



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109970614 B

(45) 授权公告日 2023.01.13

(21) 申请号 201811493142.0

(22) 申请日 2015.05.14

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 109970614 A

(43) 申请公布日 2019.07.05

(30) 优先权数据
61/993,426 2014.05.15 US

(62) 分案原申请数据
201580032260.X 2015.05.14

(73) 专利权人 阵列生物制药公司
地址 美国科罗拉多州

(72) 发明人 S. 艾伦 S.W. 安德鲁斯 B. 贝尔
Z. 克兰 W. 刘 D.J. 沃森

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

专利代理师 何伟

(51) Int.Cl.

C07D 207/14 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103649076 A, 2014.03.19

CN 104903310 A, 2015.09.09

CN 103649076 A, 2014.03.19

Jason C. Wong等. Pharmacokinetic Optimization of Class-Selective Histone Deacetylase Inhibitors and Identification of Associated Candidate Predictive Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma Tumor Response.《J. Med. Chem.》.2012,8906 页scheme 2.

审查员 王伟民

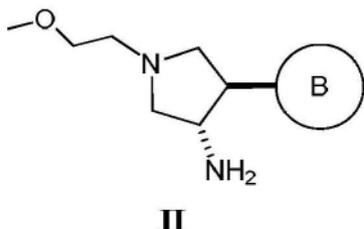
权利要求书2页 说明书54页 附图3页

(54) 发明名称

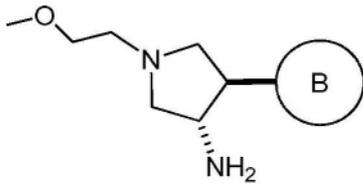
作为TRKA激酶抑制剂的化合物及其用途

(57) 摘要

本申请涉及作为TRKA激酶抑制剂的化合物及其用途。更具体地,本申请提供了制备下式(II)化合物的方法,包括:(a)使式(a)化合物与2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺反应得到式(b)化合物;(b)使所述式(b)化合物与羰基二咪唑得到式(c)的化合物,和;(c)使所述式(c)化合物与次氯酸钠反应得到式(II)化合物,其中式(a)、式(b)、式(c)化合物和环B如本申请中所定义。



1. 一种用于制备式II化合物的外消旋混合物的方法



II

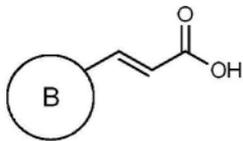
其中：

环B为Ar¹或hetAr¹；

Ar¹为任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代的苯基：卤素、CF₃、CF₃O-、(1-4C) 烷氧基、羟基 (1-4C) 烷基、(1-6C) 烷基以及CN；并且

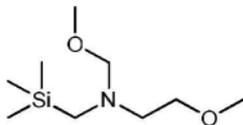
hetAr¹为具有1-3个独立地选自N、S和O的环杂原子并且任选地被1-2个独立地选自(1-6C) 烷基、卤素、OH、CF₃、NH₂和羟基 (1-2C) 烷基的基团取代的5-6元杂芳基，所述方法包括：

(a) 使以下式 (a) 化合物

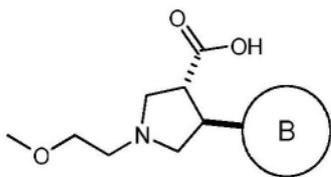


(a)

其中环B为针对式II所定义的，与具有以下式的2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺



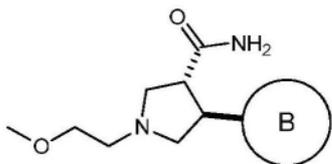
在催化量的酸存在下反应，以提供以下式 (b) 化合物



(b)

其中环B为针对式II所定义的；

(b) 使所述式 (b) 化合物与羰基二咪唑在催化量的咪唑盐酸盐存在下反应，接着用氨处理，以提供具有以下式 (c) 的化合物



(c)

其中环B为针对式II所定义的;以及

(c) 使所述式(c)化合物与次氯酸钠反应,接着用KOH处理,然后用HCl处理,以提供作为反式式II的外消旋混合物的所述式II化合物。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中Ar¹为任选地被一个或多个独立地选自卤素的取代基取代的苯基。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中Ar¹为任选被一个或多个氟取代的苯基。

4. 根据权利要求3所述的方法,其中Ar¹为3-氟苯基。

5. 根据权利要求3所述的方法,其中Ar¹为3,4-二氟苯基。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中hetAr¹为任选地被1-2个独立地选自以下各项的基团取代的吡啶基环、苯硫基环、噻唑基环、噁唑基环或异噁唑基环:(1-6C)烷基、卤素、OH、CF₃、NH₂以及羟基(1-2C)烷基。

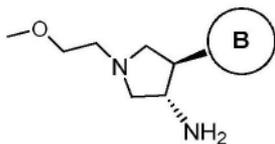
7. 根据权利要求6所述的方法,其中hetAr¹为任选地被1-2个独立地选自以下各项的基团取代的吡啶基环、苯硫基环、噻唑基环、噁唑基环或异噁唑基环:卤素和(1-6C)烷基。

8. 根据权利要求1所述的方法,其还包括分离作为二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐或作为游离碱的反式式II的对映体1,所述方法包括:

用二-对-甲苯酰基-D-酒石酸处理外消旋反式式II以提供外消旋反式II的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐;

使反式II的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐重结晶,以提供反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐;以及任选地

用无机碱处理所述反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐,以提供具有如下所示绝对构型的反式II的对映体1的游离碱:



II

作为TRKA激酶抑制剂的化合物及其用途

[0001] 本申请是中国发明专利申请(申请日:2015年5月14日;申请号:201580032260.X(国际申请号:PCT/US2015/030795))的分案申请。

[0002] 发明背景

[0003] 本发明涉及新型化合物、包含所述化合物的药物组合物、用于制备所述化合物的方法和中间体以及所述化合物在疗法中的用途。更具体地说,其涉及1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲或其药学上可接受的盐,其显示出TrkA激酶抑制并且可用于治疗疼痛、癌症、炎症/炎性疾病、神经变性疾病、某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位、糖尿病性周围神经病变、前列腺炎、盆腔疼痛综合征、与骨重塑调节失衡相关的疾病以及由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

[0004] 用于疼痛疾患的现有治疗方案利用若干类别的化合物。鸦片类(诸如吗啡)具有若干缺点,包括催吐作用、便秘作用和负呼吸作用、以及成瘾的可能性。非甾体抗炎镇痛剂(NSAID,诸如COX-1或COX-2型)也具有包括治疗剧痛功效不佳在内的缺点。另外,COX-1抑制剂可引起粘膜溃疡。因此,持续需要用于减轻疼痛、特别是慢性疼痛的新型且更有效的治疗。

[0005] Trk's类为由一组可溶性生长因子(称为神经营养因子(NT))活化的高亲和力受体酪氨酸激酶。Trk受体家族具有三个成员:TrkA、TrkB和TrkC。神经营养因子为(i)活化TrkA的神经生长因子(NGF)、(ii)活化TrkB的脑源性神经生长因子(BDNF)和NT-4/5和(iii)活化TrkC的NT3。Trk's在神经元组织中广泛表达并且涉及神经元细胞的维持、信号传导和存活(Patapoutian,A.等,Current Opinion in Neurobiology,2001,11,272-280)。

[0006] 已证实Trk/神经营养因子途径的抑制剂在许多疼痛的临床前动物模型中是有效的。例如,已显示拮抗性NGF和TrkA抗体诸如RN-624在炎性和神经性疼痛动物模型(Woolf,C.J.等,(1994)Neuroscience 62,327-331;Zahn,P.K.等,(2004)J.Pain 5,157-163;McMahon,S.B.等,(1995)Nat.Med.1,774-780;Ma,Q.P.和Woolf,C.J.(1997)NeuroReport 8,807-810;Shelton,D.L.等,(2005)Pain 116,8-16;Delafoy,L.等,(2003)Pain 105,489-497;Lamb,K.等,(2003)Neurogastroenterol.Motil.15,355-361;Jaggar,S.I.等,(1999)Br.J.Anaesth.83,442-448)和神经性疼痛动物模型(Ramer,M.S.和Bisby,M.A.(1999)Eur.J.Neurosci.11,837-846;Ro,L.S.等(1999)Pain 79,265-274;Herzberg,U.等,(1997)Neuroreport 8,1613-1618;Theodosiou,M.等,(1999)Pain 81,245-255;Li,L.等,(2003)Mol.Cell.Neurosci.23,232-250;Gwak,Y.S.等,(2003)Neurosci.Lett.336,117-120)中是有效的。

[0007] 还已显示由肿瘤细胞和肿瘤侵入巨噬细胞分泌的NGF直接刺激位于周围疼痛纤维上的TrkA。使用小鼠和大鼠中的各种肿瘤模型,已证实用单克隆抗体中和NGF抑制癌症相关疼痛至类似于或超过吗啡最高耐受剂量的程度。因为TrkA激酶可充当NGF驱动性生物反应的中介物,所以TrkA和/或其他Trk激酶的抑制剂可提供一种用于慢性疼痛状态和癌症相关疼痛的有效治疗。

[0008] 最新文献还已显示Trk激酶的过度表达、活化、扩增和/或突变与许多癌症有关,所述癌症包括成神经细胞癌(Brodeur,G.M.,*Nat.Rev.Cancer* 2003,3,203-216)、卵巢癌(Davidson.B.等,*Clin.Cancer Res.*2003,9,2248-2259)、结肠直肠癌(Bardelli,A.,*Science* 2003,300,949)、黑色素瘤(Truzzi,F.等,*Dermato-Endocrinology* 2011,3(1),第32-36页)、头颈癌(Yilmaz,T.等,*Cancer Biology and Therapy* 2010,10(6),第644-653页)、胃癌(Du,J.等,*World Journal of Gastroenterology* 2003,9(7),第1431-1434页)、肺癌(Ricci A.等,*American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 25(4),第439-446页)、乳腺癌(Jin,W.等,*Carcinogenesis* 2010,31(11),第1939-1947页)、分泌性乳腺癌(Euthus,D.M.,等,*Cancer Cell* 2002,2(5),第347-348页)、成胶质细胞瘤(Wadhwa,S.等,*Journal of Biosciences* 2003,28(2),第181-188页)、成神经管细胞瘤(Gruber-Olipitz,M.等,*Journal of Proteome Research* 2008,7(5),第1932-1944页)、唾液腺癌(Li,Y.-G.等,*Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment* 2009,16(6),第428-430页)、乳头状甲状腺癌(Greco,A.等,*Molecular and Cellular Endocrinology* 2010,321(1),第44-49页)以及成人骨髓性白血病(Eguchi,M.等,*Blood* 1999,93(4),第1355-1363页)。在癌症的临床前模型中,TrkA、B和C的非选择性小分子抑制剂可有效抑制肿瘤生长并阻止肿瘤转移(Nakagawara,A.(2001)*Cancer Letters* 169:107-114;Meyer,J.等,(2007)*Leukemia*,21(10):2171-2180;Pierottia,M.A.和Greco A.,(2006)*Cancer Letters* 232:90-98;Eric Adriaenssens,E.等,*Cancer Res*(2008)68:(2)346-351)。这些数据支持使用Trk抑制剂治疗癌症的基本原理。

[0009] 另外,已显示神经营养因子/Trk途径的抑制可有效用NGF抗体或非选择性小分子TrkA抑制剂治疗炎症性疾病的临床前模型。例如,神经营养因子/Trk途径的抑制已涉及以下疾病的临床前模型:炎性肺病,包括哮喘(Freund-Michel,V;Frossard,N.,*Pharmacology& Therapeutics*(2008)117(1),52-76);间质性膀胱炎(Hu,Vivian Y等,*The Journal of Urology*(2005),173(3),1016-21);膀胱疼痛综合征(Liu,H.-T.等,(2010)*BJU International*,106(11),第1681-1685页);炎性肠病,包括溃疡性结肠炎和克罗恩氏病(Crohn's disease)(Di Mola,F.F等,*Gut*(2000)46(5),670-678);以及炎性皮肤病,诸如过敏性皮炎(Dou,Y.-C.等,*Archives of Dermatological Research*(2006)298(1),31-37)、湿疹和银屑病(Raychaudhuri,S.P.等,*J. Investigative Dermatology*(2004)122(3),812-819)。这些数据支持使用Trk抑制剂治疗炎症性疾病的基本原理。

[0010] TrkA受体还被认为对于克氏锥虫在人宿主中的寄生虫感染(美洲锥虫病)的疾病过程是关键(de Melo-Jorge,M.等,*Cell Host&Microbe*(2007)1(4),251-261)。

[0011] Trk抑制剂还发现可用于治疗与骨重塑调节失衡有关的疾病,诸如骨质疏松症、类风湿性关节炎以及骨转移。骨转移为常见的癌症并发症,在多至70%患有晚期乳腺癌或前列腺癌的患者中发生并且在约15%至30%患有肺癌、结肠癌、胃癌、膀胱癌、子宫癌、直肠癌、甲状腺癌或肾癌的患者中发生。溶骨性转移可引起剧痛、病理性骨折、威胁生命的血钙过多症、脊髓压迫以及其他神经压迫综合征。出于这些原因,骨转移为一种严重且昂贵的癌症并发症。因此,可诱导增殖性成骨细胞发生细胞凋亡的药剂将为高度有利的。已在小鼠骨折模型中的骨形成区域内观察到TrkA受体的表达(K.Asami等,*Bone*(2000)26(6)625-633)。另外,在几乎所有的骨形成细胞中观察到NGF的定位(K.Asami等,*Bone*(2000)26(6)

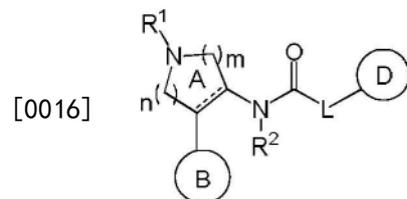
625-633)。最近,已证实Trk抑制剂抑制了由结合至人hFOB成骨细胞中的所有三种Trk受体的神经营养因子活化的信号传导(J.Pinski等,Cancer Research(2002) 62,986-989)。这些数据支持使用Trk抑制剂治疗骨重塑疾病诸如癌症患者中的骨转移的基本原理。

[0012] Trk抑制剂还可发现可用于治疗疾病和病症,诸如舍格伦氏综合征(Sjogren's syndrome)(Fauchais,A.L.等,(2009)Scandinavian Journal of Rheumatology,38(1),第50-57页)、子宫内膜异位(Barcena De Arellano,M.L.等,(2011)Reproductive Sciences,18(12),第1202-1210页;Barcena De Arellano等,(2011)Fertility and Sterility,95(3),第1123-1126页;Cattaneo,A.,(2010)Current Opinion in Molecular Therapeutics,12(1),第94-106页)、糖尿病性周围神经病变(Kim,H.C.等,(2009)Diabetic Medicine,26(12),第1228-1234页;Siniscalco,D.等,(2011)Current Neuropharmacology,9(4),第523-529页;Ossipov,M.H.,(2011)Current Pain and Headache Reports,15(3),第185-192页)、以及前列腺炎和盆腔疼痛综合征(Watanabe,T.等,(2011)BJU International,108(2),第248-251页;以及Miller,L.J.等,(2002)Urology,59(4),第603-608页)。

[0013] TrkA抑制剂还可用于治疗由结缔组织生长因子(CTGF,也称为CCN2)异常信号传导引起的疾病,例如涉及组织重塑和纤维化的疾病。CTGF为组织重塑和纤维化的重要中介物(Lipson,K.E.等,(2012),Fibrogenesis&Tissue Repair 2012,5(增刊1):S24)并且减少CTGF信号传导的疗法已证明作为纤维化的治疗是有效的(Li,G.等,J.Gene Med.,2006,8:889-900)。CTGF与TrkA相互作用并活化所述TrkA(Wahab,N.A.,(2005)J.Am.Soc.Nephrol.16:340-351)并且TrkA抑制剂对此途径的抑制可证明可用于治疗各种纤维化疾病诸如雷诺氏综合征(Raynaud's Syndrome)、特发性肺纤维化、瘢痕(肥大型、瘢痕瘤型和其他形式)、硬化、心内膜心肌纤维化、心房纤维化、骨髓纤维化、进行性块状纤维化(肺)、肾源性系统性纤维化、硬皮病、系统性硬化、关节纤维化以及眼部纤维化。

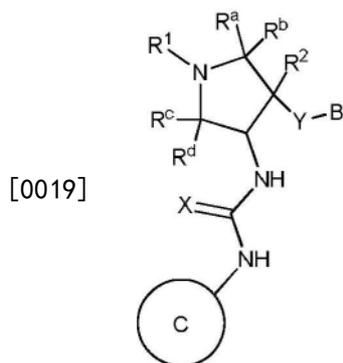
[0014] 已知据称可用于治疗疼痛或癌症的几种类别的小分子Trk激酶抑制剂(Wang,T等,Expert Opin.Ther.Patents(2009)19(3),305-319;McCarthy C.和Walker E.,Expert Opin.Ther.Patents 2014,24(7):731-744)。

[0015] 国际申请公布No.WO 2010/032856描述了由以下式表示的化合物



[0017] 其中环B为芳族环,环D为芳族环,并且L为NR³、NR³C(R^{4a}R^{4b})、O或OC(R^{4a}R^{4b}),所述化合物被视为速激肽受体拮抗剂。

[0018] 国际申请公布No.WO 2012/158413公开了一个亚类的作为TrkA抑制剂的具有以下通式的吡咯烷基脲化合物:



[0020] 其中：

[0021] Y为一个键、-O-或- OCH_2 -；

[0022] X为O、S或NH；

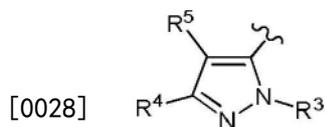
[0023] R^1 为(1-3C烷氧基)(1-6C)烷基、(三氟甲氧基)(1-6C)烷基、(1-3C硫烷基)(1-6C)烷基、单氟(1-6C)烷基、二氟(1-6C)烷基、三氟(1-6C)烷基、四氟(2-6C)烷基、五氟(2-6C)烷基、氰基(1-6C)烷基、氨基羰基(1-6C)烷基、羟基(1-6C)烷基、二羟基(2-6C)烷基、(1-6C)烷基、(1-3C烷基氨基)(1-3C)烷基、(1-4C烷氧基羰基)(1-6C)烷基、氨基(1-6C)烷基、羟基(1-3C烷氧基)(1-6C)烷基、二(1-3C烷氧基)(1-6C)烷基、(1-3C烷氧基)三氟(1-6C)烷基、羟基三氟(1-6C)烷基、(1-4C烷氧基羰基)(1-3C烷氧基)(1-6C)烷基、羟基羰基(1-3C烷氧基)(1-6C)烷基、 $\text{hetAr}^5(\text{CH}_2)_{0-1}$ 或 $\text{Ar}^5(\text{CH}_2)_{0-1}$ ；

[0024] hetAr^5 为具有1-3个独立地选自N、O或S的环杂原子的5-6元杂芳基环，其中所述环任选地被一个或多个独立地选自卤素、(1-6C)烷基、(1-6C)烷氧基和 CF_3 的取代基取代；

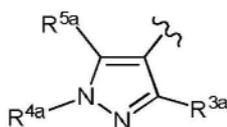
[0025] Ar^5 为任选地被一个或多个独立地选自卤素、(1-6C)烷基、(1-6C)烷氧基、 CF_3O -、(1-4C)烷氧基羰基和氨基羰基的基团取代的苯基；

[0026] B为任选地被一个或多个独立地选自卤素、 CF_3 、 CF_3O -、(1-4C)烷氧基、羟基(1-4C)烷基、(1-6C)烷基和CN的取代基取代的苯基；具有1-3个独立地选自N、S和O的环杂原子并任选地被1-2个独立地选自(1-6C)烷基、卤素、OH、 CF_3 、 NH_2 和羟基(1-2C)烷基的基团取代的5-6元杂芳基；1-6C烷基；或(1-6C)烷氧基；并且

