



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112218845 A

(43) 申请公布日 2021.01.12

(21) 申请号 201980036124.6

(22) 申请日 2019.04.09

(30) 优先权数据

62/655,470 2018.04.10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2020.11.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/026633 2019.04.09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/199863 EN 2019.10.17

(71) 申请人 伊利诺伊大学理事会

地址 美国伊利诺伊州

(72) 发明人 约翰·A·凯瑟琳伦波根

贝尼塔·凯瑟琳伦波根 金成勋

诺亚·宾德曼

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限  
责任公司 11219

代理人 刘慧 金海霞

(51) Int.Cl.

C07C 43/215 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07C 217/18 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

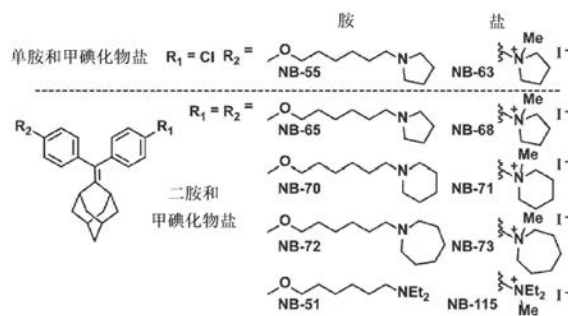
权利要求书7页 说明书75页 附图27页

(54) 发明名称

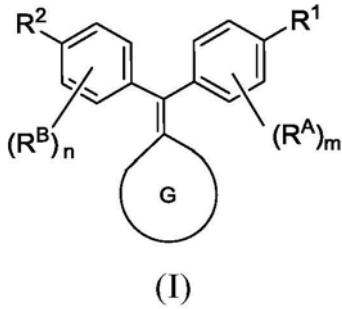
FOX M1抑制剂组合物及其使用方法

(57) 摘要

本发明提供了可用于抑制FOX M1、抑制癌症生长和/或治疗癌症的化合物及其可药用盐。特别是,这些化合物和它们相应的季铵盐可用于治疗各种不同形式的乳腺癌。



1. 一种式 (I) 的化合物或其可药用盐,



其中

G是任选被取代的多环亚烷基;

$R^A$ 和 $R^B$ 在每次出现时独立地是卤素、 $C_{1-4}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 卤代烷基;

$R^1$ 和 $R^2$ 独立地是-OH、卤素、-CN、-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T或-OR<sup>3</sup>,并且 $R^1$ 和 $R^2$ 中的至少一者是-OR<sup>3</sup>;

L是连接物;

T是荧光受体或荧光供体;

$R^3$ 是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>;

$R^x$ 和 $R^y$ 在每次出现时独立地是氢、 $C_{1-4}$ 烷基、-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,或者

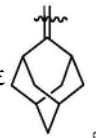
$R^x$ 和 $R^y$ 与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自 $C_{1-4}$ 烷基、卤素、-OH、 $C_{1-4}$ 卤代烷基和- $C_{1-4}$ 亚烷基-OH的取代基取代;

m是0、1、2、3或4;

n是0、1、2、3或4;并且

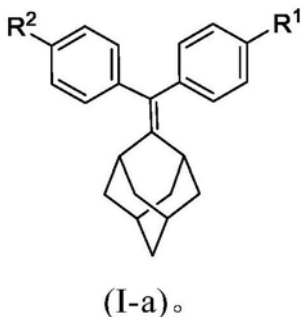
p是0、1、2、3、4或5。

2. 根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中G是



3. 根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中m是0,或n是0,或m和n两者都是0。

4. 根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物由式 (I-a) 表示:



5. 根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OH、卤素或-CN,且另一者是-OR<sup>3</sup>。

6. 根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-

T,且另一者是-OR<sup>3</sup>。

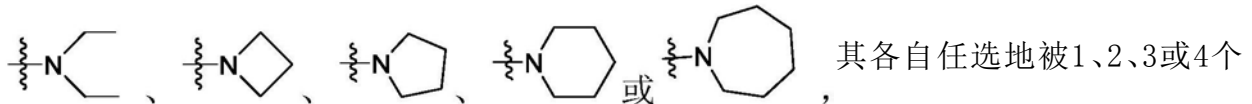
7.根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中p是0、1或2。

8.根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>3</sup>是-C<sub>4-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>。

9.根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。

10.根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。

11.根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是



独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。

12.根据权利要求1所述的化合物的可药用盐,其中

R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>•X<sup>-</sup>;

R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,或者

R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代;

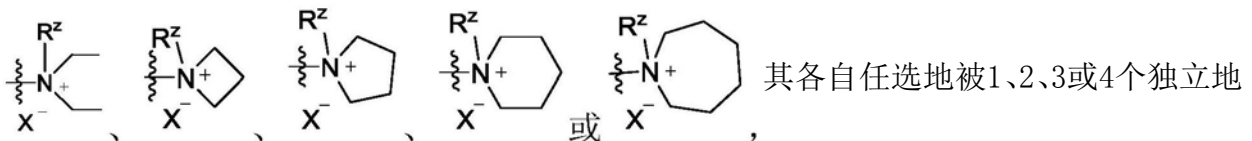
R<sup>z</sup>是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH;并且

X<sup>-</sup>是平衡离子。

13.根据权利要求12所述的可药用盐,其中R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。

14.根据权利要求12所述的可药用盐,其中R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。

15.根据权利要求12所述的可药用盐,其中所述-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>•X<sup>-</sup>基团是



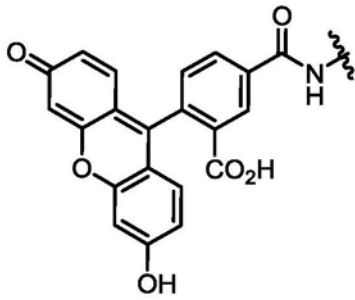
选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。

16.根据权利要求12所述的可药用盐,其中R<sup>z</sup>是甲基或羟乙基。

17.根据权利要求12所述的可药用盐,其中X<sup>-</sup>是卤离子、磺酸根、磷酸根、乙酸根、草酸根、富马酸根、酒石酸根或乳酸根。

18.根据权利要求12所述的可药用盐,其中X<sup>-</sup>是I<sup>-</sup>或CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>。

19.根据权利要求1所述的化合物或其可药用盐,其中-L-T是



20. 根据权利要求1所述的化合物,所述化合物选自:

- 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)吡咯烷;
- 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)哌啶;
- 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)氮杂环庚烷;
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二吡咯烷;
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二哌啶;
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环庚烷);
- 6,6'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N,N-二乙基己-1-胺);
- 2,2'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(乙基氮烷二基))双(乙-1-醇);
- 2,2',2'',2'''-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮烷三基))四(乙-1-醇);
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环丁烷);
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环丁-3-醇);
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(3-甲基氮杂环丁-3-醇);
- ((2S,2'S)-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(吡咯烷-1,2-二基))二甲醇;
- 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(哌啶-4-醇);
- 5-((6-(4-((E)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(氮杂环庚-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)氨基酰基)-2-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酸;
- 1-(6-(4-((Z)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(4-((3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酰氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎝碘化物;

4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(二乙基氨基)己基)氧基)苯基)甲基)苯酚;

6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基己-1-胺;

1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1H-咪唑;

1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-4-甲基哌嗪;

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))二哌啶;

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))双(氮杂环庚烷);

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))二哌啶;

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))双(氮杂环庚烷);

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-8,1-二基))双(氮杂环庚烷);

2,2'-((((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(N,N-二乙基乙-1-胺);

4,4'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌嗪);和

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1H-咪唑),

或其可药用盐。

21. 根据权利要求12所述的可药用盐,其选自

1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基吡咯烷-1-鎓碘化物;

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基吡咯烷-1-鎓)二碘化物;

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎓)二碘化物;

1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物;

6-(4-(((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(二乙基(甲基)- $\lambda^4$ -氮烷基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基-N-甲基己-1-铵二碘化物;

6,6'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N-乙基-N-(2-羟乙基)-N-甲基己-1-铵)二碘化物;

6,6'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N,N-双(2-羟乙基)-N-甲基己-1-铵)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环丁烷-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(3-羟基-1,3-二甲基氮杂环丁烷-1-鎗)二碘化物;

(1R,1'R,2S,2'S)-1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(2-(羟基甲基)-1-甲基吡咯烷-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(4-羟基-1-甲基哌啶-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)吡咯烷-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)哌啶-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;

1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-3-甲基-1H-咪唑-3-鎗碘化物;

(S)-1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基-1 $\lambda^4$ -哌啶-2-基鎗碘化物;

1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗碘化物;

1-(4-(4-(E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-(4-(1-甲基哌啶-1-鎗-1-基)丁氧基)苯基)甲基)苯氧基)丁基)-1-甲基哌啶-1-鎗二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(丁-4,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(辛-8,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;和

1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1,4-二甲基哌嗪-1-鎗)二甲磺酸盐。

22. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的权利要求1所述的化合物或其可药用盐和可药用载体。

23. 一种药物组合物,其包含治疗有效量的权利要求12所述的可药用盐和可药用载体。

24. 根据权利要求22所述的药物组合物,其还包含治疗有效量的至少一种另外的抗癌治疗剂。

25. 一种抑制FOXMI的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的权利要求1所述的化合物或其可药用盐。

26. 一种抑制FOXMI的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的权利要求12所述的可药用盐。

27. 一种抑制癌症生长的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的权利要求1所述的化合物或其可药用盐。

28. 一种抑制癌症生长的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的权利要求12所述的可药用盐。

29. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的权利要求1所述的化合物或其可药用盐。

30. 一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的权利要求12所述的可药用盐。

31. 根据权利要求29所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌、前列腺癌、成胶质细胞瘤、卵巢癌、胃肠癌、非小细胞肺癌、胰腺导管腺癌或其组合。

32. 根据权利要求31所述的方法,其中所述乳腺癌是激素受体阳性乳腺癌、ER阳性乳腺癌、HER2阳性乳腺癌、三阴性乳腺癌、他莫昔芬耐药性乳腺癌或其组合。

33. 根据权利要求29所述的方法,其还包括给药治疗有效量的至少一种另外的癌症治疗。

34. 根据权利要求29所述的方法,其中所述方法是一种治疗性治疗癌症的方法。

35. 一种测定方法,所述方法包括

将下述组分

i) 与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI,

ii) 用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,和

iii) 权利要求6所述的化合物或其盐,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分,

在反应混合物中,在存在或不存在所述物质的情况下温育;

将所述反应混合物暴露于允许发生荧光共振能量转移的光下;

测量来自于所述反应混合物的荧光发射;

其中如果在所述物质存在下来自于所述反应混合物的荧光发射测量值不同于在所述物质不存在下来自于所述混合物的荧光发射测量值,则所述物质起到FOXMI抑制剂的作用。

36. 根据权利要求35所述的方法,其还包括:

提供权利要求6所述的化合物或其盐,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分。

37. 根据权利要求36所述的方法,其还包括

提供用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素。

38. 根据权利要求37所述的方法,其还包括

提供与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI。

39. 一种试剂盒,其包含:

第一溶液,其包含在C-端与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI,

第二溶液,其包含用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,

第三溶液,其包含权利要求6所述的化合物或其可药用盐,其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体,以及

至少一种缓冲液。

## FOX M1抑制剂组合物及其使用方法

[0001] 与相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年4月10日提交的美国临时申请号62/655,470的利益和优先权,所述临时申请的内容整体通过参考并入本文,并且特此对其优先权提出主张。

[0003] 关于联邦资助的研究或开发的陈述

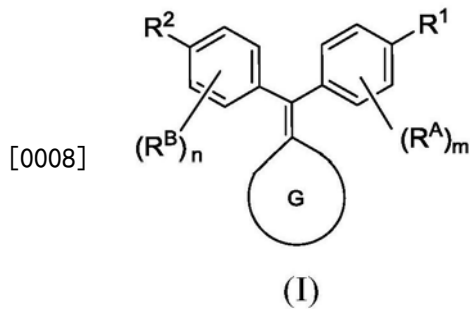
[0004] 本发明在美国国立卫生研究院(National Institutes of Health)授予的资助号为DK015556的政府支持下做出。美国政府在本发明中具有一定权利。

[0005] 技术领域和背景技术

[0006] 转录因子FOX M1在许多类型的癌症中过表达和扩增,并且是癌细胞分裂、侵袭性和转移的主要调控物。FOX M1促进癌症的所有标志性事件,刺激细胞增殖、基因组不稳定性、血管生成、和抑制细胞衰老。FOX M1的高表达还与雌激素受体阳性乳腺癌中对内分泌疗法的耐药性有关,并且与几种乳腺癌亚型中以及许多其他癌症中对放射疗法和许多化学疗法的耐药性有关。报告显示,FOX M1增加癌症干细胞数量,促进增殖、迁移性和浸润性以及对抗疗法的抗性,并发现在乳腺癌细胞中敲除FOX M1可以恢复对内分泌疗法的敏感性。因此,靶向FOX M1非常重要,可能使许多患有高FOX M1肿瘤的患者受益。需要开发FOX M1抑制剂来满足这种临床需求。

### 发明内容

[0007] 本公开涉及可用于抑制FOX M1或治疗癌症的化合物或其可药用盐。一方面,本发明提供了式(I)的化合物或组合物或其可药用盐,



[0009] 其中

[0010] G是任选被取代的多环亚烷基;

[0011]  $R^A$ 和 $R^B$ 在每次出现时独立地是卤素、 $C_{1-4}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 卤代烷基;

[0012]  $R^1$ 和 $R^2$ 独立地是-OH、卤素、-CN、-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T或-OR<sup>3</sup>,并且 $R^1$ 和 $R^2$ 中的至少一者是-OR<sup>3</sup>;

[0013] L是连接物;

[0014] T是荧光受体或荧光供体;

[0015]  $R^3$ 是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>;

[0016]  $R^x$ 和 $R^y$ 在每次出现时独立地是氢、 $C_{1-4}$ 烷基、-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,或者

[0017]  $R^x$ 和 $R^y$ 与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳

基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代；

[0018] m是0、1、2、3或4；

[0019] n是0、1、2、3或4；并且

[0020] p是0、1、2、3、4或5。

[0021] 在某些实施方式中，本公开提供了一种本文中公开的化合物的季铵盐，其中

[0022] R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>；

[0023] R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH，或者

[0024] R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基，其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代；

[0025] R<sup>z</sup>是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH；并且

[0026] X<sup>-</sup>是平衡离子。

[0027] 另一方面，本公开提供了一种抑制FOXMI的方法，所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐。

[0028] 另一方面，本公开提供了一种抑制癌症生长的方法，所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐。

[0029] 另一方面，本公开提供了一种治疗癌症的方法，所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐。

[0030] 另一方面，本公开提供了一种测定方法，所述方法包括：

[0031] 将下述组分

[0032] i) 与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI，

[0033] ii) 用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素，和

[0034] iii) 本文中公开的化合物或其盐，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者是-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T，并且另一者是-OR<sup>3</sup>，其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记，则T是荧光受体组成部分，或者其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记，则T是荧光供体组成部分，

[0035] 在反应混合物中，在存在或不存在所述物质的情况下温育；

[0036] 将所述反应混合物暴露于允许发生荧光共振能量转移的光；

[0037] 测量来自于所述反应混合物的荧光发射；

[0038] 其中如果在所述物质存在下来自于所述反应混合物的荧光发射测量值不同于在所述物质不存在下来自于所述混合物的荧光发射测量值，则所述物质起到FOXMI抑制剂的作用。

[0039] 通过考察详细描述和附图，其他方面将变得显而易见。

## 附图说明

[0040] 当考虑下面的详细描述时，除了上文阐述的之外的其他特点、目的和优点将变得更加显而易见。这样的详细描述参考了以下附图。

[0041] 图1示出了代表性FOXMI抑制剂例如1,1-二芳基亚乙基单胺、二胺和它们的甲碘化物或可药用甲基铵盐的结构。

[0042] 图2A和2B示出了用于初始FOX M1抑制剂筛选的一组乳腺癌细胞系的代表性结果。图2A示出的Western印迹分析结果显示所述细胞系在它们的FOX M1蛋白的相对含量上有差异,在MCF10A细胞中最低,在DT22细胞中最高。图2B示出了在这些细胞系中,在剂量响应研究中调查的NB-55对细胞增殖的抑制的结果。增殖被监测6天,其中在第0、2和4天添加化合物,并在第6天收获细胞。值为三份平行测定的平均值 $\pm$ SD。

[0043] 图3A和3B示出了母体胺和它们的甲碘化物盐化合物对细胞增殖的抑制的代表性结果。将DT22(图3A)或MCF7(图3B)细胞与所指示浓度的每种化合物或与用于比较的FDI-6温育3天。测定运行一式三份。值为平均值 $\pm$ SEM。

[0044] 图4A示出了母体胺和甲碘化物盐化合物对FOX M1靶基因表达的抑制的代表性结果。MCF7细胞中FOX M1上调的基因(FOX M1C、AURKB、CCNB1、PLK1)的表达的抑制和ATF3的FOX M1下调的逆转。将MCF7细胞与每种化合物或与FDI-6或硫链丝菌素在基于细胞增殖测定法为每种化合物获得的所指示的IC<sub>50</sub>浓度下温育24h。从细胞提取RNA,并通过qRT-PCR监测不同基因的表达。测定运行一式三份。值为平均值 $\pm$ SEM。\*, $p < 0.05$ ; \*\*, $p < 0.01$ ; \*\*\*, $p < 0.001$ 。

[0045] 图4B示出了母体胺和甲碘化物盐化合物对FOX M1靶基因表达的抑制的代表性结果。DT22细胞中FOX M1上调的基因(FOX M1C、AURKB、CCNB1、PLK1)的表达的抑制和ATF3的FOX M1下调的逆转。将DT22细胞与每种化合物或与FDI-6或硫链丝菌素在基于细胞增殖测定法为每种化合物获得的所指示的IC<sub>50</sub>浓度下温育24h。从细胞提取RNA,并通过qRT-PCR监测不同基因的表达。测定运行一式三份。值为平均值 $\pm$ SEM。\*, $p < 0.05$ ; \*\*, $p < 0.01$ ; \*\*\*, $p < 0.001$ 。

[0046] 图5A示出了用NB-55(5 $\mu$ M)、NB-73(1.5 $\mu$ M)、NB-115(4 $\mu$ M)或FDI-6(8 $\mu$ M)处理MDA-MB-231细胞对FOX M1水平的影响的代表性结果。图5B示出了用NB-55(8 $\mu$ M)、NB-73(4 $\mu$ M)、NB-115(4 $\mu$ M)或FDI-6(20 $\mu$ M)处理MCF7细胞对通过Western印迹随时间监测的FOX M1或FOX A1蛋白的细胞水平的影响的代表性结果。

[0047] 图6A-6B示出了在s.c.或口服给药后,化合物在小鼠中的药代动力学和半衰期。胺化合物和它们相应的甲碘化物盐化合物的药代动力学(PK)。图6A示出了母体化合物和相应的盐(成对)的结果:NB-55和NB-63;NB-65和NB-68;以及NB-70和NB-71。图6B示出了母体化合物和相应的盐(成对)的结果:NB-72和NB-73;以及NB-51和NB-115。在通过s.c.注射或口服管饲以所指示的剂量单剂给药后研究PK。在化合物在零时给药后48h的过程中,从每只小鼠(每个实验n=4只小鼠)收集多个血浆样品。化合物使用LC-MS/MS来定量。将数据拟合到非隔室PK模型。

[0048] 图7A-7D示出了化合物NB-55、NB-68、NB-71和NB-73抑制乳腺肿瘤异种移植物生长和FOX M1调控的基因的表达。将人类三阴性乳腺癌DT22细胞注射到完好的7周龄NSG小鼠的乳腺脂肪垫中,并向带有DT22肿瘤的小鼠给药所述化合物。图7A示出了在用100mg/kg的NB-55或对照介质通过口服管饲每天给药共7天,然后从第7天起每隔一天给药的小鼠中的肿瘤生长。图7B示出了在用NB-68、NB-71或NB-73通过s.c.注射以40mg/kg的剂量每天给药共4天,然后以20mg/kg的剂量每三天给药直至第13天,然后以10mg/kg的剂量每三天给药,或用对照介质给药的小鼠中的肿瘤生长。监测在介质和化合物治疗的动物中的肿瘤体积(双向ANOVA, Dunnett's事后检验, \*\*, $P < 0.01$ )。图7C示出了在用低剂量的NB-73(5或10mg/kg

s.c.每天给药直至第21天,然后每隔一天给药)治疗的小鼠中肿瘤生长的结果。在图7A-7C中,监测在介质和化合物治疗的动物中的肿瘤体积(双向ANOVA, Bonferroni事后检验,\*\*\*\*,  $P < 0.0001$ ,  $n =$  每组8只)。在治疗结束时,对来自于图7C的肿瘤进行处理,以通过q-PCR进行基因表达分析,结果示出在图7D中。(T-检验, \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; \*\*\*,  $p < 0.001$ ; \*\*\*\*,  $P < 0.0001$ ,  $n =$  每组8只)。

[0049] 图8示出了研究环尺寸对单胺化合物NB-55的功​​效的影响的代表性结果。提供了NB-55(5-元环)、NB-118(6-元环)和NB-119(7-元环)对MCF7细胞的增殖的剂量响应性影响。将细胞用化合物或对照介质(0.1%乙醇)处理3天,并通过WST-1测定法确定细胞数目。值为来自于三份平行样的平均值 $\pm$ SEM。

[0050] 图9显示化合物NB-73抑制他莫昔芬耐药性MCF7细胞的增殖。将细胞用NB-73或反式-羟基他莫昔芬(HOT)处理6天,并监测细胞数目。值为三次独立测定的平均值 $\pm$ SD。

[0051] 图10A-10C示出了FOXM1抑制剂与FOXM1蛋白的结合的荧光测定法的代表性结果。图10A示出了荧光团探针F1-NB-72的结构。图10B示出了通过tr-FRET获得的F1-NB-72与FOXM1的直接结合的结果。图10C示出了使用F1-NB-72作为tr-FRET探针获得的FOXM1抑制剂的竞争结合测定法的代表性结果。

[0052] 图11示出了化合物NB-73对FOXM1蛋白被外源蛋白酶蛋白水解的敏感性的代表性影响。如方法中所述,将DT22细胞裂解液在不含或含有 $10\mu\text{M}$  NB-73的情况下温育1h,然后与不同浓度的链霉蛋白酶(无;  $1:10^3$ ;  $1:10^4$ ;  $1:10^5$ ; 和  $1:10^6$ ) 在继续不存在或存在NB-73的情况下在室温温育另外30min。然后将蛋白质在4-20%SDS-PAGE凝胶上分离,并将凝胶暴露于FOXM1抗体(Abcam兔多克隆抗体1:750)和 $\beta$ -肌动蛋白抗体(1:500,小鼠单克隆抗体)。

[0053] 图12示出了在s.c.或口服给药后,FDI-6在小鼠中的代表性药代动力学和半衰期。在通过s.c.注射以 $20\text{mg}/\text{kg}$ 或通过口服管饲以 $40\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量单剂给药后研究PK。在化合物在零时给药后48h的过程中,从每只小鼠(每个实验 $n = 4$ )收集多个血浆样品。化合物使用LC-MS/MS来定量。将数据拟合到非隔室PK模型。在口服给药后在血液中不能检测到FDI-6;因此,只呈现了来自于s.c.给药的数据。

[0054] 图13显示化合物NB-55减少MCF7乳腺癌异种移植物生长。将MCF7细胞注射到切除卵巢的7周龄NSG小鼠的乳腺脂肪垫中,并允许其在存在E2球粒( $0.36\text{mg E2}$ , Innovative Research)的情况下生长3周。当肿瘤尺寸达到大约 $150\text{mm}^3$ 时,动物每天s.c.接受介质或NB-55( $100\text{mg}/\text{kg}$ )并监测肿瘤生长。(双向ANOVA, Bonferroni事后检验; \*\*,  $p < 0.01$ ,  $n =$  每组8只)。

[0055] 图14A显示低剂量的化合物NB-63(NB-55的甲碘化物盐)和NB-115(NB-51的甲碘化物盐)抑制DT22-Luc异种移植肿瘤的生长。雌性NSG动物(8周龄)接受原位注射到胸部乳腺中的 $1 \times 10^6$ 个DT22-Luc细胞。NB-115以 $2\text{mg}/\text{kg}$ 或 $6\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量每天s.c.注射, NB-63以 $20\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量每天s.c.注射直至第20天,然后以 $10\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量每隔一天s.c.注射。示出了对肿瘤体积的影响。(双向ANOVA, Dunnett's事后检验; \*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ,  $n =$  每组8只)。

[0056] 图14B显示抑制DT22-Luc异种移植肿瘤生长的低剂量的化合物NB-63(NB-55的甲碘化物盐)和NB-115(NB-51的甲碘化物盐)不影响动物体重。雌性NSG动物(8周龄)接受原位注射到胸部乳腺中的 $1 \times 10^6$ 个DT22-Luc细胞。NB-115以 $2\text{mg}/\text{kg}$ 或 $6\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量每天s.c.注射, NB-63以 $20\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量每天s.c.注射直至第20天,然后以 $10\text{mg}/\text{kg}$ 的剂量每隔一天s.c.

注射。监测动物的体重。(双向ANOVA, Dunnett's 事后检验; \*\*\*\*,  $p < 0.0001$ ,  $n =$  每组8只)。

[0057] 图15A示出了在MCF-7细胞中FOXM1特异性基因被化合物调控的测定法的代表性结果。正常情况下被FOXM1上调的基因被FOXM1抑制剂降低。将细胞接种在6孔板中并生长至~50%汇合。然后将它们用抑制剂处理24小时,然后用Trizol收获。分离RNA,制备cDNA,并通过RT-PCR测量RNA水平。

[0058] 图15B示出了在MCF-7细胞中FOXM1特异性基因被化合物调控的测定法的代表性结果。正常情况下被FOXM1下调的基因被FOXM1抑制剂提高。

[0059] 图16A-16E示出了在DT-22细胞中FOXM1特异性基因被化合物调控的测定法的代表性结果。正常情况下被FOXM1上调的基因被FOXM1抑制剂降低。将细胞接种在6孔板中并生长至~50%汇合。然后将它们用抑制剂处理24小时,然后用Trizol收获。分离RNA,制备cDNA,并通过RT-PCR测量RNA水平。

[0060] 图16F示出了在DT-22细胞中FOXM1特异性基因被化合物调控的测定法的代表性结果。正常情况下被FOXM1下调的基因被FOXM1抑制剂提高。

[0061] 图17A-17C示出了在乳腺癌细胞中化合物对基因表达的影响的RNA-Seq分析的代表性结果。图17A示出了在MCF7细胞中在9h和24h时FOXM1签名基因(signature genes)被NB-73 (4 $\mu$ M)以及在MDA-MB-231细胞中被NB-73处理(1.5 $\mu$ M, 24h)的调控。图17B示出的维恩图显示了在处理24h的MCF7细胞中 $p < 0.05$ 并且被NB-73、NB-55和FDI-6 (20 $\mu$ M)调节超过2倍的基因的交叠。图17C示出的基因集富集分析(GSEA)示出了富集评分。将MDA-MB-231细胞用NB-73 (1.5 $\mu$ M, 24h)或siFOXM1 (25nM, 72h)处理。基因集使用源自于FOXM1顺反子组的4个独立数据集的FOXM1基因。NES, 归一化的富集评分。

[0062] 详细描述

[0063] 定义

[0064] 正如本文中描述的,本发明的化合物可以任选地被一个或多个取代基取代,例如上文一般性说明的或通过本发明的特定类别、亚类或种类所示例的取代基。正如本文中描述的,式I中的变量涵盖了特定基团例如烷基和环烷基。正如本领域普通技术人员将会认识到的,本发明设想的取代基的组合是那些导致形成稳定的或化学上可行的化合物的组合。当在本文中使用时,术语“稳定的”是指当经历允许它们的生产、检测和优选情况下它们的回收、纯化和用于本文中公开的一种或多种目的的条件时不实质性改变的化合物。在某些实施方式中,稳定的化合物或化学上可行的化合物是当保持在40 $^{\circ}$ C或更低温度下、在不存在湿气或其他化学反应性条件下至少一周时不实质性改变的化合物。

[0065] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的相同的含义。本文中提到的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献整体通过参考并入本文。本文中公开的材料、方法和实例仅仅是说明性的而不打算是限制性的。

[0066] 当在本文中使用时,术语“包含”、“包括”、“具有”、“可以”、“含有”及其变化形式打算作为开放性过渡短语、术语或词语,其不排除另外的行动或结构的可能性。没有具体数目的指称包括复数指称物,除非上下文明确叙述不是如此。本公开还设想了“包含”本文中陈述的实施方式或要素、“由它们构成”或“基本上由它们构成”的其他实施方式,不论是否明确阐述。

[0067] 与数量相结合使用的修饰语“约”包括了所陈述的值并具有由上下文决定的含义

(例如,它至少包括与特定数量的测量相关的误差程度)。修饰语“约”还应该被认为是公开了由两个端点的绝对值所定义的范围。例如,表述“约2至约4”也公开了“2至4”的范围。术语“约”可以是指所指明的数字的加或减10%。例如“约10%”可以指示9%至11%的范围,并且“约1”可以意味着0.9-1.1。“约”的其他含义可以从上下文明显看出,例如四舍五入,因此例如“约1”也可能意味着0.5至1.4。

[0068] 特定官能团和化学术语的定义在下文更详细描述。出于本公开的目的,化学元素根据元素周期表(Periodic Table of the Elements,CAS版本,《化学和物理学手册》(Handbook of Chemistry and Physics)第75版,内封面)来鉴别,并且特定官能团通常如其中所定义。另外,有机化学的通用原理以及特定官能团和反应性被描述在下述文献中:《有机化学》(Organic Chemistry),Thomas Sorrell,University Science Books,Sausalito,1999;Smith和March,《March高等有机化学》(March's Advanced Organic Chemistry),第5版,John Wiley&Sons,Inc.,New York,2001;Larock,《有机转化详解》(Comprehensive Organic Transformations),VCH Publishers,Inc.,New York,1989;Carruthers,《有机合成的一些现代方法》(Some Modern Methods of Organic Synthesis),第3版,Cambridge University Press,Cambridge,1987;每个上述文献的全部内容通过参考并入本文。

[0069] 当在本文中使用时,术语“烷氧基”是指通过氧原子附连到母体分子组成部分的本文中所定义的烷基。烷氧基的代表性实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、2-丙氧基、丁氧基和叔丁氧基。

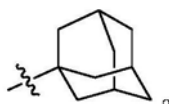
[0070] 当在本文中使用时,术语“烷基”意味着直链或支链饱和烃基。烷基的代表性实例包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3-甲基己基、2,2-二甲基戊基、2,3-二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基和正癸基。

[0071] 当在本文中使用时,术语“亚烷基”意味着源自于直链或支链饱和烃的二价基团。亚烷基的代表性实例包括但不限于 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 和 $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 。

[0072] 当在本文中使用时,术语“芳基”意味着苯基或双环芳基。所述双环芳基是萘基、二氢萘基、四氢萘基、茚满基或茚基。苯基和双环芳基通过所述苯基或双环芳基中包含的任何碳原子附连到母体分子组成部分。

[0073] 当在本文中使用时,术语“环烷基”意味着源自于含有零个杂原子作为环原子并具有零个双键的全碳环系统的单价基团。所述全碳环系统可以是单环、双环或三环环系统,并且可以是稠合环系统、桥接环系统或螺环系统或其组合。环烷基的实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基和

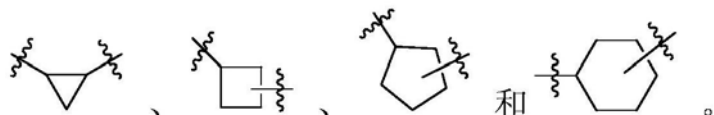
本文中描述环烷基可以通过



任何可取代的碳原子附连到母体分子组成部分。

[0074] 当在本文中使用时,术语“亚环烷基”意味着源自于含有零个杂原子作为环原子并具有零个双键的全碳环系统的二价基团,其在两个不同的环碳原子处附连到母体分子。所述全碳环系统可以是单环、双环或三环环系统,并且可以是稠合环系统、桥接环系统或螺环

系统。亚环烷基的代表性实例包括但不限于源自于C<sub>3-10</sub>环的亚环烷基，例如



[0075] 术语“卤素”意味着氯、溴、碘或氟原子。

[0076] 当在本文中使用时，术语“卤代烷基”意味着其中1、2、3、4、5、6或7个氢原子被卤素代替的本文中所定义的烷基。例如，卤代烷基的代表性实例包括但不限于2-氟乙基、二氟甲基、三氟甲基、2,2,2-三氟乙基、2,2,2-三氟-1,1-二甲基乙基等。

[0077] 当在本文中使用时，术语“杂芳基”意味着芳香族杂环，即含有至少一个选自O、N或S的杂原子的芳香环。杂芳基可以含有5至12个环原子。杂芳基可以是5-至6-元单环杂芳基或8-至12-元双环杂芳基。5-元单环杂芳基环含有两个双键和1、2、3或4个杂原子作为环原子。5-元单环杂芳基的代表性实例包括但不限于呋喃基、咪唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、噁唑基、吡唑基、吡咯基、四唑基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基和三唑基。6-元杂芳基环含有三个双键和1、2、3或4个杂原子作为环原子。6-元单环杂芳基的代表性实例包括但不限于吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基和三嗪基。双环杂芳基是8-至12-元环系统，具有稠合到芳香族、饱和或部分饱和的碳环或稠合到第二个单环杂芳基环的单环杂芳基。双环杂芳基的代表性实例包括但不限于苯并呋喃基、苯并噁二唑基、1,3-苯并噻唑基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、吲哚基、吲唑基、异喹啉基、萘啶基、噁唑并吡啶、喹啉基、噻吩并吡啶基、5,6,7,8-四氢喹啉基和6,7-二氢-5H-环戊二烯并[b]吡啶基。所述杂芳基通过所述基团内包含的任何可取代的碳原子或任何可取代的氮原子连接到母体分子组成部分。

[0078] 术语“杂环”或“杂环的”通常是指含有至少一个杂原子作为环原子的环系统，其中所述杂原子选自氧、氮和硫。在某些实施方式中，所述杂环的氮或硫原子任选地被氧取代。杂环可以是单环杂环、稠合双环杂环或螺杂环。所述单环杂环通常是4、5、6、7或8-元非芳香环，含有至少一个选自O、N或S的杂原子。4-元环含有1个杂原子并任选地含有1个双键。5-元环含有0或1个双键和1、2或3个杂原子。6、7或8-元环含有0、1或2个双键和1、2、或3个杂原子。单环杂环的代表性实例包括但不限于氮杂环丁烷基、氮杂环庚烷基、二氮杂环庚烷基、1,3-二氧杂环己烷基、1,4-二氧杂环己烷基、1,3-二氧杂环戊烷基、4,5-二氢异噁唑-5-基、3,4-二氢吡喃基、1,3-二硫杂环戊烷基、1,3-二硫杂环己烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑啉基、异噻唑烷基、异噁唑啉基、异噁唑烷基、吗啉基、噁二唑啉基、噁二唑烷基、噁唑啉基、噁唑烷基、氧杂环丁烷基、哌嗪基、哌啶基、吡喃基、吡唑啉基、吡唑烷基、吡咯啉基、吡咯烷基、四氢呋喃基、四氢吡喃基、四氢噻吩基、噻二唑啉基、噻二唑烷基、噻唑啉基、噻唑烷基、硫代吗啉基、1,1-二氧化硫代吗啉基、硫代吡喃基和三噻烷基。稠合双环杂环是7-12-元环系统，具有稠合到苯基、饱和或部分饱和的碳环或另一个单环杂环或单环杂芳基环的单环杂环。稠合双环杂环的代表性实例包括但不限于1,3-苯并二氧杂环戊烯-4-基、1,3-苯并二硫杂环戊烯基、3-氮杂双环[3.1.0]己基、六氢-1H-呋喃并[3,4-c]吡咯基、2,3-二氢-1,4-苯并二氧杂环己烯基、2,3-二氢-1-苯并呋喃基、2,3-二氢-1-苯并噻吩基、2,3-二氢-1H-吲哚基、5,6,7,8-四氢咪唑并[1,2-a]吡嗪基和1,2,3,4-四氢喹啉基。螺杂环意味着4-、5-、6-、7-或8-元单环杂环，其中同一个碳原子上的两个取代基形成具有3、4、5、6、7或8元的第二个环。螺杂环的实例包括但不限于1,4-二氧杂-8-氮杂螺[4.5]癸基、2-氧杂-7-氮杂螺

[3.5] 壬基、2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚基、8-氮杂螺[4.5]癸烷。本发明的单环杂环可能含有1、2、或3个碳原子的亚烷基桥,将所述基团的两个不相邻原子相连。这种桥接杂环的实例包括但不限于2,5-二氮杂双环[2.2.1]庚基、2-氮杂双环[2.2.1]庚基、2-氮杂双环[2.2.2]辛基和氧杂双环[2.2.1]庚基。所述单环、稠合双环和螺杂环基团通过所述基团中包含的任何可取代的碳原子或任何可取代的氮原子连接到母体分子组成部分。

[0079] 当在本文中使用时,术语“羟基”意味着-OH基团。

[0080] 当在本文中使用时,术语羟基烷基意味着其中氢原子被-OH代替的本文中所定义的烷基。例如,羟基烷基的代表性实例包括但不限于源自于C<sub>1-6</sub>烷基的羟基烷基,例如-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH等。

[0081] 当在本文中使用时,术语“氧代”是指键合到母体分子组成部分的氧原子。氧代可以通过双键附连到碳原子或硫原子。或者,氧代可以通过单键附连到氮原子,即N-氧化物。

[0082] 当在本文中使用时,术语“多环亚烷基”是指具有通过碳-碳双键键合到母体分子组成部分的二价环碳原子的全碳环系统。所述二价环碳原子通过从相应的多环烷烃的同一个环碳原子移除两个氢原子而形成。多环烷烃是指具有至少一个亚烷基桥(即连接两个不相邻碳原子的亚烷基)并任选地具有稠合环(即连接两个相邻碳原子的亚烷基)和/或螺环(即任一末端均连接到同一碳原子的亚烷基)的全碳环系统。所述多环烷烃的代表性结构包括但不限于金刚烷、去甲金刚烷、降莰烷、(3aR,4R,7S,7aS)-八氢-1H-4,7-甲桥茚、双环[2.2.2]辛烷和(2R,3S,4S,5R)-五环[4.3.0.0<sup>2,5</sup>.0<sup>3,8</sup>.0<sup>4,7</sup>]壬烷(可选地被称为高立方烷)。

[0083] 在特定情况下,诸如“烷基”、“环烷基”、“亚烷基”、“亚环烷基”、“多环亚烷基”等的术语可以在前方带有标明所述基团中存在的原子数目的指示(例如“C<sub>1-4</sub>烷基”、“C<sub>1-4</sub>烷基”、“C<sub>3-6</sub>环烷基”、“C<sub>1-4</sub>亚烷基”)。这些指示按照本领域技术人员通常理解的方式使用。例如,后面跟有下标数字的表述“C”指示后述基团中存在的碳原子的数目。因此,“C<sub>3</sub>烷基”是具有3个碳原子的烷基(即正丙基、异丙基)。在给出范围的情况下,如在“C<sub>1-4</sub>”或“C<sub>1-4</sub>”中,后述基团的成员可以具有落于所叙述的范围之内的任何碳原子数目。例如,“C<sub>1-4</sub>烷基”或“C<sub>1-4</sub>烷基”是具有1至4个碳原子的烷基,不管如何排列(即直链或支链)。

[0084] 如果基团被描述为被“取代”,则非氢取代基代替了该基团的碳或氮上的氢基团。因此,例如,取代的烷基是其中至少一个非氢基团代替了烷基上的氢基团的烷基。为了说明,单氟代烷基是被氟基团取代的烷基,二氟代烷基是被两个氟基团取代的烷基。应该认识到,如果在取代基上存在超过一个取代,则每个非氢基团可以是相同或不同的(除非另有陈述)。取代基包括但不限于卤素、=O、=S、氰基、硝基、氟代烷基、烷氧基氟代烷基、氟代烷氧基、烷基、烯基、炔基、卤代烷基、卤代烷氧基、杂烷基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环、环烷基烷基、杂芳基烷基、芳烷基、羟基、羟基烷基、烷氧基、烷氧基烷基、亚烷基、芳氧基、苯氧基、苯甲氧基、氨基、烷基氨基、酰基氨基、氨基烷基、芳基氨基、磺酰基氨基、亚磺酰基氨基、磺酰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、氨基磺酰基、亚磺酰基、-COOH、酮、酰胺、氨基甲酸酯和酰基。

[0085] 当基团被称为“未取代的”或未被称为“取代的”或“任选取代的”时,意味着所述基团不具有任何取代基。如果基团被描述为“任选取代的”,所述基团可能(1)未被取代,或(2)被取代。如果基团被描述为任选地被多达特定数目的非氢基团取代,则该基团可能(1)未被取代,或(2)被多达该特定数目或多达该基团上可取代位置的最大数目两者之中的较小者

的取代基取代。

[0086] 如果取代基被描述为独立地选自一组,则每个取代基独立于其他取代基选择。因此,每个取代基可以与其他取代基一致或不同。

[0087] 当在本文中使用时,术语“E2”是指雌二醇。

[0088] 当在本文中使用时,术语“给药”是指用于将药物组合物递送到患者的任何途径。递送途径可以包括非侵入性的经口(通过口腔)、局部(皮肤)、透粘膜(鼻、颊/舌下、阴道、眼和直肠)和吸入途径,以及肠胃外途径和本领域中已知的其他方法。肠胃外是指通常与注射相关的给药途径,包括眶内、输注、动脉内、颈内动脉、囊内、心内、真皮内、肌肉内、腹膜内、肺内、脊柱内、胸骨内、鞘内、子宫内、静脉内、蛛网膜下腔、囊下、皮下、透粘膜或经气管。通过肠胃外途径,所述组合物可以采取输注用或注射用溶液或悬液的形式或作为冷冻干燥粉剂。在一个实施方式中,所述组合物皮下给药。在另一个实施方式中,所述组合物口服给药。

[0089] 当在本文中使用时,术语“有效量”或“治疗有效量”是指待给药的药剂或化合物的量,所述量足以在一定程度上缓解待治疗的疾病或病症的一种或多种症状。结果可以是疾病的体征、症状或病因的减轻和/或缓和或生物系统的任何其他所需改变。例如,用于治疗性用途的有效量是包含本文中公开的化合物的组合物的提供疾病症状的临床上显著减轻所需的量。在任何单独情况下适合的“有效”量可以使用诸如剂量递增研究的技术来确定。

[0090] 术语“预防”意味着涉及疾病或障碍的进展的减缓、停止或逆转的用药,或包含至少一种本文中描述的任何化合物的药物组合物的施用或给药,其中所述对象具有疾病或疾病的症状,其中目的是治愈、痊愈、减轻、缓解、改变、纠正、改善、改进或影响所述病或疾病的症状。尽管在“治疗”与“预防”之间可能存在交叠,但意图是使后者在疾病或障碍的减轻方面比在前者期间观察到的更为剧烈(即不太轻微)。同样地,意图是“治疗”可以发生在患有疾病或障碍的个体中,而“预防”可以发生在只是对疾病或障碍易感但尚未表现出其明显体征和症状的个体中。当在本文中使用时,“预防”等是与适合的对照对象相比而言。

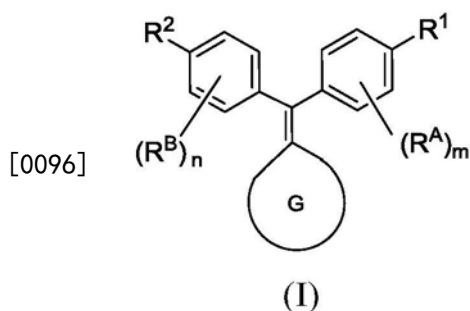
[0091] 术语“对象”或“患者”涵盖了哺乳动物和非哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于哺乳纲的任何成员:人类,非人类灵长动物例如黑猩猩和其他猿类和猴;牲畜例如牛、马、绵羊、山羊、猪;家畜例如兔、狗和猫;实验动物包括啮齿动物例如大鼠、小鼠和豚鼠等。非哺乳动物的实例包括但不限于鸟类、鱼类等。在本文中提供的方法和组合物的一个实施方式中,所述哺乳动物是人类。

[0092] 当在本文中使用时,术语“治疗”包括缓解、减轻或改善疾病或病症的症状,预防其他症状,改善或预防症状的潜在代谢原因,抑制所述疾病或病症,例如预防性地和/或治疗性地停止所述疾病或病症的发展、缓解所述疾病或病症、引起所述疾病或病症消退、缓解由所述疾病或病症引起的病症或停止所述疾病或病症的症状。

