

炔苯基苯酰胺类化合物及其应用

技术领域

本发明涉及化学医药技术领域，特别是涉及一种炔苯基苯酰胺类化合物及其应用。

5

背景技术

原肌球蛋白受体激酶 TRK(tropomyosin receptor kinase)，属于受体酪氨酸激酶家族 (receptor tyrosine kinase, RTK)，它有三个亚型：TRKA、TRKB、TRKC，分别由 NTRK1、NTRK2、NTRK3 基因编码。TRK 是一类跨膜蛋白，由胞外的配体结合区、跨膜区 (transmembrane domain, TM) 和胞内区组成，TRK 主要通过结合神经营养因子 (Neurotrophic factors, NTs) 发挥作用。神经营养因子是一类由神经所支配的组织（如肌肉）和星形胶质细胞产生的且为神经元生长与存活所必需的一类蛋白质分子。目前主要发现了四种神经营养因子，它们分别是 NGF（神经生长因子）、脑源性神经营养因子 (BDNF)、神经营养因子 3 (NT-3) 和神经营养因子 4 (NT-4)，其中 NGF 与 TRKA 结合，BDNF 和 NT-4 与 TRKB 结合，NT-3 可以与三种 TRK 蛋白结合，但其与 TRKC 的结合能力更强。当受到信号诱导而活化时，TRK 通过自身二聚化和磷酸化，依次激活下游的信号通路实现各种细胞生理功能。TRK 的下游信号通路包括 MAPK、PI3K/AKT、PLC γ /PKC 通路，这些信号通路调节着细胞的增殖、分化、迁移、凋亡等生理过程，以及神经突触的弹性、神经树突的长出修复、神经元降解的预防和修复以及感觉神经元的维护等与神经元相关的多种生理活动。

大量研究表明，TRK 的过量表达、基因融合以及单核苷酸改变与多种类型的肿瘤发生发展密切相关，如非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、甲状腺癌、恶性黑色素瘤、神经母细胞瘤和乳腺样分泌癌等。在 TRK 异常激活的机制中，最普遍的机制是 TRK 的基因融合。医学研究最早发现的 NTRK 融合基因是在结肠癌样本中发现的 TPM3-NTRK1 融合基因，随着研究的深入，研究人员又陆续发现了 CD74-NTRK1、ETV6-NTRK2、QKI-NTRK2、ETV6-NTRK3 等多种类型的融合基因。NTRK 融合基因所表达的 TRK 融合蛋白可以在不依赖与配体结合的情况下持续性激活下游信号通路，从而诱导细胞异常增殖，促进肿瘤的发生与发展。因此，TRK 被视为是一个有效的抗癌治疗靶点。

目前已有一款由美国 LOXO 公司开发的 TRK 选择性抑制剂 Larotrectinib 于 2018 年由 FDA 批准上市，由罗氏制药公司开发的 TRK 抑制剂 Entrectinib 于 2019 年 6 月在日本上市，由 TESARO 公司开发的的 Belizatinib 正在进行临床研究，此外 Cabozantinib、Sitravatinib、Altiratinib 等多靶点抑制剂也具有良好的 TRK 抑制活性。

30

持续使用 TRK 抑制剂而引起的 NTRK 基因点突变是导致肿瘤产生耐药的关键原因。临床研究已经陆续发现了 NTRK1 的 G595R、G667C、F589L、G667S 以及 NTRK3 的 G623R、G696A 突变, 目前还没有针对这些突变的抑制剂上市, TRK 二代抑制剂 LOXO-195、TPX-0005 和 ONO-5390556 正处于临床研究中。

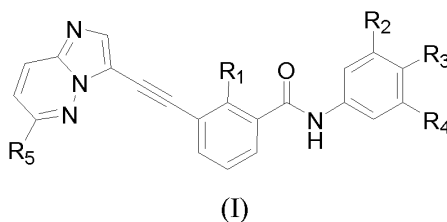
5

发明内容

基于此, 本发明提供了一种炔苯基苯酰胺类化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体, 该类化合物可作为蛋白激酶抑制剂, 能够有效抑制 TRK 蛋白激酶的活性并且能抑制多种肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭, 尤其还具有很好的药代动力学性质和抗耐药性。

10 具体技术方案如下:

具有式(I)结构的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子;

15 其中, R_1 任选自: $C_1 \sim C_{20}$ 烷基;

R_2 任选自: H、卤素、 $C_1 \sim C_{20}$ 烷基、 $C_1 \sim C_{20}$ 烷氧基或卤素取代的 $C_1 \sim C_{20}$ 烷基;

R_3 任选自: H、氟取代的 $C_1 \sim C_4$ 烷基、取代或未取代的含 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂环基;

20 R_4 任选自: H、卤素、硝基、取代或未取代的 $C_1 \sim C_{20}$ 烷基、取代或未取代的 $C_1 \sim C_{20}$ 烷氧基、取代或未取代的含 1-3 个 N 环原子的 5-10 元杂环基、取代或未取代的含 1-3 个 N 环原子的 5-10 元杂芳基;

R_5 为 $-NR_6R_7$;

25 其中, R_6 、 R_7 分别独立地选自: $-(CH_2)_mNR_8R_9$ 、 $-(CH_2)_nCR_{10}R_{11}R_{12}$ 、 $-(CH_2)_pOR_{12}$, 或者 R_6 、 R_7 与它们所连接的氮原子一起形成被取代或未被取代的含有杂原子的单环、稠环、螺环或桥环;

R_8 、 R_9 分别独立地选自: H、 $C_1 \sim C_{20}$ 烷基; 或者 R_8 、 R_9 与它们所连接的氮原子一起形成被取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的单环、稠环、螺环或桥环;

R_{10} 、 R_{11} 与它们所连接的碳原子一起形成被取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的单环、稠环、螺环或桥环;

R_{12} 选自: H、 $C_1\sim C_{20}$ 烷基;

m、n、p 分别独立地选自: 0-10 的整数。

在其中一些实施例中, R_4 任选自: H、卤素、硝基、 $C_1\sim C_{10}$ 烷基、卤素取代的 $C_1\sim C_{10}$ 烷基、 $C_1\sim C_{10}$ 烷氧基、卤素取代的 $C_1\sim C_{10}$ 烷氧基、 $-(CH_2)_xNR_{17}R_{18}$ 、被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-10 元杂环基、被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-10 元杂芳基; x=1-5 的整数;

R_{17} 、 R_{18} 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的咪啉基、吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基;

各 R_{19} 分别独立地选自 $C_1\sim C_5$ 烷基。

在其中一些实施例中, R_4 任选自: H、卤素、硝基、 $C_1\sim C_8$ 烷基、卤素取代的 $C_1\sim C_8$ 烷基、 $C_1\sim C_8$ 烷氧基、卤素取代的 $C_1\sim C_8$ 烷氧基、 $-(CH_2)_xNR_{17}R_{18}$ 、被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂环基、被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂芳基; x 为 1-5 的整数。

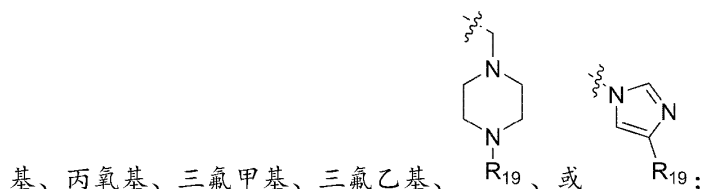
在其中一些实施例中, R_4 任选自: H、卤素、硝基、 $C_1\sim C_4$ 烷基、卤素取代的 $C_1\sim C_4$ 烷基、 $C_1\sim C_4$ 烷氧基、卤素取代的 $C_1\sim C_4$ 烷氧基、 $-(CH_2)_xNR_{17}R_{18}$ 、被 1-3 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂环基、被 1-3 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂芳基; x=1-5 的整数。

在其中一些实施例中, R_4 任选自: H、卤素、硝基、 $C_1\sim C_4$ 烷基、卤素取代的 $C_1\sim C_4$ 烷基、 $C_1\sim C_4$ 烷氧基、卤素取代的 $C_1\sim C_4$ 烷氧基、 $-(CH_2)_xNR_{17}R_{18}$ 、被 1-3 个 R_{19} 取代或未被取代的咪唑基; x 为 1、2 或 3;

R_{17} 、 R_{18} 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-3 个 R_{19} 取代或未被取代的哌嗪基;

各 R_{19} 分别独立地选自: $C_1\sim C_5$ 烷基。

在其中一些实施例中, R_4 任选自: H、卤素、硝基、甲基、乙基、丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、三氟甲基、三氟乙基、



各 R_{19} 分别独立地选自: 甲基、乙基、丙基。

在其中一些实施例中, R_6 、 R_7 分别独立地选自: $-(CH_2)_mNR_8R_9$ 、 $-(CH_2)_nCR_{10}R_{11}R_{12}$ 、 $-(CH_2)_pOR_{12}$, 或者 R_6 、 R_7 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R_{13} 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-15 元单环、稠环、螺环或桥环, 杂原子选自: O、N、S;

R₈、R₉ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基；或者 R₈、R₉ 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R₁₃ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-10 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N；

R₁₀、R₁₁ 与它们所连接的碳原子一起形成被 1-5 个 R₁₃ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-10 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N；

R₁₂ 选自：H、C₁~C₅ 烷基；

各 R₁₃ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基、C₁~C₅ 烷酰基、羟基、羟基取代的 C₁~C₅ 烷基、氨基取代的 C₁~C₅ 烷基、氨基取代的 C₁~C₅ 烷氧基、C₃~C₇ 环烷基取代的 C₁~C₃ 烷基、-NR₁₅R₁₆、被 1-5 个 R₁₄ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-10 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N；

R₁₄、R₁₅、R₁₆ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基；

m、n、p 分别独立地选自：0-5 的整数。

在其中一些实施例中，R₆、R₇ 分别独立地选自：-(CH₂)_mNR₈R₉、-(CH₂)_pOR₁₂，或者 R₆、R₇ 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-3 个 R₁₃ 取代或未被取代的吗啉基、吡咯烷基、哌啶基或者哌嗪基；

R₈、R₉ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基，或者 R₈、R₉ 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R₁₃ 取代或未被取代的吗啉基、吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基；

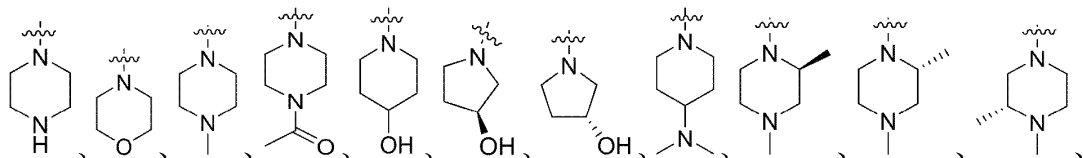
R₁₂ 选自：H、C₁~C₅ 烷基；

各 R₁₃ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基、C₁~C₅ 烷酰基、羟基、-NR₁₅R₁₆、被 1-2 个 R₁₄ 取代或未被取代的氧杂环丁基、被 1-4 个 R₁₄ 取代或未被取代的吗啉基；

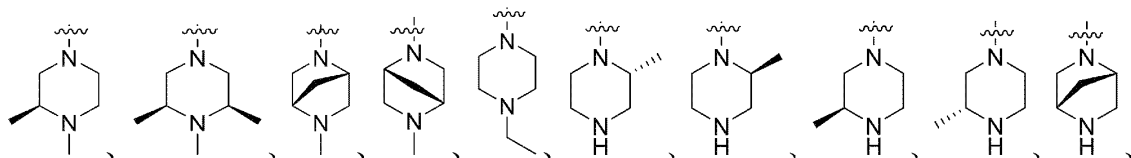
R₁₄、R₁₅、R₁₆ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基；

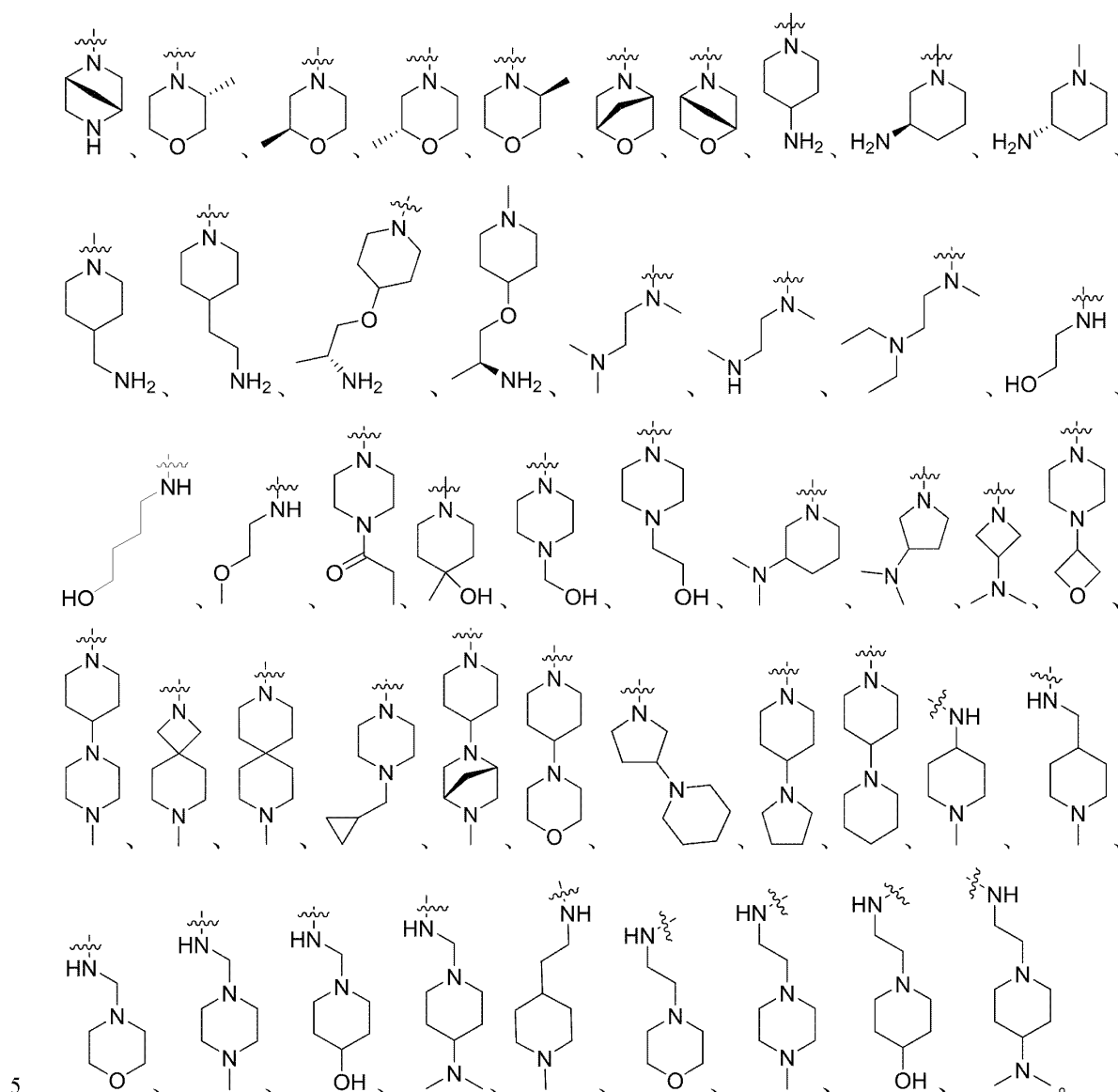
m、p 分别独立地选自：1、2、3、4 或 5。

在其中一些实施例中，R₅ 选自以下任意一种基团：



25





在其中一些实施例中， R_4 为卤素； R_5 为 $-NR_6R_7$ ；

R_6 、 R_7 分别独立地选自： $-(CH_2)_mNR_8R_9$ 、 $-(CH_2)_pOR_{12}$ ，或者 R_6 、 R_7 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-3 个 R_{13} 取代或未被取代的咪啉基、吡咯烷基、哌啶基或者哌嗪基；

R_8 、 R_9 分别独立地选自：H、 C_1 - C_3 烷基，或者 R_8 、 R_9 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-2 个 R_{13} 取代或未被取代的咪啉基、吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基；

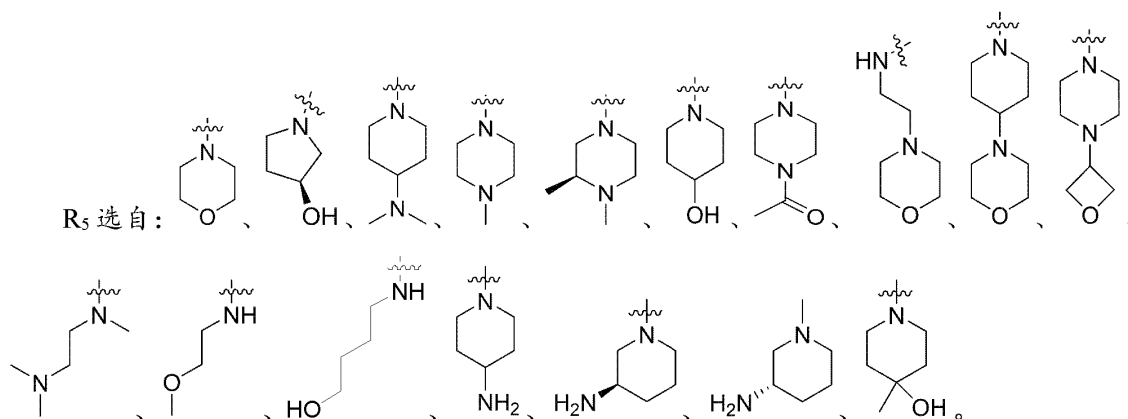
R_{12} 选自：H、 C_1 - C_3 烷基；

各 R_{13} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_3 烷基、乙酰基、羟基、 $-NR_{15}R_{16}$ 、氧杂环丁基、咪啉基；

