



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102985402 B

(45) 授权公告日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201180019945. 2

(22) 申请日 2011. 04. 15

(30) 优先权数据

61/325, 952 2010. 04. 20 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 10. 19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2011/055990 2011. 04. 15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/131576 EN 2011. 10. 27

(73) 专利权人 罗马大学

地址 意大利罗马

专利权人 IE0 基金会 帕维亚大学
米兰学习大学

(72) 发明人 S·米努奇 A·麦 A·马泰威

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

代理人 项丹

(51) Int. Cl.

C07C 233/43(2006. 01)

C07C 233/44(2006. 01)

C07C 233/80(2006. 01)

C07C 271/22(2006. 01)

C07C 271/28(2006. 01)

C07C 275/24(2006. 01)

C07D 333/60(2006. 01)

A61K 31/167(2006. 01)

A61K 31/17(2006. 01)

(续)

(56) 对比文件

WO 2010011845 A2, 2010. 01. 28, 全文.

CN 1918165 A, 2007. 02. 21, 全文.

US 2005014786 A1, 2005. 01. 20, 全文.

EP 1693062 A2, 2006. 08. 23, 全文.

Rie Ueda 等. Identification of
Cell-Active Lysine Specific Demethylase
1-Selective Inhibitors. 《J. AM. CHEM.
SOC. 》. 2009, 第 131 卷 (第 48 期), 第
17536-17537 页.

Jeffrey C. Culhane 等. Comparative
Analysis of Small Molecules and Histone
Substrate Analogues as LSD1 Lysine
Demethylase Inhibitors. 《J. AM. CHEM.
SOC. 》. 2010, 第 132 卷 (第 9 期), 第 3164-3176
页.

Maojun Yang 等. Structural Basis
for the Inhibition of the LSD1 Histone
Demethylase by the Antidepressant
trans-2-Phenylcyclopropylamine.
《Biochemistry》. 2007, 第 46 卷 (第 14 期), 第
8058-8065 页.

David M. Gooden 等. Facile synthesis of
substituted trans-2-arylcyclopropylamine
inhibitors of the human histone demethylase
LSD1 and monoamine oxidases A and B. 《Bioorg
Med Chem Lett》. 2008, 第 18 卷 (第 10 期), 第
3047-3051 页.

审查员 李占成

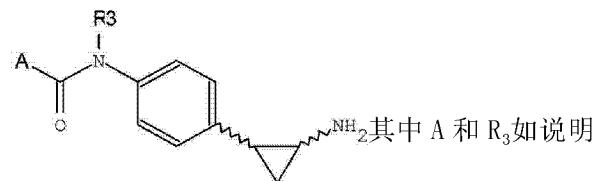
权利要求书2页 说明书32页 附图2页

(54) 发明名称

反苯环丙胺衍生物作为组蛋白去甲基酶 LSD1
和 / 或 LSD2 的抑制剂

(57) 摘要

本文描述了反苯环丙胺衍生物作为治疗剂的使用, 特别是用于预防和 / 或治疗与组蛋白去甲基酶 LSD1 和 LSD2 的活动相关的疾病和症状, 例如特征是反常基因转录、细胞分化和增殖的疾病, 例如肿瘤、病毒感染。这些化合物具有结构式(I)



(I)

书中所定义。本发明还涉及这些化合物以及含所述化合物的组合物的制备, 及其治疗性使用。

[转续页]

[接上页]

(51) Int. Cl.

A61P 35/00(2006. 01)

A61K 31/325(2006. 01)

A61P 31/12(2006. 01)

A61K 31/381(2006. 01)

1. 如下化合物：

反式 4-(2-氨基环丙基)苯基氨基甲酸苄基酯；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)苯甲酰胺；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-1-萘甲酰胺；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-萘甲酰胺；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-苯乙酰胺；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(萘-1-基)乙酰胺；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(萘-2-基)乙酰胺；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-环己基-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 2-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-2-氧代-1-苯基乙基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(4-溴苯基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(4-甲氧基苯基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-4-苯基丁-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3,3-二苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(萘-1-基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-(1H-吡啶-3-基)-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-(苯并[b]噻吩-3-基)-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸 4-溴苄基酯；
顺式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 N¹-(4-(2-氨基环丙基)苯基))-N⁸-羟基辛烷二酰胺；
反式 1-((4-(2-氨基环丙基)苯基)(甲基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯；
反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酰胺
或者其药学上可接受的盐。