[0093] 术语“FRET”意味着“荧光共振能量转移”或“福斯特共振能量转移”,并且是指在一个分子或分子系统中,能量量子通过供体与受体物质之间的共振相互作用从其吸收位点(供体)到其利用位点(受体)的无辐射传输,传输距离远大于原子间距离,没有显著转变成热能,并且供体和受体不发生动力学碰撞。供体是最初吸收能量(例如光能或电子能)的组成部分。

[0094] 化合物

[0095] 本发明的第一方面提供了式(I)的化合物或组合物或其可药用盐。



[0097] 其中

[0098] G是任选被取代的多环亚烷基；

[0099]  $R^A$ 和 $R^B$ 在每次出现时独立地是卤素、 $C_{1-4}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 卤代烷基；

[0100]  $R^1$ 和 $R^2$ 独立地是-OH、卤素、-CN、-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T或-OR<sup>3</sup>，并且 $R^1$ 和 $R^2$ 中的至少一者是-OR<sup>3</sup>；

[0101] T是荧光受体或荧光供体；

[0102]  $R^3$ 是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>；

[0103]  $R^x$ 和 $R^y$ 在每次出现时独立地是氢、 $C_{1-4}$ 烷基、-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH，或者

[0104]  $R^x$ 和 $R^y$ 与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基，其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自 $C_{1-4}$ 烷基、卤素、-OH、 $C_{1-4}$ 卤代烷基和- $C_{1-4}$ 亚烷基-OH的取代基取代；

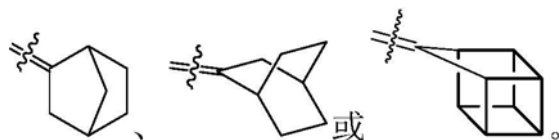
[0105] m是0、1、2、3或4；

[0106] n是0、1、2、3或4；并且

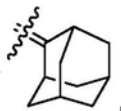
[0107] p是0、1、2、3、4或5。

[0108] G是本文中所定义的多环亚烷基。在某些实施方式中，G是C<sub>6-30</sub>双环或三环环系统或具有甚至更高的环数的环系统。在某些实施方式中，G是稠合环系统、桥接环系统或螺环系统。在某些实施方式中，G是C<sub>6-25</sub>、C<sub>6-20</sub>、C<sub>8-20</sub>或C<sub>10-20</sub>环系统。在某些实施方式中，G是本文中所公开的C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>11</sub>、C<sub>12</sub>、C<sub>13</sub>、C<sub>14</sub>、C<sub>15</sub>或C<sub>16</sub>多环亚烷基。G可以是取代或未取代的。在某些实施方式中，G被C<sub>1-10</sub>烷基、卤素、C<sub>1-10</sub>卤代烷基、C<sub>1-10</sub>羟基烷基、氰基、硝基、氨基或本文中所公开的其他取代基取代。在某些实施方式中，G是未取代的。

[0109] 在某些实施方式中，G是

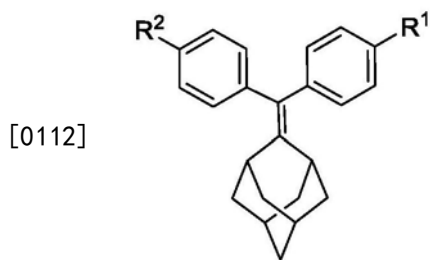


在特定实施方式中，G是



[0110] 在某些实施方式中，m是0。在某些实施方式中，n是0。在某些实施方式中，m和n两者都是0。

[0111] 在某些实施方式中，所述式(I)的化合物具有式(I-a)的结构



[0113] (I-a)

[0114] 其中 $R^1$ 和 $R^2$ 如上所定义。

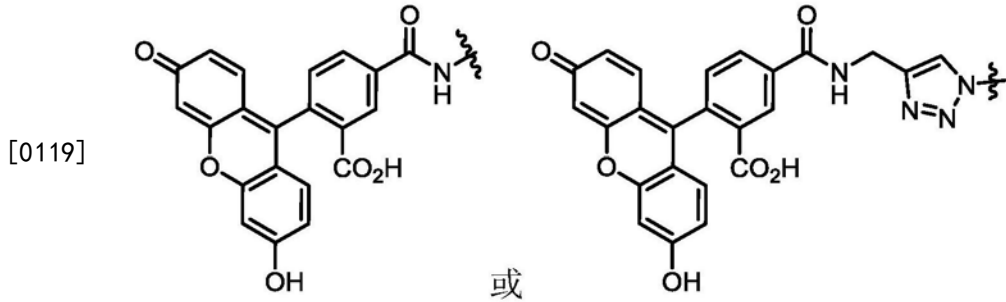
[0115] 在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OH、卤素或-CN,并且另一者是-OR<sup>3</sup>。在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是卤素(例如氯),并且另一者是-OR<sup>3</sup>。在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 两者独立地是-OR<sup>3</sup>。在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 两者独立地是-OR<sup>3</sup>,并且 $R^1$ 和 $R^2$ 是不同的。在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 两者独立地是-OR<sup>3</sup>,并且 $R^1$ 和 $R^2$ 是相同的。

[0116] 在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T,并且另一者是-OR<sup>3</sup>。在某些实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OC<sub>4-8</sub>亚烷基-L-T,并且另一者是-OR<sup>3</sup>。在特定实施方式中, $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-O(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-L-T,并且另一者是-OR<sup>3</sup>。

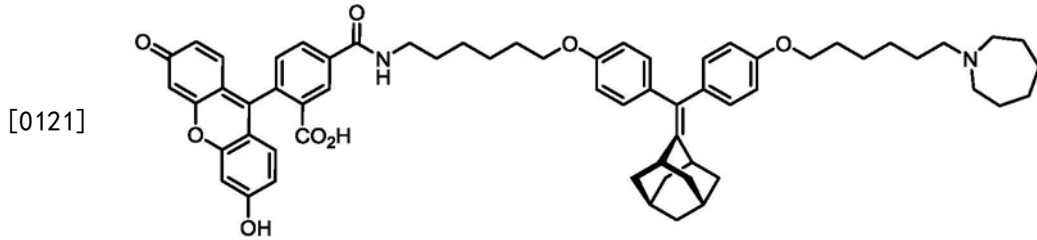
[0117] T可以是荧光受体或荧光供体。术语“荧光受体”或“荧光供体”可以包括适合于荧光共振能量转移(FRET)的任何组成部分或基团。在某些实施方式中,所述荧光受体和荧光供体是源自于荧光团的组成部分或官能团。适合的荧光团包括但不限于:咕吨衍生物(例如荧光素、罗丹明、俄勒冈绿、曙红、德克萨斯红等),花菁衍生物(例如花菁、吲哚羰花菁、氧杂羰花菁、硫杂羰花菁、部花菁等),蔡衍生物(例如丹磺酰基和普罗丹衍生物),噁二唑衍生物(例如吡啶基噁唑、硝基苯并噁二唑、苯并噁二唑等),茈衍生物(例如瀑布蓝),噁嗪衍生物(例如尼罗红、尼罗蓝、甲酚紫、噁嗪170等)、吡啶衍生物(例如原黄素、吡啶橙、吡啶黄等),芳基次甲基衍生物(例如金胺、结晶紫、孔雀石绿等),四吡咯衍生物(例如卟啉、酞菁、胆红素等),CF染料(Biotium),BODIPY(Invitrogen),ALEXA FLuoR(Invitrogen),DYLIGHT FLUOR(Thermo Scientific,Pierce),ATTO和TRACY(Sigma Aldrich),FluoProbes(Interchim),DY和MEGASTOKES(Dyomics),SULFO CY染料(CYANDYE,LLC),SETAU和SQUARE染料(SETA BioMedicals),QUASAR和CAL FLUOR染料(Biosearch Technologies),SURELIGHT染料(APC、RPE、PerCP、藻胆蛋白体)(Columbia Biosciences),APC、APCXL、RPE、BPE(Phyco-Biotech),自体荧光蛋白(例如YFP、RFP、mCherry、mKate),量子点纳米晶体等。对于FRET测定法来说,可以使用具有本文中所公开的T基团的化合物作为荧光受体或荧光供体分子,分别对应于另一个分子中的荧光供体或荧光受体。所述供体-受体对可以使用已知方法来选择。在某些实施方式中,T源自于荧光素或罗丹明类似物。在某些实施方式中,T源自于荧光素。

[0118] L可以是不干扰FRET实验的将T连接到母体分子的任何适合的连接物。在某些实施方式中,L是-(CR<sup>a1</sup>R<sup>a2</sup>)<sub>m1</sub>-,其中m1是1至100,任选地其中一个或多个CR<sup>a1</sup>R<sup>a2</sup>基团被选自O、N(R<sup>a3</sup>)、S(=O)和S(=O)<sub>2</sub>的杂原子或杂原子基团代替,任选地其中一个或多个CR<sup>a1</sup>R<sup>a2</sup>基团被C(=O)代替,任选地其中两个相邻的CR<sup>a1</sup>R<sup>a2</sup>基团形成CR<sup>a1</sup>=CR<sup>a1</sup>,并且任选地其中一个或多个CR<sup>a1</sup>R<sup>a2</sup>基团被-Cy-基团代替,其中每个Cy独立地选自芳基、杂芳基、环烷基、环烯基和杂环;其中R<sup>a1</sup>、R<sup>a2</sup>和R<sup>a3</sup>独立地选自氢和C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-烷基。在式(I)或式(I-a)的某些实施方式中,所

述-L-T基团是-NHC(O)-T。在特定实施方式中,所述-L-T基团是



[0120] 在某些实施方式中,公开了一种具有下述结构的化合物

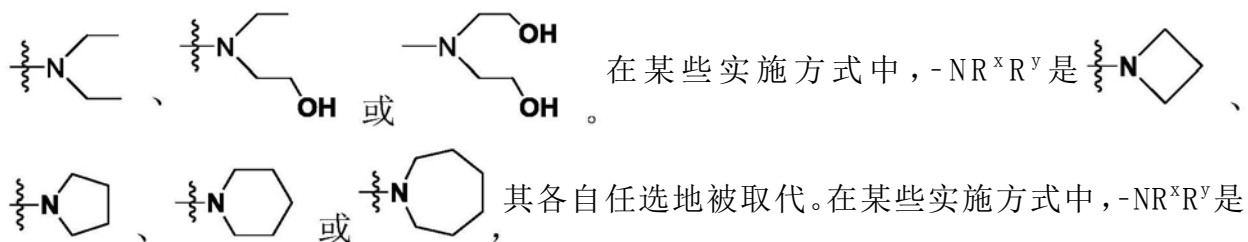


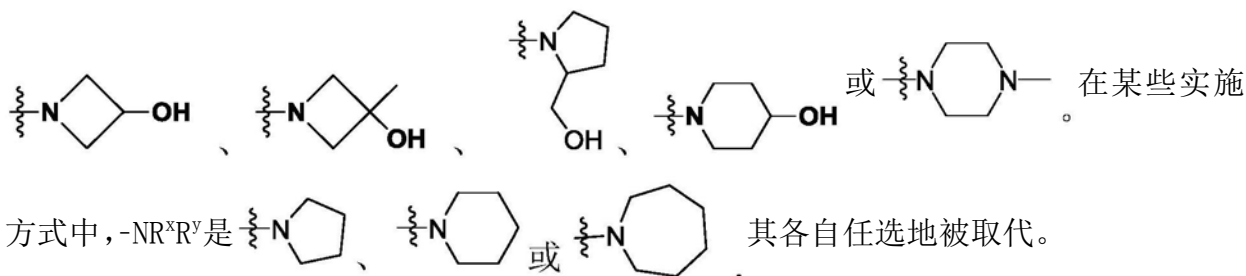
[0122] 或其盐,例如其可药用盐。

[0123] 在某些实施方式中,p是0、1或2。在某些实施方式中,R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>4-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>或-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-4</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>,其中p是0、1或2。在某些实施方式中,R<sup>3</sup>是-C<sub>4-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>。在某些实施方式中,R<sup>3</sup>是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>或-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>。在某些实施方式中,R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>。在特定实施方式中,R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>。

[0124] 在某些实施方式中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。在某些实施方式中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基,例如甲基或乙基。在某些实施方式中,R<sup>x</sup>是C<sub>1-4</sub>烷基,并且R<sup>y</sup>是-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。在某些实施方式中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,例如-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。在某些实施方式中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>两者都是乙基。在某些实施方式中,R<sup>x</sup>是乙基,并且R<sup>y</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。在某些实施方式中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>两者都是-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。

[0125] 在某些实施方式中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。正如本文中定义的,所述杂环可以具有少至4个环原子(例如4-、5-、6-、7-或8-元杂环),并且所述杂芳基可以具有至少5个环原子(例如5-、6-、7-或8-元杂芳基)。在某些实施方式中,-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是杂芳基,例如。在某些实施方式中,-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是





[0126] 本文中公开的化合物或组合物可以采取盐、例如可药用盐的形式。当在本文中使用时,术语“可药用盐”是指那些在合理的医学判断范围内,适合与人类和更低等动物的组织相接触使用而没有过度毒性、刺激性、过敏反应等,并且与合理的利益/风险比相称的盐。可药用盐在本领域中是公知的。例如,S.M.Berge等人在J Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19中详细描述了可药用盐,所述文献通过参考并入本文。本发明的化合物的可药用盐包括那些衍生自于适合的无机和有机酸和碱的盐。可药用的无毒性酸加成盐的实例是氨基与无机酸例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸或与有机酸例如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸或通过使用本领域中使用的其他方法例如离子交换所形成的盐。其他可药用盐包括己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡糖庚酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基乙磺酸盐、乳糖酸盐、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一烷酸盐、戊酸盐等。衍生自于适合的碱的盐包括碱金属、碱土金属、铵和N(C<sub>1-4</sub>烷基)<sub>4</sub>盐。本公开还设想了本文公开的化合物的任何碱性含氮基团的季铵化。可溶于或可分散于水或油的产物可以通过这种季铵化获得。代表性的碱或碱土金属盐包括钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在适合情况下,其他可药用盐包括无毒性铵、季铵和胺阳离子与平衡离子形成的盐例如卤化物、氢氧化物、羧酸盐、硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、短链烷基磺酸盐和芳基(例如苯基/取代苯基)磺酸盐。

[0127] 在某些实施方式中,本文公开的化合物或组合物采取可药用季铵盐的形式。例如,式(I)或(I-a)的化合物的R<sup>3</sup>基团的一个N原子可以被季铵化,使得R<sup>3</sup>采取-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>的盐形式,其中

[0128] R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,或者

[0129] R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代;

[0130] R<sup>z</sup>是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH;并且

[0131] X<sup>-</sup>是平衡离子,

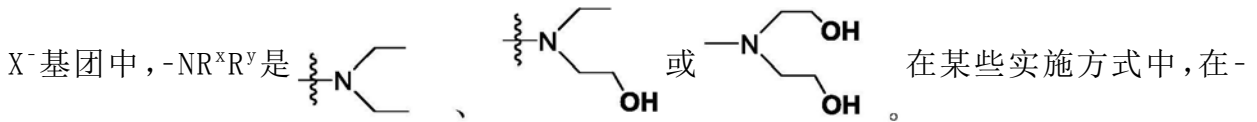
[0132] 其中G、R<sup>A</sup>、R<sup>B</sup>、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、n、m、p、L和T在存在时如上文所定义。

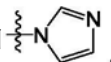
[0133] 在式(I)或式(I-a)的某些实施方式中,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者是-OR<sup>3</sup>,其中R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>。在式(I)或式(I-a)的某些实施方式中,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>两者

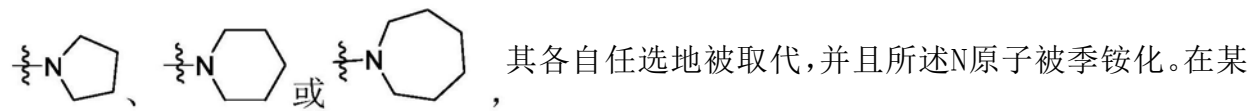
都是-OR<sup>3</sup>,其中每个R<sup>3</sup>基团独立地是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>。在式(I)或式(I-a)的某些实施方式中,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者或两者是-OR<sup>3</sup>,其中每个R<sup>3</sup>独立地是-C<sub>4-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>。在式(I)或式(I-a)的某些实施方式中,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者或两者是-OR<sup>3</sup>,其中每个R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>或-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>。在式(I)或式(I-a)的某些实施方式中,R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者或两者是-OR<sup>3</sup>,其中每个R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>。

[0134] 在某些实施方式中,在-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。例如,在每个-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>可以各自独立地是C<sub>1-4</sub>烷基例如甲基或乙基;或者R<sup>x</sup>可以是C<sub>1-4</sub>烷基并且R<sup>y</sup>可以是-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,或者R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>可以各自独立地是-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH例如-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。在某些实施方式中,-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中的R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>两者都是乙基。在某些实施方式中,-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中的R<sup>x</sup>是乙基并且R<sup>y</sup>是-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。在某些实施方式中,-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中的R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>两者都是-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。

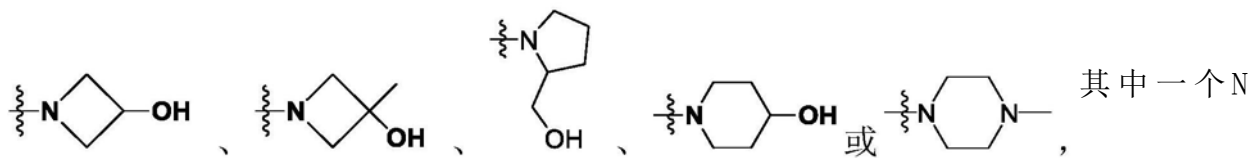
[0135] 在某些实施方式中,在-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。在某些实施方式中,在-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是



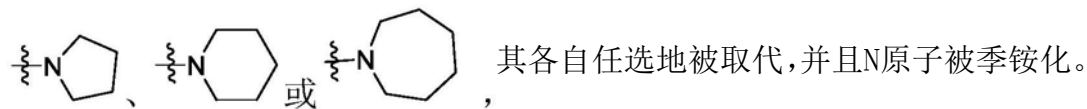
 其中所述杂芳基中的一个N原子被季铵化。在某些实施方式中,在-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是



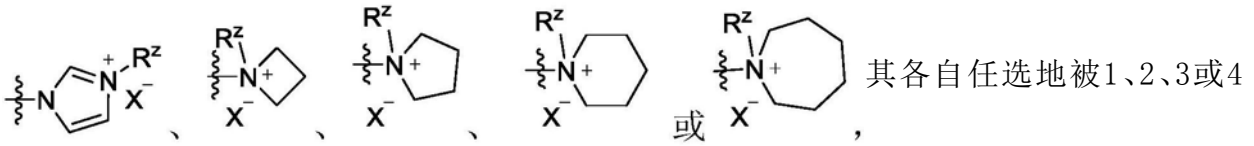
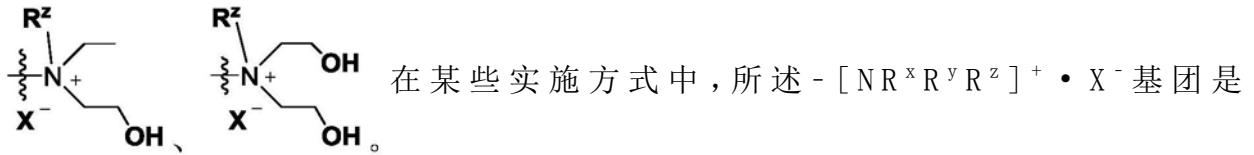
些实施方式中,在-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是



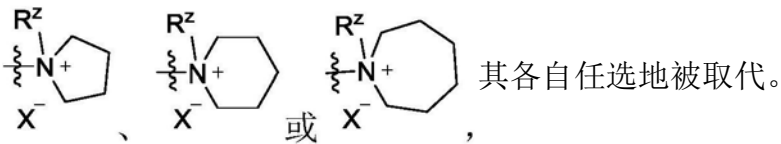
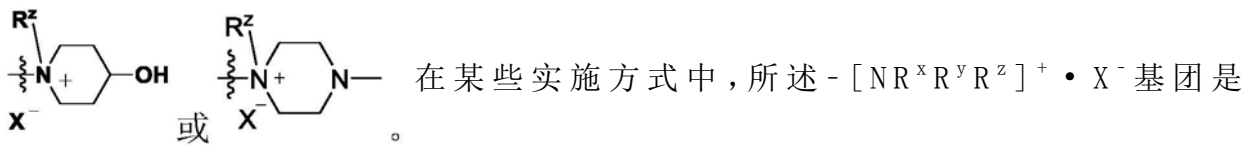
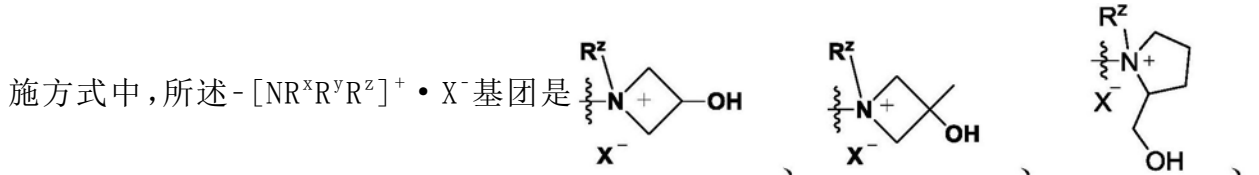
原子被季铵化。在某些实施方式中,在-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团中,-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是



[0136] 在某些实施方式中,所述-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团是 

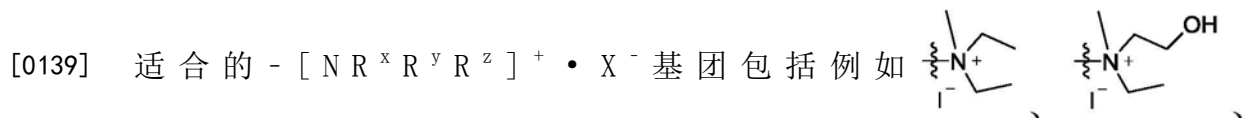


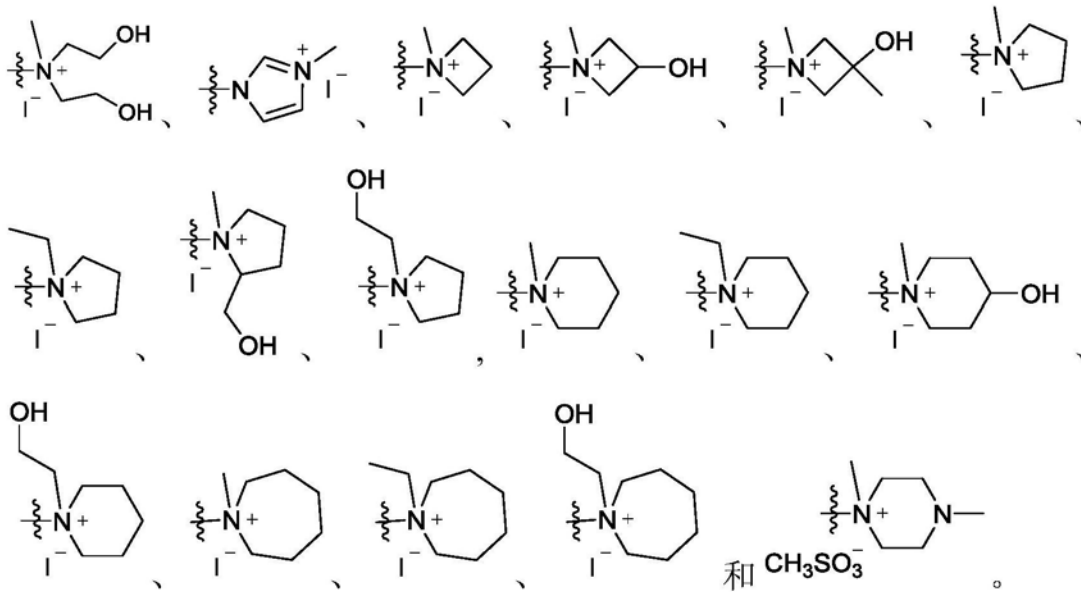
个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。在某些实



[0137] 在某些实施方式中,R<sup>z</sup>是甲基或乙基。在某些实施方式中,R<sup>z</sup>是甲基。在某些实施方式中,R<sup>z</sup>是-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH例如-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OH。

[0138] X<sup>-</sup>可以包括本领域中已知的任何适合的带负电荷平衡离子。在某些实施方式中,X<sup>-</sup>是卤离子、磺酸根(例如CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)、磷酸根(例如H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>)、乙酸根、草酸根、富马酸根、酒石酸根或乳酸根。在某些实施方式中,X<sup>-</sup>是I<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup>、Cl<sup>-</sup>或CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>。在特定实施方式中,X是I<sup>-</sup>或CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>。





[0140] 本文公开的代表性化合物和它们相应的季铵盐示出在图1中,其包括一种单胺和四种二胺化合物,在每种情况下伴有相应的甲碘化物盐或可药用甲基铵盐。

[0141] 公开了选自下述的化合物:

[0142] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)吡咯烷;

[0143] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)哌啶;

[0144] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)氮杂环庚烷;

[0145] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二吡咯烷;

[0146] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二哌啶;

[0147] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环庚烷);

[0148] 6,6'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N,N-二乙基己-1-胺);

[0149] 2,2'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(乙基氮烷二基))双(乙-1-醇);

[0150] 2,2',2'',2'''-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮烷三基))四(乙-1-醇);

[0151] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环丁烷);

[0152] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环丁-3-醇);

[0153] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(3-甲基氮杂环丁-3-醇);

- [0154] ((2S,2'S)-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(吡咯烷-1,2-二基))二甲醇;
- [0155] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(哌啶-4-醇);
- [0156] 5-((6-(4-(E)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)4-(6-(氮杂环庚-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)氨基)羰基)-2-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酸;
- [0157] 1-(6-(4-(Z)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)4-(6-(4-(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酰氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓碘化物;
- [0158] 4-(E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)4-(6-(二乙基氨基)己基)氧基)苯基)甲基)苯酚;
- [0159] 6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)4-氯苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基己-1-胺;
- [0160] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1H-咪唑;
- [0161] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-4-甲基哌嗪;
- [0162] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))二哌啶;
- [0163] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))双(氮杂环庚烷);
- [0164] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))二哌啶;
- [0165] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))双(氮杂环庚烷);
- [0166] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-8,1-二基))双(氮杂环庚烷);
- [0167] 2,2'-((((((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(N,N-二乙基乙-1-胺);
- [0168] 4,4'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌嗪);和
- [0169] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1H-咪唑),
- [0170] 或其可药用盐。
- [0171] 还公开了选自下述的季铵盐:
- [0172] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基吡咯烷-1-鎓碘化物;
- [0173] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基吡咯烷-1-鎓)二碘化物;

- [0174] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎗)二碘化物;
- [0175] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;
- [0176] 6-(4-(((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)4-((6-(二乙基(甲基)- $\lambda^4$ -氮烷基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基-N-甲基己-1-铵二碘化物;
- [0177] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(N-乙基-N-(2-羟乙基)-N-甲基己-1-铵)二碘化物;
- [0178] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(N,N-双(2-羟乙基)-N-甲基己-1-铵)二碘化物;
- [0179] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环丁烷-1-鎗)二碘化物;
- [0180] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(3-羟基-1,3-二甲基氮杂环丁烷-1-鎗)二碘化物;
- [0181] (1R,1'R,2S,2'S)-1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(2-(羟基甲基)-1-甲基吡咯烷-1-鎗)二碘化物;
- [0182] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(4-羟基-1-甲基哌啶-1-鎗)二碘化物;
- [0183] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)吡咯烷-1-鎗)二碘化物;
- [0184] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)哌啶-1-鎗)二碘化物;
- [0185] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;
- [0186] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-3-甲基-1H-咪唑-3-鎗碘化物;
- [0187] (S)-1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基-1 $\lambda^4$ -哌啶-2-基鎗碘化物;
- [0188] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗碘化物;
- [0189] 1-(4-(4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-(4-(1-甲基哌啶-1-鎗-1-基)丁氧基)苯基)甲基)苯氧基)丁基)-1-甲基哌啶-1-鎗二碘化物;
- [0190] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(丁-4,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;
- [0191] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎗)二碘化物;
- [0192] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎗)二碘化物;
- [0193] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(辛-

8,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物;和

[0194] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1,4-二甲基哌嗪-1-鎓)二甲磺酸盐。

[0195] 在另一个实施方式中,所述化合物包括同位素标记的形式。除了化合物的一个或多个原子已被具有与通常以更高自然丰度存在的原子的原子量或质量数不同的原子量或质量数的一个或多个原子代替这一事实之外,化合物的同位素标记的形式与所述化合物一致。容易商购并且可以通过公知的方法并入到化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、氟和氯的同位素,例如<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>18</sup>O、<sup>17</sup>O、<sup>18</sup>F和<sup>36</sup>Cl。

[0196] 除非另有陈述,否则本文中描绘的结构也意味着包括所述结构的所有异构体(例如对映异构体、非对映异构体和几何异构体(或构象异构体)形式;例如对于每个不对称中心来说R和S构型,(Z)和(E)双键异构体,以及(Z)和(E)构象异构体。因此,本发明的化合物的单个立体化学异构体以及对映异构体、非对映异构体和几何异构体(或构象异构体)混合物均在本发明的范围之内。除非另有陈述,否则本发明的化合物的所有互变异构体形式均在本发明的范围之内。因此,在本发明的范围之内包括本文公开的化合物的互变异构体。

[0197] 使用方法

[0198] 在寻找新的更优的FOX M1抑制剂中,使用FOX M1-DNA结合的时间分辨福斯特能量共振转移测定法(FRET)对商品化的、机构内部的化合物文库和NCI库藏进行了高通量筛选。从这个筛选获得了大量初始命中物,将它们在无细胞或基于细胞的测定法中进一步研究。与这些具有相对低效能的初始命中物不同,本公开提供了新的一族1,1-二芳基亚乙基单胺和二胺和它们相应的季铵盐(例如甲碘化物盐)。引人注目的是,本文公开的化合物或组合物或其盐可能具有极大提高的效能和良好的体内肿瘤抑制活性。

[0199] 本文公开的化合物或组合物或其盐在无细胞和基于细胞的测定法中以及在体内临床前乳腺肿瘤模型上可能具有FOX M1抑制活性。本发明的化合物或组合物可能直接结合到FOX M1,有效地抑制含有FOX M1的人类乳腺癌细胞的增殖,并降低FOX M1的细胞水平和FOX M1调控的基因的表达。本发明的化合物或组合物当与以前报道的抑制剂(例如FDI-6、硫链丝菌素)相比时可能具有提高的效能和更有利的体内药代动力学性质。在某些实施方式中,本文公开的抑制剂化合物在抑制NOD-SCID- $\gamma$  (NSG)小鼠中含有FOX M1的乳腺肿瘤的生长中表现出良好的口服功效,并在通过皮下给药时表现出良好的肿瘤抑制功效。本公开鉴定并表征了一类新的化合物,它们有效地拮抗FOX M1作用和肿瘤生长,并适合于在靶向由FOX M1驱动的侵袭性乳腺癌中进行进一步临床评估。

[0200] 本发明提供了与从FOX M1-DNA结合的抑制剂的高通量筛选获得的初始命中物不同的1,1-二芳基亚乙基化合物(例如图1)。本文公开的化合物和盐是一类新的1,1-二芳基亚乙基单胺和二胺化合物,它们起到FOX M1的有效抑制剂的作用。这些化合物和相应的盐(例如甲碘化物盐)可以抑制细胞增殖、FOX M1调控的基因的表达,并在实验性临床前小鼠模型中抑制乳腺异种移植肿瘤的生长,其中在这些生长被抑制的肿瘤中,FOX M1介导的基因表达被抑制。

[0201] 正如在本文的实施例中所示,在所研究的对培养物中的细胞显示出良好效能(IC<sub>50</sub>值小于0.5 $\mu$ M)和功效的胺化合物中,几种具有良好的体内PK性质。尽管NB-55和NB-65在s.c.给药后显示出良好的PK性质(半衰期和达到的血液水平),但只有NB-55在口服给药后

显示出良好的PK性质。值得注意的是,所有所述胺化合物的盐通过s.c.途径时均具有极大(5-50x)提高的血液水平,并保持长半衰期( $t_{1/2}$ =24至39h),其中NB-115是最理想的(例如如图6A-6B)。然而,这些盐通过口服途径时显示出非常低的生物利用度(血液水平)。由于NB-63、NB-68、NB-71、NB-73和NB-115的高且长时的血液水平,在使用低剂量(5或10mg/kg)每2或3天s.c.给药时,它们能够极大抑制体内肿瘤生长。相比较而言,NB-55需要每天以100mg/kg的剂量s.c.或口服治疗才能实现有效的肿瘤抑制,而20或40mg/kg的剂量被发现仅仅边缘有效(数据未示出),这与它良好但不杰出的达到的血液水平并与它在抑制细胞增殖中低5倍的效能相一致,正如在培养物中的细胞中的剂量响应研究中所看到的。值得注意的是,观察到以前报道的在培养物中的细胞中显示出与NB-55相近的效能的FOXM1抑制剂FDI-6,在s.c.或口服给药后具有非常不良的药代动力学性质(图12),表明它由于正如在非常低的达到的血液水平中看到的低的生物利用度而可能不被证明是临床上有用的。

[0202] 尽管已显示FDI-6对培养物中的细胞具有FOXM1抑制活性,但没有与它相关的体内数据发表。另一种促进FOXM1的蛋白酶体降解的FOXM1抑制剂硫链丝菌素不具有最佳选择性,因为许多其他蛋白质在细胞暴露到硫链丝菌素时也被标记为蛋白酶体降解。与FDI-6相关,RCM-1被表征为FOXM1抑制剂,但仅在哮喘模型中进行了为期3天的体内试验,在其中将它通过气溶胶直接递送到肺中。其他以前报道的FOXM1抑制剂也具有可能妨碍它们的临床使用的局限性。这些抑制剂包括p19Arf,这种肽具有低稳定性,但在培养物中的细胞中有效,并且当在小鼠中腹膜内给药时能够抑制肝肿瘤生长。此外,染料丙咪嗪蓝具有非常短的半衰期(在IV给药后 $t_{1/2}$ =11min),但据报道当在纳米粒子制剂中IV递送时具有针对FOXM1的抑制活性。

[0203] 有趣的是,本文中描述的FOXM1抑制剂能够在激素受体阳性(例如MCF7和他莫昔芬耐药性MCF7)和三阴性(例如DT22和MDA-MB-231)两者中以及在BT474(ER阳性、HER2阳性)的广范围的乳腺癌亚型中,起到乳腺癌细胞增殖抑制剂的作用,其中观察到对于抑制细胞增殖和FOXM1调控的基因的表达的相近的 $IC_{50}$ 浓度。事实上,在ER阳性乳腺癌、HER2阳性乳腺癌和三阴性乳腺癌中,存在着相当多的证据表明高肿瘤FOXM1对患者临床结果的有害影响。FOXM1在目前几乎没有最适疗法的特别具有攻击性的前列腺癌亚型(PCS1)和包括成胶质细胞瘤、卵巢癌、胃肠癌、非小细胞肺癌和胰腺导管腺癌在内的许多其他癌症中也发挥关键作用。因此,FOXM1抑制剂可能在各种不同的具有高FOXM1的肿瘤中 useful。

[0204] 几条证据表明我们的化合物靶向FOXM1。我们的研究显示,所述FOXM1抑制剂直接结合到FOXM1,并降低FOXM1蛋白的细胞内水平。值得注意的是,FOXM1抑制剂暴露提高了FOXM1被链霉蛋白酶的降解,正如在DARTS蛋白酶敏感性测定法中观察到的,暗示所述化合物扰乱FOXM1的结构,使它更容易被蛋白水解。所述化合物在富含FOXM1的细胞系(例如DT22)中更高的活性及其在具有低FOXM1的细胞(例如MCF10A)中降低的活性,再次支持了FOXM1是这些化合物的靶。同样地,FOXM1抑制剂在抑制DT22相比于MCF7肿瘤异种移植植物中更高的有效性,与FOXM1是这些化合物的靶相一致。细胞的FOXM1蛋白水平的变化可能也涉及FOXM1的翻译后修饰,例如已知影响FOXM1稳定性和/或活性的磷酸化或乙酰化。然而,由于所述抑制剂降低了FOXM1调控的基因(包括FOXM1本身)的表达,因此降低的细胞内FOXM1蛋白水平可能也源自于FOXM1基因转录的降低、mRNA降解的提高或FOXM1 RNA翻译的改变,可能涉及已知靶向FOXM1的miRNA。

[0205] 有趣的是,所述化合物在ER阴性和ER阳性细胞中并且也在他莫昔芬耐药性乳腺癌细胞中显示出良好的抑制活性。由于这些抑制剂在几种乳腺癌亚型中,当以低的亚微摩尔剂量单独给药时是有效的抗肿瘤剂,因此它们可以与靶向ER阳性复发性转移性内分泌疗法耐药性乳腺癌和侵袭性三阴性乳腺癌的治疗联合使用,此时与其他当前的标准护理治疗一起给药。例如,这些FOX M1抑制剂与氟维司群、来曲唑、PI3K抑制剂或CDK4/6抑制剂的组合可能能够提高肿瘤敏感性和响应,因为我们和其他人已显示在培养物中的细胞中FOX M1的敲除或用ARF抑制肽抑制FOX M1活性,能够在他莫昔芬耐药性乳腺癌细胞中恢复对他莫昔芬的敏感性。由于已发现高水平的FOX M1降低癌症对化学治疗剂和辐射的响应性,因此在三阴性乳腺癌中抑制FOX M1同样可以降低所需的化疗药物或辐射的量,从而改进癌症治疗并可能降低许多当前药物疗法的不想要的副作用。

[0206] FOX M1抑制和癌症

[0207] 另一方面,本公开提供了一种在对象中抑制FOX M1的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐或本文中描述的药物组合物。在某些实施方式中,用于所述抑制FOX M1的方法的可药用盐是本文中公开的季铵盐。

[0208] 另一方面,本公开提供了一种在对象中提高FOX M1的蛋白水解的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐或本文中描述的药物组合物。在某些实施方式中,用于所述提高FOX M1的蛋白水解的方法的可药用盐是本文中公开的季铵盐。

[0209] 另一方面,本公开提供了一种在对象中抑制癌症生长的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐或本文中描述的药物组合物。在某些实施方式中,用于所述抑制癌症生长的方法的可药用盐是本文中公开的季铵盐。在某些实施方式中,所述对象患有或被怀疑患有癌症。

[0210] 另一方面,本公开提供了一种在对象中治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的本文中公开的化合物或其可药用盐或本文中描述的药物组合物。在某些实施方式中,用于所述治疗癌症的方法的可药用盐是本文中公开的季铵盐。在某些实施方式中,所述待治疗的对象患有或被怀疑患有癌症。在某些实施方式中,所述治疗癌症的方法是本文中描述的治疗性治疗癌症的方法。作为非限制性实例,所述治疗可能引起癌症症状的缓解、疼痛或痛苦的减轻、癌症发展的抑制、癌症的消退和存活率的改善。

[0211] 另一方面,公开了用于抑制FOX M1的本文中所公开的化合物或其可药用盐。在某些实施方式中,所述用于抑制FOX M1的可药用盐是本文中所公开的季铵盐。

[0212] 另一方面,公开了用于抑制癌症生长的本文中所公开的化合物或其可药用盐。在某些实施方式中,所述用于抑制癌症生长的可药用盐是本文中所公开的季铵盐。

[0213] 另一方面,公开了用于治疗癌症的本文中所公开的化合物或其可药用盐。在某些实施方式中,所述用于治疗癌症的可药用盐是本文中所公开的季铵盐。

[0214] 另一方面,公开了本文中所公开的化合物或其可药用盐的用途,其用于制造药物以抑制FOX M1。在某些实施方式中,所述用于制造药物以抑制FOX M1的可药用盐是本文中所公开的季铵盐。

[0215] 另一方面,公开了本文中所公开的化合物或其可药用盐的用途,其用于制造药物以抑制癌症生长。在某些实施方式中,所述用于制造药物以抑制癌症生长的可药用盐是本

文中所公开的季铵盐。

[0216] 另一方面,公开了本文中所公开的化合物或其可药用盐的用途,其用于制造药物以治疗癌症。在某些实施方式中,所述用于制造药物以治疗癌症的可药用盐是本文中所公开的季铵盐。

[0217] 在某些实施方式中,所述癌症是乳腺癌、前列腺癌、成胶质细胞瘤、卵巢癌、胃肠道癌、非小细胞肺癌、胰腺导管腺癌或其组合。

[0218] 在某些实施方式中,所述癌症是乳腺癌。在实施方式中,所述乳腺癌是激素受体阳性乳腺癌、ER阳性乳腺癌、HER2阳性乳腺癌、三阴性乳腺癌、他莫昔芬耐药性乳腺癌或其组合。

[0219] 在另一个实施方式中,所述方法还可以包括向对象给药另外的癌症治疗。所述另外的癌症治疗可以包括但不限于化疗、辐射、氟维司群、来曲唑、PI3K抑制剂、CDK4/6抑制剂、ARF抑制肽或其组合。其他适合的另外的抗癌治疗剂或治疗也可以使用。给药上述组合物可以降低所述抗癌治疗剂的剂量,同时维持功效并降低由这些治疗引起的有害作用。

[0220] FOXM1结合测定法

[0221] 本文中公开的化合物和组合物可用于FOXM1结合测定法。适合于FOXM1结合测定法的本文中描述的化合物或其盐的二胺化合物的胺附属物之一可能被荧光供体或荧光受体代替。例如,所述化合物可以是式(I)或式(I-a)的化合物或其盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是 $-OC_{2-8}$ 亚烷基-L-T,并且另一者是本文中所公开的 $-OR^3$ 。可用于FOXM1结合测定法的本发明的化合物的盐可以包括可药用盐或适合于各种不同体外或体内实验的其他盐。在某些实施方式中,所述结合测定法包括荧光共振能量转移(FRET)测量,其中使用本文中公开的具有T基团的化合物或其盐作为荧光受体或荧光供体分子,分别对应于另一个分子中的荧光供体或荧光受体。供体-受体对的选择和FRET测量可以按照已知方法来进行。

[0222] 另一方面,提供了一种筛选可以充当FOXM1抑制剂的物质的测定方法,所述方法包括

[0223] 将下述组分

[0224] i) 与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXM1,

[0225] ii) 用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,和

[0226] iii) 式(I)或式(I-a)的化合物或其盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是 $-OC_{2-8}$ 亚烷基-L-T,并且另一者是 $-OR^3$ ,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分,

[0227] 在反应混合物中,在存在或不存在所述物质的情况下温育;

[0228] 将所述反应混合物暴露于允许发生荧光共振能量转移的光;并且

[0229] 测量来自于所述反应混合物的荧光发射;

[0230] 其中如果在所述物质存在下来自于所述反应混合物的荧光发射测量值不同于在所述物质不存在下来自于所述混合物的荧光发射测量值,则所述物质起到FOXM1抑制剂的作用。

[0231] 在某些实施方式中,所述测定方法还包括提供一种式(I)或式(I-a)的化合物或其盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是 $-OC_{2-8}$ 亚烷基-L-T,并且另一者是 $-OR^3$ ,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光受体

组成部分标记,则T是荧光供体组成部分。

[0232] 在某些实施方式中,所述测定方法还包括提供一种用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素。

[0233] 在某些实施方式中,所述测定方法还包括提供一种与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI。

[0234] 在某些实施方式中,所述温育通过将i)、ii)、iii)和所述测试物质混合在一起以形成允许温育的反应混合物来进行。

[0235] 在某些实施方式中,提供了一种可以充当FOXMI抑制剂的物质的筛选方法,所述方法包括下述步骤:

[0236] a) 提供与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI,

[0237] b) 提供用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,

[0238] c) 提供上述组合物,其中如果所述步骤b)中的链亲合素用荧光供体组成部分标记,则二胺化合物的胺附属物之一被荧光受体组成部分代替,并且其中如果所述步骤b)中的链亲合素用荧光受体组成部分标记,则上述组合物的二胺化合物的胺附属物之一被荧光供体组成部分代替,

[0239] d) 将所述FOXMI、链亲合素和上述组合物在反应混合物中,在存在或不存在所述物质的情况下温育;并且

[0240] e) 将所述反应混合物暴露于允许发生荧光共振能量转移的光,并测量来自于所述反应混合物的荧光发射;其中如果在所述物质存在下来自于所述反应混合物的荧光发射测量值不同于在所述物质不存在下来自于所述混合物的荧光发射测量值,则所述物质起到FOXMI抑制剂的作用。

[0241] 在某些实施方式中,所述步骤c)中的化合物是式(I)或式(I-a)的化合物或其可药用盐,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者是-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T,并且另一者是本文中所公开的-OR<sup>3</sup>。作为实例,所述-L-T可以是-NHC(O)-T。在某些实施方式中,T是荧光受体组成部分,并且所述步骤b)中的链亲合素用荧光供体组成部分标记。在某些实施方式中,T是荧光供体组成部分,并且所述步骤b)中的链亲合素用荧光受体组成部分标记。