R_{15} 、 R_{16} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_3 烷基；

m 、 p 分别独立地选自：2、3 或 4。

在其中一些实施例中， R_4 为 Cl，



在其中一些实施例中， R_4 选自：H、卤素、甲基、甲氧基、三氟甲基、硝基、



在其中一些实施例中， R_4 选自：H、

， R_5 选自：

在其中一些实施例中， R_4 为

， R_5 选自：

在其中一些实施例中， R_1 任选自： C_1 ~ C_{10} 烷基。

在其中一些实施例中， R_1 任选自： C_1 ~ C_4 烷基。

10 在其中一些实施例中， R_1 任选自：甲基、乙基、异丙基、叔丁基。

在其中一些实施例中， R_2 任选自：H、卤素、 C_1 ~ C_{10} 烷基、卤素取代的 C_1 ~ C_{10} 烷基。

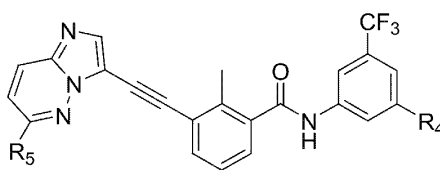
在其中一些实施例中， R_2 任选自：H、卤素、 C_1 ~ C_4 烷基、卤素取代的 C_1 ~ C_4 烷基、 C_1 ~ C_4 烷氧基。

在其中一些实施例中， R_2 任选自：氢、氟、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、二氟甲基、
15 二氟乙基、三氟甲基或三氟乙基。

在其中一些实施例中， R_3 选自：H、二氟甲基、二氟乙基、三氟甲基或三氟乙基。

在其中一些实施例中，所述炔苯基苯酰胺类化合物具有式(II)所示结构：

7



(II)。

本发明的另一目的是提供一种上述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子在制备 TRK 抑制剂中的应用。

- 5 本发明的另一目的是提供一种上述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子在制备预防和/或治疗由 TRK 酪氨酸激酶介导的疾病的药物中的应用。

在其中一些实施例中,所述由 TRK 酪氨酸激酶介导的疾病为肿瘤,优选为非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、甲状腺癌、恶性黑色素瘤、神经母细胞瘤或乳腺样分泌癌。

- 10 本发明的再一目的是提供一种预防和/或治疗肿瘤的药用组合物,包括活性成分和药学上可接受的辅料,所述活性成分包括上述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子。

- 15 本发明提供的炔苯基苯酰胺类化合物,对 TRKs 激酶有很强的抑制活性,并且对 Ba/F3-TRKs 稳定株的野生型及耐药型细胞增殖有很强的抑制活性。可以用于制备预防或者治疗由 TRK 酪氨酸激酶介导的疾病的药物,比如非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、甲状腺癌、恶性黑色素瘤、神经母细胞瘤和乳腺样分泌癌等,同时还具有很好的药代动力学和毒性低的特点。

20 附图说明

图 1 为化合物 XS3-55 的体内抗肿瘤活性。

图 2 为化合物 XS3-55 对老鼠体重的影响。

具体实施方式

- 25 本发明下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。实施例中所用到的各种常用化学试剂,均为市售产品。

除非另有定义,本发明所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不用于限制本发明。

本发明的术语“包括”和“具有”以及它们任何变形，意图在于覆盖不排除他的包含。例如包含了一系列步骤的过程、方法、装置、产品或设备没有限定于已列出的步骤或模块，而是可选地还包括没有列出的步骤，或可选地还包括对于这些过程、方法、产品或设备固有的其它步骤。

- 5 在本发明中提及的“多个”是指两个或两个以上。“和/或”，描述关联对象的关联关系，表示可以存在三种关系，例如，A 和/或 B，可以表示：单独存在 A，同时存在 A 和 B，单独存在 B 这三种情况。字符“/”一般表示前后关联对象是一种“或”的关系。

本发明所述化合物中，当任何变量（例如 R_{10} 、 R_{11} 等）在任何组分中出现超过一次，则其每次出现的定义独立于其它每次出现的定义。同样，允许取代基及变量的组合，只要这种组合使化合物稳定。自取代基划入环系统的线表示所指的键可连接到任何能取代的环原子上。如果环系统为多环，其意味着这种键仅连接到邻近环的任何适当的碳原子上。要理解本领域普通技术人员可选择本发明化合物的取代基及取代型式而提供化学上稳定的并可通过本领域技术和下列提出的方法自可容易获得的原料容易合成的化合物。如果取代基自身被超过一个基团取代，应理解这些基团可在相同碳原子上或不同碳原子上，只要使结构稳定。

- 15 本文所用术语“烷基”意指包括具有特定碳原子数目的支链的和直链的饱和脂肪烃基。例如，“ C_1 - C_{20} 烷基”中“ C_1 - C_{20} ”的定义包括以直链或支链排列的具有 1、2、3、4、5、……或 20 个碳原子的基团。术语“环烷基”指具有特定碳原子数目的单环饱和脂肪烃基。例如“ C_3 - C_7 环烷基”包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。

本文所用术语“烷氧基”指烷基与氧直接连接的基团，即具有 -O-烷基结构的基团，如 -OCH₃、-OCH₂CH₃、-OCH₂CH₂CH₃、-O-CH₂CH(CH₃)₂、-OCH₂CH₂CH₂CH₃、-O-CH(CH₃)₂ 等。

本文所用术语“杂环基”是指含有 1 个或多个选自 O、N 和 S 的杂原子的非芳香性杂环基团，例如：哌啶基，四氢吡咯基（吡咯烷基）、吗啉基、哌嗪基等。杂环取代基的连接可以通过碳原子或通过杂原子实现。

本文所用术语“杂芳基”指含有 1 个或多个选自 O、N 或 S 的杂原子的芳香环，本发明范围内的杂芳基包括但不限于：喹啉基、吡啶基、吡咯基、噻吩基、呋喃基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、三氮唑基、咪唑基、恶唑基、异恶唑基、哒嗪基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并恶唑、吲哚基等；“杂芳基”也理解为包括任何含有氮的杂芳基的 N-氧化物衍生物。杂芳基的连接可以通过碳原子或通过杂原子实现。

本文所用术语“取代的”是指用指定取代基的基团置换特定结构中的氢基。

- 30 正如本领域技术人员所理解的，本文中所用“卤素”意指包括氯、氟、溴和碘。

本发明包括式(I)或式(II)化合物的游离形式，也包括其药学上可接受的盐、其立体异构

体及其前药分子。术语“游离形式”指以非盐形式的化合物。包括在内的药学上可接受盐不仅包括本文所述特定化合物的示例性盐，也包括所有式(I)或式(II)化合物游离形式的典型的药学上可接受的盐。可使用本领域已知技术分离所述化合物特定盐的游离形式。例如，可通过用适当的碱稀水溶液例如 NaOH 稀水溶液、碳酸钾稀水溶液、稀氨水及碳酸氢钠稀水溶液处理该盐使游离形式再生。游离形式在某些物理性质例如在极性溶剂中溶解度上与其各自盐形式多少有些区别，但是为发明的目的这种酸盐及碱盐在其它药学方面与其各自游离形式相当。

可通过常规化学方法自含有碱性部分或酸性部分的本发明化合物合成本发明的药学上可接受的盐。通常，通过离子交换色谱或通过游离碱和化学计算量或过量的所需盐形式的无机或有机酸在适当溶剂或多种溶剂的组合中反应制备碱性化合物的盐。类似的，通过和适当的无机或有机碱反应形成酸性化合物的盐。

因此，本发明化合物的药学上可接受的盐包括通过碱性本发明化合物和无机或有机酸反应形成的本发明化合物的常规无毒盐。例如，常规的无毒盐包括得自无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、氨基磺酸、磷酸、硝酸等制备的盐，也包括得自有机酸例如乙酸、丙酸、琥珀酸、乙醇酸、硬脂酸、乳酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸、抗坏血酸、扑酸、马来酸、羟基马来酸、苯乙酸、谷氨酸、苯甲酸、水杨酸、对氨基苯磺酸、2-乙酰氧基一苯甲酸、富马酸、苯磺酸、甲苯磺酸、甲磺酸、乙烷二磺酸、草酸、羟乙基磺酸、三氟乙酸等制备的盐。

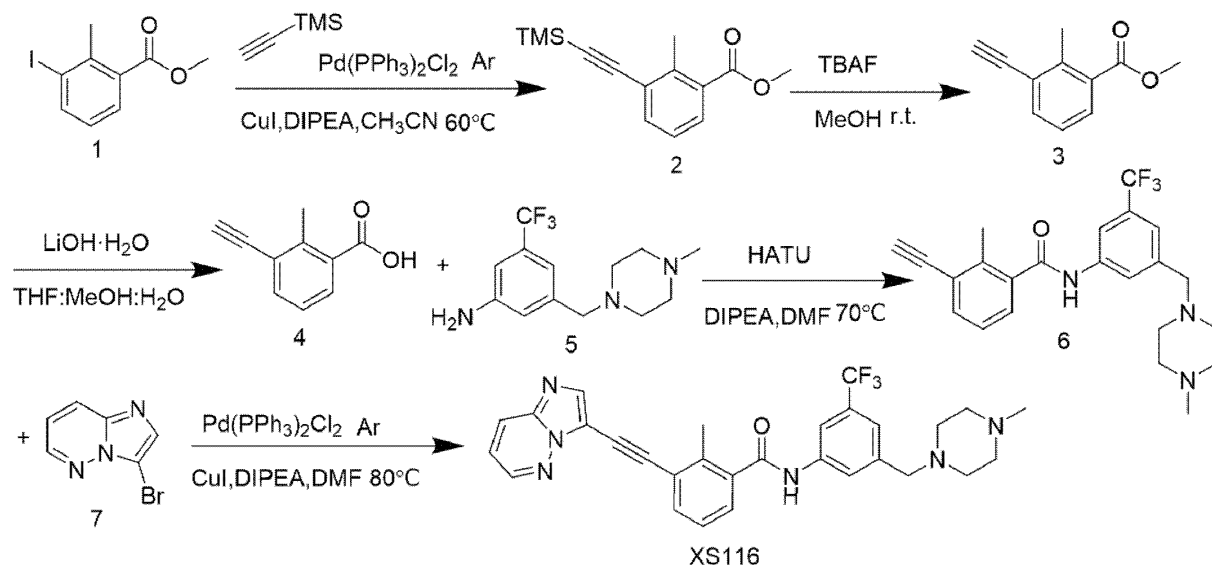
如果本发明化合物为酸性的，则适当的“药学上可接受的盐”指通过药学上可接受的无毒碱包括无机碱及有机碱制备的盐。得自无机碱的盐包括铝盐、铵盐、钙盐、铜盐、铁盐、亚铁盐、锂盐、镁盐、锰盐、亚锰盐、钾盐、钠盐、锌盐等。特别优选铵盐、钙盐、镁盐、钾盐和钠盐。得自药学上可接受的有机无毒碱的盐，所述碱包括伯胺、仲胺和叔胺的盐，取代的胺包括天然存在的取代胺、环状胺及碱性离子交换树脂例如精氨酸、甜菜碱、咖啡因、胆碱、N, N'-二苄基乙二胺、二乙胺、2-二乙基氨基乙醇、2-二甲基氨基乙醇、氨基乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-乙基吗啉、N-乙基哌啶、葡萄糖胺、氨基葡萄糖、组氨酸、羟钴胺、异丙基胺、赖氨酸、甲基葡萄糖胺、吗啉、哌嗪、哌啶、呱啶、多胺树脂、普鲁卡因、嘌呤、可可碱、三乙胺、三甲胺、三丙胺、氨基丁三醇等。

Berg 等, “Pharmaceutical Salts” *J. Pharm. Sci.* 1977: 66: 1-19 更详细描述了上文所述药学上可接受的盐及其它典型的药学上可接受的盐的制备。

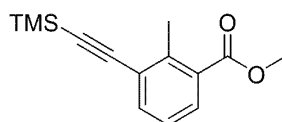
以下结合具体实施例对本发明作进一步详细的说明。

实施例 1: 3-(咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基乙炔基)-2-甲基-N-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)甲

基)-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺(命名为XS116)的制备



步骤 1: 2-甲基-3-((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯甲酸甲酯(化合物 2)的制备

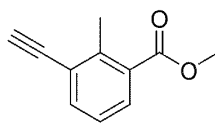


5

500mL 三颈瓶中, 加入化合物 1 10g (36mmol), 碘化亚铜 689mg (3.6mmol), 二(三苯基膦)二氯化钯 1.27g (1.8mmol), 无水乙腈 150mL, N,N-二异丙基乙胺 9.3g (72mmol), 置换氩气, 封闭反应体系, 然后用注射器注入三甲基硅乙炔 10.6g (108mmol), 60°C 搅拌 6 小时。用硅藻土过滤反应液, 旋干溶剂得到黑色混合物, 直接用于下一步反应。

10

步骤 2: 2-乙炔基-2-甲基苯甲酸甲酯(化合物 3)的制备

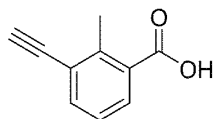


将上一步粗产品用甲醇溶解, 加入约 20mL 的 1mol/L 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液, 常温搅拌 2 小时。旋干反应体系, 柱层析得到黄棕色油状物 4g (两步总产率 63%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.80 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 4.27 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.37 (s, 3H). LC-MS (ESI) *m/z* 175.5[M + H]⁺.

15

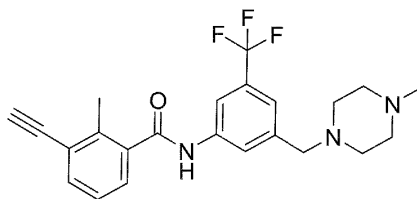
步骤 3: 3-乙炔基-2-甲基苯甲酸(化合物 4)的制备



将化合物 **3** 1.5g (9mmol) 溶于体积比为 10: 1: 5 的四氢呋喃、甲醇和水的混合溶剂中, 然后加入氢氧化锂的水合物 1.8g (40mmol), 60℃搅拌 1 小时。过滤, 旋干反应体系, 然后加入 4M 盐酸溶液直至体系呈酸性, 此时有白色固体析出, 过滤收集白色固体, 干燥, 得到白色固体 900mg (产率 65%)。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13.09 (s, 1H), 7.77 (dd, J = 7.8, 0.9 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.47 (s, 1H), 2.61 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 158.9 $[M - H]^-$.

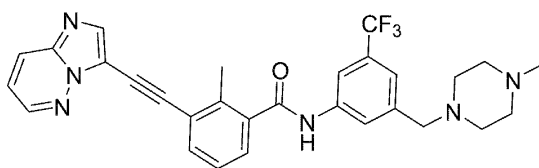
步骤 4: 3-乙炔基-2-甲基-N- (3- ((4-甲基哌嗪-1-基) 甲基) -5- (三氟甲基) 苯基) 苯甲酰胺 (化合物 **6**) 的制备



- 10 将化合物 **4** 2.3g, 化合物 **5** 3.4g 溶于 40mL 的 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸酯(HATU) 9.12g (24mmol), N,N-二异丙基乙胺 2.3g (18mmol)。70℃加热搅拌 2 小时。旋干反应体系, 加水, 用乙酸乙酯萃取, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干溶剂, 柱层析得到黄色油状物 3.4g (产率 70%)。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.52 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 8.00(d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.47 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 4.51 (s, 1H), 3.53 (s, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.39 (s, 4H), 2.33 (s, 4H), 2.15 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 416.3 $[M + H]^+$.

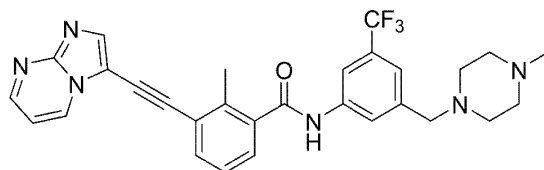
步骤 5: 3- (咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基乙炔基) -2-甲基-N- (3- ((4-甲基哌嗪-1-基) 甲基) -5- (三氟甲基) 苯基) 苯甲酰胺 (XS116) 的制备



- 20 将化合物 **6** 210mg (0.51mmol) 和化合物 **7** 120mg (0.61mmol) 溶于 10mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 然后加入碘化亚铜 19mg (0.1mmol), 二 (三苯基膦) 二氯化钯 35mg (0.05mmol), N,N-二异丙基乙胺 131mg (1.02mmol), 置换氬气, 封闭反应体系。80℃加热搅拌, 过夜反应。用硅藻土过滤, 旋干滤液, 柱层析得到黄白色固体 70mg (产率 26%)。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.50 (dd, J = 4.4, 1.6 Hz, 1H), 8.07 (s, 1H), 8.02 (dd, J = 9.2, 1.7 Hz, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.81 (d, J = 4.5 Hz, 2H), 7.73 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.41 (s, 1H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 9.2, 4.4 Hz, 1H), 3.62 (s, 2H), 2.76 (s, 3H), 2.64 (s, 8H), 2.41 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 533.3 $[M + H]^+$.