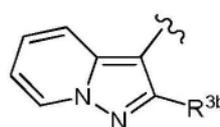
[0027] 环C为式C-1、C-2或C-3：



C-1

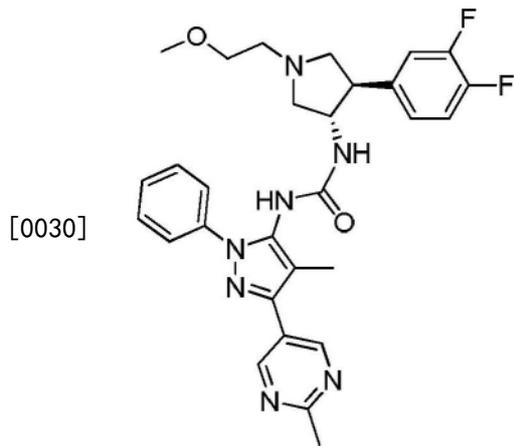


C-2

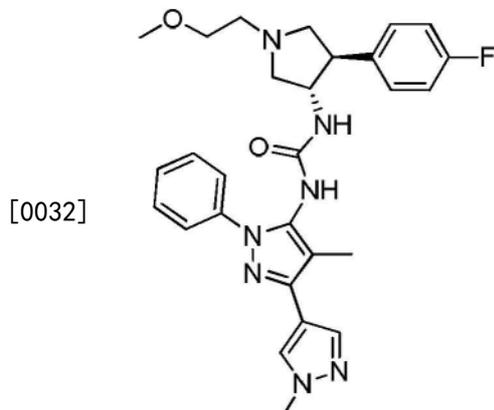


C-3

[0029] 在WO 2012/158413中此类化合物的实例包括实施例511中具有以下结构的化合物：



[0031] 其也被称为1-((3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲(在下文中为“化合物2”),以及具有以下结构的实施例441的化合物:

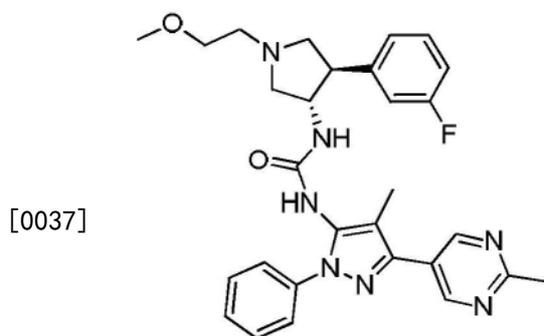


[0033] 其也被称为1-(1',4'-二甲基-1-苯基-1H,1'H-[3,4'-二吡啶]-5-基)-3-((3S,4R)-4-(4-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)脲(在下文中为“化合物3”)。

[0034] 现在已发现具有出乎意料的且特别需要的特征的化合物可通过选择2-甲基咪唑-5-基作为R⁴基团并选择3-氟苯基作为B基团来获得。

[0035] 发明概述

[0036] 本文提供了化合物1:



1

[0038] 或其药学上可接受的盐,所述化合物为TrkA的抑制剂。所述化合物还可由化学名1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-

5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲描述。

[0039] 已出乎意料地发现化合物1相对于化合物2和化合物3在大鼠中具有显著更低的预测的人IV(静脉内)清除率。还出乎意料地发现化合物1相对于化合物2和化合物3在大鼠中在经口给药10mg/kg之后实现更高的经口AUC(血浆药物浓度-时间曲线下面积)。还出乎意料地发现化合物1相对于化合物2和化合物3在大鼠中在经口给药10mg/kg之后实现更高的C_{max}最大值(在血浆药物浓度-时间曲线中实现的最大浓度)。还出乎意料地发现化合物1相对于化合物2和化合物3在大鼠中在经口给药10mg/kg之后实现更高的谷浓度(在血浆药物浓度-时间曲线中实现的最小浓度)。还出乎意料地发现化合物1相对于化合物2和化合物3具有更高的估算的TrkA抑制。化合物1相对于化合物2具有出乎意料地提高的外周至中枢神经系统分布,如通过在大鼠中经口给药之后较高的血浆与脑内的比率证明的。化合物1相对于化合物2还具有出乎意料地减小的hERG(人Ether-à-go-go-相关基因)通道的抑制活性。

[0040] 本文还提供了治疗由TrkA调节的疾病或病症的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0041] 本文还提供了治疗慢性和急性疼痛的方法,所述疼痛包括但不限于炎性疼痛、神经性疼痛、以及与癌症、手术或骨折有关的疼痛,所述方法包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0042] 本文还提供了治疗癌症的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0043] 本文还提供了治疗炎症或炎性疾病的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0044] 本文还提供了治疗神经变性疾病的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0045] 本文还提供了治疗前列腺炎或盆腔疼痛综合征的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0046] 本文还提供了治疗与骨重塑调节失衡相关的疾病的方法,所述疾病诸如骨质疏松症、类风湿性关节炎以及骨转移,所述方法包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0047] 本文还提供了治疗选自某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位和糖尿病性周围神经病变的疾病和病症的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0048] 本文还提供了治疗由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病的方法,其包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0049] 在一个实施方案中,任何以上治疗包括向需要此治疗的哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与另一种治疗剂的组合。

[0050] 本文还提供了一种包含化合物1或其药学上可接受的盐的药物组合物。

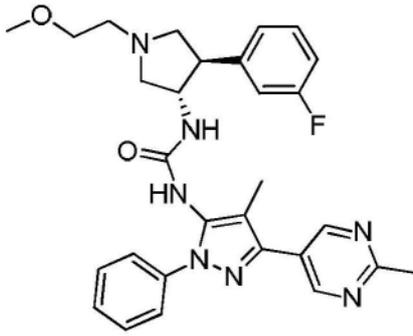
[0051] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗。

[0052] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗慢性和急性疼痛,包括但不限于炎性疼痛、神经性疼痛、以及与癌症、手术或骨折有关的疼痛。

[0053] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗癌症。

- [0054] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗炎症或炎性疾病。
- [0055] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗神经变性疾病。
- [0056] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗前列腺炎或盆腔疼痛综合征。
- [0057] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗与骨重塑调节失衡相关的疾病,诸如骨质疏松症、类风湿性关节炎和骨转移。
- [0058] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位和糖尿病性周围神经病变。
- [0059] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。
- [0060] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐在制造用于治疗诸如慢性和急性疼痛的疾病和病症的药物中的用途,所述疼痛包括但不限于炎性疼痛、神经性疼痛、以及与癌症、手术或骨折有关的疼痛
- [0061] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐在制造用于治疗选自以下各项的疾病和病症的药物中的用途:癌症、炎症或炎性疾病、神经变性疾病、某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位、糖尿病性周围神经病变、前列腺炎、盆腔疼痛综合征以及与骨重塑调节失衡相关的疾病(诸如骨质疏松症、类风湿性关节炎和骨转移)。
- [0062] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐在制造用于治疗由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病的药物中的用途。
- [0063] 本文还提供了可用于制备TrkA抑制性化合物诸如化合物1的中间体和制备此类中间体的方法。
- [0064] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐的制备方法、分离方法和纯化方法。
- [0065] 附图简述
- [0066] 图1为比较化合物1(三角形)和化合物2(正方形)在大鼠中经口给药10mg/kg之后血浆药物浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)对比时间(小时)的图。
- [0067] 图2为比较化合物1(三角形)和化合物3(圆形)在大鼠中经口给药10mg/kg之后血浆药物浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)对比时间(小时)的图。
- [0068] 图3为比较化合物1(三角形)和化合物2(正方形)在大鼠中经口给药10mg/kg之后估算的TrkA抑制百分比对比时间(小时)的比较。
- [0069] 图4为比较化合物1(三角形)和化合物3(圆形)在大鼠中经口给药10mg/kg之后估算的TrkA抑制百分比对比时间(小时)的比较。
- [0070] 发明详述
- [0071] 本文提供了化合物1

[0072]



1

[0073] 或其药学上可接受的盐,所述化合物为TrkA的抑制剂。所述化合物还可由化学名 1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲描述。

[0074] 已发现化合物1具有特别意外且希望的特征。化合物1特别有利的特征为其预测的人IV清除率,所述清除率相对于化合物2和化合物3的预测的IV清除率显著更低,如表1所示。

[0075] 表1

[0076]

化合物	物种	IV 清除率 (mL/min/kg)	微粒体清除 率 (mL/min/kg)	体内/体外 校正因子
化合物 1	小鼠	NA *	50	NA *
	大鼠	15	22	1.47
	狗	7.6	24	3.16
	猴	20	33	1.65
	人	5 (预测值)**	9.8	2.09 ***
化合物 2	小鼠	42	57	1.36
	大鼠	29	22	0.76
	狗	25	26	1.04
	猴	18	38	2.11
	人	12 (预测值)**	14	1.32 ***
化合物 3	小鼠	71	60	0.85
	大鼠	26	23	0.88
	狗	18	23	1.28
	猴	38	32	0.84
	人	10 (预测值)**	10	0.96 ***

[0077] *不可用

[0078] **针对临床前物种观察到的平均校正分数用于预测人的IV清除率。

[0079] ***所有测试物种的临床前平均校正因子

[0080] 在表1中,预测的人IV清除率由在静脉内(IV)给药1mg/kg之后从临床前物种(小鼠、大鼠、狗和猴)中收集的血浆中的化合物浓度对比时间数据计算。血浆中的化合物浓度

通过LC-MS (液相色谱法-质谱法) 测量。个别 $C_{p/t}$ 曲线(在任何时间 t 时血浆中的药物浓度)的 AUC_{inf} 值(从时间0外推至无限时间的给药间隔的血浆浓度-时间曲线下面积)使用线性-梯形积分法和来自 $C_{p/t}$ 曲线终点的一级外推法来确定,并且清除率(CL)使用剂量/ AUC_{inf} 计算。

[0081] 预测的肝清除率(CL_h)值通过使用表2中列出且以下等式中所采用的身体和生理标度因子测量关于化合物在肝微粒体中的稳定性的体外半衰期($t_{1/2}$)来计算(1mg/mL;20分钟),所述标度因子用于预测内在清除率(CL_{int})和肝清除率(CL_{hep}):

$$[0082] \quad CL_{int} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \left(\frac{D \cdot W}{C} \right) \quad CL_h = \frac{CL_{int} \cdot Q}{CL_{int} + Q}$$

[0083] 其中D为每份质量的肝的细胞色素P450-相关蛋白的量,W为每份重量的动物存在的平均肝质量,C为肝微粒体浓度,并且Q为物种依赖性肝血流量。

[0084] 表2

[0085]

物种	W ^a	Q ^b	D ^c
小鼠	87.0	90	50
大鼠	45.0	70	45
兔	30.8	71	78
狗	32.0	35	55
猴	32.0	44	60
人	25.7	20	53

[0086] a) W=每份质量的动物(kg)的平均肝质量(g)。

[0087] b) Q=平均肝血流量(mL/min/kg)。

[0088] c) D(微粒体)=每份质量的肝(g)的细胞色素P450-相关蛋白的量(mg)。

[0089] 体内/体外校正因子然后通过用IV CL值除以微粒体 CL_h 值来测定。每种化合物的临床前校正因子的算术平均值用于由测量的人微粒体 CL_h 预测人IV清除率(CL_h /校正因子)。

[0090] 另外,化合物1相对于化合物2和化合物3在经口给药(10mg/kg)之后实现更高的经口AUC(血浆药物浓度-时间曲线下面积)、更高的C最大值(在血浆药物浓度-时间曲线中实现的最大浓度)、以及更高的谷浓度(在血浆药物浓度-时间曲线中实现的最小浓度),如由其大鼠药代动力学曲线举例说明的,如图1和图2所示并且如表3中所总结的。

[0091] 表3

[0092]

大鼠PK参数	化合物1	化合物2	化合物3
AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	2.57	0.925	1.06
C最大值 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	1.06	0.420	0.498
谷浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.00134	0.000446	0.00044

[0093] 图3和图4分别示出了化合物1相对于化合物2在大鼠中在经口给药10mg/kg之后估算的TrkA抑制和化合物1相对于化合物3的TrkA抑制。图3和图4中的曲线使用以下等式来计算:

$$[0094] \quad \text{抑制}(\%) = I_{\text{最小值}} + \frac{I_{\text{最大值}} - I_{\text{最小值}}}{1 + 10^{(\log(IC_{50}) - \log(C)) \cdot n}}$$

[0095] 其中 $I_{\text{最小值}}$ 和 $I_{\text{最大值}}$ 分别为最小和最大可能的靶标抑制, IC_{50} 为靶标被抑制50%时的

浓度, C为抑制剂的浓度, 并且n为Hill斜率。如图3和图4所示的, 化合物1估算的TrkA抑制比化合物2和化合物3更高。

[0096] 化合物1的较低清除率、较高AUC、较高C最大值和较高谷浓度在向患者施用化合物1之后的一整天内引起与化合物2和化合物3相比更大的TrkA受体抑制。这转换成化合物1相对于化合物2和化合物3的更大治疗功效。实现提高的治疗功效的能力在治疗罹患例如中度至重度疼痛、某些炎症疾患或癌症(包括由异常TrkA信号传导驱动的癌症)的患者中是重要的。

[0097] 另外, 化合物1的较低清除率在施用之后引起相对于化合物2和化合物3更长的半衰期, 从而在经口、静脉内或皮下施用所述化合物之后引起更持久的TrkA受体抑制。增加的半衰期具有提供更持久的功效和/或减少的药物给药频率的益处。此外, 化合物1的较低清除率和较高经口AUC有益之处在于相对于化合物2和化合物3仅需要更低剂量的化合物1来有效抑制TrkA受体并提供给定治疗功效。功效所需要的化合物剂量降低转换成了通过给药方案改进药物耐受性、治疗成本和患者顺应性。

[0098] 化合物1相对于化合物2具有出乎意料地提高的外周至中枢神经系统分布, 如通过在大鼠中经口给药之后较高的血浆与脑内的比率证明的, 如表4中所示的。维持低脑暴露具有降低中枢神经系统相关副作用的风险的益处, 所述副作用诸如与认知或运动受损有关的副作用。中枢神经系统暴露减少有益之处在于在患者中对于给定治疗作用发生较少或减少的副作用并且/或者在观察到任何剂量限制性副作用之前实现较大治疗作用。

[0099] 化合物1相对于化合物2还具有出乎意料地减小的针对hERG(人Ether-à-go-go-相关基因)通道的抑制活性。hERG通道功能的抑制可导致严重的药物诱导性(获得性)长QT综合征副作用, 所述副作用可产生伴随的猝死风险。由于此副作用的严重性质, 具有针对hERG的减小的抑制活性是希望的。

[0100] 表4

	化合物 1	化合物 2
[0101] 血浆:脑比率 (大鼠 PO 10 mg/kg)	21	11
hERG IC ₅₀ (μM)	20	6.9

[0102] 化合物1相对于化合物2的上述意外特征可能不能合理地预期来自这些化合物之间的微小结构差异。化合物1对比化合物2的仅有结构差异为去除了单个氟原子。然而, 在本领域中已证实从化合物中去除单个氟原子通常不能提供在预测的人清除率中具有改进的变化的化合物, 所述变化为对于化合物1相对于化合物2观察到的。实际上, 在本领域中存在具有药物继续的许多实例, 它们证实具有更多氟原子的类似物相对于其具有更少氟原子的类似物倾向于具有更低的体内清除率(参见, 例如, Barker, A. J. 等, Bioorg. Med. Chem. Lett. 11 (2001) 1911-1914; Rosenblum, S. B. 等, J. Med. Chem., 41, (1998) 973-980; Brown, M. F. 等, Bioorg. Med. Chem. Lett. 14 (2004) 2175-2179)。相比之下, 单氟化合物1相对于二氟化合物2具有预测的更低的人清除率。类似地, 化合物1相对于化合物2更高C最大值、更高AUC、更高谷暴露和更高TrkA靶敲除的药代动力学(PK)优点(如通过临床前大鼠PK证实的)对于此小结构变化为相当显著且出乎意料的。

[0103] 另外, 化合物1和化合物3的PK参数的比较证实化合物1的提高了的药代动力学不是

所有单氟类似物的一般现象。实际上,尽管具有单氟取代的苯基,但是化合物3与化合物1相比显示一个更差的投射的人清除率和就C最大值、AUC、谷暴露和TrkA靶标敲除而言的较差PK。在化合物1中甲基嘧啶基与单氟取代的苯基部分的独特组合出乎意料地提供以上所列出的优异特征。

[0104] 本文还提供化合物1的药学上可接受的盐。具体是盐为盐酸盐。在一个实施方案中,本文提供了一种化合物1的单盐酸盐。在一个实施方案中,本文提供了一种化合物1的二盐酸盐。

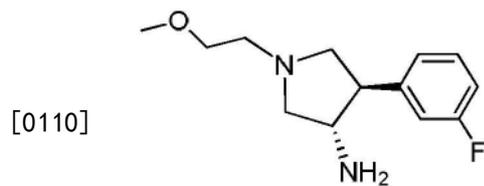
[0105] 在一个实施方案中,本文提供了化合物1的游离碱形式。

[0106] 在一个实施方案中,化合物1或其盐可以溶剂化物形式分离,并且因此其任何此类溶剂化物被包括在本发明的范围内。例如,化合物1或其盐可以非溶剂化形式以及与药学上可接受的溶剂诸如水、乙醇等溶剂化的形式存在。

[0107] 术语“药学上可接受的”是指物质或组合物为在化学上和/或毒理学上与构成制剂的其他成分、和/或用它治疗的哺乳动物相容的。

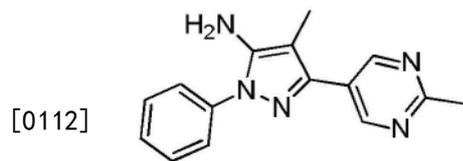
[0108] 本文还提供了一种用于制备化合物1或其药学上可接受的盐的方法,所述方法包括:

[0109] (a) 使具有以下式II-A的化合物



II-A

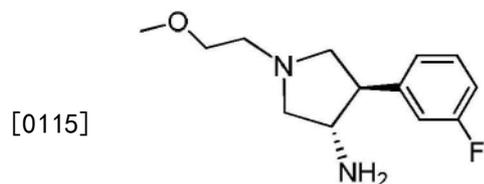
[0111] 与具有以下式III的化合物



III

[0113] 在羰基二咪唑或三光气和碱存在下反应;或者

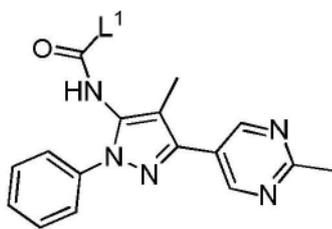
[0114] (b) 使具有以下式II-A的化合物



II-A

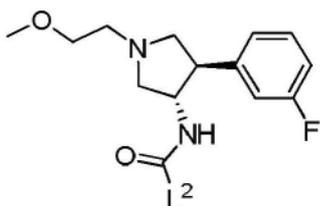
[0116] 与具有以下式IV的化合物

[0117]

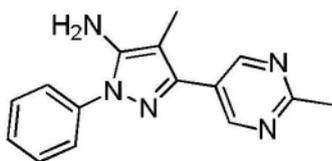
**IV**[0118] 其中L¹为离去基团,在碱存在下反应;或者

[0119] (c) 使具有以下式V的化合物

[0120]

**V**[0121] 其中L²为离去基团,与具有以下式III的化合物

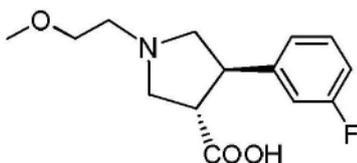
[0122]

**III**

[0123] 在碱存在下反应;或者

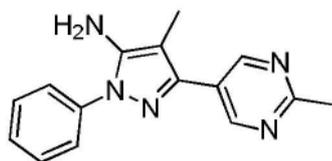
[0124] (d) 使具有以下式VI的化合物

[0125]

**VI**

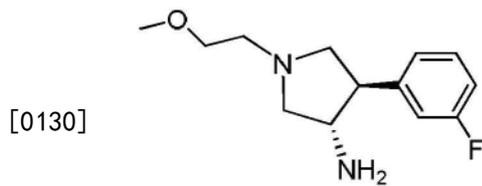
[0126] 与二苯基磷酰基叠氮反应以形成一种中间体,接着使所述中间体与具有以下式III的化合物

[0127]

**III**

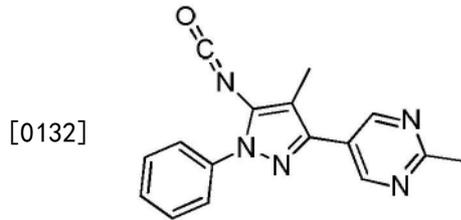
[0128] 在碱存在下反应;或者

[0129] (e) 使具有以下式II-A的化合物



II-A

[0131] 与具有以下式VII的化合物



VII

[0133] 在碱存在下反应;并且

[0134] 去除保护基团(如果存在的话)并任选地制备其药学上可接受的盐。

[0135] 参考方法(a),所述碱可为胺碱,诸如三乙胺或二异丙基胺。适合的溶剂包括二氯甲烷、二氯乙烷、THF、DMA以及DMF。所述反应合宜地在环境温度下进行。