[0242] 在某些实施方式中,本公开提供了一种筛选方法,所述方法包括:

[0243] 将下述组分混合以形成反应混合物:(a)与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI;(b)用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素;(c)本文中公开的化合物或其盐,其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>中的一者是-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T,并且另一者是-OR<sup>3</sup>,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,并且其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分;和(d)含有物质的测试样品或不含所述物质的空白样品;

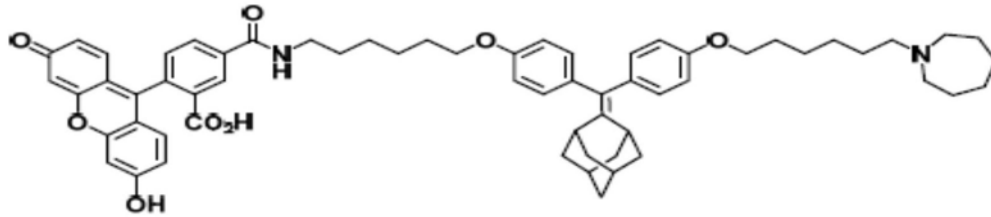
[0244] 将所述反应混合物暴露到光,由此产生荧光信号;并且

[0245] 测量所述荧光信号;

[0246] 其中来自于具有所述测试样品的反应混合物的荧光信号与来自于具有空白样品的反应混合物的荧光信号之间的差异,表明所述物质是FOXMI抑制剂。

[0247] 在特定实施方式中,所述可用于FOXMI结合测定法的化合物或组合物是:

[0248]



(FI-NB-72)

[0249] 或其盐。

[0250] 另一方面,提供了一种用于筛选可以充当FOXMI抑制剂的物质的试剂盒。所述试剂盒可以包含:

[0251] 包含在C-端与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI的溶液,

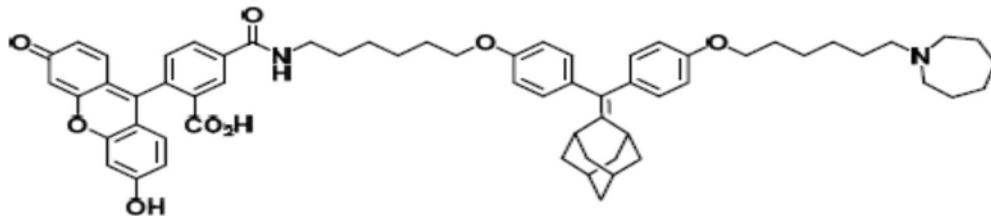
[0252] 包含用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素的溶液,

[0253] 包含本文中描述的化合物或组合物的溶液,其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则所述化合物或组合物用荧光供体组成部分标记,或者如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则所述化合物或组合物用荧光受体组成部分标记,和

[0254] 至少一种缓冲液。

[0255] 在某些实施方式中,所述试剂盒包含式(I)或式(I-a)的化合物或其可药用盐,其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是 $-OC_{2-8}$ 亚烷基-L-T,并且另一者是 $-OR^3$ 。作为实例,所述-L-T可以是-NHC(O)-T。在某些实施方式中,T是荧光受体组成部分,并且所述链亲合素用荧光供体组成部分标记。在某些实施方式中,T是荧光供体组成部分,并且所述链亲合素用荧光受体组成部分标记。在某些实施方式中,所述试剂盒包含

[0256]



[0257] 或其盐。所述试剂盒还可以含有阳性和阴性对照以及关于执行所述测定法的说明书。

[0258] 通常,本文中使用的命名和本文中使用的许多荧光、发光、计算机、检测、化学和实验室程序是本领域中常用的。通常将标准技术用于化学合成、荧光或发光监测和检测、光学系统、分子生物学以及计算机软件和集成。化学反应、细胞测定法和酶反应通常在适当情况下根据制造商的说明书进行。总的来说,关于荧光技术,参见Lakowicz, J.R.,《荧光光谱学主题》(Topics in Fluorescence Spectroscopy) (3卷), New York: Plenum Press (1991); 和Lakowicz, J.R.,“荧光光谱学在细胞成像中的新兴应用:寿命成像、金属配体探针、多光子激发和光猝灭”(Emerging applications of fluorescence spectroscopy to cellular imaging: lifetime imaging, metal-ligand probes, multi photon excitation and light quenching), Scanning Microsc. Suppl. Vol. 10 (1996), 第213-24页;关于分子生物学方法,参见Sambrook等,《分子克隆实验指南》(Molecular Cloning: A Laboratory Manual) 第二版, (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.;关于细胞生物学方法,参见《细胞实验指南》(Cell: A Laboratory Manual) 第一版,

(1998) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; 以及, 关于一般性光学方法, 参见《光学指南5》(Optics Guide 5), Melles Griot® Irvine Calif., 和《光学波导理论》(Optical Waveguide Theory), Snyder & Love (Chapman & Hall 出版), 所有上述文献通过参考并入本文。

[0259] 用于对发光材料进行各种不同的荧光或发光测定法的通用方法在本领域中是已知的, 并描述在例如 Lakowicz, J.R., 《荧光光谱学主题》(Topics in Fluorescence Spectroscopy), 第1至3卷, New York: Plenum Press (1991); Herman, B., “共振能量转移显微术” (Resonance Energy Transfer Microscopy), 在“培养物中的活细胞的荧光显微术” (Fluorescence Microscopy of Living Cells in Culture), B部分中, Methods in Cell Biology, vol. 30, Taylor, D.L. & Wang, Y.-L. 主编, San Diego: Academic Press (1989), pp. 219-243; Turro, N.J., 《现代分子光化学》(Modern Molecular Photochemistry), Menlo Park: Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc. (1978), pp. 296-361; 和 Bernard Valeur, 《分子荧光: 原理和应用》(Molecular Fluorescence: Principles and Applications), Wiley VCH, 2002。在特定共振受体组成部分的选择和使用中的指导可以在例如 Berlman, I.B., 《芳香族化合物的能量转移参数》(Energy transfer parameters of aromatic compounds), Academic Press, New York and London (1973) 中获得, 其含有用于选择共振能量转移对的光谱重叠积分表。另外的信息来源包括《分子探针目录》(Molecular Probes Catalog) (2003) 和网页; 以及 Tsien 等, 1990, 《生物共聚焦显微术手册》(Handbook of Biological Confocal Microscopy), pp. 169-178。用于进行 FP 和/或 RET 和 TR-RET 应用的仪器可以从 Tecan Group Ltd. (Switzerland) (Ultra, Ultra 384, Ultra Evolution)、Perkin-Elmer (Boston, Mass.) (Fusion, EnVision, Victor V 和 ViewLux)、Amersham Bioscience (Piscataway, N.J.) (LeadSeeker) 和 Molecular Devices Corporation (Sunnyvale, Calif.) (Analyst AD, GT 和 HT) 获得。

#### [0260] 给药

[0261] 正如本文中描述的, 本发明的化合物或其可药用盐或本文中别处描述的药物组合物们可以通过各种不同的方法给药到这些对象。在本文中描述的任何用途和方法中, 给药可以通过本领域技术人员已知的各种不同途径, 包括但不限于口服、吸入、静脉内、肌肉内、局部、皮下、系统性和/或腹膜内给药到需要的对象。

[0262] 用于治疗所需的本发明的化合物或其可药用盐的量不仅随着所选的具体化合物或盐而变, 而且随着给药途径、待治疗的雌激素受体依赖性和/或雌激素受体介导的疾病或病症的本质和/或症状和患者的年龄和状况而变, 并且最终将由主治医师或临床医师决定。在给药可药用盐的情况下, 剂量可以作为游离碱计算。正如本领域技术人员将会理解的, 在某些情况下, 可能必需以超过或甚至远远超过本文中描述的剂量范围的量给药本文中公开的化合物, 以便有效且攻击性地治疗特别具有侵袭性的雌激素受体依赖性和/或雌激素受体介导的疾病或病症。

[0263] 在某些实施方式中, 本文中公开的化合物或其可药用盐或药物组合物可以通过吸入、口服给药或静脉内给药来给药。然而, 一般来说, 适合的剂量通常在约 0.01mg/kg 至约 100mg/kg, 例如约 0.05mg/kg 至约 10mg/kg 的范围内。例如适合的剂量可以在约 0.10mg/kg 至约 7.5mg/kg 体重/天, 例如约 0.10mg/kg 至约 0.50mg/kg 接受者体重/天、约 0.10mg/kg 至约

1.0mg/kg接受者体重/天、约0.15mg/kg至约5.0mg/kg接受者体重/天、约0.2mg/kg至4.0mg/kg接受者体重/天的范围内。所述化合物可以以单位剂型给药,例如每个单位剂型含有1至100mg、10至100mg或5至50mg活性成分。

[0264] 所需剂量可以方便地以单剂量存在或作为分开的剂量以适合的时间间隔给药,例如作为每天2、3、4个或更多个子剂量。所述子剂量本身可以进一步分成例如多次分立的松散间隔的给药。

[0265] 正如对于本领域技术人员来说显而易见的,待给药的有用体内剂量和具体给药模式将随着年龄、体重、病痛的严重性和待治疗的哺乳动物物种、使用的具体化合物和使用这些化合物的具体用途而变。作为实现所需结果所必需的剂量水平的有效剂量水平的确定,可以由本领域技术人员使用常规方法例如人类临床试验、体内研究和体外研究来实现。例如,本发明的化合物或其可药用盐的有用剂量,可以通过比较它们的体外活性和在动物模型中的体内活性来确定。这种比较可以通过针对已确立的药物例如氟维司群的比较来进行。

[0266] 剂量的量和时间间隔可以根据个体调整,以提供活性组成部分的足以维持调节效果的血浆水平或最低有效浓度(MEC)。所述MEC将随着每种化合物而变,但可以从体内和/或体外数据估算。获得MEC所必需的剂量将取决于个体特征和给药途径。然而,FIPLC测定法或生物测定法可用于确定血浆浓度。剂量时间间隔也可以使用MEC值来确定。组合物应该使用在10-90%、优选地30-90%之间、最优选地50-90%之间的时间内维持血浆水平高于MEC的方案来给药。在局部给药或选择性摄入的情况下,所述药物的有效局部浓度可能不与血浆浓度相关。

[0267] 应该指出,主治医师将会知道如何以及何时由于毒性或器官功能障碍而终止、中断或调整给药。相反,如果临床反应不充分(排除毒性),主治医师也将知道将治疗调整到更高水平。在感兴趣的障碍的管理中给药剂量的大小将随着待治疗的雌激素受体依赖性和/或雌激素受体介导的疾病或病症的严重程度和给药途径而变。所述雌激素受体依赖性和/或雌激素受体介导的疾病或病症的严重程度可以例如部分通过标准的预后评估方法来评估。此外,剂量以及可能的给药频率,也将随着个体患者的年龄、体重和响应而变。与上文讨论的程序相当的程序可用于兽医中。

[0268] 本文公开的化合物、盐和组合物的功效和毒性可以使用已知方法来评估。例如,特定化合物或共有某些化学组成部分的化合物的子集的毒理学,可以通过确定对细胞系(例如哺乳动物细胞系,优选人类细胞系)的体外毒性来确立。这类研究的结果通常可以预测在动物例如哺乳动物或更具体来说人类中的毒性。或者,可以使用已知方法来确定特定化合物在动物模型例如小鼠、大鼠、兔、狗或猴中的毒性。特定化合物的功效可以使用几种公认的方法来确立,例如体外方法、动物模型或人类临床试验。在选择模型来确定功效时,专业技术人员可以在现有技术的指导下选择合适的模型、剂量、给药途径和/或方案。

[0269] 治疗有效量的本文公开的化合物或其可药用盐或本文公开的药物组合物可以单独给药,或者与治疗有效量的至少一种另外的抗癌治疗剂组合给药。在某些实施方式中,本文中公开的化合物或药物组合物与至少一种另外的抗癌治疗剂组合给药。在某些实施方式中,所述至少一种另外的抗癌治疗剂在本文公开的化合物或药物组合物给药之前或之后给药。

### [0270] 药物组合物

[0271] 在本发明的另一方面,提供了可药用组合物,其中这些组合物包含任何本文中描述的化合物,并任选地包含可药用载体、辅助剂或介质。在某些实施方式中,这些组合物任选地还包含一种或多种另外的治疗剂。在一个实施方式中,所述药物组合物包含治疗有效量的本公开的化合物或其本文中公开的可药用盐以及一种或多种可药用载体或介质。

[0272] 本发明的药物组合物可以通过本领域中公知的方法,利用常规的混合、溶解、成粒、糖衣丸制造、磨细、乳化、包封、包埋或冻干方法来制造。

[0273] 正如本文中描述的,本发明的可药用组合物另外包含可药用载体、辅助剂或介质,它们当在本文中使用时,包括适合于所需特定剂型的任何和所有溶剂、稀释剂或其他液体介质、分散或悬浮助剂、表面活性剂、等渗剂、增稠或乳化剂、防腐剂、固体粘合剂、润滑剂等。《Remington制药科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences),第16版,E.W.Martin (Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,1980)公开了用于配制可药用组合物的各种不同载体和用于其制备的已知技术。任何常规的载体介质,除非与本发明的化合物不相容,例如通过产生任何不希望的生物学作用或以有害的方式与所述可药用组合物的任何其他组分相互作用,否则其使用都被认为是在本发明的范围之内。可以充当可药用载体的材料的一些实例包括但不限于离子交换剂,氧化铝,硬脂酸铝,卵磷脂,血清蛋白例如人血清白蛋白,缓冲物质例如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸或山梨酸钾,饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物,水,盐或电解质例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐,胶体二氧化硅,三硅酸镁,聚乙烯吡咯烷酮,聚丙烯酸酯,蜡,聚乙烯-聚氧化丙烯嵌段聚合物,羊毛脂,糖类例如乳糖、葡萄糖和蔗糖,淀粉例如玉米淀粉和马铃薯淀粉,纤维素及其衍生物例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素,黄耆胶粉,麦芽,明胶,滑石,赋形剂例如可可脂和栓剂用蜡,油类例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油,二元醇例如丙二醇或聚乙二醇,酯类例如油酸乙酯和月桂酸乙酯,琼脂,缓冲剂例如氢氧化镁和氢氧化铝,海藻酸,无热原水,等渗盐水,林格氏溶液,乙醇和磷酸盐缓冲溶液,以及其他无毒的相容性润滑剂例如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,并且根据配方设计师的判断,所述组合物中还可以存在着着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和增香剂、防腐剂和抗氧化剂。

[0274] 取决于待治疗的疾病的严重程度,本发明的可药用组合物可以口服、直肠、肠胃外、脑池内、阴道内、腹膜内、局部(例如通过粉剂、软膏或滴剂)、颊、作为口或鼻喷剂等给药到人类和其他动物。

[0275] 用于肠胃外注射的药物组合物包含可药用无菌水性或非水性溶液、分散系、悬液或乳液,以及用于在即将使用之前重构成无菌注射溶液或分散系的无菌粉剂。适合的水性和非水性载体、稀释剂、溶剂或介质的实例包括水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)、植物油(例如橄榄油)、可注射有机酯类(例如油酸乙酯)及其适合的混合物。适合的流动性可以例如通过使用包衣材料例如卵磷脂,在分散系的情况下通过维持所需的粒径以及通过使用表面活性剂来维持。

[0276] 这些组合物也可以含有辅助剂例如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。通过包含各种不同的抗细菌和抗真菌剂例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸等,可以确保阻止微生物的作用。可能也希望包含等渗剂例如糖类、氯化钠等。通过包含延迟吸收的药剂例如单硬脂酸铝和明胶,可以带来可注射药物形式的延长吸收。

[0277] 在某些情况下,为了延长所述化合物或组合物的效应,希望减缓来自于皮下或肌肉内注射的药物的吸收。这可以通过使用水溶性不佳的结晶或无定形材料的液体悬液来实现。然后,所述药物的吸收速率取决于它的溶解速率,后者进而可以取决于晶体尺寸和晶型。或者,肠胃外给药的药物形式的延迟吸收通过将所述药物溶解或悬浮在油性介质中来实现。

[0278] 用于口服给药的液体剂型包括但不限于可药用乳液、微乳液、溶液、悬液、糖浆和酞剂。除了所述活性化合物之外,所述液体剂型还可以含有本领域中常用的惰性稀释剂例如水或其他溶剂,增溶剂和乳化剂例如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苯甲醇、苯甲酸苯甲酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油类(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃甲醇、聚乙二醇和失水山梨糖醇的脂肪酸酯及其混合物。除了惰性稀释剂之外,所述口服组合物还可以包含辅助剂例如润湿剂、乳化剂和悬浮剂、甜味剂、调味剂和增香剂。

[0279] 用于口服给药的固体剂型包括胶囊、片剂、丸剂、粉剂、黏固粉剂、油灰剂和颗粒剂。在这些固体剂型中,可以将所述活性化合物与至少一种惰性可药用赋形剂或载体例如柠檬酸钠或磷酸二钙和/或下述组分混合:a) 填充剂或增量剂,例如淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露醇和硅酸;b) 粘合剂,例如羧甲基纤维素、藻酸盐、明胶、聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖和阿拉伯胶;c) 保湿剂,例如甘油;d) 崩解剂,例如琼脂、碳酸钙、马铃薯或木薯淀粉、海藻酸、某些硅酸盐和碳酸钠;e) 缓溶剂,例如石蜡;f) 吸收加速剂,例如季铵化合物;g) 润湿剂,例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯;h) 吸附剂,例如高岭土和膨润土;和i) 润滑剂,例如滑石、硬脂酸钙、硬脂酸镁、固体聚乙二醇、月桂基硫酸钠及其混合物。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,所述剂型也可以包含缓冲剂。

[0280] 相似类型的固体组合物也可以在软质和硬质填充明胶胶囊中用作填充剂,使用诸如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等的赋形剂。片剂、糖衣丸剂、胶囊、丸剂和颗粒剂的固体剂型可以被制备成具有包衣和外壳例如肠溶包衣和药物配制领域中公知的其他包衣。它们可以任选地含有遮光剂,并且也可以是仅仅或偏好性地在肠道的某个部分中任选地以延迟方式释放出活性成分的组合物。可以使用的包埋组分的实例包括聚合物和蜡。相似类型的固体组合物也可以在软质和硬质填充明胶胶囊中用作填充剂,使用诸如乳糖或奶糖以及高分子量聚乙二醇等的赋形剂。

[0281] 所述活性化合物也可以与一种或多种上文提到的赋形剂一起采取微包胶形式。片剂、糖衣丸剂、胶囊、丸剂和颗粒剂的固体剂型可以被制备成具有包衣和外壳例如肠溶包衣、释放控制包衣和药物配制领域中公知的其他包衣。在这些固体剂型中,可以将所述活性化合物与至少一种惰性稀释剂例如蔗糖、乳糖或淀粉混合。按照常规做法,这些剂型还可以包含除惰性稀释剂以外的其他物质,例如压片润滑剂和其他压片助剂例如硬脂酸镁和微晶纤维素。在胶囊、片剂和丸剂的情况下,所述剂型还可以包含缓冲剂。它们可以任选地含有遮光剂,并且也可以是仅仅或偏好性地在肠道的某个部分中任选地以延迟方式释放出活性成分的组合物。可以使用的包埋组分的实例包括聚合物和蜡。

[0282] 用于直肠或阴道给药的组合物优选为栓剂,其可以通过将本发明的化合物与适合的非刺激性赋形剂或载体例如可可脂、聚乙二醇或栓剂用蜡混合来制备,所述赋形剂或载体在环境温度下是固体但在体温下是液体,因此在直肠或阴道腔内融化并释放出所述活性

化合物。

[0283] 用于本发明的化合物的局部或透皮给药的剂型包括软膏、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶、粉剂、溶液、喷剂、吸入剂或贴片。将所述活性组分在无菌条件下与可药用载体和任何需要的防腐剂或可能需要的缓冲剂混合。在本发明的范围内还设想了眼用剂型、滴耳液和滴眼液。另外，本发明设想了使用透皮贴片，其具有提供化合物向身体的受控递送的附加优点。这些剂型通过将所述化合物溶解或调配在适合的介质中来制备。也可以使用吸收促进剂来提高所述化合物跨过皮肤的通量。所述速率可以通过提供控制速率的膜或通过所述化合物分散在聚合物基质或凝胶中来控制。

[0284] 本文描述的化合物可以作为包含所述感兴趣的化合物与一种或多种可药用载体的组合的药物组合物来给药。然而，应该理解，所述化合物和组合物的每日总剂量可以由主治医师在合理的医学判断范围之内决定。对于任何特定患者来说，具体的治疗有效剂量水平可以取决于各种不同因素，包括待治疗的障碍和所述障碍的严重程度，使用的具体化合物的活性，使用的具体组合物，所述患者的年龄、体重、总体健康和既往医疗史、性别和饮食，给药时间、给药途径和使用的具体化合物的排泄速率，治疗的持续时间，与使用的具体化合物相组合或同时使用的药物，以及医学领域中公知的其他因素。例如，以低于实现所需治疗效果所需的水平开始所述化合物的给药并逐渐提高剂量直至实现所需效果，完全在本领域技术范围之内。对于特定患者和特定给药方式来说，为了获得有效实现所需治疗响应的活性化合物的量，可以改变所述药物组合物中所述活性成分的真实剂量水平。在某些医学病症的治疗中，为了实现所需治疗响应，可能需要化合物的重复或长期给药。“重复或长期给药”是指在数天、数周、数月或更长的时间段内每天（即每一天）或间歇地（即不是每一天）给药化合物。

[0285] 本文描述的组合物可以与另外的组合物一起给药以延长所述组合物的稳定性、递送和/或活性，或与另外的治疗剂组合，或在另外的治疗剂给药之前或之后提供。

[0286] 组合疗法包括给药含有一种或多种本文描述的化合物和一种或多种另外的药剂的单一药物剂型，以及在自己单独的药物剂型中给药所述化合物和每种另外的药剂。例如，本文描述的化合物和一种或多种另外的药剂，可以在具有固定比例的每种活性成分的单一口服剂量组合物例如片剂和胶囊中一起给药到所述患者；或者可以将每种药剂在单独的口服药剂剂型中给药。在使用单独的剂型的情况下，本发明的化合物和一种或多种另外的药剂可以基本上同时（例如同时地）或在分别错开的时间（例如顺序地）给药。

[0287] 对于成年人来说，所述剂量在通过吸入时通常为约0.01至约100mg/kg，理想为约0.1至约1mg/kg体重/天，通过口服给药时为约0.01至约100mg/kg，理想为0.1至70mg/kg，更理想为0.5至10mg/kg体重/天，并且通过静脉内给药时为约0.01至约50mg/kg，理想为0.1至1mg/kg体重/天。

[0288] 下面将参考附图更全面地描述所述组合物和方法，在所述附图中示出了本发明的一些但不是所有的实施方式。事实上，本发明可以以许多不同形式体现，并且不应被解释为限于本文中阐述的实施方式。

[0289] 同样地，受益于前面的说明书和相关附图中呈现的教导，本发明所属领域的技术人员将会想到本文中描述的组合物和方法的许多修改和其他实施方式。因此应当理解，本发明不限于所公开的特定实施例，并且打算将修改和其他实施方式包括在权利要求书的范

围之内。尽管在本文中使用了特定术语,但它们仅在一般性和描述性意义上使用,而不是出于限制的目的。

[0290] 除非另有定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的技术人员通常理解的相同的含义。尽管与本文中描述的相似或等同的任何方法和材料可用于本发明的实践或试验,但本文中描述了优选的方法和材料。

## 具体实施方式

### [0291] 材料和方法

[0292] 化学合成化合物和材料由指明的来源提供:吡咯烷、哌啶、哌啶-4-醇、2-(S)-羟甲基吡咯烷、氮杂环庚烷、碳酸铯、2-金刚烷酮、4,4'-二羟基二苯甲酮、TiCl<sub>4</sub>、锌和6-溴己醇(Aldrich, Milwaukee WI);氮杂环丁烷、3-羟基氮杂环丁烷和3-羟基-3-甲基氮杂环丁烷(Combi-block, CA)。DMF、甲醇、二乙醚、二氯甲烷、碘甲烷、正己烷和乙酸乙酯购自Fisher science。所有溶剂不需进一步纯化直接使用。除非另有陈述,否则收率是指层析和波谱学(<sup>1</sup>H NMR)均质的材料。反应通过在Merck硅胶60F254预包被板(0.25mm)上进行的薄层层析(TLC)来监测,使用UV光作为可视化剂,并使用钼酸铈铵和热作为显色剂。制备性TLC板(硅胶GF, 20x 20cm, 1000微米)购自Analtech Co.Ltd。快速柱层析在来自于SiliCycle的Silica P快速硅胶(40-64μM, 60 Å)上进行。<sup>1</sup>H NMR波谱在23°C下,在Varian Unity-400、Varian Inova-500或Varian Unity-500波谱仪上记录,并使用残留质子作为内标(CHCl<sub>3</sub>, δ = 7.26, 中线)以ppm为单位报告。使用下述缩略语来解释多重性:s = 单峰,d = 双峰,dd = 双重双峰,t = 三重峰,q = 四重峰,m = 多重峰,hep = 七重峰,br = 宽峰。质子解耦<sup>13</sup>C NMR波谱在Varian Unity-500(126MHz)波谱仪上记录,并使用溶剂作为内标(CDCl<sub>3</sub>, δ = 77.16, 中线)以ppm为单位报告。高和低分辨率质谱在伊利诺伊大学质谱实验室(University of Illinois Mass Spectrometry Laboratory)(Q-TOF Ultima API, Waters Co.Ltd.)获得。

[0293] 细胞系和细胞培养方法MCF7和其他乳腺癌细胞系从ATCC获得并按照描述来维持和培养(Bergamaschi等, Breast Cancer Res., 2014, 16:436; Madak-Erdogan等, Mol.Syst.Biol., 2013, 9:676; Zhao等, Cancer Res., 2017, 77:5602-13)。DT22细胞源自于人类三阴性浸润性乳腺导管癌,并按照描述在培养基中生长(Drews-Elger等, Breast Cancer research and treatment, 2014, 144:503-17)。所有细胞均使用实时PCR支原体检测试剂盒(Akron Biotech, Boca Raton, FL)进行支原体测试。

[0294] 细胞增殖测定法按照描述,使用WST-1测定法(Roche, Basel, Switzerland)来定量细胞存活率(Gong等, Mol.Cell Endocrinol., 2016, 437:190-200)。使用VICTOR X5 PerkinElmer 2030Multilabel读板器在450nm处测量吸光值。所有测定进行一式三份。

[0295] 细胞内Western和Western印迹测定法将细胞以3000个细胞/孔的密度在96孔板中培养,并用化合物处理所指示的时间。将细胞在PBS中清洗两次,用PBS中的4%甲醛(Fisher Scientific)溶液固定,在含有0.1% Triton X-100的PBS中通透化,用Odyssey阻断缓冲液(LI-COR)阻断,并与FOXMI抗体(GeneTex, 102170)兔HC-20ERα抗体(Santa Cruz, 目录号SC-543)或小鼠F10 ERα抗体(Santa Cruz, 目录号SC8002)在4°C下温育过夜。将IRDye 800CW山羊抗兔第二抗体(LI-COR, 目录号926-32211)和Cell Tag 700(LI-COR, 目录号926-41090)两者稀释(1:600),用于与细胞温育。将板清洗,使用LI-COR Odyssey红外成像系统对染色

信号进行定量,并使用Cell Tag信号归一化(以控制每个孔的细胞数目的任何差异)。相对于介质处理的WT样品计算蛋白质水平的变化倍数。结果是来自于至少三个独立实验的平均值 $\pm$ SD,每个实验使用每种处理条件4个孔来进行。

[0296] 对于Western印迹分析来说,使用增补有1X完全蛋白酶抑制剂混合物(Roche)的1X RIPA裂解缓冲液(Upstate/Chemicon)制备全细胞提取液。将蛋白质在4-20%SDS-PAGE凝胶上分离并转移到硝酸纤维素膜。Western印迹分析使用针对FOXM1(Abcam 184637)、ER $\alpha$ (Santa Cruz)和作为内部载样对照的 $\beta$ -肌动蛋白(Sigma-Aldrich)的抗体。

[0297] RNA分离和实时PCR使用TRIzol(Invitrogen)分离总RNA并使用MMTV反转录酶(New England BioLabs)进行反转录。实时PCR使用SYBRgreen PCR主混合物(Roche)按照描述来进行(Bergamaschi等,Breast Cancer Res.,2014,16:436)。将基因的相对mRNA水平归一化到看家基因36B4,并计算相对于介质处理的样品的变化倍数。结果是来自于至少两个一式三份进行的独立实验的平均值 $\pm$ SD。用于所研究的基因的引物序列从Harvard Primer Bank获得。序列可以在它们的网站上获得。

[0298] 药物亲和反应性靶稳定性(DARTS)测定法所述DARTS测定法按照描述来进行(Pai等,Methods Mol.Biol.,2015,1263:287-98),以检查抑制剂对FOXM1对抗外源链霉蛋白酶的蛋白水解作用的稳定性的影响。将DT22细胞裂解液不与或与10 $\mu$ M NB-73在室温下温育1h,并与不同浓度的链霉蛋白酶(无、1:10<sup>3</sup>、1:10<sup>4</sup>、1:10<sup>5</sup>和1:10<sup>6</sup>) 在室温下温育另外的30min。然后将蛋白质在4-20%SDS-PAGE凝胶上分离,并将凝胶暴露于FOXM1抗体(Abcam兔多克隆抗体1:750)和 $\beta$ -肌动蛋白抗体(1:500,小鼠单克隆抗体)。

[0299] 药代动力学研究所有涉及动物的实验均根据美国国立卫生研究院(National Institutes of Health)(NIH)的动物护理和使用标准,并按照由伊利诺伊大学(University of Illinois)IACUC批准的方案来进行。在通过s.c.注射或口服管饲单剂给药到雌性CD1小鼠(7-9周龄)中之后,按照描述监测化合物的药代动力学(Zhao等,Cancer Res.,2017,77:5602-13)。对于s.c.注射来说,将每种化合物溶解在DMSO中,然后与玉米油混合,每只小鼠的总注射体积为100 $\mu$ L(10%DMSO+90%玉米油)。对于口服管饲来说,化合物在PEG400/Tween80/聚维酮/0.5%羧甲基纤维素比例为9/0.5/0.5/90份的200 $\mu$ L制剂中给药。在化合物给药后48h的过程中从每只小鼠(每个实验n=4只)收集多个血浆样品。在伊利诺伊大学代谢组学中心实验室(University of Illinois Metabolomics Core Facility)通过LC-MS/MS定量化合物。将数据拟合到非隔室模型。

[0300] 体内乳腺癌异种移植物研究为了研究三阴性DT22乳腺肿瘤的生长,使用了完好的雌性NOD/SCID- $\gamma$ (NSG)小鼠。将DT-22细胞(1 $\times$ 10<sup>6</sup>个细胞/小鼠)s.c.注射到右轴乳腺中。如所指示的,小鼠每天或每两天或每三天接受使用介质或FOXM1抑制剂化合物的s.c.注射或口服管饲,并随时间监测肿瘤生长。

[0301] 为了研究ER阳性MCF7异种移植物肿瘤的生长,将雌性NSG小鼠切除卵巢,并在卵巢切除术后2周给动物增补0.36mg E2球粒(释放60天,Innovative Research of America)以支持ER+肿瘤生长。将野生型MCF7细胞的细胞悬液(1 $\times$ 10<sup>6</sup>个细胞/小鼠)皮下(sc)注射到右轴乳腺中,并且当肿瘤尺寸达到100-150mm<sup>3</sup>时,将小鼠随机分组并以所指示的频率通过s.c.注射或口服管饲(PEG400/PVP/Tween/CMC作为介质)接受化合物或对照介质(玉米油),并随时间监测肿瘤体积(长度 $\times$ 宽度<sup>2</sup>/2)。

[0302] RNA-Seq转录情况分析和基因本体分析对于基因表达分析来说,使用Trizol试剂从细胞提取总RNA,并使用Turbo DNase和RNAqueous试剂盒(ThermoFisher)进一步清洁。将细胞用介质(0.1%EtOH)或所指示的化合物处理9h或24h。一旦样品质量和平行样可重复性得到核实后,对来自于每一组的样品进行测序。将在无核酸酶水中浓度为100ng/ $\mu$ L的RNA用于文库构建。cDNA文库使用mRNA-TruSeq试剂盒(Illumina, Inc.)来制备。简单来说,从总RNA纯化含有poly-A的mRNA,将所述RNA片段化,从片段化的RNA产生双链cDNA,并将衔接头连接到末端。

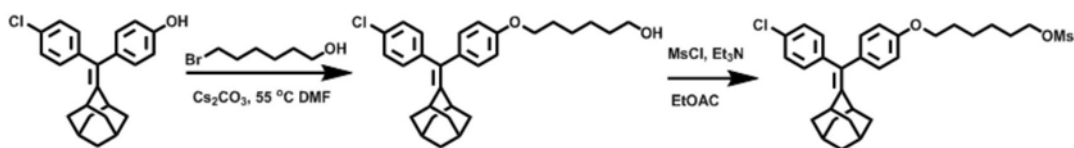
[0303] 通过一系列步骤对来自于HiSeq 4000的配对末端读出数据进行处理和分析。使用Casava 1.8.2完成每条道内的样品的碱基检出和解复用。所述RNA序列使用Illumina's TruSeq Stranded mRNAseq样品制备试剂盒来制备。使用Trimmomatic 0.38版从读出数据中修剪掉衔接头和低表达数据。使用星比对工具(star alignment tool)2.5.3a版将测序的读出序列与来自于Ensembl的GRCh37人类基因组进行比对。基因计数使用subread 1.5.2版来计算。将R中的edgeR Bioconductor软件包用于归一化和差异表达分析。使用默认的归一化方法,具体来说将M值的修整的平均值或TMM用于计算归一化的表达值。这种方法以逐个基因的方式计算对数表达比的加权修整平均值。变化倍数>2并且p-值<0.05的基因被认为统计学显著地差异表达。

[0304] 使用基因集富集分析(GSEA)来研究基因组广度的表达情况。通过基于网络的DAVID生物信息学资源(DAVID Bioinformatics Resources)数据库来确定比例过高的GO生物过程。

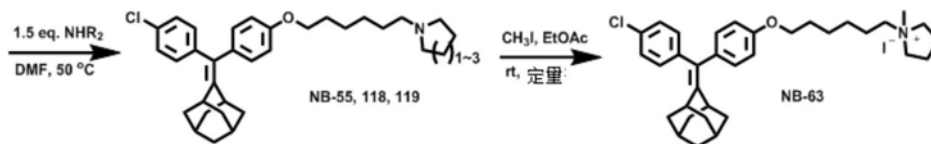
[0305] 实施例1:化合物合成

[0306] 在本研究中使用的化合物按照下面的两种合成方案来制备。表1中的单胺化合物和相应的季铵盐可以按照方案1的合成过程来制备。表2-4中的二胺化合物和相应的季铵盐可以按照方案2的合成过程来制备。在下面的方案和实施例中使用的缩略语是:DCM是二氯甲烷;DMF是二甲基甲酰胺;DMSO是二甲基亚砜;LAH是氢化锂铝;MeOH是甲醇;MsCl是甲磺酰氯;PBS是磷酸盐缓冲液;SaTb是链亲合素-铽螯合物;THF是四氢呋喃。

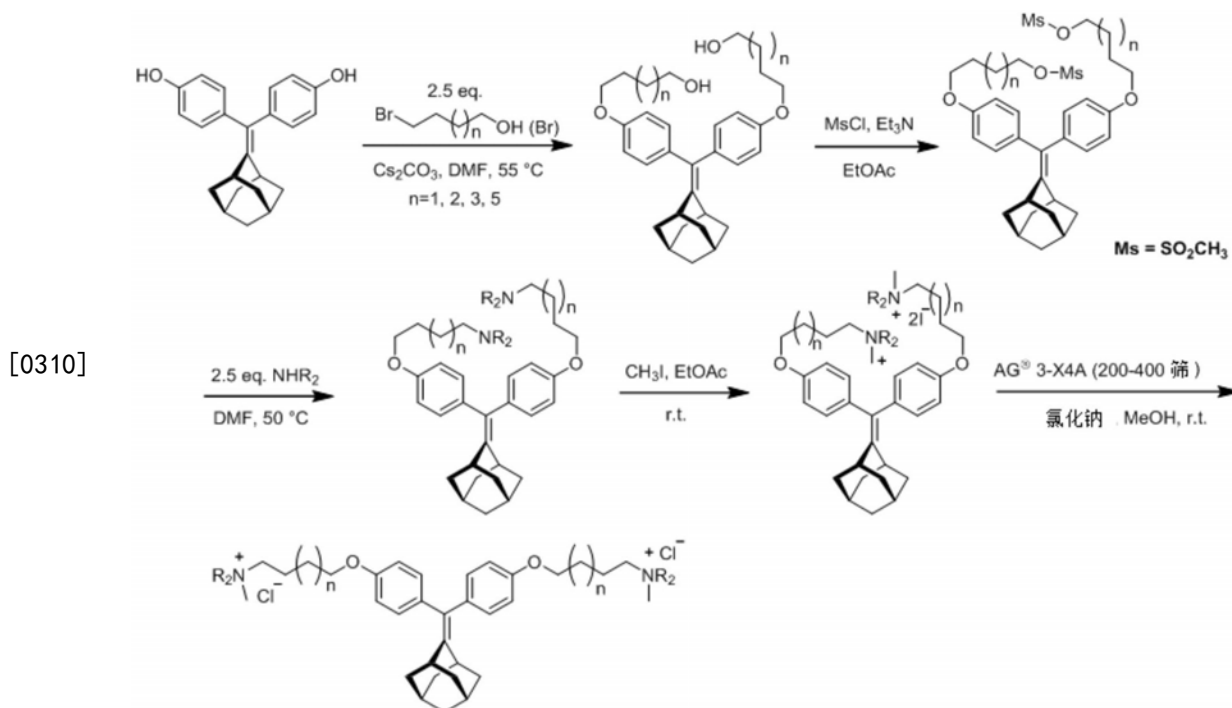
[0307] 方案1.NB-55、118和119及其季铵盐的制备



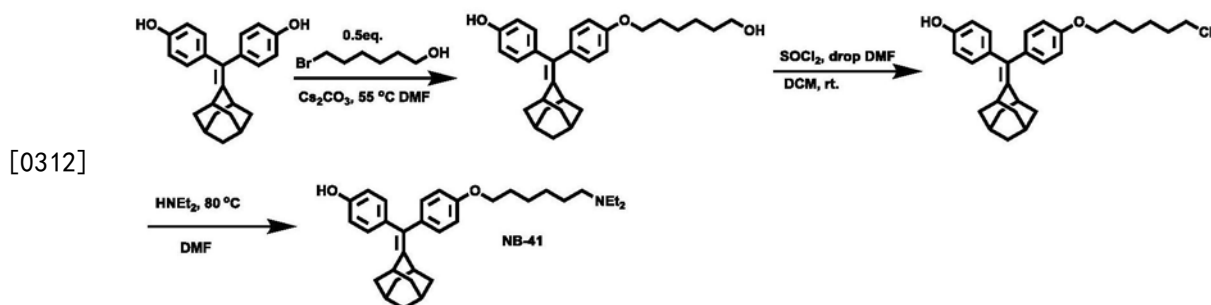
[0308]



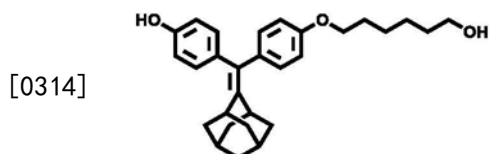
[0309] 方案2.NB-51、65、70和72及其季铵盐的制备



[0311] 4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(二乙氨基)己基)氧基)苯基)甲基)苯酚(NB-41)



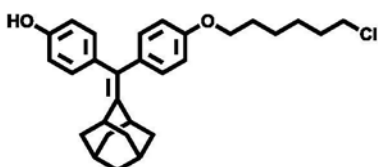
[0313] 4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-羟基己基)氧基)苯基)甲基)苯酚



[0315] 将4,4'-(((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)二苯酚(166mg,0.5mmol)、6-溴己醇(45mg,0.25mmol)和碳酸铯(326mg,1.00mmol)的混合物溶解和悬浮在无水的DMF(2mL)中,加热至55℃并搅拌5hr。一旦起始原料(双酚)在SiO<sub>2</sub> TLC上完全消失后,通过添加水(20mL)将所述反应淬灭,然后用乙酸乙酯萃取(20mL x 3),用硫酸钠干燥,在真空下浓缩,装载在硅胶柱上进行纯化。用乙酸乙酯和正己烷的混合物(50:50,v/v)洗脱,提供粘性半固体产物(86mg,80%)。<sup>1</sup>H NMR(500MHz,氯仿-d) δ1.37-1.55(m,4H),1.62(quintet,J=6.7Hz,2H),1.79(quintet,J=6.8Hz,2H),1.86(s,10H),2.01(s,2H),2.80(s,2H),3.68(t,J=6.6Hz,2H),3.95(t,J=6.3Hz,2H),6.75(d,J=8.5Hz,2H),6.81(6.75(d,J=8.5Hz,2H),6.91-7.11(m,4H)。

[0316] 4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-氯己基)氧基)苯基)甲基)苯酚

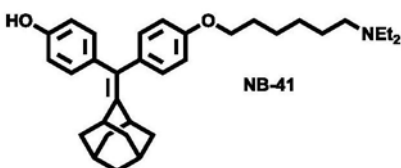
[0317]



[0318] 将4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基) (4-((6-羟基己基)氧基)苯基)甲基)苯酚 (22mg, 0.12mmol) 用亚硫酸氯 (100 $\mu$ L) 和一滴DMF在二氯甲烷 (5mL) 中、在rt处理1hr并将溶液蒸发, 定量得到标题化合物。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.44-1.58 (m, 4H), 1.74-1.95 (m, 16H), 2.01 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 3.57 (t, J=6.7Hz, 2H), 3.95 (t, J=6.4Hz, 2H), 6.75 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.81 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.00 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.04 (d, J=8.1Hz, 2H)。

[0319] 4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基) (4-((6-(二乙氨基)己基)氧基)苯基)甲基)苯酚 (NB-41)

[0320]

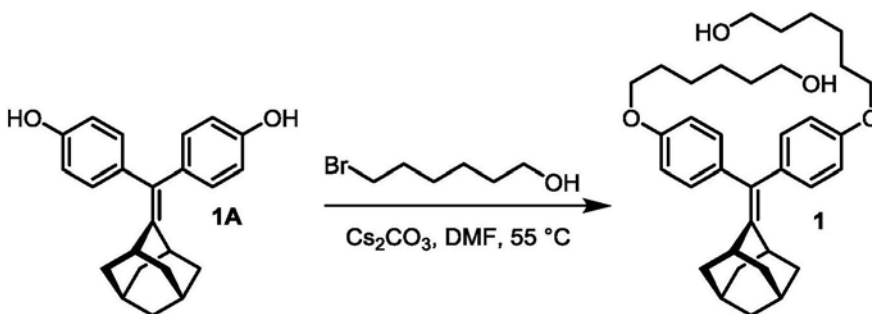


[0321] 遵照与为NB-54的制备所描述的相同的程序, 从4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基) (4-((6-氯己基)氧基)苯基)甲基)苯酚与6当量过量的二乙胺在DMF中、在80 $^{\circ}$ C下的反应, 以89%的收率获得NB-41。

[0322] <sup>1</sup>HNMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 1.02 (t, J=7.0Hz, 6H), 1.33 (quintet, J=7.0Hz, 2H), 1.40~1.51 (m, 2H), 1.73~1.92 (m, 14H), 2.00 (brs, 2H), 2.43 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.53 (q, J=7.0Hz, 4H), 2.81 (brs, 2H), 3.93 (t, J=6.0Hz, 2H), 6.76 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.80 (d, J=8.1Hz, 2H), 7.01 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.03 (d, J=8.1Hz, 2H)。

[0323] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-1-醇) (1)

[0324]

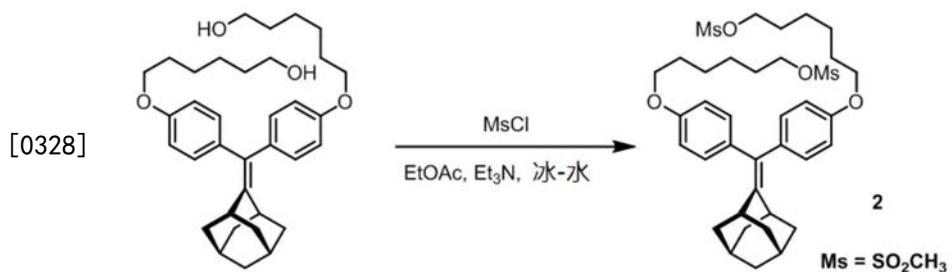


[0325] 将4,4'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)二苯酚 (332mg, 1.00mmol)、6-溴己醇 (434mg, 2.40mmol) 和碳酸铯 (652mg, 2.00mmol) 溶解和悬浮在无水DMF (5mL) 中, 加热至55 $^{\circ}$ C并搅拌5hr。一旦起始原料(双酚)在SiO<sub>2</sub> TLC上完全消失后, 通过添加水 (50mL) 将所述反应淬灭, 然后用乙酸乙酯萃取 (20mL x 3), 用硫酸钠干燥, 在真空下浓缩, 装载在硅胶柱上进行纯化。用乙酸乙酯和正己烷的混合物 (50:50, v/v) 洗脱, 提供粘性半固体产物 (480mg, 90%)。