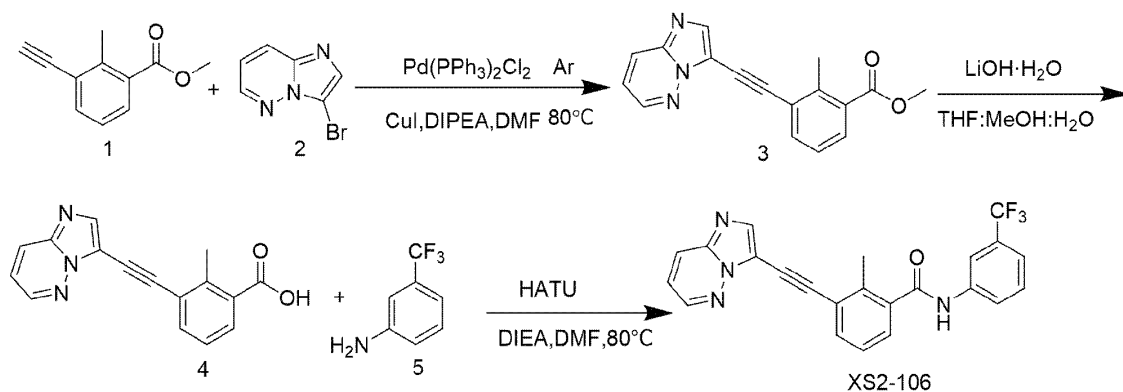
实施例 2: 3-(咪唑并[1,2-a]嘧啶-3-基乙炔基)-2-甲基-N-(3-(4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺(命名为 XS2-161)的制备



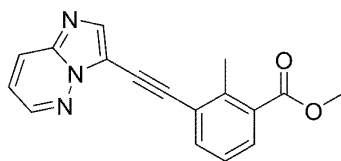
合成方法如实施例 1。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 9.06 (s, 1H), 8.64 (dd, *J* = 4.1, 2.0 Hz, 1H), 8.60 (dd, *J* = 6.8, 2.0 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.58 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J* = 6.8, 4.1 Hz, 1H), 3.70 (s, 2H), 3.11 (q, *J* = 7.3 Hz, 4H), 2.91 (d, *J* = 5.0 Hz, 4H), 2.73 (s, 3H), 2.61 (s, 3H). LC-MS (ESI) *m/z* 533.2[M + H]⁺.

实施例 3: 3-(咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基乙炔基)-2-甲基-N-(3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺(命名为 XS2-106)的制备



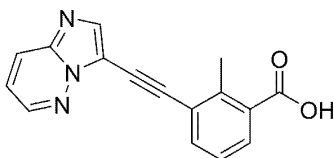
步骤 1: 3-(咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基乙炔基)-2-甲基苯甲酸甲酯(化合物 3)的制备



将化合物 1 2.5g (14mmol) 和化合物 2 3.4g (17mmol) 溶于 40mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 然后加入碘化亚铜 533mg (2.8mmol), 二(三苯基膦)二氯化钯 982mg (1.4mmol), N,N-二异丙基乙胺 3.6g (28mmol), 置换氩气, 封闭反应体系。80°C 加热搅拌, 过夜反应。用硅藻土过滤, 旋干滤液, 柱层析得到黄色粉末状固体 1.38g (收率 34%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.74 (d, *J* = 4.3 Hz, 1H), 8.27 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.83 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.44 – 7.41 (m, 1H), 7.39 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 3.85 (s, 3H), 2.76 (s, 3H). LC-MS (ESI) *m/z* 292.3[M + H]⁺.

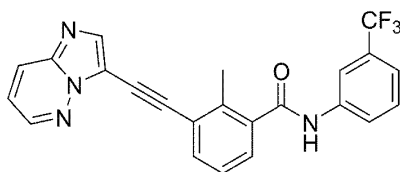
步骤 2: 3-(咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基乙炔基)-2-甲基苯甲酸 (化合物 4)



将化合物 3 1.38g (4.7mmol) 溶于体积比为 10: 1: 5 的四氢呋喃、甲醇和水的混合溶剂中, 然后加入氢氧化锂的水合物 995mg (24mmol), 60℃ 搅拌 1 小时。过滤, 旋干反应体系, 5 然后加入 4M 盐酸溶液直至体系呈酸性, 此时有固体析出, 过滤收集固体, 干燥, 得到黄色固体 1.05g (收率 81%)。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 13.14 (s, 1H), 8.72 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 8.32 – 8.19 (m, 2H), 7.83 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.44 – 7.34 (m, 2H), 2.76 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 276.8[M - H] $^-$.

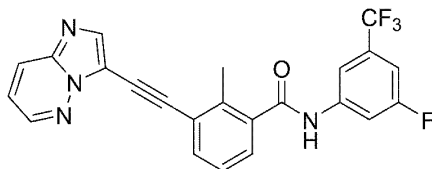
10 步骤 3: 3-(咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基乙炔基)-2-甲基-N-(3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (XS2-106)



将化合物 4 100mg (0.36mmol), 化合物 5 48mg (0.3mmol) 溶于 10mL 的 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU) 137mg (0.36mmol), N,N-二异丙基乙胺 77mg (0.6mmol)。80 摄氏度加热搅拌, 过夜反应。旋干反应体系, 柱层析得到黄白色固体 51mg (收率 40%)。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.51 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 8.03 (dd, J = 23.3, 14.3 Hz, 3H), 7.89 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 7.50 (ddd, J = 24.8, 16.6, 7.8 Hz, 3H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.17 (dd, J = 9.1, 4.4 Hz, 1H), 2.76 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 419.2[M - H] $^-$.

20 实施例 4: N-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基)-3-(咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS2-109) 的制备

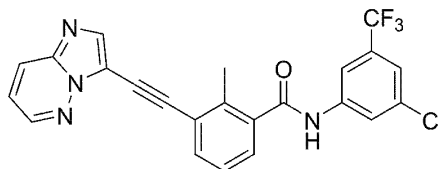


合成方法如实施例 3。

25 ^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.53 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 8.08 (s, 2H), 7.91 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.74 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.50 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.33 (t, J = 7.7

Hz, 1H), 7.19 (s, 1H), 7.16 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 2.75 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 437.6[M - H]⁻.

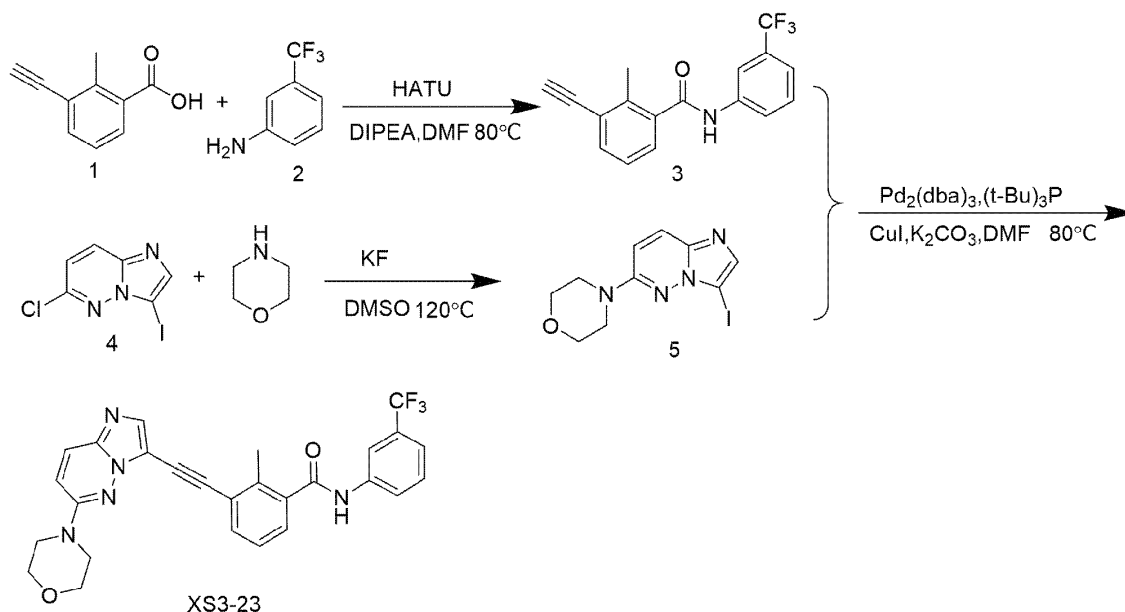
实施例 5: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-(咪唑并[1,2-b]吡啶-3-基乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS2-112) 的制备



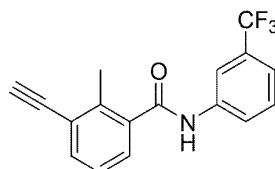
5 合成方法如实施例 3。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.50 (dd, J = 4.4, 1.5 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 4.2 Hz, 2H), 8.01 (dd, J = 9.2, 1.6 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.74 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 9.2, 4.4 Hz, 1H), 2.75 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 455.5[M + H]⁺.

10 **实施例 6:** 2-甲基-3-(6-吗啉代咪唑并[1,2-b]吡啶-3-基)乙炔基)-N-(3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-23) 的制备



步骤 1: 3-乙炔基-2-甲基-N-(3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (化合物 3) 制备的



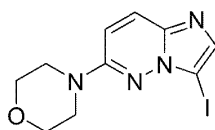
15

将化合物 1 120mg (0.74mmol), 化合物 2 101mg (0.62mmol) 溶于 15mL 的 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (HATU)

353mg (0.93mmol), N,N-二异丙基乙胺 160mg (1.24mmol)。80℃加热搅拌 2 小时。旋干反应体系,加水,用乙酸乙酯萃取,水洗,无水硫酸钠干燥,旋干溶剂,柱层析得到黄色油状物 150mg (收率 80%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.75 (s, 1H), 8.26 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.95 – 7.90 (m, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 2H), 7.53 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 1H), 7.35 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 4.52 (s, 1H), 2.47 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 304.1 [M + H]⁺.

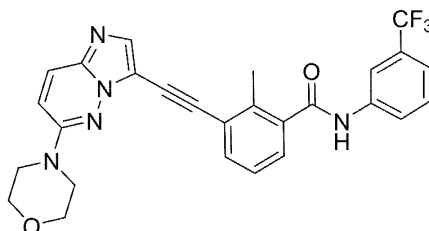
步骤 2: 4-(3-碘咪唑并[1,2-b]哒嗪-6-基)吗啉 (化合物 5) 的制备



将化合物 4 300mg (1.07mmol) 溶于 15mL 的二甲基亚砜(DMSO)中,加入吗啉 280mg (3.22mmol), 氟化钾 744mg (12.84mmol)。120℃加热搅拌 3 小时。过滤,旋干反应体系,柱层析得到黄色粉末状固体 260mg (收率 74%)。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.70 (d, J = 9.8 Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.82 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 3.89 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 3.57 (t, J = 4.9 Hz, 4H). LC-MS (ESI) m/z 331.0 [M + H]⁺.

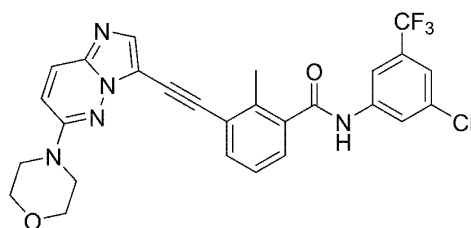
步骤 3: 2-甲基-3-(6-吗啉代咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-N-(3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (XS3-23) 的制备



将化合物 3 138mg (0.45mmol) 和化合物 5 300mg (0.91mmol) 溶于 10mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,然后加入碘化亚铜 7mg (0.036mmol), 三二亚苄基丙酮二钯 21mg (0.023mmol), 三叔丁基磷 9mg (0.045mmol), 碳酸钾 124mg (0.9mmol), 置换氩气,封闭反应体系。80℃加热搅拌,过夜反应。用硅藻土过滤,旋干滤液,柱层析得到黄白色固体 120mg (收率 52%)。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.06 – 7.98 (m, 2H), 7.91 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.87 – 7.74 (m, 2H), 7.64 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.54 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 3.87 (t, J = 4.7 Hz, 4H), 3.57 (t, J = 4.8 Hz, 4H), 2.73 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 504.2 [M - H]⁻.

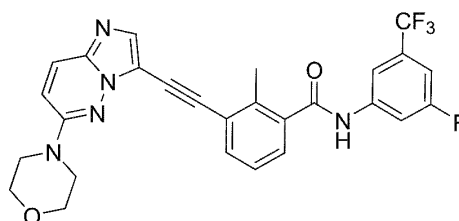
实施例 7: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-(6-吗啉代咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-61) 的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.92 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H), 7.98 (d, $J = 10.0$ Hz, 2H), 7.70 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.56 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 3.74 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.53 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.63 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 539.8 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

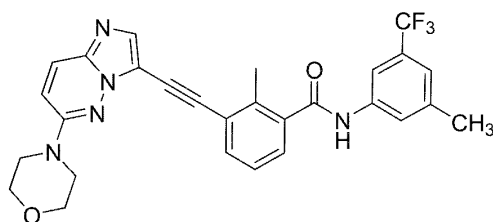
实施例 8: N-(3-氟-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-((6-甲基咪唑吡嗪-3-基)苯甲酰胺(命名为 XS4-80)的制备



合成方法如实施例 6。

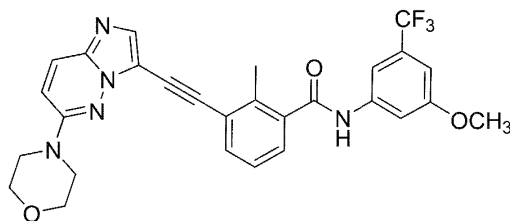
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.94 (s, 1H), 8.02 – 7.96 (m, 2H), 7.96 – 7.89 (m, 2H), 7.70 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.42 (dd, $J = 8.9, 6.3$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.74 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.53 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.63 (s, 3H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{F}_4\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 524.1704, found 524.1686.

实施例 9: 2-甲基-N-(3-甲基-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-甲基-1,2-吡嗪-3-基)苯甲酰胺(命名为 XS4-81)的制备



合成方法如实施例 6。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.68 (s, 1H), 8.05 – 7.90 (m, 3H), 7.80 (s, 1H), 7.68 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.52 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.34 – 7.28 (m, 2H), 3.74 (dd, $J = 5.8, 3.9$ Hz, 4H), 3.53 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 2.62 (s, 3H), 2.40 (s, 3H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 520.1955, found 520.1939.

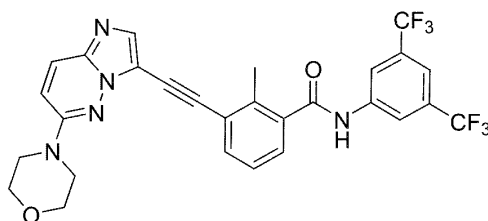
实施例 10: N-(3-甲氧基-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-((6-甲基咪唑吡嗪-3-基-3-基)苯甲酰胺(命名为 XS4-72)的制备



合成方法如实施例 6。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.72 (s, 1H), 7.97 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.68 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.41 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.31 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 7.01 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.74 (dd, *J* = 5.8, 3.8 Hz, 4H), 3.53 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.62 (s, 3H). HRMS (ESI) for C₂₇H₂₁ClF₃N₅O₂ [M + H]⁺: calcd 536.1904, found 536.1919.

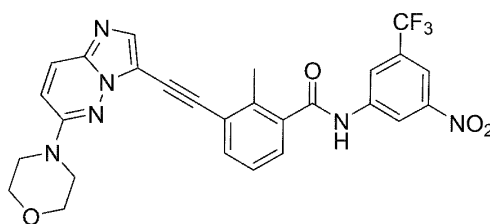
实施例 11: N-(3,5-双(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-((6-甲基咪唑吡嗪-3-基-3-基)苯甲酰胺(命名为 XS4-76)的制备



合成方法如实施例 6。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.07 (s, 1H), 8.44 (s, 2H), 7.98 (d, *J* = 10.0 Hz, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.71 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.59 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H), 7.43 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.32 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 3.74 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 3.53 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.64 (s, 3H). HRMS (ESI) for C₂₈H₂₁F₆N₅O₂ [M + H]⁺: calcd 574.1672, found 574.1676.

