或去溶劑化。最後吸熱事件係於在結晶材料中觀察到之熔融之近似溫度下發生。兩個非晶形批次之吸濕性相當強，且在解吸附後顯著滯後。AM(HS)1在80% RH下增加了其初始質量之大於13%。同樣，AM(HS)2在80% RH下增加了其起始質量之近12%。DVS後的XRPD指示在動態蒸氣吸附期間無形式變化，然而觀察到在試樣架中潮解之粉末使得難以自試樣架去除經潮解粉末。

結晶型(I-HS)具有結晶性質，其中呈其積聚物狀形態時具有許多繞射峰(藉由x射線繞射)及真實雙折射(藉由偏振光顯微術)。結晶型(I-HS)顯示6%之熱重重量損失，此與在193.7°C下發生之吸熱熔融起始一致。結晶型(I-HS)不具有吸濕性，且在80% RH下僅增加其起始質量之1%。

第二部分：結晶型(I-HS)之粉末性質

以下研究將結晶硫酸氫鹽與非晶形硫酸鹽粉末相比較，包括每一形式之對於製造固體口服劑型(例如錠劑或膠囊)較為重要之流動性質之研究。所實施之工作包括容積密度、敲緊密度、靜止角及壓縮輪廓。

摻合物

根據表15及16中呈現之配方產生摻合物。該等摻合物代表可作為基於直接壓縮或碾壓之錠劑或經調配膠囊製造之錠劑調配物。首先，將API (即，AM(HS)或結晶型(I-HS))、微晶纖維素(MCC)及澱粉或乳糖添加至30 cc琥珀色玻璃瓶中並在TURBULA® Shaker混合器上以25 rpm摻和3分鐘。然後，將剩餘賦形劑添加至瓶中並在TURBULA®上以25 rpm再摻和3分鐘。

表15. 具有2:1 MCC:乳糖、50%藥物負荷之錠劑調配物

組份	級別	目的	百分比	目標質量 (g)	結晶	非晶形
					實際質量 (g)	實際質量 (g)
API	NA	藥 物 物質	50.00	2.500	2.5004	2.5009
MCC	PH102 NF	稀 釋 劑	30.30	1.515	1.5152	1.5153
乳糖	Fast-Flo 316	稀 釋 劑	15.20	0.760	0.7603	0.7602
交聯羧甲基纖維素鈉	Ac-Di-Sol	崩 解 劑	3.00	0.150	0.1503	0.1498
二氧化矽	Cabosil	助 滑 劑	1.00	0.050	0.0502	0.0497
硬脂酸鎂	USP-NF	潤 滑 劑	0.50	0.025	0.0248	0.0254
總計			100.00	5.000	5.0012	5.0013

表16. 具有1:1 MCC:澱粉、50%藥物負荷之錠劑調配物

組份	級別	目的	百分比	目標質量 (g)	結晶	非晶形
					實際質量 (g)	實際質量 (g)
API	N/A	藥 物 物質	50.00	2.500	2.4994	2.4998
MCC	PH102 NF	稀 釋 劑	22.75	1.138	1.1385	1.1387
預膠化澱粉	StarCap 1500	稀 釋 劑	22.75	1.138	1.1385	1.1376
交聯羧甲基纖維素鈉	Ac-Di-Sol	崩 解 劑	3.00	0.150	0.1507	0.1503

二氧化矽	Cabosil	助滑劑	1.00	0.050	0.0500	0.0498
硬脂酸鎂	USP-NF	潤滑劑	0.50	0.025	0.0252	0.0250
總計			100.00	5.000	5.0023	5.0012

靜止角

靜止角係藉由表面之水平基線與顆粒之圓錐體樣堆之邊緣形成之角度。其係自以下等式來計算：

$$\theta = \tan^{-1}\left(\frac{h}{r}\right)$$

藉由以下量測靜止角：藉助具有3/16''內徑出口之漏斗緩慢傾倒約1 g試樣。然後使粉末降落1 11/16''以著陸於顛倒結晶皿之表面上，在其上形成粉末堆。在添加所有材料後拍攝堆之圖片。經由量角器在圖片上量測結晶皿表面與堆表面之間之角度。在不同試樣間之設置中小心地複製相同位置及降落距離。

容積密度及敲緊密度

藉助與量筒不直接接觸之漏斗將粉末添加至預稱重之10 mL量筒中以避免振動之轉移。添加粉末直至達到10 mL體積且然後稱重具有粉末之量筒。藉由 $\frac{(\text{量筒} + \text{粉末之質量}) - \text{空量筒之質量}}{10\text{mL}}$ 計算容積密度。用以下順序輕敲量筒中之相同試樣：100次輕敲、150次輕敲、250次輕敲、250次輕敲。在每一間隔後量測體積。藉由敲緊密度 = $\frac{(\text{量筒} + \text{粉末之質量}) - \text{空量筒之質量}}{750 \text{ 次總敲擊後之體積}}$ 計算敲緊密度。

根據以下等式計算卡爾指數：

$$CI = \frac{\rho_{\text{敲緊}} - \rho_{\text{容積}}}{\rho_{\text{敲緊}}} \times 100$$

利用以下等式計算抑制豪斯納比率：

$$HR = \frac{\rho_{敲緊}}{\rho_{容積}}$$

壓縮輪廓

藉由針對每一摻合物在5個不同的壓縮壓力下產生5/16’’直徑的圓錠劑生成壓縮輪廓。按壓設定為1秒駐留時間及15%幫浦速度。使用700 kg、1000 kg、1500 kg及2000 kg之壓縮力針對所有四種粉末摻合物產生錠劑。基於先前錠劑之結果選擇最高壓縮力。然後量測錠劑質量、尺寸及破裂力。使用模板繪製該等數據之圖形，產生壓縮壓力對拉伸強度之圖形(圖39)。

結果

表17. 參考值

流動特徵	靜止角	豪斯納比	壓縮指數(%)
極佳	25-30°	1.00-1.11	≤10
良好	31-35°	1.12-1.18	11-15
中等	36-40°	1.19-1.25	16-20
尚可	41-45°	1.26-1.34	21-25
較差	46-55°	1.35-1.45	26-31
極差	56-65°	1.46-1.59	32-27
超差	≥66°	≥1.60	≥38

結果呈現於表 18 及 19 及圖 39 中。根據美國藥典規約 (U.S. Pharmacopeial Convention，USP)，所有試樣皆歸入流動尚可或較差之類別，如藉由靜止角所量測。角度愈大指示流動愈差。根據USP卡爾指數(壓縮指數)及豪斯納比歸於尚可與極差之間。結晶API與非晶形API顯著不同且該等差異存在於所有調配摻合物中(無論非晶形或結晶API之含量如何)。對於結晶API，豪斯納比及卡爾指數指示流動性質「尚可」。非晶形API具有相當差的流動性質，豪斯納比及卡爾指數被歸類為「極差」。對於相關USP表，參見表17。

當產生錠劑用於壓縮輪廓時，結晶API摻合物產生多個在自工具射出後破裂之錠劑。非晶形API摻合物似乎產生視覺上更好之錠劑，即極少破裂至無破裂。

表18. 靜止角

試樣	$\theta(^{\circ})$	$\phi(^{\circ})$	平均($^{\circ}$)
L-ARR10-118	50.28	50.28	50.28
AR00457470-33	47.79	43.6	45.70
2:1 MCC:乳糖L-ARR10-118	45.21	41.81	43.51
2:1 MCC:乳糖AR00457470-33	41.01	42.64	41.83
1:1 MCC:澱粉L-ARR10-118	39.52	41.01	40.27
1:1 MCC:澱粉AR00457470-33	40.44	48.59	44.52

* θ 及 ϕ 係錐體(2D)之任一側上之角度。

表19. 容積及敲緊密度

試樣	容積密度 (mg/mL)	敲緊密度 (mg/mL)	卡爾指數	豪斯納比
L-ARR10-118	594.8	762.6	22%	1.28
AR00457470-33	423.6	622.9	32%	1.47
2:1 MCC:乳糖L-ARR10-118	435.3	621.9	30%	1.43
2:1 MCC:乳糖AR00457470-33	408.1	583.0	30%	1.43
1:1 MCC:澱粉L-ARR10-118	437.9	625.5	30%	1.43
1:1 MCC:澱粉AR00457470-33	411.4	605.0	32%	1.47

粉末性質結論

藉由靜止角，所測試之結晶型(I-HS)調配摻合物、非晶形API及非晶形API調配摻合物具有「極差」流動特徵。然而，藉由卡爾指數及豪斯納比，結晶API (結晶型(I-HS))具有「尚可」流動特徵。此處顯著更好之流動性質有利於固體口服劑型研發及製造。具有兩批粉末之兩種摻合物之壓縮輪廓方面亦沒有大的差異。此指示(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶

-1-甲醯胺硫酸氫鹽(非晶形抑或結晶)均不會正性及負性地影響50%藥物負荷下之摻合物之流動。

第三部分：AM(HS)1及結晶型(I-HS)之穩定性

將AM(HS)1及結晶型(I-HS)之粉末之等份試樣置於非加蓋(開放)的20 mL閃爍小瓶中，並將小瓶置於放入在40°C /75% RH下維持5週之穩定性室中之LDPE袋中。在自室去除後，藉由外觀、KF、TGA、DSC、XRD及PLM物理表徵試樣。亦藉由HPLC分析試樣之層析純度、對掌性完整性及效能。若適用，穩定性部分中呈現之數據亦包括初始T=0數據用於比較目的。數據可參見表20至24及圖40至44。

表20. 穩定性試樣之外觀

化合物	條件	時間點(週次)	外觀	蒙賽爾 編號
AM(HS)1	NA	0	黃色粉末，不含聚結物	7.5Y 9/10
AM(HS)1	40°C /75% RH	5	橙色粉末，一些聚結物	2.5YR 7/10
結晶型(I-HS)	NA	0	橙色粉末，不含聚結物	2.5YR 7/10
結晶型(I-HS)	40°C /75% RH	5	橙色粉末，不含聚結物	2.5YR 7/10

表21. 穩定性試樣之TGA及KF

化合物	條件	時間點 (週次)	熱重分析			KF (w/w %)
			開始 (°C)	停止 (°C)	變化 (%)	
AM(HS)1	NA	0	24.78	111.94	3.78	2.00
			111.94	186.94	3.09	
AM(HS)1	40°C /75% RH	5	36.27	217.16	5.32	0.56
結晶型(I-HS)	NA	0	23.77	218.58	6.01	0.28

結晶型(I-HS)	40°C/75% RH	5	36.66	217.87	6.00	0.21
-----------	----------------	---	-------	--------	------	------

表22. 穩定性試樣之DSC

化合物	條件	時間 點(週 次)	差示掃描量熱法					
			類型	開始 (°C)	起始 (°C)	最大(°C)	停止 (°C)	ΔH (J/g)
AM(HS)1	NA	0	吸熱	28.7	29.9	68.3	115.8	153.7
			吸熱	124.1	126.1	152.8	191.0	58.3
			吸熱	204.7	205.6	211.2	220.1	7.5
AM(HS)1	40°C/75% RH	5	吸熱	182.7	196.7	206.3	217.7	95.9
結晶型(I-HS)	NA	0	吸熱	181.9	193.7	204.6	213.8	98.9
結晶型(I-HS)	40°C/75% RH	5	吸熱	181.3	193.4	204.1	214.1	99.4

表23. 穩定性試樣之HPLC數據

化合物	條件	時間點 (週次)	總雜質(%)	分析(%)	對掌性效能(%)
AM(HS)1	NA	0	1.10	79.5	99.6
AM(HS)1	40°C/75% RH	5	1.16	80.3	99.6
結晶型(I-HS)	NA	0	0.14	79.4	99.6
結晶型(I-HS)	40°C/75% RH	5	0.07	79.6	99.6

表24. HPLC數據：藉由穩定性試樣之RRT之峰面積%

試樣	條件	時間點 (週次)	RRT				
			0.793	0.863	0.981	1.000	1.535
AM(HS)1	NA	0	0.00	0.98	0.12	98.89	0.00
	40°C/75% RH	5	0.00	1.04	0.12	98.83	0.00
結晶型(I-HS)	NA	0	0.07	0.00	0.00	99.86	0.07
	40°C/75% RH	5	0.07	0.00	0.00	99.93	0.00

穩定性結論

非晶形化合物AM(HS)1在增濕條件下不穩定且經一定時間段傾向於結晶。此可藉由在濕度室中保存之試樣之潮解及變化之外觀(藉由眼睛及偏振光顯微術)來證實(未顯示數據)。非晶形材料自自由流動的黃色粉末變為橙色積聚之非自由流動粉末。非晶形API之偏振光顯微術、XRPD、DSC、TGA及KF在加速穩定性研究之過程期間亦發生顯著變化，從而變為與結晶型(I-HS)相同之多晶型。在加速穩定性研究之過程期間非晶形化合物AM(HS)1之XRPD圖案轉變為結晶型(I-HS)之XRPD圖案。偏振光顯微術在正交偏振光下自非雙折射變為雙折射，此指示非晶形變化為結晶API。t = 0時之DSC具有兩個熔融最大值為68.3°C及152.8°C之吸熱事件，該等事件在t = 5週時間點時消失。對於非晶形材料僅剩下熔融最大值為206°C之單一吸熱事件。此熔融最大值匹配結晶API之溫度記錄圖。t = 5週時之非晶形材料之TGA曲線亦發生變化以匹配結晶API之曲線及重量損失。結晶型(I-HS)在加速條件下儲存後未展現吸濕性及色彩、形態或結晶性之任何變化。

AM(HS)1或結晶型(I-HS)之API化學純度在穩定性研究之過程期間未發生顯著變化。然而，非晶形及結晶型(I-HS)之雜質概況係顯著不同的。非晶形材料含有顯著高於結晶型(I-HS)之雜質含量(表22及23)。據信在相對保留時間(RRT) 0.863 (0.00%對0.98%)及1.535 (0.00%對0.12%)下結晶型(I-HS)對非晶形AM(HS)1之減少之雜質係由經由排斥該等雜質且優於分離非晶形AM(HS)1之方法之結晶製程分離結晶型(I-HS)引起的。非晶形AM(HS)1分離製程似乎不會有效排斥該等雜質。

研究之總體概述

1. 結晶型(I-HS)具有好於非晶形形式AM(HS)之流動性質。相對

於AM(HS)，流動性質之差異將改良固體口服劑型結晶型(I-HS)之研發。

2. 在LDPE袋中在40°C /75% RH下保持5週之穩定性研究對於化合物之任何形式均未顯示化學純度等級之顯著變化。然而，其揭露結晶型(I-HS)在該研究之過程期間在其物理化學性質方面未發生顯著變化。相比之下，AM(HS)轉化為藉由XRPD、DSC、TGA、KF及偏振光顯微術實質上類似於結晶型(I-HS)之結晶型。另外，AM(HS)在穩定性測試之過程期間變為流動性質有所降低之積聚粉末。在儲存AM(HS)後非晶形AM(HS)性質變為流動能力有所降低之結晶材料及/或積聚粉末將使得無法製造供患者使用之基於非晶形化合物之固體口服劑型。