2. 如权利要求 1 所述的化合物用于制备 LSD1 和 / 或 LSD2 组蛋白去甲基酶的抑制剂的用途。

3. 如权利要求 1 所述的化合物制备促凋亡剂的用途。

4. 如权利要求 1 所述的化合物制备对特征是反常基因转录、细胞分化和增殖的疾病和

症状进行预防和 / 或治疗的药物的用途。

5. 如权利要求 1 所述的化合物制备抗肿瘤剂的用途。

6. 如权利要求 5 所述的用途,其特征在于,所述抗肿瘤剂对于以下肿瘤有作用:成神经细胞瘤、前列腺癌、乳腺癌、急性骨髓性白血病、T- 细胞急性淋巴细胞白血病、膀胱癌、肺癌以及结直肠癌。

7. 如权利要求 1 所述的化合物制备抗病毒剂的用途。

8. 如权利要求 7 所述的用途,其特征在于,所述抗病毒剂对于由单纯疱疹病毒引起的病毒感染有作用。

9. 一种药物组合物,该药物组合物包含有效量的一种或多种如权利要求 1 所述的化合物,单独或与其他活性化合物结合使用,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

10. 一种配制成单位剂量形式的药物,其包含如权利要求 9 所述的药物组合物。

反苯环丙胺衍生物作为组蛋白去甲基酶 LSD1 和 / 或 LSD2 的抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及反苯环丙胺衍生物以及它们作为治疗剂的使用,特别是用于预防和 / 或治疗与组蛋白去甲基酶 LSD1 和 LSD2 的活动相关的疾病和症状,例如特征是反常基因转录、细胞分化和增殖的疾病,例如肿瘤、病毒感染。本发明还涉及这些化合物以及含所述化合物的组合物的制备,及其治疗性使用。

背景技术

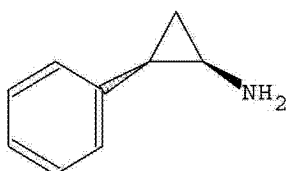
[0002] 各种疾病的发病机理中都涉及染色质的结构和功能状态的改变。催化了核小体上的翻译后修饰的插入和消除的生化过程和酶促过程已经成为了潜在目的是所谓的表观遗传治疗的研究主题(Urdinguio RG、Sanchez-Mut JV、Esteller M 的“Epigenetic mechanisms in neurological diseases:genes, syndromes, and therapies”(神经疾病的表观遗传机制:基因、综合病症以及治疗)Lancet Neurol. 8:1056-1072, 2009)。关于组蛋白去甲基酶数量增加的发现突出显示了组蛋白去甲基作用的动态性质,这是涉及真核基因组和基因调控的关键染色质修饰。对于表观遗传药物,组蛋白赖氨酸去甲基酶代表了非常具有吸引力的目标,并获得越来越多的关注。赖氨酸可以是单甲基化、二甲基化和三甲基化的。具体地,相同氨基酸上的每一种修饰可以发挥不同的生物学效果。对于组蛋白赖氨酸去甲基酶的最近研究揭示了两种类型的酶机制(Anand R, Marmorstein R 的“Structure and mechanism of lysine-specific demethylase enzymes”(赖氨酸特异性去甲基酶的结构和机制)J. Biol. Chem. 282:35425-35429, 2007)。铁依赖性酶可以使得所有三种甲基化状态的赖氨酸侧链去甲基化,已经表征了该家族中的许多去甲基酶。相反地,作为黄素依赖性组蛋白去甲基酶的功能的基础的氧化性化学性质使得这些酶不能在三甲基化赖氨酸上起作用,并限制了它们对于单甲基化底物和二甲基化底物的活性。