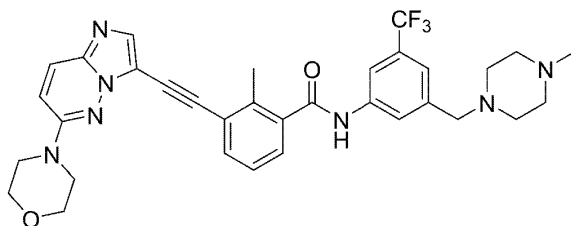
实施例 12: 2-甲基-3-((6-甲基咪唑吡嗪-3-基)乙炔基)-N-(3-硝基-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺(命名为 XS4-77)的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.20 (s, 1H), 8.95 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.72 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.44 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.31 (dd, $J = 10.1, 1.6$ Hz, 1H), 3.74 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.53 (t, $J = 4.9$ Hz, 4H), 2.65 (s, 3H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{27}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 551.1649, found 551.1667.

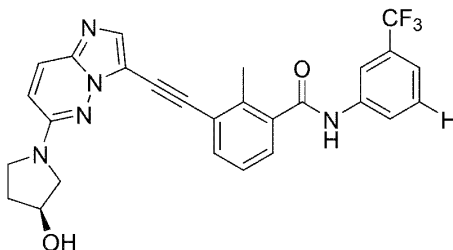
实施例 13: 2-甲基-N-(3-(4-甲基咪唑-1-基)甲基)-5-(三氟甲基)苯基)-3-(6-吗啉代咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-68) 的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.22 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.45 – 7.40 (m, 2H), 7.26 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 3.88 – 3.84 (m, 4H), 3.59 (s, 2H), 3.57 – 3.53 (m, 4H), 2.71 (s, 3H), 2.52 (s, 8H), 2.32 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 618.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

实施例 14: (S)-3-(6-(3-羟基吡咯烷-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基-N-(3-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-35) 的制备



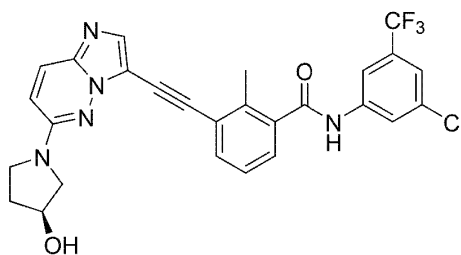
合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.16 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.65 – 7.57 (m, 2H), 7.54 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.24 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 5.03 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 4.42 (s, 1H), 3.62 – 3.50 (m, 3H), 3.40 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.10 – 1.98 (m, 1H), 1.92 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H).

LC-MS (ESI) m/z 504.2 $[\text{M} - \text{H}]^-$.

实施例 15: (S)-N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-(6-(3-羟基吡咯烷-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-58) 的制备

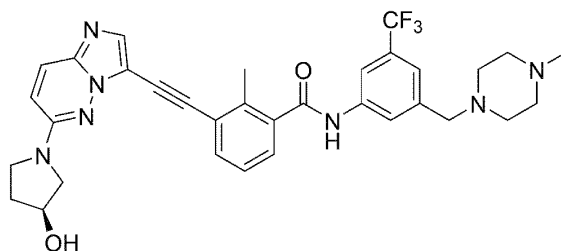
19



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.27 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.64 – 7.59 (m, 2H), 7.44 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.39 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.25 (t, J = 7.7 Hz, 1H),
 5 6.60 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.66 (s, 1H), 3.70 – 3.54 (m, 5H), 2.71 (s, 3H), 2.16 (dd, J = 7.9, 3.9 Hz, 2H). LC-MS (ESI) m/z 540.0 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

实施例 16: (S) -3- ((6- (3-羟基吡咯烷-1-基) 咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基) 乙炔基) -2-甲基-N- (3- ((4-甲基哌嗪 -1-基) 甲基) -5- (三氟甲基) 苯基) 苯甲酰胺 (命名为 XS3-36) 的制备

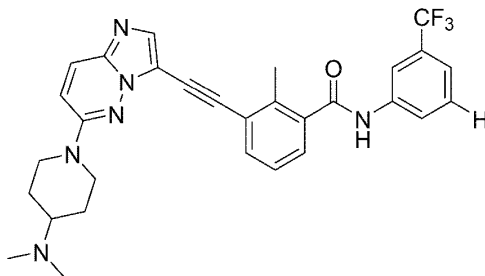


10

合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.18 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.63 – 7.58 (m, 2H), 7.41 (d, J = 5.1 Hz, 2H), 7.25 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 9.7 Hz, 1H), 4.64 (dd, J = 4.3, 2.2 Hz, 1H), 3.68 – 3.56 (m, 7H), 2.74 (s, 3H), 2.51 (s, 8H), 2.31 (s, 3H), 2.17 – 2.09 (m,
 15 2H). LC-MS (ESI) m/z 618.3 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

实施例 17: 3- ((6- (4- (二甲氨基基) 哌啶-1-基) 咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基) 乙炔基) -2-甲基-N- (3- (三氟甲基) 苯基) 苯甲酰胺 (命名为 XS3-57) 的制备

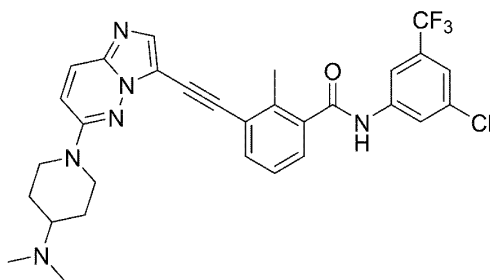


合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.78 (s, 1H), 8.27 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.68 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.61 (t, J = 8.1 Hz, 1H),
 20

7.55 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.30 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H), 2.97 (t, $J = 12.0$ Hz, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.34 (s, 6H), 1.90 (d, $J = 12.1$ Hz, 2H), 1.57 – 1.41 (m, 3H). LC-MS (ESI) m/z 547.2 $[M + H]^+$.

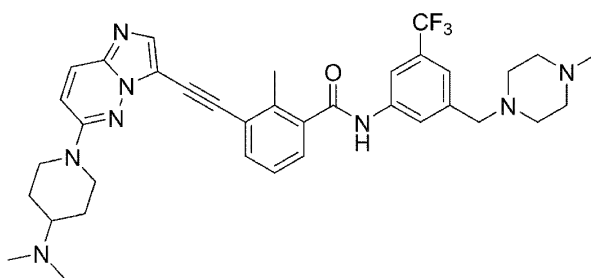
5 实施例 18: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-(6-(4-(二甲基氨基)吡啶-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-56) 的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.30 (s, 1H), 8.09 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.66 – 7.60 (m, 2H), 7.44 (s, 1H), 7.40 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.28 – 7.23 (m, 1H), 6.90 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J = 12.9$ Hz, 2H), 2.98 (t, $J = 12.8$ Hz, 2H), 2.72 (s, 3H), 2.41 (t, $J = 11.2$ Hz, 1H), 2.33 (s, 6H), 2.01 – 1.93 (m, 2H), 1.66 – 1.54 (m, 2H). LC-MS (ESI) m/z 579.3 $[M - H]^-$.

15 实施例 19: 3-(6-(4-(二甲基氨基)吡啶-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基-N-(3-(4-甲基吡嗪-1-基)甲基)-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-67) 的制备

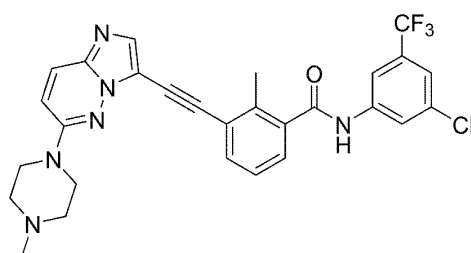


合成方法如实施例 6。

20 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.75 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.92 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H), 7.89 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.32 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J = 13.0$ Hz, 2H), 3.54 (s, 2H), 2.96 (t, $J = 12.1$ Hz, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.45 – 2.29 (m, 8H), 2.18 (s, 6H), 2.16 (s, 3H), 2.00 (q, $J = 7.5$ Hz, 1H), 1.83 (d, $J = 11.5$ Hz, 2H), 1.44 (q, $J = 10.5, 9.3$ Hz, 2H). LC-MS (ESI) m/z 658.3 $[M + H]^+$.

实施例 20: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-(6-(4-甲基吡嗪-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-51) 的制备

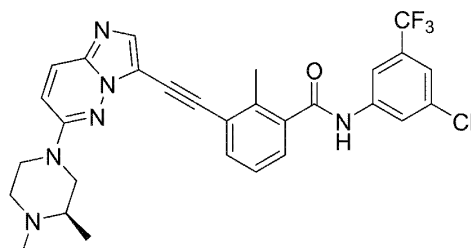
21



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.08 (s, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.83 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 7.78 – 7.72 (m, 1H), 7.66 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.32 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 3.80 (s, 4H), 3.13 (s, 3H), 2.74 (s, 3H), 2.53 (d, J = 21.6 Hz, 4H). LC-MS (ESI) m/z 553.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

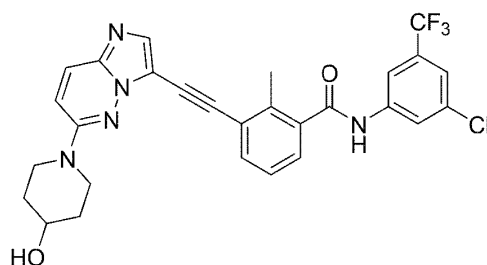
实施例 21: (R) -N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-(3,4-二甲基咪唑-1-基)咪唑并[1,2-b]吡啶-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-52) 的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.93 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 8.06 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.71 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.58 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.44 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.39 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 3.13—3.06 (m, 4H), 2.91 (s, 2H), 2.75 (m, 1H), 2.65 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 1.24 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 567.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

实施例 22: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-(4-羟基吡啶-1-基)咪唑并[1,2-b]咪唑-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-55) 的制备

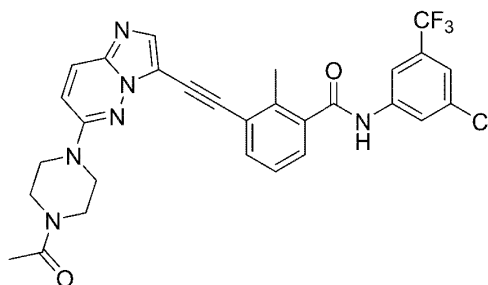


合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.93 (s, 1H), 8.14 (d, J = 1.8 Hz, 2H), 7.94 – 7.88 (m, 2H), 7.69 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.56 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.71 (d, J = 4.2 Hz, 1H), 4.00 – 3.93 (m, 2H), 3.74 (m, 1H), 3.25 (t, J = 13.1 Hz, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.82 (d, J = 12.8 Hz, 2H), 1.49 –

1.40 (m, 2H). LC-MS (ESI) m/z 552.1 $[M-H]^-$.

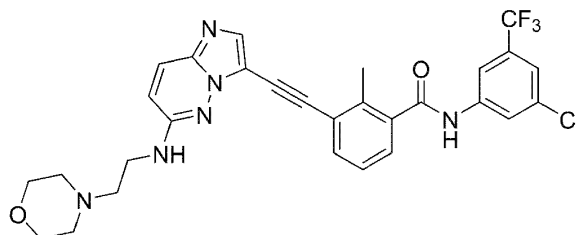
实施例 23: 3-((6-(4-乙酰基咪唑-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-54) 的制备



5 合成方法如实施例 6。

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 10.93 (s, 1H), 8.14 (d, J = 1.7 Hz, 2H), 7.98 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.71 (dd, J = 7.7, 1.3 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 7.57 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.43 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.66 – 3.53 (m, 8H), 2.65 (s, 3H), 2.04 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 581.5 $[M+H]^+$.

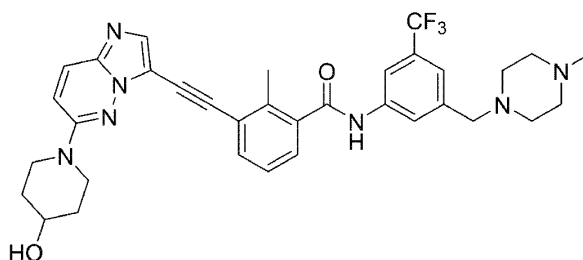
10 **实施例 24:** N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-((6-(2-吗啉代乙基)氨基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-53) 的制备



合成方法如实施例 6。

15 1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.28 (s, 1H), 8.08 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.66 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.47 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.34 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 6.73 (s, 2H), 4.01 (s, 4H), 3.78 (s, 2H), 3.19 (s, 2H), 3.05 (s, 4H), 2.71 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 583.2 $[M+H]^+$

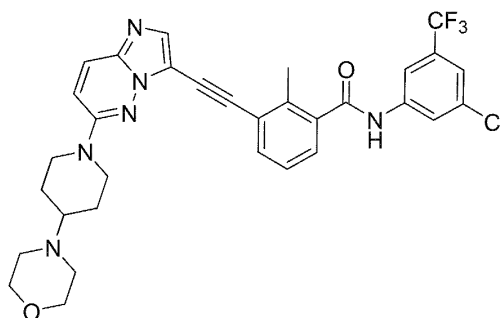
实施例 25: 3-((6-(4-羟基哌啶-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基-N-(3-((4-甲基咪唑-1-基)甲基)-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-81) 的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.36 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.59 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 1H), 7.43 – 7.38 (m, 2H), 7.24 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.0 – 3.91 (m, 3H), 3.59 (s, 2H), 3.28 (t, $J = 13.1$ Hz, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.51 (s, 8H), 2.31 (s, 3H), 1.99 – 1.95 (m, 2H), 1.69 – 1.61 (m, 2H). LC-MS (ESI) m/z 632.3 [M + H] $^+$.

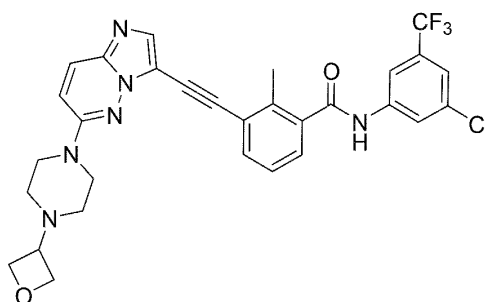
实施例 26: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-((6-(4-吗啉哌啶-1-基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-130) 的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.93 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 7.92 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.33 (d, $J = 9.8$ Hz, 1H), 4.26 (d, $J = 13.0$ Hz, 2H), 3.54 (s, 4H), 2.97 (t, $J = 12.3$ Hz, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.45 (s, 5H), 1.86 (d, $J = 12.8$ Hz, 2H), 1.45 (d, $J = 12.2$ Hz, 2H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}_2$ [M + H] $^+$: calcd 623.2144, found 623.2126.

实施例 27: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基-3-((6-(4-(氧杂环丁基-3-基)哌啶-1-基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)苯甲酰胺 (命名为 XS3-138) 的制备

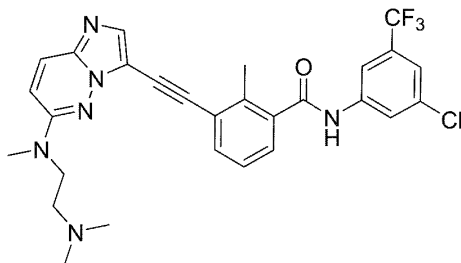


合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.92 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 7.98 – 7.87 (m, 2H), 7.69 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 4.55 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 4.47 (t, $J = 6.1$ Hz, 2H), 3.60 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H), 3.45 (m, 1H), 2.63 (s, 3H), 2.40 (t, $J = 5.0$ Hz, 4H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}_2$ [M + H] $^+$: calcd 595.1831, found

595.1811.

实施例 28: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-((2-(二甲氨基)乙基)(甲基)氨基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺(命名为 XS3-134)的制备

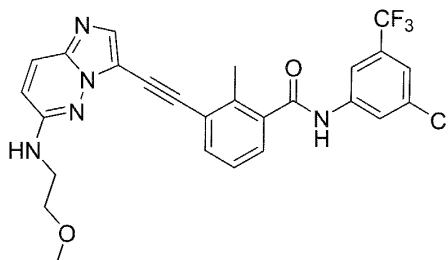


5 合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.92 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H), 7.90 – 7.82 (m, 2H), 7.68 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 7.8, 1.3$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 3.64 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.09 (s, 3H), 2.63 (s, 3H), 2.45 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.16 (s, 6H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 555.1881, found 555.1862.

10

实施例 29: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-((2-甲氧基乙基)氨基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺(命名为 XS3-135)的制备



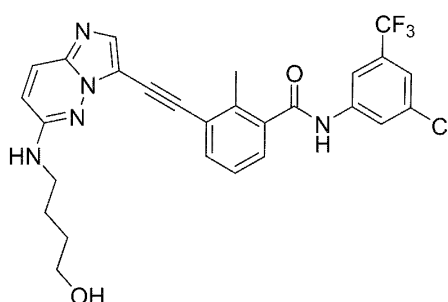
合成方法如实施例 6。

15 ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.93 (s, 1H), 8.14 – 8.09 (m, 2H), 7.81 – 7.73 (m, 2H), 7.67 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.54 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.27 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 3.54 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.47 – 3.45 (m, 2H), 3.26 (s, 3H), 2.63 (s, 3H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 528.1409, found 528.1394.