3. AM(HS)在暴露於濕度時有所潮解。此在儲存及製造期間將需要取顯著處置防範措施以預防此發生，而在結晶型(I-HS)及使用結晶型(I-HS)製備之任一固體口服劑量產品之製造期間，結晶型(I-HS)不需要該等防範措施。

4. 結晶型(I-HS)提供與AM(HS)相比顯著改良之雜質概況。控制雜質概況之能力對於患者安全性較為重要且係監管機構所要求的。

實例9

結晶型(I-HS)降低特徵在於表現Trk融合蛋白之腫瘤之生長

實施一組實驗以確定結晶型(I-HS)是否會抑制小鼠中三種不同的異種移植物(人類)腫瘤之生長，其中每一異種移植物腫瘤均源於癌症細胞系。該三種不同的癌症細胞系為CUTO-3F細胞系、KM12細胞系及MO-91細胞系，每一者均表現不同的Trk基因融合。如實例5中所闡述，CUTO-3F細胞系源於患有具有MPRIIP-NTRK1基因融合之肺腺癌之患者，KM12細胞系係具有TPM3-NTRK1融合之結腸直腸癌細胞系(Vaishnavi等人，*Nature Med.* 19:1469-1472, 2013)，且MO-91細胞系

源於具有ETV6-NTRK3融合之急性骨髓樣白血病患者(Taipale等人，*Nature Biotech.* 31:630-637, 2013)。在小鼠中植入該三種不同異種移植植物(人類)腫瘤中之一者之後，隨時間監測每一腫瘤之體積之變化。對所得小鼠不進行治療或在植入異種移植植物後開始經口投與60 mg/kg或200 mg/kg之日劑量之結晶型(I-HS) (分別圖45至47)。

該等數據顯示結晶型(I-HS)之投與能有效中止哺乳動物中特徵在於表現致癌Trk融合蛋白之人類腫瘤之生長，或降低該等腫瘤生長之速率。

儘管上述說明書教示本發明之原理，且實例係出於圖解說明之目的來提供，但應瞭解本發明之實踐涵蓋所有常見變化、改動及/或修改，其同樣在以下申請專利範圍及其等效物之範圍內。

參考文獻：

1. Wiesner等人，*Nature Comm.* 5:3116, 2014.
2. Vaishnavi等人，*Nature Med.* 19:1469-1472, 2013。
3. Greco等人，*Mol. Cell. Endocrinol.* 28:321, 2010。
4. Kim等人，*PloS ONE* 9(3):e91940, 2014。
5. Vaishnavi等人，*Nature Med.* 19:1469-1472, 2013。
6. Fernandez-Cuesta等人，「Cross-entity mutation analysis of lung neuroendocrine tumors sheds light into their molecular origin and identifies new therapeutic targets,」 AACR Annual Meeting 2014, Abstract, 2014年4月。
7. Stransky等人，*Nature Comm.* 5:4846, 2014。
8. Ross等人，*Oncologist* 19:235-242, 2014。
9. Doebele等人，*J. Clin. Oncol.* 32:5s, 2014。
10. Jones等人，*Nature Genetics* 45:927-932, 2013。
11. Wu等人，*Nature Genetics* 46:444-450, 2014。

12. WO 2013/059740

13. Zheng等人，「Anchored multiplex PCR for targeted next-generation sequencing,」 *Nature Med.*, 2014年11月10日在線公開。

14. Caria等人，*Cancer Genet. Cytogenet.* 203:21-29, 2010。

15. Frattini等人，*Nature Genet.* 45:1141-1149, 2013。

16. Martin-Zanca等人，*Nature* 319:743, 1986。

17. Meyer等人，*Leukemia* 21: 2171-2180, 2007。

18. Reuther等人，*Mol. Cell. Biol.* 20:8655-8666, 2000。

19. Marchetti等人，*Human Mutation* 29(5):609-616, 2008。

20. Tacconelli等人，*Cancer Cell* 6:347, 2004。

21. Walch等人，*Clin. Exp. Metastasis* 17: 307-314, 1999。

22. Papatsoris等人，*Expert Opin. Invest. Drugs* 16(3):303-309, 2007。

23. Van Noesel等人，*Gene* 325: 1-15, 2004。

24. Zhang等人，*Oncology Reports* 14: 161-171, 2005。

25. Truzzi等人，*J. Invest. Dermatol.* 128(8):2031, 2008。

26. Kolokythas等人，*J. Oral Maxillofacial Surgery* 68(6):1290-1295, 2010。

27. Ni等人，*Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 13:1511, 2012。

【符號說明】

無

【補充序列表】

<110> 美商亞雷生物製藥股份有限公司

<120> (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)-吡咯啉-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啉-1-甲醯胺
硫酸氫鹽結晶型

<130> 40449-0010TW1

<150> 62/169,545
<151> 2015-06-01

<150> 62/080,374
<151> 2014-11-16

<160> 2

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 1
gagggcgagc tgc atgat 18

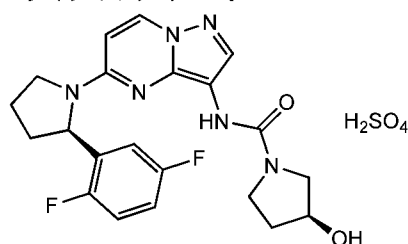
<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成寡核苷酸

<400> 2
cggcgcttga tgtggtgaac 20

申請專利範圍

1. 一種結晶物(I-HS)，其具有下式：



I-HS，

其中該結晶物特徵為在約18.4、約20.6、約23.0及約24.0處具有X射線粉末繞射(XRPD)峰(2 θ 度)的XRPD圖案。

2. 如請求項1之結晶物，其中在約10.6、約18.4、約20.6、約23.0及約24.0處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。
3. 如請求項1之結晶物，其中在約10.6、約18.4、約19.1、約20.2、約20.6、約21.5、約23.0及約24.0處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。
4. 如請求項1之結晶物，其中在約10.6、約15.3、約16.4、約18.4、約19.1、約19.8、約20.2、約20.6、約21.5、約22.0、約23.0、約24.0、約24.4、約25.6、約26.5、約27.5、約28.2、約28.6、約30.8及約38.5處具有XRPD繞射峰(2 θ 度)。
5. 如請求項1之結晶物，其中該結晶物具有實質上如圖29中所顯示之XRPD圖案。
6. 如請求項1之結晶物，其中該結晶物展現約197.9°C之峰值熔融溫度，如藉由差示掃描量熱法所量測。
7. 如請求項1之結晶物，其中該結晶物展現約2.415 mW之熔融熱，如藉由差示掃描量熱法所量測。
8. 如請求項1之結晶物，其中該結晶物具有實質上如圖3中所顯示之DSC溫度記錄圖。
9. 如請求項1之結晶物，其中該結晶物為非吸濕性。

10. 一種醫藥組合物，其包含醫藥上可接受之載劑及如請求項1至9中任一項之結晶物。
11. 一種醫藥組合物，其係藉由混合如請求項1至9中任一項之結晶物及醫藥上可接受之載劑製得。
12. 一種製備醫藥組合物之方法，其包含混合如請求項1至9中任一項之結晶物及醫藥上可接受之載劑。
13. 一種如請求項1至9中任一項之結晶物之用途，其係用於製備治療病症的藥物，該病症選自由以下各項組成之群：癌症、疼痛、發炎、神經變性疾病或克氏錐蟲感染(*Trypanosoma cruzi* infection)。
14. 一種如請求項1至9中任一項之結晶物之用途，其係用於製備治療有需要之個體中由Trk激酶介導之癌症的藥物。
15. 如請求項14之用途，其中該癌症係由TrkA介導。
16. 如請求項14之用途，其中該癌症係由TrkB介導。
17. 如請求項14之用途，其中該癌症係由TrkA及TrkB介導。
18. 一種如請求項1至9中任一項之結晶物之用途，其係用於製備治療經診斷或鑒定具有Trk相關性癌症之患者的藥物。
19. 一種如請求項1至9中任一項之結晶物之用途，其係用於製備治療有需要之個體之癌症之藥物，其中該治療包含：
 - (a) 確定該癌症是否與Trk激酶之過表現、活化、擴增及突變中之一或多者相關；及
 - (b) 向確定該癌症與Trk激酶之過表現、活化、擴增及突變中之一或多者相關之個體投與該藥物。
20. 一種如請求項1至9中任一項之結晶物之用途，其係用於製備治療有需要之個體之癌症之藥物，其中該治療包含：
 - (a) 確定該癌症是否由Trk激酶介導；及

(b) 向確定該癌症係由Trk激酶介導之該個體投與該藥物。

21. 一種如請求項1至9中任一項之結晶物之用途，其係用於製備治療有需要之個體之藥物，其中該治療包含：

(a) 對自該個體獲得之試樣實施分析以確定該個體是否具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或含量之失調；及

(b) 向確定具有NTRK基因、Trk蛋白或其表現或活性或含量之失調之個體投與該藥物。

22. 如請求項21之用途，其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或含量之該失調係造成Trk融合蛋白轉譯之染色體轉譯。

23. 如請求項22之用途，其中該Trk融合蛋白係選自由以下各項組成之群：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及TEL-TrkC。

24. 如請求項22之用途，其中NTRK基因、Trk蛋白或其表現或含量之該失調係該基因中之一或多個點突變。

25. 如請求項24之用途，其中該NTRK基因係NTRK1基因，且該

NTRK1基因中之該一或多個點突變造成在以下胺基酸位置中之一或多者處具有取代之TrkA蛋白之轉譯：33、336、337、324、420、444、517、538、649、682、683、702及1879。

26. 如請求項25之用途，其中該NTRK1基因中之該一或多個點突變造成具有以下胺基酸取代中之一或多者之TrkA蛋白之轉譯：R33W、A336E、A337T、R324Q、R324W、V420M、R444Q、R444W、G517R、G517V、K538A、R649W、R649L、R682S、V683G、R702C及C1879T。

27. 一種製備如請求項1之結晶物(I-HS)之方法，其包含：

(a) 向(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺於EtOH中之溶液中添加濃硫酸，以形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺之硫酸氫鹽；

(b) 向步驟(a)中之該溶液中添加庚烷以形成漿液；

(c) 過濾該漿液以分離(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽；

(d) 混合該(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽與水/2-丁酮之5:95 w/w溶液；

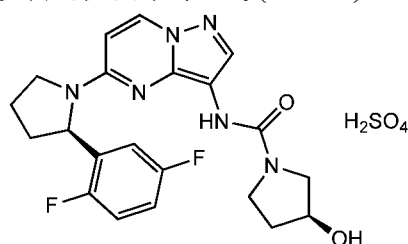
(e) 在攪拌的同時在約65°C至70°C下加熱步驟(d)之該混合物，直至乙醇之重量%為約0.5%，從而形成(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽之該結晶物之漿液；及

(f) 藉由過濾分離(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽之該結晶物。

28. 如請求項27之方法，其進一步包含：

(b1) 在室溫下利用(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-二氟苯基)吡咯啶-1-基)-吡唑并[1,5-a]嘧啶-3-基)-3-羥基吡咯啶-1-甲醯胺硫酸氫鹽對步驟(a)之該溶液加晶種，且允許攪拌該溶液直至形成漿液為止。

29. 一種液體調配物，其由具有下式(I-HS)之結晶物所製備：



I-HS，

其中該結晶物特徵為在約18.4、約20.6、約23.0及約24.0處具有XRPD峰(2 θ 度)的XRPD圖案。

30. 如請求項29之液體調配物，其中該結晶物特徵為在約10.6、約18.4、約20.6、約23.0及約24.0處具有XRPD峰(2 θ 度)。

31. 如請求項29之液體調配物，其中該結晶物特徵為在約10.6、約18.4、約19.1、約20.2、約20.6、約21.5、約23.0及約24.0處具有XRPD峰(2 θ 度)。

32. 如請求項29之液體調配物，其中該結晶物特徵為在約10.6、約15.3、約16.4、約18.4、約19.1、約19.8、約20.2、約20.6、約21.5、約22.0、約23.0、約24.0、約24.4、約25.6、約26.5、約27.5、約28.2、約28.6、約30.8及約38.5處具有XRPD峰(2 θ 度)。