[0326] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 1.38~1.59 (m, 8H), 1.62 (quintet, J=6.5Hz, 4H), 1.80 (quintet, J=6.5Hz, 4H), 1.87 (brs, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.81 (s, 2H), 3.67 (t, J=6.5Hz,

4H), 3.94 (t, J=6.5Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ25.78, 26.19, 28.47, 29.56, 32.94, 34.67, 37.45, 39.85, 63.18, 67.90, 113.99, 129.89, 130.83, 135.92, 145.88, 157.51。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+1) C<sub>35</sub>H<sub>49</sub>O<sub>4</sub>计算值为533.3631, 实测值为533.3636。

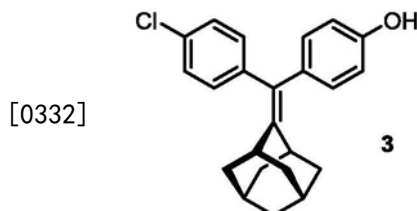
[0327] (((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二甲磺酸酯(2)



[0329] 在冰-水冷却浴中向1 (266mg, 0.50mmol) 和三甲胺 (303mg, 0.30mmol) 在乙酸乙酯 (5mL) 中的混合物逐滴添加甲磺酰氯 (172mg, 1.50mmol)。一旦二醇1从SiO<sub>2</sub> TLC消失之后, 将所述混合物用水洗涤 (5mL x 3)。将乙酸乙酯溶液用NaHCO<sub>3</sub> (1g) 和水 (5mL) 的混合物处理并继续搅拌1hr。将所述乙酸乙酯分离, 用硫酸钠干燥并在真空下浓缩, 得到作为无色粘性液体形式的标题化合物2 (320mg, 93%)。该产物足够纯, 不需进一步纯化即可使用。

[0330] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ1.45~1.57 (m, 8H), 1.76~1.83 (m, 8H), 1.87 (brs, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.80 (s, 2H), 3.02 (s, 6H), 3.95 (t, J=6.5Hz, 4H), 4.26 (t, J=6.5Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ25.49, 25.87, 28.47, 29.33, 29.38, 34.67, 37.44, 37.62, 39.85, 67.68, 70.22, 113.98, 130.00, 130.84, 135.97, 145.96, 157.44。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+Na) C<sub>37</sub>H<sub>52</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>Na计算值为711.3001, 实测值为711.3008。

[0331] 4-((-((Z)-((5S, 7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯酚(3)

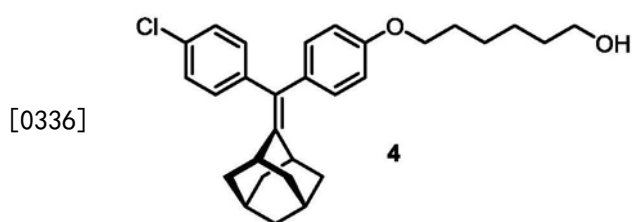


[0333] 在-78℃ (干冰-丙酮) 下向锌粉 (392mg, 6.00mmol) 在THF (20mL) 中的悬液逐滴添加TiCl<sub>4</sub> (567mg, 3.00mmol), 然后将所述反应混合物回流2hr并冷却到室温, 添加2-金刚烷酮 (155mg, 1.03mmol) 和(4-氯苯基)(4-羟基苯基)甲酮 (233mg, 1.00mmol) 在THF (10mL) 中的混合物。将所述反应混合物再次回流3hr。将所述反应混合物冷却至室温, 倾倒在饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液中并搅拌, 直至悬液颜色从黑色变成白色。将所述混合物用EtOAc萃取 (20mL x 3), 用盐水洗涤, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。在真空下蒸发掉溶剂, 然后使用10%EtOAc/正己烷作为洗脱剂在SiO<sub>2</sub>上进行柱层析, 得到标题化合物 (280mg, 80%)。

[0334] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ1.80~1.97 (m, 10H), 2.02 (s, 2H), 2.74 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 6.76 (d, J=8.5Hz, 2H), 6.99 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.06 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.27 (d, J=8.5Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ28.36, 31.26, 34.65, 34.74, 36.75, 37.32, 39.79, 115.14, 128.35, 129.14, 131.06, 131.15, 131.94, 135.38, 141.91, 147.36, 154.18。HRMS

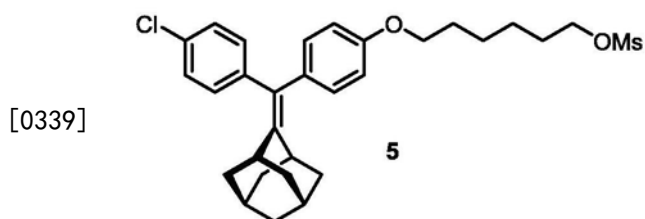
(EI,  $M^+$ )  $C_{23}H_{23}OCl$  计算值为350.14375, 实测值为350.14366。

[0335] 6-(4-((-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己-1-醇(4)



[0337] 遵照与为化合物1(双苯氧基己醇)的制备所描述的相同的程序,从化合物3(175mg,0.50mmol)与6-溴己醇(271mg,1.50mmol)和碳酸铯(326mg,1.00mmol)的反应以93%的收率制备标题化合物(4)。

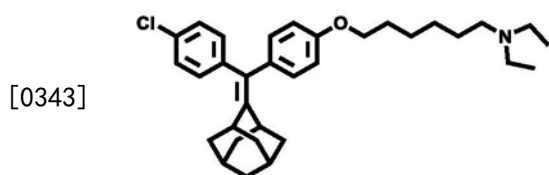
[0338]  $^1H$  NMR (500MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 1.40~1.55 (m, 4H), 1.62 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 2H), 1.80 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 2H), 1.85~1.92 (m, 10H), 2.02 (s, 2H), 2.74 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 3.68 (t,  $J=7.0$ Hz, 2H), 3.95 (t,  $J=7.0$ Hz, 2H), 6.81 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 7.02 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 7.06 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 7.24 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H).  $^{13}C$  NMR (126MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 25.78, 26.18, 28.36, 29.54, 32.94, 34.65, 37.33, 39.80, 55.13, 63.18, 67.94, 114.15, 128.32, 129.26, 130.84, 131.16, 131.89, 135.06, 141.98, 147.21, 157.74. HRMS (EI,  $M^+1$ )  $C_{29}H_{36}OCl$  计算值为451.2404, 实测值为451.2399. 6-(4-((-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基甲磺酸酯(5)



[0340] 遵照与为化合物2的制备所描述的相同的程序,从化合物4(135mg,0.30mmol)与甲磺酰氯(51mg,0.45mmol)和三乙胺(101mg,1.00mmol)的反应以98%的收率制备标题化合物(5)。

[0341]  $^1H$  NMR (500MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 1.48~1.58 (m, 4H), 1.83 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 4H), 1.84~1.91 (m, 10H), 2.02 (s, 2H), 2.74 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 3.02 (s, 3H), 3.95 (t,  $J=6.5$ Hz, 2H), 4.26 (t,  $J=6.5$ Hz, 2H), 6.81 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 7.02 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 7.06 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H), 7.24 (d,  $J=8.5$ Hz, 2H).  $^{13}C$  NMR (126MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 25.49, 25.87, 28.36, 29.33, 29.37, 34.66, 37.74, 37.32, 37.62, 39.80, 67.72, 70.22, 114.13, 128.33, 129.22, 130.86, 131.16, 131.90, 135.13, 141.97, 147.25, 157.66. HRMS (ESI,  $M^+1$ )  $C_{30}H_{38}O_4SCl$  计算值为529.2179, 实测值为529.2183。

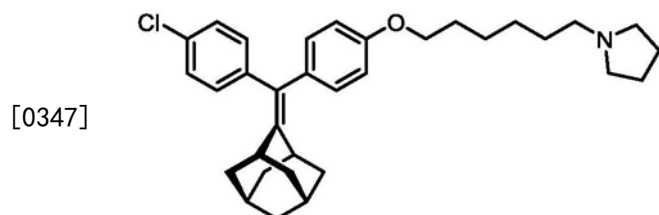
[0342] 6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基己-1-胺(NB-54)



[0344] 按照为制备NB-55所述,从化合物5 (12mg, 0.022mmol) 与二乙胺 (40mg, 0.50mmol) 的反应以90%的收率获得NB-54 (10mg, 粘性液体)。

[0345]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.02 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 6H), 1.43 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.56 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.73~1.92 (m, 14H), 2.01 (brs, 2H), 2.44 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 2.55 (q,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H), 2.73 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 3.93 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 2H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.01 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.05 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.24 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H)。

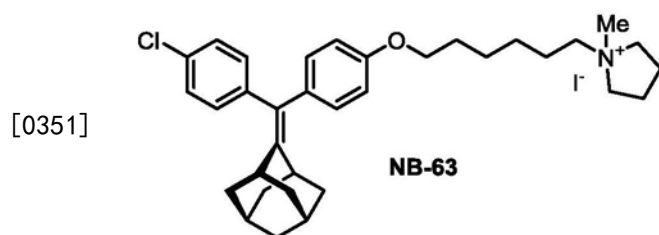
[0346] 1-(6-(4-((-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)吡咯烷 (NB-55)



[0348] 将化合物5 (53mg, 0.10mmol) 和吡咯烷 (28mg, 0.40mmol) 在DMF (100 $\mu\text{L}$ ) 中的混合物在55 $^\circ\text{C}$ 搅拌3hr。使用氮气流轻柔地蒸发掉溶剂。向其添加 $\text{NaHCO}_3$  (40mg) 和DI水 (1mL) 并用EtOAc萃取 (400 $\mu\text{L}$  x 3)。将萃取液用盐水、水洗涤,用 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,以提供粘性液体NB-55 (48mg)。

[0349]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.41 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.48 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.56 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.76~1.81 (m, 6H), 1.82~1.92 (m, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.44 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.46~2.51 (m, 4H), 2.74 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 6.81 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.02 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.06 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.24 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H)。  $^{13}\text{C NMR}$  (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  23.62, 26.34, 27.76, 28.36, 29.27, 29.54, 34.64, 34.73, 37.32, 39.80, 54.48, 56.86, 68.01, 114.15, 128.32, 129.27, 130.83, 131.17, 131.87, 135.00, 141.99, 147.18, 157.76。HRMS (ESI,  $\text{M}^++1$ )  $\text{C}_{33}\text{H}_{43}\text{ONCl}$  计算值为504.3033, 实测值为504.3033。

[0350] 1-(6-(4-((-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基吡咯烷-1-鎓碘化物 (NB-63)

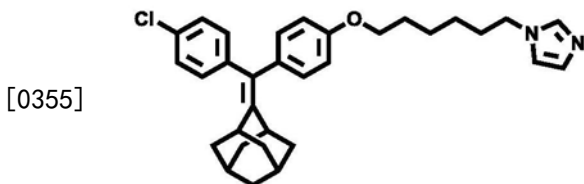


[0352] 将NB-55 (60mg, 0.12mmol) 和碘甲烷 (200 $\mu\text{L}$ ) 在乙酸乙酯 (500 $\mu\text{L}$ ) 中的混合溶液加热到50 $^\circ\text{C}$  1hr以形成沉淀物。蒸发掉溶剂,定量得到NB-63。该产物足够纯,不需进一步纯化。

[0353]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  1.45~1.63 (m, 4H), 1.77~1.93 (m, 14H), 2.02 (s, 2H), 2.23~2.40 (brs, 4H), 2.73 (s, 1H), 2.80 (s, 1H), 3.28 (s, 3H), 3.69 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.82 (brs, 4H), 3.95 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 6.82 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.02 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.07 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.25 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H)。  $^{13}\text{C NMR}$  (126MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  21.97, 23.66, 24.31, 26.02, 26.28, 28.35, 29.24, 34.65, 37.13, 39.80, 53.95, 64.56, 65.06, 67.61。HRMS

(ESI, M<sup>+</sup>) C<sub>34</sub>H<sub>45</sub>ONCl 计算值为518.3190, 实测值为518.3181。

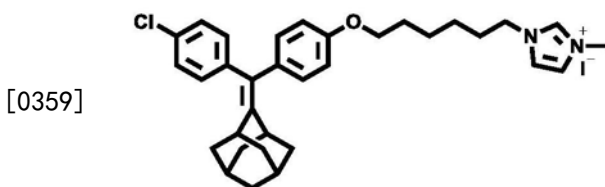
[0354] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1H-咪唑(NB-60)



[0356] 从化合物5与咪唑在DMF中、在80℃下的反应制备NB-60。

[0357] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d) δ 1.38-1.47 (m, 4H), 1.75~1.82 (m, 4H), 1.87 (s, 10H), 1.92-1.98 (m, 2H), 2.01 (s, 2H), 2.73 (s, 1H), 2.81 (s, 1H), 3.94 (t, J=6.2Hz, 2H), 6.77-6.85 (m, 3H), 6.97-7.09 (m, 5H), 7.25 (d, J=8.0Hz, 2H), 7.76 (brs, 1H)。

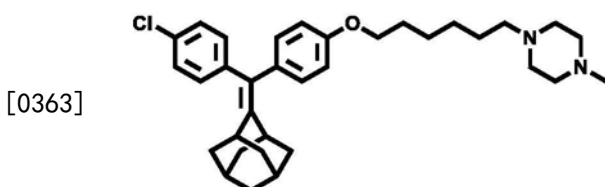
[0358] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-3-甲基-1H-咪唑-3-鎓碘化物(NB-62)



[0360] 从NB-60和碘甲烷在乙酸乙酯溶液中、在密封小瓶中、在80℃下的反应制备NB-62。

[0361] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d) δ 1.39-1.59 (m, 4H), 1.77~1.93 (m, 12H), 2.00 (s, 4H), 2.72 (s, 1H), 2.80 (s, 1H), 3.94 (d, J=6.2Hz, 2H), 4.10 (s, 3H), 4.37 (brs, 2H), 6.81 (d, J=8.0Hz, 2H), 6.93-7.13 (m, 5H), 7.15-7.27 (m, 3H), 9.64 (s, 1H)。

[0362] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-4-甲基哌嗪(NB-64)

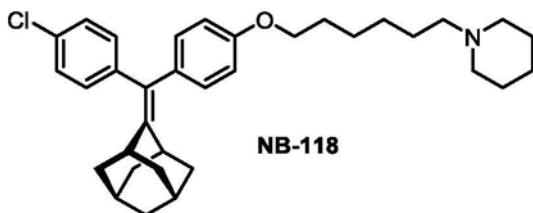


[0364] NB-64从化合物5与1-甲基哌嗪的取代反应制备。

[0365] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.38 (quintet, J=6.4Hz, 2H), 1.49 (quintet, J=6.4Hz, 2H), 1.53~1.62 (m, 2H), 1.78 (quintet, J=7.0Hz, 2H), 1.83~1.91 (m, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.43 (t, J=6.5Hz, 2H), 2.46~2.71 (brs, 8H), 2.74 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 3.92 (t, J=6.5Hz, 2H), 6.81 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.01 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.06 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.24 (d, J=8.5Hz, 2H)。

[0366] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)哌啶(NB-118)

[0367]

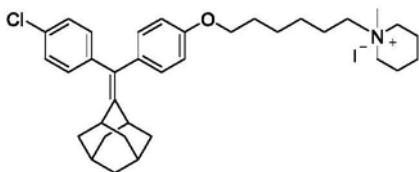


[0368] 按照为制备NB-55所述,从化合物5 (50mg, 0.095mmol) 与哌啶 (45mg, 0.53mmol) 的反应,以89%的收率获得NB-118 (44mg, 粘性液体)。

[0369]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.31 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.36 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.40~1.56 (m, 4H), 1.56~1.63 (m, 4H), 1.78 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.83~1.91 (m, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.29 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.32~2.44 (m, 4H), 2.74 (s, 1H), 2.82 (s, 1H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 6.81 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.01 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.06 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.24 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  24.76, 26.33, 27.78, 28.03, 28.36, 29.26, 34.64, 37.33, 39.80, 54.92, 68.01, 114.15, 128.32, 129.28, 130.82, 131.16, 131.16, 131.88, 135.00, 141.99, 147.18, 157.78。 HRMS (ESI,  $\text{M}^++1$ )  $\text{C}_{34}\text{H}_{45}\text{ONCl}$  计算值为 518.3190, 实测值为 518.3192。

[0370] (S)-1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基-1 $\lambda^4$ -哌啶-2-基鎓碘化物 (NB-84)

[0371]

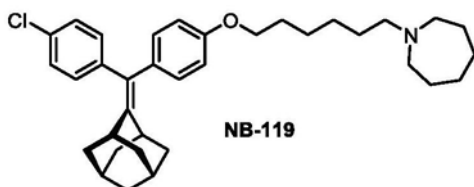


[0372] 从NB-118与碘甲烷在乙酸乙酯溶液中,在密封小瓶中,在rt下的反应获得NB-84。

[0373]  $^1\text{H}$ NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.49 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.56 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.60~1.66 (m, 2H), 1.71~1.81 (m, 4H), 1.83~1.86 (m, 10H), 1.87~1.94 (m, 4H), 1.98 (s, 2H), 2.70 (s, 1H), 2.77 (s, 1H), 3.24 (s, 3H), 3.40 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 3.49~3.55 (m, 4H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 6.78 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.01 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.22 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H)。

[0374] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)氮杂环庚烷 (NB-119)

[0375]

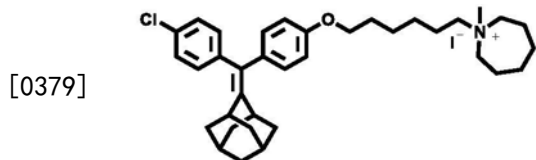


[0376] 按照为制备NB-55所述,从化合物5 (50mg, 0.095mmol) 与氮杂环庚烷 (40mg, 0.40mmol) 的反应以87%的收率获得NB-119 (44mg, 粘性液体)。

[0377]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.31 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.35 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.44~1.55 (m, 4H), 1.56~1.76 (m, 6H), 1.77 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 1.83~1.91 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.44 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 2.62 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 4H), 2.73 (s, 1H), 2.81 (s, 1H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 2H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.00 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.05 (d,  $J=$

8.5Hz, 2H), 7.23 (d, J=8.5Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ26.33, 27.26, 27.65, 27.75, 28.18, 28.37, 29.56, 34.64, 34.74, 37.33, 55.84, 58.51, 68.01, 114.14, 128.30, 129.27, 130.81, 131.15, 131.87, 134.98, 141.98, 147.16, 157.77。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+1) C<sub>35</sub>H<sub>47</sub>ONCl 计算值为532.3346, 实测值为532.3347。

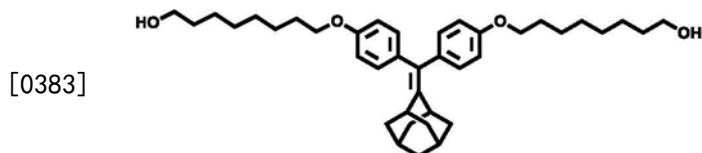
[0378] 1-(6-(4-((Z)-((5S, 7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓碘化物 (NB-85)



[0380] 从NB-119与碘甲烷在乙酸乙酯溶液中、在密封小瓶中、在rt下的反应获得NB-85。

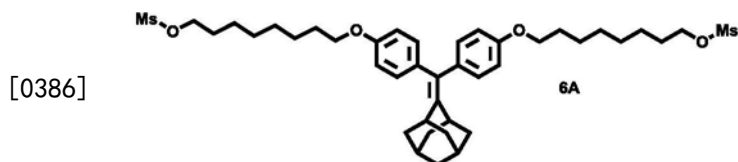
[0381] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ1.49~1.63 (m, 4H), 1.77-1.91 (m, 18H), 1.92-1.99 (m, 4H), 2.01 (s, 2H), 2.73 (s, 1H), 2.80 (s, 1H), 3.33 (s, 3H), 3.61-3.70 (m, 6H), 3.96 (t, J=6.5Hz, 2H), 6.81 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.02 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.06 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.25 (d, J=8.5Hz, 2H)。

[0382] 8,8'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-1-醇)



[0384] 化合物8,8'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-1-醇)从化合物3与8-溴辛-1-醇在DMF中、在50℃下、在碳酸铯存在下的反应获得。<sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d) δ1.31-1.42 (m, 12H), 1.43-1.50 (m, 4H), 1.54-1.63 (m, 4H), 1.77 (quintet, J=6.4Hz, 4H), 1.84-1.92 (m, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.81 (s, 2H), 3.66 (t, J=6.6Hz, 4H), 3.93 (t, J=6.5Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.08 (d, J=8.5Hz, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ25.92, 26.28, 28.48, 29.50, 29.57, 29.59, 33.02, 34.67, 37.46, 39.86, 63.31, 68.01, 113.99, 129.91, 130.82, 135.88, 145.84, 157.54。

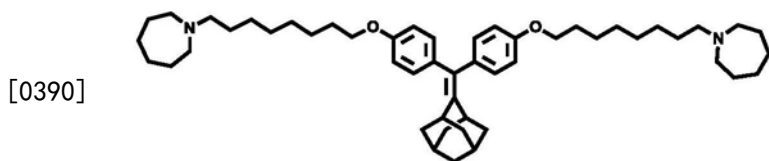
[0385] (((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-8,1-二基)二甲磺酸酯 (6A)



[0387] 化合物6A从与制造化合物2相似的方式定量获得。

[0388] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d) δ1.33-1.53 (m, 16H), 1.72-1.81 (m, 8H), 1.83-1.94 (m, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.81 (s, 2H), 3.02 (s, 6H), 3.93 (t, J=6.4Hz, 4H), 4.24 (t, J=6.5Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.6Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.6Hz, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ25.62, 26.24, 28.47, 29.21, 29.35, 29.42, 29.54, 34.67, 37.45, 37.62, 39.85, 67.94, 70.39, 113.98, 129.89, 130.82, 135.90, 145.88, 157.52。

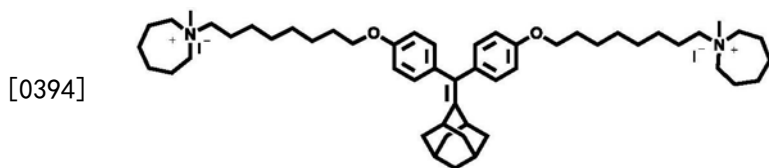
[0389] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-8,1-二基))双(氮杂环庚烷)(NB-80)



[0391] 按照为制造NB-72所述,化合物6A与氮杂环庚烷的反应定量产生NB-80。

[0392]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.23-1.56 (m, 20H), 1.56-1.72 (m, 16H), 1.77 (quintet,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H), 1.87 (s, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.40-2.53 (m, 4H), 2.62-2.70 (m, 8H), 2.81 (s, 2H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 7.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。

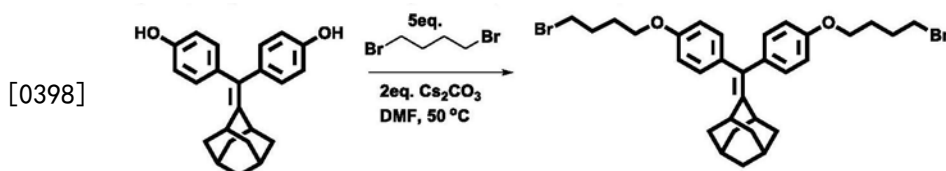
[0393] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-8,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物(NB-81)



[0395] 按照为制造NB-73所述,从NB-80与碘甲烷的反应定量获得NB-81。

[0396]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.24-1.45 (m, 20H), 1.62-1.73 (m, 16H), 1.74-1.80 (m, 10H), 1.81-1.89 (m, 8H), 1.91 (s, 2H), 2.69 (s, 2H), 3.07 (s, 6H), 3.24-3.37 (m, 4H), 3.44 (t,  $J=6.7\text{Hz}$ , 4H), 3.85 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 6.71 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 6.93 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。

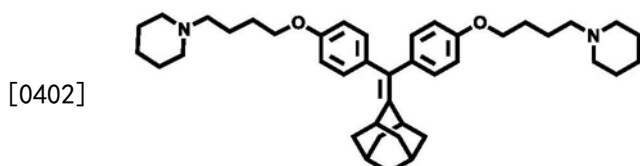
[0397] (5r,7r)-2-(双(4-(4-溴丁氧基)苯基)亚甲基)金刚烷(7)



[0399] 化合物1A与6当量1,4-二溴丁烷和碳酸铯在DMF中、在50°C下的反应产生化合物7。

[0400]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.91 (s, 10H), 1.92-1.98 (m, 4H), 2.02 (s, 2H), 2.09 (quintet,  $J=6.9\text{Hz}$ , 4H), 2.81 (s, 2H), 3.43-3.59 (m, 4H), 3.90-4.06 (m, 4H), 6.81 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 4H), 7.04 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C NMR}$  (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 28.21, 28.47, 29.77, 33.83, 34.69, 37.44, 39.87, 66.90, 114.00, 129.78, 130.87, 136.10, 146.07, 157.31。

[0401] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))二哌啶(NB-120)

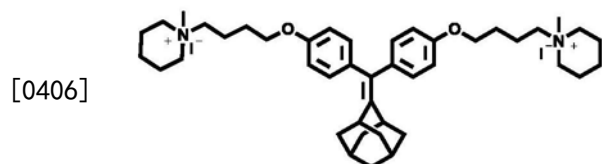


[0403] 按照为制造NB-65所述,从化合物7与哌啶的反应定量获得NB-120。

[0404]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.39-1.52 (m, 4H), 1.61 (quintet,  $J=5.6\text{Hz}$ , 12H), 1.64-1.74 (m, 4H), 1.79 (quintet,  $J=6.6\text{Hz}$ , 4H), 1.87 (d,  $J=7.6\text{Hz}$ , 10H), 2.01 (s, 2H),

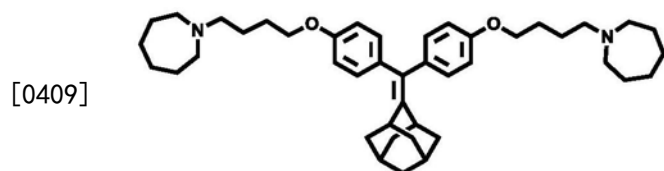
2.37 (t, J=7.7Hz, 8H), 2.81 (s, 2H), 3.96 (t, J=6.4Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 4H)。

[0405] 1-(4-(4-((E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-(4-(1-甲鎓基哌啶-1-鎓-1-基)丁氧基)苯基)甲基)苯氧基)丁基)-1-甲基哌啶-1-鎓二碘化物(NB-86)



[0407] 按照为制造NB-73所述,从NB-120与碘甲烷的反应定量获得NB-86。

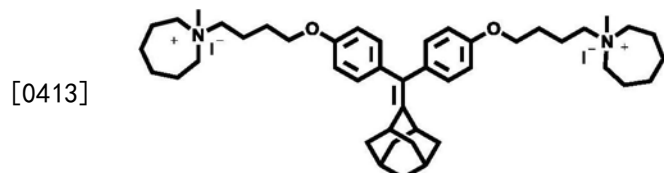
[0408]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.62-2.00 (m, 28H), 2.70 (s, 2H), 2.89 (s, 4H), 3.14 (s, 6H), 3.49 (q, J=5.3Hz, 8H), 3.55-3.64 (m, 4H), 3.99 (t, J=5.7Hz, 4H), 6.76 (d, J=8.5Hz, 4H), 6.96 (d, J=8.5Hz, 4H)。1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))双(氮杂环庚烷)(NB-121)



[0410] 按照为制造NB-65所述,从化合物7与氮杂环庚烷的反应定量获得NB-121。

[0411]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.56-1.71 (m, 16H), 1.78 (quintet, J=6.7Hz, 4H), 1.83-1.91 (m, 14H), 2.01 (s, 2H), 2.54 (t, J=6.7Hz, 4H), 2.62-2.71 (m, 8H), 2.81 (s, 2H), 3.96 (t, J=6.4Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 4H)。

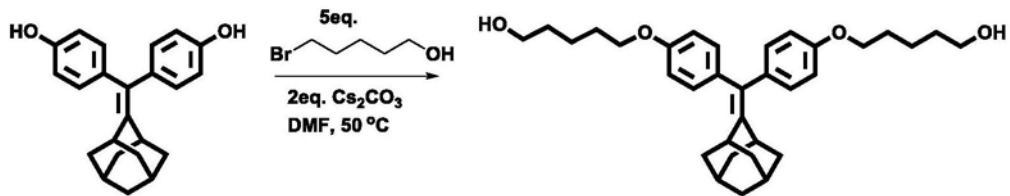
[0412] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物(NB-87)



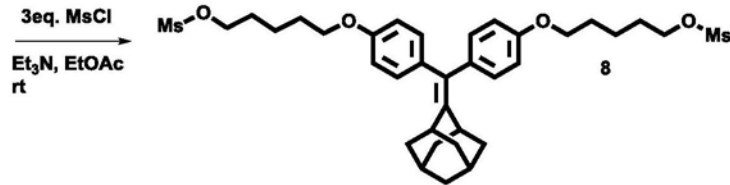
[0414] 按照为制造NB-73所述,从NB-121与碘甲烷的反应定量获得NB-87。

[0415]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.69 (quintet, J=6.4Hz, 8H), 1.74-1.81 (m, 8H), 1.81-1.99 (m, 20H), 2.69 (s, 2H), 3.13 (s, 6H), 3.41-3.59 (m, 12H), 3.98 (t, J=5.8Hz, 4H), 6.75 (d, J=8.5Hz, 4H), 6.95 (d, J=8.5Hz, 4H)。

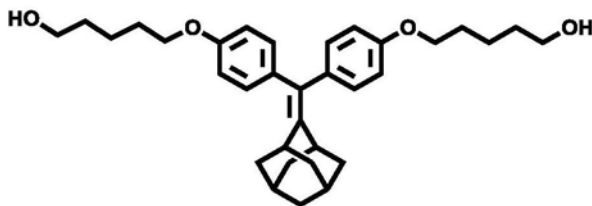
[0416] (((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基)二甲磺酸酯(8)



[0417]

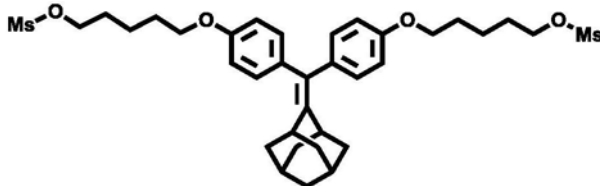


[0418] 按照为制造化合物2所述,从双酚化合物1A与5-溴-戊-1-醇的反应,然后通过甲磺酰化来制备化合物8。



[0419]

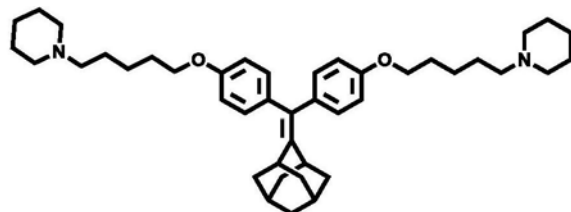
[0420]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.51-1.64 (m, 4H) , 1.64-1.75 (m, 4H) , 1.75-1.95 (m, 14H) , 2.01 (s, 2H) , 2.81 (s, 2H) , 3.70 (t, J=6.5Hz, 4H) , 3.96 (t, J=6.3Hz, 4H) , 6.81 (d, J=8.4Hz, 4H) , 7.03 (d, J=8.4Hz, 4H) 。



[0421]

[0422]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.62 (quintet, J=6.2Hz, 4H) , 1.78-1.93 (m, 18H) , 2.01 (s, 1H) , 2.80 (s, 1H) , 3.02 (s, 6H) , 3.96 (t, J=6.2Hz, 4H) , 4.27 (t, J=6.5Hz, 4H) , 6.80 (d, J=8.4Hz, 4H) , 7.04 (d, J=8.4Hz, 4H) 。

[0423] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))二哌啶(NB-122)



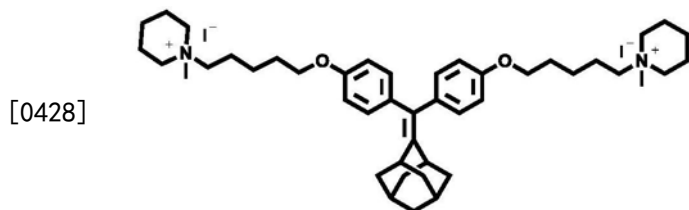
[0424]

[0425] 从化合物8与5eq. 哌啶在DMF中、在50 °C下的反应定量获得NB-122。

[0426]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.40-1.53 (m, 8H) , 1.53-1.68 (m, 12H) , 1.80 (quintet, J=6.8Hz, 4H) , 1.87 (s, 10H) , 2.01 (s, 2H) , 2.33 (t, J=6.5Hz, 4H) , 2.39 (s, 8H) , 2.81 (s, 2H) , 3.94 (t, J=6.5Hz, 4H) , 6.79 (d, J=8.5Hz, 4H) , 7.02 (d, J=8.5Hz, 4H) 。

[0427] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-

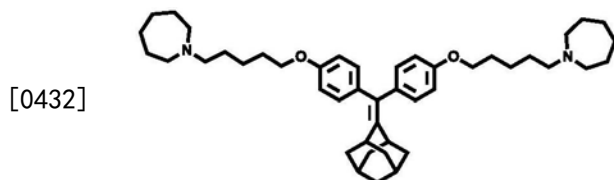
5,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎓)二碘化物(NB-88)



[0429] 从NB-122用碘甲烷在乙酸乙酯中、在密封小瓶中、在rt下的甲基化定量获得NB-88。

[0430]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.47-1.61 (m, 4H), 1.65-1.74 (m, 8H), 1.74-1.91 (m, 26H), 1.94 (s, 2H), 2.70 (s, 2H), 3.13 (s, 6H), 3.38-3.59 (m, 8H), 3.92 (t, J=6.0Hz, 4H), 6.74 (d, J=8.5Hz, 4H), 6.96 (d, J=8.5Hz, 4H)。

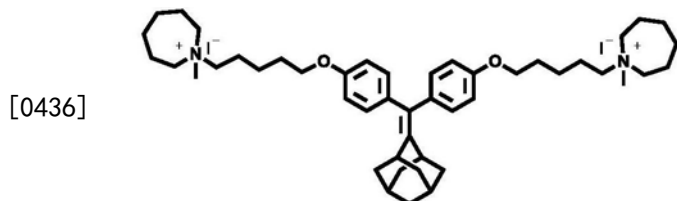
[0431] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))双(氮杂环庚烷)(NB-123)



[0433] 从化合物8与氮杂环庚烷在DMF中、在50℃下的反应定量获得NB-123。

[0434]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.38-1.51 (m, 4H), 1.52-1.72 (m, 20H), 1.83 (t, J=6.9Hz, 4H), 1.86 (s, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.47-2.57 (m, 4H), 2.60-2.72 (m, 8H), 2.81 (s, 2H), 3.94 (t, J=6.5Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.4Hz, 4H), 7.04 (d, J=8.4Hz, 4H)。

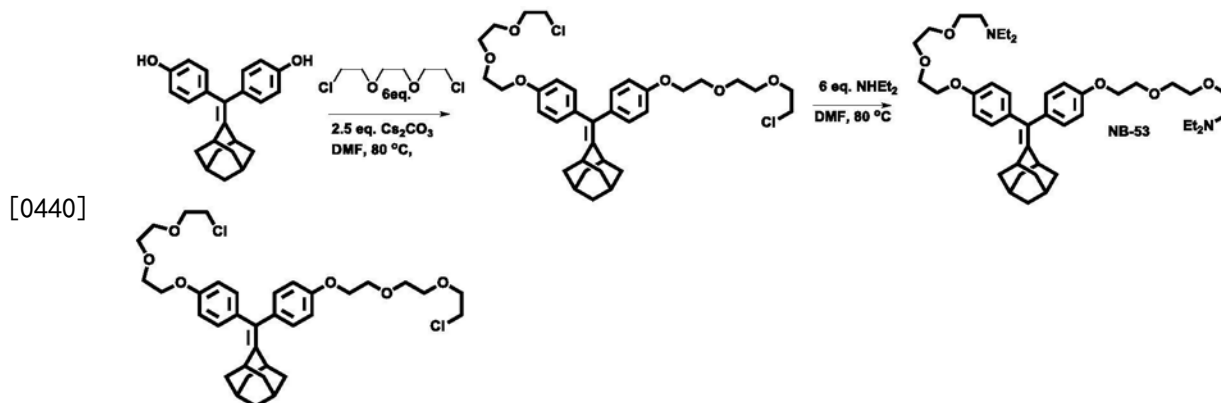
[0435] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物(NB-89)



[0437] 从NB-123用碘甲烷在乙酸乙酯中、在rt下的甲基化定量获得NB-89。

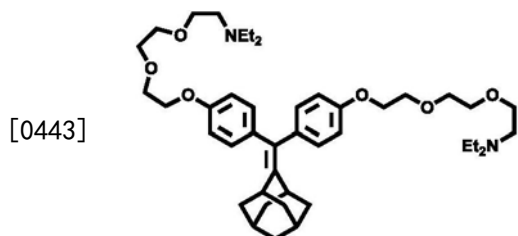
[0438]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.54 (p, J=7.8Hz, 4H), 1.61-1.89 (m, 30H), 1.93 (s, 2H), 2.70 (s, 2H), 3.11 (s, 6H), 3.25 (brs, 4H), 3.39-3.53 (m, 12H), 3.92 (t, J=6.0Hz, 4H), 6.73 (d, J=8.5Hz, 4H), 6.95 (d, J=8.5Hz, 4H)。

[0439] 2,2'-((((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(N,N-二乙基乙-1-胺)(NB-53)



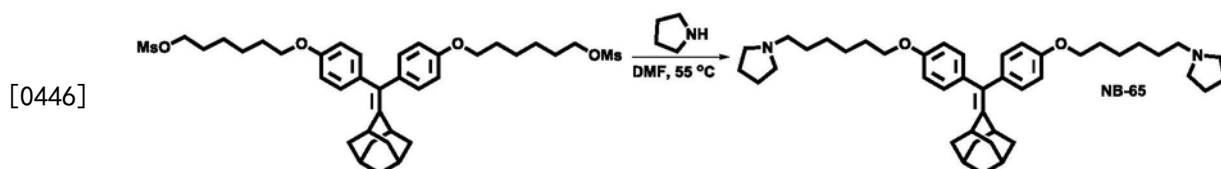
[0441] 双酚化合物1A通过与6当量1,2-双(2-氯乙氧基)乙烷然后与二乙胺的反应产生NB-53。

[0442]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.78-1.96 (m, 10H) , 2.00 (s, 2H) , 2.79 (s, 2H) , 3.63 (dd,  $J=5.4, 3.7\text{Hz}$ , 4H) , 3.67-3.81 (m, 12H) , 3.86 (dd,  $J=5.7, 3.9\text{Hz}$ , 4H) , 4.12 (t,  $J=4.8\text{Hz}$ , 4H) , 6.83 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 4H) , 7.02 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 4H) 。



[0444]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 1.06 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 12H) , 1.98 (s, 10H) , 2.18 (s, 2H) , 2.55-2.81 (m, 10H) , 3.53-3.68 (m, 12H) , 3.72 (s, 4H) , 3.84 (s, 4H) , 4.11 (s, 4H) , 6.82 (s, 4H) , 6.99 (q,  $J=8.8, 8.0\text{Hz}$ , 4H) 。

[0445] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二吡咯烷(NB-65)

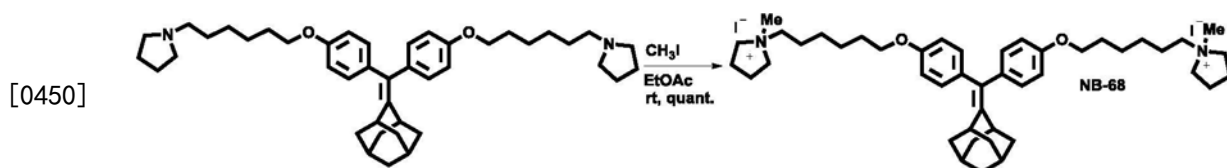


[0447] 将化合物2 (68mg, 0.10mmol) 和吡咯烷 (57mg, 0.80mmol) 在DMF (200 $\mu$ L) 中的混合物在55 $^{\circ}$ C搅拌3hr。使用氮气流轻柔地蒸发掉溶剂。向其添加NaHCO<sub>3</sub> (80mg) 和DI水 (1mL) , 并用EtOAc萃取 (400 $\mu$ L x 3) 。将所述萃取物用盐水、水洗涤, 并用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 以提供粘性液体类型的NB-65 (51mg) 。

[0448]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 1.40 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H) , 1.49 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H) , 1.56 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H) , 1.74~1.82 (m, 12H) , 1.82~1.92 (m, 10H) , 2.01 (s, 2H) , 2.43 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H) , 2.47~2.55 (m, 8H) , 2.81 (s, 2H) , 3.93 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 4H) , 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H) , 7.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H) 。 $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 23.66, 26.37, 27.79, 28.50, 29.35, 29.58, 34.68, 37.48, 39.87, 54.54, 56.90, 68.01, 114.01, 129.95, 130.82, 135.89, 145.83, 157.56。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+1) C<sub>43</sub>H<sub>63</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>计算值为639.4890, 实测值为639.4909。

[0449] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-

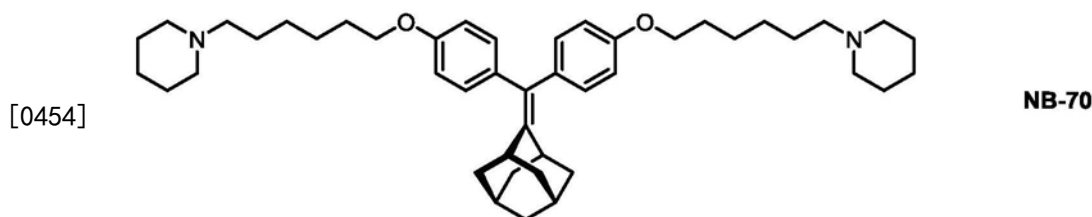
6,1-二基) 双(1-甲基吡咯烷-1-鎓) 二碘化物 (NB-68)



[0451] 将NB-65 (32mg, 0.05mmol) 和碘甲烷 (100 $\mu$ L) 在乙酸乙酯 (500 $\mu$ L) 中的混合的溶液在50 $^{\circ}$ C加热1hr以形成沉淀。蒸发掉溶剂, 定量产生NB-68 (45mg)。该化合物足够纯, 不需进一步纯化。

[0452]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 1.38 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.47 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.59~1.82 (m, 18H), 1.89 (s, 2H), 2.07~2.25 (m, 8H), 2.66 (s, 2H), 3.03 (s, 6H), 3.38 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 3.54n (s, 8H), 3.86 (t, t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 6.69 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 6.91 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 14.15, 21.77, 24.02, 25.76, 26.09, 28.31, 29.00, 34.52, 37.25, 39.67, 64.85, 67.55, 113.98, 129.58, 130.64, 135.99, 146.02, 157.17。 HRMS (ESI,  $\text{M}^{2+}$ )  $\text{C}_{45}\text{H}_{66}\text{O}_2\text{N}_2$  计算值为334.2640, 实测值为334.2643。

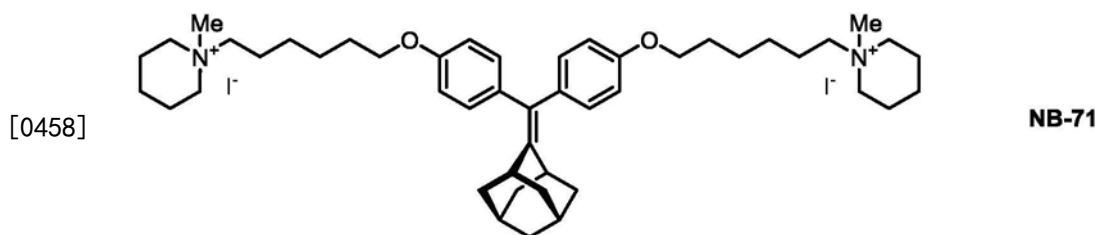
[0453] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4,1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6,1-二基) 二哌啶 (NB-70)



[0455] 按照为制备NB-65所述, 从化合物2 (50mg, 0.058mmol) 与哌啶 (45mg, 0.53mmol) 的反应以92%的收率获得NB-70 (36mg, 粘性液体)。