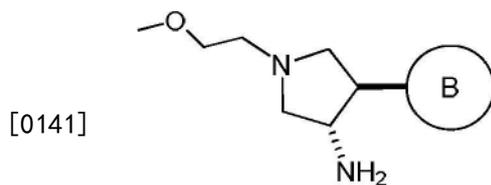
[0136] 参考方法(b),所述离去基团可为例如苯氧基或4-硝基苯氧基。所述碱可为胺碱,诸如三乙胺或二异丙基胺。适合的溶剂包括DMA、DMF和DCE。所述反应合宜地在环境温度下进行。

[0137] 参考方法(c),所述离去基团可为例如苯氧基或4-硝基苯氧基。所述碱可为胺碱,诸如三乙胺或二异丙基胺。适合的溶剂包括DCE、DMA和DMF。所述反应合宜地在环境温度下进行。

[0138] 参考方法(d),所述碱可为胺碱,诸如三乙胺或二异丙基胺。适合的溶剂包括甲苯和DMF。所述反应合宜地在高温下进行,所述高温例如溶剂的回流温度。

[0139] 参考方法(e),所述碱可为胺碱,诸如三乙胺或二异丙基胺。适合的溶剂包括DCM、DCE、DMF和THF。所述反应合宜地在约0°C与环境温度之间的温度下进行。

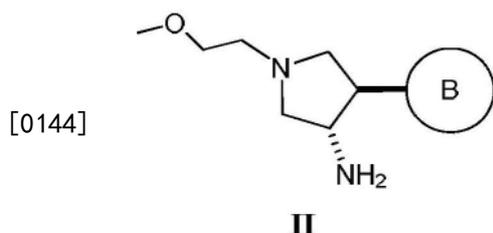
[0140] 本文还提供了一种用于制备式II化合物的外消旋混合物的方法



II

[0142] 其中B环和NH₂部分处于反式构型中。式II化合物(诸如式II-A化合物)可用于制备诸如TrkA抑制性化合物诸如化合物1的化合物。

[0143] 因此,本文提供了一种用于制备式II化合物的外消旋混合物的方法



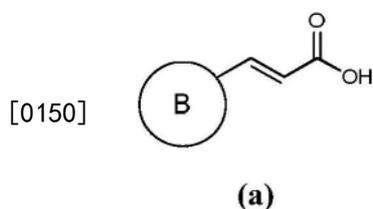
[0145] 其中：

[0146] 环B为Ar¹或hetAr¹；

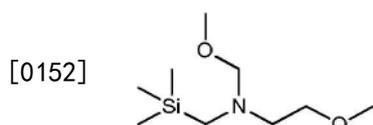
[0147] Ar¹为任选地被一个或多个独立地选自以下各项的取代基取代的苯基：卤素、CF₃、CF₃O-、(1-4C) 烷氧基、羟基 (1-4C) 烷基、(1-6C) 烷基以及CN；并且

[0148] hetAr¹为具有1-3个独立地选自N、S和O的环杂原子并且任选地被1-2个独立地选自(1-6C) 烷基、卤素、OH、CF₃、NH₂和羟基 (1-2C) 烷基的基团取代的5-6元杂芳基，所述方法包括：

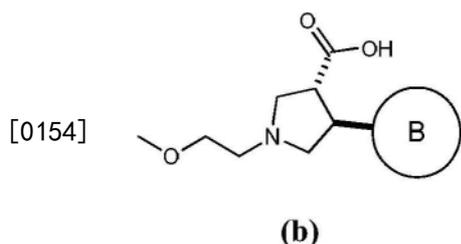
[0149] (a) 使以下式 (a) 化合物



[0151] 其中环B为针对式II所定义的，与具有以下式的2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺

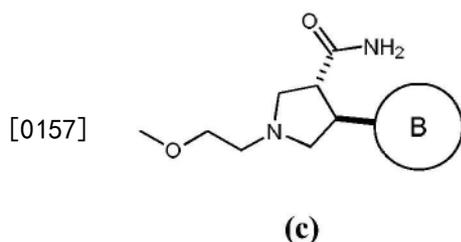


[0153] 在催化量的酸存在下反应，以提供以下式 (b) 化合物



[0155] 其中环B为针对式II所定义的；

[0156] (b) 使所述式 (b) 化合物与羰基二咪唑在催化量的咪唑盐酸盐存在下反应，接着用氨处理，以提供具有以下式 (c) 的化合物



[0158] 其中环B为针对式II所定义的；以及

[0159] (c) 使所述式 (c) 化合物与次氯酸钠反应,接着用KOH处理,然后用HCl处理,以提供作为反式式II外消旋混合物的所述式II化合物。

[0160] 参考步骤 (a),所述酸可为有机酸,诸如三氟乙酸。

[0161] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被一个或多个独立地选自以下各项的取代基取代的苯基:卤素、 CF_3 、 CF_3O -、(1-4C) 烷氧基、羟基 (1-4C) 烷基、(1-6C) 烷基以及CN。

[0162] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被一个或多个独立地选自卤素的取代基取代的苯基。

[0163] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被一个或多个氟取代的苯基。

[0164] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为3-氟苯基。

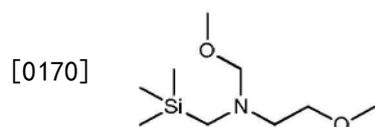
[0165] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为3,4-二氟苯基。

[0166] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为具有1-3个独立地选自N、S和O的环杂原子并且任选地被1-2个独立地选自(1-6C) 烷基、卤素、OH、 CF_3 、 NH_2 和羟基 (1-2C) 烷基的基团取代的5-6元杂芳基。

[0167] 在以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被1-2个独立地选自以下各项的基团取代的吡啶基环、苯硫基环、噻唑基环、噁唑基环或异噁唑基环:(1-6C) 烷基、卤素、OH、 CF_3 、 NH_2 以及羟基 (1-2C) 烷基。

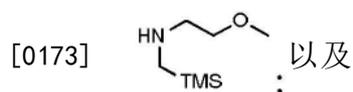
[0168] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被1-2个独立地选自卤素和(1-6C) 烷基的基团取代的吡啶基环、苯硫基环、噻唑基环、噁唑基环或异噁唑基环。

[0169] 在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法的一个实施方案中,具有以下式的2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺



[0171] 可通过包括以下各项的方法来制备:

[0172] (i) 使(氯甲基)三甲基硅烷与2-甲氧基乙胺反应,以提供具有以下结构的(2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺



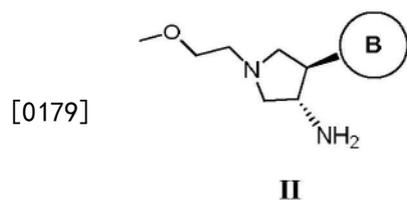
[0174] (ii) 用甲醇中的甲醛处理所述(2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺,以提供所述2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺。

[0175] 本文还提供了一种用于分离反式式II作为游离碱或作为二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐的对映体1的方法,其包括:

[0176] 用二-对-甲苯酰基-D-酒石酸处理外消旋反式式II以提供外消旋反式II的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐;

[0177] 使反式II的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐重结晶,以提供反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐;以及

[0178] 任选地用无机碱处理反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐,以提供具有如下所示绝对构型的反式式II的对映体1的游离碱:



[0180] 在一个实施方案中,反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐用于制备诸如TrkA抑制剂化合物诸如化合物1的化合物。例如,在一个实施方案中,反式式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐用于在Shotten-Baumann条件下制备诸如TrkA抑制剂化合物诸如化合物1的化合物,在所述条件中反式式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐在由水和有机溶剂(诸如二氯甲烷)组成的两相溶剂系统下在诸如氢氧化钠的碱存在下生成,并且与具有式IV的化合物反应。

[0181] 在一个实施方案中,反式式II的对映体1的游离碱用于制备诸如TrkA抑制剂化合物诸如化合物1的化合物。

[0182] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被一个或多个独立地选自以下各项的取代基取代的苯基:卤素、CF₃、CF₃O⁻、(1-4C)烷氧基、羟基(1-4C)烷基、(1-6C)烷基以及CN。

[0183] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被一个或多个独立地选自卤素的取代基取代的苯基。

[0184] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被一个或多个氟取代的苯基。

[0185] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为3-氟苯基。

[0186] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为3,4-二氟苯基。

[0187] 在一个实施方案中,用于分离反式式II的对映体1的以上方法提供了一种用于制备(3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基甲基)吡咯烷-3-胺的方法。

[0188] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为具有1-3个独立地选自N、S和O的环杂原子并且任选地被1-2个独立地选自(1-6C)烷基、卤素、OH、CF₃、NH₂和羟基(1-2C)烷基的基团取代的5-6元杂芳基。

[0189] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被1-2个独立地选自以下各项的基团取代的吡啶基、苯硫基、噻唑基、噁唑基或异噁唑基环:(1-6C)烷基、卤素、OH、CF₃、NH₂以及羟基(1-2C)烷基。

[0190] 在用于分离反式式II的对映体1的以上方法的一个实施方案中,环B为任选地被1-2个独立地选自卤素和(1-6C)烷基的基团取代的吡啶基、苯硫基、噻唑基、噁唑基或异噁唑基环。

[0191] 用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法与国际申请公布号WO 2012/

158413中所述的方法相比具有若干优点。例如,WO 2012/158413中所述的方法包括苯甲醛试剂与硝基甲烷之间的Nitro-Aldol反应。然后通过高压下加氢来还原所得2-硝基乙烯基苯中间体。这两个反应步骤不适合用于大规模合成,因为Nitro-Aldol反应和由其衍生的硝基中间体不稳定并且可能有危险。相比之下,用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法并不使用任何高危害的化学剂并且避免了含硝基中间体和加氢作用。另外,在用于制备式II化合物的外消旋混合物的以上方法中使用的所有条件均处于用于大规模合成的试验工厂中通常可见的标准运行参数内,例如所述方法不使用极端温度并且不需要高压容器。

[0192] 化合物1或其药学上可接受的盐充当TrkA抑制剂的能力已通过实施例A和实施例B中所述的试验来证实。

[0193] 化合物1或其药学上可接受的盐可用于治疗疾病和病症,包括但不限于疼痛、癌症、炎症/炎性疾病、神经变性疾病、某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位、糖尿病性周围神经病变、前列腺炎、盆腔疼痛综合征、与骨重塑调节失衡相关的疾病、以及由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

[0194] 如本文所用的,术语“治疗(treat/treatment)”是指治疗性或缓解性措施。有利的或希望的临床结果包括但不限于与病症或疾患有关的症状完全或部分缓解、疾病程度减轻、疾病处于稳定(即未恶化)状态、疾病进展延迟或减慢、疾病状态改善或缓和、以及缓解(无论是部分还是总体),无论这些结果是可检测的还是不可检测的。“治疗”还意味着与未接受治疗时的预期存活时间相比延长的存活时间。

[0195] 在某些实施方案中,化合物1或其药学上可接受的盐可用于预防本文所定义的疾病和病症。如本文所用的术语“预防”意指整体或部分预防本文所述的疾病或疾患或其症状的发作、复发或传播,并且包括在症状发作前施用化合物1或其药学上可接受的盐。

[0196] 化合物1或其药学上可接受的盐可与一种或多种另外的治疗剂组合使用,所述另外的治疗剂通过相同或不同的作用机制起作用。

[0197] 如本文所用的术语“药物组合”是指通过将超过一种活性成分混合或组合产生的药物治疗剂并且包括固定和不固定的活性成分组合。术语“固定组合”意指化合物1或其药学上可接受的盐和至少一种另外的治疗剂二者同时以单一实体或剂量形式向患者施用。术语“非固定组合”意指化合物1或其药学上可接受的盐和至少一种另外的治疗剂作为单独的实体同时或以可变干预时限依次向患者施用,其中此施用在患者身体中提供有效水平的两种或更多种化合物。这些也可用于混合疗法(cocktail therapy),例如施用三种或更多种活性成分。

[0198] 如本文所用的,“共同施用”意指包括向单一患者施用所选择的治疗剂,并且旨在包括其中所述药剂通过相同或不同施用途径或在相同或不同时间施用的治疗方案。此术语包括向哺乳动物施用两种或更多种药剂以使得两种药剂和/或其代谢物同时存在于哺乳动物中。它包括以单独的组合物同时施用、以单独的组合物在不同时间施用和/或以其中存在两种药剂的组合物施用。在一个实施方案中,本发明的化合物和其他治疗剂以单一组合物施用。在一个实施方案中,化合物1或其药学上可接受的盐和其他药剂在所述组合物中混合。

[0199] 在一个实施方案中,化合物1或其药学上可接受的盐可用于治疗疼痛,包括慢性和

急性疼痛。例如，化合物1或其药学上可接受的盐可用于治疗多种类型的疼痛，包括炎性疼痛、神经性疼痛、背痛、以及与癌症、手术或骨折有关的疼痛。

[0200] 在一个实施方案中，化合物1或其药学上可接受的盐可用于治疗急性疼痛。如国际疼痛研究协会(International Association for the Study of Pain)定义的急性疼痛由疾病、炎症或组织损伤所引起。这种类型的疼痛通常例如在创伤或手术之后突然发作，并且可能伴随有焦虑或紧张，并且局限于给定的时间段和严重性。在一些情况下，它可变成慢性的。

[0201] 在一个实施方案中，化合物1或其药学上可接受的盐可用于治疗慢性疼痛。如国际疼痛研究协会定义的慢性疼痛被广泛地认为代表疾病本身。它可能因环境和生理因素而恶化。慢性疼痛持续比急性疼痛更长的时间段并且对大部分医学治疗抵抗，通常持续3个月或更长时间。它可以并常常引起患者的严重问题。

[0202] 因此，本文提供了一种治疗哺乳动物中的疼痛的方法，其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述疼痛的量的化合物1或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中，所述疼痛为急性疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为慢性疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为慢性背痛。在一个实施方案中，所述疼痛为神经性疼痛，诸如与糖尿病性周围神经病变或非糖尿病性(例如化学治疗诱导的)周围神经变性有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为炎性疼痛，诸如与骨关节炎有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为与癌症有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为与手术有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为与骨折有关的疼痛。

[0203] 本文还提供了一种预防哺乳动物的疼痛的方法，其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于预防所述疼痛的量的化合物1或其药学上可接受的盐在一个实施方案中，所述疼痛为急性疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为慢性疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为慢性背痛。在一个实施方案中，所述疼痛为神经性疼痛，诸如与糖尿病性周围神经病变或非糖尿病性(例如化学治疗诱导的)周围神经变性有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为炎性疼痛，诸如与骨关节炎有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为与癌症有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为与手术有关的疼痛。在一个实施方案中，所述疼痛为与骨折有关的疼痛。

[0204] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的疼痛的方法，其包括向有需要的哺乳动物共同施用有效量的：(a) 化合物1或其药学上可接受的盐；以及(b) 至少一种选自以下各项的另外的治疗剂：抗炎化合物、类固醇(例如，地塞米松、可的松和氟替卡松)、止痛剂诸如NSAID(例如，阿司匹林、布洛芬、消炎痛和酮洛芬)、阿片类(诸如吗啡)、降钙素基因相关肽受体拮抗剂、亚型选择性离子通道调节剂、抗惊厥药(例如普瑞巴林和加巴喷丁)、双重血清素-去甲肾上腺素再吸收抑制剂(例如度洛西汀、文拉法辛和米那普仑)、JAK家族激酶抑制剂(例如，鲁索利替尼或托法替尼)、以及三环抗抑郁药(诸如阿米替林，去甲阿米替林和脱甲丙咪嗪)。这些另外的治疗剂可与化合物1或其药学上可接受的盐作为相同或单独剂型的一部分，经由相同或不同施用途径并按照根据本领域技术人员已知的标准药物实践的相同或不同施用方案施用。

[0205] 因此，本文还提供了一种包含有效量的以下各项的药物组合：(a) 化合物1或其药学上可接受的盐和(b) 至少一种选自以下各项的另外的治疗剂：抗炎化合物、类固醇(例如，

地塞米松、可的松和氟替卡松)、止痛剂诸如NSAID(例如,阿司匹林、布洛芬、消炎痛和酮洛芬)、以及阿片类(诸如吗啡),以用于治疗哺乳动物中的疼痛,其中(a)和(b)可处于单独的剂型中或处于相同的剂型中。在一个实施方案中,本文提供了一种包含以下各项的药物组合:(a)有效量的化合物1或其药学上可接受的盐和(b)有效量的止痛剂诸如NSAID(例如,阿司匹林、布洛芬、消炎痛和酮洛芬)。

[0206] 化合物1或其药学上可接受的盐也可用于治疗癌症。具体实例包括成神经细胞瘤、卵巢癌、胰腺癌、结肠直肠癌以及前列腺癌。

[0207] 因此,本文还提供了一种治疗哺乳动物中的癌症的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述癌症的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0208] 化合物1或其药学上可接受的盐也可用于治疗具有TrkA调节异常的癌症。

[0209] 因此,本文还提供一种用于治疗诊断患有具有TrkA调节异常的癌症的患者的方法,其包括向所述患者施用治疗有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0210] 在一个实施方案中,TrkA调节异常包括野生型TrkA过度表达(自分泌/旁分泌活化)。

[0211] 在一个实施方案中,TrkA调节异常包括引起TrkA基因融合物的基因扩增或一个或多个染色体易位或倒位。在一个实施方案中,所述调节异常为基因易位的结果,其中所表达的蛋白质为含有来自非-TrkA蛋白和TrkA蛋白的残基的融合蛋白,并且最少为TrkA激酶结构域。在一个实施方案中,TrkA融合蛋白为LMNA-TrkA、TFG-TrkA、TPM3-TrkA、CD74-TrkA、NFASC-TrkA、MPRIP-TrkA、BCAN-TrkA、或TPR-TrkA。在一个实施方案中,TrkA融合蛋白为LMNA-TrkA、TFG-TrkA、TPM3-TrkA、CD74-TrkA、NFASC-TrkA、MPRIP-TrkA、BCAN-TrkA、TP53-TrkA、RNF213-TrkA、RABGAP1L-TrkA、IRF2BP2-TrkA、SQSTM1-TrkA、SSBP2-TrkA、或TPR-TrkA,其中:

[0212]	LMNA	=	前层蛋白-A/C;
	TFG	=	TRK-融合基因蛋白
	TPM3	=	原肌球蛋白 α -3;
	CD74	=	HLA II类组织相容性抗原 γ 链;
	NFASC	=	神经束蛋白;
	MPRIP	=	MPRIP蛋白;
	BCAN	=	短小蛋白聚糖(Brevican)核心蛋白;并且
	TP53	=	细胞肿瘤抗原p53
	RNF213	=	E3泛素-蛋白连接酶RNF213
	RABGAP1L	=	Rab GTP酶活化蛋白1-样
	IRF2BP2	=	干扰素调节因子2-结合蛋白2
	SQSTM1	=	Sequestosome-1
	SSBP2	=	单链DNA-结合蛋白2
	TPR	=	核蛋白TPR

[0213] 在一个实施方案中,TrkA调节异常包括TrkA蛋白质中的一个或多个缺失、插入或突变。在一个实施方案中,所述调节异常包括来自TrkA蛋白的一个或多个残基的缺失,从而产生TrkA激酶的组成型活性。在一个实施方案中,所述缺失包括TrkA同种型2中的残基303-

377的缺失。

[0214] 在一个实施方案中,TrkA调节异常包括拼接变化,其中所表达的蛋白质可选地为具有一个或多个缺失的残基的TrkA的拼接变体,从而产生TrkA激酶的组成型活性。在一个实施方案中,具有组成型活性的TrkA的替代性拼接形式具有外显子8、9和11的缺失,从而导致表达的蛋白质相对于TrkA同种型2失去残基192-284和393-398。

[0215] 已鉴别为具有TrkA调节异常的癌症(参见以下参考文献;还参见www.cancer.gov和www.nccn.org)包括:

[0216] (A)类癌症,其中TrkA调节异常包括引起TrkA基因融合物的基因扩增或一个或多个染色体易位或倒位,所述癌症包括:

癌症	参考文献	护理标准
非小细胞肺癌	Vaishnavi et al., <i>Nature Medicine</i> , 19, 1469-1472 (2013)	放射疗法(例如放射性碘疗法、外部射线束放射、镭 223 疗法)、作为单一药剂(例如二马来酸阿法替尼、贝伐单抗、卡铂、西妥昔单抗、顺铂、克唑替尼、埃罗替尼、吉非替尼、吉西他滨、甲氨蝶呤、紫杉醇、培美曲塞)或组合(例如卡铂-紫杉醇、吉西他滨-紫杉醇、化学放射)的化学治疗剂
[0217] 乳头状甲状腺癌	Caria P., et al., <i>Cancer Genetics and Cytogenetics</i> , 203:21-29 (2010)	放射疗法(例如,放射性碘疗法、外部射线束放射)和化学治疗剂(例如,索拉非尼、舒尼替尼、帕唑帕尼)
多形性成胶质细胞瘤	Frattini, V. et al., <i>Nature Genet.</i> , 45(10):1141-1149 (2013)	化学治疗剂(例如贝伐单抗、依维莫司、洛莫司汀、替莫唑胺)
结肠直肠癌	Martin-Zanca, D. et al., <i>Nature</i> , 319:743-748 (1986)	作为单一药剂(阿柏西普、贝伐单抗、卡培他滨、西妥昔单抗、氟尿嘧啶、伊立替康、甲酰四氢叶酸、奥沙利铂、帕木单抗、瑞格菲尼)或组合(例如 folfox、folfiri、capox、folfiri-贝伐单抗、folfiri-西妥昔单抗、xelox)的化学治疗剂