33. 如請求項29之液體調配物，其中該結晶物展現約197.9°C之峰值熔融溫度，如藉由差示掃描量熱法所量測。

34. 如請求項29之液體調配物，其中該結晶物展現約2.415 mW之熔融熱，如藉由差示掃描量熱法所量測。

35. 如請求項29之液體調配物，其中該結晶物為非吸濕性。

圖式

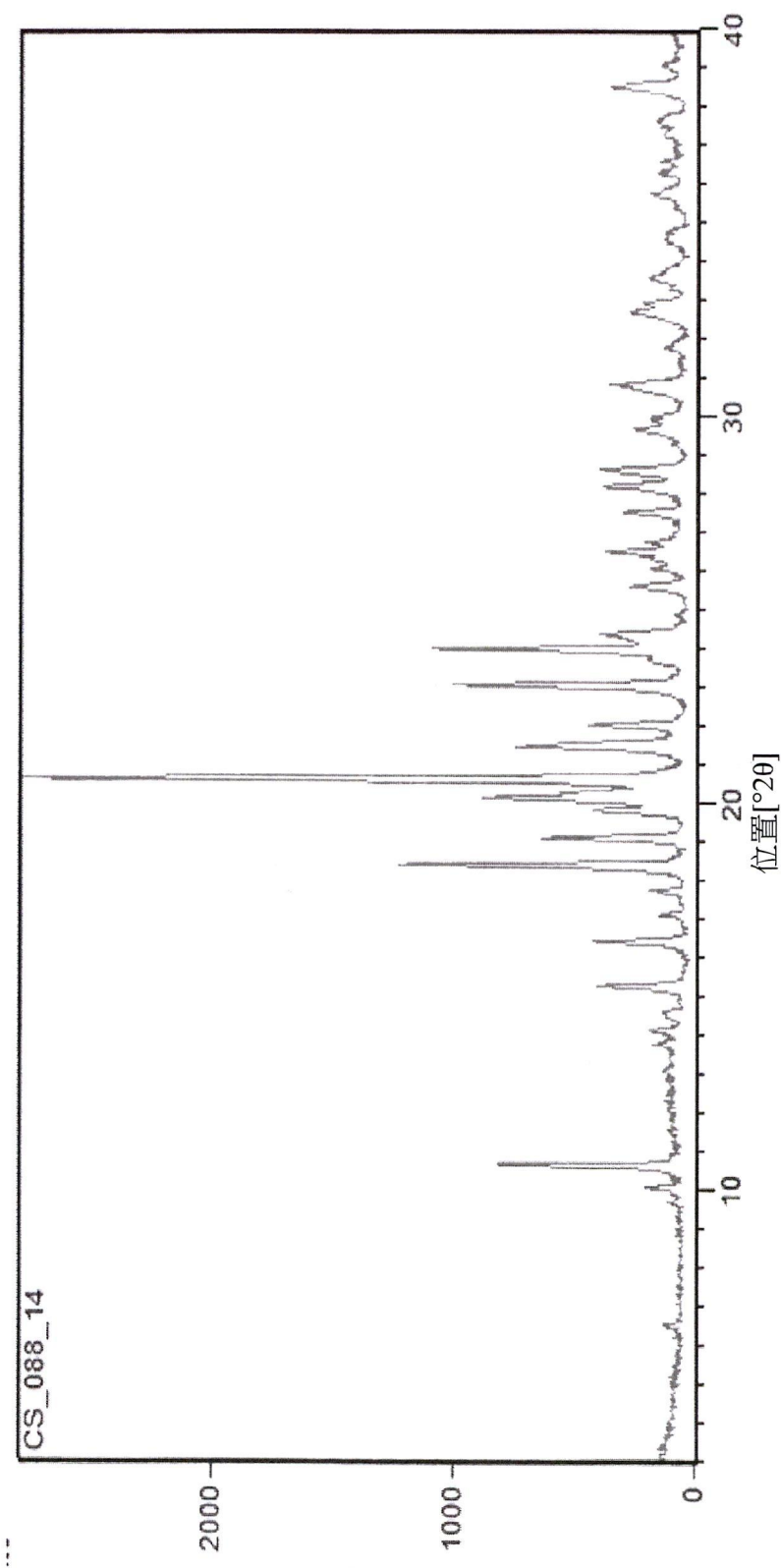


圖 1

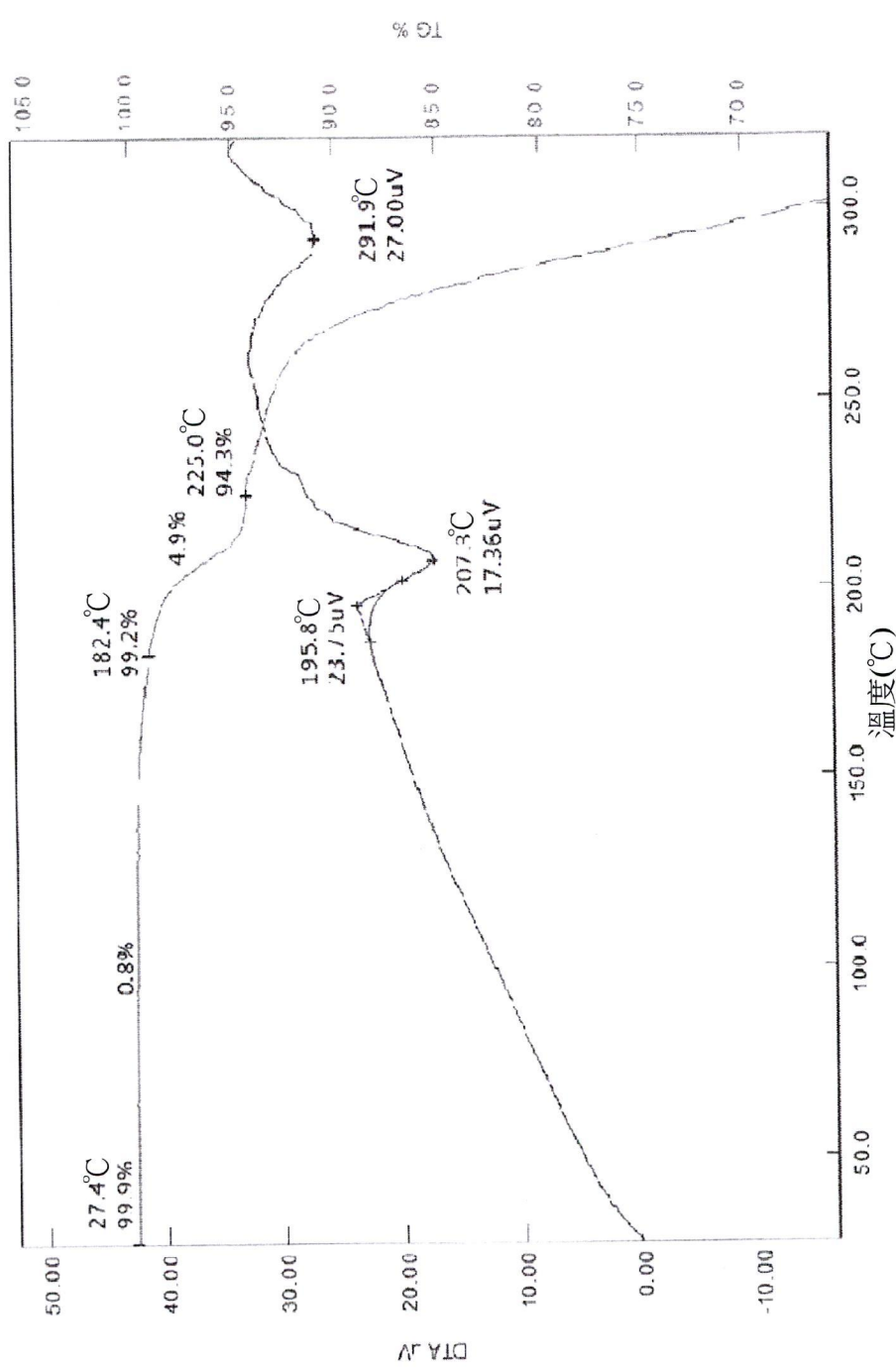


圖 2



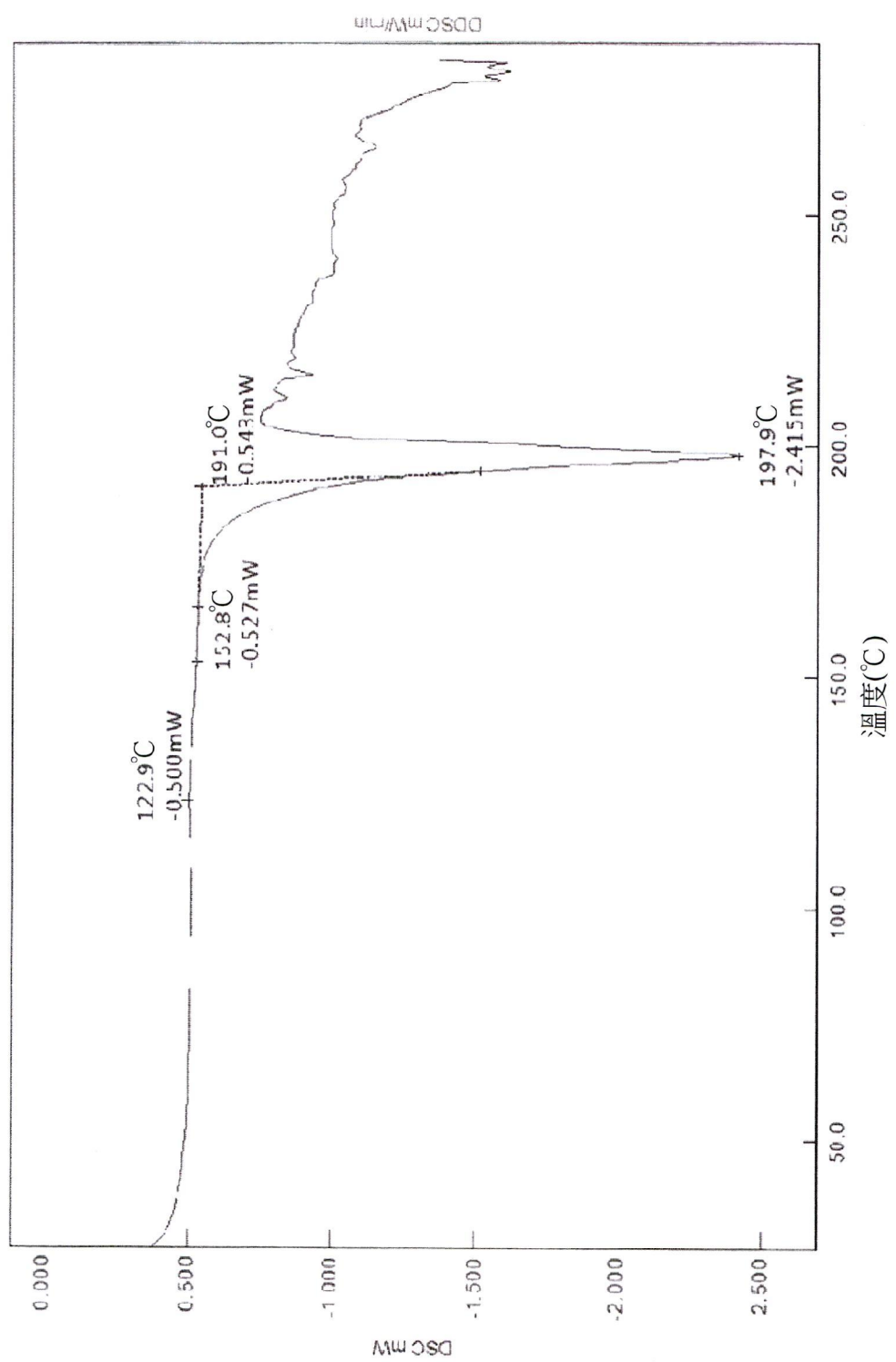
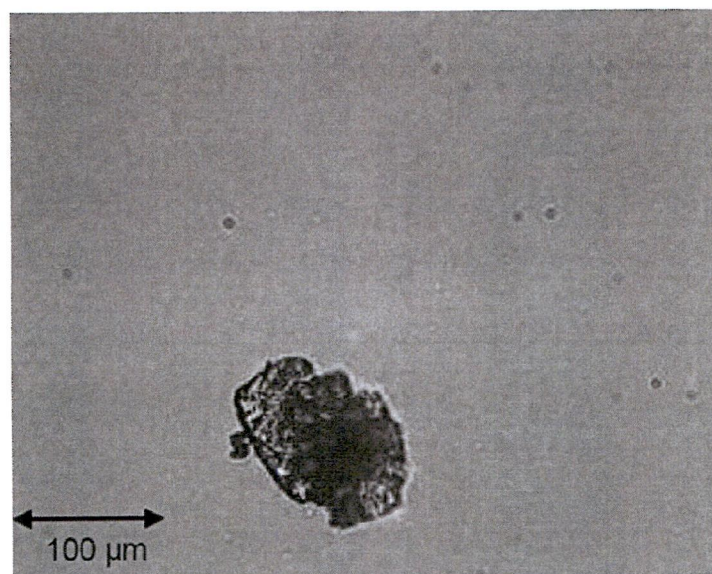
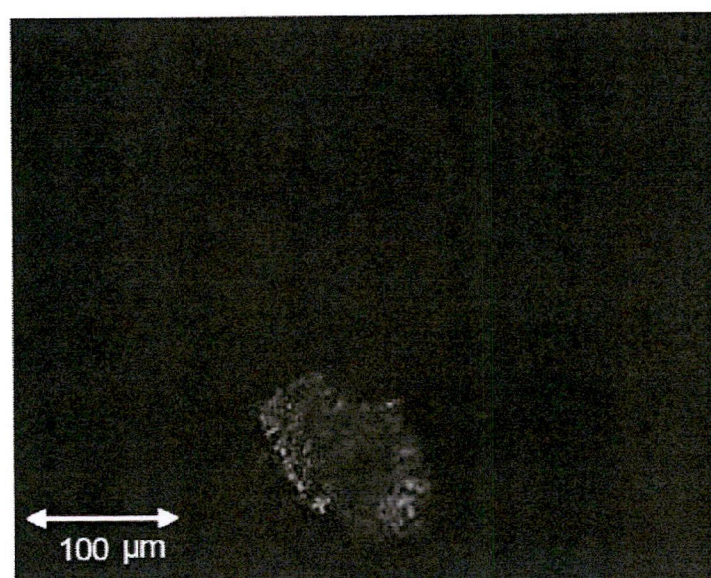