[0456]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 1.36 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H), 1.40~1.58 (m, 12H), 1.59 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 8H), 1.78 (quintet,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H), 1.82~1.92 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.30 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 4H), 2.32~2.44 (brs, 8H), 2.81 (s, 2H), 3.93 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 7.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 24.77, 26.28, 26.36, 27.18, 27.81, 28.49, 29.56, 34.66, 37.46, 39.86, 54.94, 59.85, 67.96, 113.99, 129.94, 130.81, 135.87, 145.81, 157.54。 HRMS (ESI,  $\text{M}^++1$ )  $\text{C}_{45}\text{H}_{67}\text{O}_2\text{N}_2$  计算值为667.5203, 实测值为667.5210。

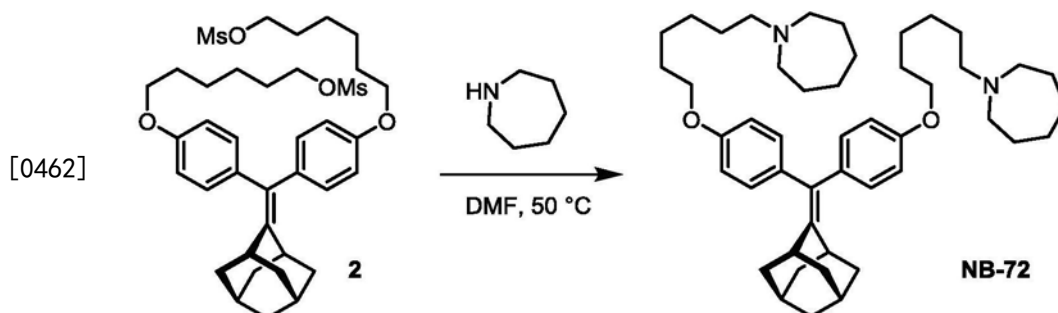
[0457] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4,1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6,1-二基) 双(1-甲基哌啶-1-鎓) 二碘化物 (NB-71)



[0459] 遵照为制备NB-68所描述的程序, 从NB-70 (40mg, 0.075mmol) 和碘甲烷 (200 $\mu$ L) 的反应定量制备NB-71 (70mg)。

[0460]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 1.43 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.52 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.63~1.92 (m, 30H), 1.94 (s, 2H), 2.71 (s, 2H), 3.13 (s, 6H), 3.43~3.54 (m, 12H), 3.91 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 6.75 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 6.96 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 20.29, 20.87, 22.10, 25.84, 26.11, 28.36, 29.08, 34.57, 37.33, 39.74, 48.50, 61.47, 63.89, 67.61, 114.06, 129.60, 130.70, 136.02, 146.08, 157.23。 HRMS (ESI,  $\text{M}^{2+}$ )  $\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{O}_2\text{N}_2$  计算值为348.2797, 实测值为348.2798。

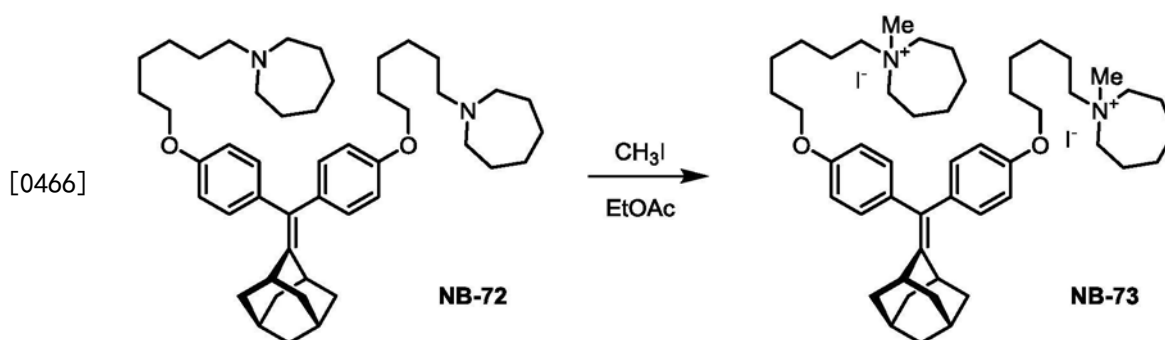
[0461] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环庚烷) (NB-72)



[0463] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物2 (50mg, 0.058mmol) 和氮杂环庚烷 (55mg, 0.55mmol) 的反应以91%的收率获得NB-72 (37mg, 粘性液体)。

[0464]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 1.35 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.49 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.51 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.61 (brs, 8H), 1.65 (brs, 8H), 1.77 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.86 (brs, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.47 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.63 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 8H), 2.81 (s, 2H), 3.93 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 4H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 7.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 26.35, 27.26, 27.66, 27.76, 28.21, 28.48, 29.59, 34.66, 37.46, 39.86, 55.85, 58.53, 67.99, 113.98, 125.22, 130.82, 135.87, 145.82, 157.55。 HRMS (ESI,  $\text{M}^{+1}$ )  $\text{C}_{47}\text{H}_{71}\text{O}_2\text{N}_2$  计算值为695.5516, 实测值为695.5529。

[0465] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物 (NB-73)

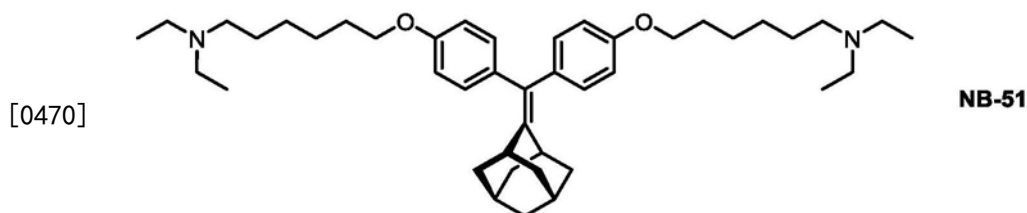


[0467] 遵照为制备NB-68所述的程序,从NB-72 (35mg, 0.05mmol) 和碘甲烷 (100 $\mu\text{L}$ ) 的反应定量制备NB-73 (47mg)。

[0468]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 1.43 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.55 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 1.71 (brs, 8H), 1.73~1.92 (m, 26H), 1.95 (s, 2H), 2.73 (s, 2H), 3.07 (s, 6H), 3.27~3.50 (m, 12H), 3.94 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 6.76 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 6.98 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ 21.84, 22.69, 25.83, 26.20, 27.74, 28.40, 29.12,

34.58, 37.26, 39.65, 50.45, 64.76, 65.44, 67.58, 113.94, 129.88, 130.62, 135.94, 145.87, 157.36。HRMS (ESI,  $M^{2+}$ )  $C_{49}H_{76}O_2N_2$  计算值为363.3032, 实测值为363.2957。

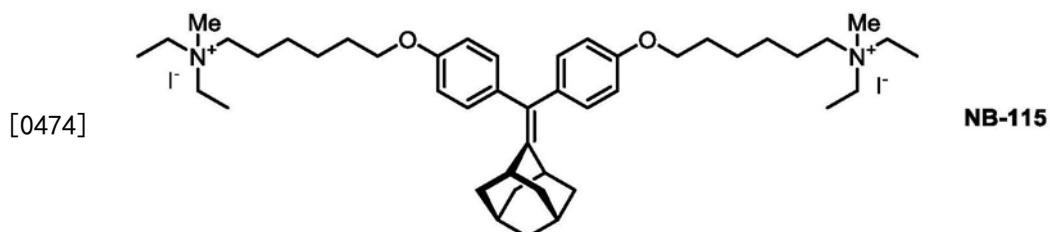
[0469] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N,N-二乙基己-1-胺)(NB-51)



[0471] 遵照为制备NB-65所述的程序,从化合物2(50mg,0.058mmol)与二乙胺(50mg,0.68mmol)的反应以89%的收率获得NB-51(33mg)。

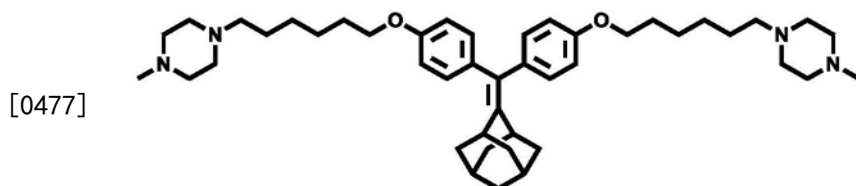
[0472]  $^1H$  NMR (500MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 1.03 (t,  $J=7.0$ Hz, 12H), 1.37 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 4H), 1.42~1.52 (m, 8H), 1.79 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 4H), 1.82~1.92 (m, 10H), 2.00 (brs, 2H), 2.43 (t,  $J=7.5$ Hz, 4H), 2.53 (q,  $J=7.0$ Hz, 8H), 2.81 (bes, 2H), 3.93 (t,  $J=6.0$ Hz, 2H), 6.80 (d,  $J=8.5$ Hz, 4H), 7.02 (d,  $J=8.5$ Hz, 4H)。  $^{13}C$  NMR (126MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 11.91, 26.36, 27.18, 27.75, 28.48, 29.60, 34.66, 37.46, 39.85, 47.13, 53.12, 67.97, 113.98, 129.93, 130.81, 135.87, 145.82, 157.54。HRMS (ESI,  $M^+$ )  $C_{43}H_{67}O_2N_2$  计算值为643.5203, 实测值为643.5225。

[0473] 6-(4-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)4-((6-(二乙基(甲基)- $\lambda^4$ -氮烷基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基-N-甲基己-1-铵二碘化物(NB-115)



[0475] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-51(32mg,0.05mmol)与碘甲烷(100 $\mu$ L)的反应定量制备NB-115(45mg)。

[0476]  $^1H$  NMR (500MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 1.32 (t,  $J=7.0$ Hz, 12H), 1.45 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 4H), 1.53 (quintet,  $J=7.0$ Hz, 4H), 1.64~1.76 (m, 8H), 1.76~1.85 (m, 10H), 1.96 (brs, 2H), 2.73 (brs, 2H), 3.08 (s, 6H), 3.33 (t,  $J=7.0$ Hz, 4H), 3.42 (q,  $J=7.0$ Hz, 8H), 3.93 (t,  $J=6.0$ Hz, 2H), 6.74 (d,  $J=8.5$ Hz, 4H), 6.99 (d,  $J=8.5$ Hz, 4H)。  $^{13}C$  NMR (126MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$ 8.49, 22.51, 25.86, 26.16, 28.37, 29.11, 34.58, 37.34, 39.76, 57.03, 61.00, 67.59, 114.06, 129.63, 130.73, 136.03, 146.09, 157.26。HRMS (ESI,  $M^{2+}$ )  $C_{45}H_{72}O_2N_2$  计算值为336.2804, 实测值为336.2797。4,4'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌嗪)(NB-66)

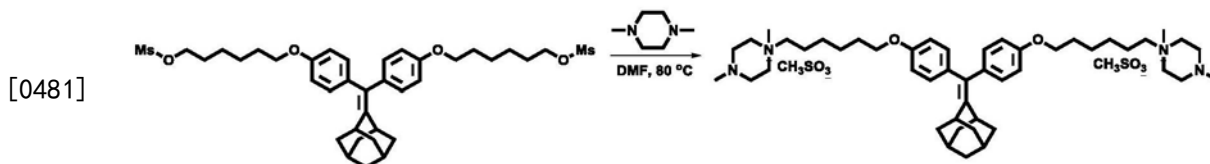


[0478] 按照为制造NB-65所述,从化合物2和1-甲基哌嗪在DMF中、在55 $^{\circ}$ C下的反应定量获

得NB-66。

[0479]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.38 (quintet,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 1.48 (quintet,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 1.58 (quintet,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 1.77 (quintet,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 1.82-1.90 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.31 (s, 6H), 2.36 (t,  $J=6.3\text{Hz}$ , 4H), 2.40-2.68 (brs, 8H), 2.80 (s, 2H), 3.93 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H), 7.02 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。

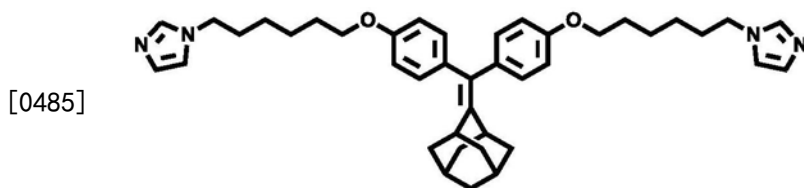
[0480] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1,4-二甲基哌嗪-1-鎓)二甲磺酸盐 (NB-69)



[0482] 按照为制备NB-73所述,从化合物2与1,4-二甲基哌嗪在DMF中、在80℃下的反应定量获得NB-69。

[0483]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  1.47-1.58 (m, 8H), 1.76-1.83 (m, 8H), 1.84 (s, 10H), 1.96 (s, 2H), 2.39 (s, 4H), 2.69 (s, 6H), 2.74-2.84 (m, 8H), 3.09 (s, 6H), 3.31 (s, 6H), 3.35-3.48 (m, 8H), 3.97 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 6.80 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 4H), 6.98 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 4H)。

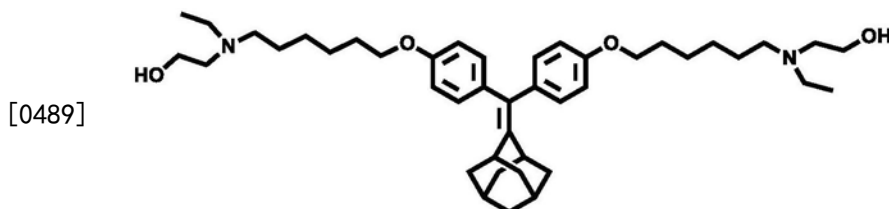
[0484] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1H-咪唑) (NB-61)



[0486] 按照为制备NB-65所述,从化合物2与咪唑在DMF中、在80℃下的反应以88%的收率获得NB-61。

[0487]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.29-1.42 (m, 4H), 1.42-1.54 (m, 4H), 1.74 (quintet,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 1.82 (s, 10H), 1.97 (s, 2H), 2.55-2.68 (m, 8H), 2.75 (s, 2H), 3.80-3.92 (m, 4H), 6.75 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 6.94 (s, 1H), 6.99 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 7.06 (s, 1H), 7.71 (s, 1H)。

[0488] 2,2'-((((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(乙基氮烷二基))双(乙-1-醇) (NB-130)

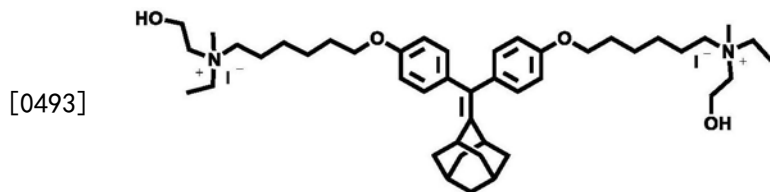


[0490] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物2 (35mg, 0.051mmol) 与2-(乙基氨基)乙醇 (50mg, 0.56mmol) 的反应以87%的收率获得NB-130 (30mg)。

[0491]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.04 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 6H), 1.31-1.44 (m, 4H), 1.45-1.53 (m, 8H), 1.71-1.82 (m, 4H), 1.82-1.93 (m, 10H), 2.01 (s, 2H), 2.42-2.52 (m, 4H), 2.52-2.65 (m, 8H), 2.81 (s, 2H), 3.55 (t,  $J=5.5\text{Hz}$ , 4H), 3.93 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ ,

4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ12.10, 26.31, 27.43, 27.45, 28.48, 29.58, 34.67, 37.46, 39.86, 47.42, 53.33, 55.10, 58.55, 67.92, 113.99, 129.94, 130.81, 135.89, 145.84, 157.53。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+1) C<sub>43</sub>H<sub>67</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>计算值为675.510, 实测值为675.5093。

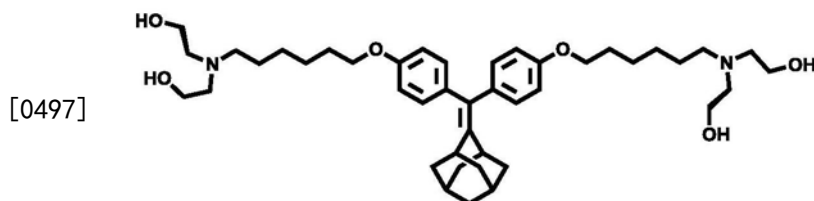
[0492] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N-乙基-N-(2-羟乙基)-N-甲基己-1-铵)二碘化物(NB134)



[0494] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-130 (15mg, 0.022mmol) 和碘甲烷(100μL) 的反应制备NB-134 (21mg)。

[0495] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d+甲醇-d<sub>4</sub>) δ1.32 (t, J=7.1Hz, 4H), 1.41 (quintet, J=7.5Hz, 4H), 1.51 ((quintet, J=7.5Hz, 4H), 1.63-1.85 (m, 18H), 1.95 (s, 2H), 2.72 (s, 2H), 3.12 (s, 6H), 3.30-3.42 (m, 4H), 3.43-3.59 (m, 8H), 3.90 (t, J=6.2Hz, 4H), 3.99 (t, J=4.8Hz, 4H), 6.75 (d, J=8.5Hz, 4H), 6.97 (d, J=8.5Hz, 4H)。HRMS (ESI, M<sup>2+</sup>) C<sub>45</sub>H<sub>70</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>计算值为352.2746, 实测值为352.2715。

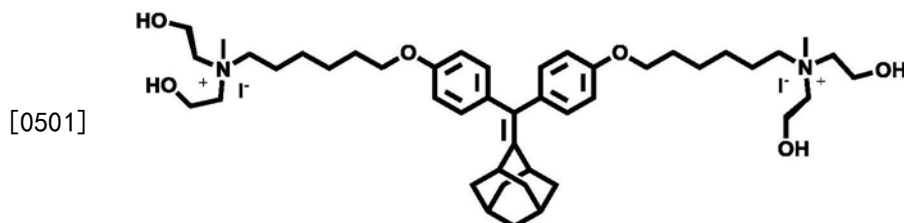
[0496] 2,2',2'',2'''-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮烷三基))四(乙-1-醇)(NB-131)



[0498] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物2 (26mg, 0.038mmol) 和二乙醇胺(105mg, 1.00mmol) 的反应以90%的收率获得NB-131 (24mg)。

[0499] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 氯仿-d) δ1.37 (q, J=7.9Hz, 4H), 1.41-1.55 (m, 8H), 1.70-1.80 (m, 4H), 1.80-1.94 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.55 (t, J=6.4Hz, 4H), 2.66 (t, J=5.3Hz, 8H), 2.80 (s, 2H), 3.62 (t, J=5.4Hz, 8H), 3.93 (t, J=6.4Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 4H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ26.27, 27.17, 27.33, 28.47, 29.53, 34.66, 37.45, 39.85, 54.93, 56.27, 59.89, 67.88, 114.01, 129.89, 130.81, 135.92, 145.87, 157.49。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+1) C<sub>43</sub>H<sub>67</sub>O<sub>6</sub>N<sub>2</sub>计算值为707.4999, 实测值为707.4995。

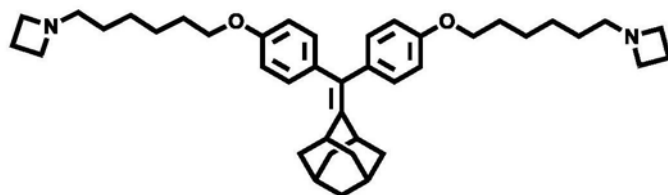
[0500] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N,N-双(2-羟乙基)-N-甲基己-1-铵)二碘化物(NB-135)



[0502] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-131 (15mg, 0.021mmol) 与碘甲烷(100μL) 的

反应定量制备NB-135 (21mg)。

[0503]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿- $d_4$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$  1.37 (q,  $J=7.7\text{Hz}$ , 4H), 1.48 (h,  $J=7.4\text{Hz}$ , 4H), 1.62-1.84 (m, 18H), 1.91 (s, 2H), 2.69 (s, 2H), 3.15 (s, 6H), 3.39-3.48 (m, 4H), 3.50-3.62 (m, 8H), 3.87 (t,  $J=6.2\text{Hz}$ , 4H), 3.90-3.99 (m, 8H), 6.71 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 6.94 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $M^{2+}$ )  $\text{C}_{45}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_2$  计算值为368.2695, 实测值为368.2664。1, 1'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4, 1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6, 1-二基)) 双(氮杂环丁烷) (NB-133)

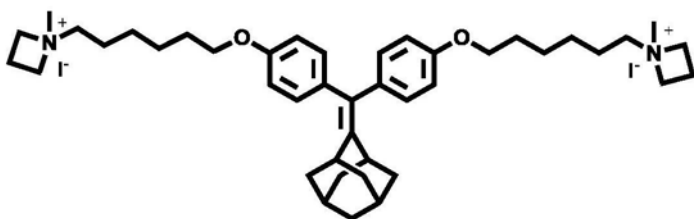


[0504]

[0505] 遵照为制备NB-65所描述的程序, 从化合物2 (25mg, 0.036mmol) 与氮杂环丁烷 (80mg, 1.40mmol) 的反应以91%的收率获得NB-133 (20mg)。

[0506]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿- $d$ )  $\delta$  1.35 (q,  $J=3.6\text{Hz}$ , 4H), 1.41-1.56 (m, 4H), 1.63-1.71 (m, 4H), 1.72-1.80 (m, 4H), 1.81-1.91 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.32 (t,  $J=7.5\text{Hz}$ , 4H), 2.65 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.80 (s, 2H), 3.16 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 8H), 3.92 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 6.79 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 4H), 7.02 (d,  $J=8.3\text{Hz}$ , 4H)。 $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  17.94, 26.35, 28.48, 29.56, 34.66, 37.45, 39.85, 45.79, 55.47, 58.33, 60.22, 67.97, 113.99, 129.93, 130.80, 135.87, 145.83, 157.53。HRMS (ESI,  $M^+1$ )  $\text{C}_{41}\text{H}_{59}\text{O}_2\text{N}_2$  计算值为611.4577, 实测值为611.4572。

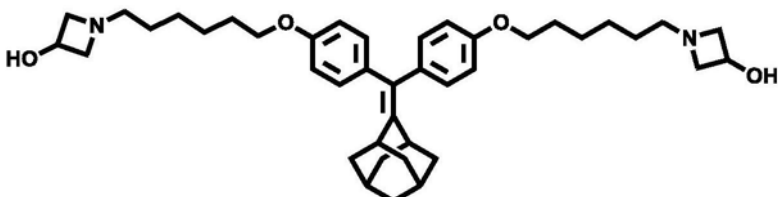
[0507] 1, 1'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4, 1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6, 1-二基)) 双(1-甲基氮杂环丁烷-1-鎓) 二碘化物 (NB-137)



[0508]

[0509] 遵照为制备NB-68所描述的程序, 从NB-133 (8.0mg, 0.021mmol) 与碘甲烷 (100 $\mu\text{L}$ ) 的反应制备NB-137 (10mg)。

[0510]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿- $d_4$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$  1.33 (s, 8H), 1.58-1.77 (m, 18H), 1.83 (s, 2H), 2.07-2.43 (m, 4H), 2.61 (s, 2H), 2.90-3.72 (m, 18H), 3.80 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 6.64 (d,  $J=8.1\text{Hz}$ , 4H), 6.86 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $M^{2+}$ )  $\text{C}_{43}\text{H}_{64}\text{N}_2\text{O}_2$  计算值为320.2484, 实测值为320.2451。1, 1'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4, 1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6, 1-二基)) 双(氮杂环丁-3-醇) (NB-145)



[0511]

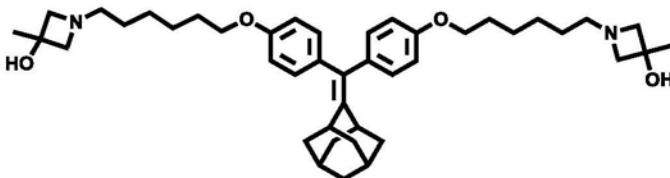
[0512] 遵照为制备NB-65所描述的程序, 从化合物2 (25mg, 0.036mmol) 与3-羟基氮杂环丁

烷(90mg, 1.23mmol)的反应以86%的收率获得NB-145(20mg)。

[0513]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  0.79-0.97 (m, 4H), 1.32-1.42 (m, 4H), 1.42-1.53 (m, 4H), 1.67-1.81 (m, 4H), 1.81-1.91 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.29 (t,  $J=7.3\text{Hz}$ , 4H), 2.48 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.80 (s, 2H), 2.93 (t,  $J=5.9\text{Hz}$ , 4H), 3.66 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 4.44 (q,  $J=5.9\text{Hz}$ , 2H), 6.80 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 7.03 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $M^+$ )  $C_{41}H_{59}O_4N_2$  计算值为643.4475, 实测值为643.4457。

[0514] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(3-甲基氮杂环丁-3-醇)(NB-143)

[0515]

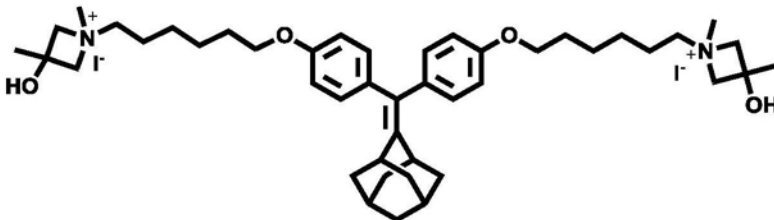


[0516] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物2(25mg, 0.036mmol)和3-甲基-3-羟基氮杂环丁烷(90mg, 1.03mmol)的反应以88%的收率获得NB-143(21mg)。

[0517]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  0.83-0.90 (m, 4H), 1.27 (s, 6H), 1.34-1.52 (m, 8H), 1.7-1.84 (m, 4H), 1.84-1.95 (m, 10H), 2.00 (s, 2H), 2.52 (t,  $J=6.5\text{Hz}$ , 4H), 2.80 (s, 2H), 3.13 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 4H), 3.34 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 4H), 3.93 (t,  $J=6.4\text{Hz}$ , 4H), 6.79 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 7.03 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $M^+$ )  $C_{43}H_{63}O_4N_2$  计算值为671.4788, 实测值为671.4801。

[0518] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(3-羟基-1,3-二甲基氮杂环丁烷-1-鎓)二碘化物(NB-144)

[0519]

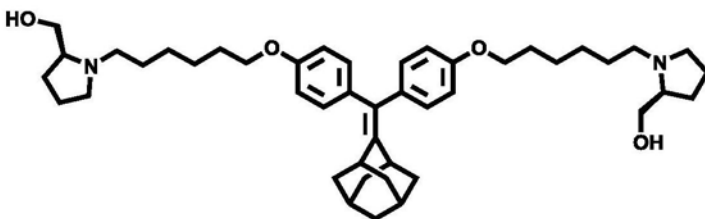


[0520] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-143(9.0mg, 0.013mmol)与碘甲烷(100 $\mu\text{L}$ )的反应制备NB-144(11mg)。

[0521]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d+甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  1.35-1.45 (m, 4H), 1.45-1.2 (m, 4H), 1.53 (s, 6H), 1.56-1.65 (m, 4H), 1.68-1.85 (d,  $J=31.7\text{Hz}$ , 14H), 1.93 (s, 2H), 2.70 (s, 2H), 3.17 (d,  $J=6.8\text{Hz}$ , 6H), 3.27-3.37 (m, 4H), 3.46 (m, 4H), 3.89 (t,  $J=6.2\text{Hz}$ , 4H), 4.09-4.40 (m, 8H), 6.72 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 6.95 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $M^{2+}$ )  $C_{45}H_{68}O_4N_2$  计算值为350.2587, 实测值为350.2543。

[0522] ((2S,2'S)-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(吡咯烷-1,2-二基))二甲醇(NB-138)

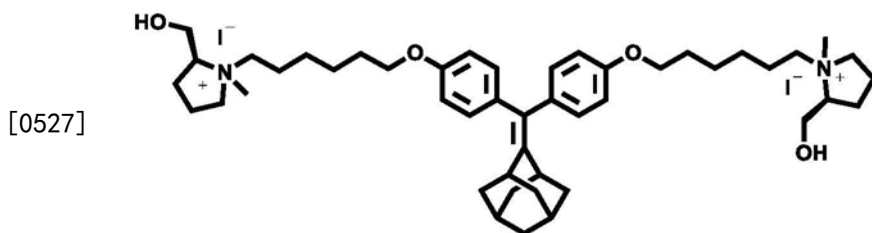
[0523]



[0524] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物2 (28mg, 0.041mmol) 和(S)-吡咯烷-2-基甲醇(101mg, 1.00mmol) 的反应以81%的收率获得NB-138 (23mg)。

[0525]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.32-1.57 (m, 8H), 1.57-1.96 (m, 26H), 2.01 (s, 2H), 2.41-2.58 (m, 4H), 2.80 (s, 2H), 2.85-2.99 (m, 4H), 3.37-3.48 (m, 2H), 3.53-3.64 (m, 2H), 3.73-3.81 (m, 2H), 3.94 (t, J=6.3Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.2Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.2Hz, 4H)。HRMS (ESI,  $\text{M}^+$ )  $\text{C}_{45}\text{H}_{67}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为699.5101, 实测值为699.5121。

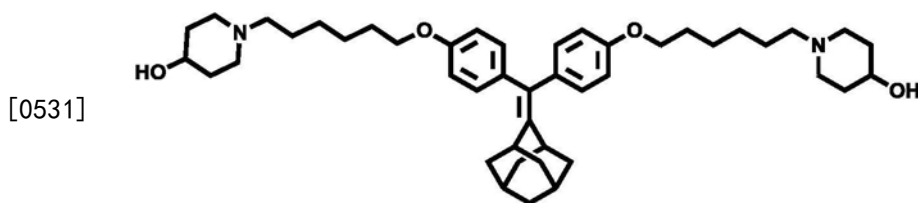
[0526] (1R, 1'R, 2S, 2'S)-1, 1'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4, 1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6, 1-二基)) 双(2-(羟基甲基)-1-甲基吡咯烷-1-鎓) 二碘化物 (NB-139)



[0528] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-138 (10.0mg, 0.014mmol) 与碘甲烷 (100 $\mu\text{L}$ ) 的反应制备NB-139 (13mg)。

[0529]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d+甲醇-d<sub>4</sub>)  $\delta$  1.29-1.56 (m, 8H), 1.62-1.87 (m, 20H), 1.92 (s, 2H), 1.96-2.44 (m, 6H), 2.70 (s, 2H), 2.95 (s, 6H), 3.30-3.44 (m, 2H), 3.44-3.56 (m, 4H), 3.57-3.68 (m, 2H), 3.71-4.03 (m, 10H), 6.72 (d, J=8.1Hz, 4H), 6.95 (d, J=8.1Hz, 4H)。HRMS (ESI,  $\text{M}^+$ )  $\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为364.2746, 实测值为364.2713。

[0530] 1, 1'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4, 1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6, 1-二基)) 双(哌啶-4-醇) (NB-132)

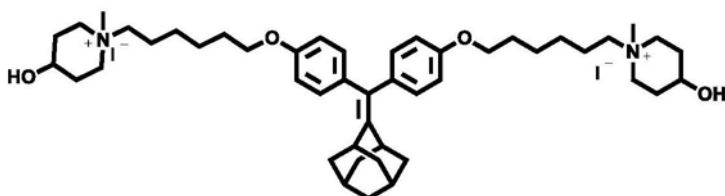


[0532] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物2 (28mg, 0.041mmol) 和4-羟基哌啶 (101mg, 1.00mmol) 的反应以84%的收率获得NB-132 (24mg)。

[0533]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿-d)  $\delta$  1.27-1.68 (m, 16H), 1.78 (q, J=7.6, 7.1Hz, 4H), 1.82-1.95 (m, 14H), 2.00 (s, 2H), 2.12 (t, J=10.7Hz, 6H), 2.27-2.41 (m, 4H), 2.79 (t, J=7.5Hz, 4H), 3.69 (t, J=4.3Hz, 2H), 3.93 (t, J=6.5Hz, 4H), 6.79 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.02 (d, J=8.5Hz, 4H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  26.31, 27.32, 27.68, 28.47, 29.53, 29.94, 34.66, 34.70, 37.45, 39.85, 51.43, 58.85, 67.94, 114.01, 129.91, 130.80, 135.90, 145.86, 157.51。HRMS (ESI,  $\text{M}^+$ )  $\text{C}_{45}\text{H}_{67}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为699.5101, 实测值为699.5099。

[0534] 1, 1'-((((5r, 7r)-金刚烷-2-亚基) 亚甲基) 双(4, 1-亚苯基)) 双(氧基)) 双(己-6, 1-二基)) 双(4-羟基-1-甲基哌啶-1-鎓) 二碘化物 (NB-136)

[0535]

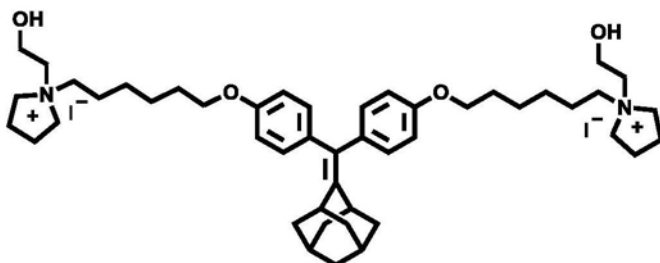


[0536] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-132 (10.0mg, 0.014mmol) 和碘甲烷 (100 $\mu$ L) 的反应制备NB-136 (13mg)。

[0537]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿- $d_4$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$  1.40 (t,  $J=7.1\text{Hz}$ , 4H), 1.49 (q,  $J=7.4\text{Hz}$ , 4H), 1.59-1.95 (m, 20H), 1.95-2.12 (m, 4H), 2.67 (s, 2H), 3.04 (s, 6H), 3.27-3.56 (m, 14H), 3.83-4.05 (m, 8H), 6.70 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 6.93 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $\text{M}^{2+}$ )  $\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为364.2753, 实测值为364.2636。

[0538] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)吡咯烷-1-鎓)二碘化物 (NB-140)

[0539]

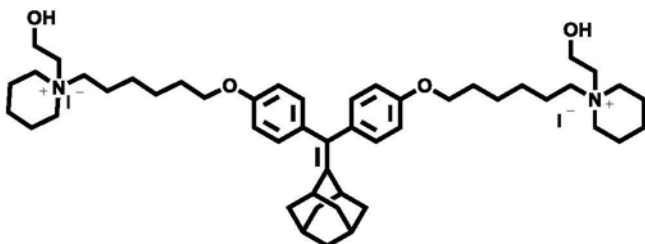


[0540] 遵照为制备NB-68所描述的程序,从NB-65 (10.0mg, 0.016mmol) 与2-碘乙醇 (100 $\mu$ L) 的反应制备NB-140 (13mg)。

[0541]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿- $d_4$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$  1.36 (d,  $J=7.9\text{Hz}$ , 4H), 1.45 (t,  $J=7.8\text{Hz}$ , 4H), 1.62-1.79 (m, 18H), 1.86 (s, 2H), 2.06-2.24 (m, 8H), 2.64 (s, 2H), 3.27-3.34 (m, 4H), 3.34-3.42 (m, 4H), 3.44-3.53 (m, 4H), 3.60-3.68 (m, 4H), 3.81-3.89 (m, 8H), 6.67 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 6.89 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $\text{M}^{2+}$ )  $\text{C}_{47}\text{H}_{70}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为364.2753, 实测值为364.2746。

[0542] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)哌啶-1-鎓)二碘化物 (NB-141)

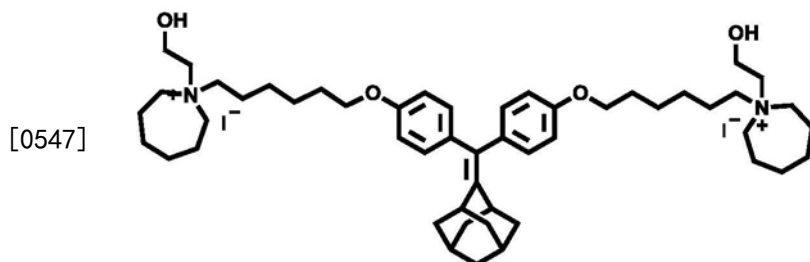
[0543]



[0544] 遵照为制备NB-71所描述的程序,从NB-70 (10.0mg, 0.015mmol) 与2-碘乙醇 (100 $\mu$ L) 的反应制备NB-141 (14mg)。

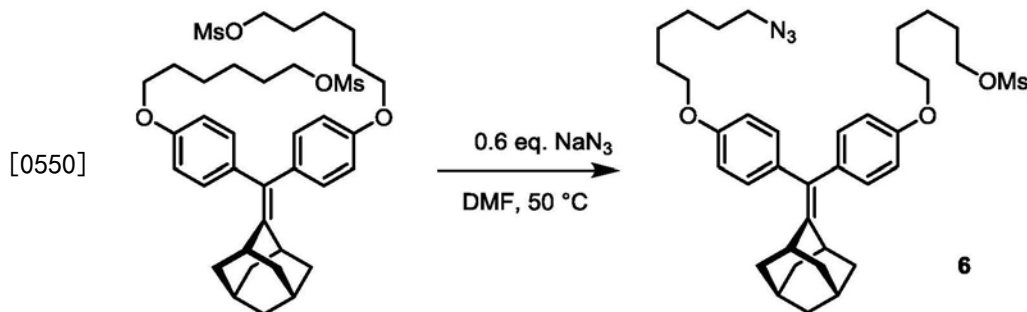
[0545]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 氯仿- $d_4$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$  1.31-1.41 (m, 4H), 1.41-1.51 (m, 4H), 1.60-1.76 (m, 22H), 1.76-1.88 (m, 10H), 2.63 (s, 2H), 3.20-3.51 (m, 16H), 3.80-3.90 (m, 8H), 6.67 (d,  $J=8.4\text{Hz}$ , 4H), 6.88 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $\text{M}^{2+}$ )  $\text{C}_{49}\text{H}_{74}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为378.2903, 实测值为378.2879。

[0546] 1,1'-((((5*r*,7*r*)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基)双(氧基)双(己-6,1-二基)双(1-(2-羟乙基)氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物(NB-142)



[0548] 遵照为制备NB-73所描述的程序,从NB-72(10.0mg,0.014mmol)与2-碘乙醇(100μL)的反应制备NB-142(14mg)。

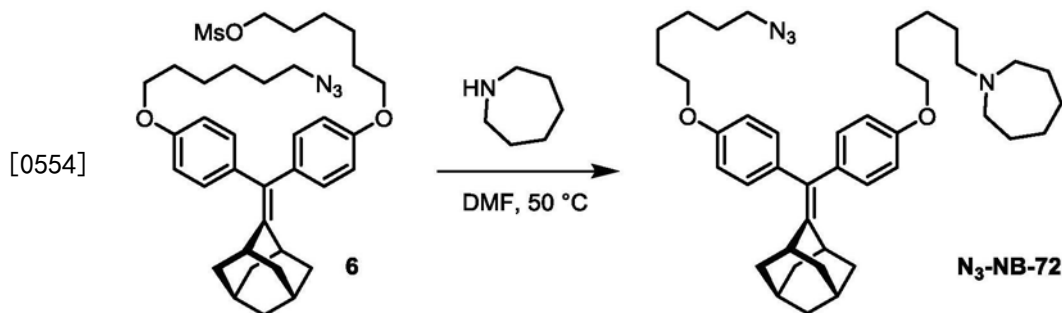
[0549]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz, 氯仿- $d_4$ +甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 1.35-1.46 (m, 4H), 1.47-1.56 (m, 4H), 1.61-1.84 (m, 26H), 1.90 (s, 10H), 2.68 (s, 2H), 3.25-3.48 (m, 12H), 3.57 (d,  $J=30.8\text{Hz}$ , 4H), 3.90 (t,  $J=6.1\text{Hz}$ , 4H), 3.93-4.00 (m, 4H), 6.73 (d,  $J=8.2\text{Hz}$ , 4H), 6.94 (d,  $J=8.0\text{Hz}$ , 4H)。HRMS (ESI,  $M^{2+}$ )  $\text{C}_{51}\text{H}_{78}\text{O}_4\text{N}_2$  计算值为392.3059, 实测值为392.3055。6-(4-((*E*)-((5*R*,7*R*)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-叠氮基己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基甲磺酸酯(6)



[0551] 将化合物2(34mg,0.05mmol)和 $\text{NaN}_3$ (2.0mg,0.03mmol)在DMF(100μL)中的混合物在50℃搅拌1hr。使用轻柔的氮气流除去溶剂,然后将其重新溶解在EtOAc(200μL)中,装载到 $\text{SiO}_2$ 制备TLC(20x 20cm)上,使用10%EtOAc/正己烷收集标题化合物6(20mg)(薄膜类型的固体)。

[0552]  $^1\text{H NMR}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 1.42-1.57 (m, 8H), 1.65 (quintet,  $J=7.5\text{Hz}$ , 2H), 1.76~1.92 (m, 14H), 2.01 (brs, 2H), 2.81 (Brs, 2H), 3.01 (s, 3H), 3.30 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.95 (t,  $J=6.0\text{Hz}$ , 4H), 4.26 (t,  $J=7.0\text{Hz}$ , 2H), 6.79 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 6.80 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 2H), 7.03 (d,  $J=8.5\text{Hz}$ , 4H)。  $^{13}\text{C NMR}$  (126MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 25.49, 25.87, 25.99, 26.77, 28.47, 29.06, 29.33, 29.38, 29.46, 34.67, 37.44, 37.62, 39.85, 51.65, 67.69, 67.78, 70.23, 113.98, 129.85, 130.84, 135.94, 135.99, 145.94, 157.44, 157.48。HRMS (ESI,  $M^++1$ )  $\text{C}_{36}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{N}_3\text{S}$  计算值为636.3471, 实测值为636.3451。

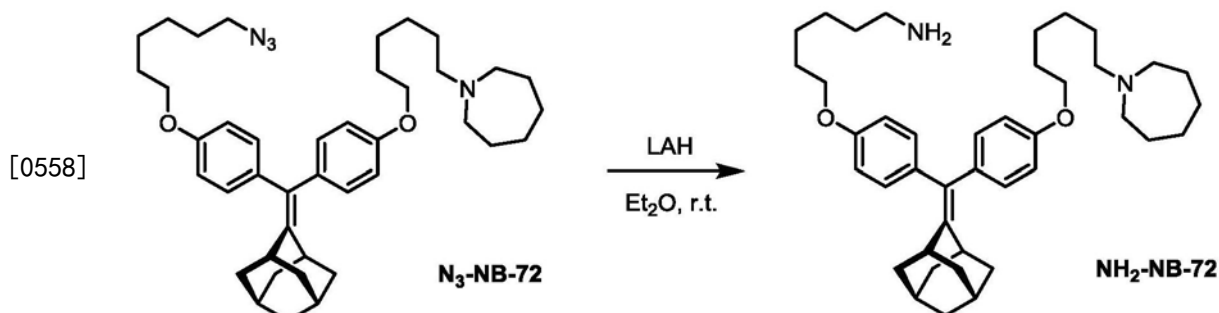
[0553] 1-(6-(4-((*Z*)-((5*r*,7*r*)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-叠氮基己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)氮杂环庚烷( $\text{N}_3$ -NB-72)



[0555] 遵照为制备NB-65所描述的程序,从化合物6 (15mg, 0.024mmol) 与氮杂环庚烷 (20mg, 0.02mmol) 的反应获得N<sub>3</sub>-NB-72 (12mg)。

[0556] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.37 (quintet, J=7.0Hz, 2H), 1.44-1.57 (m, 8H), 1.59~1.70 (m, 10H), 1.76~1.84 (m, 4H), 1.84~1.93 (m, 10H), 2.02 (brs, 2H), 2.49 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.64 (t, J=6.0Hz, 4H), 2.82 (Brs, 2H), 3.31 (t, J=7.0Hz, 2H), 3.95 (q, J=6.0Hz, 4H), 6.81 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.04 (d, J=8.5Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 25.99, 26.33, 27.26, 27.65, 27.67, 28.08, 28.48, 29.06, 29.46, 29.59, 34.67, 37.46, 39.86, 51.65, 55.82, 58.50, 67.77, 67.99, 113.98, 113.99, 129.90, 130.81, 130.84, 135.85, 135.97, 145.87, 157.46, 157.56。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>+1) C<sub>41</sub>H<sub>59</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>计算值为639.4638, 实测值为639.4639。

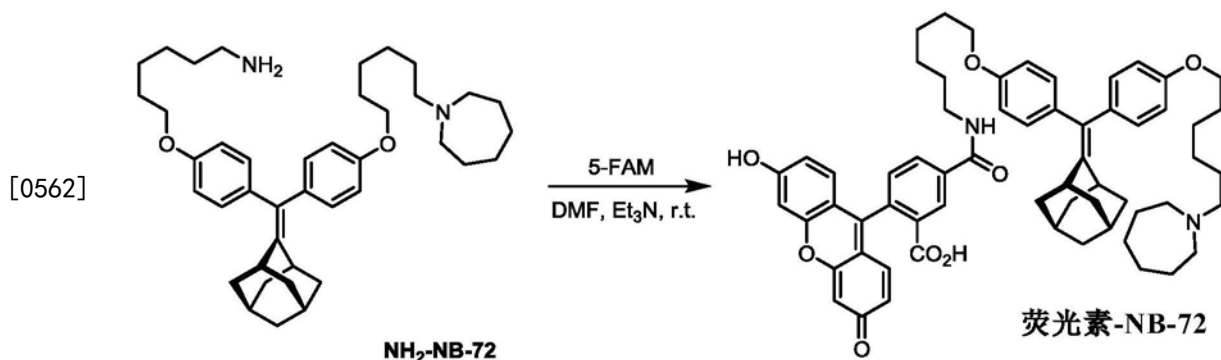
[0557] 6-(4-((E)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(氮杂环庚-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己-1-胺 (NH<sub>2</sub>-NB-72)