20

实施例 30: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-((4-羟基丁基)氨基)咪唑并[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺(命名为 XS3-139)的制备

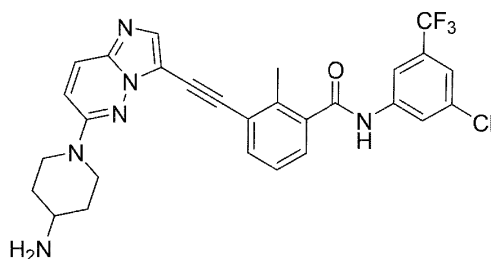
25



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.92 (s, 1H), 8.12 (s, 2H), 7.76 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 7.68 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.55 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.16 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 4.38 (t, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.43 – 3.37 (m, 2H), 3.30 – 3.25 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.70 – 1.59 (m, 2H), 1.53 – 1.46 (m, 2H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 542.1565, found 542.1552.

实施例 31: 3-((6-(4-氨基吡啶-1-基)咪唑[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-131) 的制备



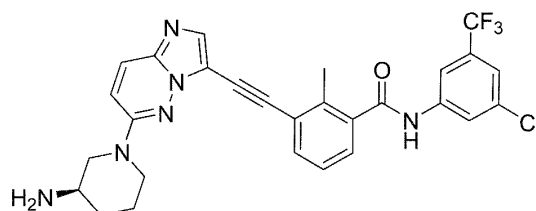
10

合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.96 (s, 1H), 8.15 (s, 2H), 7.96 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.70 (dd, $J = 7.8, 1.3$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 1H), 7.43 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 10.0$ Hz, 1H), 4.23 (d, $J = 13.4$ Hz, 2H), 3.17 (s, 2H), 3.12 – 3.02 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 2.63 (m, 1H), 1.89 (d, $J = 11.2$ Hz, 2H), 1.48 (q, $J = 11.7, 10.8$ Hz, 2H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 553.1725, found 553.1708.

15

实施例 32: (R)-3-((6-(3-氨基吡啶-1-基)咪唑[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基苯甲酰胺 (命名为 XS3-137) 的制备

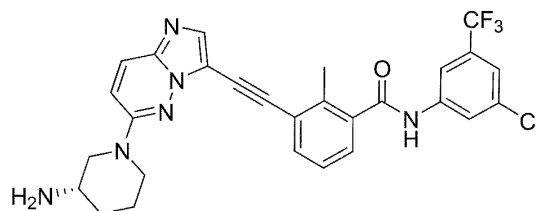


20

合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.93 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 7.92 – 7.85 (m, 2H), 7.69 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.55 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.04 (dd, J = 10.6, 6.5 Hz, 2H), 2.98 (m, 1H), 2.78 – 2.69 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.86 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.61 – 1.43 (m, 2H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 553.1725, found 553.1706.

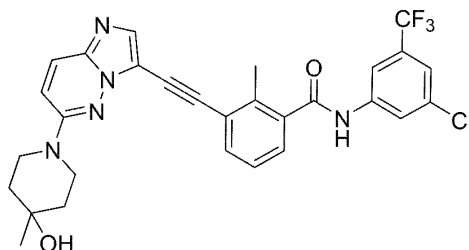
实施例 33: (S) -3-((6-(3-氨基吡啶-1-基)咪唑[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-2-甲基苯甲酰胺(命名为 XS3-136)的制备



合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.93 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 7.95 – 7.84 (m, 2H), 7.69 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.55 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.04 (dd, J = 11.5, 5.9 Hz, 2H), 3.04 – 2.93 (m, 2H), 2.80 – 2.70 (m, 2H), 2.65 (s, 3H), 1.86 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.53 (q, J = 11.8 Hz, 1H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 553.1725, found 553.1703.

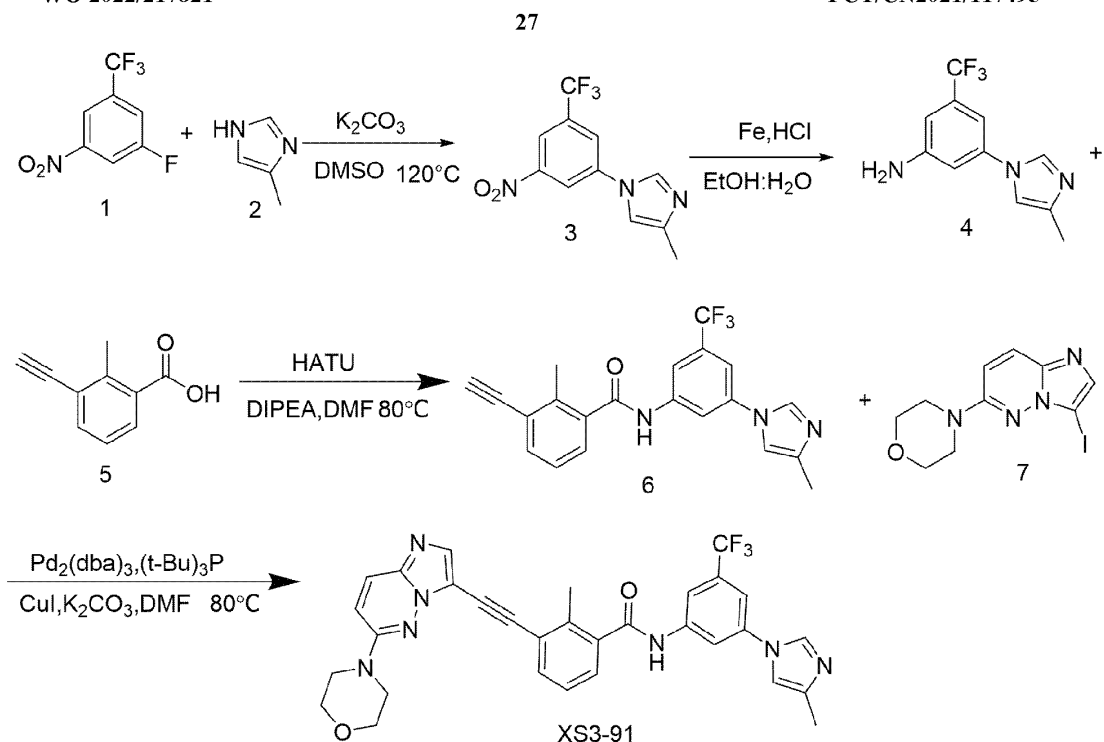
实施例 34: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-(4-羟基-4-甲基吡啶-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基苯甲酰胺(命名为 XS3-153)的制备



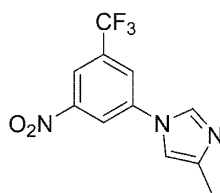
合成方法如实施例 6。

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.93 (s, 1H), 8.13 (t, J = 2.1 Hz, 2H), 7.90 (d, J = 10.2 Hz, 2H), 7.69 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.42 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 4.39 (s, 1H), 3.92 – 3.83 (m, 2H), 3.44 – 3.37 (m, 2H), 2.64 (s, 3H), 1.55 (t, J = 5.6 Hz, 4H), 1.15 (s, 3H). HRMS (ESI) for $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: calcd 568.1722, found 568.1699.

实施例 35: 2-甲基-N-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-咪唑并[1,2-b]吡啶并-3-基)乙炔基)苯甲酰胺(命名为 XS3-91)的制备



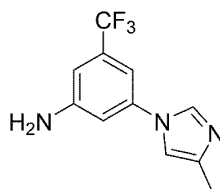
步骤 1: 4-甲基-1-(3-硝基-5-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑 (化合物 3) 的制备



5 将化合物 1 1g (4.5mmol), 化合物 2 800mg (9.5mmol) 溶于 20mL 二甲基亚砜 (DMSO) 中, 然后加入 850mg (7mmol) 碳酸钾。120℃加热搅拌, 过夜反应。旋干反应体系, 柱层析得到黄白色固体 430mg (收率 36%)。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.46 (q, J = 1.9 Hz, 2H), 8.02 – 7.97 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 2.36 (d, J = 1.0 Hz, 3H). LC-MS (ESI) *m/z* 272.1[M + H]⁺.

步骤 2: 3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯胺 (化合物 4) 的制备

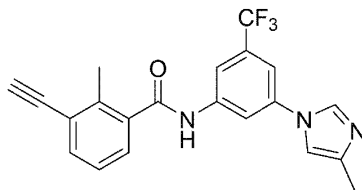


10

将化合物 3 430mg (1.59mmol) 溶于乙醇: 水为 7:3 的混合溶剂中, 加入盐酸溶液使得反应体系称弱酸性, 然后加入 444mg (7.93mmol) 铁粉。70℃加热搅拌 2 小时。硅藻土过滤, 旋干反应体系, 粗产品直接用于下一步反应。

步骤 3: 3-乙炔基-2-甲基-N-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺

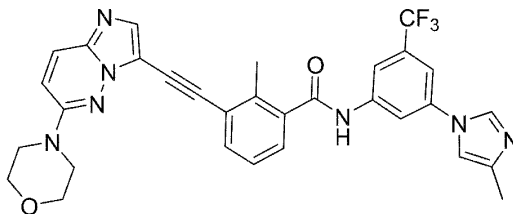
胺(化合物6)的制备



将化合物4 270mg (1.12mmol), 化合物5 215mg (1.3mmol)溶于15mL的N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 然后加入638mg (1.68mmol) 2-(7-氯杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU), 216mg (1.68mmol) N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)。80℃加热搅拌, 过夜反应。旋干反应体系, 加水, 用乙酸乙酯萃取, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干溶剂, 柱层析得到黄色油状物220mg (收率51%)。

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 9.41 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.55 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.19 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 3.34 (s, 1H), 2.58 (s, 3H), 2.25 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 384.1[M+H]⁺.

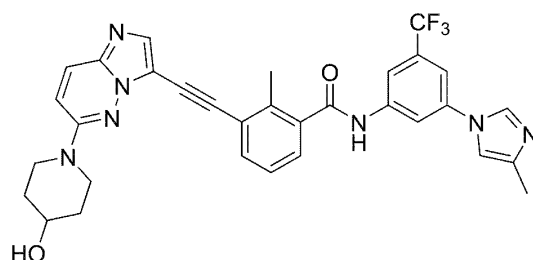
步骤4: 2-甲基-N-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-吗啉代咪唑并[1,2-b]吡啶-3-基)乙炔基)苯甲酰胺(命名为XS3-91)的制备



将化合物6 150mg (0.39mmol) 和化合物7 130mg (0.47mmol)溶于10mL无水N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 然后加入碘化亚铜6mg (0.03mmol), 三二亚苄基丙酮二钯17mg (0.019mmol), 三叔丁基磷8mg (0.039mmol), 碳酸钾107mg (0.78mmol), 置换氩气, 封闭反应体系。80℃加热搅拌, 过夜反应。用硅藻土过滤, 旋干滤液, 柱层析得到黄白色固体40mg (收率18%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.92 (s, 1H), 8.20 (d, J = 1.6 Hz, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.98 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.72 – 7.69 (m, 1H), 7.57 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.44 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 3.77 – 3.72 (m, 4H), 3.54 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 2.65 (s, 3H), 2.19 (d, J = 1.0 Hz, 3H). LC-MS (ESI) m/z 586.6[M+H]⁺.

实施例36: 3-((6-(4-羟基吡啶-1-基)咪唑并[1,2-b]吡嗪-3-基)乙炔基)-2-甲基-N-(3-(4-甲基-1H-咪唑-1-基)-5-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺(命名为XS3-87)的制备



合成方法如实施例 35。

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.25 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.75 – 7.70 (m, 2H), 7.68 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.47 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.33 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.93 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 4.05 – 3.97 (m, 3H), 3.37 – 3.29 (m, 2H), 2.78 (s, 3H), 2.33 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H), 2.03 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H), 1.69 (d, *J* = 9.5 Hz, 3H). LC-MS (ESI) *m/z* 600.0[M + H] $^+$.

实施例 37 化合物对 TRKs 激酶的 IC₅₀ 测试

激酶活性检测：应用 Z'-LYTE™ 技术（采用荧光进行检测、酶偶联形式，以磷酸化和非磷酸化多肽对蛋白水解切割的敏感性差异为基础），采用荧光共振能量转移(FRET)原理，使用 Z'-LYTE™ FRET 肽类底物，二级反应检测化合物对 TRKs (TRK1, TRK2, TRK3) 激酶（美国生命技术公司, PV3144, PV3616, PV3617）的抑制活性。

酶促反应：384 孔板中，加入 5 μL 酶-底物体系 [50 mM 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES) pH 7.5, 0.01% BRIJ-35, 10 mM 氯化镁 (MgCl_2), 1 mM 乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸 (EGTA), 2 μM Tyr 01 肽底物，利用 echo520 超微量液体移液系统转入 5 nL 化合物（浓度梯度），室温震荡 10-20min 后，利用 echo520 超微量液体移液系统分别转入 200nL, 12.5nL, 25nL ATP（终浓度分别为 400uM, 25uM, 50uM），震荡混匀后离心，30°C 避光反应 1.5h。

检测反应：每孔加入 2.5 μL 反应液（Development Solution）（1:128 稀释）37°C 避光孵育 1h，然后加入 5 μL 终止液（Stop Reagent）。

读板：多标记微孔板检测仪（Perkin Elmer EnVision Multimode Plate Reader）检测荧光信号（激发光波长为 400 nm，发射光波长为 460 nm、535 nm）。

计算：通过全活性孔和对照信号孔计算出每个孔的抑制率，数据分析方法如下：

磷酸化比率 = $1 - \{ (\text{发射比} \times \text{F100\%} - \text{C100\%}) / [\text{C0\%} - \text{C100\%} + \text{发射比} \times (\text{F100\%} - \text{F0\%})] \} \times 100$;

抑制率 = $100 \times (1 - \text{化合物磷酸化比率} / \text{阴性对照磷酸化比率})$ 。

IC₅₀ 值采用医学绘图软件（GraphPad Prism5.0）软件计算求得。

激酶活性测试结果如表 1 所示。

表 1 化合物激酶活性测试结果 (IC₅₀:nM)

化合物编号	TRKA	TRKB	TRKC
XS116	**	**	**
XS2-161	***	*****	***
XS2-106	***	*****	
XS2-109	***	*****	***
XS2-112	***	***	***
XS3-23	**	**	**
XS3-61	**	**	**
XS4-80	**		**
XS4-81	**		**
XS4-72	**	**	**
XS4-76	**	**	**
XS4-77	**	**	**
XS3-68	*	*	*
XS3-35	*	**	*
XS3-58	**	**	**
XS3-36	**	**	*
XS3-57	*	*	*
XS3-56	**	**	**
XS3-67	*	**	*
XS3-51	**	**	*
XS3-52	**	**	**
XS3-55	*	**	**
XS3-54	*	**	*
XS3-53	*	**	*
XS3-81	*	*	*
XS3-130	**	**	*
XS3-138	**	*	*
XS3-134	**	**	**

XS3-135	**	**	**
XS3-139	**	**	**
XS3-131	**	**	**
XS3-137	**	**	**
XS3-136	**	**	**
XS3-153	**	**	**
XS3-91	*	*	*
XS3-87	*	*	*

IC₅₀: <10nM=*; 10-100nM=**; 100-1000nM=***; >1uM=****。

从表 1 数据可以看出，本发明的炔苯基苯酰胺类化合物对 TRKs 激酶有很强的抑制活性。

实施例 38：基于 Ba/F3-TRKs 稳定株的细胞增殖抑制活性研究

本实验使用的 BaF3 细胞（小鼠前 B 细胞）购自日本细胞库，BaF3-CD74-NTRK1、
5 BaF3-ETV6-NTRK2、BaF3-ETV6-NTRK3 单克隆稳定株均由本实验室构建，并通过阳性药活
性、蛋白表达及基因测序等实验鉴定完全正确。

稳定株构建的简要步骤如下：构建携带 CD74-NTRK1、ETV6-NTRK2、ETV6-NTRK3 等
基因的 pCDNA3.1(+)质粒载体；使用 Amaxa® Cell Line Nucleofector® Kit V 试剂盒将质粒电
转入 Ba/F3 细胞；电转 48 小时后，加入终浓度为 1000μg/ml 的 遗传霉素（G418）筛选两周
10 并撤去白介素 3（IL3）继续筛选，获得多克隆稳定株；然后通过极限稀释法挑选单克隆；进
而使用阳性药、蛋白免疫印迹（Western Blot，WB）、基因测序对稳定株进行鉴定；鉴定完
全正确的单克隆即可用于抑制剂的细胞增殖抑制活性研究。

细胞增殖抑制活性研究：将对数生长期的细胞按 8000-12000 个/孔接种到 96 孔板，次日
加入不同浓度的抑制剂(0-10μM)，继续培养 72 小时；然后每孔加入 10μL Cell Counting Kit-8
15 细胞计数试剂(CCK-8 试剂),继续孵育 1-3 小时;接着用超级酶标仪测定其在 450nm 及 650nm
的吸光值。使用医学绘图软件（GraphPad Prism 8.0.0）计算半数抑制浓度（IC₅₀）。