圖 3



非偏振光

圖 4A



偏振光

圖 4B

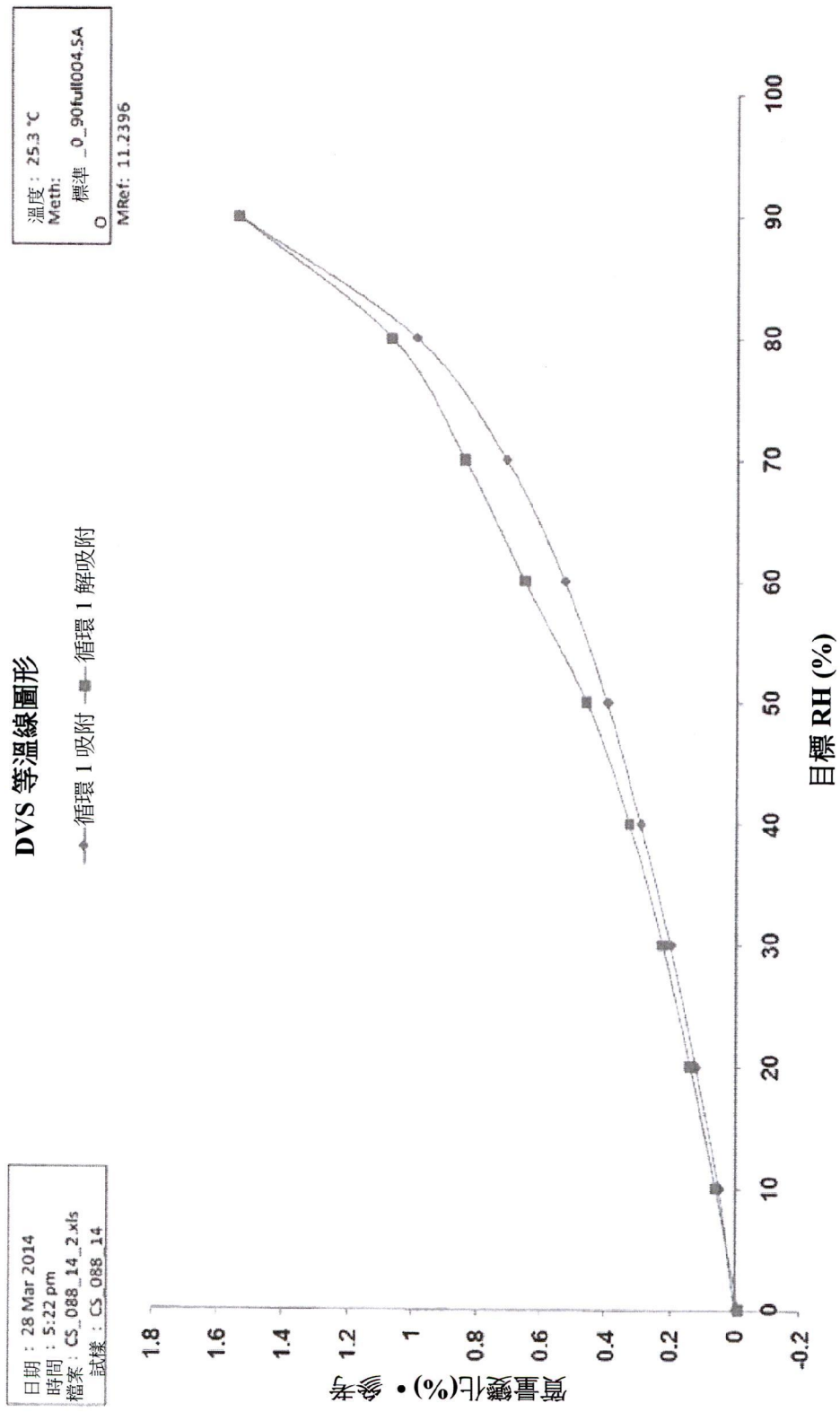


圖 5

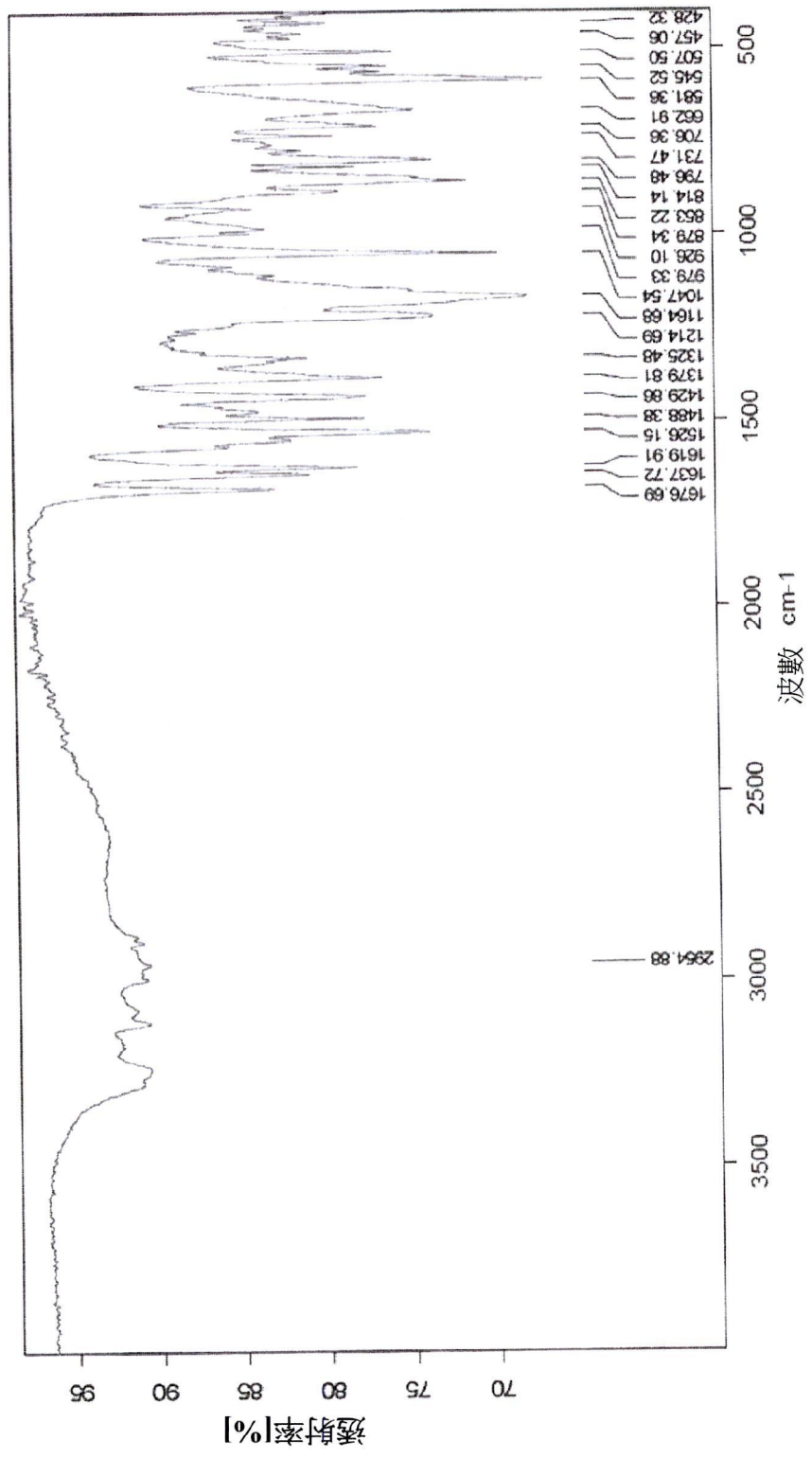


圖 6



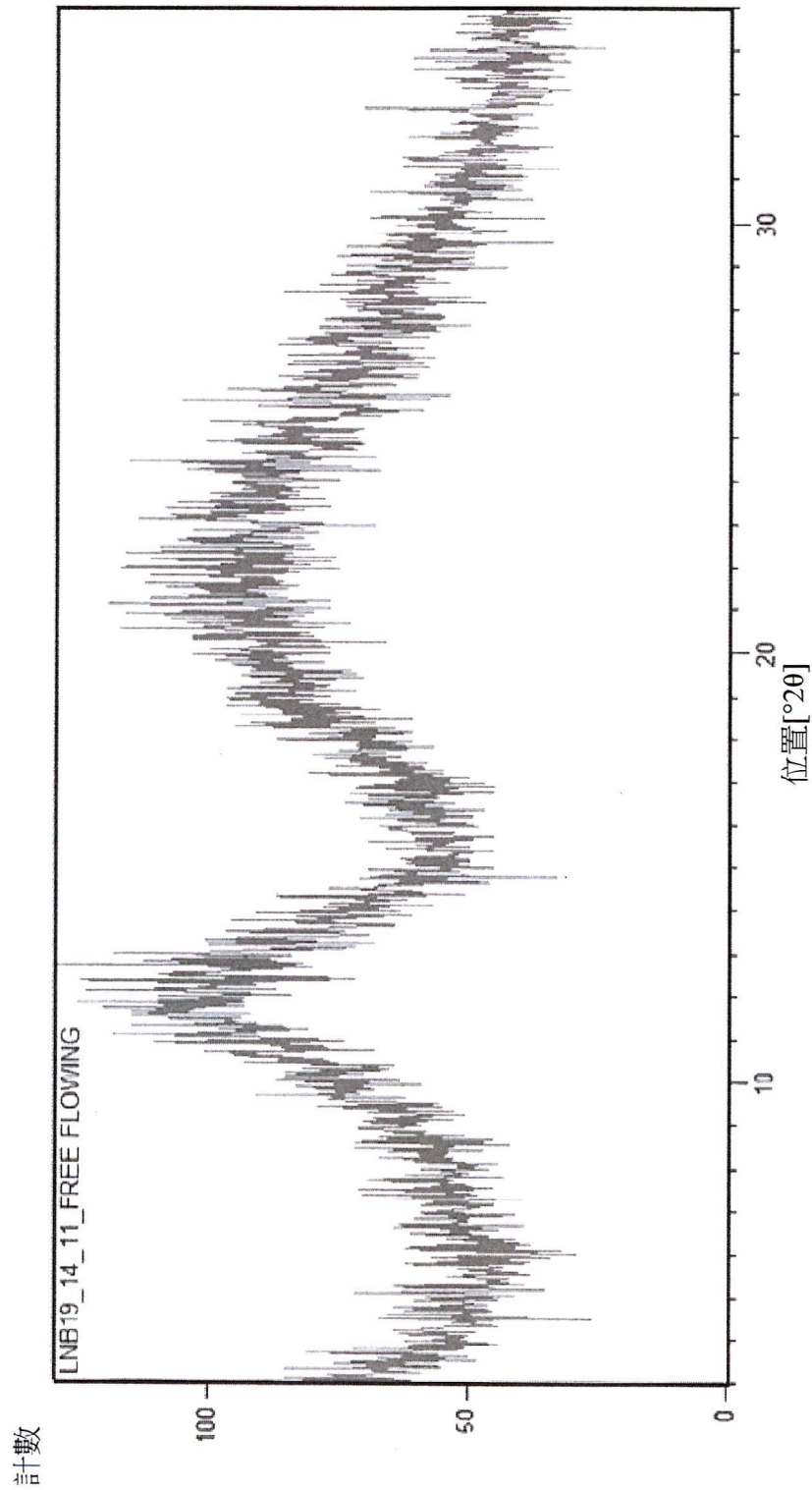


圖 7

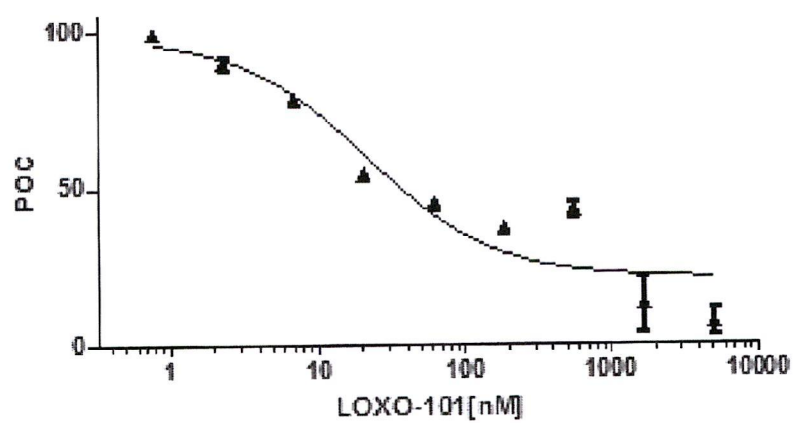


圖 8

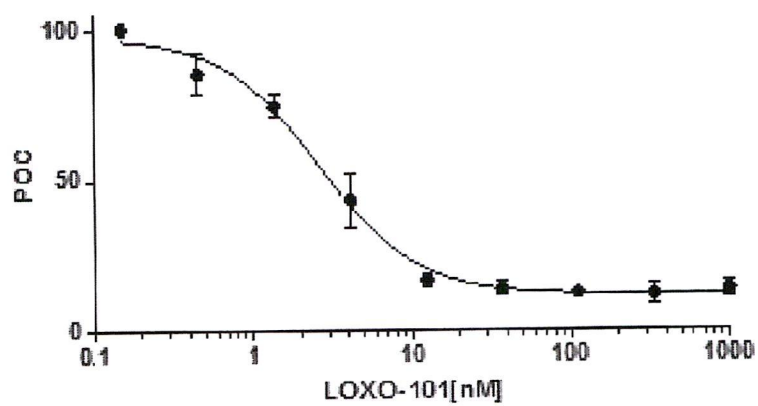


圖 9

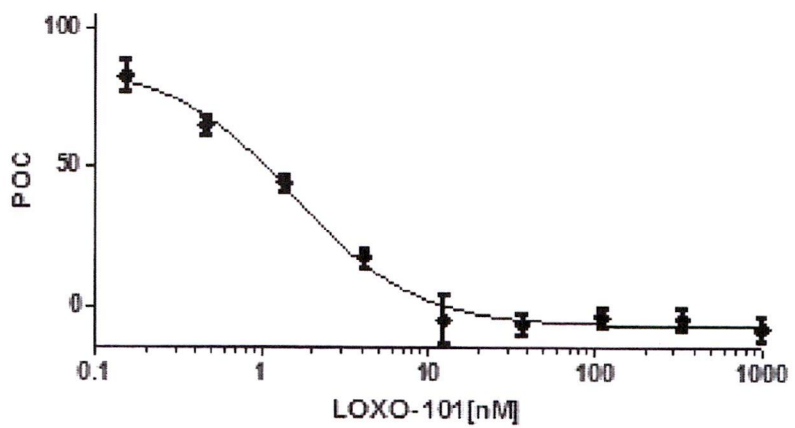


圖 10

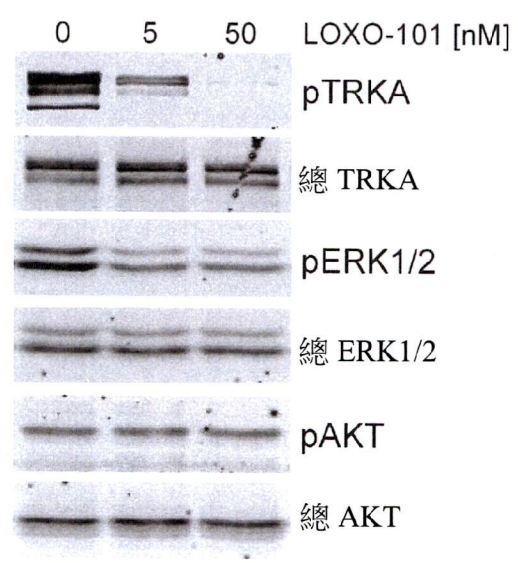


圖 11

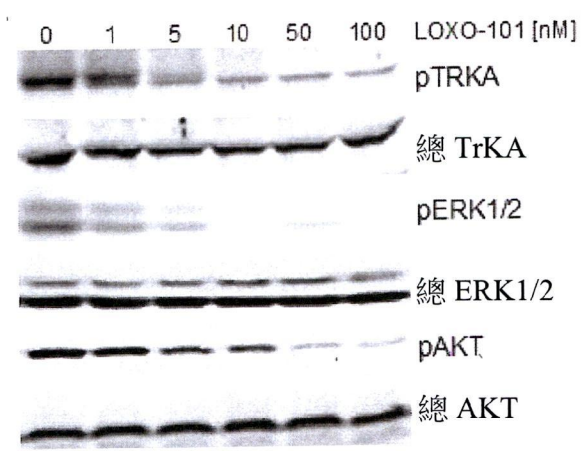


圖 12