[0559] 将LAH (氢化锂铝, 8mg, 0.21mmol) 添加到N<sub>3</sub>-NB-72 (10mg, 0.016mmol) 在二乙醚 (500μL) 中的溶液, 并将所述反应溶液在惰性气氛环境中, 在rt放置1hr。向其添加10%NaOH水溶液, 用二氯甲烷萃取 (200μL x 4), 用去离子水洗涤, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥并蒸发, 得到作为薄膜类型的固体的NH<sub>2</sub>-NB-72 (5mg)。该产物不需进一步纯化直接使用。

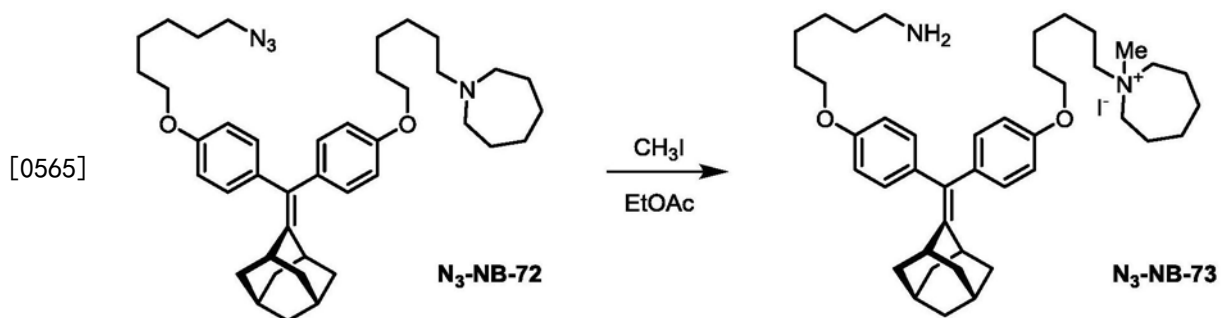
[0560] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.30~1.43 (m, 4H), 1.45~1.58 (m, 8H), 1.59~1.69 (m, 8H), 1.76~1.84 (m, 4H), 1.84~1.94 (m, 10H), 2.02 (brs, 2H), 2.48 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.64 (t, J=6.0Hz, 4H), 2.71 (t, J=7.5Hz, 2H), 2.82 (Brs, 2H), 3.95 (q, J=6.0Hz, 4H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.04 (d, J=8.5Hz, 4H)。ESI (m/z, (M+2H)<sup>2+</sup>) 307.6。

[0561] 5-((6-(4-((E)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(氮杂环庚-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)氨基酰基)-2-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酸 (荧光素-NB-72)



[0563] 在rt下向NH<sub>2</sub>-NB-72 (3mg, 4.90 $\mu$ mol) 和5-FAM (3.4mg, 7.40 $\mu$ mol) 在DMF (100 $\mu$ L) 中的混合物添加三乙胺 (11mg, 0.11mmol), 并在rt下反应1hr。在使用氮气流蒸发掉溶剂后, 在SiO<sub>2</sub> PLC上使用10%MeOH/DCM (v/v) 分离标题化合物 (荧光素-NB-72, 1.4mg)。ESI (m/z) 971.9 (M<sup>+</sup>+1), 487.6 (M/Z<sup>2+</sup>2H<sup>+</sup>)。

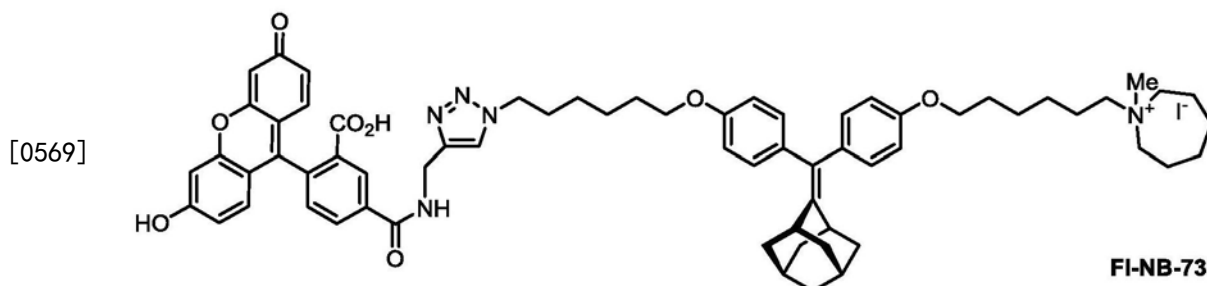
[0564] 1-(6-(4-(((1r,3r,5r,7r)-金刚烷-2-亚基) (4-((6-氨基己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓碘化物 (N<sub>3</sub>-NB-73)



[0566] 遵照为NB-68制备所描述的程序, 从N<sub>3</sub>-NB-72 (3mg, 4.89 $\mu$ mol) 和碘甲烷 (100 $\mu$ L) 在乙酸乙酯溶剂 (100 $\mu$ L) 中的反应获得N<sub>3</sub>-NB-73 (3.7mg)。

[0567] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 1.49-1.51 (m, 8H), 1.65 (quintet, J=7.0Hz, 2H), 1.72~1.92 (m, 20H), 1.92~2.05 (m, 6H), 2.79 (Brs, 2H), 3.29 (t, J=7.0Hz, 2H), 3.33 (s, 3H), 3.60~3.70 (m, 6H), 3.94 (t, J=6.0Hz, 2H), 3.95 (t, J=6.0Hz, 2H), 6.80 (d, J=8.5Hz, 4H), 7.03 (d, J=8.5Hz, 2H), 7.04 (d, J=8.5Hz, 2H)。<sup>13</sup>C NMR (126MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 22.39, 23.14, 25.98, 26.02, 26.25, 26.76, 27.64, 28.46, 29.05, 29.28, 29.46, 34.67, 37.44, 39.86, 51.64, 65.21, 65.30, 67.63, 67.83, 114.03, 114.06, 129.82, 130.79, 130.82, 135.95, 136.02, 146.03, 157.40, 157.50。HRMS (ESI, M<sup>+</sup>) C<sub>42</sub>H<sub>61</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>计算值为653.4795, 实测值为653.4780。

[0568] 1-(6-(4-((Z)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基) (4-((6-(4-((3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酰氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓碘化物 (F1-NB-73)

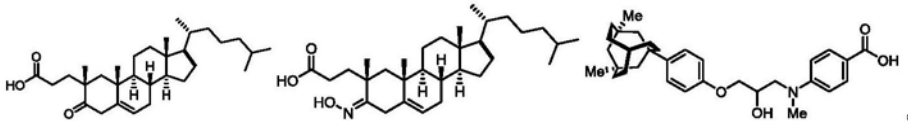


[0570] 在DIEA:AcOH的1:1混合物(20 $\mu$ L)中的0.2mol%CuI存在下,将N<sub>3</sub>-NB-73(3mg,3.8 $\mu$ mol)和荧光素-炔丙基酰胺(3mg,7.2 $\mu$ mol)在DCM(200 $\mu$ L)中的混合物在rt搅拌2hr。将所述反应混合物直接装载在SiO<sub>2</sub> TLC板(20x 20cm)上。用25%MeOH/DCM(v/v)展开提供了标题化合物F1-NB-73(2.1mg,Rf=0.15)。HRMS(ESI,M<sup>+</sup>)C<sub>66</sub>H<sub>76</sub>O<sub>8</sub>N<sub>5</sub>计算值为1066.5694,实测值为1066.5677。

[0571] 实施例2.FOXM1抑制剂的结构-活性分析

[0572] 使用高通量荧光共振能量转移测定法筛选全长FOXM1与FOXM1DNA响应元件结合的抑制剂,评估了来自于Cambridge Inc.、伊利诺伊大学内部自制研究样品和NCI库藏的文库的~170,000种化合物。仅仅发现了47种分子是实质性命中物,在进一步过滤泛测定干扰(PAIN)和混杂型化合物后,只剩下其中的3种分子(参见下文)。这些化合物作为几种乳腺癌细胞系增殖的抑制剂的效能是适度的,约为15-25 $\mu$ M。这些化合物的显著共同特点是:1)酸性官能团,和2)亲脂性核心,可能具有金刚烷组成部分。

[0573]



[0574] 二芳基亚烷基单胺及其甲碘化物盐在进一步研究各种不同的被证明是无效果的亲脂性酸化合物之后,并且不限于任何特定理论,据推测亲脂核心与胺官能团的组合可能产生更加有效的FOXM1抑制剂。根据这一假设,如表1中所示,制备了具有单一亚己基连接物的金刚烷-2-亚甲基-(2-氯苯基-2-苯氧基烷基-叔胺)系统的成员(NB-41、54、55、60、62、63、64、84、85、118和119),并在乳腺癌细胞增殖测定法中进行了评估。这些化合物具有由连接到金刚烷基单元的二芳基亚烷基系统构成的核心。唯一的酚类化合物NB-41针对MCF-7和DT-22细胞两者显示出非常好的抗增殖活性(IC<sub>50</sub>=1.5-2.0 $\mu$ M),效能比FDI6高两倍(对于MCF-7来说IC<sub>50</sub>=3.1 $\mu$ M,对于DT-22来说为4.8 $\mu$ M,对于MDA-MB-231来说为4.5 $\mu$ M)并几乎等同于硫链丝菌素(对于MCF-7来说IC<sub>50</sub>=1.4 $\mu$ M,对于DT-22来说为3.6 $\mu$ M),FDI6和硫链丝菌素两者均为已知的FOXM1抑制剂。然而,NB-41中的酚OH为这种化合物提供了与雌激素受体 $\alpha$ (ER $\alpha$ )的高结合亲和性和抗雌激素活性。为了降低其ER $\alpha$ 结合亲和性并由此缓和其通过ER $\alpha$ 的作用,将酚OH转变成氯;这种改变将酚NB-41对ER $\alpha$ 的相对结合亲和性(RBA)从82降低到氯化物NB-54的1.2(雌二醇的RBA为100)。测试的大多数氯取代的化合物(NB-54、55、60、62、63、64、84、85、118和119)对ER $\alpha$ 具有非常低的RBA,在0.1至0.3的范围内;只有NB-54略微高些(1.2)。这些化合物的低水平的ER $\alpha$ 结合将确保它们在ER $\alpha$ 阳性乳腺癌细胞(例如MCF-7细胞)中的抗增殖活性涉及通过FOXM1的作用,并受到与ER $\alpha$ 的相互作用的极小影响;它们对ER $\alpha$ 阴性DT-22和MDA-MB-231细胞的作用不能涉及ER $\alpha$ 。

[0575] 表1单一直链烷基连接的胺和它们的甲碘化物盐衍生物。

编号 #	结构	RBA* ER $\alpha$	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			PK (40 mg/kg)	
			MCF7	DT-22	MDA-MB-231	s.c. (AUC <sub>0-48</sub> ( $\mu$ M*hr))	p.o. t <sub>1/2</sub> (hr)
NB-41		82.0	1.5	2.0	n.a	13.3, 22.5	5.6, 15.1
NB-54		1.17	4.0	n.a.	4.0	n.a	n.a
NB-55		0.34	3.0	6.0	10	34.7, 26.7	35.7, 16.6
NB-63		0.15	5.5	6.0	n.a	159.7, 31.5	太低以致 无法测量
NB-60		n.a.	16	n.a	n.a	n.a	n.a
[0576] NB-62		0.16	5.5	n.a	n.a	150.3, 36.8	太低以致 无法测量
NB-64		0.12	3.0	n.a	n.a	n.a	n.a
NB-118		n.a.	4.4	n.a	n.a	n.a	n.a
NB-84		n.a.	6.0	n.a	n.a	n.a	n.a
NB-119		n.a.	4.2	n.a	n.a	n.a	n.a
NB-85		n.a.	9.8	n.a	n.a	n.a	n.a

[0577] s.c.: DMSO: 玉米油 (1:10) 100 $\mu$ L 注射; p.o.: PEG400:PVP:Tween80:CMC (9:0.5:0.5:90) 200 $\mu$ L 给药

[0578] \*: RBA 在雌二醇对雌激素受体的结合亲和性为 100 的基础上评估。

[0579] 尽管化合物 NB-55、64、118 和 119 与 NB-41 相比活性略低, 但这些化合物与已知的小分子 FOXM1 抑制剂 FDI6 相比对 MCF-7 细胞具有更有效的抗增殖效应。为了进一步研究, 从这些胺中的某些制备了甲碘化物盐。胺与它们的甲碘化物盐的抗增殖效能的比较显示, 在三种情况下所述胺具有更高的效能 (NB-55 相比于 NB-63, NB-118 相比于 NB-84, NB-119 相比于 NB-85)。相反, 咪唑鎓甲碘化物 (NB-62) 与其母体化合物 (NB-60) 相比具有高三倍的抗增殖效能。调查了这些化合物对已知受 FOXM1 调控的基因的活性的影响, 并且发现 NB-55 逆转了 FOXM1 对被该转录因子上调和下调的基因两者的效应, 与为通过小分子抑制 FOXM1 所预期的效应一致 (图 15A-15B 和图 16A-16F)。

[0580] 在药代动力学研究中, NB-55 表现出相对好的血液水平概况, 当通过皮下 (s.c.) 或口服 (p.o.) 途径任一者以 80mg/kg 给药时, 足以在血液中的达到治疗水平。此外值得注意的

是,尽管甲碘化物盐NB-63与其母体化合物(NB-55)相比具有略微降低的抗增殖活性,但在NB-63的s.c.给药后曲线下面积计算值[AUC( $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ )]与NB-55相比高大约3倍,并且它的 $t_{1/2}$ 也略微延长。然而,在p.o.给药后,甲碘化物盐NB-63的PK概况不如胺NB-55好。在这些条件下,结果显示甲碘化物盐形式与母体化合物相比具有更加不良的p.o.PK活性,但通常具有更好的s.c.PK概况。

[0581] 二芳基亚烷基二胺及其甲碘化物盐接下来,研究了相关的二胺,即金刚烷-2-亚甲基-(2,2-双(苯氧基-烷基-叔胺))系统,以确定与单胺系列相比,将氯基团用第二个烷基叔胺基团代替是否将提高它们的细胞抗增殖活性并降低它们的ER $\alpha$ 结合亲和性。结果显示在表2和表3中。双(二乙基氨基己基)连接物系统(NB-51)与相应的单胺NB-54( $\text{IC}_{50}=4.0\mu\text{M}$ )相比,在MCF-7细胞中显示出抗增殖活性的~5倍提高( $\text{IC}_{50}=0.7\mu\text{M}$ )。不同于在表1中示出的具有单(叔胺)己基连接物的化合物及其甲碘化物盐,值得注意的是所述双甲碘化物盐(NB-115)与其母体二胺化合物NB-51( $\text{IC}_{50}=1.5\mu\text{M}$ )相比,在抑制ER $\alpha$ 阴性乳腺癌细胞系DT-22的增殖中表现出2倍提高( $\text{IC}_{50}=0.8\mu\text{M}$ ),尽管它对MCF-7细胞的活性相对未改变。尽管具有良好的细胞活性,但NB-51在进一步的体内研究中未显示出足够好的PK概况(通过s.c.或p.o.途径)。与二胺NB-51相反,它的甲碘化物盐(NB-115)在s.c.给药后在AUC( $746\mu\text{M}\cdot\text{h}$ )方面显示出极大改善的PK概况,并保留了有利的清除时间 $t_{1/2}$ (38.6hr)。这种概况足够有利于使用低剂量NB-115的体内研究。

[0582] 表2. 双直链C4、C5和C8连接的胺衍生物及其甲碘化物盐。

编号 #	结构	RBA ER $\alpha$	MCF7	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )			PK (40 mg/kg)	
				DT-22	MDA-MB-231	s.c. (AUC <sub>0-48</sub> ( $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$ ))	p.o. $t_{1/2}$ (hr)	
NB-120		n.a	0.9	n.a	n.a	n.a	n.a	
NB-86		n.a	1.4	1.9	1.1	n.a	n.a	
NB-121		n.a	1.6	n.a	n.a	n.a	n.a	
NB-87		n.a	1.7	1.5	0.9	n.a	n.a	
NB-122		n.a	1.2	n.a	n.a	n.a	n.a	
[0583] NB-88		n.a	1.7	1.2	0.7	n.a	n.a	
NB-123		n.a	1.0	n.a	n.a	n.a	n.a	
NB-89		n.a	0.7	1.1	0.5	n.a	n.a	
NB-80		n.a	2.7	3.4	n.a	n.a	n.a	
NB-81		n.a	0.6	1.6	n.a	以40mg/kg s.c.给药时死亡		

[0584] 表3. 双亚己基连接的胺及其甲碘化物盐衍生物

编号 #	结构	RBA ER $\alpha$	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)			PK (60 mg/kg)	
			MCF7	DT-22	MDA-MB-231	s.c. (AUC <sub>0-48</sub> ( $\mu$ M*hr), t <sub>1/2</sub> (hr))	p.o.
NB-51		0.21	0.7	1.5	n.a.	4.7, 61.8*	1.8, 20.1*
NB-115		n.a.	1.1	0.8	n.a.	746.2, 38.6*	太低以致 无法测量
NB-53		0.15	3.5	n.a.	<5	n.a.	n.a.
NB-133		n.a.	0.8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
NB-137		n.a.	2.3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
NB-65		0.05	0.8	1.0	n.a.	14.76, 48.6	太低以致 无法测量
NB-68		0.05	0.8	0.7	1.7	289.4, 109.3	0.18, 18.5
[0585] NB-70		n.a.	0.7	n.a.	0.9	10.2, 221.5	6.0, 90.9
NB-71		n.a.	1.1	0.8	0.5	364.3, 119.2	n.a.
NB-72		n.a.	0.7	0.7	n.a.	n.a.	n.a.
NB-73		n.a.	0.7	0.5	0.3	190.5, 170.0	太低以致 无法测量
NB-66		0.05	0.8	n.a.	n.a.	6.1, 45.6	太低以致 无法测量
NB-69		n.a.	6.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
NB-61		n.a.	7.5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

\* 20 mg/kg 给药。# 40mg/kg。

[0586] 值得注意的是,对于抑制乳腺癌细胞系ER $\alpha$ 阳性MCF-7细胞以及ER $\alpha$ 阴性DT-22和MDA-MB-231细胞的增殖来说,大多数双(苯氧基-烷基-叔胺)系统(NB-65、66、70和72)具有亚微摩尔IC<sub>50</sub>值(表3)。与使用单胺系列的情况(表1)相反,大多数这些二胺的甲碘化物盐具有与相应的二胺非常相近的抗增殖效能(NB-68相比于NB-65;NB-71相比于NB-70;NB-73相比于NB-72)。只有基于哌嗪基的化合物(NB-66)作为甲磺酸盐(NB-69)具有明显降低的效能(对于盐来说IC<sub>50</sub>=6.0 $\mu$ M,相比于对于二胺来说IC<sub>50</sub>=0.8 $\mu$ M)。末端为咪唑基的系统(NB-61, IC<sub>50</sub>=7.5 $\mu$ M)与其他基于烷基的双(叔胺)系统相比也显示出更加不良的活性。当所述末端胺的环尺寸从开链(二乙胺, NB-51)变成5-元环状(吡咯烷, NB-65)、6-元环状(哌啶, NB-

70)、7-元环状(氮杂环庚烷,NB-72)胺时,对MCF-7、DT-22和MDA-MB-231细胞的抑制的IC<sub>50</sub>值显示出基本上不变。也值得注意的是,在测定时,二胺及其甲碘化物盐两者对ER $\alpha$ 均具有非常低的结合亲和性。这些化合物中的许多对FOX M1调控的基因具有抑制作用(如图15A-15B和图16A-16F中所示)。NB-65、NB-68、NB-70、NB-71、NB-73和NB-66的PK性质表明,在可以做出比较的情况下,双甲碘化物盐在s.c.给药后优于双胺,但在p.o.给药后较差。

[0587] 具有7-元胺环并且是NB-72的甲碘化物盐的NB-73,在抑制增殖中显示出亚微摩尔效能(对于MCF-7来说IC<sub>50</sub>=0.7 $\mu$ M,对于DT-22来说0.5 $\mu$ M,并且对于MDA-MB-231细胞来说0.3 $\mu$ M),并显示出良好的基因调控活性。不同于大多数化合物的双己基连接物,NB-53中的双(三乙二醇)连接物与其他双己基连接的化合物相比在提高抗增殖效能方面未显示出任何益处,正如在表3中所示。

[0588] 研究了直链烷基连接物的长度的影响(表2)。合成了双丁基系统(NB-120和NB-121)及其甲碘化物盐(NB-86和NB-87)、双戊基系统(NB-122和NB-123)及其甲碘化物盐(NB-88和NB-89)和双辛基系统及其盐(NB-80和NB-81),并评估了它们对MCF-7、DT-22和MDA-MB-231细胞的抗增殖效能,如表2中所示。一般来说,大多数化合物对MCF-7细胞具有1.0-2.0 $\mu$ M的IC<sub>50</sub>值,除了用戊基连接的NB-123的甲碘化物盐NB-89之外,它对MCF-7、DT-22和MDA-MB-231细胞的IC<sub>50</sub>值分别为0.6 $\mu$ M、1.1 $\mu$ M和0.5 $\mu$ M。总而言之,与其他烷基连接物相比,使用己基将末端叔胺基团连接到核心系统对用于FOX M1以具有对乳腺癌细胞的抗增殖效应而言似乎是优选的。

[0589] 在表4中提供了来自于在侧链上具有羟基取代的双胺和双铵基团的其他化合物的结果。它们对MCF7细胞增殖的抑制的IC<sub>50</sub>值与其他双胺和双铵化合物(表2-3)相近,在一位数的微摩尔至亚微摩尔范围内。

[0590] 表4. 双亚己基连接的羟基胺及其甲碘化物盐衍生物

编码#	结构	RBA ER $\alpha$	MCF7	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)		PK (40 mg/kg)	
				DT-22	MDA-MB-231	s.c. (AUC <sub>0-48</sub> ( $\mu$ M*hr))	p.o. (t <sub>1/2</sub> (hr))
NB-130		n.a	1.2	n.a	n.a.	n.a	太低以致 无法测量
NB-134		n.a	1.1	1.5	n.a.	n.a	n.a
NB-131		n.a.	0.9	n.a	n.a.	n.a	太低以致 无法测量
NB-135		n.a.	2.1	n.a	n.a.	n.a	n.a
NB-145		n.a.	0.9	n.a	n.a.	n.a	太低以致 无法测量
NB-143		n.a.	1.1	n.a	n.a.	n.a	n.a
NB-144		n.a.	1.8	n.a	n.a.	n.a	n.a
[0591] NB-138		n.a.	0.7	n.a	n.a.	n.a	1.84, 25.0
NB-139		n.a.	0.9	n.a	n.a.	n.a	n.a
NB-132		n.a	1.6	n.a.	n.a	n.a.	n.a.
NB-136		n.a	1.0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
NB-140		n.a	1.6	n.a	n.a	n.a	n.a
NB-141		n.a.	3.6	n.a	n.a	n.a	n.a
NB-142		n.a.	2.4	n.a	n.a	n.a	n.a

[0592] 根据从本文中对这些系列的单胺、二胺及其甲碘化物盐的研究得到的结构-活性关系,选择了一部分化合物用于更详细的研究。基于细胞效能和PK性质,选择了总共10种化合物,包括5种胺和它们相应的甲碘化物盐,它们都具有亚己基连接物。一组是单胺NB-55及其甲碘化物盐NB-63。另外4组是二胺NB-65、NB-70、NB-72和NB-51以及它们相应的甲碘化物盐NB-68、NB-71、NB-73和NB-115。

[0593] 实施例3. 化合物对一组FOXM1表达不同的乳腺癌细胞的增殖的影响

[0594] 研究了一组FOXM1蛋白含量不同的人类乳腺癌细胞系(高,DT22细胞;中,MCF7、

T47D、BT474、MDA-MB-453、MDA-MB-468和MDA-MB-231细胞；以及低，MCF10A细胞），以调查潜在FOXM1抑制剂化合物对细胞增殖的影响。除了MCF7、T47D和BT474细胞之外，所有其他细胞系都是ER阴性的（图2A）。如图2B中所示，在监测最早的前导FOXM1抑制剂（单胺NB-55）对细胞增殖的影响时，发现具有高和中等水平的FOXM1蛋白的细胞对细胞增殖的抑制来说显示出相对相近的剂量响应，而具有低水平FOXM1的MCF10A对NB-55显示出降低的敏感性，为了获得相等的50%的增殖抑制需要高5倍的NB-55浓度。由于NB-55具有5-元环胺基（图1），因此进行了进一步研究以调查环尺寸是否可能提高化合物效能。因此，测试了具有6-和7-元环尺寸的化合物（NB-118和NB-119），但发现这些环尺寸的改变不影响抑制功效或效能（图8）。

[0595] 由于在乳腺癌细胞系中单胺NB-55的增殖抑制的 $IC_{50}$ 仅为大约2-10 $\mu$ M，因此为了获得可能的改进的效能，将NB-55与二胺系列的一些成员（NB-51、55、65、70、72）以及它们的甲碘化物盐（NB-63、68、71、73、115）进行比较。在这些研究中，也使用了几种报道的FOXM1抑制剂作为比较化合物（图3A-3B）。它们包括最近报道的小分子抑制剂FDI-6（Gormally等，*Nature communications*, 2014; 5: 5165）和微生物化合物硫链丝菌素（Bhat等，*PLoS ONE*, 2009; 4: e5592）。值得注意的是，在ER阳性的MCF7和ER阴性的DT22细胞两者中，所有所述二胺与单胺NB-55以及FDI-6和硫链丝菌素相比在抑制细胞增殖方面都明显更加有效。在这些细胞测定法中，不论是单胺的甲碘化物盐（NB-63）还是二胺的甲碘化物盐（NB-68、71、73、115）都具有与它们的母体胺化合物非常相近的效能。因此，根据在这些乳腺癌细胞系中的抗增殖活性，所述二胺比单胺明显更加有效，但在所有情况下相应的甲碘化物盐的形成对它们的细胞效能均没有实质性影响。

[0596] 在ER阳性的MCF7和基础/低密封蛋白三阴性的DT22细胞之外的其他细胞系中的剂量响应抗增殖研究给出了相似的发现。因此，在三阴性的MDA-MB-231和MDA-MB-453乳腺癌细胞中，对于单胺NB-55来说 $IC_{50}$ 值为3-5 $\mu$ M，而二胺及其甲碘化物盐给出 $0.6 \pm 0.14 \mu$ M的 $IC_{50}$ 值，与使用MCF7和DT22细胞进行细胞增殖抑制所观察到的结果非常相近。

[0597] 有趣的是，测试的二胺盐NB-73还有效地抑制他莫昔芬耐药性MCF7乳腺癌细胞的增殖，所述细胞的生长被反式-羟基他莫昔芬微弱刺激而不是抑制（图9）。

[0598] 实施例4. 化合物对FOXM1靶基因表达的影响

[0599] 进行了进一步实验，以调查这些化合物抑制经典的FOXM1靶基因（即正常情况下被FOXM1上调的基因）（CCNB1、PLK1、AURKB和FOXM1C）的表达和逆转FOXM1靶基因ATF3的下调的能力（图4A-4B）。这些基因是在我们的siFOXM1微阵列研究（Bergamaschi等，*Breast Cancer Res.*, 2014; 16: 436）以及硫链丝菌素基因微阵列（Sanders等，*Genome Biology*, 2015, 16: 130）和其他人在MCF7细胞中进行的FDI-6RNA-seq研究（Gormally等，*Nature communications*, 2014, 5: 5165）的基础上发现的受FOXM1调控的基因。

[0600] 使用三种FOXM1抑制剂以它们抑制细胞增殖的 $IC_{50}$ 浓度进行的基因表达分析显示，在ER阳性的MCF7细胞和ER阴性的DT22细胞两者中，NB-55、NB-73和NB-115显著降低所有FOXM1刺激的靶基因（FOXM1C、AURKB、CCNB1和PLK1）的表达并提高被FOXM1抑制的基因ATF3的表达（图4A-4B）。NB-55、NB-73和NB-115与 $IC_{50}$ 浓度（8 $\mu$ M）下的FDI-6同样有效，并且通常比 $IC_{50}$ 浓度（2 $\mu$ M）下的硫链丝菌素更加有效。

[0601] 由于FOXM1与ER $\alpha$ 之间的已知相互关系以及FOXM1和ER $\alpha$ 是FOXM1靶基因

(Bergamaschi等, *Breast Cance Res.*, 2014;16:436; Millour等, *Oncogene*, 2010, 29:2983-95; Sanders等, *Genome biology*, 2013, 14:R6), 因此在本发明中检查并发现本文中公开的FOXMI抑制剂以时间依赖性方式下调细胞FOXMI和ER $\alpha$ 蛋白, 与硫链丝菌素和FDI-6相同(图5A)。它们也都降低FOXMI和ER $\alpha$ mRNA的细胞水平(图5B)。

[0602] 实施例5. 抑制剂与FOXMI直接结合并且在抑制剂与FOXMI结合后对蛋白水解的敏感性提高

[0603] 为了确定本文中的化合物是否直接抑制FOXMI, 开发了用于FOXMI结合的tr-FRET测定法。通过将二胺化合物NB-72的一个胺附属物用荧光素代替, 产生了受体荧光团F1-NB-72(图10A), 并通过链亲合素-生物素连接物将铽供体附连到纯化的全长FOXMI。FOXMI滴定显示F1-NB-72以23nM的K<sub>d</sub>结合到FOXMI蛋白(图10B)。通过竞争测定法评估了我们研究的十种化合物与FOXMI的相互作用, 监测了随着固定浓度的F1-NB-72被抑制剂置换FRET信号的降低。代表性实例示出在图10C中。从IC<sub>50</sub>值计算的K<sub>i</sub>值提供在表5中。

[0604] 表5. FOXMI抑制剂和FDI-6与FOXMI蛋白结合的亲和性

化合物	[Cpd No.] K <sub>i</sub> ( $\mu$ M) <sup>a</sup>	
	胺	甲碘化物盐
单胺		
C1 和 5-元环	[NB-55] 0.23	[NB-63] 0.076
二胺		
5-元环	[NB-65] 0.19	[NB-68] 0.051
6-元环	[NB-70] 0.10	[NB-71] 0.011
7-元环	[NB-72] 0.065	[NB-73] 0.014
Et <sub>2</sub> 胺	[NB-51] 0.13	[NB-115] 0.040
<b>FDI-6</b>	0.143	

[0605] <sup>a</sup>K<sub>i</sub>值从IC<sub>50</sub>值计算。

[0607] 所述单胺和二胺及其甲碘化物盐对FOXMI具有高结合亲和性, 并且K<sub>i</sub>值在亚微摩尔范围内。所述二胺的甲碘化物盐以比所述二胺本身更高的亲和性结合, 并且总体来说, FOXMI结合的K<sub>i</sub>值略微低于抑制细胞增殖的IC<sub>50</sub>值。后者可能反映出下述事实, 即细胞研究中化合物的可用浓度可能由于与含有血清的组织培养基中的蛋白质缔合而降低和被影响细胞摄入的其他因素降低。

[0608] 有趣的是, 观察到使用FOXMI抑制剂的处理使FOXMI蛋白更容易被链霉蛋白酶蛋白水解(图11), 表明化合物(NB-73)与FOXMI的结合扰乱所述蛋白质的结构, 通过提高FOXMI被链霉蛋白酶降解的能力而使其失稳。不受任何理论限制, 这个发现暗示在用化合物处理细胞后FOXMI的细胞内水平的降低可能至少部分反映出在抑制剂结合后FOXMI对蛋白水解的易感性的提高。

[0609] 实施例6. FOXMI抑制剂的药代动力学

[0610] 在小鼠中使用几种最有希望的FOXM1抑制剂化合物的药代动力学(PK)研究中,发现一些单胺和二胺显示出非常好的皮下和口服生物利用度(图6A-6B)。因此,正如在图6A-6B中看到的,在单次皮下注射或单次口服给药母体单胺和二胺(NB-55、65、70、72和51)后检查化合物的半衰期和在血浆中的积累,揭示出通过任一给药途径的良好和相当等同的PK。令人吃惊的是,单胺NB-55的PK性质,特别是在口服给药后,明显优于所述二胺;这与在培养物中的细胞中所述单胺与二胺相比在抗增殖效能方面效能更低(图3A-3B)相反。

[0611] 尽管将所述单胺和二胺转变成它们的甲碘化物盐对它们的细胞效能没有有益影响(图3A-3B),但它确实改进了它们的皮下PK行为;然而,这些盐的口服生物利用度降低(图6A-6B)。因此,在NB-63、NB-68、NB-71、NB-73和NB-115的s.c.注射后,观察到化合物的非常高的血液水平,随后是长的半衰期(从大约25h至40h,图6A-6B),而在口服给药后只发现非常低的水平。形成鲜明对比的是,FOXM1抑制剂FDI-6在以20mg/kg s.c.给药后仅获得非常低的血液水平,并且在以40mg/kg口服给药后不可检测(图12)。

[0612] 实施例7.FOXM1抑制剂在抑制人类乳腺肿瘤异种移植物的生长和肿瘤中FOXM1调控的基因的表达中的功效

[0613] 在雌性NOD/SCID- $\gamma$  (NSG)小鼠中的研究显示,单胺NB-55在每天s.c.或口服给药时,非常有效地抑制表达高水平FOXM1的DT22三阴性人类乳腺肿瘤异种移植物的生长(图7A)。每天使用NB-55的治疗还降低已确立的E2治疗的MCF7肿瘤的生长(图13),但在具有更高水平的FOXM1蛋白的DT22肿瘤中生长抑制更加显著。也测试了较低剂量的二胺盐NB-68、NB-71和NB-73作为肿瘤抑制剂,因为这些化合物与NB-55相比具有更高的固有细胞效能并在s.c.给药后达到更高的血液水平。在前10天每隔一天20mg/kg随后每隔一天10mg/kg的剂量下,发现NB-68、NB-71和NB-73极大抑制肿瘤生长(图7B)。由于它们的有效性,随后将动物用5和10mg/kg的NB-73每天s.c.治疗,然后在第21天开始每隔一天治疗。正如在图7C中看到的,NB-73在5mg/kg下降低肿瘤生长,并且在10mg/kg下甚至更加显著地抑制生长。伴随着肿瘤生长被低剂量NB-73的这种抑制,肿瘤中FOXM1调控的基因、包括FOXM1本身的表达以剂量依赖性方式降低,并且在用10mg/kg NB-73治疗后所有基因的表达均极大降低,使用5mg/kg NB-73治疗的肿瘤也显示出几个FOXM1调控的基因的显著降低(图7D)。

[0614] 低剂量的显示出良好PK性质以及高血液水平和长半衰期的化合物NB-63和NB-115,在抑制DT22异种移植肿瘤的生长中也是有效的(图14A-14B),并对动物体重几乎没有影响。

[0615] 实施例8.使用FOXM1的荧光测定法

[0616] 通过tr-FRET进行了FOXM1抑制剂与FOXM1结合的竞争性结合测定法。所有tr-FRET实验均使用FRET缓冲液(20mM Tris,pH 7.5,50mM NaCl,0.01%NP-40去污剂,10%甘油),并且每天新鲜添加0.3mg/ml卵清蛋白和0.1mM丁基化羟基-苯甲醚。所述蛋白质、荧光探针和抑制剂稀释液的溶液以3x终浓度制备,并在将它们微量滴定板中混合在一起时发生最终的稀释。

[0617] 制备5.6 $\mu$ M的生物素-FOXM1储用溶液并在-80 $^{\circ}$ C下储存。在融化后,将它在含有1.25nM四价链亲合素-铽(SaTb)的测定体系中稀释到5nM的终浓度。所述抑制剂以7x10<sup>-4</sup>M的浓度在DMF(二甲基甲酰胺)中制备,然后在添加2%DMF以确保溶解性的FRET缓冲液中连续稀释。终浓度为10<sup>-5</sup>M至10<sup>-9</sup>M,最后的点仅为缓冲液而没有抑制剂。荧光素-NB-72(F1-NB-

72) 在DMF中以1mM制备并储存在-20℃下。将它在普通FRET缓冲液中稀释以在测定法中给出100nM的浓度。

[0618] 温育在黑色Molecular Devices 96孔微量滴定板上一式两份进行。将5μL F1-NB-72和5μL FOXM1-SaTb溶液混合,并允许其在室温、在暗处温育15min。向其添加5μL抑制剂稀释液,混合,并在室温、在暗处温育1h。使用Victor X5读板器(Perkin Elmer, Shelton, CT),使用340/10nm的激发滤光片和495/20和520/25nm的分别用于铽和荧光素的发射滤光片,以100μs的延迟进行时间分辨福斯特共振能量转移(tr-FRET)测量。扩散增强的FRET通过不含生物素-FOXM1的平行温育并减去背景信号来确定。使用Graph Pad/Prism 4制图。使用Cheng-Prusoff方程从IC<sub>50</sub>值计算每种化合物的K<sub>i</sub>:

$$[0619] \quad K_i^{\text{化合物}} = IC_{50}^{\text{化合物}} / (1 + T_0 / K_d^{F1-NB-72})$$

[0620] 其中T<sub>0</sub>是浓度,并且K<sub>d</sub><sup>F1-NB-72</sup>是F1-NB-72的结合亲和性。

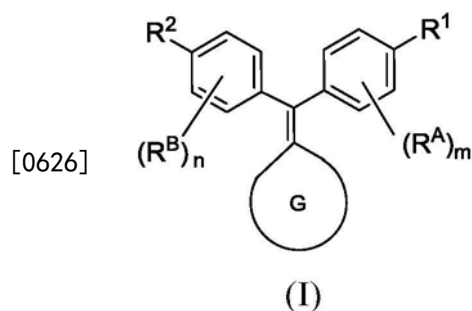
[0621] 用于确定F1-NB-72的K<sub>d</sub>的直接结合实验。为了测量F1-NB-72的K<sub>d</sub>,将配体在FRET缓冲液+2%DMF中稀释以给出3倍于终浓度的浓度。将所述生物素-FOXM1稀释到3x的浓度(5nM + 1.25nM SaTb)。将5μL的它们每一者在黑色Molecular Devices微量滴定板上与5μL FRET缓冲液混合,以便每种组分被稀释3倍。每个点准备一式两份,混合,并在室温下、在暗处温育1h。tr-FRET在Victor X5微量滴定板读板器上使用如上给出的设置来测量。

[0622] 实施例9. 化合物和siFOXMI对全局FOXMI基因调控的影响的RNA-Seq分析

[0623] 使用RNA-Seq来研究这些化合物对全局基因调控的影响。由于完全FOXMI耗尽导致有丝分裂灾难和细胞死亡,因此使用将细胞增殖抑制约60%的化合物浓度。正如在图17A中的热点图中看到的,在MCF7和MDA-MB-231细胞中,NB-73在9h时调控FOXMI RNA签字基因,并且在24h时甚至更加强烈。此外,正如在维恩图(图17B)中所示,在被NB-73、NB-55和FDI-6调控超过2倍并且FDR<0.05的基因中存在大量交叠。值得注意的是,72%的受NB-55调控的基因和48%的受FDI-6调控的基因与NB-73调控的基因重叠,表明这些化合物调控许多相似的基因。通过用NB-73或siFOXMI处理细胞进行的基因集富集分析(GSEA)和基因调控的富集评分示出在图17C中。这些针对由FOXMI靶基因构成的基因集测试差异基因表达数据的分析揭示出负的富集评分,表明NB-73和siFOXMI下调FOXMI顺反子组中的基因的表达。通过基因本体分析鉴定的基因调控的主要类别包括增殖、有丝分裂细胞周期的G2/M转变、凋亡、转录调控、DNA复制和DNA修复,均为公知在FOXMI调控之下的活性。来自于RNA-seq和基因集富集分析的结果表明所述化合物降低FOXMI调控的基因的表达并抑制在FOXMI调控之下的基因本体。

[0624] 出于完整性原因,在下面编号的条目中阐述了本发明的各个不同方面:

[0625] 条目1. 一种式(I)的化合物或其可药用盐,



[0627] 其中

[0628] G是任选被取代的多环亚烷基；

[0629]  $R^A$ 和 $R^B$ 在每次出现时独立地是卤素、 $C_{1-4}$ 烷基或 $C_{1-4}$ 卤代烷基；

[0630]  $R^1$ 和 $R^2$ 独立地是-OH、卤素、-CN、-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T或-OR<sup>3</sup>，并且 $R^1$ 和 $R^2$ 中的至少一者是-OR<sup>3</sup>；

[0631] L是连接物；

[0632] T是荧光受体或荧光供体；

[0633]  $R^3$ 是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>；

[0634]  $R^x$ 和 $R^y$ 在每次出现时独立地是氢、 $C_{1-4}$ 烷基、-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH，或者

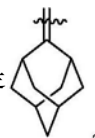
[0635]  $R^x$ 和 $R^y$ 与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基，其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自 $C_{1-4}$ 烷基、卤素、-OH、 $C_{1-4}$ 卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代；

[0636] m是0、1、2、3或4；

[0637] n是0、1、2、3或4；并且

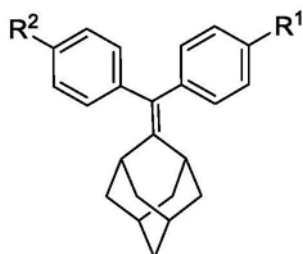
[0638] p是0、1、2、3、4或5。

[0639] 条目2. 条目1所述的化合物或其可药用盐，其中G是



[0640] 条目3. 条目1-2中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中m是0或n是0，或m和n两者都是0。

[0641] 条目4. 条目1-3中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中所述化合物具有式(I-a)



[0642]

(I-a)。

[0643] 条目5. 条目1-4中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OH、卤素或-CN，另一者是-OR<sup>3</sup>。

[0644] 条目6. 条目1-4中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中 $R^1$ 和 $R^2$ 中的一者是-OC<sub>2-8</sub>亚烷基-L-T，另一者是-OR<sup>3</sup>。

[0645] 条目7. 条目1-6中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中p是0、1或2。

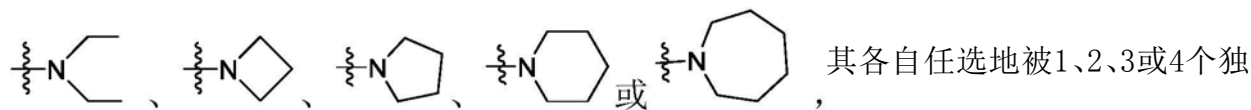
[0646] 条目8. 条目1-7中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中 $R^3$ 是-C<sub>4-8</sub>亚烷基-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>。

[0647] 条目9. 条目1-8中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中 $R^x$ 和 $R^y$ 在每次出现时独立地是 $C_{1-4}$ 烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。

[0648] 条目10. 条目1-8中的任一项所述的化合物或其可药用盐，其中 $R^x$ 和 $R^y$ 与它们所附

连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。

[0649] 条目11. 条目1-8和10中的任一项所述的化合物或其可药用盐,其中-NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>是



[0650] 条目12. 一种条目1-8中的任一项所述的化合物的可药用盐,其中

[0651] R<sup>3</sup>是-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>p</sub>-C<sub>2-8</sub>亚烷基-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>;

[0652] R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH,或者

[0653] R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代;

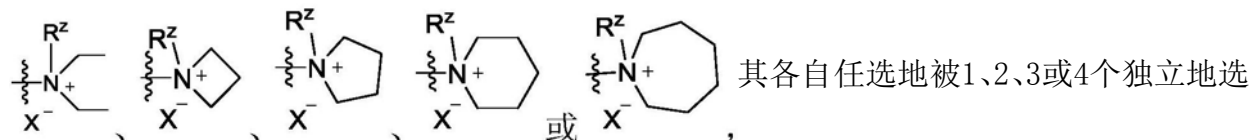
[0654] R<sup>z</sup>是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH;并且

[0655] X<sup>-</sup>是平衡离子。

[0656] 条目13. 条目12所述的盐,其中R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>在每次出现时独立地是C<sub>1-4</sub>烷基或-C<sub>2-4</sub>亚烷基-OH。

[0657] 条目14. 条目12所述的盐,其中R<sup>x</sup>和R<sup>y</sup>与它们所附连的氮一起形成4-至8-元杂环或杂芳基,其中所述杂环和杂芳基任选地被1、2、3或4个独立地选自C<sub>1-4</sub>烷基、卤素、-OH、C<sub>1-4</sub>卤代烷基和-C<sub>1-4</sub>亚烷基-OH的取代基取代。