[0003] 哺乳动物含有两种黄素酶去甲基酶:LSD1 和 LSD2。LSD1 是首先发现的组蛋白去甲基酶,并通常(但并不总是)与共抑制子蛋白质 CoREST 相关。LSD1/CoREST 可以与组蛋白去甲基酶 1/2 (HDAC1/2) 连接形成多酶单元,该多酶单元被许多通常参与基因抑制调控的染色质复合体召集(Ballas N 等“Regulation of neuronal traits by a novel transcriptional complex”(通过新型转录复合体的神经元特性的调控)Neuron. 31:353-365, 2001)。LSD1 从组蛋白 H3 的单甲基 Lys4 和二甲基 Lys4 抹去了甲基基团,其是良好表征的基因活性标记。对于表观遗传药物,酶是一个感兴趣的靶点,原因在于它在固体瘤中的过量表达(Schulte JH 等“Lysine-specific demethylase 1 is strongly expressed in poorly differentiated neuroblastoma:implications for therapy”(赖氨酸特异性去甲基酶 1 在低分化神经细胞瘤中的强烈表达:对于治疗的影响)Cancer Res 69:2065-2071, 2009),其在各种分化过程中的作用(Hu X 等“LSD1-mediated epigenetic modification is required for TAL1 function and hematopoiesis”(对于 TAL1 功能和生血作用需要 LSD1 介导的表观遗传修饰)Proc Natl Acad Sci USA 106:10141-10146, 2009),

其在疱疹病毒感染中的参与(Gu H、Roizman B 的“Engagement of the lysine-specific demethylase/HDAC1/CoREST/REST complex by herpes simplex virus 1”(通过单纯疱疹病毒 1 使得赖氨酸特异性去甲基酶/HDAC1/CoREST/REST 复合体结合)J Virol 83:4376-4385, 2009),以及其与 HDAC1,一种验证的药物靶点的结合。LSD2 是一种最近发现的去甲基酶,类似 LSD1,对于 H3 的单甲基化 Lys4 和二甲基化 Lys4 表现出严格特异性。然而,不同于 LSD1,对于 LSD2 的生物学仍只有部分表征,因为 LSD2 不粘结 CoREST,并且目前为止还没有在任意含 LSD1 蛋白质复合体中发现 LSD2(Karytin A 等“A novel mammalian flavin-dependent histone demethylase”(新型哺乳动物黄素依赖性的组蛋白去甲基酶)J Biol Chem 284:17775-17782, 2009)。

[0004] LSD1 和 LSD2 是多结构域蛋白质,它们共有一个相似的催化结构域(45% 序列相同性),该相似的催化结构域与单胺氧化酶(MAO)A 和单胺氧化酶 B 是结构同源的。反苯环丙胺、(±)-反-2-苯基环丙基-1-胺(tPCPA)、用作抗抑郁药物的 MAO 抑制剂也可以抑制 LSD1 (Schmidt DM、McCafferty DG 的“trans-2-Phenylcyclopropylamine is a mechanism-based inactivator of the histone demethylase LSD1”(反-2-苯基环丙基胺是组蛋白去甲基酶 LSD1 的基于机制的失活剂)Biochemistry 46:4408-4416, 2007)。

[0005]



[0006] tPCPA

[0007] Gooden 等(Bioorg. Med. Chem. Lett. 18, 3047-3051, 2008)描述了作为 LSD1 和 MAO 的抑制剂的取代反-2-芳环丙胺的一种合成途径。这些衍生物对 MAO A 和 MAO B 的抑制比对 LSD1 的抑制更有效大于 10 倍。

[0008] Culhane 等(J. Am. Chem. Soc. 132, 3164-3176, 2010)涉及含胍 MAO 抑制剂苯乙胍作为小分子 LSD1 抑制剂。

[0009] WO 2010011845 描述了一种通过向宿主给予蛋白质 LSD1 (RNAi 分子)的抑制剂和/或单胺氧化酶抑制剂,例如反苯环丙胺,来对宿主的病毒感染进行治疗的方法。

[0010] EP 1693062 涉及至少一种 siRNA (“短干扰 RNA”)和至少一种抗 LSD1 抗体的使用,还涉及结合单胺氧化酶抑制剂,例如反苯环丙胺用于对 LSD1 的活性进行调节并控制依赖于雄激素受体的基因表达。