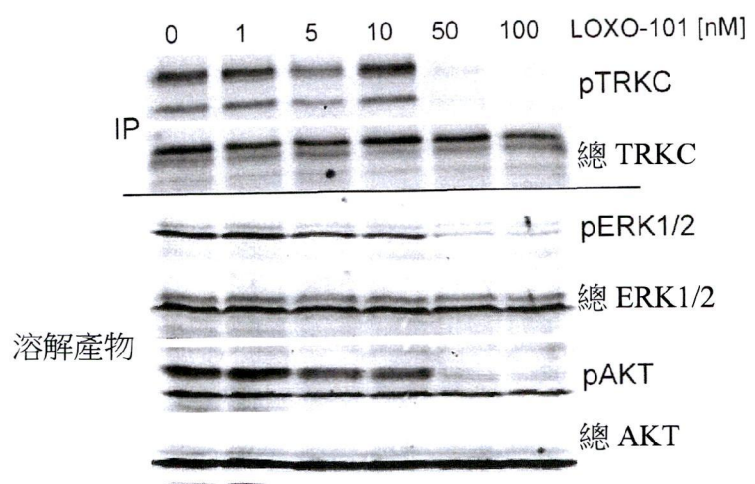


圖 13

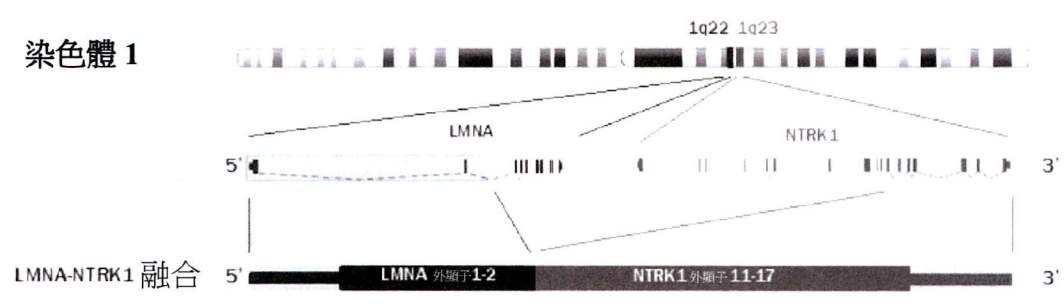


圖 14

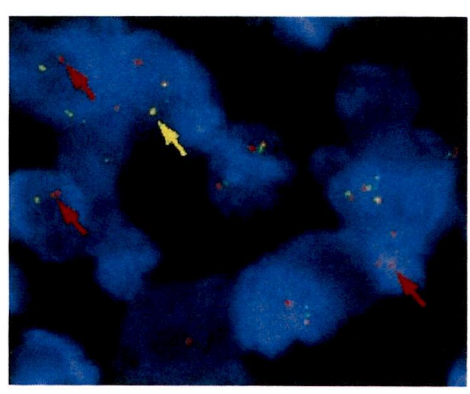


圖 15

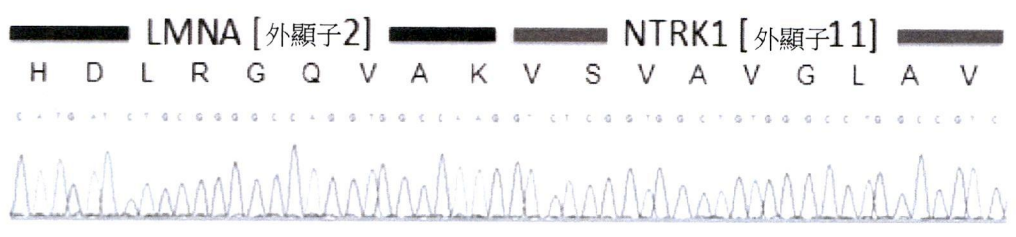


圖 16

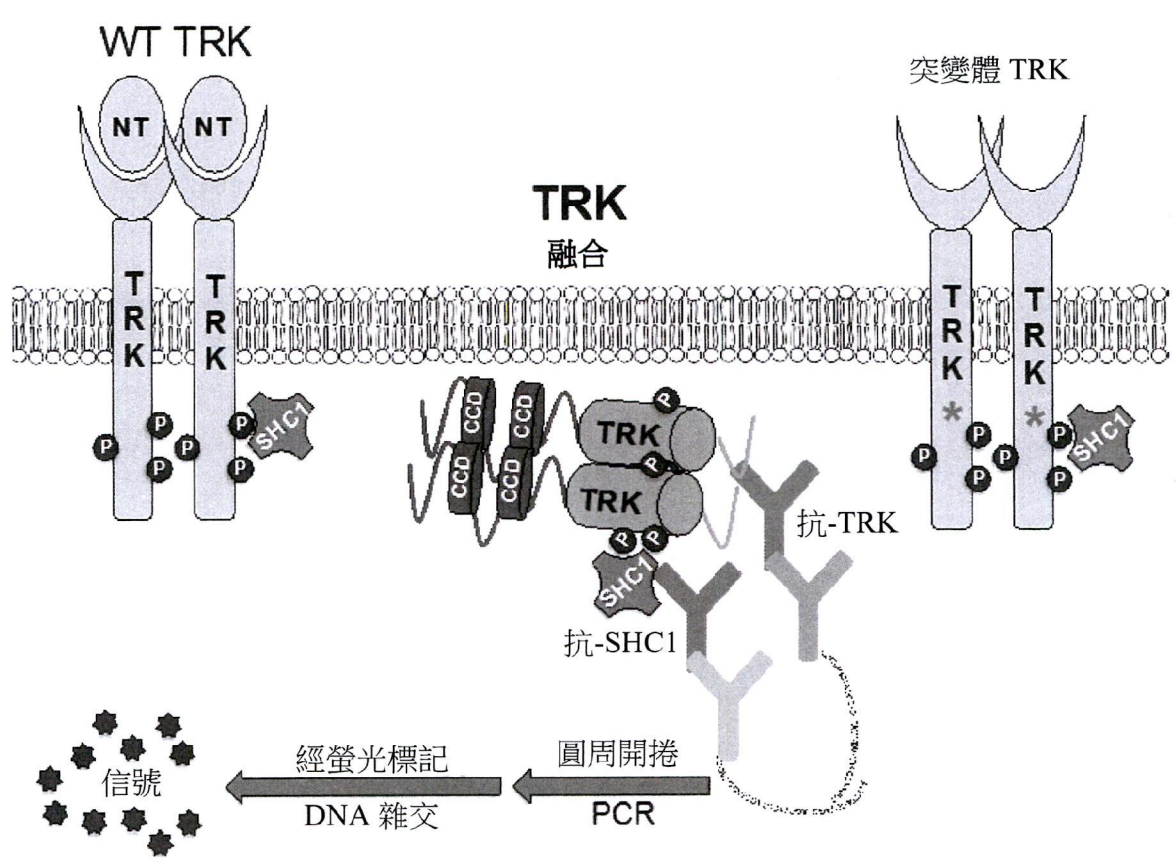


圖 17



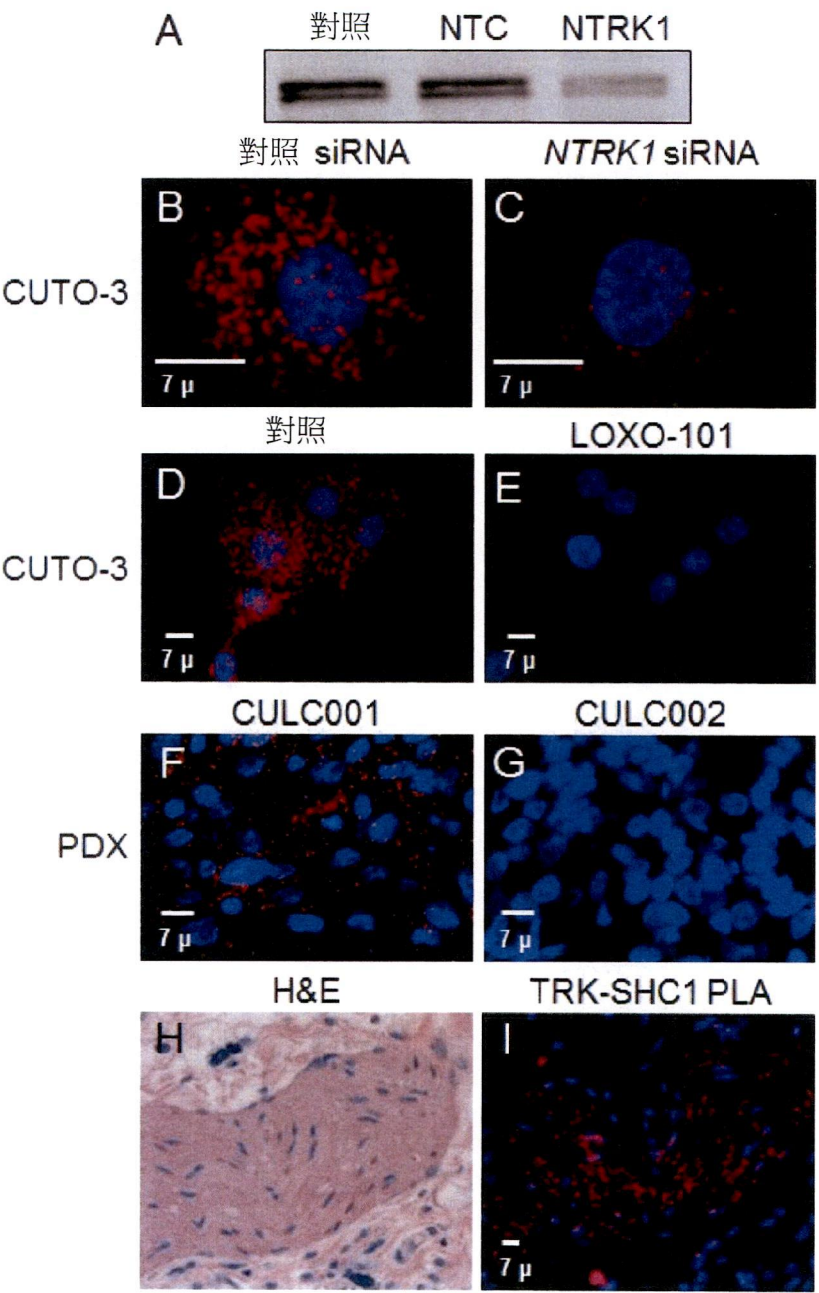
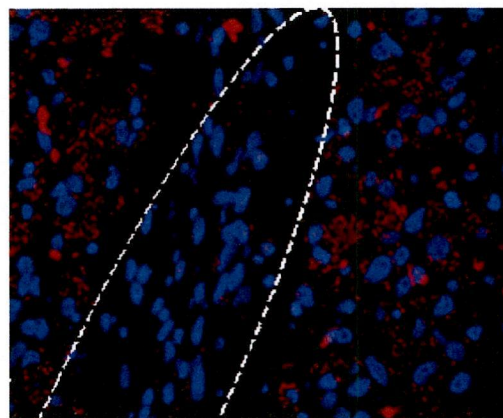


圖 18

A



B

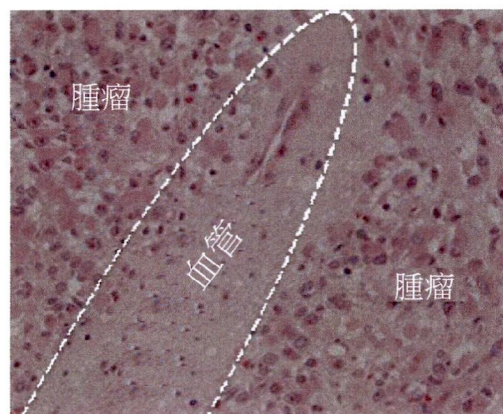
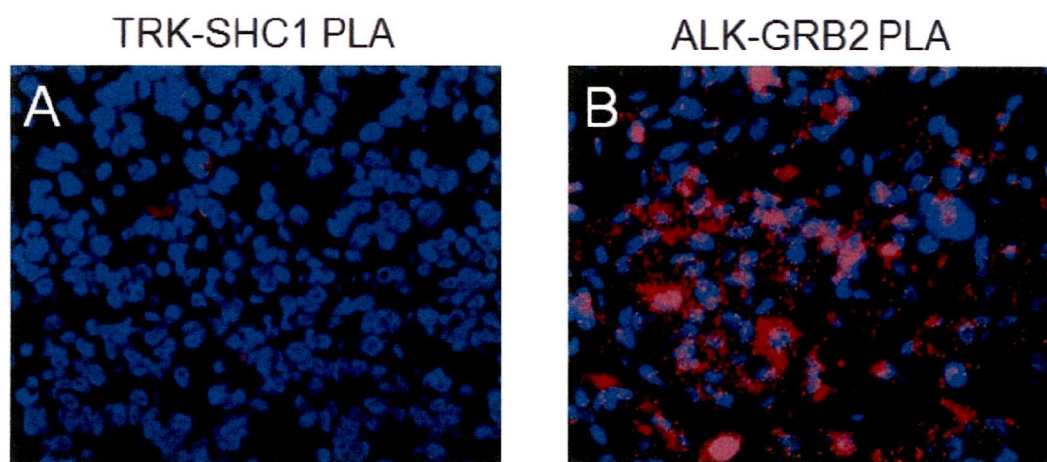