癌症	参考文献	护理标准
[0218] 黑色素瘤	WO 2013/059740 A1	化学治疗剂(例如,阿地白介素、达拉菲尼(dabrafenib)、达卡巴嗪、干扰素 α -2b、伊匹木单抗、聚乙二醇干扰素 α -2b、曲美替尼(trametinib)、维罗非尼(vemurafenib))
胆管癌	Ross, J. S. et al., <i>Oncologist</i> , 19, 235-242 (2014)	化学治疗剂(例如吉西他滨/顺铂、氟嘧啶)
肉瘤	Stransky, N. et al., <i>Nat. Comm.</i> , Sept. 2014, 1-10	放射疗法、化学治疗剂(例如阿霉素、异环磷酰胺、表柔比星、吉西他滨、达卡巴嗪、替莫唑胺、长春瑞宾、帕唑帕尼)

[0219] (B) 类癌症,其中TrkA调节异常包括TrkA蛋白质中的一个或多个缺失、插入或突变,所述癌症包括:

癌症	参考文献	护理标准
[0220] 急性骨髓性白血病	Meyer, J. et al., <i>Leukemia</i> 21:2171-2180 (2007); Reuther et al., <i>Mol. Cell Biol.</i> 20:8655-8666 (2000)	作为单一药剂(例如三氧化二砷、环磷酰胺、阿糖胞苷、柔红霉素、阿霉素、长春新碱)或组合(例如 ADE)的化学治疗剂
大细胞神经内分泌癌	Marchetti et al., <i>Human Mutation</i> 29(5):609-616 (2008)	放射疗法(例如放射性碘疗法、外部射线束放射、镭 223 疗法)和/或化学治疗剂(例如顺铂、卡铂、依托泊苷)
成神经细胞瘤	Tacconelli et al., <i>Cancer Cell</i> 6:347-360 (2004)	化学治疗剂(例如环磷酰胺、阿霉素、长春新碱)

[0221] (C) 类癌症,其由野生型TrkA的过度表达(自分泌活化)所驱动,所述癌症包括:

癌症	参考文献	护理标准
[0222] 前列腺癌	Walch, E.T. et al., <i>Clinical & Experimental Metastasis</i> 17:307-314 (1999); Papatsoris, A. G. et al., <i>Expert Opinion on Investigational Drugs</i> 16(3):303-309 (2007)	放射疗法(例如, 镭 223 疗法)或化学治疗剂(例如阿比特龙(abiraterone)、卡巴他塞(cabazitaxel)、地加瑞克(degarelix)、地舒单抗、多西他赛、恩杂鲁胺(enzalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)、泼尼松、西

癌症	参考文献	护理标准
		普鲁塞(sipuleucel)-T)
成神经细胞瘤	Van Noesel, M.M. et al., <i>Gene</i> 325:1-15 (2004)	化学治疗剂(例如环磷酰胺、阿霉素、长春新碱)
胰腺癌	Zhang, Y. et al., <i>Oncology Reports</i> 14:161-171 (2005)	作为单一药剂(例如埃罗替尼、氟尿嘧啶、吉西他滨、丝裂霉素 C)或组合(例如吉西他滨-奥沙利铂)的化学治疗剂
黑色素瘤	Truzzi, F. et al., <i>Journal of Investigative Dermatology</i> 128(8):2031-2040 (2008)	化学治疗剂(例如, 阿地白介素、达拉菲尼、达卡巴嗪、干扰素 α -2b、伊匹木单抗、聚乙二醇干扰素 α -2b、曲美替尼、维罗非尼)
头颈鳞状细胞癌	Kolokythas, D. et al., <i>Journal of Oral and Maxillofacial Surgery</i> 68(6):1290-1295 (2010)	放射疗法和/或化学治疗剂(例如博来霉素、西妥昔单抗、顺铂、多西他赛、氟尿嘧啶、甲氨蝶呤)
胃癌	Ni, S-Z. et al., <i>Asian Pacific Journal of Cancer Prevention</i> 13:1511-1514 (2012)	化学治疗剂(例如多西他赛、阿霉素、氟尿嘧啶、丝裂霉素 C、曲妥珠单抗)

[0223] 在一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗诊断患有带有TrkA调节异常的癌症的患者的方法,其包括向患者施用化合物1或其药学上可接受的盐以治疗所述癌症,其中所述癌症选自非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、急性骨髓性白血病、结肠直肠癌、大细胞神经内分泌癌、前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌以及胃癌。在一个实施方案中,本文提供了一种用于治疗诊断患有具有TrkA调节异常的癌症的患者的方法,其包括向患者施用化合物1或其药学上可接受的盐以治疗所述癌症,其中所述癌症选自非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、急性骨髓性白血病、结肠直肠癌、大细胞神经内分泌癌、前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌、胃癌、胆管癌以及肉瘤。

[0224] 还提供了一种用于治疗在有需要的哺乳动物中的癌症的方法,所述方法包括:(a) 确定所述癌症是否与TrkA激酶调节异常有关;以及(b) 如果确定癌症与TrkA激酶调节异常有关,则向所述哺乳动物施用治疗有效量的化合物1或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,化合物1为二盐酸盐。

[0225] 在一个实施方案中,TrkA调节异常包括引起TrkA基因融合物的一个或多个染色体易位或倒位。在一个实施方案中,TrkA基因融合物为LMNA-TrkA、TFG-TrkA、TPM3-TrkA、CD74-TrkA、NFASC-TrkA、MPRIP-TrkA、BCAN-TrkA、TP53-TrkA、RNF213-TrkA、RABGAP1L-TrkA、IRF2BP2-TrkA、SQSTM1-TrkA、SSBP2-TrkA、或TPR-TrkA。在一个实施方案中,所述癌症为非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、结肠直肠癌、黑色素瘤、胆管癌、或肉瘤。

[0226] 在一个实施方案中,TrkA调节异常包括TrkA蛋白质中的一个或多个缺失、插入或

突变。在一个实施方案中,所述癌症为急性骨髓性白血病、大细胞神经内分泌癌、或成神经细胞瘤。

[0228] 在一个实施方案中,TrkA调节异常为野生型TrkA过度表达(自分泌活化)。在一个实施方案中,所述癌症为前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌、或胃癌。

[0229] 在一个实施方案中,任何以上用于治疗有需要的哺乳动物中的癌症的方法还包括施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的至少一种选自以下的另外的治疗剂的组合:一种或多种另外的疗法或化学治疗剂。

[0230] 在一个实施方案中,任何以上用于治疗有需要的哺乳动物中的癌症的方法包括向有需要的所述哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的一种或多种另外的化学治疗剂的组合。

[0231] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂选自受体酪氨酸激酶靶向治疗剂,包括卡博替尼(cabozantinib)、克唑替尼、埃罗替尼、吉非替尼、伊马替尼、拉帕替尼、尼罗替尼、帕唑帕尼、培妥珠单抗、瑞格菲尼、舒尼替尼、以及曲妥珠单抗。

[0232] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂选自信号转导途径抑制剂,包括Ras-Raf-MEK-ERK途径抑制剂(例如比尼替尼(binimetinib)、司美替尼(selumetinib)、恩可非尼(encorafenib)、索拉非尼、曲美替尼、维罗非尼)、PI3K-Akt-mTOR-S6K途径抑制剂(例如依维莫司、雷帕霉素、哌立福辛、坦罗莫司)以及细胞凋亡途径的调节剂(例如奥巴克拉(obataclax))。

[0233] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂选自细胞毒性化学治疗剂,包括三氧化二砷、博来霉素、卡巴他塞、卡培他滨、卡铂、顺铂、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、柔红霉素、多西他赛、阿霉素、依托泊苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、伊立替康、洛莫司汀、甲氨蝶呤、丝裂霉素C、奥沙利铂、紫杉醇、培美曲塞、替莫唑胺、以及长春新碱。

[0234] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂选自血管发生靶向治疗剂,包括阿柏西普和贝伐单抗。

[0235] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂选自免疫靶向药剂,包括阿地白介素、伊匹木单抗、拉姆单抗(lambrolizumab)、纳武单抗(nivolumab)、西普鲁塞-T。

[0236] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂选自具有针对TrkA途径的活性的药剂,包括NGF-靶向生物药剂诸如NGF抗体和panTrk抑制剂。

[0237] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂或治疗为放射疗法,包括放射性碘疗法、外部射线束放射和镭223疗法。

[0238] 在一个实施方案中,另外的化学治疗剂包括作为癌症标准护理的以上所列出的治疗或治疗剂中的任一种,其中所述癌症具有TrkA调节异常。

[0239] 在一个实施方案中,本文提供了一种治疗有需要的患者中的癌症的方法,其包括向所述患者施用化合物1或其药学上可接受的盐与至少一种选自以下各项的另外的治疗或治疗剂的组合:放射疗法(例如放射性碘疗法、外部射线束放射、镭223疗法)、细胞毒性化学治疗剂(例如三氧化二砷、博来霉素、卡巴他塞、卡培他滨、卡铂、顺铂、环磷酰胺、阿糖胞苷、达卡巴嗪、柔红霉素、多西他赛、阿霉素、依托泊苷、氟尿嘧啶、吉西他滨、伊立替康、洛莫司汀、甲氨蝶呤、丝裂霉素C、奥沙利铂、紫杉醇、培美曲塞、替莫唑胺、长春新碱)、酪氨酸激酶

靶向治疗剂(例如阿法替尼(afatinib)、卡博替尼、西妥昔单抗、克唑替尼、达拉菲尼、埃罗替尼、吉非替尼、伊马替尼、拉帕替尼、尼罗替尼、帕唑帕尼、帕木单抗、培妥珠单抗、瑞格菲尼、舒尼替尼、曲妥珠单抗)、细胞凋亡调节剂和信号转导抑制剂(例如依维莫司、哌立福辛、雷帕霉素、比尼替尼、司美替尼、恩可非尼、索拉非尼、坦罗莫司、曲美替尼、维罗非尼)、免疫靶向疗法(例如阿地白介素、干扰素 α -2b、伊匹木单抗、派姆单抗、纳武单抗、泼尼松、西普鲁塞-T)以及血管生成靶向疗法(例如阿柏西普、贝伐单抗),其中所述化合物1或其药学上可接受的盐与另外的治疗或治疗剂组合的量有效于治疗所述癌症。这些另外的治疗剂可与化合物1或其药学上可接受的盐作为相同或单独剂型的一部分,经由相同或不同施用途径并按照根据本领域技术人员已知的标准药物实践的相同或不同施用方案施用。

[0240] 本文还提供了(i)一种用于治疗有需要的患者中的癌症的药物组合,其包含(a)化合物1或其药学上可接受的盐、(b)另外的治疗剂和(c)任选地至少一种药学上可接受的载体,以用于同时、单独或依次用于治疗癌症,其中所述化合物1或其药学上可接受的盐和所述另外的治疗剂的量一起有效于治疗所述癌症;(ii)一种包含此组合的药物组合物;(iii)此组合用于制备治疗癌症的药物的用途;以及(iv)一种包含此组合作为用于同时、单独或依次使用的组合制剂的商业包装或产品;以及一种治疗有需要的患者的癌症的方法。

[0241] 在一个实施方案中,组合治疗是用于治疗选自以下各项的癌症:非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、急性骨髓性白血病、结肠直肠癌、大细胞神经内分泌癌、前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌以及胃癌。在一个实施方案中,组合治疗是用于治疗选自以下各项的癌症:非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、急性骨髓性白血病、结肠直肠癌、大细胞神经内分泌癌、前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌、胃癌、胆管癌以及肉瘤。

[0242] 化合物1或其药学上可接受的盐还可用于治疗炎症或炎性疾病或病症。

[0243] 因此,本文提供了一种治疗哺乳动物中的炎症或炎性疾病或病症的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述炎症的量的化合物1或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,所述炎性疾病选自炎性肺病(诸如哮喘)、间质性膀胱炎(IC)、痛性膀胱综合征(PBS)、炎性肠疾病(包括溃疡性结肠炎和克罗恩氏病)、以及炎性皮肤病诸如特异性皮炎和银屑病。

[0244] 在一个实施方案中,治疗炎症或炎性疾病或病症的方法包括向有需要的哺乳动物施用化合物1或其药学上可接受的盐与一种或多种另外的药剂的组合。另外的药剂的实例包括抗-TNF剂(例如单克隆抗体,诸如英利昔单抗(类克(Remicade))、阿达木单抗(修美乐(Humira))、聚乙二醇化赛妥珠单抗(Cimzia)以及戈利木单抗(辛普尼(Simponi)),或循环受体融合蛋白,诸如依那西普(恩博(Enbrel)))、抗代谢药和抗叶酸药(例如甲氨蝶呤)、或靶向激酶抑制剂(例如JAK家族抑制剂,诸如鲁索利替尼、托法替尼、CYT387、来他替尼(Lestaurtinib)、帕克替尼(Pacritinib)以及TG101348)。这些另外的治疗剂可与化合物1或其药学上可接受的盐作为相同或单独剂型的一部分,经由相同或不同施用途径并按照根据本领域技术人员已知的标准药物实践的相同或不同施用方案施用。

[0245] 化合物1或其药学上可接受的盐还可用于治疗哺乳动物中的神经变性疾病。在一个实施方案中,化合物1或其药学上可接受的盐还可用于通过经由阻断Sp35-TrkA相互作用来促进髓鞘形成、神经元存活和少突胶质细胞分化以治疗脱髓鞘和髓鞘形成障碍。

[0246] 因此,本文还提供了一种治疗哺乳动物中的神经变性疾病的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述神经变性疾病的量的化合物1或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,所述神经变性疾病为多发性硬化。在一个实施方案中,所述神经变性疾病为帕金森病。在一个实施方案中,所述神经变性疾病为阿尔兹海默病。

[0247] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的某些感染性疾病诸如克氏锥虫感染的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述克氏锥虫感染的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0248] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的舍格伦氏综合征的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述综合征的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0249] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的子宫内膜异位的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述子宫内膜异位的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0250] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的糖尿病性周围神经病变的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述糖尿病性周围神经病变的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0251] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的前列腺炎的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述前列腺炎的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0252] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中的盆腔疼痛综合征的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述盆腔疼痛综合征的量的化合物1或其药学上可接受的盐。

[0253] 本文还提供了一种治疗哺乳动物中与骨重塑调节失衡相关的疾病的方法,其包括向有需要的所述哺乳动物施用有效于治疗所述疾病的量的化合物1或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,所述疾病为骨质疏松症、类风湿性关节炎或骨转移。

[0254] 在一个实施方案中,用于治疗有需要的哺乳动物中与骨重塑调节失衡相关的疾病的方法包括施用化合物1或其药学上可接受的盐与一种或多种另外的治疗剂或治疗的组合。另外的治疗剂或治疗的实例包括抗-TNF治疗(例如单克隆抗体,诸如英利昔单抗(类克)、阿达木单抗(修美乐)、聚乙二醇化赛妥珠单抗(Cimzia)以及戈利木单抗(辛普尼),或使用循环受体融合蛋白,诸如依那西普(恩博)、抗代谢药和抗叶酸药(例如甲氨蝶呤)、或靶向激酶抑制剂(例如JAK家族抑制剂鲁索利替尼、托法替尼、CYT387、来他替尼、帕克替尼以及TG101348)。这些另外的治疗剂可与化合物1或其药学上可接受的盐作为相同或单独剂型的一部分,经由相同或不同施用途径并按照根据本领域技术人员已知的标准药物实践的相同或不同施用方案施用。

[0255] 本文还提供了一种治疗有需要的哺乳动物中由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病的方法,其包括向所述哺乳动物施用有效于治疗所述疾病的量的化合物1或其药学上可接受的盐。在一个实施方案中,由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病为雷诺氏综合征、特发性肺纤维化、瘢痕(肥大型、瘢痕瘤型和其他形式)、硬化、心内膜心肌纤维化、心房纤维化、骨髓纤维化、进行性块状纤维化(肺)、肾源性系统性纤维化、硬皮病、系统性硬化、关节纤维化或眼部纤维化。

[0256] 如本文所用的,“有效量”意指化合物当向需要此治疗的哺乳动物施用时足以(i)治疗可用化合物1或其药学上可接受的盐治疗的特定疾病、疾患或病症,或者(ii)减轻、改

善或消除本文所述特定疾病、疾患或病症的一种或多种症状的量。化合物1将与此量对应的量将根据各种因素改变,所述因素诸如疾病疾患及其严重性和需要治疗的哺乳动物的特性(例如,体重),但也可由本领域技术人员常规测定。

[0257] 如本文所用的,术语“哺乳动物”是指具有发展本文所述的疾病的风险或处于所述风险下的温血动物并且包括但不限于,豚鼠、狗、猫、大鼠、小鼠、仓鼠、以及灵长类(包括人类)。

[0258] 化合物1或其药学上可接受的盐可通过任何常规路径施用到例如胃肠道(例如经直肠地或经口地)、鼻、肺、肌肉系统或脉管系统、创口灌洗、或经皮地或经真皮地。化合物1或其药学上可接受的盐可以任何常规施用形式施用,所述施用形式例如片剂、散剂、胶囊、溶液、分散剂、悬浮剂、糖浆剂、喷雾剂、栓剂、凝胶剂、乳剂、贴剂等。此类组合物可含有药物制剂中常见的组分,例如稀释剂、载体、pH调节剂、甜味剂、膨胀剂、以及其他活性剂。如果希望胃肠外施用,则所述组合物将为无菌的并且为可用于注射或输注的溶液或悬浮液形式。此类组合物构成本发明的另一个方面。

[0259] 另一种制剂可通过将化合物1或其药学上可接受的盐和载体或赋形剂混合来制备。适合的载体和赋形剂为本领域技术人员所熟知的。所述制剂还可包含一种或多种缓冲剂、稳定剂、表面活性剂、润湿剂、润滑剂、乳化剂、助悬剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、助流剂、加工助剂、着色剂、甜味剂、芳香剂、调味剂、稀释剂以及提供药物(即本文所述的化合物或其药物组合物)高雅外观或有助于制造药物产品(即药品)的其他已知添加剂。

[0260] 因此,本文还提供了一种药物组合物,其包含化合物1或其药学上可接受的盐和药学上可接受的稀释剂或载体。在一个实施方案中,配制一种包含化合物1或其药学上可接受的盐的药物组合物以用于经口施用。在一个实施方案中,配制用于经口施用的一种包含化合物1或其药学上可接受的盐的药物组合物为片剂或胶囊形式。

[0261] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的疼痛。在一个实施方案中,所述疼痛为慢性疼痛。在一个实施方案中,所述疼痛为急性疼痛。在一个实施方案中,所述疼痛为慢性背痛、炎性疼痛、神经性疼痛或与癌症、手术或骨折有关的疼痛。

[0262] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的癌症。在一个实施方案中,所述癌症选自非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、急性骨髓性白血病、结肠直肠癌、大细胞神经内分泌癌、前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌、胃癌、胆管癌以及肉瘤。

[0263] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的炎症或炎性疾病或病症。在一个实施方案中,所述炎性疾病为炎性肺病(诸如哮喘)、间质性膀胱炎、膀胱疼痛综合征、炎性肠疾病(包括溃疡性结肠炎和克罗恩氏病)、以及炎性皮肤病诸如特异性皮炎。

[0264] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的感染性疾病,例如克氏锥虫感染。

[0265] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的舍格伦氏综合征。

[0266] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的子宫内

膜异位。

[0267] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的糖尿病性周围神经病变。

[0268] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的前列腺炎。

[0269] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的盆腔疼痛综合征。

[0270] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗哺乳动物中的神经变性疾病。

[0271] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗与骨重塑调节失衡相关的疾病。

[0272] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐以供用于治疗由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