[0011] 在本申请的优先权日之后公开的 WO 2010/043721、WO 2010/084160、WO2010/143582 以及 WO2011/035941 中描述了可以选择性抑制 LSD1 的功能的苯环丙胺衍生物。本发明中没有其揭示的化合物。

[0012] 因此,需要鉴定作为 LSD1 和/或 LSD2 组蛋白去甲基酶的有效和选择性的抑制剂的小分子,其用于与组蛋白去甲基酶的活性相关的疾病和症状的预防和治疗。

[0013] 本发明的化合物是具有有效组蛋白去甲基酶抑制活性的小分子,其用于各种疾病的治疗,在所述各种疾病中观察到反常基因转录、细胞分化和增殖,例如肿瘤、病毒感染。

[0014] 发明详述

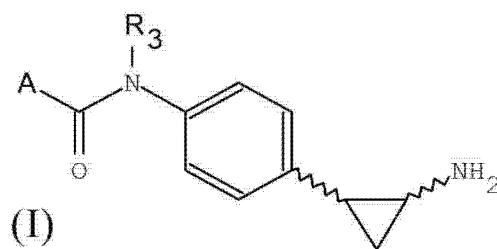
[0015] 本发明涉及的化合物具有 LSD1 和 /LSD2 组蛋白去甲基酶抑制活性并用于与 LSD1 和 /LSD2 组蛋白去甲基酶的活性相关的疾病和症状的预防和治疗。本发明还涉及制备所述化合物、含所述化合物的组合物的方法,及其治疗性使用方法。

[0016] 本发明发现通式(I)的反苯环丙胺衍生物及其衍生物具有组蛋白去甲基酶抑制活性。

[0017] 除非另有说明,否则,本申请所用术语应理解为本领域已知的普通含义。本申请中所用的某些术语的其他更具体的定义如下所述,并旨在整个说明书和权利要求书中统一,除非另外给出的定义提供了更宽泛的定义。

[0018] 因此本发明的一个目的是化学式(I)的化合物

[0019]



[0020] 其中:

[0021] A 是 R 或者 CH(R₁)-NH-CO-R₂;

[0022] R 和 R₂ 选自:烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、杂环烷基、环烷基烷氧基、芳基烷氧基、杂芳基烷氧基、杂环烷基烷氧基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、杂环烷基烷基、环烷基烷基氨基、芳基烷基氨基、杂芳基烷基氨基、杂环烷基烷基氨基;

[0023] R₁ 选自:烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基、杂环烷基烷基;

[0024] R₃ 是 H、低级烷基;

[0025] 及其异构体、互变体、外消旋形式、对映体、非对映体、差向异构体、多形体、溶剂合物及其混合物、前药、及其药学上可接受的盐。

[0026] 术语“烷基”指的是具有 1 至 10 个碳原子的完全饱和的直烃链或者支化饱和的烃链。例子包括,但不限于,甲基、乙基、正丙基、异丙基、叔丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、和癸基等。术语“低级烷基”或者“C₁-C₆ 烷基”具类似含义,不同之处在于它们含有 1 至 6 个碳原子。

[0027] 术语“烯基”指的是具有 2 至 10 个碳原子和至少一个碳碳双键的直烃链或者支化烃链。例子包括,但不限于,乙烯基、2- 丙烯基和异丁烯基等。

[0028] 术语“炔基”指的是具有 2 至 10 个碳原子和至少一个碳碳三键的直烃链或者支化烃链。例子包括,但不限于,乙炔基、2- 丙炔基和异丁炔基等。

[0029] 术语“环烷基”指的是 1 个或 2 个环部分的任意非芳族碳环体系。环烷基基团在环中可以具有 1 个或多个碳碳双键,只要它们的存在不使得环形成芳族。环烷基基团的例子包括,但不限于,(C3-C7) 环烷基基团,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基、以及饱和环萜和二环萜、和 (C3-C7) 环烯基基团,例如环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环己烯基和环庚烯基,以及不饱和环萜和二环萜。