圖 19



ALK+ NSCLC 患者

圖 20

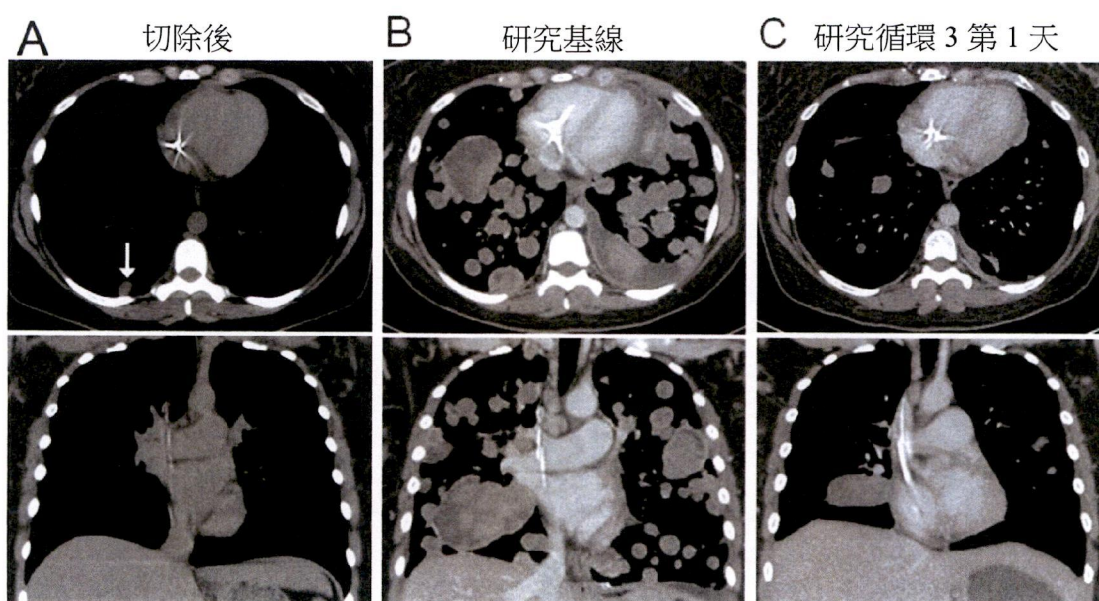


圖 21

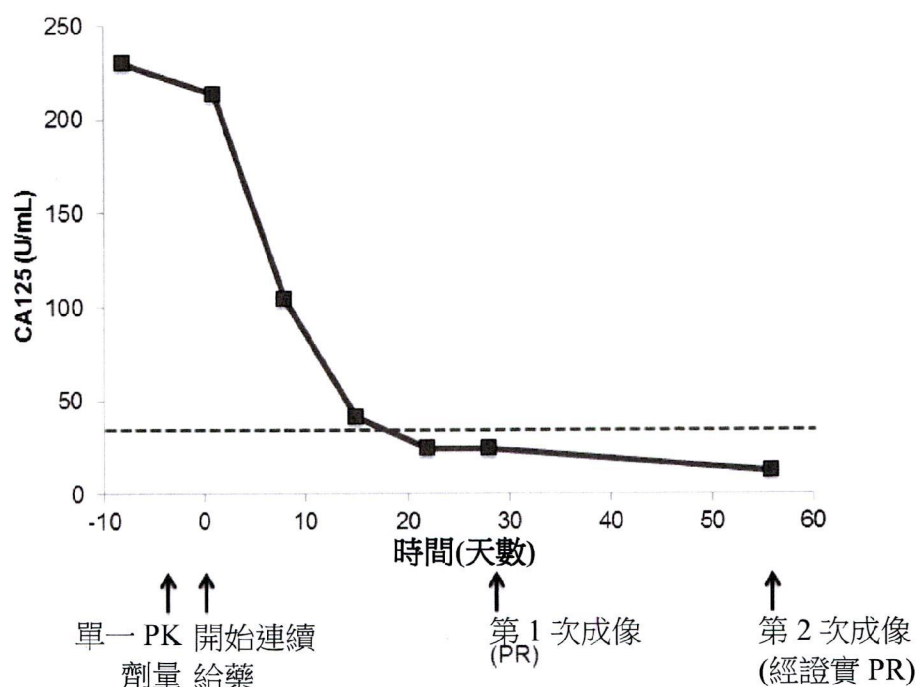


圖 22

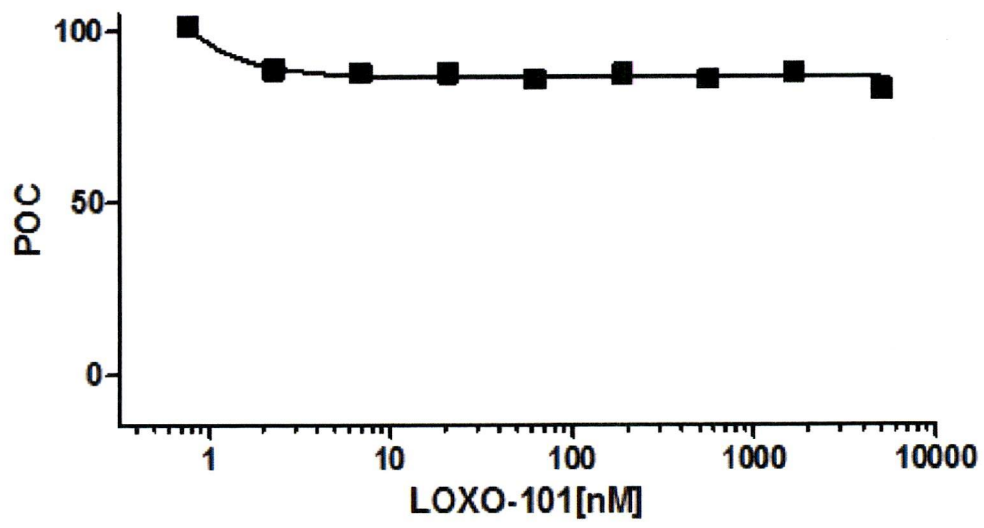


圖 23



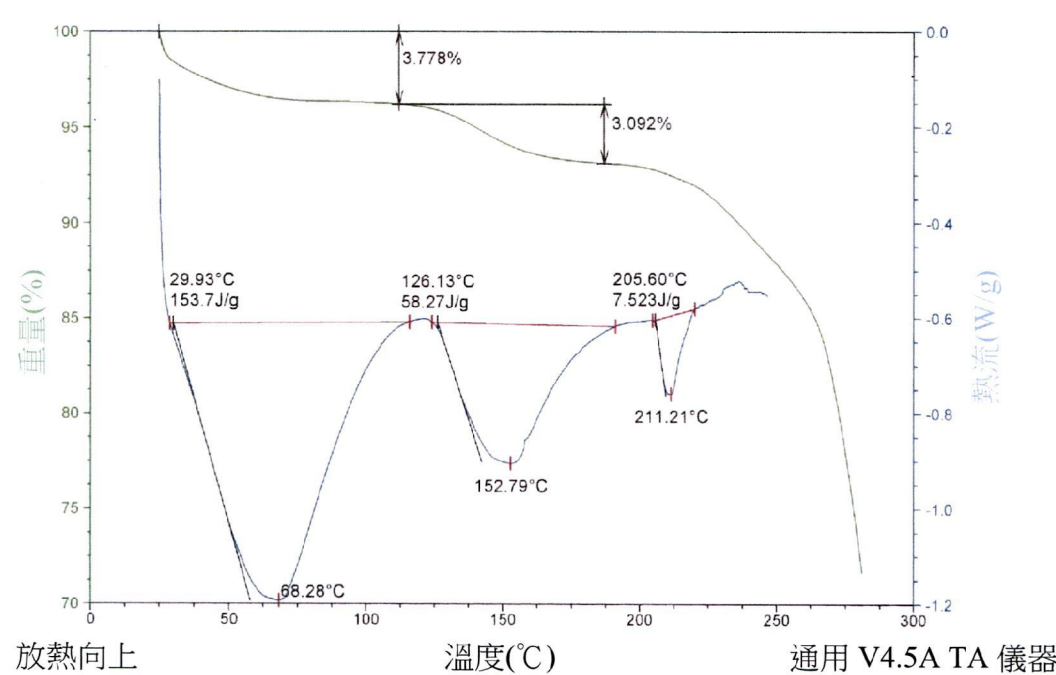


圖 24

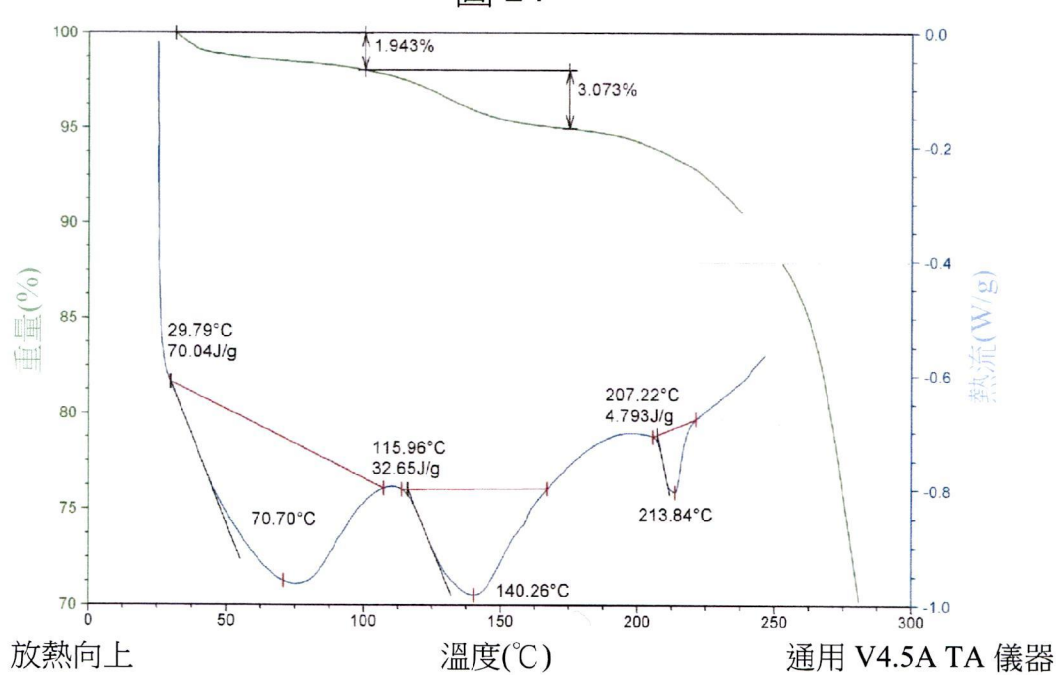


圖 25

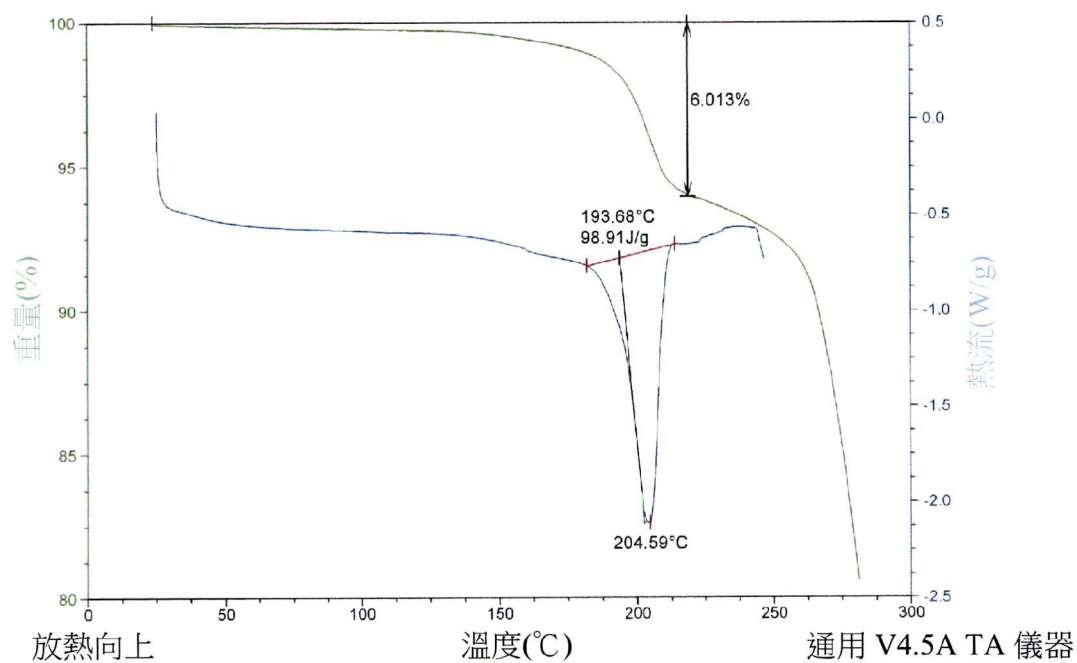


圖 26

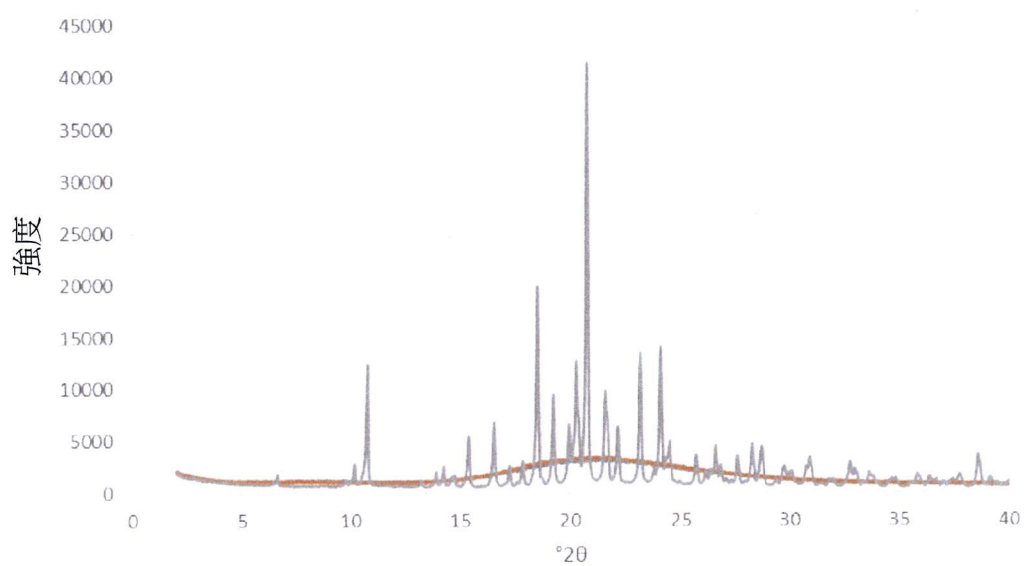


圖 27

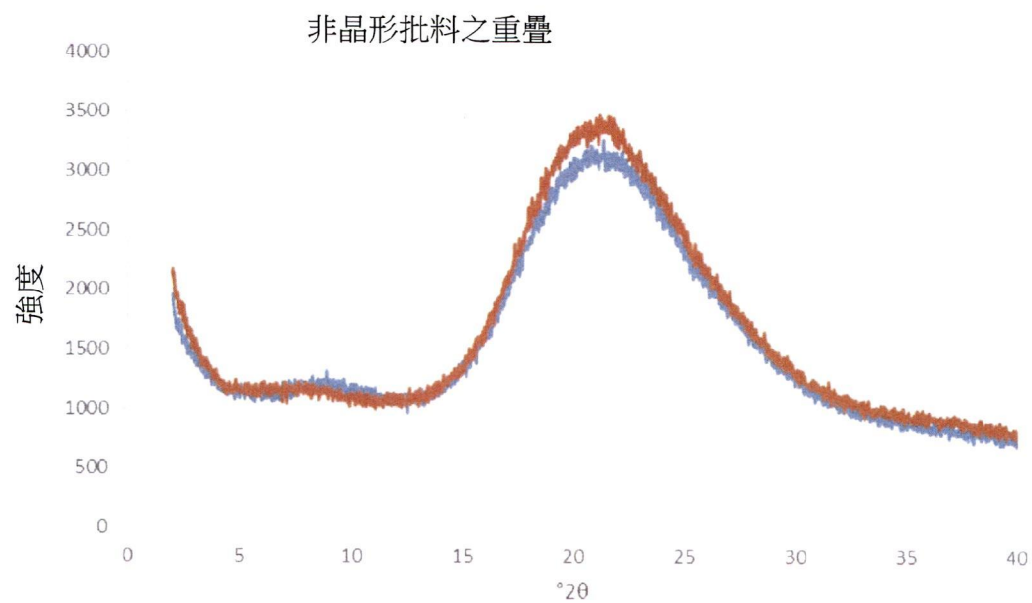


圖 28