[0273] 本文还提供了化合物1或其药学上可接受的盐在制造用于治疗选自以下各项的疾患的药物中的用途:疼痛、癌症、炎症、神经变性疾病、克氏锥虫感染、以及由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。在一个实施方案中,所述疾患为慢性疼痛。在一个实施方案中,所述疾患为急性疼痛。在一个实施方案中,所述疼痛为慢性背痛。在一个实施方案中,所述疼痛为炎性疼痛、神经性疼痛或与癌症、手术或骨折有关的疼痛。在一个实施方案中,所述疾患为癌症。在一个实施方案中,所述疾患为炎症。在一个实施方案中,所述疾患为神经变性疾病。在一个实施方案中,所述疾患为克氏锥虫感染。在一个实施方案中,所述疾患为舍格伦氏综合征。在一个实施方案中,所述疾患为子宫内膜异位。在一个实施方案中,所述疾患为糖尿病性周围神经病变。在一个实施方案中,所述疾患为前列腺炎。在一个实施方案中,所述疾患为盆腔疼痛综合征。在一个实施方案中,所述疾病为与骨重塑调节失衡相关的疾病。在一个实施方案中,所述疾病为由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

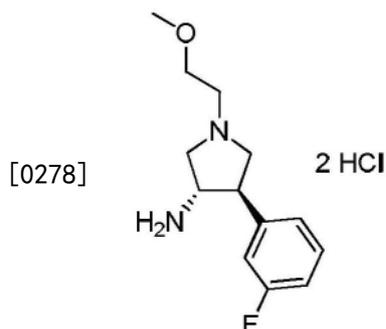
[0274] 本文还提供了一种药品,其包含用于治疗哺乳动物中的疼痛的化合物1或其药学上可接受的盐与选自以下各项的另一种治疗剂的组合:抗炎化合物、类固醇(例如,地塞米松、可的松和氟替卡松)、止痛剂诸如NSAID(例如,阿司匹林、布洛芬、消炎痛和酮洛芬)、阿片类(诸如吗啡)、降钙素基因相关肽受体拮抗剂、亚型选择性离子通道调节剂、抗惊厥药(例如普瑞巴林和加巴喷丁)、双重血清素-去甲肾上腺素再吸收抑制剂(例如度洛西汀、文拉法辛和米那普仑)、JAK家族激酶抑制剂(诸如,鲁索利替尼或托法替尼)、以及三环抗抑郁药(诸如阿米替林,去甲阿米替林和脱甲丙咪嗪)。在一个实施方案中,本文提供了一种药品,其包含用于治疗哺乳动物中的疼痛的化合物1或其药学上可接受的盐与NSAID的组合。

[0275] 本文还提供了一种药品,其包含用于治疗哺乳动物中的疼痛的选自以下各项的治疗剂与化合物1或其药学上可接受的盐的组合:抗炎化合物、类固醇(例如,地塞米松、可的松和氟替卡松)、止痛剂诸如NSAID(例如,阿司匹林、布洛芬、消炎痛和酮洛芬)和阿片类(诸如吗啡)。

实施例

[0276] 合成中间体的制备

[0277] 制备A

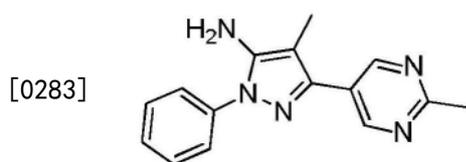


[0279] (3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺二盐酸盐

[0280] 步骤A: (3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁酯的制备: 将(3S,4R)-4-(3-氟苯基)吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁酯(250mg, 0.89mmol, 商购获得)、DIEA(0.48mL, 2.68mmol)和1-溴-2-甲氧基乙烷(149mg, 1.07mmol)于DMF(3mL)中的溶液在环境温度下搅拌2小时, 然后加热至60°C持续4小时, 随后经16小时冷却至环境温度。在分配于EtOAc与饱和NaHCO₃(各自10mL)之间之后, 将有机层用水和盐水(各自2x 10mL)洗涤, 经Na₂SO₄干燥, 过滤并浓缩, 以获得呈粘稠橙色油状物的(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁酯(250mg, 83%产率)。LCMS(apci) m/z=339.1 (M+H)。

[0281] 步骤B: (3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺二盐酸盐的制备: 将5-6N HCl中的(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基氨基甲酸叔丁酯(250mg, 0.74mmol)于异丙醇(14.8mL, 73.9mmol)中的溶液在环境温度下搅拌1小时。在真空下浓缩混合物并用Et₂O研磨以获得呈米色固体的标题化合物(230mg, 100%产率)。LCMS(apci) m/z=239.1 (M+H)。

[0282] 制备B



[0284] 4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-胺

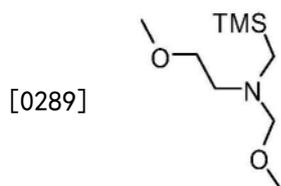
[0285] 步骤A: 5-氨基-4-甲基-1-苯基-1H-吡唑-3(2H)-酮的制备: 将2-氰基丙酸乙酯(50.5g, 397.2mmol)和苯肼(39mL, 397.2mmol)于二噁烷(100mL)中的混合物在110°C下加热5天。将冷却的混合物浓缩至1/2体积并且随后在冰中冷却并用冷Et₂O研磨。过滤所得固体, 用Et₂O充分洗涤并在真空下干燥, 以获得呈蓬松白色粉末的5-氨基-4-甲基-1-苯基-1H-吡唑-3(2H)-酮(34.69g, 46%产率)。MS(apci) m/z=190.1 (M+H)。

[0286] 步骤B: 5-氨基-4-甲基-1-苯基-1H-吡唑-3-基三氟甲烷磺酸酯的制备: 用DIEA(37.9mL, 217.5mmol)处理5-氨基-4-甲基-1-苯基-1H-吡唑-3(2H)-酮(13.72g, 72.5mmol)和N-苯基双(三氟甲基磺酰胺)(27.2g, 76.1mmol)于DMF(100mL)中的悬浮液并且将混合物在环境温度下搅拌16小时。使所述混合物分配在饱和NaHCO₃(400mL)与EtOAc(200mL)之间并且用EtOAc(2x 200mL)萃取水层。用水(5x 50mL)和盐水(50mL)洗涤合并的有机相, 然后经Na₂SO₄干燥, 过滤并真空浓缩。通过用4:1己烷/EtOAc洗脱的硅胶柱色谱法纯化残余物, 以

获得呈淡黄色固体的5-氨基-4-甲基-1-苯基-1H-吡唑-3-基三氟甲烷磺酸酯(23.1g,99%产率)。MS (apci) m/z=322.0 (M+H)。

[0287] 步骤C:4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-胺:将5-氨基-4-甲基-1-苯基-1H-吡唑-3-基三氟甲烷磺酸酯(900mg,2.8mmol)、2-甲基-5-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂硼杂戊烷-2-基)嘧啶(925mg,4.2mmol)、 K_2CO_3 (1.55g,11.2mmol)和 $Pd(PPh_3)_4$ (324mg,0.28mmol)合并于甲苯(10mL)、水(5mL)和EtOH(2.5mL)中并在密封管中升温至95℃,持续16小时。将冷却的混合物过滤并使滤液分配在水(50mL)与EtOAc(50mL)之间。用EtOAc(2x 30mL)萃取水层并用盐水(30mL)洗涤合并的有机相,经 Na_2SO_4 干燥、过滤并在真空下浓缩。通过用2%MeOH/DCM洗脱的硅胶柱色谱法纯化残余物,以获得呈粉色固体的标题化合物(533mg,72%产率)。MS (apci) m/z=266.1 (M+H)。

[0288] 制备C



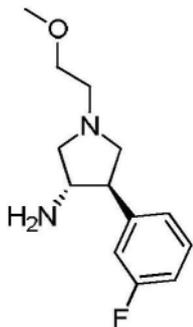
[0290] 2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺

[0291] 步骤A:2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺的制备:在40分钟内在90℃下通过加料漏斗向2-甲氧基乙胺(14.2mL,163mmol)的DMSO溶液(15mL)中添加(氯甲基)三甲硅烷(11.4mL,81.5mmol)的DMSO(10mL)溶液。将混合物在90℃下加热3.5小时,然后冷却至环境温度。然后用 H_2O (150mL)稀释混合物并且用EtOAc(2x 150mL)萃取。用盐水(150mL)洗涤合并的有机萃取物,用 $MgSO_4$ 干燥,过滤并浓缩,以获得呈黄色油状物的2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺(8.14g,62%产率)。MS (apci) m/z=162.0 (M+H)。

[0292] 步骤B:2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺的制备:将甲醛(37%水溶液,4.91g,60.6mmol)的MeOH(2.45mL)溶液冷却至0℃,并通过逐滴添加2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺(8.14g,50.5mmol)来处理。将双相混合物在0℃下搅拌3小时,然后添加 K_2CO_3 (6.97g,50.5mmol)并在0℃下搅拌1小时。将黄色油状物倾析到 K_2CO_3 (2.00g,14.4mmol)上,并且将混合物在环境温度下搅拌2小时。在倾析黄色油状物之后,用 Et_2O (2x 10mL)洗涤固体 K_2CO_3 ,并且将 Et_2O 洗涤物与倾析的黄色油状物合并并在旋转蒸发器上浓缩,以产生呈黄色油状物的标题化合物(9.92g,96%产率)。 1H NMR ($CDCl_3$) δ 4.00 (s, 2H), 3.37-3.43 (m, 2H), 3.29 (s, 3H), 3.19 (s, 3H), 2.77-2.82 (m, 2H), 2.18 (s, 2H), 0.00 (s, 9H) ppm。

[0293] 制备D

[0294]

[0295] (3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺

[0296] 步骤A: (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-羧酸的制备:依次用 EtOAc (75mL) 和庚烷 (75mL) 处理 (E)-3-(3-氟苯基)丙烯酸 (25.20g, 151.7mmol), 随后用 TFA (1.17mL, 15.17mmol) 处理。将混合物置于冷水浴 (内部温度 15°C) 中, 并在 20 分钟内从加料漏斗中逐滴添加 2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺 [制备 C] (69.82g, 197.2mmol), 加冰到水浴中, 以使内部温度在添加过程中维持在 13°C-19°C。移除冰浴并将混合物在环境温度下搅拌 18 小时, 然后冷却 (内部温度 13°C), 并且在 6 分钟内从加料漏斗中逐滴添加另外的 2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺 (制备 C; 34g)。移除水浴并在环境温度下再搅拌 4 小时之后, 将混合物浓缩至一半体积。加入庚烷 (100mL) 并部分浓缩混合物, 除去约 150mL 溶剂。将此步骤重复两次, 每次除去 100mL 溶剂。将残余浆液用庚烷 (50mL) 冲洗到烧瓶底部内, 然后密封并在环境温度下搅拌 64 小时。将固体过滤, 用庚烷 (2x 50mL) 冲洗并在真空下干燥, 以获得呈淡黄色固体的 (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-羧酸 (44.99g, 111% 产率), 其直接用于下一个步骤, 假定 100% 产率。MS (apci) m/z = 268.1 (M+H)。

[0297] 步骤B: (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-甲酰胺的制备:向 (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-羧酸 (40.54g, 151.7mmol) 于 THF (440mL) 中的悬浮液添加 CDI (31.97g, 197.2mmol), 接着添加咪唑盐酸盐 (3.171g, 30.33mmol)。将反应混合物在环境温度下搅拌 16 小时, 并随后在 30 分钟内通过加料漏斗添加氨 (135.0mL, 2M 于 iPrOH 中, 270.0mmol)。在再搅拌 3 小时之后, 过滤所得固体, 用 EtOAc 洗涤并浓缩滤液。将残余物溶解于 EtOAc (200mL) 中并用 25/75 水: 盐水 (2x 200mL) 洗涤。经 MgSO₄ 干燥有机相, 将其过滤, 浓缩并在真空下干燥, 以得到呈黄色固体的 (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-甲酰胺 (54.97g, 136% 产率), 其可使用, 假定 100% 产率。MS (apci) m/z = 267.2 (M+H)。

[0298] 步骤C: (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺的制备:在 20 分钟内通过加料漏斗向配有温度计、在冰浴中冷却的 3 颈 1-L 圆底烧瓶中的 (反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-甲酰胺 (29.33g, 85.90mmol) 于 MeOH (345mL) 中的溶液添加 NaOCl (10%-15% 可用的 Cl₂ 水溶液) (116.3mL, 189.0mmol) [内部温度为 7°C-13°C]。去除冰浴并将不均匀混合物在环境温度下搅拌 90 分钟, 然后在 55°C 下搅拌 3 小时。添加 KOH (67.48g, 1203mmol) 于 H₂O (225.9mL, 12,542mmol) 中的溶液并将所述溶液在 75°C 下搅拌 19 小时。将混合物冷却至 0°C 并且在 30 分钟内缓慢添加浓 HCl (147.1mL, 4,802mmol)。通过添加 K₃PO₄ 水溶液 (30 重量%, 155mL) 将 pH 调节至 6, 并且将混合物部分浓缩以去除有机溶剂。添加水性 K₃PO₄ (30 重量%, 280mL) 直到 pH 10, 并且用 EtOAc (2x 450mL) 萃取所述混合物。将合并

的有机萃取物浓缩并在真空下干燥,以获得呈深琥珀色浆液的(反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(28.08g,91%产率)。MS (apci) $m/z=239.2$ (M+H)。

[0299] 步骤D: (3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯的制备:将(反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(125mg,0.52mmol)和(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸(222.9mg,0.58mmol)称量到4mL小瓶中,然后用MeOH(1.57mL)处理,接着用水(0.175mL)处理。将小瓶加盖并将反应混合物在50℃下搅拌5分钟,然后经17小时使其缓慢冷却至环境温度。将所得的固体过滤,用Et₂O(4x 0.2mL)洗涤并在真空下干燥,以获得呈白色固体的(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯(131.6mg,40%产率)。游离碱性样品的手性SFC分析指示>95%对映体过量(ee)。在以下步骤中将此物质用作晶种:

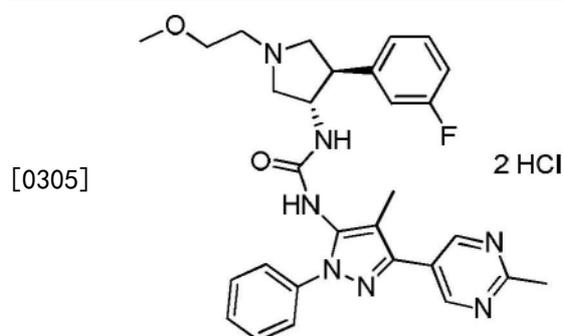
[0300] 将(反式)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(7.39g,18.61mmol)溶解于MeOH(52.7mL)中并用(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸(10.78g,27.91mmol)、接着用H₂O(9.3mL)处理。将混合物在50℃下搅拌5分钟。将晶种(90mg)添加到溶液中,并经16小时使所述混合物缓慢升温至环境温度。将所得固体过滤,用Et₂O(4x 5mL)冲洗并在真空下干燥。使残余物在MeOH(15mL)和H₂O(2.7mL)中浆化,在50℃下搅拌15分钟,然后经19小时使其缓慢冷却至环境温度。将固体过滤,用Et₂O(3x 5mL)洗涤并在真空下干燥,以获得呈白色固体的(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯(3.12g,27%产率)。游离碱性样品的手性分析指示>99.7%对映体过量。

[0301] 步骤E: (3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺的制备:用1M水性NaOH(2x 15mL)洗涤(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯(2.89g,4.63mmol)于DCM(25mL)中的悬浮液。用DCM(25mL)萃取合并的水相,并用盐水(30mL)洗涤合并的有机萃取物,经Na₂SO₄干燥、过滤、浓缩并在真空下干燥,以获得呈浅褐色油状物(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(998mg,90%产率)、MS (apci) $m/z=239.2$ (M+H)。

[0302] 合成实施例

[0303] 实施例1

[0304] 1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲二盐酸盐

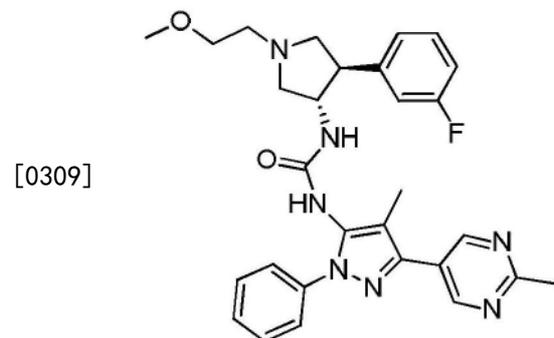


[0306] 步骤A: 1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲的制备:向4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-

基)-1-苯基-1H-吡唑-5-胺(制备B;61mg,0.16mmol)于DCM(2mL)中的溶液添加三光气(24mg,0.08mmol),接着添加DIEA(84 μ L,0.48mmol)。将混合物在环境温度下搅拌15分钟,然后用(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺二盐酸盐(制备A;50mg,0.16mmol)和DIEA(84 μ L,0.48mmol)处理。将反应混合物搅拌16小时。使所述混合物分配在水(10mL)与DCM(10mL)之间并且用DCM(2x 10mL)萃取水层。用盐水(10mL)洗涤合并的有机相,经Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩。通过用2.5%-5%MeOH/DCM洗脱的硅胶柱色谱法纯化残余物。通过反相HPLC(5%-95%ACN/水/0.1%TFA)纯化含有所述产物的级分,以在碱性水性后处理之后获得呈白色固体的标题化合物(28mg,33%产率)。MS(apci)m/z=530.3(M+H)。

[0307] 步骤B:1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲二盐酸盐的制备:向冷却至0°C的4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-胺(制备B;2.56g,9.64mmol)于DCM(96mL)中的溶液一次性添加三光气(1.72g,5.78mmol),接着逐滴添加DIEA(8.40mL,48.20mmol)。将混合物在0°C下搅拌1小时。在10分钟内将(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺二盐酸盐(制备A;3.0g,9.64mmol)分小批添加到混合物中。将反应混合物在环境温度下搅拌40分钟,然后将其倒入到水(100mL)中。在相分离之后,用DCM(2x 100mL)萃取水层。用盐水(100mL)洗涤合并的有机相、过滤并浓缩。通过反相色谱法(SNAP 120g C18,具有0.1%HC1的5%至75%MeOH/水)纯化残余物并在真空下干燥,以获得呈奶油色泡沫的标题化合物(3.33g,57%产率)。MS(apci)m/z=530.3(M+H)。

[0308] 实施例2



[0310] 1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲

[0311] 向4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-胺(制备B;800mg,3.02mmol)于DCM(15mL)中的悬浮液添加三乙胺(2.1mg,15.1mmol),接着添加CDI(587mg,3.62mmol)。将混合物在N₂下密封并在环境温度下搅拌22小时,然后用DCM(4mL)中的(3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(制备D;826mg,3.47mmol)处理。继续搅拌100分钟。使所述混合物分配在DCM(60mL)与水(100mL)之间。在相分离之后,用0.5N HCl(50mL)萃取DCM层,然后用0.2N HCl(2x 25mL)萃取。将酸性萃取物合并,将其倾析到干净烧瓶中,将其置于室温水浴中并用6N NaOH(水溶液)、随后用1N NaOH(水溶液)碱化至pH 9-10,同时搅拌。将悬浮液在冰浴中搅拌5分钟。将所得固体过滤,用水和醚(各自3x 20mL)冲洗并在真空下干燥,以获得呈白色固体的标题化合物(1.44g,90%产率)。MS(apci)m/z=530.3(M+H)。

[0312] 实施例3

[0313] (3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯的制备

[0314] 步骤A:(2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺)的制备:将(氯甲基)三甲基硅烷(3300.0g,1.0当量)、乙腈(5.28L)和2-甲氧基乙胺(4041.0g,2.0当量)装到烧瓶中。将反应混合物在74℃下搅拌16小时,然后使反应物冷却至25℃。添加戊烷(16L)并将反应混合物搅拌1分钟。分离各层。将底层(乙腈层)添加回到分液漏斗中并将戊烷(16L)添加到分液漏斗中。在搅动之后分离各层。重复用戊烷(16L)进行萃取。将合并的戊烷层添加到分液漏斗中并加入水(3.3L)。在搅动之后分离各层。将MeOH(3.0L)添加到装有机械搅拌的蒸汽冷凝器、J-Kem温度探头和加料漏斗的22L反应器中。在25℃-45℃下进行溶剂常压蒸馏。在蒸馏期间,将戊烷溶液通过加料漏斗以一定速率添加到蒸馏烧瓶中,所述速率使体积保持约6.6L,直到所有戊烷溶液均在蒸馏烧瓶中。继续蒸馏直到烧瓶中的总体积为约6.6L。将反应混合物冷却至25℃并在环境温度下在氮气氛下搅拌,以提供(2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺(72%产率)。