[0658] 条目15. 条目12和14中的任一项所述的盐,其中所述-[NR<sup>x</sup>R<sup>y</sup>R<sup>z</sup>]<sup>+</sup>·X<sup>-</sup>基团是

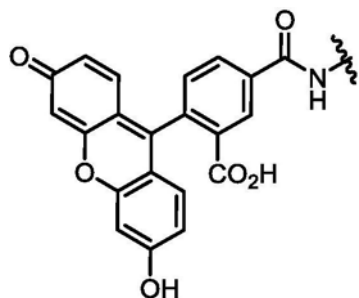


[0659] 条目16. 条目12-15中的任一项所述的盐,其中R<sup>z</sup>是甲基或羟乙基。

[0660] 条目17. 条目12-16中的任一项所述的盐,其中X<sup>-</sup>是卤离子、磺酸根、磷酸根、乙酸根、草酸根、富马酸根、酒石酸根或乳酸根。

[0661] 条目18. 条目12-17中的任一项所述的盐或其可药用盐,其中X<sup>-</sup>是I<sup>-</sup>或CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>。

[0662] 条目19. 条目1-4和6-11中的任一项所述的化合物或其可药用盐,其中-L-T是



[0663] 条目20. 条目1所述的化合物,其选自

[0664] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)吡咯

烷；

[0665] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)哌啶；

[0666] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)氮杂环庚烷；

[0667] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二吡咯烷；

[0668] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))二哌啶；

[0669] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环庚烷)；

[0670] 6,6'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(N,N-二乙基己-1-胺)；

[0671] 2,2'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(乙基氮烷二基))双(乙-1-醇)；

[0672] 2,2',2'',2'''-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮烷三基))四(乙-1-醇)；

[0673] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环丁烷)；

[0674] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(氮杂环丁-3-醇)；

[0675] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(3-甲基氮杂环丁-3-醇)；

[0676] ((2S,2'S)-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(吡咯烷-1,2-二基))二甲醇；

[0677] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(哌啶-4-醇)；

[0678] 5-((6-(4-(E)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-(6-(氮杂环庚-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)氨甲酰基)-2-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酸；

[0679] 1-(6-(4-(Z)-((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-(6-(4-(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-3H-咕吨-9-基)苯甲酰氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎝碘化物；

[0680] 4-(E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-(6-(二乙基氨基)己基)氧基)苯基)甲基)苯酚；

[0681] 6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基己-1-胺；

[0682] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1H-咪唑；

[0683] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-4-甲基哌嗪；

- [0684] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(丁-4,1-二基))二哌啶；
- [0685] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(丁-4,1-二基))双(氮杂环庚烷)；
- [0686] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))二哌啶；
- [0687] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(戊-5,1-二基))双(氮杂环庚烷)；
- [0688] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(辛-8,1-二基))双(氮杂环庚烷)；
- [0689] 2,2'-(((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(乙-2,1-二基))双(氧基))双(N,N-二乙基乙-1-胺)；
- [0690] 4,4'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌嗪)；和
- [0691] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1H-咪唑)，
- [0692] 或其可药用盐。
- [0693] 条目21. 条目12所述的盐，其选自
- [0694] 1-(6-(4-((Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基吡咯烷-1-鎓碘化物；
- [0695] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基吡咯烷-1-鎓)二碘化物；
- [0696] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎓)二碘化物；
- [0697] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物；
- [0698] 6-(4-(((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)(4-((6-(二乙基(甲基)- $\lambda^4$ -氮烷基)己基)氧基)苯基)甲基)苯氧基)-N,N-二乙基-N-甲基己-1-胺)二碘化物；
- [0699] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(N-乙基-N-(2-羟乙基)-N-甲基己-1-胺)二碘化物；
- [0700] 6,6'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(N,N-双(2-羟乙基)-N-甲基己-1-胺)二碘化物；
- [0701] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(1-甲基氮杂环丁烷-1-鎓)二碘化物；
- [0702] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(3-羟基-1,3-二甲基氮杂环丁烷-1-鎓)二碘化物；
- [0703] (1R,1'R,2S,2'S)-1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-6,1-二基))双(2-(羟基甲基)-1-甲基吡咯烷-1-鎓)二碘化物；
- [0704] 1,1'-((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基)双(己-

- 6,1-二基))双(4-羟基-1-甲基哌啶-1-鎓)二碘化物;
- [0705] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)吡咯烷-1-鎓)二碘化物;
- [0706] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)哌啶-1-鎓)二碘化物;
- [0707] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1-(2-羟乙基)氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物;
- [0708] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-3-甲基-1H-咪唑-3-鎓碘化物;
- [0709] (S)-1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基-1 $\lambda^4$ -哌啶-2-基鎓碘化物;
- [0710] 1-(6-(4-(Z)-((5S,7S)-金刚烷-2-亚基)(4-氯苯基)甲基)苯氧基)己基)-1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓碘化物;
- [0711] 1-(4-(4-(E)-((5R,7R)-金刚烷-2-亚基)(4-(4-(1-甲基哌啶-1-鎓-1-基)丁氧基)苯基)甲基)苯氧基)丁基)-1-甲基哌啶-1-鎓二碘化物;
- [0712] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(丁-4,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物;
- [0713] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))双(1-甲基哌啶-1-鎓)二碘化物;
- [0714] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(戊-5,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物;
- [0715] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(辛-8,1-二基))双(1-甲基氮杂环庚烷-1-鎓)二碘化物;和
- [0716] 1,1'-((((((5r,7r)-金刚烷-2-亚基)亚甲基)双(4,1-亚苯基))双(氧基))双(己-6,1-二基))双(1,4-二甲基哌嗪-1-鎓)二甲磺酸盐。
- [0717] 条目22.一种药物组合物,其包含治疗有效量的条目1-11和20中的任一项所述的化合物或其可药用盐和可药用载体。
- [0718] 条目23.一种药物组合物,其包含治疗有效量的条目12-18和21中的任一项所述的可药用盐和可药用载体。
- [0719] 条目24.条目22和23中的任一项所述的药物组合物,其还包含治疗有效量的至少一种另外的抗癌治疗剂。
- [0720] 条目25.一种抑制FOXMI的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的条目1-11和20中的任一项所述的化合物或其可药用盐或条目22所述的药物组合物。
- [0721] 条目26.一种抑制FOXMI的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的条目12-18和21中的任一项所述的可药用盐或条目23所述的药物组合物。
- [0722] 条目27.一种抑制癌症生长的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的条目1-11和20中的任一项所述的化合物或其可药用盐或条目22所述的药物组合物。
- [0723] 条目28.一种抑制癌症生长的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的条目12-18和21中的任一项所述的可药用盐或条目23所述的药物组合物。

[0724] 条目29.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的条目1-11和20中的任一项所述的化合物或其可药用盐或条目22所述的药物组合物。

[0725] 条目30.一种治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的对象给药治疗有效量的条目12-18和21中的任一项所述的可药用盐或条目23所述的药物组合物。

[0726] 条目31.条目27-30中的任一项所述的方法,其中所述癌症是乳腺癌、前列腺癌、成胶质细胞瘤、卵巢癌、胃肠癌、非小细胞肺癌、胰腺导管腺癌或其组合。

[0727] 条目32.条目31所述的方法,其中所述乳腺癌是激素受体阳性乳腺癌、ER阳性乳腺癌、HER2阳性乳腺癌、三阴性乳腺癌、他莫昔芬耐药性乳腺癌或其组合。

[0728] 条目33.条目25-32中的任一项所述的方法,其还包括给药治疗有效量的至少一种另外的癌症治疗。

[0729] 条目34.条目29和30中的任一项所述的方法,其中所述方法是一种治疗性治疗癌症的方法。

[0730] 条目35.一种筛选可以充当FOXMI抑制剂的物质的测定方法,所述方法包括下述步骤:

[0731] 将下述组分

[0732] i) 与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI,

[0733] ii) 用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,和

[0734] iii) 条目6所述的化合物或其盐,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分,

[0735] 在反应混合物中,在存在或不存在所述物质的情况下温育;

[0736] 将所述反应混合物暴露于允许发生荧光共振能量转移的光;以及

[0737] 测量来自于所述反应混合物的荧光发射;

[0738] 其中如果在所述物质存在下来自于所述反应混合物的荧光发射测量值不同于在所述物质不存在下来自于所述混合物的荧光发射测量值,则所述物质起到FOXMI抑制剂的作用。

[0739] 条目36.条目35所述的方法,其还包括:

[0740] 提供条目6所述的化合物或其盐,其中如果所述链亲合素用荧光供体组成部分标记,则T是荧光受体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分。

[0741] 条目37.条目36所述的方法,其还包括

[0742] 提供用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素。

[0743] 条目38.条目37所述的方法,其还包括

[0744] 提供与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI。

[0745] 条目39.一种用于筛选可以充当FOXMI抑制剂的物质的试剂盒,所述试剂盒包含:

[0746] 第一溶液,其包含在C-端与允许生物素共价附连的氨基酸序列融合的FOXMI,

[0747] 第二溶液,其包含用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,

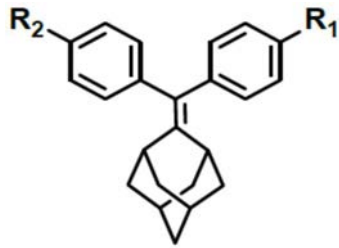
[0748] 第三溶液,其包含条目6所述的化合物或其可药用盐,其中如果所述链亲合素用荧光受体组成部分标记,则T是荧光供体组成部分,或者其中如果所述链亲合素用荧光供体组

成部分标记,则T是荧光受体,以及

[0749] 至少一种缓冲液。

[0750] 本发明的某些方面阐述在下述编号的条目中:

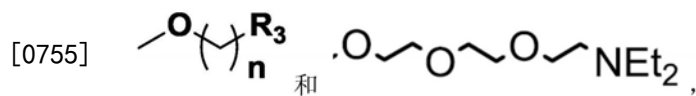
[0751] 条目A1.一种组合物,其包含下述结构:



[0752]

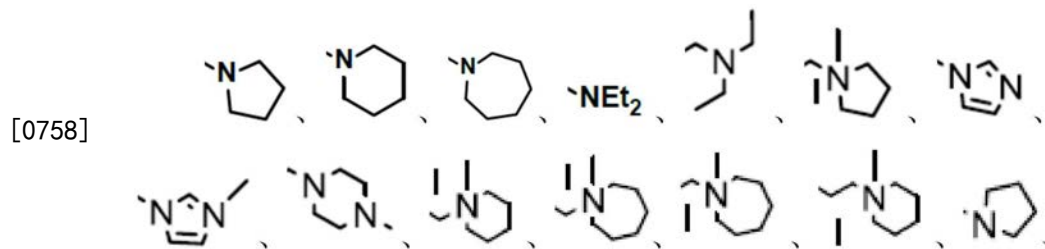
[0753] 其中R<sub>1</sub>选自OH、Cl或R<sub>2</sub>,并且

[0754] R<sub>2</sub>选自

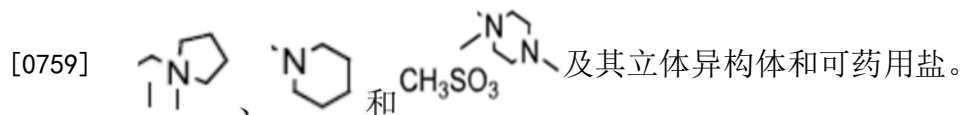


[0756] 其中n是约4-8,并且

[0757] R<sub>3</sub>选自:



[0758]

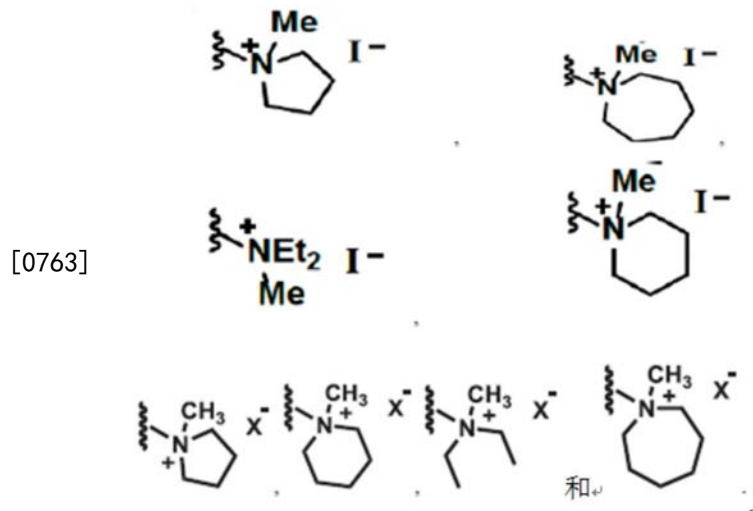


[0759]

[0760] 条目A2. 条目A1所述的组合物,其中R<sub>1</sub>与R<sub>2</sub>相同。

[0761] 条目A3. 条目A1所述的组合物,其中所述可药用盐选自甲碘化物、甲基铵卤化物、磺酸盐、磷酸盐、乙酸盐、草酸盐、富马酸盐、酒石酸盐和乳酸盐。

[0762] 条目A4. 条目A1所述的组合物,其中所述可药用盐选自



[0763]

[0764] 条目A5.一种在对象中抑制FOXMI的方法,所述方法包括向对象给药治疗有效量的条目A1-A4中的任一项所述的组合物。

[0765] 条目A6.一种在对象中抑制癌症生长的方法,所述方法包括向患有或被怀疑患有癌症的对象给药治疗有效量的条目A1-A4中的任一项所述的组合物。

[0766] 条目A7.一种在对象中治疗癌症的方法,所述方法包括向患有或被怀疑患有癌症的对象给药治疗有效量的条目A1-A4中的任一项所述的组合物。

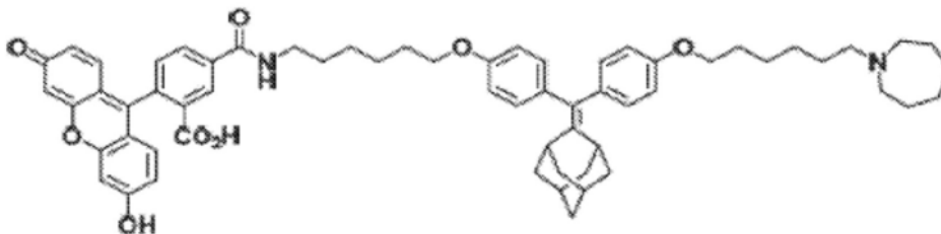
[0767] 条目A8.条目A5-A7中的任一项所述的方法,其中所述癌症选自乳腺癌、前列腺癌、成胶质细胞瘤、卵巢癌、胃肠癌、非小细胞肺癌和胰腺导管腺癌。

[0768] 条目A9.条目A5-A8中的任一项所述的方法,其中所述乳腺癌选自激素受体阳性乳腺癌、ER阳性乳腺癌、HER2阳性乳腺癌、三阴性乳腺癌和他莫昔芬耐药性乳腺癌。

[0769] 条目A10.条目A5-A9中的任一项所述的方法,其还包括给药治疗有效量的至少一种另外的癌症治疗。

[0770] 条目A11.条目A1所述的组合物,其中所述二胺化合物的一个胺附属物被荧光供体或荧光受体代替。

[0771] 条目A12.一种组合物,其包含下述结构:



[0772]

[0773] 条目A13.一种筛选可以充当FOXMI抑制剂的物质的方法,所述方法包括下述步骤:

[0774] a) 提供与允许生物素共价相连的氨基酸序列融合的FOXMI,

[0775] b) 提供用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素,

[0776] c) 提供条目A11或A12所述的组合物,其中如果所述步骤b)中的链亲合素用荧光供体组成部分标记,则所述组合物用荧光受体组成部分标记,并且其中如果所述步骤b)中的链亲合素用荧光受体组成部分标记,则所述条目A11或A12的组合物用荧光供体组成部分标记;

[0777] d) 将所述FOXMI、链亲合素和条目A11或条目A12的组合物在反应混合物中,在存在或不存在所述物质的情况下温育;

[0778] e) 将所述反应混合物暴露于允许发生荧光共振能量转移的光,并测量来自于所述反应混合物的荧光发射;其中如果在所述物质存在下来自于所述反应混合物的荧光发射测量值不同于在所述物质不存在下来自于所述混合物的荧光发射测量值,则所述物质起到FOXMI抑制剂的作用。

[0779] 条目A14.一种用于筛选可以充当FOXMI抑制剂的物质的试剂盒,所述试剂盒包含:

[0780] 包含在C-端与允许生物素共价相连的氨基酸序列融合的FOXMI的溶液,

[0781] 包含用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的链亲合素的溶液,

[0782] 包含条目A11或A12所述的用荧光供体组成部分或荧光受体组成部分标记的组合物的溶液,以及

[0783] 至少一种缓冲液。

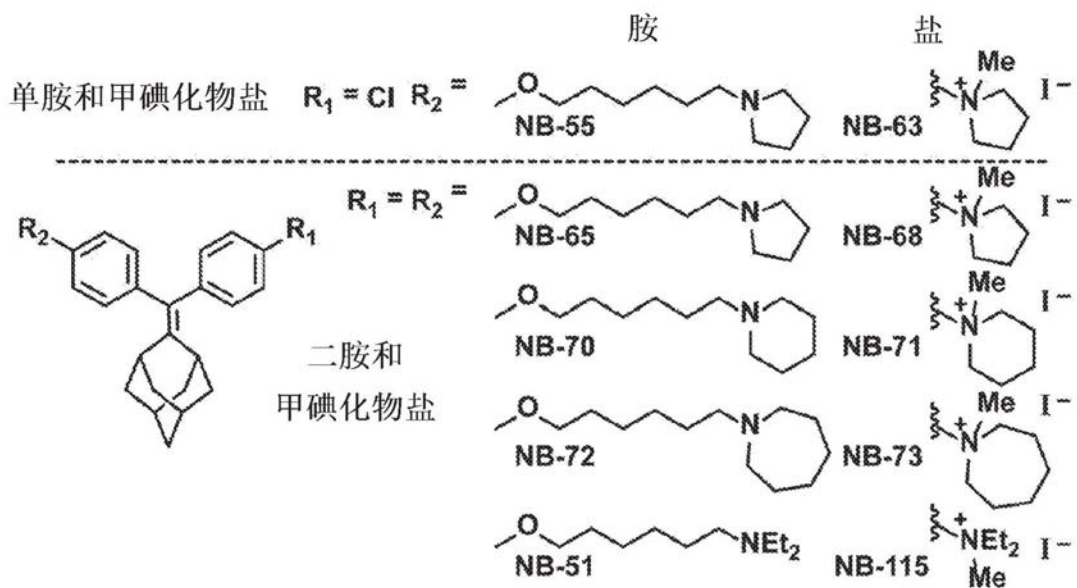


图1

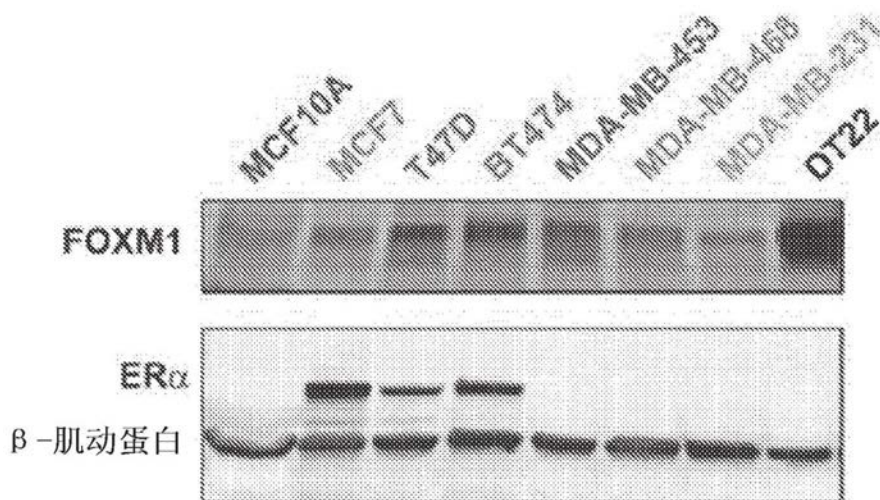


图2A

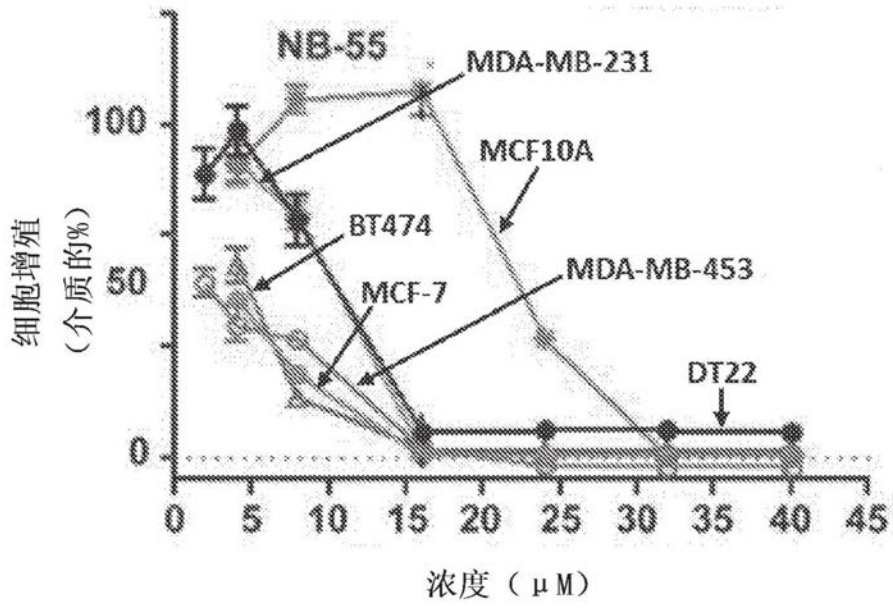


图2B

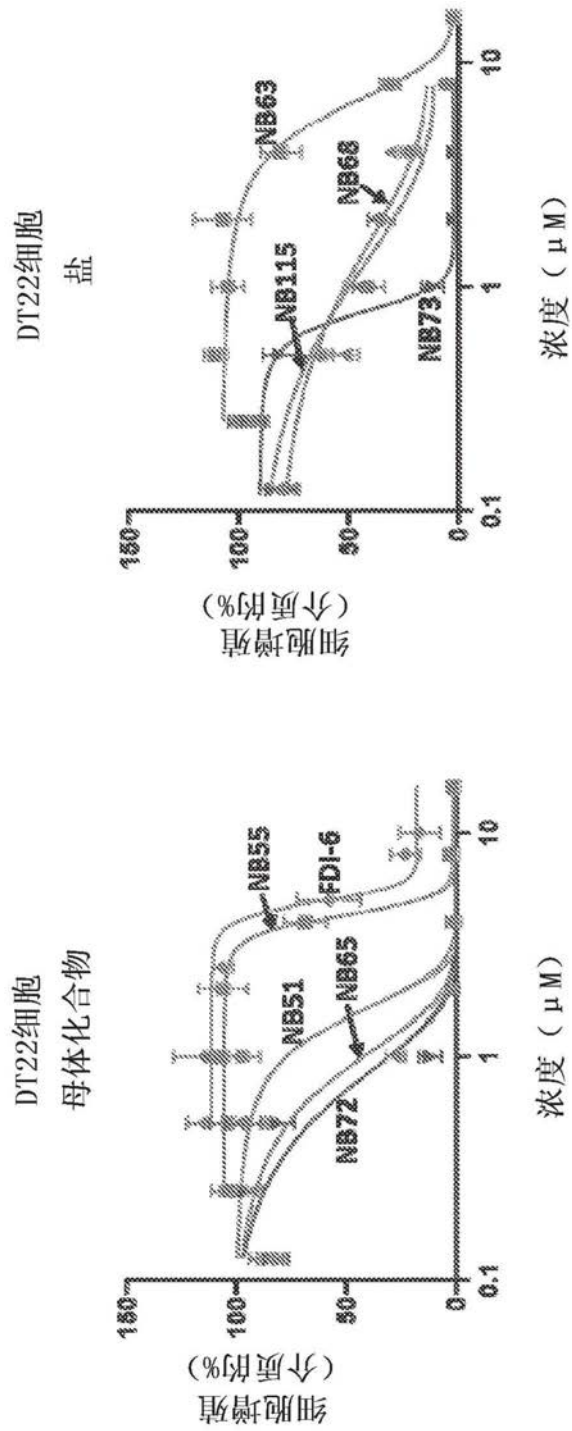


图3A

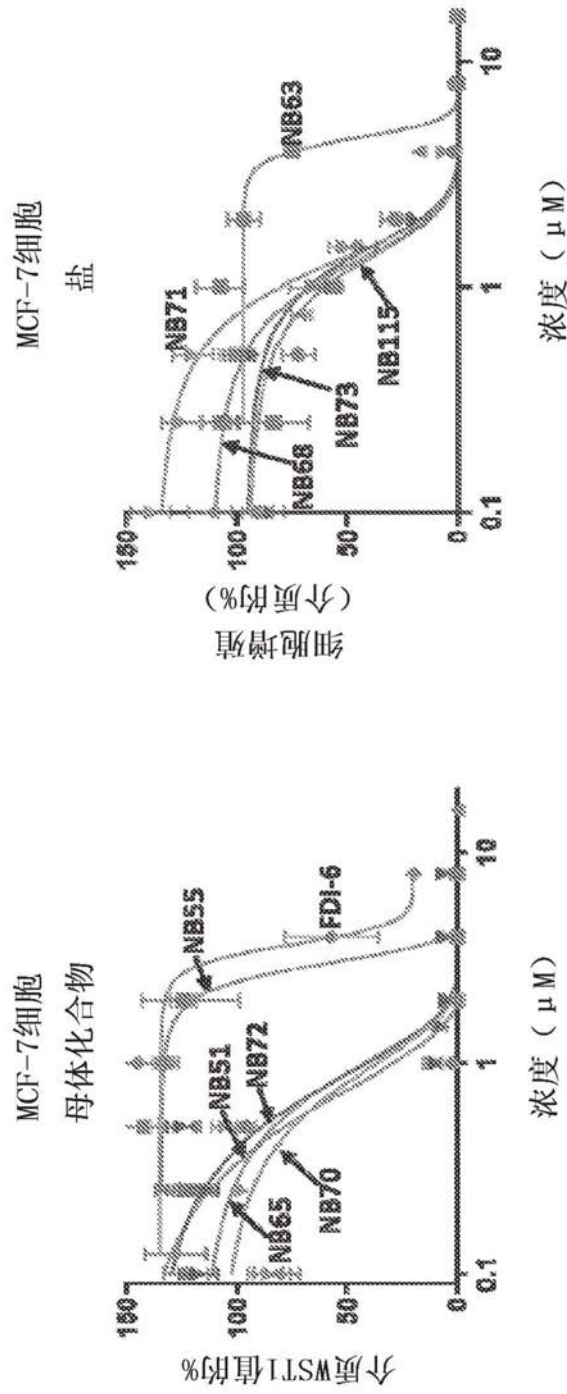


图3B

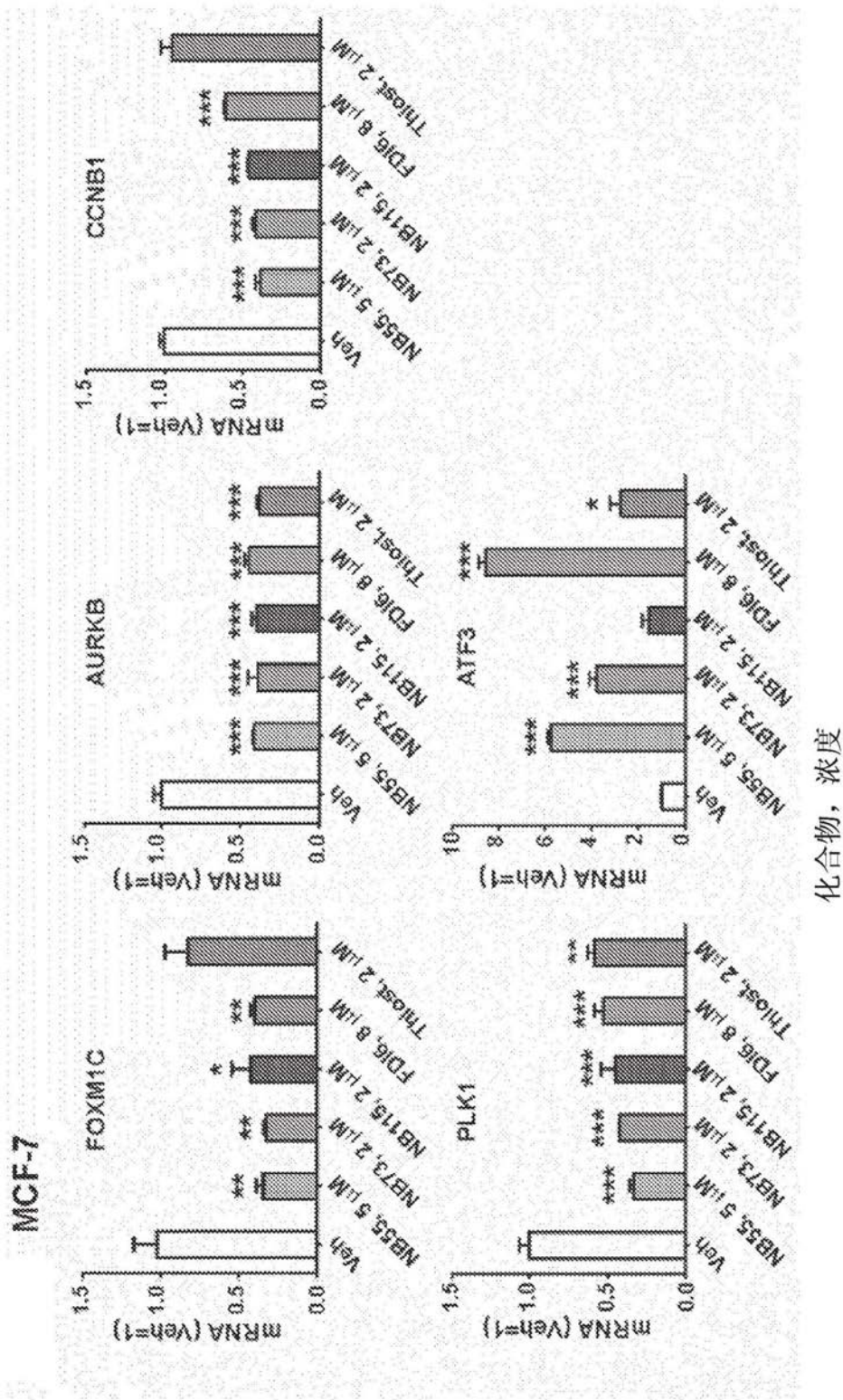


图4A

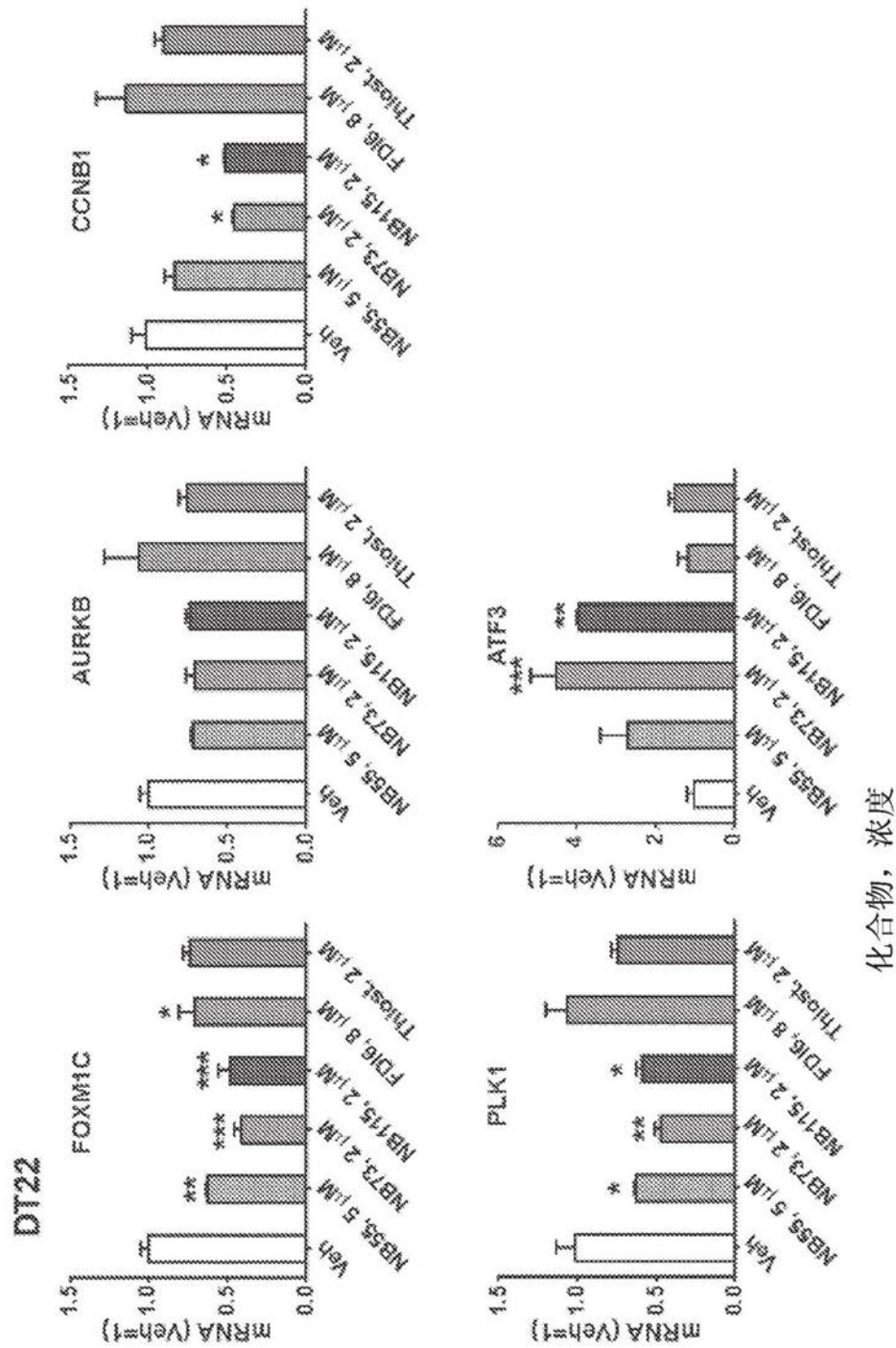


图4B

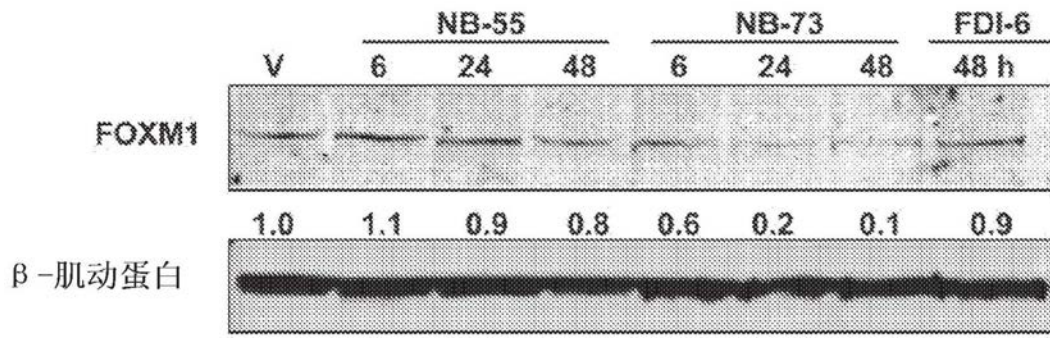


图5A

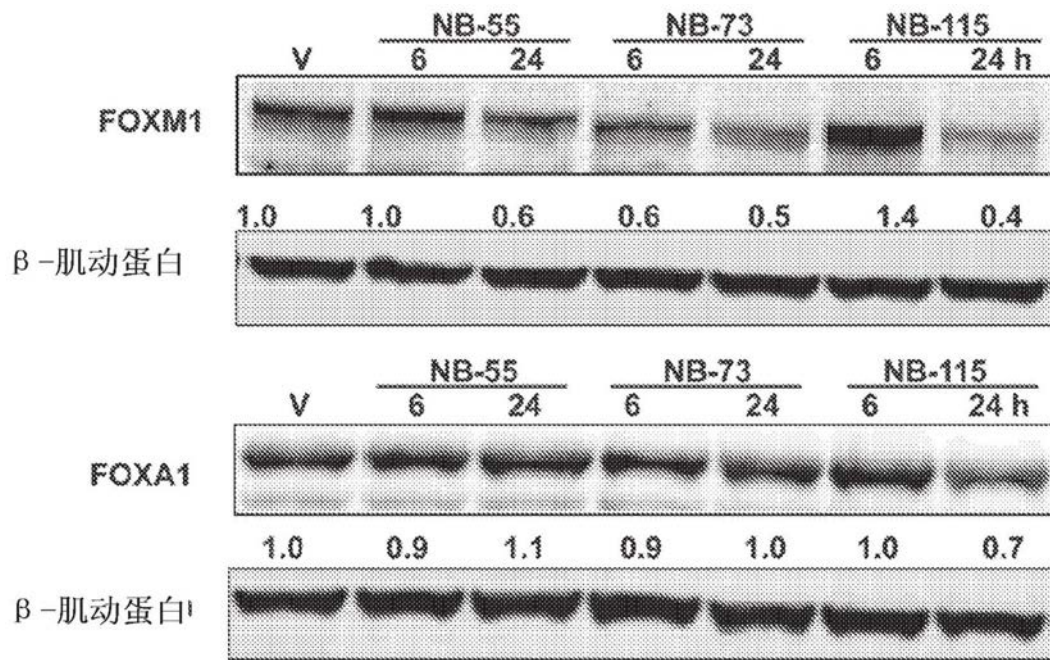


图5B

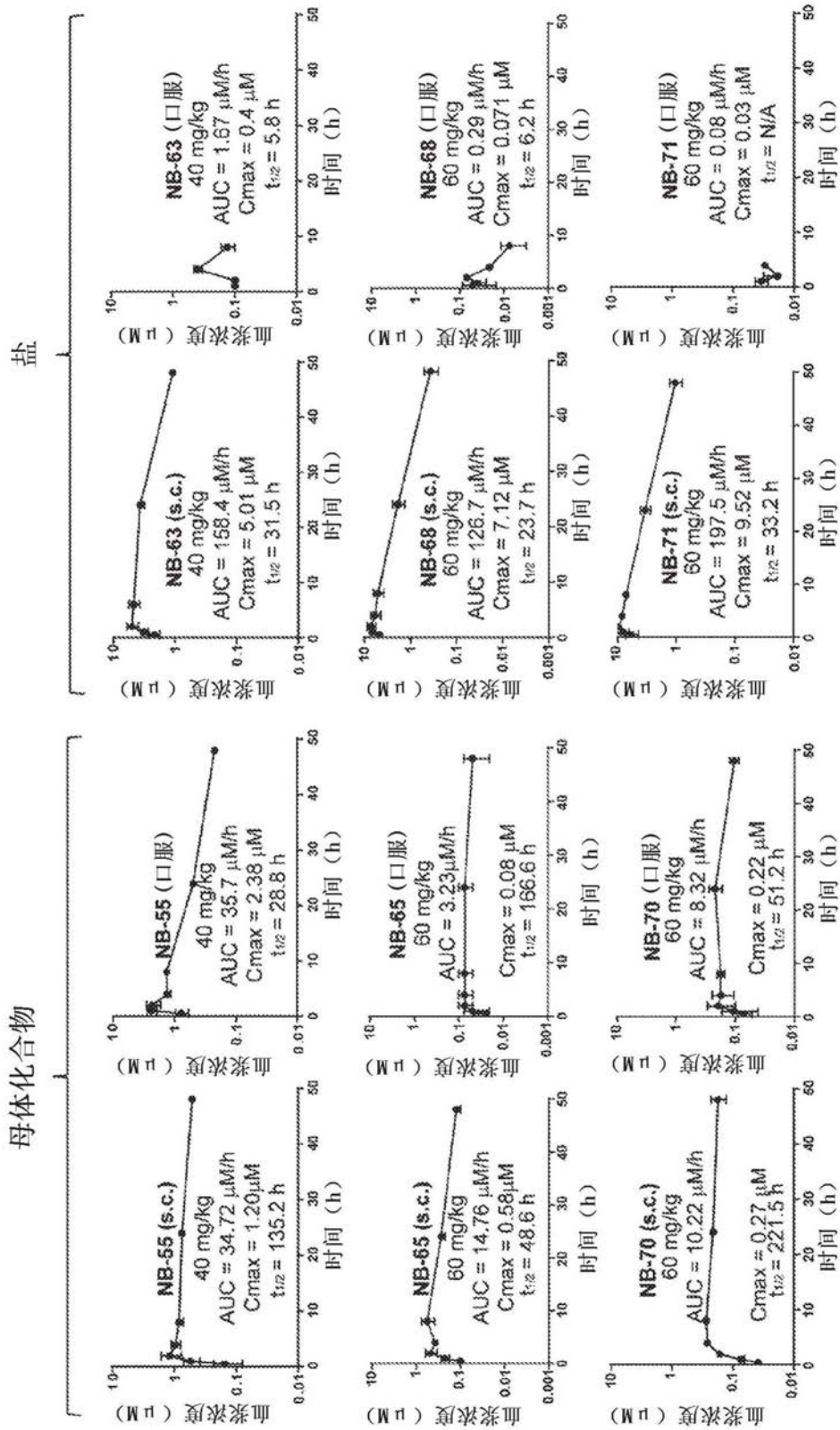


图6A

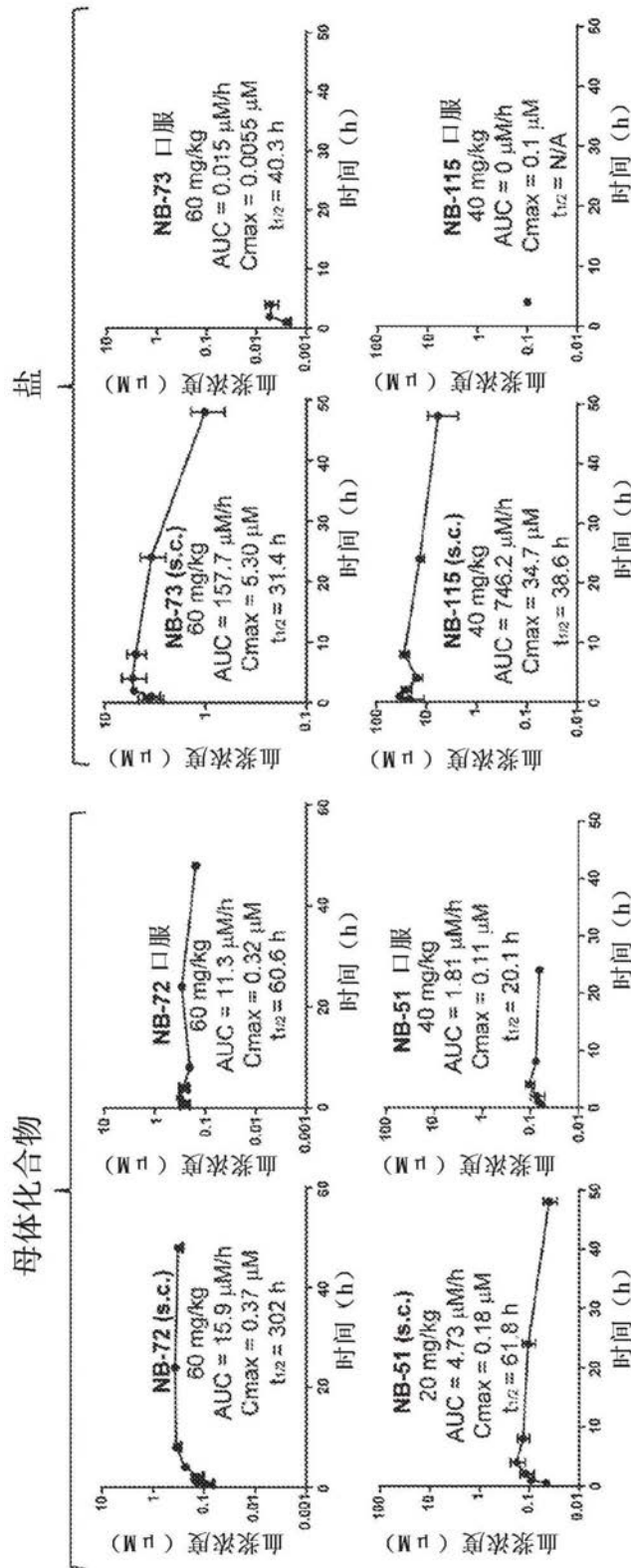


图6B

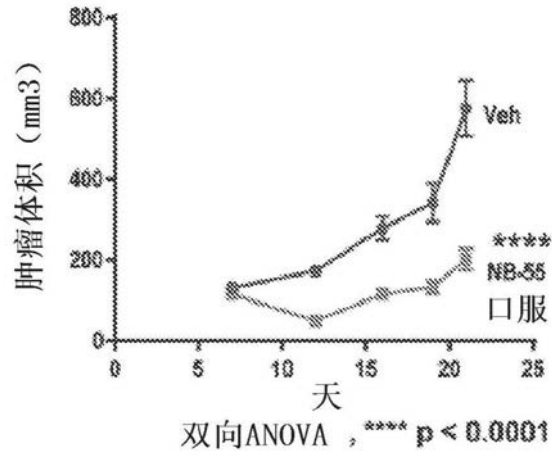


图7A

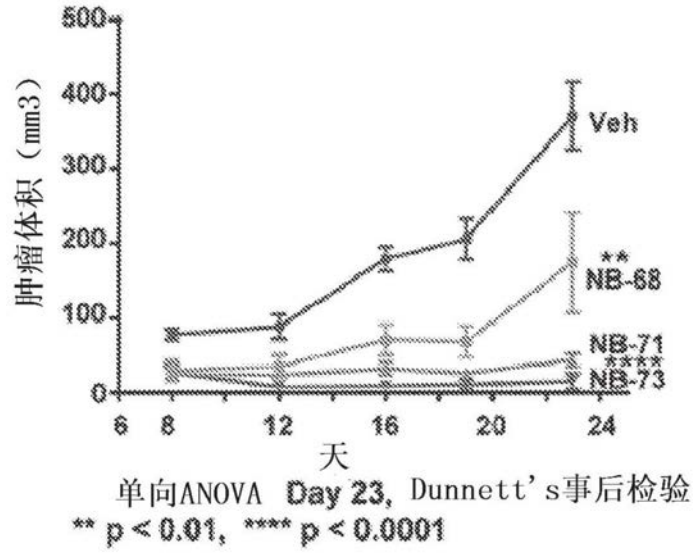


图7B

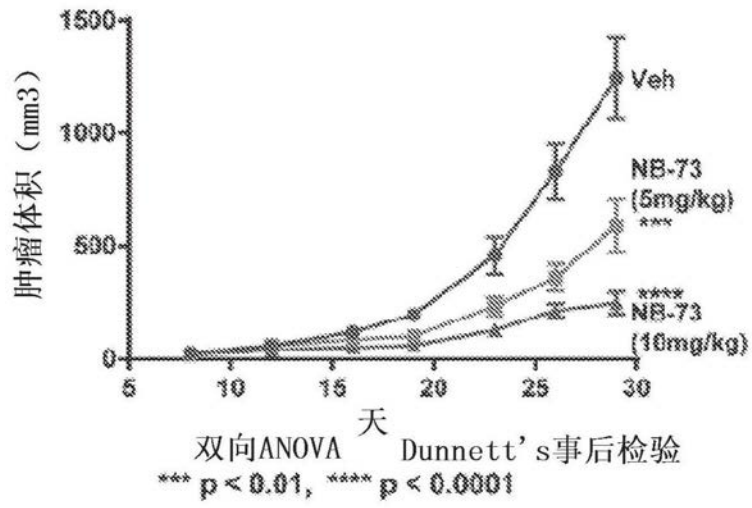


图7C

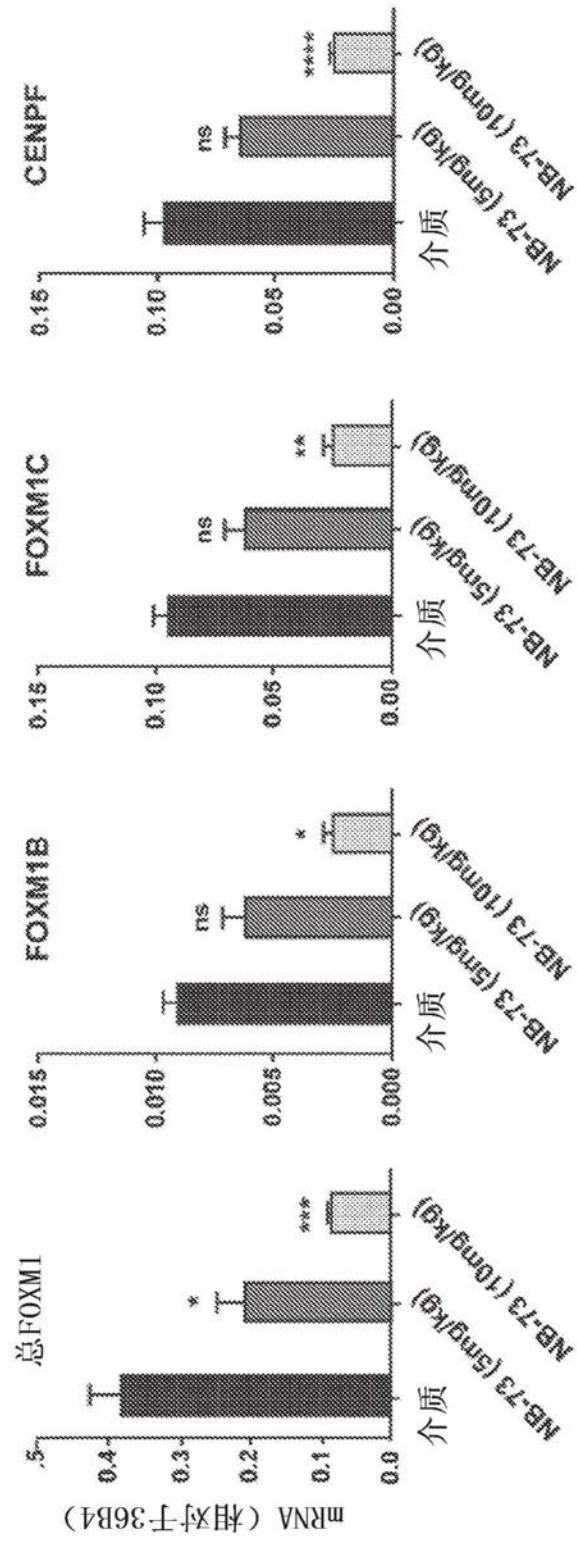


图7D

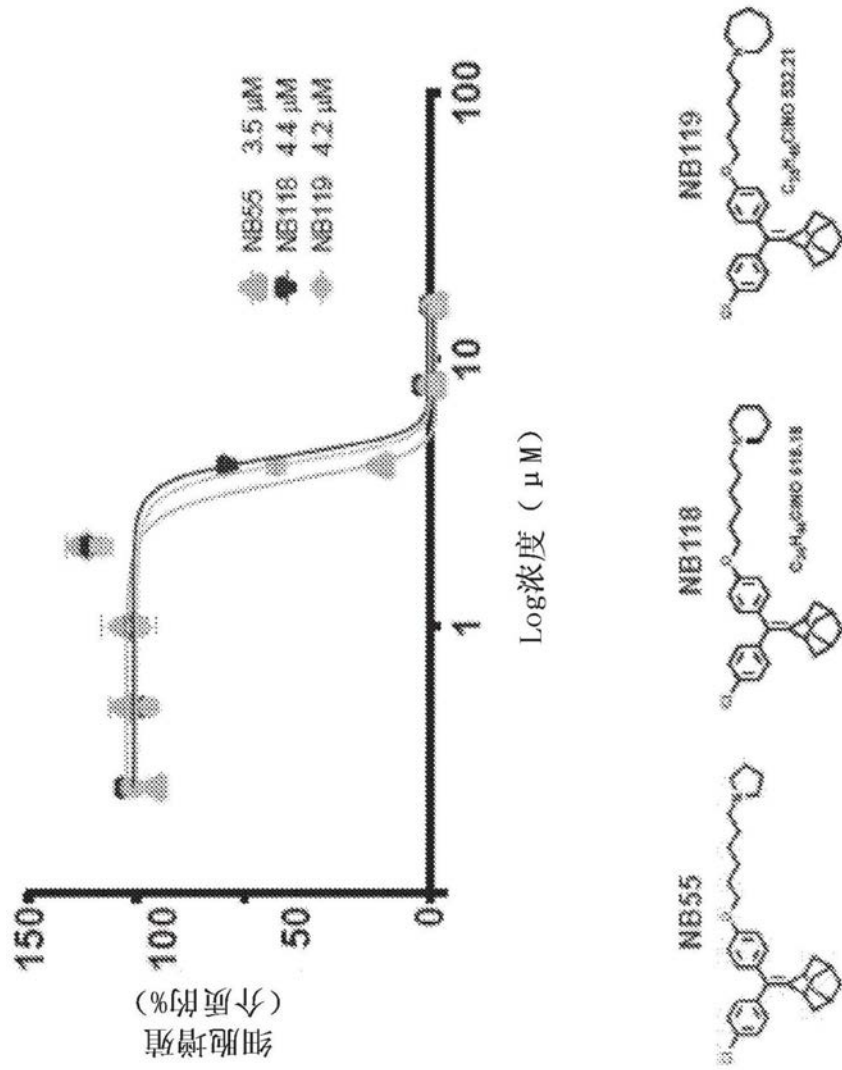


图8

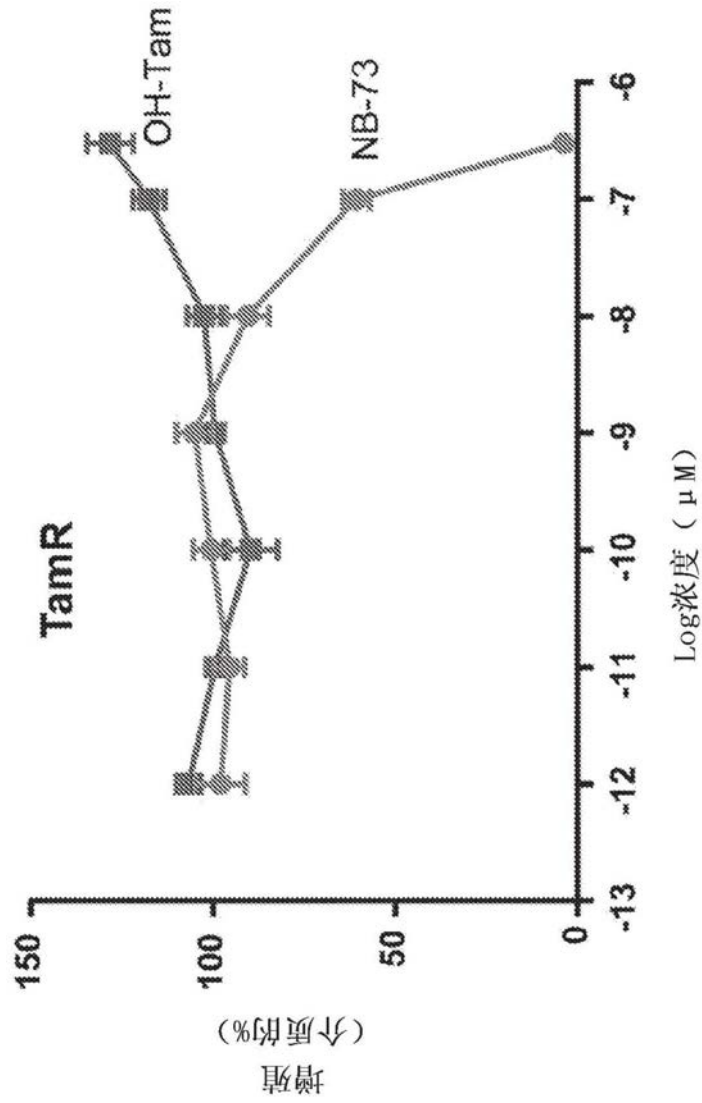


图9

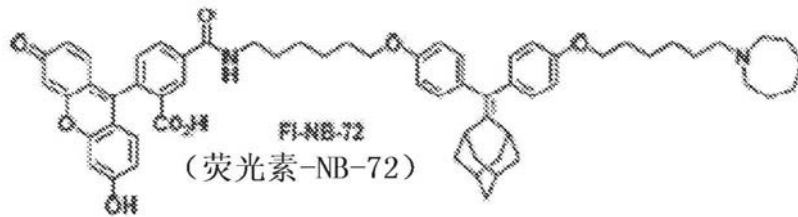


图10A

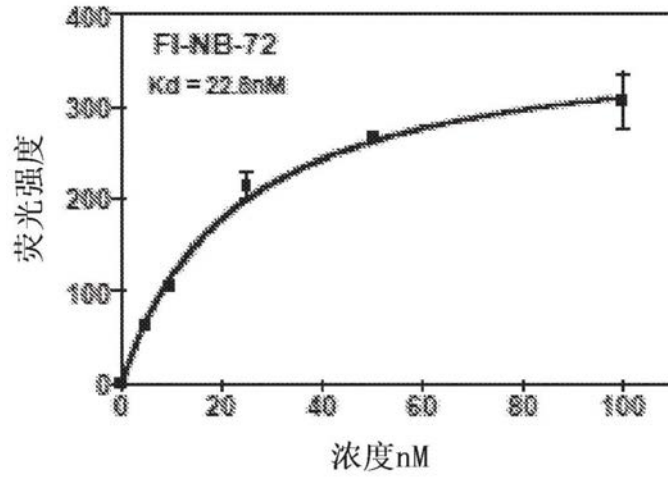


图10B

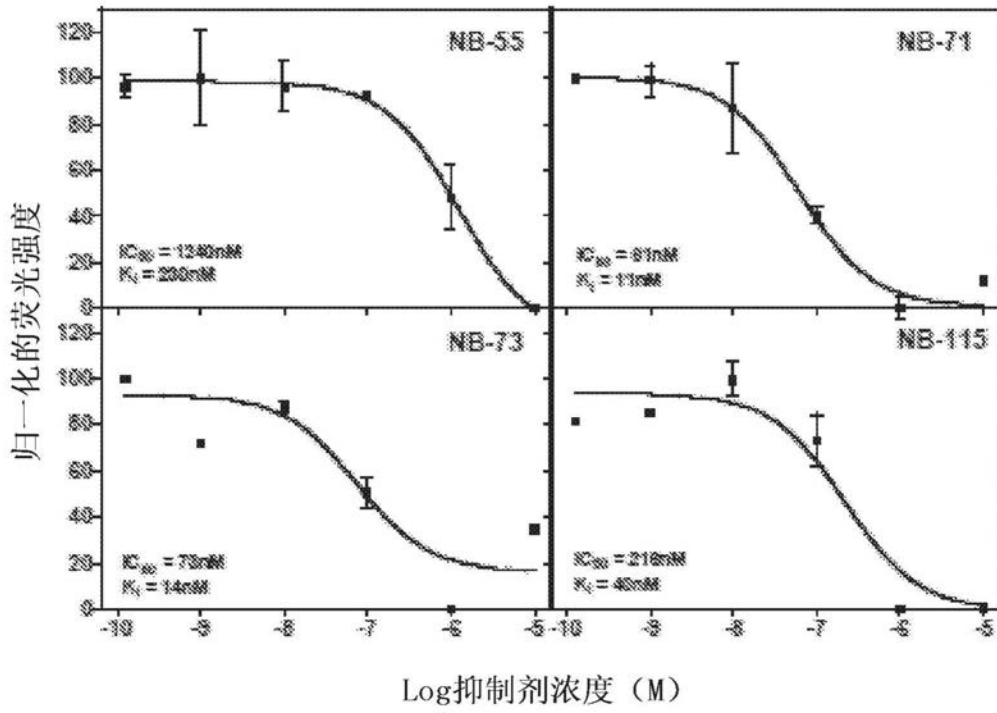


图10C

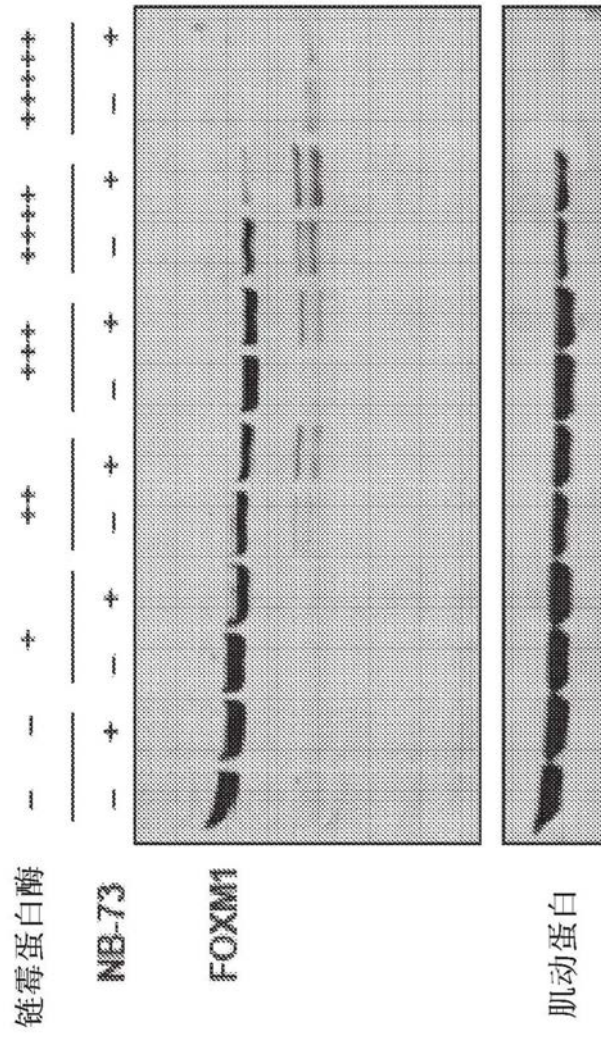


图11

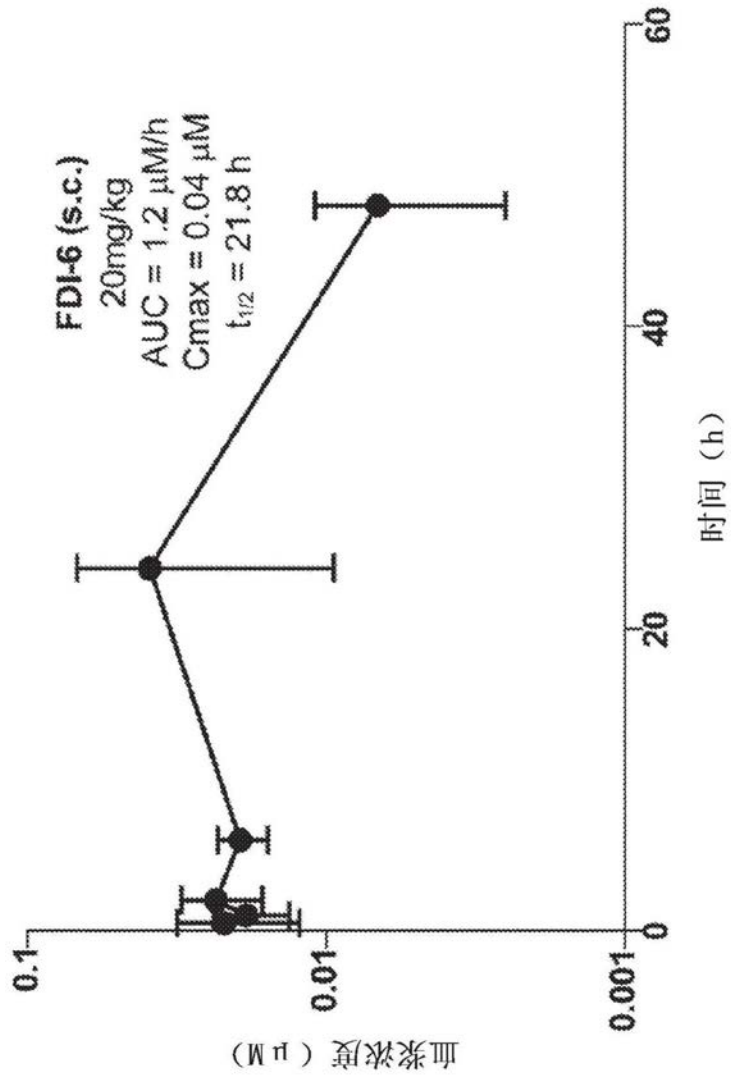


图12

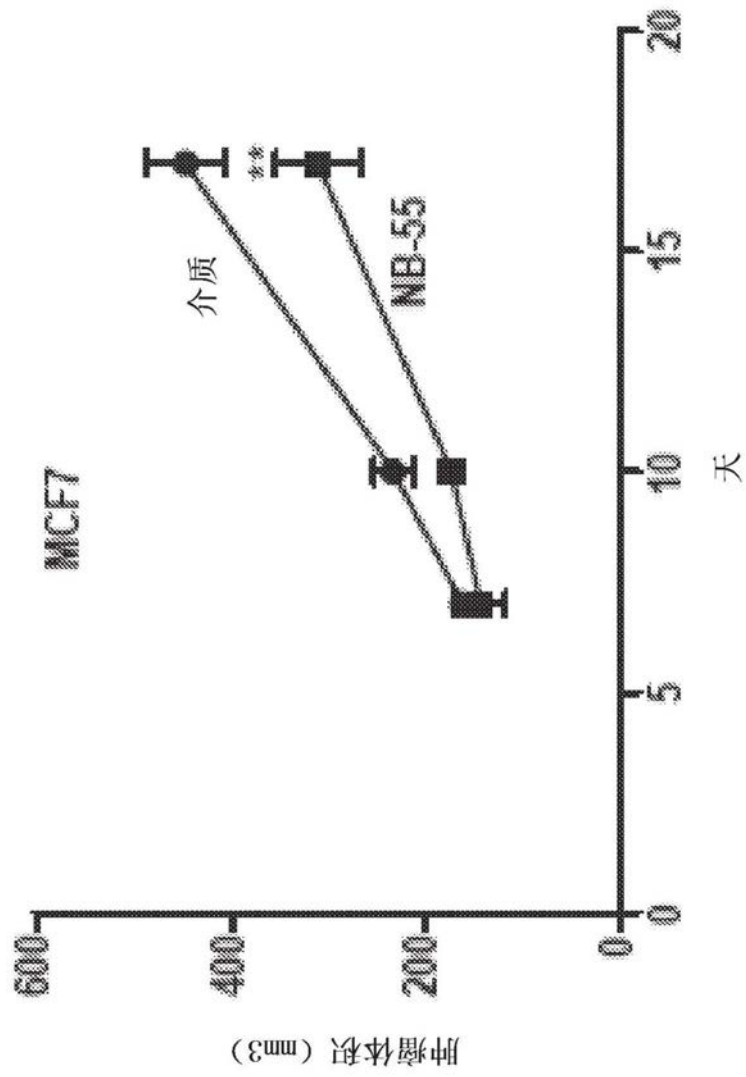


图13

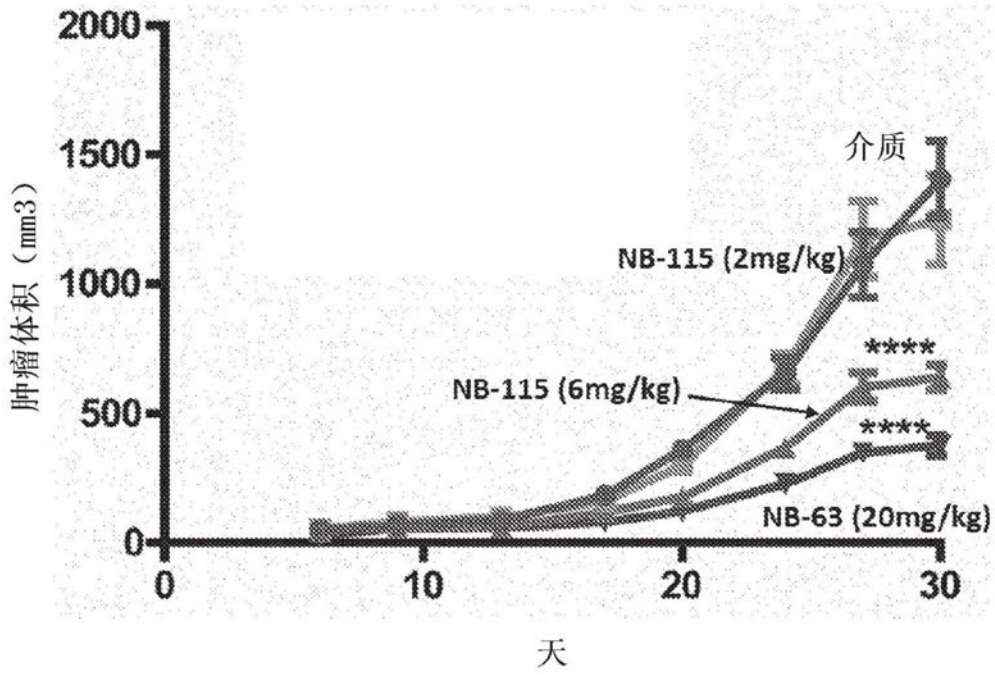


图14A

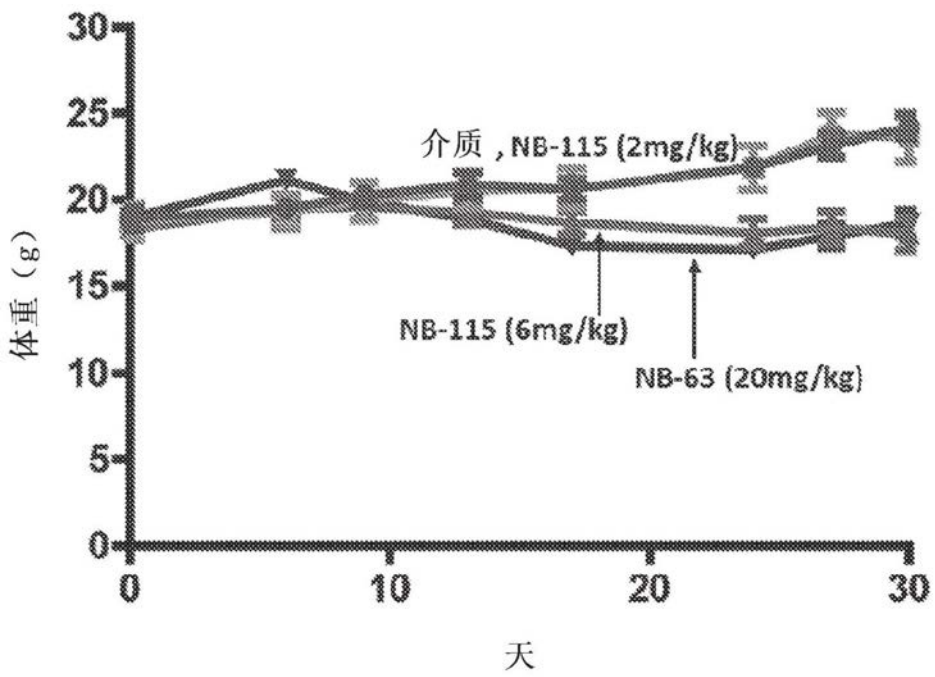


图14B



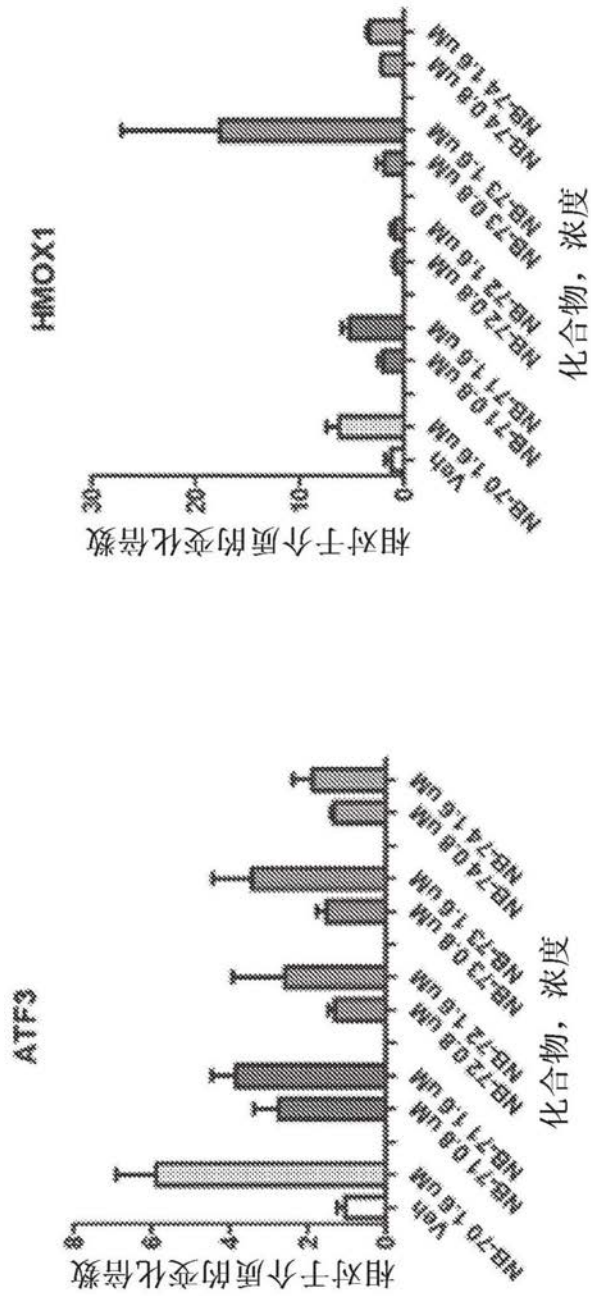


图15B

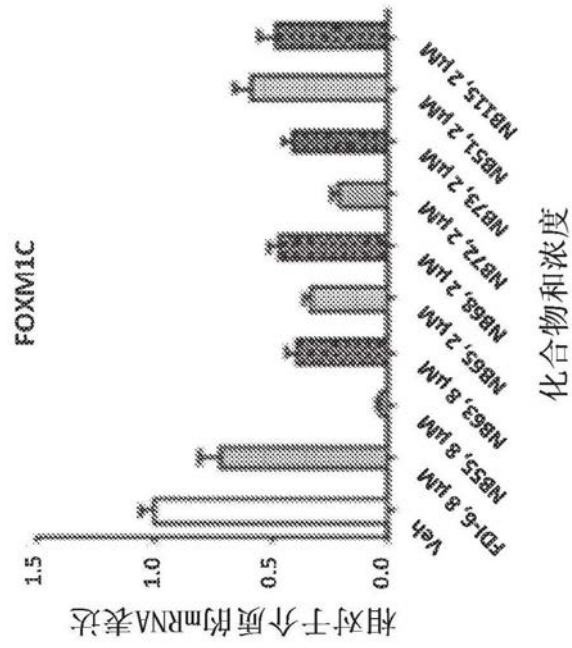


图16A

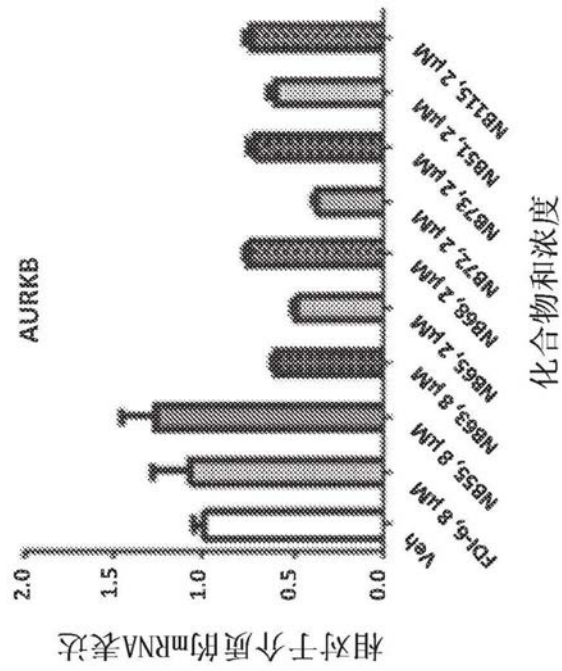


图16B

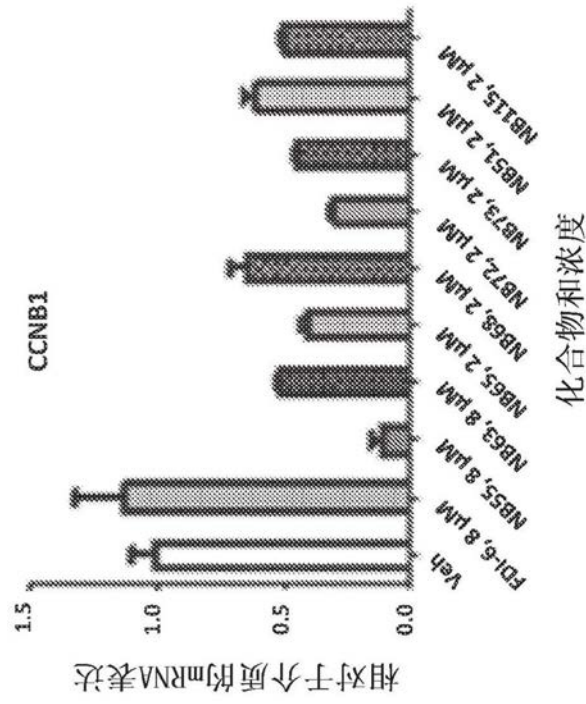


图16C

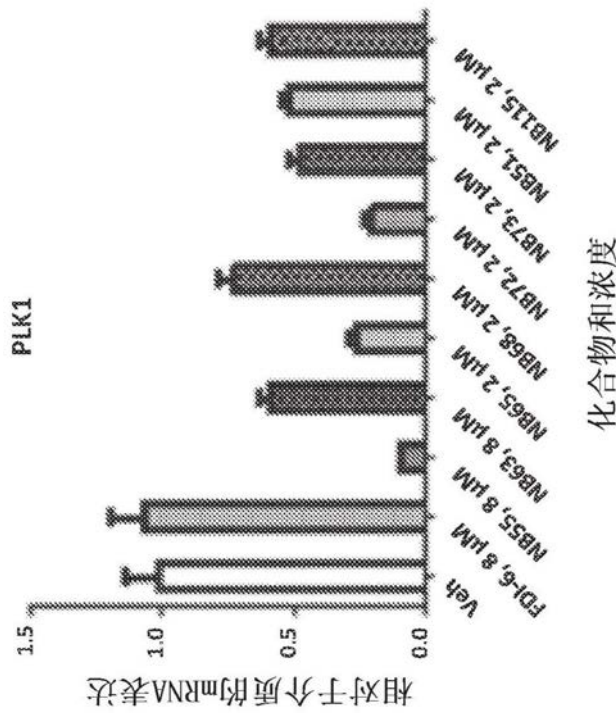


图16D

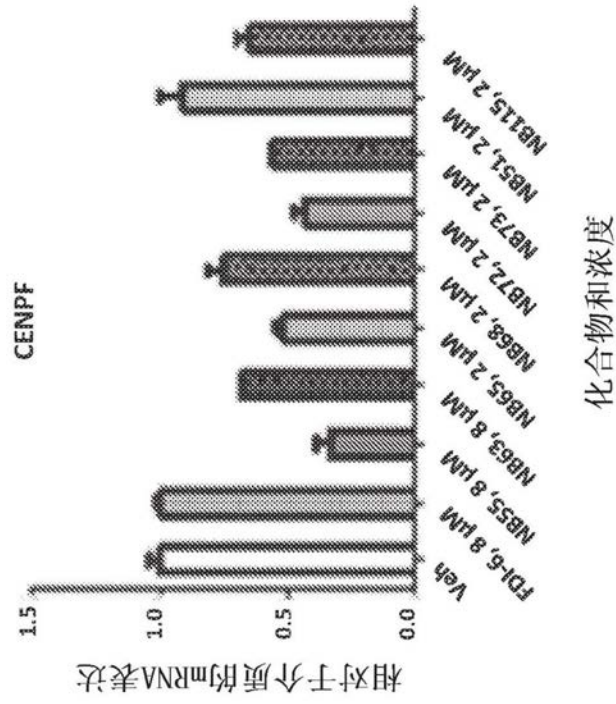


图16E

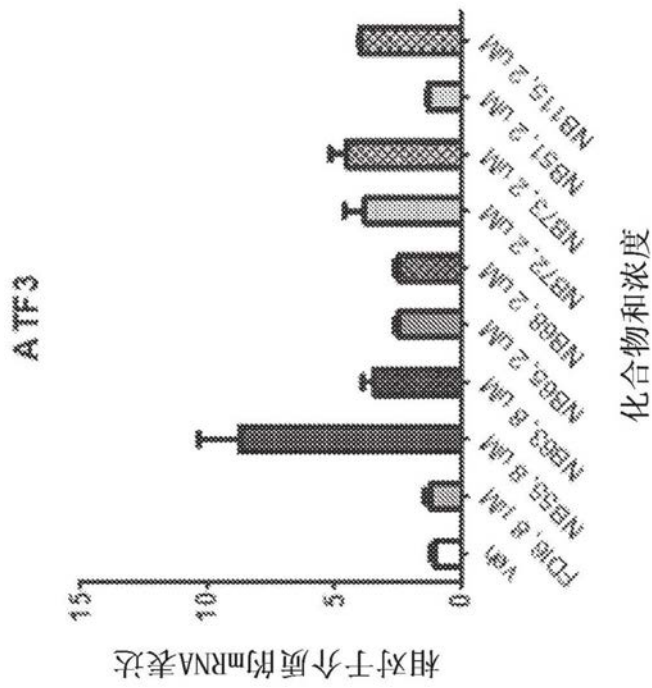


图16F

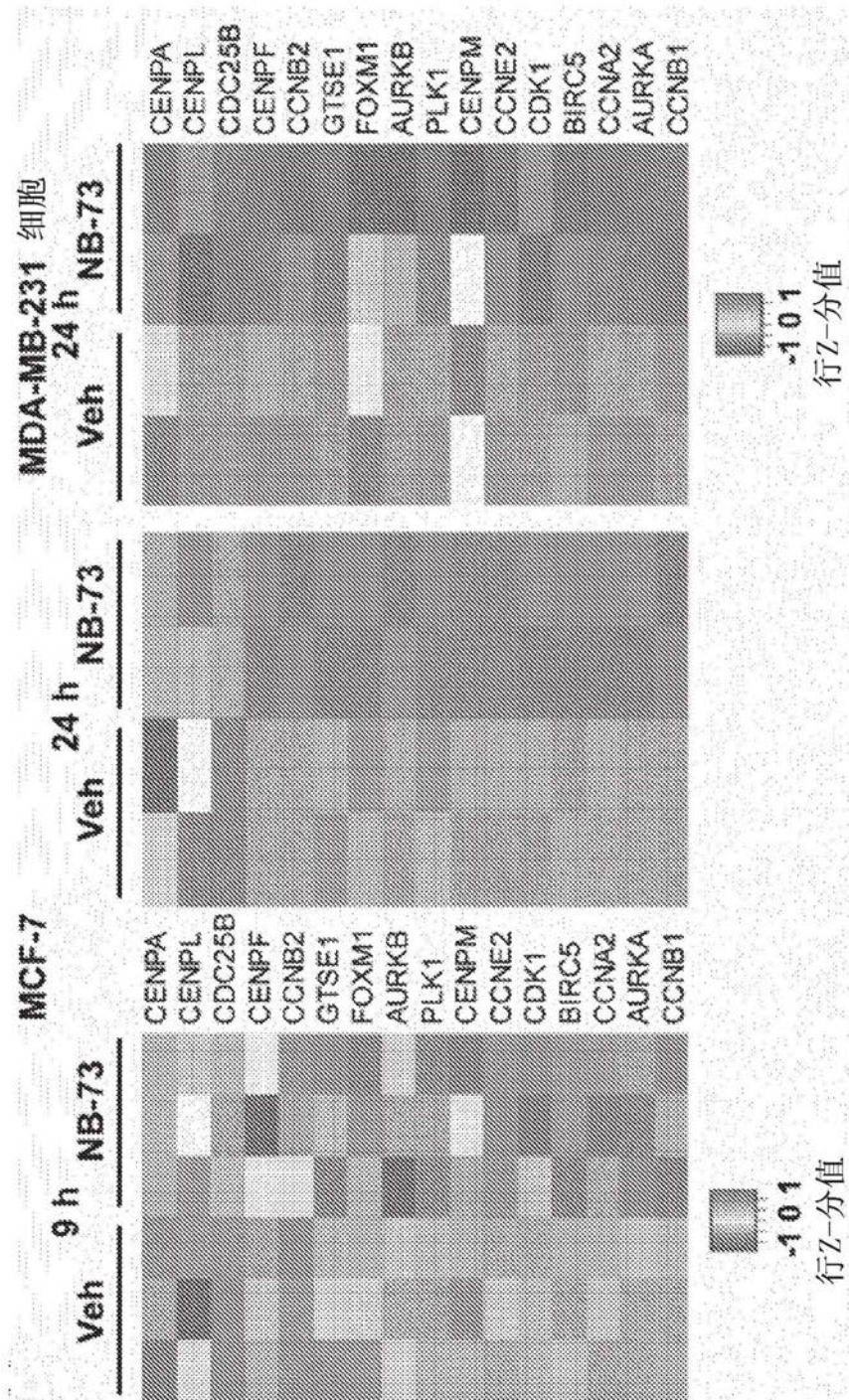


图17A

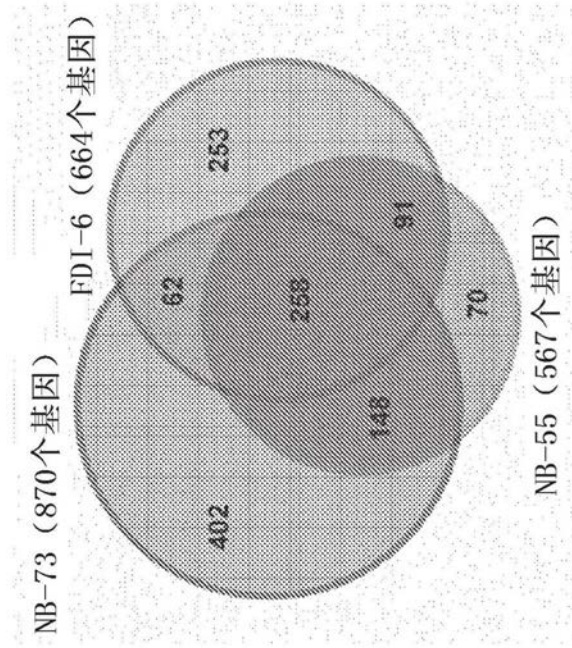


图17B

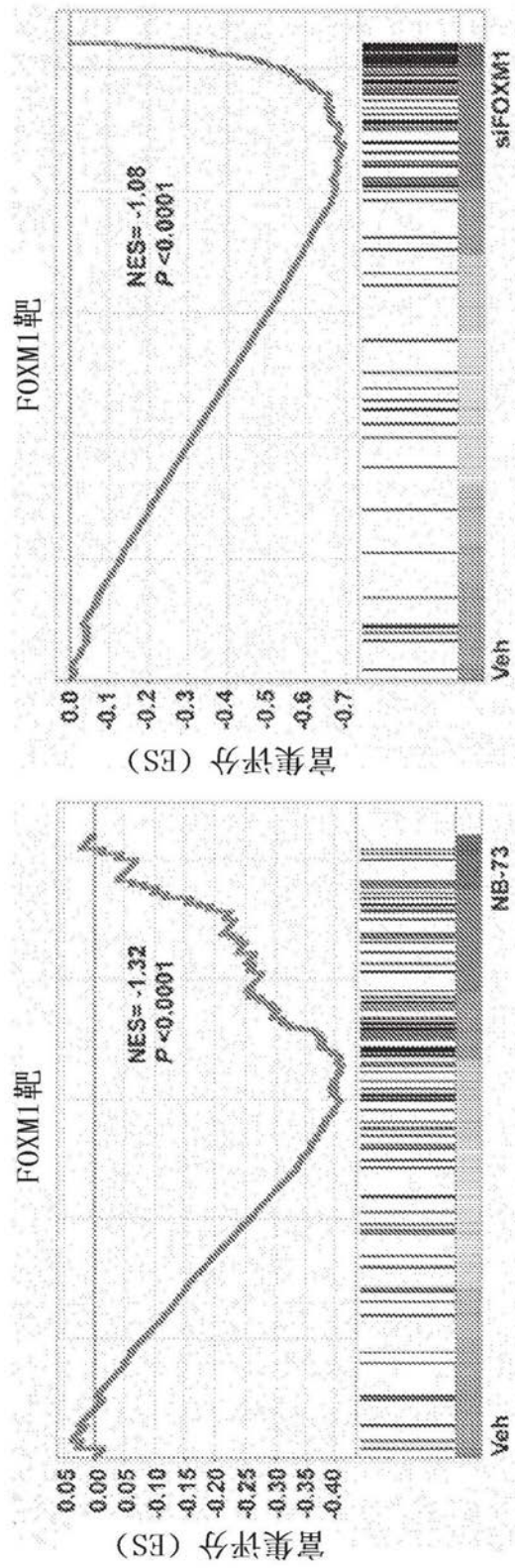


图17C