测试结果如表 2 所示。

表 2 化合物细胞活性测试结果（IC₅₀:nM）

化合物编号	CD74-NTRK1	ETV6-NT RK2	ETV6-NTR K3
XS116	***	***	***
XS2-161	****	****	****

XS2-106	***	***	
XS2-112	***	***	***
XS3-23	**	**	**
XS3-61	**		**
XS4-80	**	**	**
XS4-81	**	**	*
XS4-72	**	**	*
XS4-76	**	**	**
XS4-77	**	**	*
XS3-68	*	**	*
XS3-35	**	***	**
XS3-58	***	***	**
XS3-36	**	**	**
XS3-57	**	***	**
XS3-56	***	***	**
XS3-67	***	***	**
XS3-51	***	***	**
XS3-52	**	***	**
XS3-55	**	**	**
XS3-54	**	**	**
XS3-53	**	***	**
XS3-81	**	*	*
XS3-130	**	**	**
XS3-138	**	**	*
XS3-134	***	***	**
XS3-135	***	***	**
XS3-139	**	**	**
XS3-131	***	***	**
XS3-137	***	***	**
XS3-136	***	***	**

XS3-153	**	**	**
XS3-87	*	**	*
XS3-91	**	**	*

IC₅₀: <10nM=*; 10-100nM=**; 100-1000nM=***; >1uM=****。

从表 2 数据可以看出,本发明的炔苯基苯酰胺类化合物对 Ba/F3-TRKs 稳定株的细胞增殖有很强的抑制活性。

实施例 39: 基于 Ba/F3-TRKs 稳定株的耐药细胞增殖抑制活性研究

5 本实验使用的 BaF3 细胞(小鼠前 B 细胞)购自日本细胞库, BaF3-CD74-NTRK1-G667C、BaF3-CD74-NTRK1-F589L 、 BaF3-CD74-NTRK1-G595R 、 BaF3-CD74-NTRK1-G667A 、 BaF3-CD74-NTRK1-V573M 、 BaF3-ETV6-NTRK2-G639R 、 BaF3-ETV6-NTRK2-G709C 、 BaF3-ETV6-NTRK2-V617M 、 BaF3-ETV6-NTRK2-F633L 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G696C 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G696A 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G623R 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G623E 、
10 BaF3-ETV6-NTRK3-F617L、BaF3-ETV6-NTRK3-V601M 单克隆稳定株均由本实验室构建,并通过阳性药活性、蛋白表达及基因测序等实验鉴定完全正确。

稳定株构建的简要步骤如下: 构建携带 BaF3-CD74-NTRK1-G667C 、 BaF3-CD74-NTRK1-F589L 、 BaF3-CD74-NTRK1-G595R 、 BaF3-CD74-NTRK1-G667A 、 BaF3-CD74-NTRK1-V573M 、 BaF3-ETV6-NTRK2-G639R 、 BaF3-ETV6-NTRK2-G709C 、
15 BaF3-ETV6-NTRK2-V617M 、 BaF3-ETV6-NTRK2-F633L 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G696C 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G696A 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G623R 、 BaF3-ETV6-NTRK3-G623E 、 BaF3-ETV6-NTRK3-F617L、BaF3-ETV6-NTRK3-V601M 等基因的 pCDNA3.1(+)质粒载体;使用 Amaxa® Cell Line Nucleofector® Kit V 试剂盒将质粒电转入 Ba/F3 细胞;电转 48 小时后,加入终浓度为 1000μg/ml 的遗传霉素 (G418) 筛选两周并撤去白介素 3 (IL3) 继续筛选,
20 获得多克隆稳定株;然后通过极限稀释法挑选单克隆;进而使用阳性药、蛋白免疫印迹 (Western Blot , WB)、基因测序对稳定株进行鉴定;鉴定完全正确的单克隆即可用于抑制剂的细胞增殖抑制活性研究。

细胞增殖抑制活性研究: 将对数生长期的细胞按 8000-12000 个/孔接种到 96 孔板, 次日加入不同浓度的抑制剂(0-10μM), 继续培养 72 小时;然后每孔加入 10μL Cell Counting Kit-8
25 细胞计数试剂(CCK-8)试剂,继续孵育 1-3 小时;接着用超级酶标仪测定其在 450nm 及 650nm 的吸光值。使用医学绘图软件 (GraphPad Prism 8.0.0) 计算半数抑制浓度 (IC₅₀) 。

测试结果如表 3 所示。

表 3 化合物耐药细胞活性测试结果 (IC₅₀:nM)

化合物编号	XS3-55	XS3-68	XS3-81	XS3-87
BaF3-CD74-NTRK1-G667C	*	*	*	*
BaF3-CD74-NTRK1-G667A	*	*	*	*
BaF3-CD74-NTRK1-G595R	****	***	***	***
BaF3-CD74-NTRK1-F589L	***	***	***	**
BaF3-CD74-NTRK1-V573M	**	**	*	*
BaF3-ETV6-NTRK2-G639R	***	**	**	**
BaF3-ETV6-NTRK2-F633L	***	***	***	**
BaF3-ETV6-NTRK2-V617M	*	*	*	*
BaF3-ETV6-NTRK2-G709C	*	*	**	*
BaF3-ETV6-NTRK3-G696C	*	*	*	*
BaF3-ETV6-NTRK3-G696A	*	*	*	*
BaF3-ETV6-NTRK3-G623R	***	**	**	**
BaF3-ETV6-NTRK3-G623E	*	*	*	*
BaF3-ETV6-NTRK3-F617L	**	**	**	*
BaF3-ETV6-NTRK3-V601M	*	*	*	*

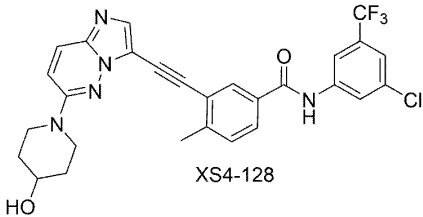
IC₅₀: <10nM=*; 10-100nM=**; 100-1000nM=***; >1uM=****。

从表 3 数据可以看出,本发明的炔苯基苯酰胺类化合物对 Ba/F3-TRKs 稳定株的耐药细胞增殖有很强的抑制活性。

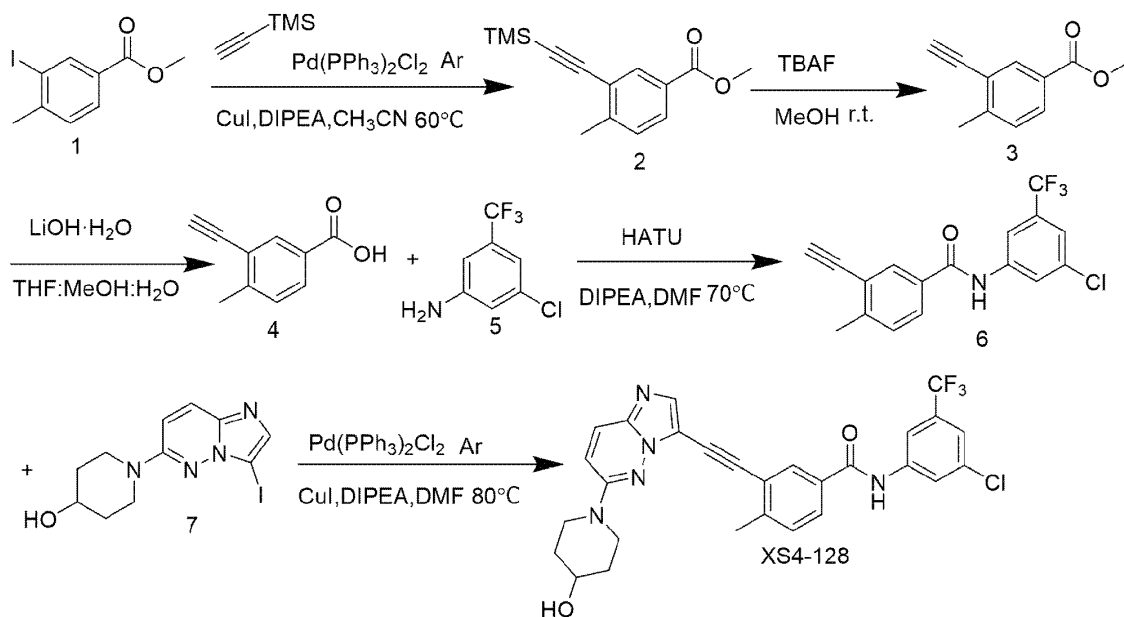
实施例 40 化合物 XS3-55 激酶选择性的 IC₅₀ 测试

5 激酶活性检测:应用 Z'-LYTE™技术(采用荧光进行检测、酶偶联形式,以磷酸化和非磷酸化多肽对蛋白水解切割的敏感性差异为基础),采用荧光共振能量转移(FRET)原理,使用 Z'-LYTE™ FRET 肽类底物,二级反应检测化合物 XS3-55 及对照分子 XS4-128 和 Ponatinib(帕纳替尼)对 Bcr-Abl, SRC, RET, , PDGFRA, PDGFRB, VEGFR2 和 Kit 激酶的抑制活性。

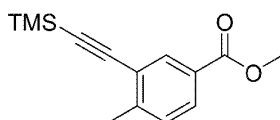
10 其中,化合 XS4-128 的结构式如下:



其制备方法如下:

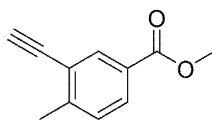


步骤 1: 甲基 4-甲基-3 - ((三甲基甲硅烷基)乙炔基)苯甲酸酯 (化合物 2) 的制备



- 5 100mL 三颈瓶中, 加入化合物 1 1g (3.6mmol), 碘化亚铜 69mg (0.36mmol), 二(三苯基膦)二氯化钯 127mg (0.18mmol), 无水乙腈 50mL, N,N-二异丙基乙胺 934mg (7.2mmol), 置换氩气, 封闭反应体系, 然后用注射器注入三甲基硅乙炔 1.06g (10.8mmol), 60°C 搅拌 6 小时。用硅藻土过滤反应液, 旋干溶剂得到黑色混合物, 直接用于下一步反应。

步骤 2: 甲基 3-乙炔基-4-甲基苯甲酸甲酯 (化合物 3) 的制备



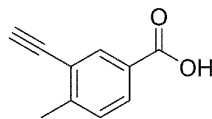
10

将上一步粗产品用甲醇溶解, 加入约 2mL 的 1mol/L 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液, 常温搅拌 2 小时。旋干反应体系, 柱层析得到黄棕色油状物 470mg (两步总产率 75%)。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.06 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 7.76 (dd, *J* = 7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.25 (dd, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.39 (s, 3H). LC-MS (ESI) *m/z* 175.5[M + H]⁺.

15

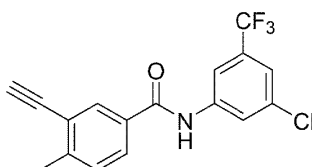
步骤 3: 3-乙炔基-4-甲基苯甲酸 (化合物 4) 的制备



将化合物 **3** 400mg (2.29mmol) 溶于体积比为 10: 1: 5 的四氢呋喃、甲醇和水的混合溶剂中, 然后加入氢氧化锂的水合物 482mg (11.4mmol), 60℃搅拌 1 小时。过滤, 旋干反应体系, 然后加入 4M 盐酸溶液直至体系呈酸性, 此时有白色固体析出, 过滤收集白色固体, 干燥, 得到白色固体 350mg (产率 96%)。

- 5 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 13.02 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.85 (dd, $J = 7.9, 1.9$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.48 (s, 1H), 2.45 (s, 3H). LC-MS (ESI) m/z 160.9 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

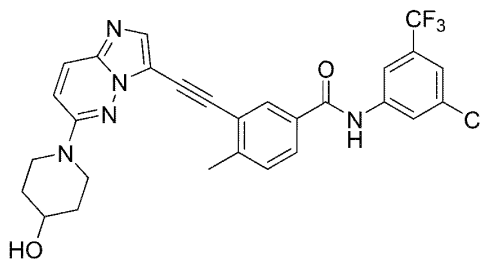
步骤 4: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-乙炔基-4-甲基苯甲酰胺 (化合物 **6**) 的制备



- 10 将化合物 **4** 300mg (1.9mmol), 化合物 **5** 305mg (1.6mmol) 溶于 20mL 的 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 加入 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯 (HATU)912mg (2.4mmol), N,N-二异丙基乙胺 413mg (3.2mmol)。70℃加热搅拌 2 小时。旋干反应体系, 加水, 用乙酸乙酯萃取, 水洗, 无水硫酸钠干燥, 旋干溶剂, 柱层析得到黄色油状物 340mg (产率 63%)。

- 15 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.88 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H), 7.64 – 7.57 (m, 2H), 7.54 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 4.51 (s, 1H), 2.47 (s, 3H). MS (ESI) m/z 335.8 $[\text{M} - \text{H}]^-$.

步骤 5: N-(3-氯-5-(三氟甲基)苯基)-3-((6-(4-羟基哌啶-1-基)咪唑[1,2-b]哒嗪-3-基)乙炔基)-4-甲基苯甲酰胺 (XS4-128) 的制备



- 20 将化合物 **6** 70mg (0.2mmol) 和化合物 **7** 83mg (1.2mmol) 溶于 10mL 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中, 然后加入碘化亚铜 8mg (0.016mmol), 二(三苯基膦)二氯化钯 19mg (0.01mmol), N,N-二异丙基乙胺 145mg (0.4mmol), 置换氩气, 封闭反应体系。80℃加热搅拌, 过夜反应。用硅藻土过滤, 旋干滤液, 柱层析得到黄白色固体 80mg (产率 73%)。

- 25 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.66 (s, 1H), 8.25 (s, 2H), 8.16 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.96 (s, 1H), 7.90 (dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 4.75 (d, $J =$

4.2 Hz, 1H), 3.98 (d, *J* = 14.5 Hz, 2H), 3.80 – 3.71(m, 1H), 3.26 (t, *J* = 11.5 Hz, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.89 – 1.78(m, 2H), 1.54 – 1.40 (m, 2H). HRMS (ESI) for C₂₈H₂₃ClF₃N₅O₂ [M + H]⁺: calcd 554.1565, found 554.1562.

酶促反应: 384 孔板中, 加入 5 μL 酶-底物体系 (50 mM 4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES) pH 7.5, 0.01% BRIJ-35, 10 mM 氯化镁 (MgCl₂), 1 mM 乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸 (EGTA), 2 μM Tyr 01 肽底物), 利用 echo520 超微量液体移液系统转入 5 nL 化合物 (浓度梯度), 室温震荡 10-20min 后, 利用 echo520 超微量液体移液系统分别转入 200nL, 12.5nL, 25nL ATP (终浓度分别为 400uM, 25uM, 50uM), 震荡混匀后离心, 30°C 避光反应 1.5h。

检测反应: 每孔加入 2.5 μL 反应液 (Development Solution) (1:128 稀释) 37°C 避光孵育 1h, 然后加入 5μL 终止液 (Stop Reagent) 。

读板: 多标记微孔板检测仪 (Perkin Elmer EnVision Multimode Plate Reader) 检测荧光信号 (激发光波长为 400 nm, 发射光波长为 460 nm、535 nm) 。

计算: 通过全活性孔和对照信号孔计算出每个孔的抑制率, 数据分析方法如下:

磷酸化比率 = 1 - { (发射比 × F100% - C100%) / [C 0% - C 100% + 发射比 × (F100% - F0%)] } × 100;

抑制率 = 100 × (1 - 化合物磷酸化比率 / 阴性对照磷酸化比率)。

IC₅₀ 值采用医学绘图软件 (GraphPad Prism5.0) 软件计算求得。

激酶活性测试结果如表 4 所示。

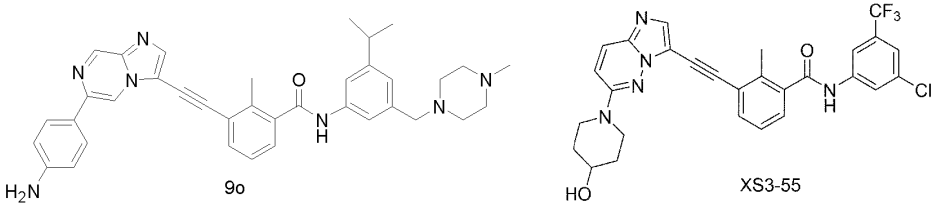
表 4 化合物激酶选择性活性测试结果 (IC₅₀: nM)

激酶	XS3-55	XS4-128	Ponatinib
Bcr-Abl	>10000	128.8	3.9
SRC	526.3	20.3	2.0
RET	>10000	10.7	3.3
VEGFR2	832.7	18.9	3.3
Kit	1669	93.5	25.1
PDGFRA	5887	19.9	3.9
PDGFRB	>10000	118.9	18.0

从表 4 数据可以看出, 本发明的炔苯基苯酰胺类代表性化合物 XS3-55 对 TRKA, TRKB, TRKC 以外的多种代表性酪氨酸激酶的抑制活性较弱, 其具有较好的激酶选择性, 其激酶选择性远远好于化合物 XS4-128 和 Ponatinib, 因此, 本发明的炔苯基苯酰胺类化合物的选择性好, 毒副作用低。