[0315] 步骤B:2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺的制备:将(2-甲氧基-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺(380.0g,1.0当量)、甲醇(332mL)和戊烷(193mL)装入到烧瓶中。将反应混合物在低于5℃的冷水浴中搅拌。将37%甲醛水溶液(97.9mL,1.2当量)以使内部温度保持低于10℃的速率添加到反应混合物,并且将反应混合物在低于10℃的温度下搅拌2小时。将叔丁基甲基醚(700mL,5.2当量)和水(300.0mL)添加到反应混合物,并且将所述混合物在环境温度下搅拌约1分钟。分离各层,并将有机层添加回到分液漏斗中。将盐水(300mL)添加到分液漏斗。将混合物搅动并分离各层。将碳酸钾K₂CO₃(10.0g)添加到有机层,并且在混合之后将有机层经滤纸过滤。用叔丁基甲基醚冲洗滤饼。将合并的有机层浓缩,以提供呈油状物的2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺(75%产率)。

[0316] 步骤C:反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-羧酸的制备:将(E)-3-(3,4-二氟苯基)丙烯酸(57.0g,1.0当量)、乙酸乙酯(143mL)和庚烷(143mL)装入烧瓶中并搅动混合物。加入三氟乙酸(2.4mL,0.1当量)并将反应混合物冷却至低于20℃。通过加料漏斗以使内部温度保持在20℃-25℃的速率添加2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-((三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺,并且将反应混合物在20℃下搅拌2小时。将反应混合物在减压下在10℃至27℃的温度下浓缩。将乙酸乙酯(200mL)加入到残余物中,并且在减压下浓缩混合物。将残余物在20℃下搅动过夜。通过真空蒸馏经由分批加入庚烷进行杂质的共沸去除(总体积:1200mL)。将所得浆液在20℃下静置过夜,然后在滤纸上过滤。用庚烷冲洗滤饼并在真空烘箱中在45℃下干燥约4小时,以提供反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-羧酸(90%产率)。

[0317] 步骤D:反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-甲酰胺的制备:将反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-羧酸(98.3g,1.0当量)、羰基二咪唑(69.8g,1.3当量)、HCl咪唑(7.2g,0.2当量)和四氢呋喃(1000mL)装入烧瓶中。将反应混合物在25℃下搅拌1小时,然后在环境温度(约20℃)下在氮气下过夜。在15分钟内将氨(2.0M于异丙醇中)(307mL,1.8当量)加入到反应混合物中。将反应混合物在25℃下搅拌约30分

钟。将反应混合物经滤纸过滤并用EtOAc (200mL) 冲洗过滤的固体。在减压下在37℃下浓缩合并的有机层。将乙酸乙酯 (200mL) 加入到所得粗油状物中并且在减压下在37℃下浓缩混合物。将乙酸乙酯 (200mL)、水 (500mL) 和NaCl (82.0g, 4.1当量) 加入到残余物并将混合物在环境温度下搅拌约2分钟。分离各层, 并在减压下在37℃下浓缩合并的有机层, 以提供反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-甲酰胺 (99%产率)。

[0318] 步骤E: 反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺的制备: 将反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-甲酰胺 (96.8g, 1.0当量) 和甲醇 (1450mL) 装入烧瓶中并将反应混合物冷却至5℃。通过加料漏斗以使内部温度保持低于20℃的速率加入10%次氯酸钠溶液 (462.2mL, 2.2当量)。将反应混合物在20℃下搅拌1小时, 然后在55℃下搅拌1小时。在5分钟内将氢氧化钾 (314.6g, 14.0当量) 作为水溶液 (100mL) 加入到反应混合物中, 并将反应混合物在72℃-75℃下搅拌12小时。将反应混合物冷却至55℃, 并且在10分钟内加入37重量% HCl (583.8mL, 55.9当量) 以将pH调节为低于2。加入三元K₃PO₄ (30重量%, 100.0mL), 以将反应混合物的pH调节至6与7之间。在减压下在37℃下浓缩反应混合物。将所得水性混合物转移到分液漏斗中, 并且加入30重量% 三元K₃PO₄ (540.0mL) 和37重量% 三元K₃PO₄ (50.0mL) 以将pH调节至≥10。加入EtOAc (1000mL) 并将混合物在环境温度下搅拌约2分钟。分离各层, 并将水层添加回到分液漏斗中。将EtOAc (500mL) 加入到分液漏斗中, 并搅动混合物。分离各层, 并在减压下浓缩合并的有机层, 以提供反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺 (99%产率)。

[0319] 步骤F: (3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺(2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯的制备: 将反式-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺 (123.3g, 1.0当量) 和甲醇 (1603mL) 装入烧瓶中。将混合物在环境温度下搅拌。加入 (2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸 (145.0g, 1.5当量) 和水 (295mL), 并且将反应混合物加热至65℃。用 (3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺 (2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯 (0.5g, 0.7当量) 接种反应混合物 (通过小规模地进行反应来制备晶种, 所述反应提供了呈固体的产物), 并且将反应混合物经16小时缓慢冷却至25℃。在滤纸上过滤浆液。用叔丁基甲基醚 (700mL) 冲洗滤饼, 然后在真空烘箱中在45℃下干燥约4小时, 以提供 (3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-胺 (2S,3S)-2,3-双((4-甲基苯甲酰基)氧基)琥珀酸酯 (2个步骤有35%产率)。

[0320] 生物测定

[0321] 在生物测定中, 化合物1是指1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲; 化合物2是指1-((3S,4R)-4-(3,4-二氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基嘧啶-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲 (在WO 2012/158413中公开); 并且化合物3是指1-(1',4-二甲基-1-苯基-1H,1'H-[3,4'-二吡唑]-5-基)-3-((3S,4R)-4-(4-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)脲 (在WO 2012/158413中公开)。

[0322] 实施例A

[0323] TrkA激酶结合测定

[0324] 在TrkA LanthaScreen™ Eu激酶结合测定中测定TrkA结合活性。在缓冲液 (25mM

MOPS, pH 7.5, 5mM MgCl₂, 0.005% Triton X-100) 中用4nM Alexa-Fluor® 示踪剂236 (Invitrogen目录号PV5592)、2nM生物素化抗-His (Invitrogen目录号PV6090) 和2nM铕标记的链霉亲和素 (Invitrogen目录号PV5899) 孵育5nM His-标记的重组人TrkA (来自Invitrogen的6HIS标记的胞质域, 目录号PV3144)。加入化合物1、化合物2或化合物3在DMSO中的三倍连续稀释液, 以使最终百分比为2% DMSO。在22℃下孵育60分钟之后, 使用EnVision多模式读板仪 (PerkinElmer) 通过在615nm和665nm下进行TR-FRET双波长检测来测量反应物。使用比率测量排放系数计算对照百分比。通过将四参数模型拟合至对照数据百分比来确定IC₅₀值。

[0325] 化合物1当在实施例A的测定中测试时具有1.1nM的平均IC₅₀值。化合物2当在实施例A的测定中测试时具有1.5nM的平均IC₅₀值。化合物3当在实施例A的测定中测试时具有1.7nM的平均IC₅₀值。

[0326] 实施例B

[0327] TrkA细胞测定

[0328] 将用人野生型TrkA转染的CHO-K1细胞以3x 10⁵个细胞/孔接种在96孔平底板中的含10%FBS的完全DMEM培养基中并且在37℃、5%CO₂下使细胞附着24小时。然后用完全无血清测定培养基替换培养基并使细胞在37℃、5%CO₂下饥饿1小时。使用化合物1、2或3利用最终浓度范围为1μM至152pM的1:3连续稀释液处理细胞。将化合物在细胞上在37℃、5%CO₂下孵育1小时。然后在37℃、5%CO₂下将细胞用最终浓度30ng/mL的人NGF刺激7分钟。去除培养基并用含有磷酸酶和蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液裂解细胞。通过ELISA (R&D目录号DYC2578) 测量磷酸-TrkA。ELISA捕获全部的TrkA并且检测总磷-酪氨酸。使用Versamax读取器在450nm波长下测量每个孔的光密度。通过将四参数模型拟合至对照数据百分比来确定IC₅₀值。

[0329] 化合物1当在实施例B的测定中测试时具有1.9nM的平均IC₅₀值。化合物2当在实施例B的测定中测试时具有1.3nM的平均IC₅₀值。化合物3当在实施例B的测定中测试时具有6.1nM的平均IC₅₀值。

[0330] 实施例C

[0331] 化合物1、2和3的人微粒体清除率和人肝细胞清除率

[0332] 肝微粒体孵育

[0333] 如下制备100mM磷酸钾测定缓冲溶液 (KPB)。将KH₂PO₄和K₂HPO₄二者单独溶解于试剂级水中, 以得到最终浓度100mM。制备K₂HPO₄:KH₂PO₄的75:25混合物v/v并且用稀HCl或稀NaOH溶液将溶液的pH调节至7.4。制备化合物1、化合物2和化合物3于DMSO中的10mM (活性化合物) 原液。在使用前立即用KPB溶液稀释原液至2.5μM, 以形成工作标准物。通过在室温下目视检查确定所有测试化合物均完全溶解于DMSO中。在分析那天通过用一个体积的78mg/mL葡萄糖-6-磷酸 (二者均于KPB中制备, pH 7.4) 和7.9个体积的20mM MgCl₂稀释一个体积的17mg/mL NADP⁺来制备NADPH-再生溶液 (NRS)。NADP⁺和葡萄糖-6-磷酸的最终浓度分别为1.7mg/mL和7.8mg/mL。就在使用前, 通过每mL NRS原液加入10μL葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (KPB中的150个单位/mL, pH 7.4) 来活化NRS。将肝微粒体用KPB稀释至2.5mg蛋白质/mL。

[0334] 对于化合物1、化合物2和化合物3以及各种阳性对照 (即, 右美沙芬、地西洋、地尔硫卓、非那西汀、甲苯磺丁脲以及维拉帕米), 将20μL 2.5μM测试化合物的工作标准溶液和

20 μ L微粒体(2.5mg蛋白质/mL)一式两份加入96-孔聚丙烯板(Costar,VWR,West Chester,PA)的每个孔中。将所述板置于37 $^{\circ}$ C的孵育箱5分钟,之后加入起始溶液。将10- μ L等份的NRS溶液加入每个初始孔中,以启动代谢。测试化合物在孵育开始时的浓度为1 μ M。对每个时间点(即0和20分钟)制备一个孵育板。在37 $^{\circ}$ C和100%相对湿度下进行孵育。在每个时间点,从孵育箱中取出适当的孵育板,并将含有内部标准物(150 μ L,60%乙腈中的0.25 μ M拉贝洛尔)的溶液加入到每个孔中。立即在室温下利用Allegra台式离心机(Beckman Coulter,Fullerton,CA)将所述板在离心机中以2,095xg离心7分钟。将200- μ L等份的上清液从每个孔中转移到96-孔浅层板(Costar)中。利用可再用板垫密封所述板。

[0335] 肝细胞孵育

[0336] 制备化合物1、化合物2和化合物3于DMSO中的10mM(活性化合物)原液。在肝细胞存在下如下评估化合物1、化合物2和化合物3(1 μ M)的体外稳定性。将低温保存的肝细胞解冻,从运输培养基中分离并根据供应商指南利用杜氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium),1X,高葡萄糖(DMEM,Invitrogen,Carlsbad,CA)稀释至1x 10⁶个活细胞/mL的密度。通过台盼蓝排除法利用血球计数器(3500Hausser,VWR,West Chester,PA)测定存活力。利用补充的DMEM稀释化合物1、化合物2和化合物3的10mM原液至2 μ M,以形成工作标准物。将20- μ L等份的测试化合物或对照(即,安替比林、地西洋、地尔硫卓、劳拉西洋、普萘洛尔、维拉帕米以及7-乙基-10-羟基喜树碱[SN-38])加入96-孔聚丙烯板(Costar,VWR,West Chester,PA)的每个测试孔中,接着立即加入20 μ L肝细胞悬浮液。对每个时间点(即0、60和120分钟)制备一个孵育板,其中样品一式两份地制备。在37 $^{\circ}$ C和100%相对湿度下进行孵育。在每个时间点,从孵育箱中取出适当的孵育板,并将含有IS(200 μ L,60%乙腈中的0.25 μ M拉贝洛尔)的溶液加入到每个孔中。在平板振荡器(IKA MTS 2/4 Digital Microtiter Shaker,VWR)上将板以700rpm混合1分钟并且立即在室温下利用Allegra台式离心机(Beckman Coulter,Fullerton,CA)在离心机中以2,095x g离心10分钟。将200- μ L等份上清液从每个孔中转移到96孔浅层板(Costar)中。利用可再用板垫密封所述板。

[0337] 计算

[0338] 使用BioAssay Enterprise进行所有计算。通过对化合物1、化合物2、化合物3以及每种样品的内部标准物的峰面积比率(n=2)取平均值来计算平均峰面积比率。通过测定每个时间点的峰面积比率与零时样品的峰面积比率的比率来计算剩余物的百分比。通过使 $-\ln(f(t))$ 对比时间线性回归来测定测试化合物损失率(k_m)。所述回归利用形式“ $y=mx$ ”,因此模型迫使截取100%剩余物并且假定代谢遵循一级动力学。将 $\ln(2)$ 除以 k_m 来确定 $t_{1/2}$ 。通过使用表5所列且以下等式中所采用的物理和生理标度因子测量化合物1、化合物2和化合物3各自稳定性的体外半衰期来计算预测的内在清除率(CL_{int}):

$$[0339] \quad CL_{int} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \left(\frac{D \cdot W}{C} \right) \quad \text{等式 1}$$

[0340] 其中D为特定物种每份质量的肝的肝细胞数目。W为每份重量的动物存在的平均肝质量,并且C为在孵育期间每单位体积存在的肝细胞数目。利用表5中所列出且以下等式所采用的物理和生理标度因子计算预测的肝清除率(CL_h):

$$[0341] \quad CL_h = \frac{CL_{int} \cdot Q}{CL_{int} + Q}$$

[0342] 其中Q为物种依赖性肝血流量。对于测试化合物的未结合份数(f_u)无需调整。通过计算预测的 CL_h 与肝血流量的比率确定预测的肝萃取率(ER)。

$$[0343] \quad ER = \frac{CL_h}{Q}$$

[0344] 表5

物种	W ^a	Q ^b	D(mic.) ^c	D(hep.) ^d
小鼠	87.0	90	50	1.20E+08
大鼠	45.0	70	45	1.35E+08
兔	30.8	71	78	1.20E+08
狗	32.0	35	55	1.20E+08
猴	32.0	44	60	1.20E+08
人	25.7	20	53	1.20E+08

[0346] a) W=每份质量的动物(kg)的平均肝质量(g)。

[0347] b) Q=平均肝血流量(mL/min/kg)。

[0348] c) D(mic.)=每份质量的肝(g)的细胞色素P450-相关蛋白的量(mg)。

[0349] d) D(hep.)=每份质量的肝脏(g)的肝细胞数目。

[0350] 实施例D

[0351] 雄性Sprague Dawley大鼠药代动力学

[0352] 通过将化合物(干燥)加入20% **Trappsol**[®](羟丙基β环糊精; CDT, Inc.) (水溶液) pH 5.0中并涡旋作用直到获得均匀悬浮液(P0)或溶液(IV)来配制化合物1、化合物2和化合物3中的每一种。

[0353] 对于静脉内给药,用以O₂平衡的3%异氟烷麻醉动物。向侧尾静脉施用1mL/kg剂量体积的1mg/kg化合物1、化合物2和化合物3。当动物处于麻醉状态(以O₂平衡的3%异氟烷, 0.2mL/时间点)时在以下时间点从对侧尾静脉抽血到NaEDTA管(1.5%v/v)中:1、5、15、30分钟以及1、2、4、8和24小时,并且彻底混合。

[0354] 对于经口给药,大鼠在过夜禁食之后接受单次经口给药。当动物用以O₂平衡的3%异氟烷(0.2mL/时间点)麻醉后在以下时间点从侧尾静脉抽血到NaEDTA管(1.5%v/v)中:5、15和30分钟,以及1、2、4、8、24和26小时,并且彻底混合。在24小时血液采集后,重新向动物经口给药,并在给药后2小时采集血浆和脑,以进行化合物分析。在去除之前用盐水灌注脑,称量,并且将其速冻在液氮中,直到通过LCMS/MS进行分析。通过在14,000rpm下离心10分钟来分离血浆并且将血浆样品转移到具有橡皮帽的96孔板管内并保存在-20°C±5°C,直到分析。

[0355] 血浆分析

[0356] 通过首先连续稀释(3-倍)化合物1、化合物2和化合物3于DMSO中的40-μg/mL原液以提供标准溶液,从而制备单个12点校准曲线。然后将血浆(20μL)加入到萃取板中,并将2.5μL各标准溶液加入到天然血浆中。随后将内部标准物的原液(10.0μL于乙腈中的2.5μg/

mL) 加入到各标准物和样品溶液中。通过加入317.5 μ L乙腈以使总体积为350 μ L来从20 μ L血浆中沉淀出蛋白物质。将样品涡旋混合5分钟并在Allegra X-12R离心机(Beckman Coulter, Fullerton, CA)中在约1,500x g下在4 $^{\circ}$ C下离心15分钟。经由550 μ L个人移液管(Personal Pipettor)(Apricot Designs, Monrovia, CA)将100- μ L等份的各上清液转移到96-孔板中并用HPLC级水1:1稀释。用板垫密封所得板并通过LC-MS/MS分析化合物在血浆中的量。

[0357] LC-MS/MS系统由HTC-PAL自动进样器(Leap Technologies, Inc., Carrboro, NC)、HP1100 HPLC(Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA)和API4000三重四极杆质谱仪(Applied Biosystems, Foster City, CA)组成。使用Phenomenex[®] Synergi 4 μ Hydro-RP 80A柱(2.1x 30mm, 4 μ m粒径; Phenomenex, Torrance, CA)结合采用流动相A(0.1%甲酸水溶液和1%异丙醇中的10mM乙酸铵)和B(89.9%乙腈、10%甲醇、0.1%甲酸中的10mM乙酸铵)的梯度条件实现分析物和内部标准物的色谱滞留。单次注射的包括再平衡时间的总运行时间为3.5分钟并且流速为0.8mL/分钟。将溶剂B在1.0分钟内从5%增加至95%,在95%下保持1.0分钟,然后在0.1分钟内降低至5%。

[0358]

时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
0.00	95	5
0.25	95	5
1.25	5	95
2.25	5	95
2.35	95	5
3.50	95	5

[0359] 脑分析

[0360] 通过首先连续稀释(3-倍)化合物1、化合物2和化合物3各自于DMSO中的40- μ g/mL原液来制备单个12点校准曲线。通过将5.0mL水加入到含有脑的50mL锥形管中来制备脑匀浆物。将管内容物用Omni-Prep Multi Sample Homogenizer(Kennesaw, GA)在22,000RPM下均质化180秒。然后将匀浆物(100 μ L)加入到萃取板中,并将2.5 μ L各标准溶液加入到天然脑匀浆物中。随后将内部标准物的原液(10.0 μ L乙腈中的2.5 μ g/mL)加入到各标准物和样品溶液中。通过加入237.5 μ L乙腈以使总体积为350 μ L来从100 μ L小鼠肿瘤均浆物中沉淀蛋白物质。将样品涡旋混合5分钟并在Allegra X-12R离心机(Beckman Coulter, Fullerton, CA)中在约1,500x g下在4 $^{\circ}$ C下离心15分钟。经由550 μ L个人移液管(Personal Pipettor)(Apricot Designs, Monrovia, CA)将100- μ L等份的各上清液转移到96-孔板中并用HPLC级水1:1稀释。用板垫密封所得板并通过LC-MS/MS分析化合物1n在脑中的量。

[0361] LC-MS/MS系统由HTC-PAL自动进样器(Leap Technologies, Inc., Carrboro, NC)、HP1100 HPLC(Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA)和API4000三重四极杆质谱仪(Applied Biosystems, Foster City, CA)组成。使用Phenomenex[®] Synergi 4 μ Hydro-RP 80A柱(2.1x 30mm, 4 μ m粒径; Phenomenex, Torrance, CA)结合采用流动相A(0.1%甲酸水溶液和1%异丙醇中的10mM乙酸铵)和B(89.9%乙腈、10%甲醇、0.1%甲酸中的10mM乙酸铵)的梯度条件实现分析物和内部标准物的色谱滞留。

[0362]	时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
	0.00	95	5
	0.25	95	5
	1.25	5	95
	2.25	5	95
	2.35	95	5
	3.50	95	5