[0030] 术语“芳基”指的是 1 个或 2 个环部分的任意芳族碳环体系,通过单键相互稠合或

者连接。合适的芳基基团包括,但不限于,苯基、 α -或 β -萘基、联苯基、茚满基和茚基等。

[0031] 术语“杂芳基”指的是单环芳环或多环芳环,其包含碳原子以及一个或多个杂原子,优选为1至3个杂原子,所述杂原子独立地选自氮、氧和硫。杂芳环的芳族特性小于它们的全碳对应物,这是本领域技术人员所熟知的。因此,基于本发明的目的,杂芳基团仅需要一些程度的芳族特性。杂芳基团的示例性例子包括,但不限于,呋喃基、苯并呋喃基、苯并间二氧杂环戊烯基、噻吩基、苯并苯硫基、吡啶基、吡啶基-N-氧化物、嘧啶基、哒嗪基、吡嗪基、吡唑基、噁唑基、噻唑基、异噁唑基、喹啉基、(1,2,3)-三唑基和(1,2,4)-三唑基、四唑基、三嗪基、吡咯基、咪唑基、咪唑[1,2-a]吡啶-3-基、吲唑基、异噻唑基、吲哚基、苯并咪唑基、苯并三唑基、苯并噁唑基、噁二唑基、以及噻二唑基等。

[0032] 术语“杂环烷基”指的是非芳族单环或多环,其包含碳原子和氢原子以及至少一个杂原子,优选为1至4个杂原子,所述杂原子选自氮、氧和硫。杂环烷基基团在环中可以具有1个或多个碳碳双键或碳-杂原子双键,只要它们的存在不使得环成为芳族。杂环烷基基团的例子包括,但不限于,氮丙啶基、吗啉基、硫代吗啉基、哌啶基、哌嗪基、噻唑烷基、噁唑烷基、四氢噻吩基、二氢呋喃基、四氢呋喃基、四氢硫代呋喃基、四氢吡喃基、吡唑烷基、1,3-二氧戊环基、吡咯烷基、吡喃基、二氢吡喃基、异噁唑烷基以及咪唑烷基等。杂环烷基基团可以是未取代的或者被一个或两个取代基取代。