实施例 41：药代动力学评价

以 SD 大鼠进行药代动力学和口服生物利用度测试，根据药物溶解性，分别口服，静脉注射单次给药，在不同的时间点（0，0.5，1，2，4，6，8，24 小时）分别采集动物血样，加
5 肝素抗凝，离心取上清。HPLC-MS 方法分析血样，使用 DAS2.1 进行数据分析，检测半衰期（T_{1/2}）、最高血药浓度（C_{max}）、达峰时间（T_{max}）、药时曲线下面积（AUC）、生物利用度（BA）等药代动力学数据。化合物 XS3-55 和化合物 9o（European Journal of Medicinal Chemistry 179(2019) 470-482.）的药代动力学数据结果如表 5 所示：



10

表 5

化合物	化合物 9c		化合物 XS3-55	
给药方式	静脉注射	口服	静脉注射	口服
剂量(mg/kg)	5	25	2.0	10.0
半衰期 (h)	2.03	4.77	16.07	15.19
达峰时间 (h)	0.083	2	0.08	4.00
最高血药浓度(ng/mL)	1968.37	63.3	46123.74	44066.54
药时曲线下面积 (0-t)(h*ng/mL)	804.65	431.49	358128.95	560764.28
药时曲线下面积(0-∞) (h*ng/mL)	810.45	445.18	548798.57	878346.33
清除率 (mL/h/kg)	1260.51	nd	3.65	nd
生物利用度(%)		10.72		31.32

15

化合物 XS3-55 对 TRKs 激酶有很强的抑制活性，并且对 Ba/F3-TRKs 稳定株的野生型及耐药型细胞增殖有很强的抑制活性。且化合物 XS3-55 具有很好的口服吸收性质，在大鼠口服 10mg/kg 的剂量下，化合物 XS3-55 的半衰期为 15.19 小时，最高血药浓度高达 44066.54ng/mL，
药时曲线下面积高达 878346.33 h*ng/mL，药代动力学性质显著高于对照化合物 9o。

实施例 42：化合物 XS3-55 体内肿瘤活性

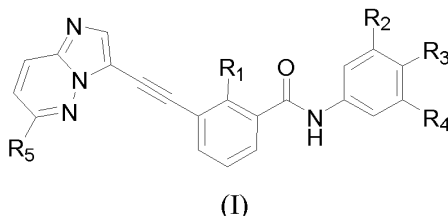
- 通过口服给药,在Ba/F3-CD74-TRKA^{G667C}同种异体移植小鼠模型中评估了化合物XS3-55的体内抗肿瘤药效。将培养的BaF3-CD74-TRKA^{G667C}细胞收集、离心,用生理盐水洗涤两次后调整密度至 1×10^7 个/mL后置于冰上,尽快皮下注射于CB17-SCID雌鼠右腋(购自北京维通利华,6-8周龄),每只注射200 μ L。造模9天后,瘤体积生长至约200mm³时随机分组并开始给药,其中对照组8只小鼠,化合物XS3-55四个剂量组(50、25、12.5、6.25mg/kg)每组6只小鼠。给药方式如下:按给药剂量称取适量化合物XS3-55粉末溶于2%二甲基亚砷(DMSO)+20%氢化蓖麻油+8%无水乙醇+70%生理盐水的混合溶剂中,得到浅黄色至黄色透明液体,口服给药,每天给药一次;对照组口服给予同等体积的混合溶剂。每两天记录一次体重及瘤体积。
- 结果如图1所示:化合物XS3-55每天给药一次,持续两周,以剂量依赖性方式抑制携带CD74 TRKA^{G667C}突变同种异体移植小鼠模型的生长。以最低剂量6.25 mg/kg治疗2天后观察到肿瘤大小显著减小。治疗12天后,化合物XS3-55在6.25mg/kg/天、12.5mg/kg/天、25mg/kg/天和50 mg/kg/天的剂量下表现出优异的体内抗肿瘤药效,TGI分别为50.9%、76.3%、89.2和91.6%,而对照组小鼠在第14天时死亡。同时,体内研究显示四种不同剂量的化合物XS3-55都对小鼠体重没有明显的不利影响(图1中的A图),这表明化合物XS3-55具有良好的安全性。

- 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

权 利 要 求 书

1、具有式(I)结构的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子；



5 其中， R_1 任选自： $C_1\sim C_{20}$ 烷基；

R_2 任选自：H、卤素、 $C_1\sim C_{20}$ 烷基、 $C_1\sim C_{20}$ 烷氧基或卤素取代的 $C_1\sim C_{20}$ 烷基；

R_3 任选自：H、氟取代的 $C_1\sim C_4$ 烷基、取代或未取代的含 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂环基；

R_4 任选自：H、卤素、硝基、取代或未取代的 $C_1\sim C_{20}$ 烷基、取代或未取代的 $C_1\sim C_{20}$ 烷氧基、取代或未取代的含 1-3 个 N 环原子的 5-10 元杂环基、取代或未取代的含 1-3 个 N 环原子的 5-10 元杂芳基；

R_5 为 $-NR_6R_7$ ；

15 其中， R_6 、 R_7 分别独立地选自： $-(CH_2)_mNR_8R_9$ 、 $-(CH_2)_nCR_{10}R_{11}R_{12}$ 、 $-(CH_2)_pOR_{12}$ ，或者 R_6 、 R_7 与它们所连接的氮原子一起形成被取代或未被取代的含有杂原子的单环、稠环、螺环或桥环；

R_8 、 R_9 分别独立地选自：H、 $C_1\sim C_{20}$ 烷基；或者 R_8 、 R_9 与它们所连接的氮原子一起形成被取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的单环、稠环、螺环或桥环；

R_{10} 、 R_{11} 与它们所连接的碳原子一起形成被取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的单环、稠环、螺环或桥环；

20 R_{12} 选自：H、 $C_1\sim C_{20}$ 烷基；

m 、 n 、 p 分别独立地选自：0-10 的整数。

2、根据权利要求 1 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

25 R_4 任选自：H、卤素、硝基、 $C_1\sim C_8$ 烷基、卤素取代的 $C_1\sim C_8$ 烷基、 $C_1\sim C_8$ 烷氧基、卤素取代的 $C_1\sim C_8$ 烷氧基、 $-(CH_2)_xNR_{17}R_{18}$ 、被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂环基、被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的含有 1-3 个 N 环原子的 5-6 元杂芳基； x 为 1-5 的整数；

R_{17} 、 R_{18} 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R_{19} 取代或未被取代的咪啉基、吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基；

各 R₁₉ 分别独立地选自：C₁-C₅ 烷基。

3、根据权利要求 2 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

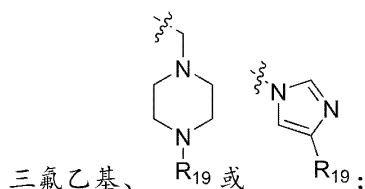
R₄ 任选自：H、卤素、硝基、C₁~C₄ 烷基、卤素取代的 C₁~C₄ 烷基、C₁~C₄ 烷氧基、卤素取代的 C₁~C₄ 烷氧基、-(CH₂)_xNR₁₇R₁₈、被 1-3 个 R₁₉ 取代或未被取代的咪唑基；x 为 1、2 或 3；

R₁₇、R₁₈ 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-3 个 R₁₉ 取代或未被取代的哌嗪基；

各 R₁₉ 分别独立地选自：C₁-C₅ 烷基。

4、根据权利要求 3 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

R₄ 任选自：H、卤素、硝基、甲基、乙基、丙基、甲氧基、乙氧基、丙氧基、三氟甲基、



各 R₁₉ 分别独立地选自：甲基、乙基、丙基。

5、根据权利要求 1 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

R₆、R₇ 分别独立地选自：-(CH₂)_mNR₈R₉、-(CH₂)_nCR₁₀R₁₁R₁₂、-(CH₂)_pOR₁₂，或者 R₆、R₇ 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R₁₃ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-15 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N、S；

R₈、R₉ 分别独立地选自：H、C₁~C₅ 烷基；或者 R₈、R₉ 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R₁₃ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-10 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N；

R₁₀、R₁₁ 与它们所连接的碳原子一起形成被 1-5 个 R₁₃ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-10 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N；

R₁₂ 选自：H、C₁-C₅ 烷基；

各 R₁₃ 分别独立地选自：H、C₁-C₅ 烷基、C₁-C₅ 烷酰基、羟基、羟基取代的 C₁-C₅ 烷基、氨基取代的 C₁-C₅ 烷基、氨基取代的 C₁-C₅ 烷氧基、C₃-C₇ 环烷基取代的 C₁-C₃ 烷基、-NR₁₅R₁₆、被 1-5 个 R₁₄ 取代或未被取代的含有 1-3 个杂原子的 3-10 元单环、稠环、螺环或桥环，杂原子选自：O、N；

R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_5 烷基；

m 、 n 、 p 分别独立地选自：0-5 的整数。

6、根据权利要求 5 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

- 5 R_6 、 R_7 分别独立地选自： $-(CH_2)_mNR_8R_9$ 、 $-(CH_2)_pOR_{12}$ ，或者 R_6 、 R_7 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-3 个 R_{13} 取代或未被取代的吗啉基、吡咯烷基、哌啶基或者哌嗪基；

R_8 、 R_9 分别独立地选自：H、 C_1 - C_5 烷基，或者 R_8 、 R_9 与它们所连接的氮原子一起形成被 1-5 个 R_{13} 取代或未被取代的吗啉基、吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基；

R_{12} 选自：H、 C_1 - C_5 烷基；

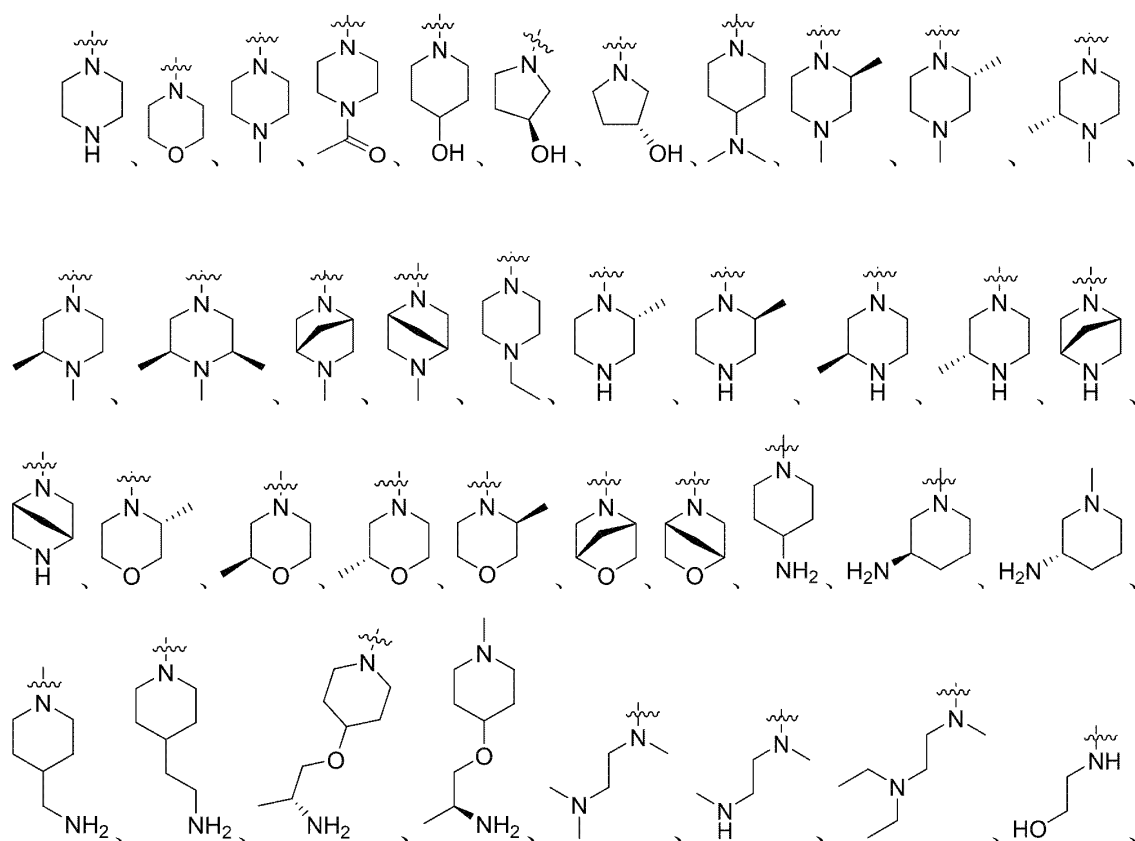
- 10 各 R_{13} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_5 烷基、 C_1 - C_5 烷酰基、羟基、 $-NR_{15}R_{16}$ 、被 1-2 个 R_{14} 取代或未被取代的氧杂环丁基、被 1-4 个 R_{14} 取代或未被取代的吗啉基；

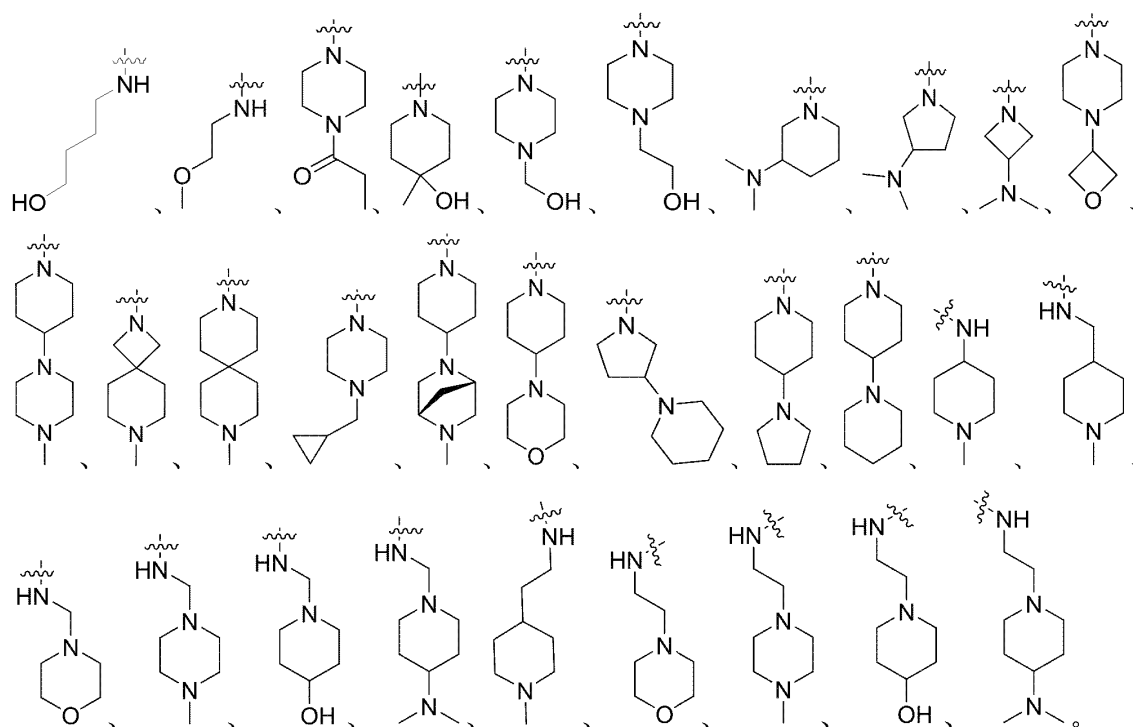
R_{14} 、 R_{15} 、 R_{16} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_5 烷基；

m 、 p 分别独立地选自：1、2、3、4 或 5。

7、根据权利要求 5 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异

- 15 构体或者其前药分子，其特征在于， R_5 选自以下任意一种基团：





8、根据权利要求1所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异

5 构体或者其前药分子，其特征在于， R_4 为卤素； R_5 为 $-NR_6R_7$ ；

R_6 、 R_7 分别独立地选自： $-(CH_2)_mNR_8R_9$ 、 $-(CH_2)_pOR_{12}$ ，或者 R_6 、 R_7 与它们所连接的氮原子一起形成被1-3个 R_{13} 取代或未被取代的吗啉基、吡咯烷基、哌啶基或者哌嗪基；

R_8 、 R_9 分别独立地选自：H、 C_1 - C_3 烷基，或者 R_8 、 R_9 与它们所连接的氮原子一起形成被1-2个 R_{13} 取代或未被取代的吗啉基、吡咯烷基、哌啶基或哌嗪基；

10 R_{12} 选自：H、 C_1 - C_3 烷基；

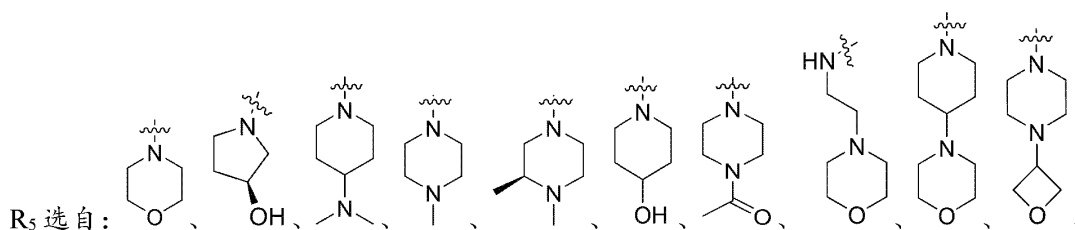
各 R_{13} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_3 烷基、乙酰基、羟基、 $-NR_{15}R_{16}$ 、氧杂环丁基、吗啉基；