[0363] 单次注射的包括再平衡时间的总运行时间为3.5分钟并且流速为0.8mL/分钟。将溶剂B在1.0分钟内从5%增加至95%，在95%下保持1.0分钟，然后在0.1分钟内降低至5%。使用ESI+离子化模式实现分析物的质谱检测。在化合物1、化合物2和化合物3的原液输注期间优化离子电流。通过多重反应检测 (MRM) 每种化合物所特有的跃迁来测量分析物反应。通过使用内部专有软件 (Sherlock Version 2.1) 建立的非房室建模来计算药代动力学参数。使用线性梯形求积法计算AUC。

[0364] 实施例E

[0365] 狗药代动力学

[0366] 如下制备用于以1mL/kg剂量体积递送1mg/kg的IV给药制剂。用于配制的媒介物为水中的20% **Trappsol**[®] (羟丙基β环糊精; CDT, Inc.) (水溶液)。将最终体积的媒介物加入到各化合物1、化合物2和化合物3 (作为无水化合物) 并且搅拌混合物直到获得均匀溶液为止。最终溶液的pH为7。用0.2μM过滤器过滤溶液, 之后递送至动物。

[0367] 雄性Beagle狗在过夜禁食之后接受单次静脉内给药。在给药后的以下时间点在K₂EDTA血液采集管中采集血液/血浆 (1.5mL/时间点): 0、1、5、15和30分钟以及1、2、4、8、12、24和48小时, 并且彻底混合。从清醒动物的颈静脉、头静脉或隐静脉采集血液样品。将血液样品保持在冰上, 直到加工获得血浆为止。将血液样品在3200RPM下在约5°C下离心10分钟。将血浆样品直接转移到96孔板管 (MatrixTech, 0.75mL)。将可注射橡胶帽置于96孔板管上。将血浆样品保存在-20°C ± 5°C, 直到分析。

[0368] 血浆分析

[0369] 通过首先连续稀释 (3-倍) 化合物1、化合物2和化合物3于DMSO中的40-μg/mL原液以提供标准溶液, 从而制备单个12点校准曲线。然后将血浆 (20μL) 加入到萃取板中, 并将2.5μL各标准溶液加入到天然血浆中。随后将内部标准物的原液 (10.0μL乙腈中的2.5μg/mL) 加入到各标准物和样品溶液中。通过加入317.5μL乙腈以使总体积为350μL来从20μL血浆中沉淀出蛋白质。将样品涡旋混合5分钟并在Allegra X-12R离心机 (Beckman Coulter, Fullerton, CA) 中在约1,500xg下在4°C下离心15分钟。通过550μL个人移液管 (Apricot Designs, Monrovia, CA) 将100-μL等份的各上清液转移到96-孔板中并用HPLC级水1:1稀释。用板垫密封所得板并通过LC-MS/MS分析化合物在血浆中的量。

[0370] LC-MS/MS系统由HTC-PAL自动进样器 (Leap Technologies, Inc., Carrboro, NC)、HP1100 HPLC (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA) 和API4000三重四极杆质谱仪 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 组成。使用**Phenomenex**[®] Synergi 4μHydro-RP 80A柱 (2.1x 30mm, 4μm粒径; Phenomenex, Torrance, CA) 结合采用流动相A (0.1%甲酸水

溶液和1%异丙醇中的10mM乙酸铵)和B(89.9%乙腈、10%甲醇、0.1%甲酸中的10mM乙酸铵)的梯度条件实现分析物和内部标准物的色谱滞留。单次注射的包括再平衡时间的总运行时间为3.5分钟并且流速为0.8mL/分钟。将溶剂B在1.0分钟内从5%增加至95%，在95%下保持1.0分钟，然后在0.1分钟内降低至5%。

[0371]	时间 (min)	流动相A (%)	流动相B (%)
	0.00	95	5
	0.25	95	5
	1.25	5	95
	2.25	5	95
	2.35	95	5
	3.50	95	5

[0372] 使用ESI+离子化模式实现分析物的质谱检测。在化合物1、化合物2和化合物3的原液输注期间优化离子电流。通过多重反应检测(MRM)每种化合物所特有的跃迁来测量分析物反应。通过使用内部专有软件(Sherlock 2.1版)建立的非房室建模来计算药代动力学参数。使用线性梯形求积法计算AUC。

[0373] 实施例F

[0374] FASTPatch®hERG测定

[0375] 此测定用于测量化合物1、化合物2和化合物3对人胚肾细胞(HEK293)中表达的克隆的hERG钾通道的作用。在室温下使用自动平行膜片钳系统QPatch HT®(Sophion Bioscience A/S, Denmark)评估化合物1、化合物2和化合物3对哺乳动物细胞中表达的hERG(人ether-à-go-go-相关基因)钾通道电流(IKr的替代物,快速活化的心脏延迟整流钾电流)的体外作用。在0.3、1、3、10、30以及100μM下评估测试品,在三种或更多种细胞(n≥3)中测试各浓度。暴露于每种测试品浓度的持续时间为3分钟。阳性对照确认了测试系统对hERG抑制的灵敏度。

[0376] 实施例G

[0377] p38激酶结合测定

[0378] 在p38αLanthaScreen™ Eu激酶结合测定中测定化合物1的p38α结合活性。在缓冲液(25mM[Na⁺]HEPES pH 7.3, 10mM MgCl₂, 100μM NaVO₄)中用5nM Alexa-Fluor®示踪剂199(Invitrogen目录号PV5830)和2nM铕标记的抗-GST抗体(Invitrogen目录号PV5594)孵育5nM无活性的GST-标记的重组人p38α(来自Invitrogen的GST-标记的胞质域,目录号PV3305)。加入化合物1在DMSO中的三倍连续稀释液,以使最终百分比为2%DMSO。在22℃下孵育60分钟之后,使用EnVision多模式读板仪(PerkinElmer)通过在615nm和665nm下进行TR-FRET双波长检测来测量反应物。使用比率测量排放系数计算对照百分比。通过将四参数模型拟合至对照数据百分比来确定IC₅₀值。发现化合物1对TrkA比对p38α有效1000倍。

[0379] 实施例H

[0380] 脱靶激酶图谱表征

[0381] 通过Millipore, Inc.的KinaseProfiler™业务测试在10μM浓度下化合物1针对其全部激酶板上可获得的所有激酶的脱靶激酶活性。根据Millipore说明书在接近每种单独

激酶的 K_m 的ATP浓度下一式两份地运行化合物1。结果显示在以下表中。数据被报道为对照百分比 (POC) 并且为两次重复的平均值。

[0382] 在KinaseProfiler™中,化合物1相对于板中的其他激酶显示对抑制TrkA有显著且出乎意料的选择性。事实上,化合物1在10 μ M浓度下对脱靶激酶为大部分无活性的,并且因此并不预期在哺乳动物中以治疗剂量抑制脱靶激酶。化合物1选择性抑制Trk途径而不抑制其他脱靶激酶的能力可转变成基本上不具有与脱靶激酶抑制相关的副作用的药物特性。此类药物特性可代表一种比先前已报道的方法更安全的治疗疼痛、炎症、癌症和某些皮肤疾病的方法。

激酶	化合物 1 平均 POC
AKT1	104
AKT2	104.5
AKT3	113.5
DMPK	98.5
GRK5	100

[0384]

激酶	化合物 1 平均 POC
GRK6	98
GRK7	101
MRCK α	90.5
MRCK β	106.5
MSK1	129
MSK2	116.5
p70S6K	104
PDK1	104
PKAC- α	129.5
PKC α	98.5
PKC β I	102.5
PKC β II	99.5
PKC δ	102
PKC ϵ	101.5
PKC η	100
PKC γ	98
PKC ι	91
PKC θ	128.5
PKC ζ	97.5
PRK2	116
PRKG1 α	109.5
PRKG1 β	95.5
PrKX	115.5
ROCK-I	98.5
ROCK-II	105.5
Rsk1	102
Rsk2	93
Rsk3	107.5
Rsk4	105.5
SGK1	105
SGK2	112
SGK3	112.5
eEF-2K	112.5
mTOR	97.5
mTOR/FKBP12	105.5
AMPK(A1/B1/G1)	102.5
ARK5	104.5
BrSK1	98
BrSK2	104
CAMK1	104.5
CAMK1d	130

[0385]

激酶	化合物 1 平均 POC
CAMK2b	147.5
CAMK2d	97.5
CAMK2g	97
CAMK4	100
CHK1	109
CHK2	102.5
DAPK1	114
DAPK2	97
DAPK3	105.5
DCAMKL2	135
DRAK1	129.5
LKB1	104.5
MAPKAP-K2	115
MAPKAP-K3	99
MAPKAP-K5	89.5
MARK1	100
MARK2	109.5
MELK	105.5
MKNK2	111
MYLK	106.5
PASK	137.5
PhK γ 2	108
Pim-1	103.5
Pim-2	117.5
Pim-3	106.5
PKD1	94.5
PKD2	94.5
SIK	108
STK33	101
TSSK1	104
TSSK2	108.5
CK1 $_{\gamma}$	91.5
CK1 δ	104
CK1 γ 1	78.5
CK1 γ 2	61.5
CK1 γ 3	104.5
VRK2	96
CDK1/周期素 B	108
CDK2/周期素 A	94.5
CDK2/周期素 E	102
CDK3/周期素 E	94.5

[0386]

激酶	化合物 1 平均 POC
CDK5/p25	115
CDK5/p35	97
CDK6/周期素 D3	99.5
CDK7/ 周期素 H/MAT1	99
CDK9/周期素 T1	112
CLK2	102
CLK3	94.5
DYRK2	102
ERK1	94.5
ERK2	100
GSK3 α	109.5
GSK3 β	112
HIPK1	98.5
HIPK2	101.5
HIPK3	90
JNK1 α 1	95
JNK2 α 2	98.5
JNK3	114.5
MSSK1	127.5
NLK	94.5
p38 α	107.5
p38 β	102
p38 δ	105
p38 γ	114.5
SRPK1	96
SRPK2	96.5
AURKA	115
CK2 α 2	106
Haspin	96.5
IKK α	101.5
IKK β	104.5
NEK11	94
NEK2	95
NEK3	104.5
NEK6	96
NEK7	104
Plk1	99.5
Plk2	101
Plk3	100.5
TBK1	114.5

[0387]

激酶	化合物 1 平均 POC
TLK2	101.5
ULK2	106
ULK3	107.5
WNK2	92.5
WNK3	115.5
LOK	125.5
MAP3K5	101
MAP4K2	101
MEK1	103.5
MINK	105
MKK4_m	125
MKK6	107.5
MKK7	125
MST1	107.5
MST2	102
MST3	103.5
PAK2	105.5
PAK4	97
PAK5	111
PAK6	114.5
TAO1	96
TAO2	100
TAO3	103
Abl2	110.5
Abl-P	110.5
ALK	89
Axl	115.5
BLK	82.5
Bmx	91.5
BTK	114
CSK	100
DDR2	121.5
EGFR	95.5
EphA1	94.5
EphA2	92.5
EphA3	95.5
EphA4	98
EphA5	109.5
EphA7	109
EphA8	110
EphB1	105.5

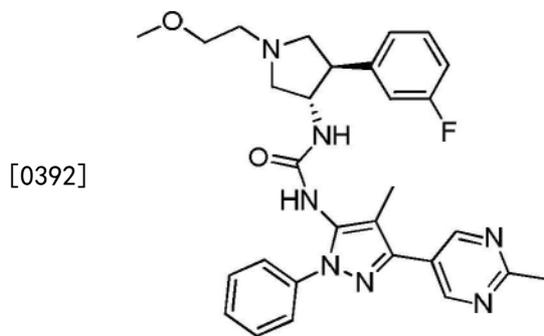
[0388]

激酶	化合物 1 平均 POC
EphB2	98
EphB3	89.5
EphB4	102
ErbB4	107.5
FAK	100.5
FAK2	92.5
Fer	103.5
Fes	102.5
FGFR1	117
FGFR2	99
FGFR3	108
FGFR4	105
Fgr	106
Flt1	97
Flt3	102
Flt4	98.5
Fms	103
Fyn	96.5
Hck	108.5
IGF-1R	80.5
活化的 IGF-1R	105
IR	84.5
活化的 IR	105.5
IRR	104.5
ITK	104
JAK2	126
JAK3	95.5
KDR	102.5
KIT	97.5
Lck	94
Lyn	104.5
Mer	147.5
Met	124.5
MuSK	95
PDGFR α	96
PDGFR β	96
PTK5	105
PTK6	106
Ret	111.5
Ron	100
Ros	112.5

激酶	化合物 1 平均 POC
Rse	102.5
Src	120
Syk	95.5
活化的 TEC	97
Tie2	82
TNK2	93.5
TrkA	2.5
TrkB	1.5
[0389] Txk	67
Yes	98.5
ZAP-70	104.5
ALK4	106.5
c-RAF	101
IRAK1	103
IRAK4	98
LIMK1	98
MLK1	109.5
RIPK2	90.5
TAK1-TAB1	101.5

[0390] 本申请提供如下实施方案：

[0391] 1. 一种化合物



[0393] 1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲或其药学上可接受的盐。

[0394] 2. 根据1所述的化合物,其中所述化合物为1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲的二盐酸盐。

[0395] 3. 一种药物组合物,其包含根据1或2所述的化合物和药学上可接受的稀释剂或载体。

[0396] 4. 根据3所述的药物组合物,其中所述药物组合物被配制用于经口施用。

[0397] 5. 根据4所述的药物组合物,其中所述药物组合物呈片剂或胶囊形式。

[0398] 6. 一种用于治疗哺乳动物中的疾病或病症的方法,其中所述疾病或病症选自自由以下组成的组:疼痛、癌症、炎症或炎性疾病、神经变性疾病、某些感染性疾病、舍格伦氏综合

征、子宫内膜异位、糖尿病性周围神经病变、前列腺炎、盆腔疼痛综合征、与骨重塑调节失衡相关的疾病以及由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病,所述方法包括向有需要的所述哺乳动物施用治疗有效量的根据1或2所述的化合物。

[0399] 7. 根据6所述的方法,其中所述方法用于治疗疼痛。

[0400] 8. 根据7所述的方法,其中所述疼痛为慢性疼痛。

[0401] 9. 根据8所述的方法,其中所述慢性疼痛为慢性背痛。

[0402] 10. 根据7所述的方法,其中所述疼痛为急性疼痛。

[0403] 11. 根据7所述的方法,其中所述疼痛选自自由以下组成的组:神经性疼痛、炎性疼痛、与癌症有关的疼痛、与骨折有关的疼痛以及与手术有关的疼痛。

[0404] 12. 根据11所述的方法,其中所述疼痛为神经性疼痛。

[0405] 13. 根据12所述的方法,其中所述神经性疼痛为与糖尿病性周围神经病变有关的疼痛。

[0406] 14. 根据11所述的方法,其中所述疼痛为炎性疼痛。

[0407] 15. 根据14所述的方法,其中所述炎性疼痛为与骨关节炎有关的疼痛。

[0408] 16. 根据11所述的方法,其中所述疼痛为与癌症有关的疼痛。

[0409] 17. 根据11所述的方法,其中所述疼痛为与骨折有关的疼痛。

[0410] 18. 根据11所述的方法,其中所述疼痛为与手术有关的疼痛。

[0411] 19. 根据7-18中任一项所述的方法,其中所述方法还包括施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的至少一种选自自由以下组成的组的另外的治疗剂的组合:抗炎化合物、类固醇、止痛剂、阿片类、降钙素基因相关肽受体拮抗剂、亚型选择性离子通道调节剂、抗惊厥药、双重血清素-去甲肾上腺素再吸收抑制剂、JAK家族激酶抑制剂以及三环抗抑郁药。

[0412] 20. 根据19所述的方法,其中所述止痛剂为NSAID。

[0413] 21. 根据6所述的方法,其中所述疾病为炎性疾病。

[0414] 22. 根据21所述的方法,其中所述炎性疾病选自自由以下组成的组:炎性肺病、间质性膀胱炎、痛性膀胱综合征、炎性肠疾病以及炎性皮肤病。

[0415] 23. 根据22所述的方法,其中所述炎性疾病为间质性膀胱炎。

[0416] 24. 根据22所述的方法,其中所述炎性疾病为痛性膀胱综合征。

[0417] 25. 根据21-24中任一项所述的方法,其中所述方法还包括向有需要的所述哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的一种或多种选自自由以下组成的组的另外的药剂的组合:抗-TNF剂、抗代谢药和抗叶酸药以及靶向激酶抑制剂。

[0418] 26. 根据25所述的方法,其中所述方法还包括向有需要的所述哺乳动物施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的一种或多种选自自由以下组成的组的另外的药剂的组合:英利昔单抗、阿达木单抗、聚乙二醇化赛妥珠单抗、戈利木单抗、依那西普、甲氨蝶呤、鲁索利替尼、托法替尼、CYT387、来他替尼、帕克替尼以及TG101348。

[0419] 27. 根据6所述的方法,其中所述疾病为由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

[0420] 28. 根据27所述的方法,其中所述疾病选自自由以下组成的组:雷诺氏综合征、特发性肺纤维化、瘢痕(肥大型、瘢痕瘤型和其他形式)、硬化、心内膜心肌纤维化、心房纤维化、

骨髓纤维化、进行性块状纤维化(肺)、肾源性系统性纤维化、硬皮病、系统性硬化、关节纤维化和眼部纤维化。

[0421] 29. 根据6所述的方法,其中所述疾病为癌症。

[0422] 30. 根据29所述的方法,其中所述疾病为具有TrkA调节异常癌症。

[0423] 31. 根据30所述的方法,其中所述TrkA调节异常包括产生TrkA基因融合物的一个或多个染色体易位或倒位。

[0424] 32. 根据31所述的方法,其中所述Trk基因融合物为LMNA-TrkA、TFG-TrkA、TPM3-TrkA、CD74-TrkA、NFASC-TrkA、MPRIP-TrkA、BCAN-TrkA、TP53-TrkA、RNF213-TrkA、RABGAP1L-TrkA、IRF2BP2-TrkA、SQSTM1-TrkA、SSBP2-TrkA或TPR-TrkA。

[0425] 33. 根据32所述的方法,其中所述癌症为非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性胶质细胞瘤、结肠直肠癌、黑色素瘤、胆管癌或肉瘤。

[0426] 34. 根据30所述的方法,其中所述TrkA调节异常包括TrkA蛋白质中的一个或多个缺失、插入或突变。

[0427] 35. 根据34所述的方法,其中所述癌症为急性骨髓性白血病、大细胞神经内分泌癌或成神经细胞瘤。

[0428] 36. 根据30所述的方法,其中所述TrkA调节异常为野生型TrkA过度表达(自分泌活化)。

[0429] 37. 根据36所述的方法,其中所述癌症为前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌或胃癌。

[0430] 38. 根据29-37中任一项所述的方法,其中所述方法还包括施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的至少一种选自以下的另外的治疗剂的组合:一种或多种另外的疗法或化学治疗剂。

[0431] 39. 根据38所述的方法,其中所述另外的疗法或化学治疗剂选自放射疗法、细胞毒性化学治疗剂、酪氨酸激酶靶向治疗剂、细胞凋亡调节剂、信号转导抑制剂、免疫靶向疗法以及血管生成靶向疗法。

[0432] 40. 根据39所述的方法,其中所述化学治疗剂选自酪氨酸激酶靶向治疗剂。

[0433] 41. 根据1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐,其用于治疗疼痛、癌症、炎症/炎性疾病、神经变性疾病、某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位、糖尿病性周围神经病变、前列腺炎、盆腔疼痛综合征、与骨重塑调节失衡相关的疾病或由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

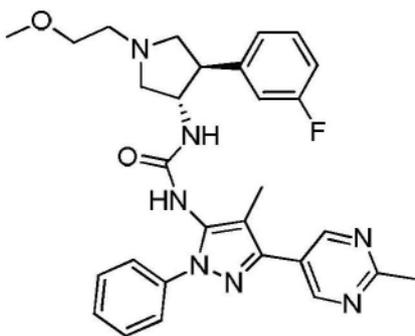
[0434] 42. 根据1或2所述的化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗以下疾病的药物中的用途:疼痛、癌症、炎症/炎性疾病、神经变性疾病、某些感染性疾病、舍格伦氏综合征、子宫内膜异位、糖尿病性周围神经病变、前列腺炎、盆腔疼痛综合征、与骨重塑调节失衡相关的疾病或由结缔组织生长因子异常信号传导引起的疾病。

[0435] 43. 一种用于治疗有需要的哺乳动物中的癌症的方法,所述方法包括:

[0436] (a) 确定所述癌症是否与TrkA激酶调节异常有关;以及

[0437] (b) 如果确定所述癌症与TrkA激酶调节异常有关,则向所述哺乳动物施用治疗有效量的化合物

[0438]