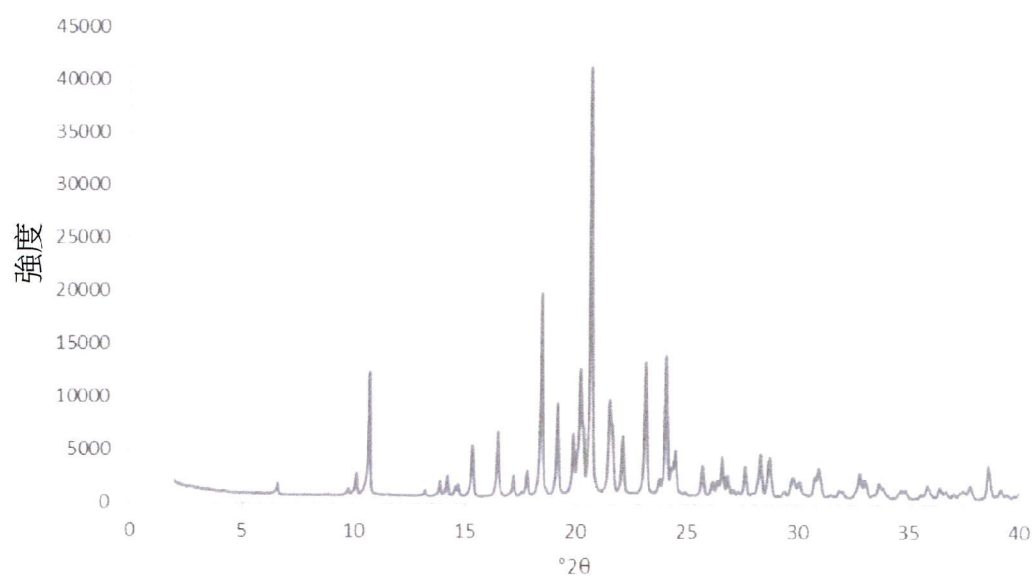


圖 29

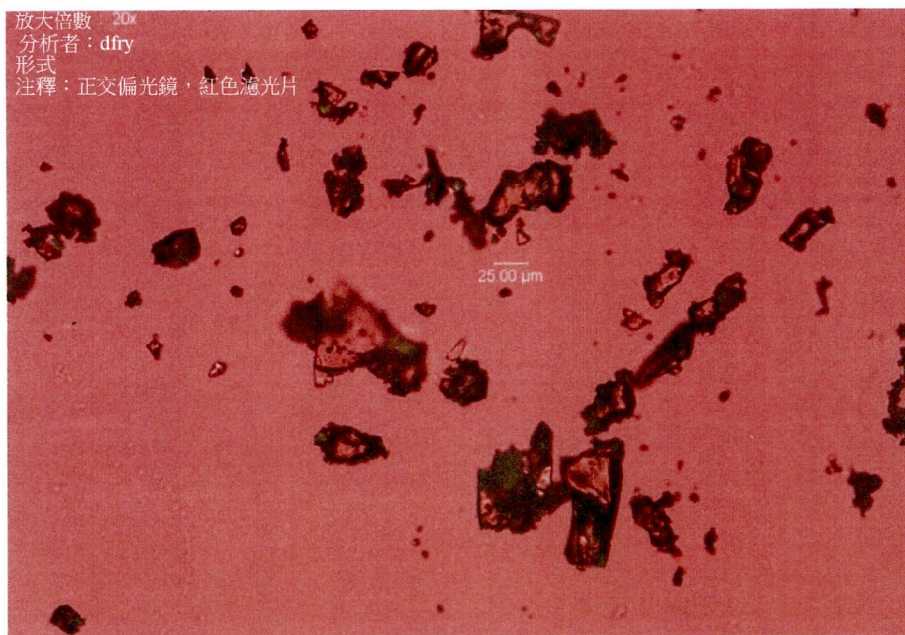


圖 30



圖 31

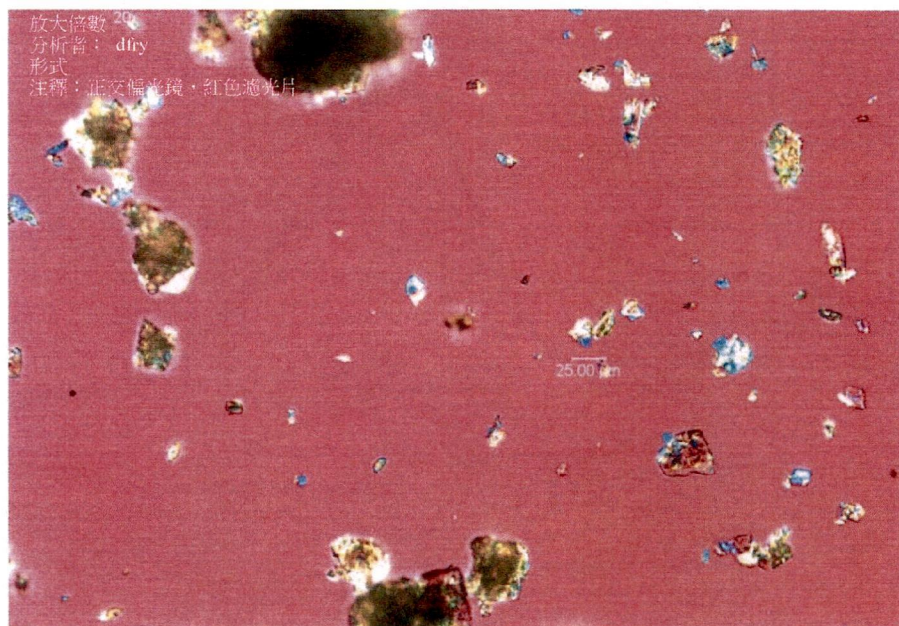


圖 32

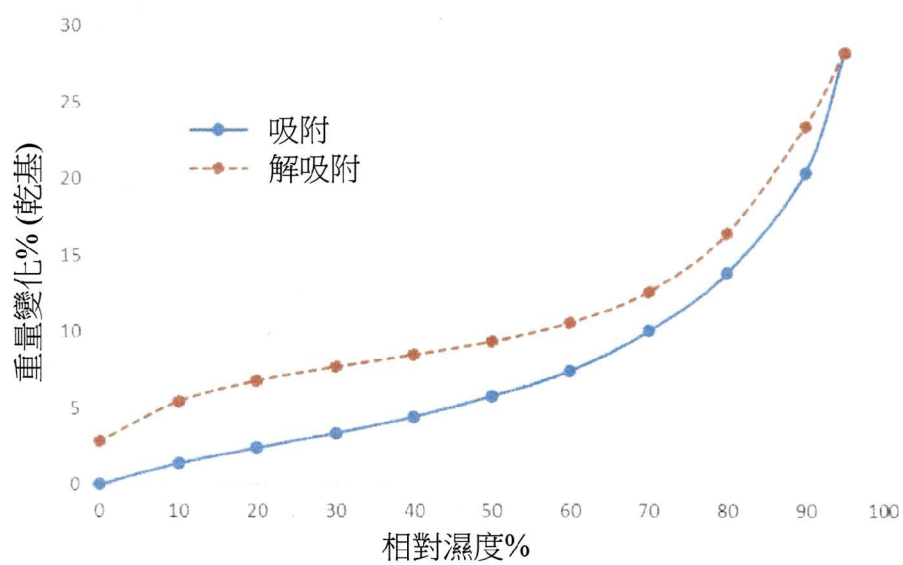


圖 33

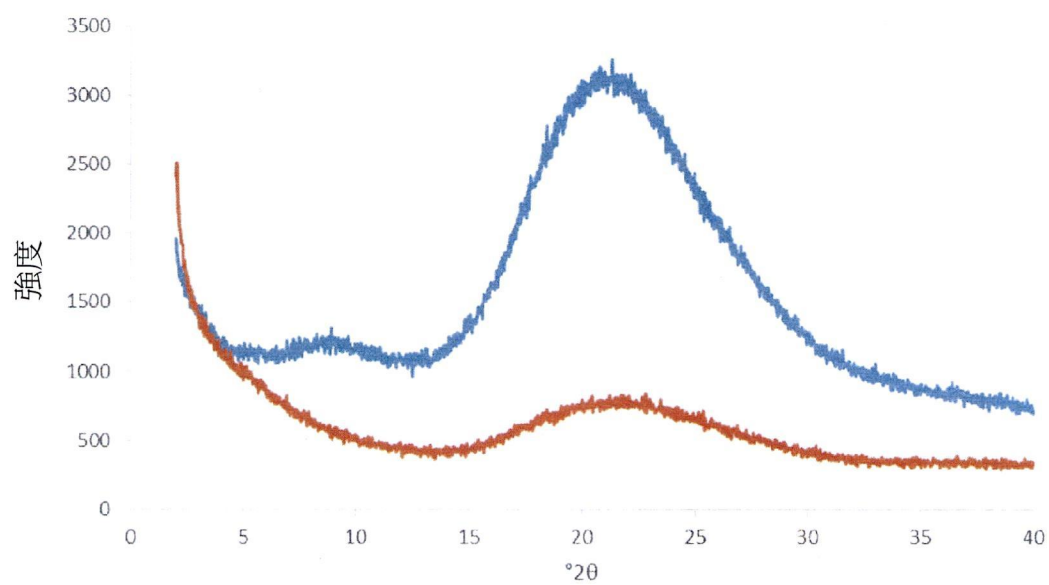


圖 34

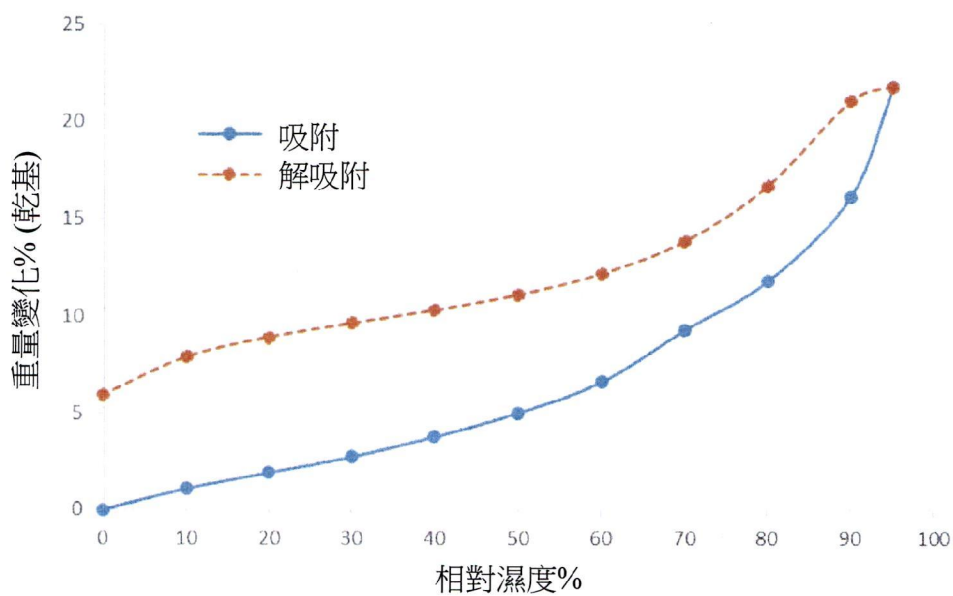


圖 35

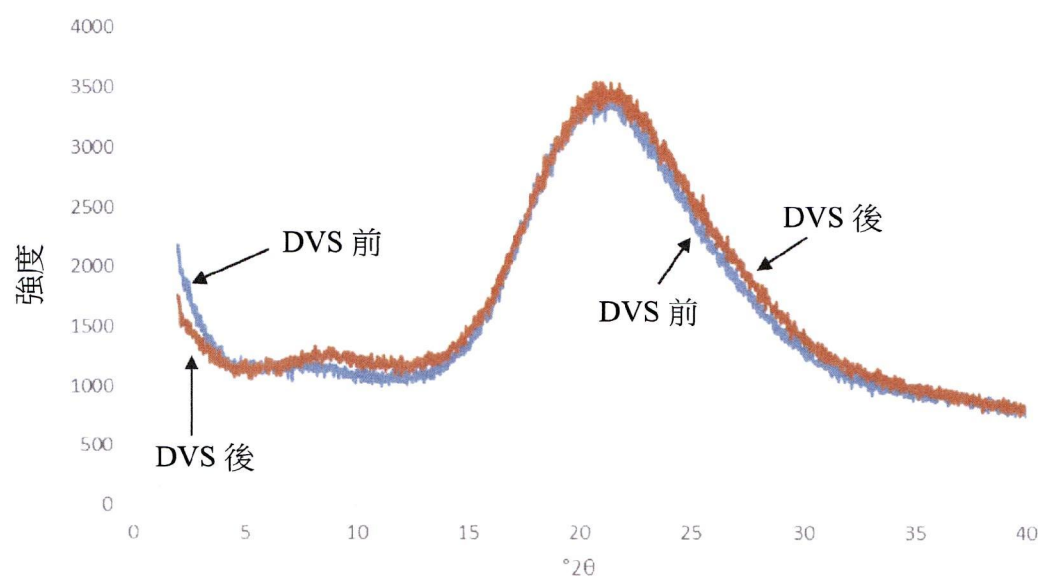


圖 36

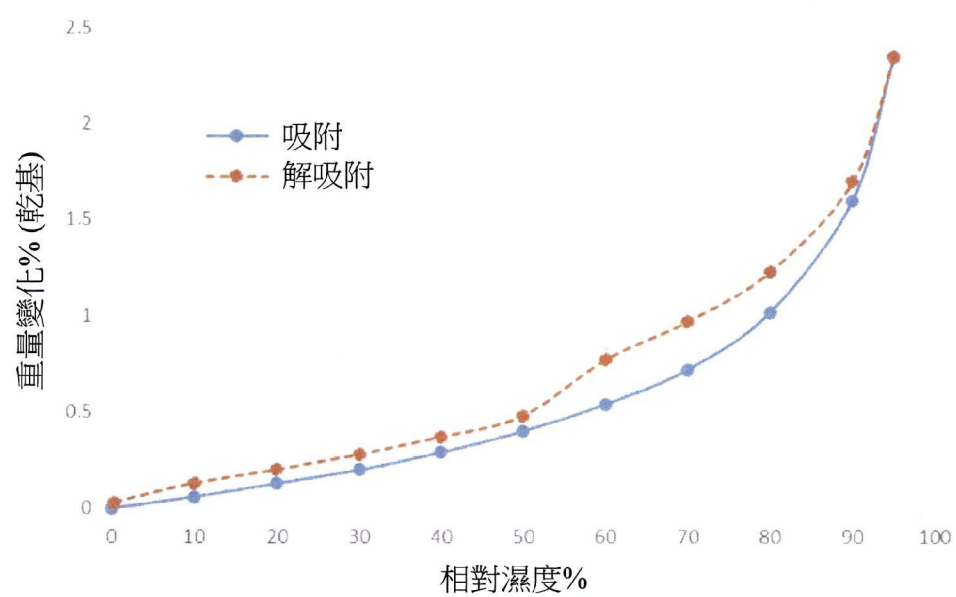


圖 37

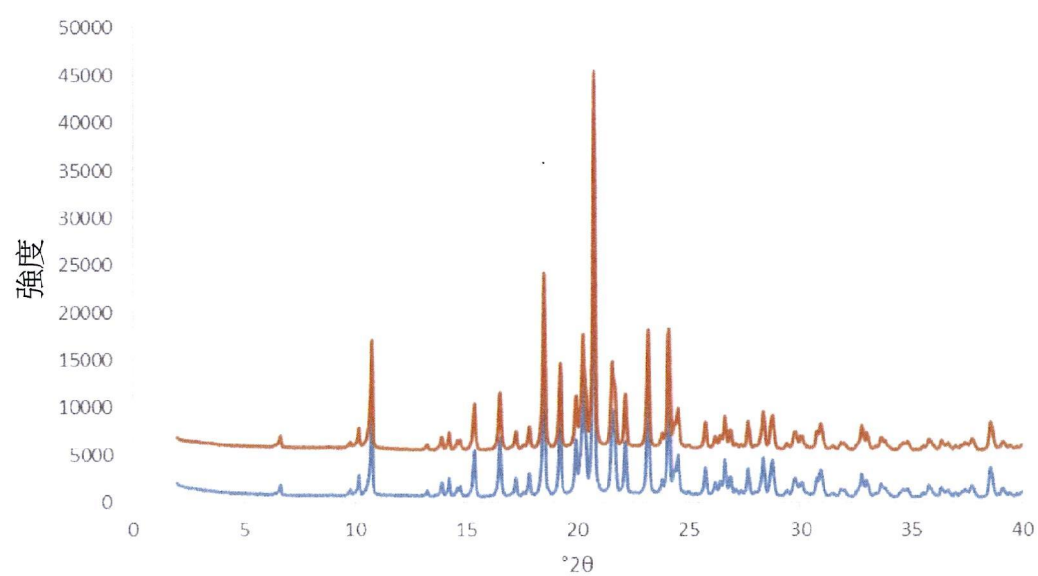


圖 38