[0033] 术语“环烷基烷氧基”指的是-O-(烷基)-(环烷基)基团,其中环烷基和烷基如上所定义。

[0034] 术语“芳基烷氧基”指的是-O-(烷基)-(芳基)基团,其中芳基和烷基如上所定义。

[0035] 术语“杂芳基烷氧基”指的是-O-(烷基)-(杂芳基)基团,其中杂芳基和烷基如上所定义。

[0036] 术语“杂环烷基烷氧基”指的是-O-(烷基)-(杂环烷基)基团,其中杂环烷基和烷基如上所定义。

[0037] 术语“环烷基烷基”指的是被一个环烷基烷基基团取代的烷基基团,其中烷基和环烷基烷基如上所定义。

[0038] 术语“芳烷基”指的是被一个芳基基团取代的烷基基团,其中烷基和芳基如上所定义。

[0039] 术语“杂芳基烷基”指的是被一个杂芳基基团取代的烷基基团,其中烷基和杂芳基如上所定义。

[0040] 术语“杂环烷基烷基”指的是被一个杂环烷基基团取代的烷基基团,其中烷基和杂环烷基如上所定义。

[0041] 术语“环烷基烷基氨基”指的是被至少一个如本文所定义的环境烷基基团取代的氨基基团。

[0042] 术语“芳基烷基氨基”指的是被至少一个如本文所定义的芳基烷基基团取代的氨基基团。

[0043] 术语“杂芳基烷基氨基”指的是被至少一个如本文所定义的杂芳基烷基基团取代的氨基基团。

[0044] 术语“杂环烷基烷基氨基”指的是被至少一个如本文所定义的杂环烷基烷基基团

取代的氨基基团。

[0045] 上述的任意烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、杂环烷基基团可在它们的任意自由位置任选地被一个或多个基团,例如 1 至 6 个基团进一步取代,所述基团选自:卤素、羧基、氰基、烷基、聚氟化烷基、烯基、炔基、环烷基、芳基、杂芳基、烷基-杂芳基、杂芳基-烷基、氨基-烷基、氨基基团及其衍生物,例如烷基氨基、二烷基氨基、芳基氨基、二芳基氨基、脲基、烷基脲基或者芳基脲基;羰基氨基基团及其衍生物,例如甲酰氨基、烷基羰基氨基、烯基羰基氨基、芳基羰基氨基、烷氧基羰基氨基;羟基基团及其衍生物,例如烷氧基、聚氟化烷氧基、芳氧基、杂芳氧基、烷基羰氧基、芳基羰氧基、或者环烷氧基;羰基基团及其衍生物,例如烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、环烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、异羟肟酸;硫化衍生物,例如烷硫基、芳硫基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷基亚磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基磺酰氧基、氨基磺酰基、烷基氨基磺酰基、或者二烷基氨基磺酰基。

[0046] 当合适时,上述每一个取代基它们自身可以被一个或多个前述基团进一步取代。

[0047] 术语“卤素”指的是氟原子、氯原子、溴原子或者碘原子。

[0048] 术语“烷氧基”指的是 -O-(烷基)基团,其中烷基如上所定义。

[0049] 术语“聚氟化烷基”或者“聚氟化烷氧基”指的是任意如上所定义的直链或者支化 C₁-C₆ 烷基或烷氧基基团,其中超过一个氢原子被氟原子取代,例如,三氟甲基、三氟甲氧基、2,2,2-三氟乙基、2,2,2-三氟乙氧基、1,2-二氟乙基、以及 1,1,1,3,3,3-六氟丙基-2-基等。

[0050] 由上可得,对于本领域技术人员,其名称被定义为复合物名称的任意基团,例如烷基杂芳基、烷硫基、芳硫基、氨基-烷基、烷基氨基、二烷基氨基、芳氨基、二芳基氨基、烷基脲基、芳基脲基、烷基羰基氨基、烯基羰基氨基、芳基羰基氨基、芳氧基、芳基烷氧基、烷基羰氧基、烷氧基羰基氨基;杂芳氧基、芳基羰氧基;烷基羰基、芳基羰基、烷氧基羰基、芳氧基羰基、环烷氧基羰基、氨基羰基、烷基氨基羰基、二烷基氨基羰基、烷基磺酰基、芳基磺酰基、烷基亚磺酰基、芳基亚磺酰基、芳基磺酰氧基、氨基磺酰基、烷基氨基磺酰基或者二烷基氨基磺酰基等,应传统地理解为它们源自的部分。因此,例如术语“烷氧基羰基”如上所述指的是通过氧原子连接到羰基基团的含烷氧基的基团。

[0051] 包含一个或多个“ ”的式表示所有可能的构型:顺式、反式、(R)、(S)。

[0052] 术语“酰化剂”指的是羧酸的反应性衍生物,其可以在本发明过程中通过酰胺键使得酸与氨基基团偶联。酰化剂的例子包括,但不限于,有机酰基卤化物、有机酸酐、羧酸、酯、混合的羧酸-磺酸酐。

[0053] 术语“约”包含了通常可能存在于测量中的实验误差范围。

[0054] 术语“药学上可接受的盐”指的是本发明化合物的相对无毒矿物盐和有机酸加成盐。可以在化合物的最终分离和纯化时原位制备所述盐。特别地,可以通过使得纯化形式的纯化化合物与有机或无机酸独立地反应,并分离因此形成的盐来制备所述酸加成盐。所得到的盐是,例如,盐酸盐、溴酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、硫酸二氢盐、甲磺酸盐、柠檬酸盐、草酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、三氟乙酸盐、2-萘磺酸盐、对甲苯磺酸盐。

[0055] 通式(I)的化合物可以包含不对称中心,这对于本领域技术人员是已知的。因此,本发明还包括光学立体异构体及其混合物。当本发明的化合物具有至少一个不对称中心

时,它们可能因此作为对映异构体存在。当本发明的化合物具有两个或更多个不对称中心时,它们还可能作为非对映异构体存在。应理解,所有这些异构体及其任意比例的混合物,包括外消旋体,都属于本发明的范围。