[0439] 1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲或其药学上可接受的盐。

[0440] 44. 根据43所述的方法,其中所述化合物为1-((3S,4R)-4-(3-氟苯基)-1-(2-甲氧基乙基)吡咯烷-3-基)-3-(4-甲基-3-(2-甲基咪唑-5-基)-1-苯基-1H-吡唑-5-基)脲的二盐酸盐。

[0441] 45. 根据43或44所述的方法,其中所述TrkA调节异常包括产生TrkA基因融合物的一个或多个染色体易位或倒位。

[0442] 46. 根据45所述的方法,其中所述Trk基因融合物为LMNA-TrkA、TFG-TrkA、TPM3-TrkA、CD74-TrkA、NFASC-TrkA、MPRIP-TrkA、BCAN-TrkA、TP53-TrkA、RNF213-TrkA、RABGAP1L-TrkA、IRF2BP2-TrkA、SQSTM1-TrkA、SSBP2-TrkA或TPR-TrkA。

[0443] 47. 根据46所述的方法,其中所述癌症为非小细胞肺癌、乳头状甲状腺癌、多形性成胶质细胞瘤、结肠直肠癌、黑色素瘤、胆管癌或肉瘤。

[0444] 48. 根据43或44所述的方法,其中所述TrkA调节异常包括TrkA蛋白质中的一个或多个缺失、插入或突变。

[0445] 49. 根据48所述的方法,其中所述癌症为急性骨髓性白血病、大细胞神经内分泌癌或成神经细胞瘤。

[0446] 50. 根据43或44所述的方法,其中所述TrkA调节异常为野生型TrkA过度表达(自分泌活化)。

[0447] 51. 根据50所述的方法,其中所述癌症为前列腺癌、成神经细胞瘤、胰腺癌、黑色素瘤、头颈鳞状细胞癌或胃癌。

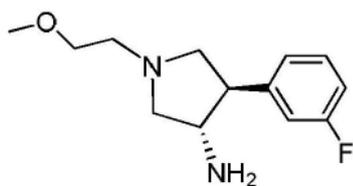
[0448] 52. 根据43至51中任一项所述的方法,其中所述方法还包括施用有效量的化合物1或其药学上可接受的盐与有效量的至少一种选自以下的另外的治疗剂的组合:一种或多种另外的疗法或化学治疗剂。

[0449] 53. 根据52所述的方法,其中所述另外的疗法或化学治疗剂选自放射疗法、细胞毒性化学治疗剂、酪氨酸激酶靶向治疗剂、细胞凋亡调节剂、信号转导抑制剂、免疫靶向疗法以及血管生成靶向疗法。

[0450] 54. 一种用于制备根据1或2所述的化合物的方法,所述方法包括:

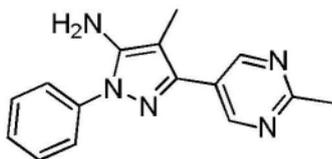
[0451] (a) 使具有以下式II-A的化合物

[0452]

**II-A**

[0453] 与具有以下式III的化合物

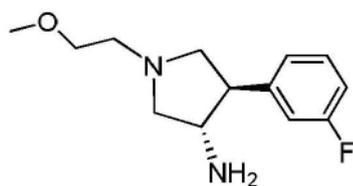
[0454]

**III**

[0455] 在羰基二咪唑或三光气和碱存在下反应;或者

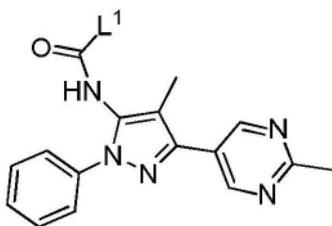
[0456] (b) 使具有以下式II-A的化合物

[0457]

**II-A**

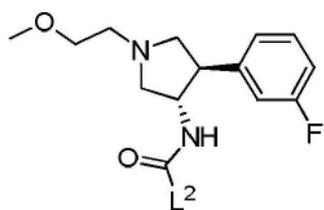
[0458] 与具有以下式IV的化合物

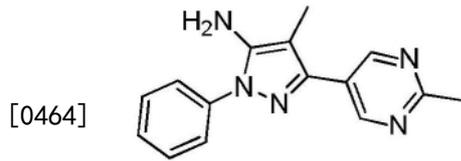
[0459]

**IV**[0460] 其中L¹为离去基团,在碱存在下反应;或者

[0461] (c) 使具有以下式V的化合物

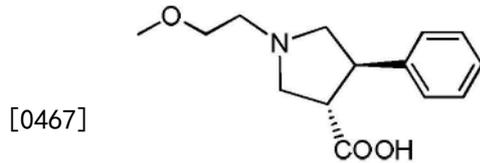
[0462]

**V**[0463] 其中L²为离去基团,与具有以下式III的化合物

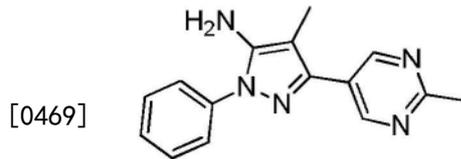
**III**

[0465] 在碱存在下反应;或者

[0466] (d) 使具有以下式VI的化合物

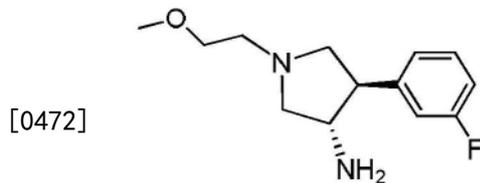
**VI**

[0468] 与二苯基磷酰基叠氮反应以形成一种中间体,接着使所述中间体与具有以下式III的化合物

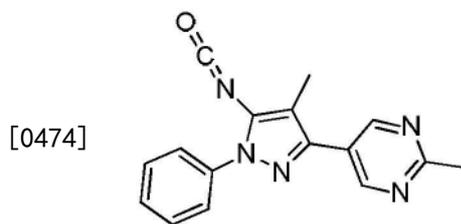
**III**

[0470] 在碱存在下反应;或者

[0471] (e) 使具有以下式II-A的化合物

**II-A**

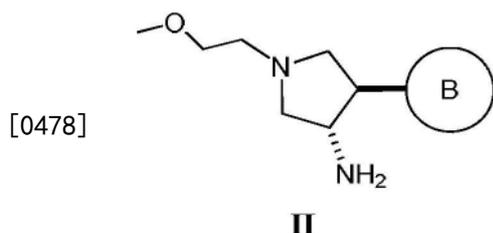
[0473] 与具有以下式VII的化合物

**VII**

[0475] 在碱存在下反应;并且

[0476] 去除和保护基团(如果存在的话)并任选地制备其药学上可接受的盐。

[0477] 55. 一种用于制备式II化合物的外消旋混合物的方法



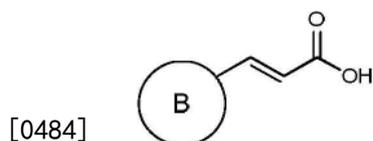
[0479] 其中：

[0480] 环B为Ar¹或hetAr¹；

[0481] Ar¹为任选地被一个或多个独立地选自以下的取代基取代的苯基：卤素、CF₃、CF₃O-、(1-4C)烷氧基、羟基(1-4C)烷基、(1-6C)烷基以及CN；并且

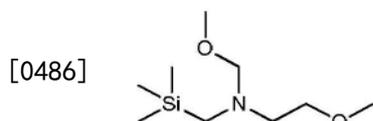
[0482] hetAr¹为具有1-3个独立地选自N、S和O的环杂原子并且任选地被1-2个独立地选自(1-6C)烷基、卤素、OH、CF₃、NH₂和羟基(1-2C)烷基的基团取代的5-6元杂芳基，所述方法包括：

[0483] (a) 使以下式(a)化合物

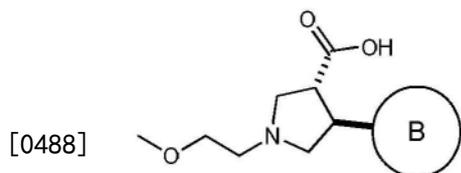


(a)

[0485] 其中环B为针对式II所定义的，与具有以下式的2-甲氧基-N-(甲氧基甲基)-N-(三甲基甲硅烷基)甲基)乙胺



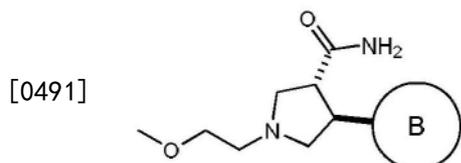
[0487] 在催化量的酸存在下反应，以提供以下式(b)化合物



(b)

[0489] 其中环B为针对式II所定义的；

[0490] (b) 使所述式(b)化合物与羰基二咪唑在催化量的咪唑盐酸盐存在下反应，接着用氨处理，以提供具有以下式(c)的化合物



(c)

[0492]

[0493] 其中环B为针对式II所定义的;以及

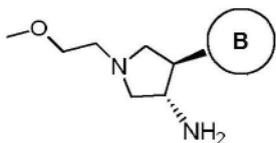
[0494] (c) 使所述式(c)化合物与次氯酸钠反应,接着用KOH处理,然后用HCl处理,以提供作为反式式II外消旋混合物的所述式II化合物。

[0495] 56. 根据55所述的方法,其还包括分离作为二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐或作为游离碱的反式式II的对映体1,所述方法包括:

[0496] 用二-对-甲苯酰基-D-酒石酸处理外消旋反式式II以提供外消旋反式II的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐;

[0497] 使反式II的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐重结晶,以提供反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐;以及任选地

[0498] 用无机碱处理所述反式II的对映体1的二-对-甲苯酰基-D-酒石酸盐,以提供具有如下所示绝对构型的反式II的对映体1的游离碱:



[0499]

II

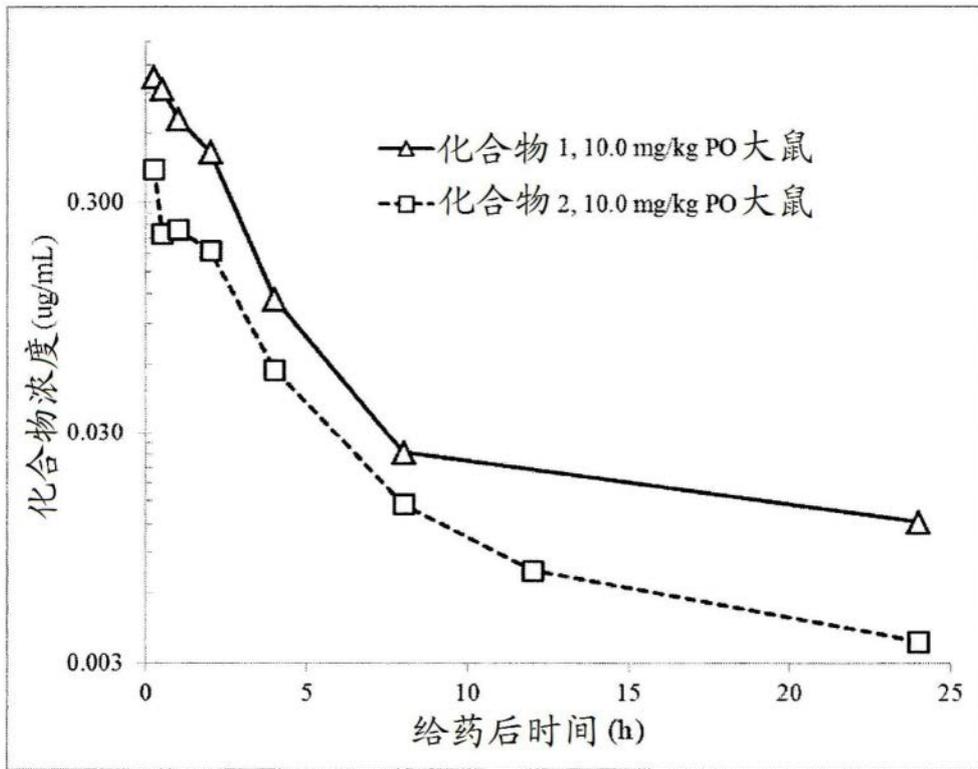


图1

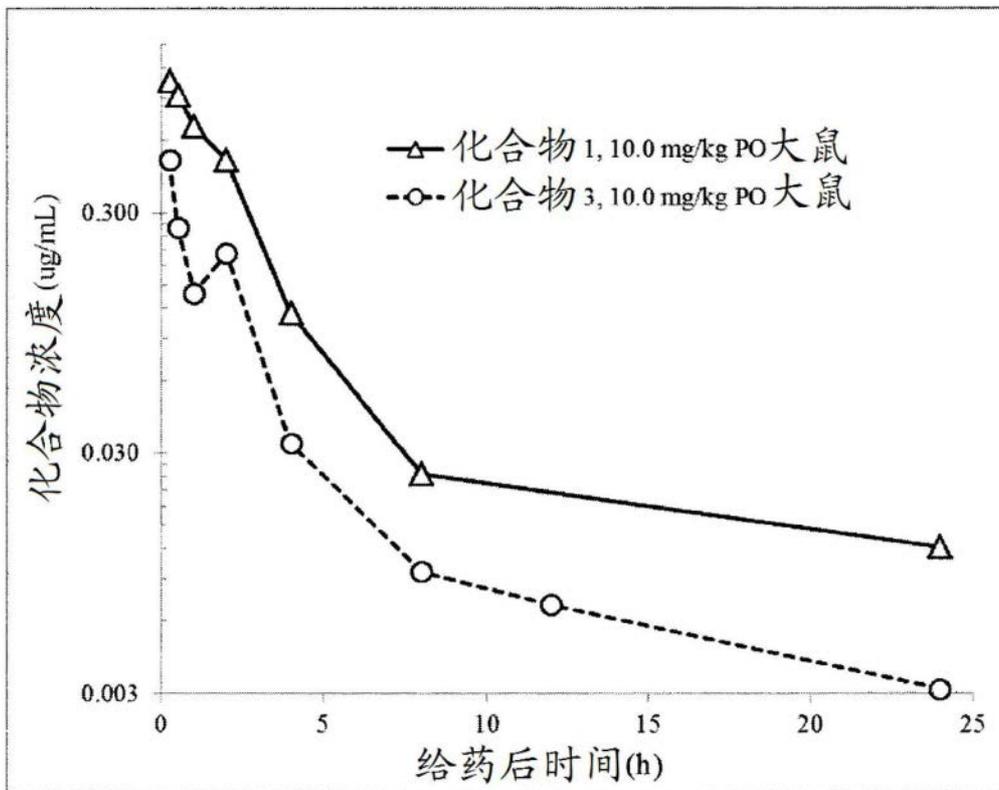


图2

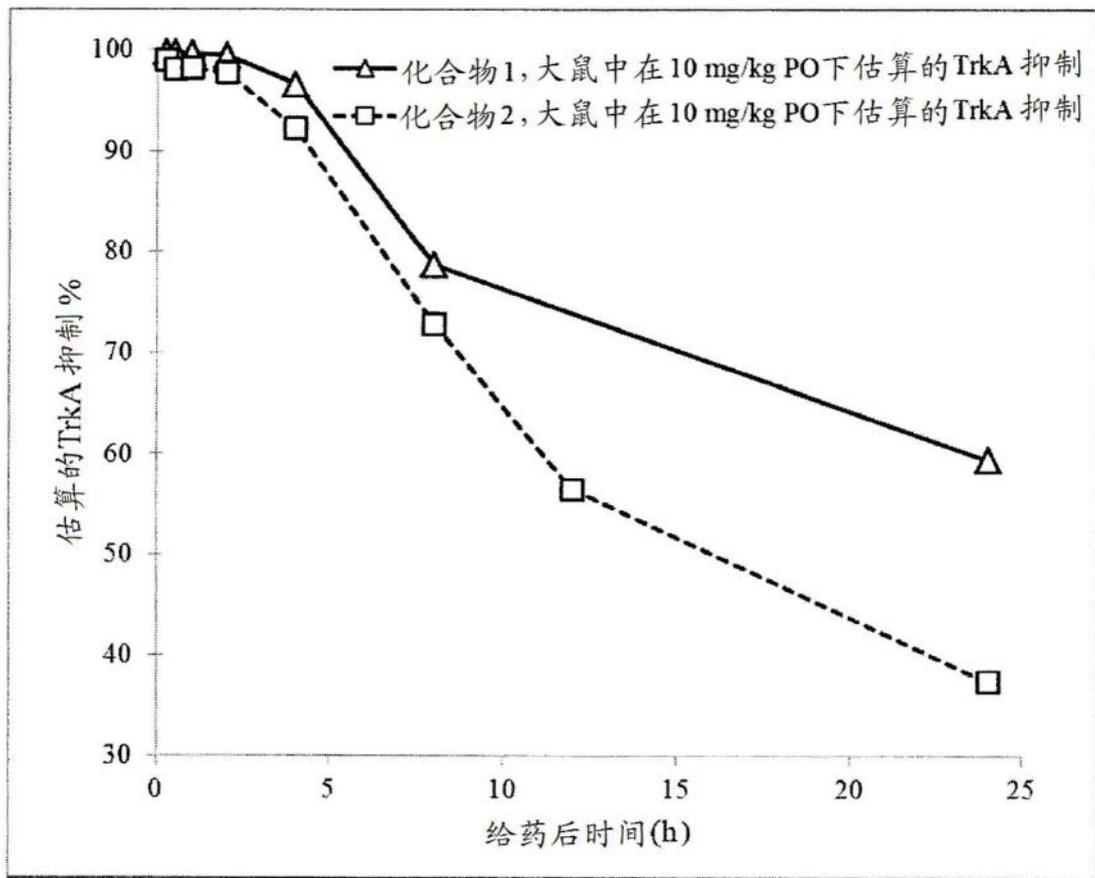


图3

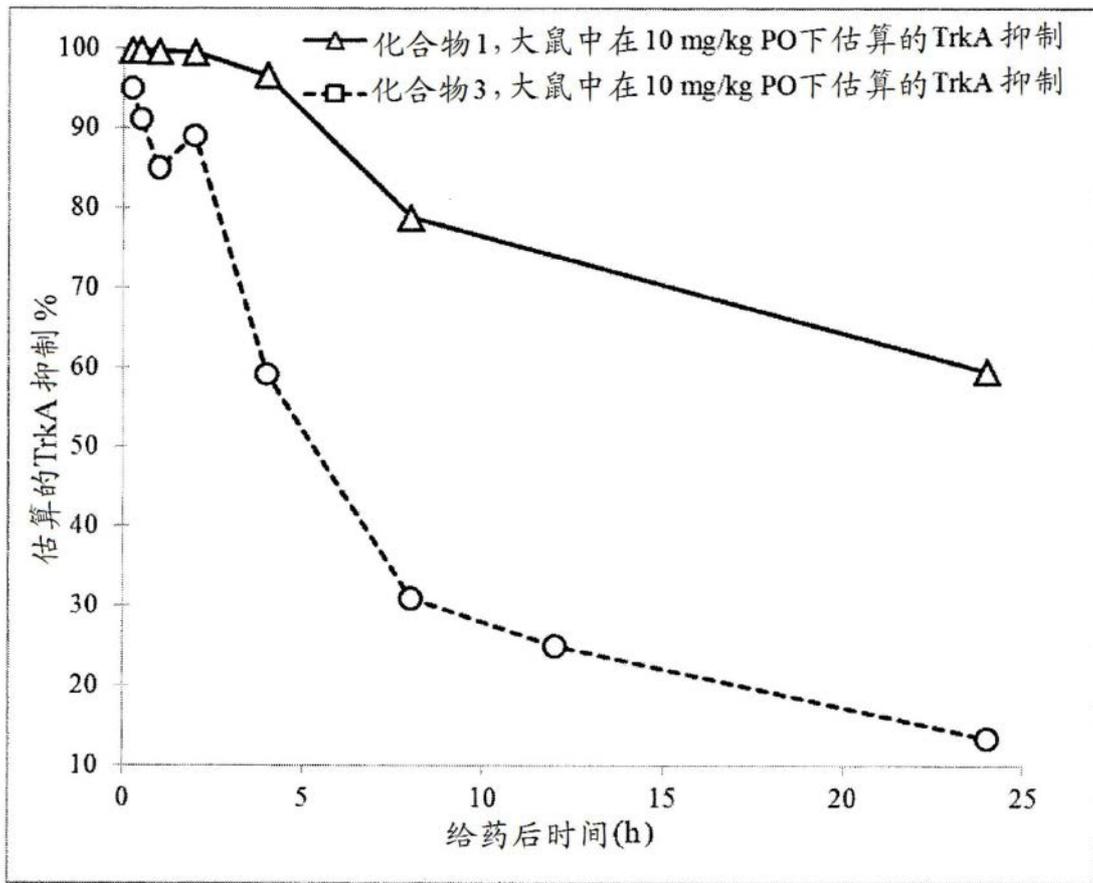


图4