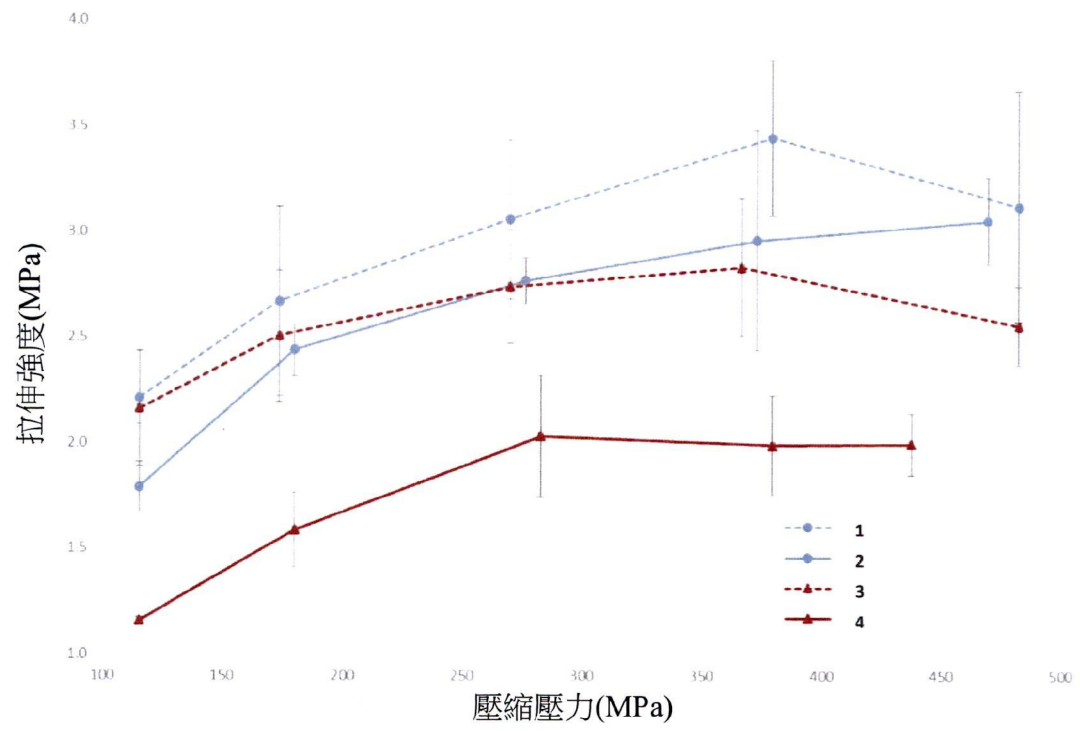


圖 39

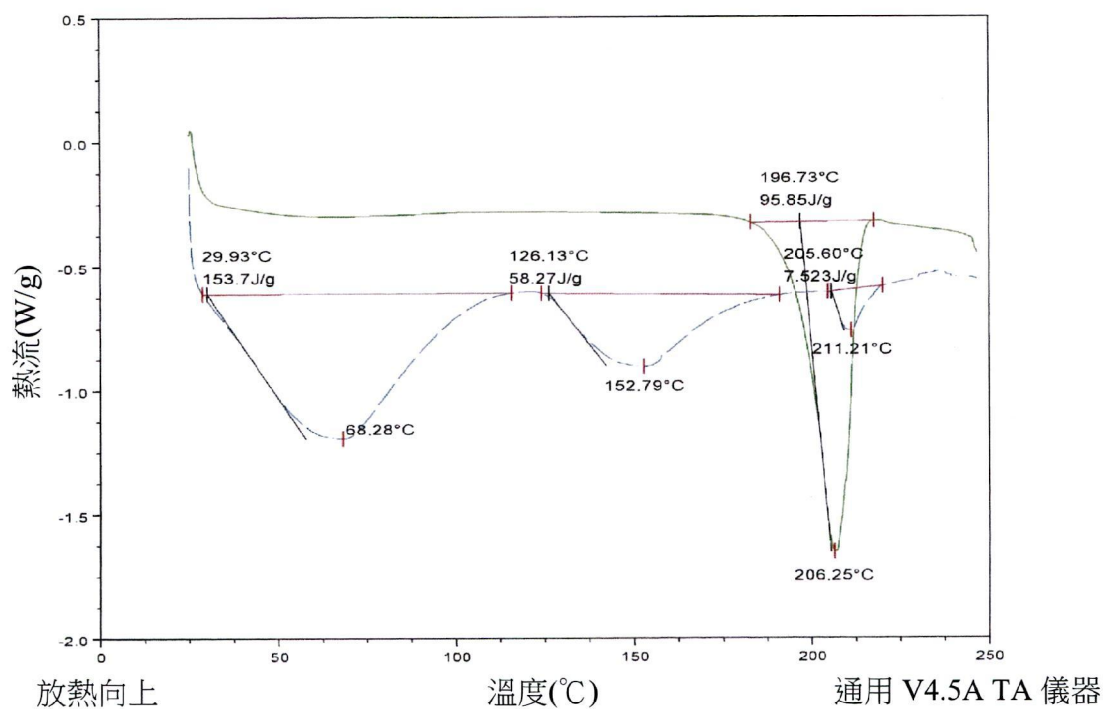


圖 40

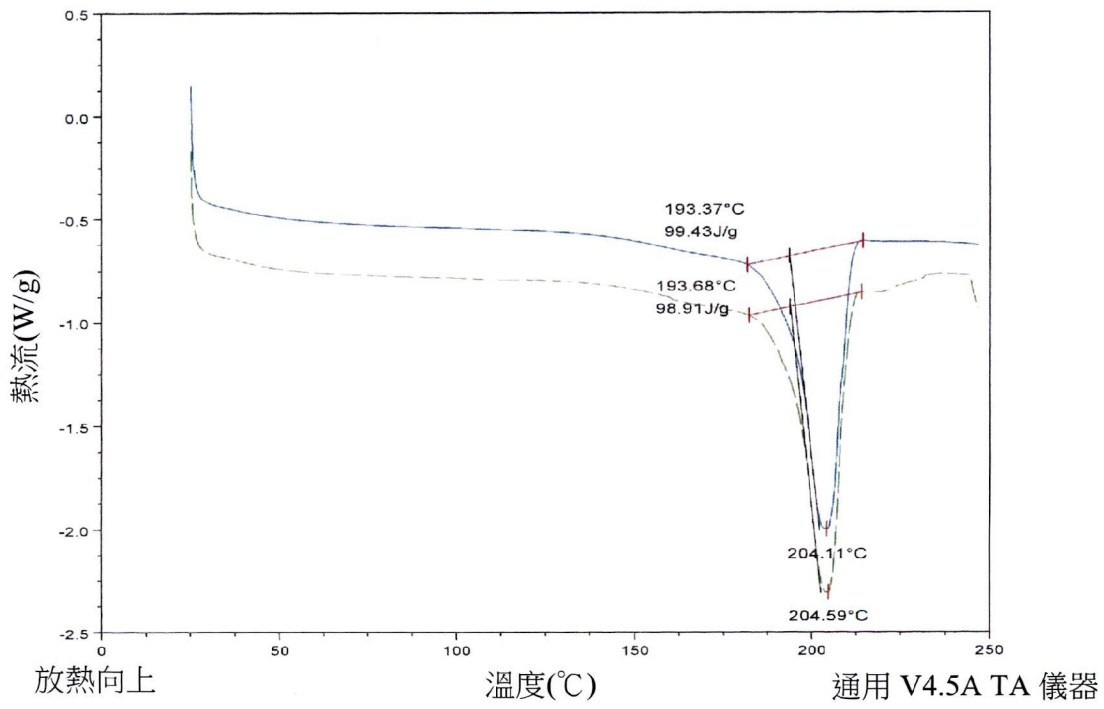


圖 41



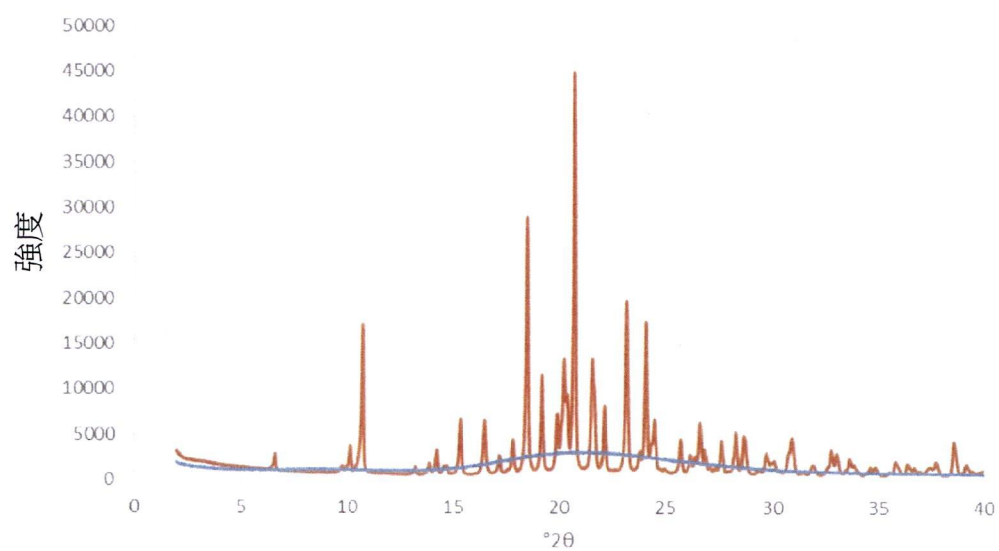


圖 42

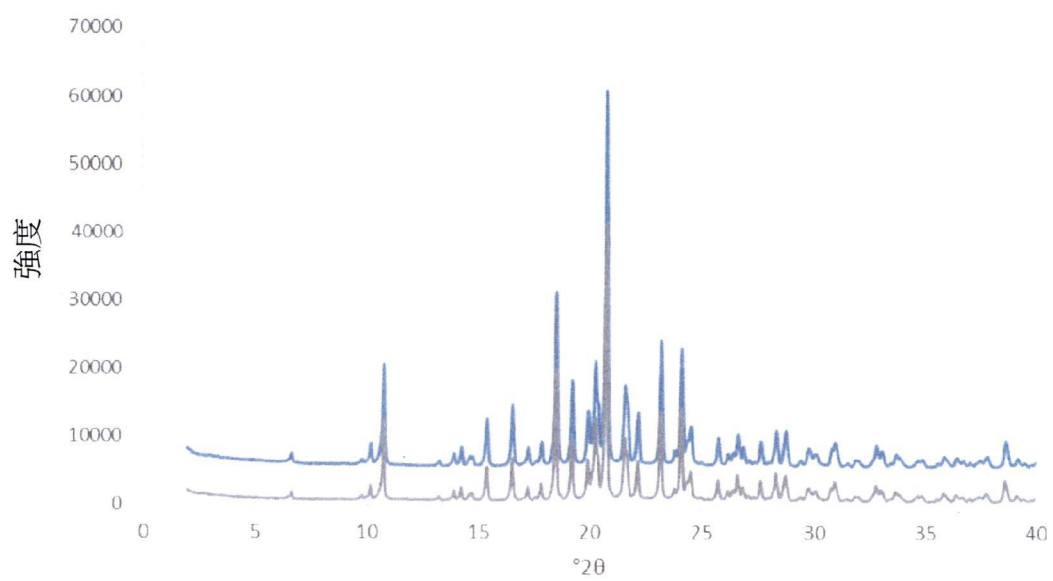


圖 43

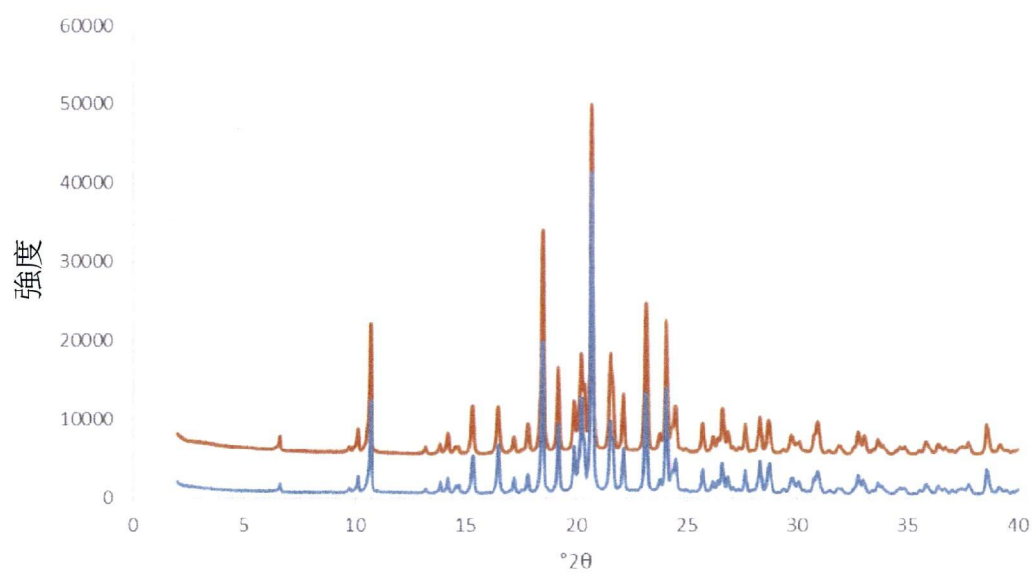


圖 44

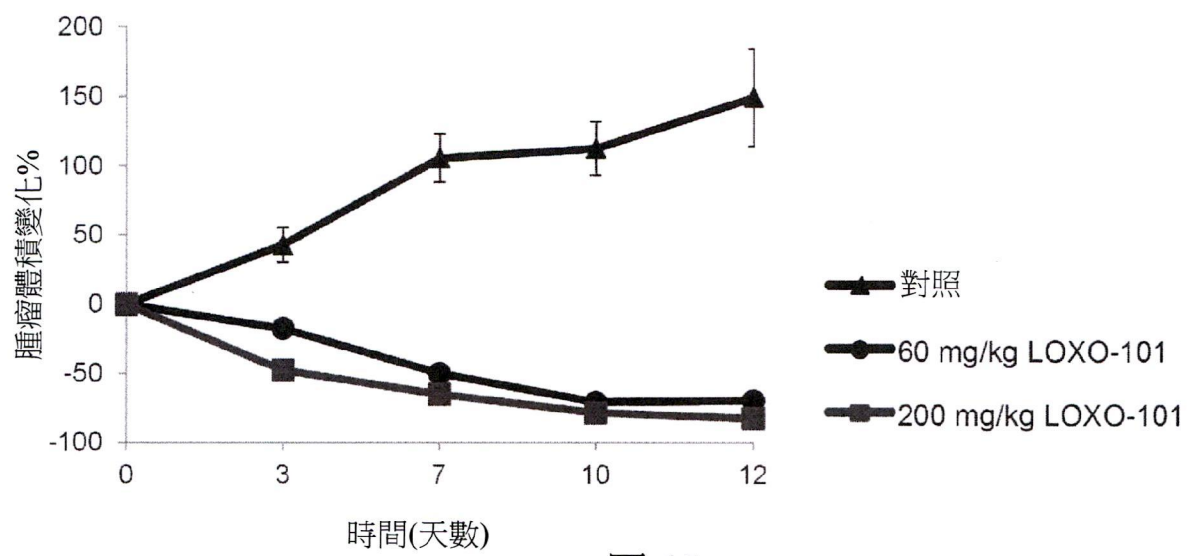


圖 45

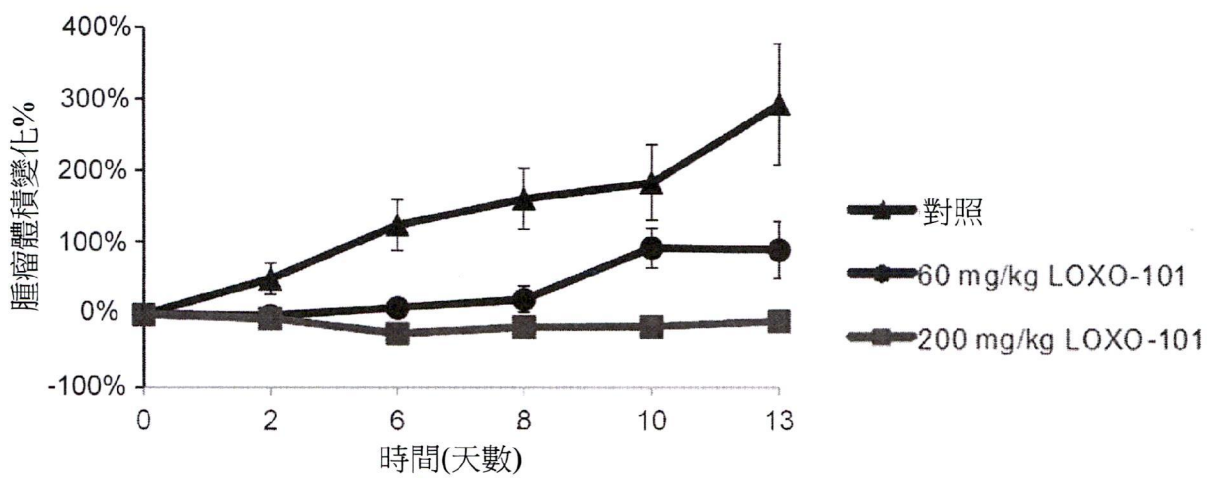


圖 46

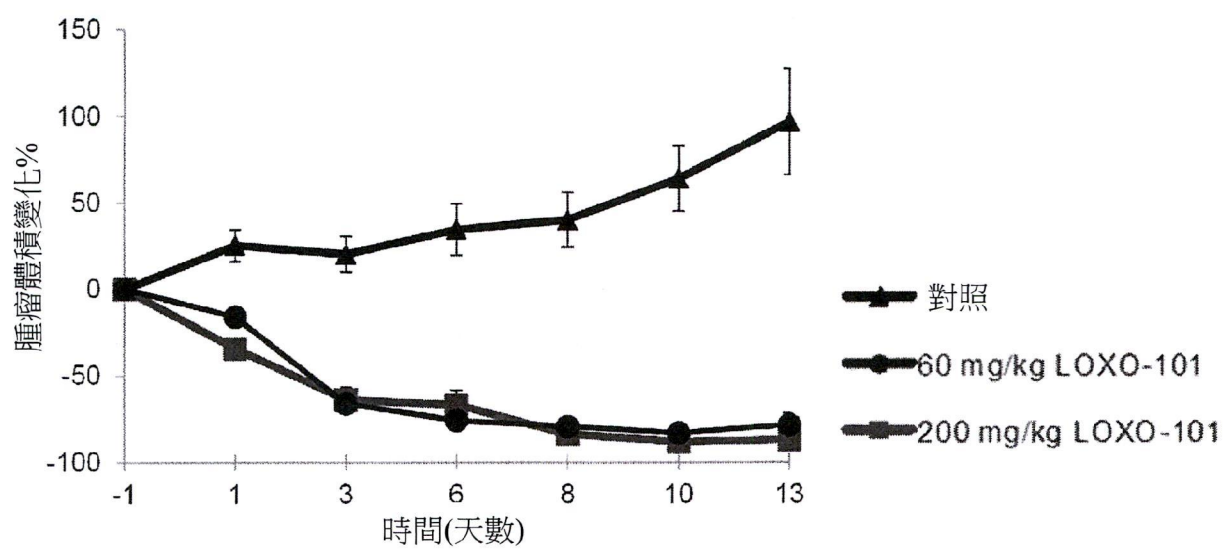


圖 47