[0056] 本发明还涉及所有的异构体及其混合物、互变异构形式、外消旋形式、对映异构体、非对映异构体、差向异构体以及它们的晶体形式,包括它们的多态性形式及其混合物。一些化合物用符合化学计量或者不符合化学计量的一种或多种溶剂分子(例如,水、乙醇)溶剂化,因此它们也包含在本发明的范围内。

[0057] 当化合物以互变异构形式的情况存在时,无论是以平衡形式存在或者以一种形式占支配存在,每一种形式都包含在本发明内。

[0058] 同样地,式(I)的化合物的代谢物和药学上可接受的生物前体(或者称作前药)包含在本发明的范围内并适用于本发明。

[0059] 所谓式(I)的化合物的“前药”也包括在本发明的范围之内。因而,本身几乎没有或者根本没有药理学活性的通式(I)化合物的特定衍生物向体内给药时可能被转化成具有所需活性的通式(I)的化合物,例如通过水解切割。根据本发明的前药可以,例如通过用本领域技术人员熟知的作为前体部分(pro-moieties)的特定部分置换通式(I)化合物中存在的适当官能团的方式来制备,参见例如 H. Bundgaard 的《前药设计》(Design of Prodrugs) (Elsevier 出版,1985) 或者 Jarkko Rautio 等的《前药设计和临床应用》(Prodrugs: design and clinical applications), (自然综述药物发现 (Nature Reviews Drug Discovery) 第七卷,2008,3月,255-270)。

[0060] 在一个优选的实施方式中,本发明提供式(I)的化合物,其中:

[0061] A 是 R; 优选为烷基、芳基、芳基烷氧基、芳基烷基,每一个可任选地被取代;

[0062] R₃ 是 H;

[0063] 及其异构体、互变体、外消旋形式、对映体、非对映体、差向异构体、多形体、溶剂合物及其混合物、前药、及其药学上可接受的盐。

[0064] 在另一个优选的实施方式中,本发明提供式(I)的化合物,其中:

[0065] R₃ 是 H;

[0066] A 是 CH(R₁)-NH-CO-R₂; 优选地,独立地或者任意组合;

[0067] R₁ 是烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基,每一个可任选地被取代;

[0068] R₂ 是芳基烷氧基、杂芳基烷氧基,每一个可任选地被取代;

[0069] 及其异构体、互变体、外消旋形式、对映体、非对映体、差向异构体、多形体、溶剂合物及其混合物、前药、及其药学上可接受的盐。

[0070] 在另一个优选的实施方式中,本发明提供式(I)的化合物,其中:

[0071] R₃ 是 -CH₃;

[0072] A 是 CH(R₁)-NH-CO-R₂; 优选地,独立地或者任意组合;

[0073] R₁ 是烷基、芳基、杂芳基、环烷基烷基、芳基烷基、杂芳基烷基,每一个可任选地被取代;

[0074] R₂ 是芳基烷氧基、杂芳基烷氧基,每一个可任选地被取代;

[0075] 及其异构体、互变体、外消旋形式、对映体、非对映体、差向异构体、多形体、溶剂合

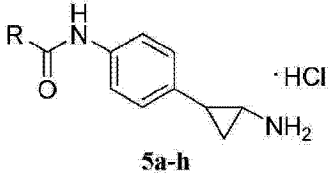
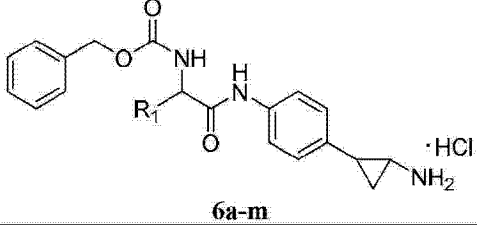
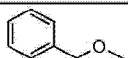
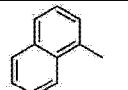
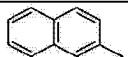
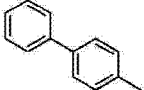
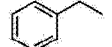
物及其混合物、前药、及其药学上可接受的盐。