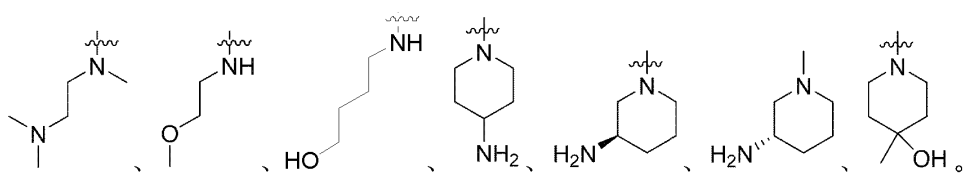
R_{15} 、 R_{16} 分别独立地选自：H、 C_1 - C_3 烷基；

m 、 p 分别独立地选自：2、3或4。

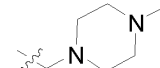
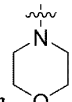
9、根据权利要求8所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异

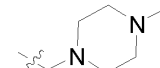
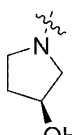
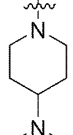
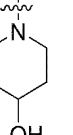
15 构体或者其前药分子，其特征在于， R_4 为Cl，

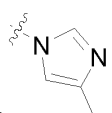
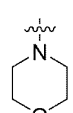
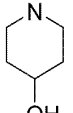




10、根据权利要求 1 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

5 R_4 选自：H、卤素、甲基、甲氧基、三氟甲基、硝基、, R_5 为 ；

或者， R_4 选自：H、, R_5 选自：、、；或者，

R_4 为 , R_5 选自：、。

11、根据权利要求 1~10 任一项所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

10 R_1 任选自： $C_1\sim C_4$ 烷基；和/或，

R_2 任选自：H、卤素、 $C_1\sim C_4$ 烷基、卤素取代的 $C_1\sim C_4$ 烷基、 $C_1\sim C_4$ 烷氧基。

12、根据权利要求 11 所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

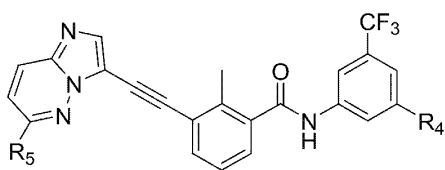
R_1 任选自：甲基、乙基、异丙基、叔丁基；和/或，

15 R_2 任选自：氢、氟、甲基、乙基、异丙基、叔丁基、二氟甲基、二氟乙基、三氟甲基或三氟乙基。

13、根据权利要求 1~10 任一项所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，

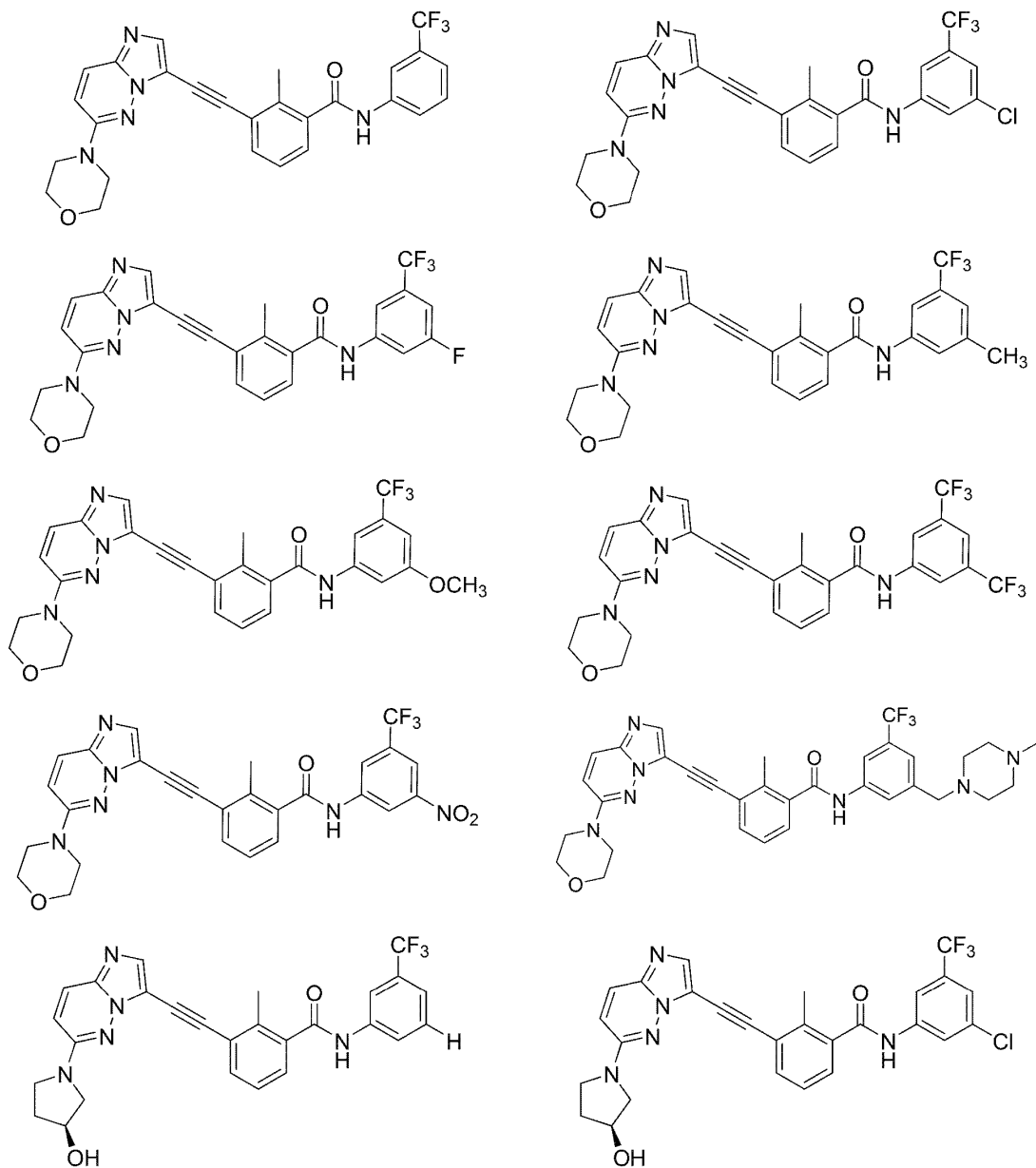
R_3 选自：H、二氟甲基、二氟乙基、三氟甲基或三氟乙基。

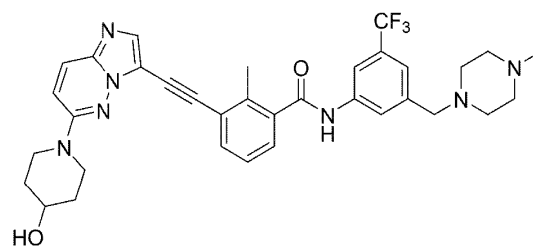
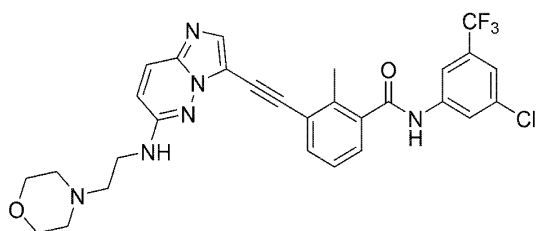
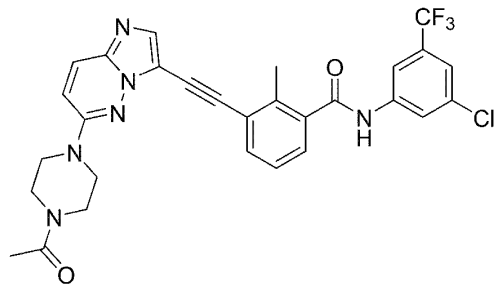
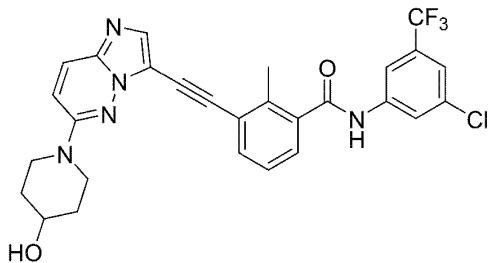
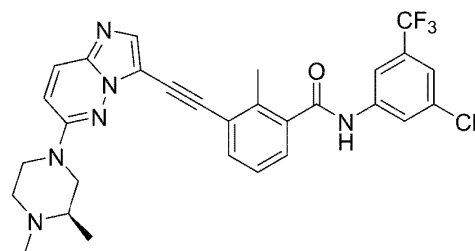
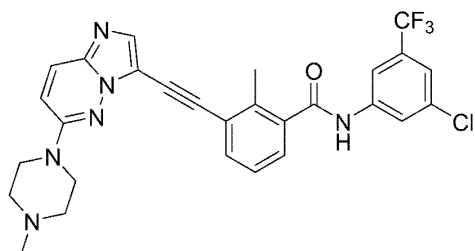
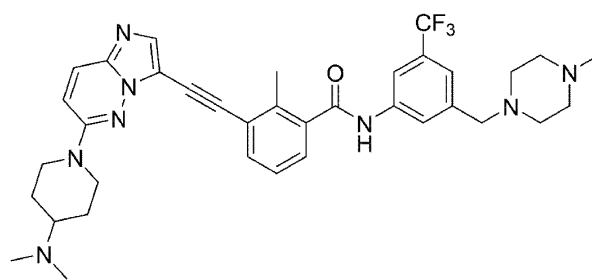
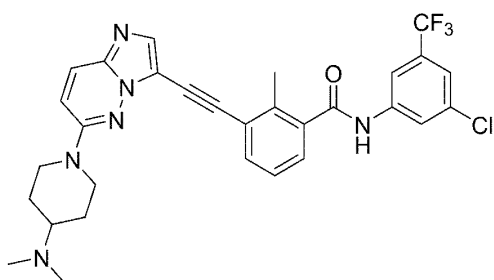
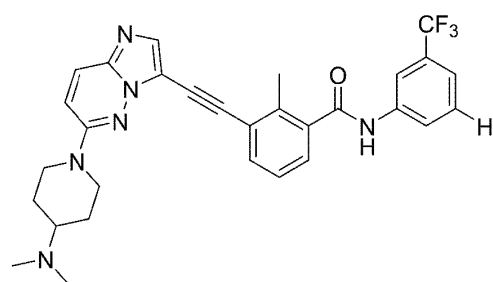
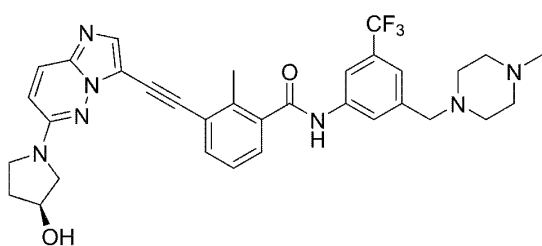
20 14、根据权利要求 1~10 任一项所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子，其特征在于，具有式(II)所示结构：

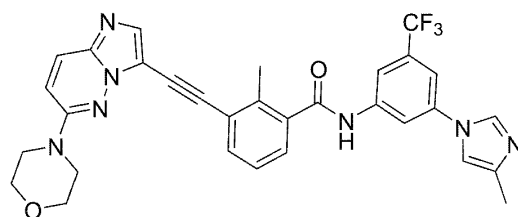
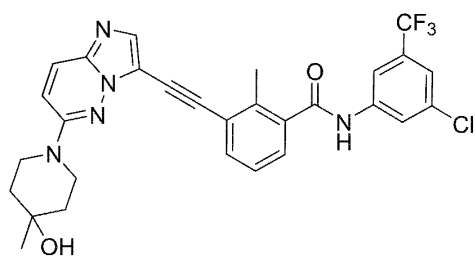
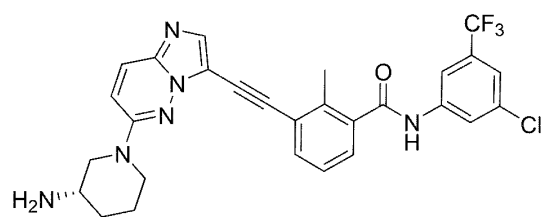
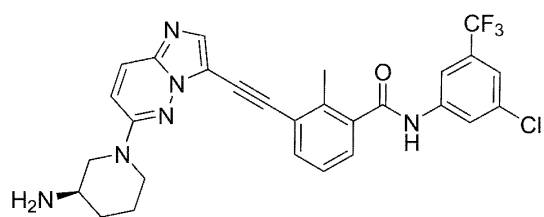
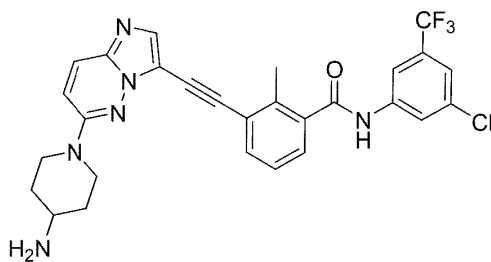
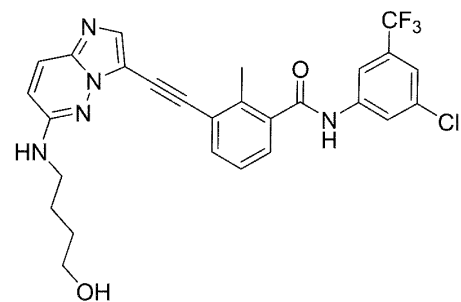
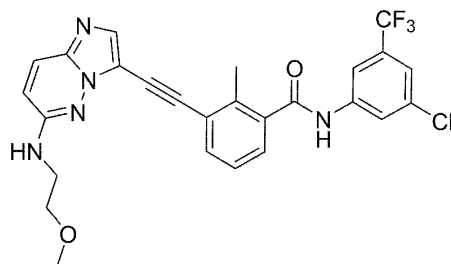
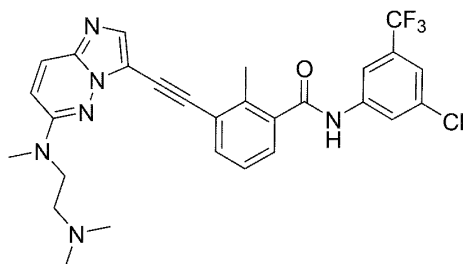
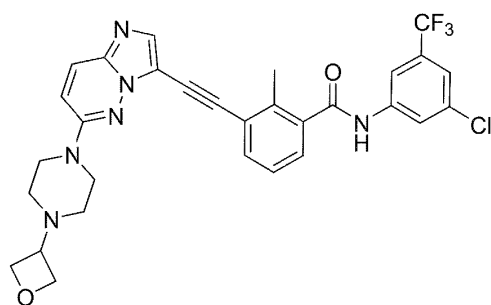
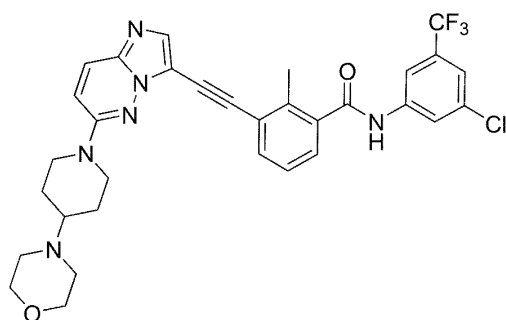


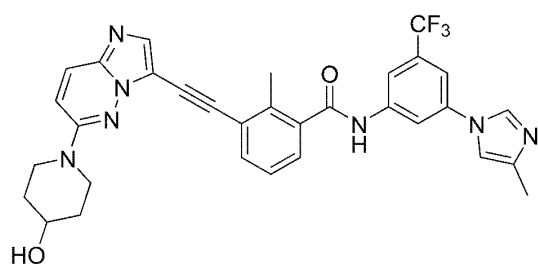
(II)。

15、根据权利要求1所述的炔苯基苯酰胺类化合物或其药学上可接受的盐或其立体异构体，其特征在于，所述炔苯基苯酰胺类化合物选自以下化合物：









16、权利要求 1~15 一项所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子在制备 TRK 抑制剂中的应用。

17、权利要求 1~18 一项所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子在制备预防和/或治疗由 TRK 酪氨酸激酶介导的疾病的药物中的应用。

18、权利要求 17 述的应用，其特征在于，所述由 TRK 酪氨酸激酶介导的疾病为肿瘤，优选为非小细胞肺癌、乳腺癌、结肠癌、前列腺癌、甲状腺癌、恶性黑色素瘤、神经母细胞瘤和乳腺样分泌癌。

19、一种预防和/或治疗肿瘤的药用组合物，其特征在于，包括活性成分和药学上可接受的辅料，所述活性成分包括权利要求 1~15 任一项所述的炔苯基苯酰胺类化合物或者其药学上可接受的盐或者其立体异构体或者其前药分子。