[0076] 对于本发明的式 (I) 的任意具体的化合物,可任选地为药学上可接受的盐的形式参考,见以下实验部分。

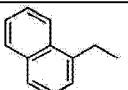
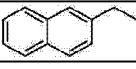
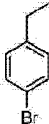
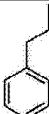
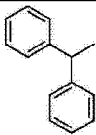
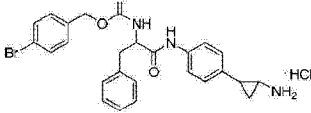
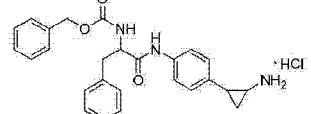
[0077] 式 (I) 的化合物的具体的、非限制性例子如下表(表 1) 所示:

[0078] 表 1

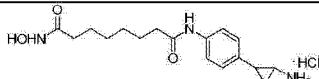
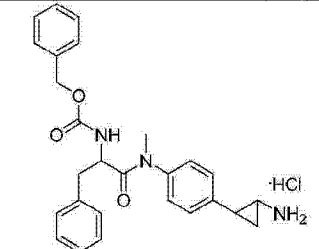
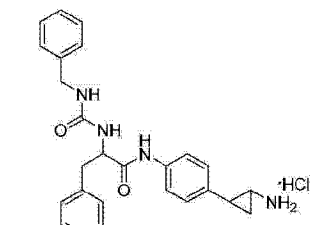
[0079]

				
化合物	实验室编号	R	R ₁	名称 (所有都为盐酸盐)
5a	MC2574		-	反式 4-(2-氨基环丙基)苯基氨基甲酸苄基酯
5b	MC2584		-	反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)苯甲酰胺
5c	MC2634		-	反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-1-萘甲酰胺
5d	MC2653		-	反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-萘甲酰胺
5e	MC2652		-	反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)联苯基-4-羧酰胺
5f	MC2639		-	反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-苯乙酰胺

[0080]

5g	MC2645		-	反式 <i>N</i> -(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(萘-1-基)乙酰胺
5h	MC2646		-	反式 <i>N</i> -(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(萘-2-基)乙酰胺
6a	MC2707	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-甲基-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯
6b	MC2663	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-甲基-1-氧代戊-2-基氨基甲酸苄基酯
6c	MC2708	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-环己基-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6d	MC2633	-		反式 2-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-2-氧代-1-苯基乙基氨基甲酸苄基酯
6e	MC2580	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6f	MC2764	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(4-溴苯基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6g	MC2632	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(4-甲氧基苯基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6h	MC2662	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-4-苯基丁-2-基氨基甲酸苄基酯
6i	MC2698	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3,3-二苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6j	MC2687	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(萘-1-基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6k	MC2688	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-3-(萘-2-基)-1-氧代丙-2-基氨基甲酸苄基酯
6l	MC2581	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-(1H-吲哚-3-基)-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯
6m	MC2699	-		反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-(苯并[b]噻吩-3-基)-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯
7	MC2765			反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸 4-溴苄基酯
8	MC2829			顺式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯

[0081]

9	MC2575		反式 N^d -(4-(2-氨基环丙基)苯基)- N^8 -羟基辛烷二酰胺
12	MC3043		反式 1-((4-(2-氨基环丙基)苯基)(甲基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯
16	MC3020		反式 N -(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(3-苯基脲基)-3-苯基丙酰胺

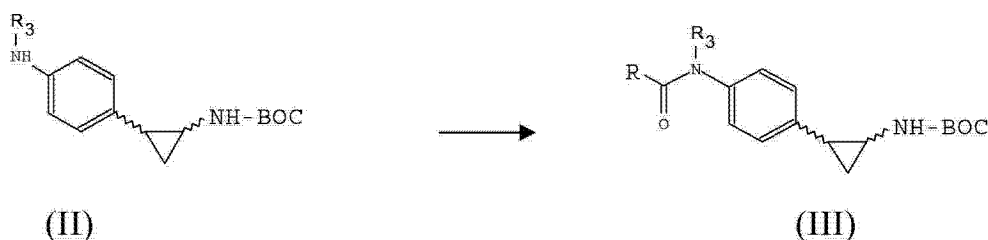
[0082] 表 1 中所述化合物的异构体、互变体、外消旋形式、对映体、非对映体、多形体、溶剂合物、混合物、前药及其药学上可接受的盐仍属于本发明的范围内。

[0083] 本发明还涉及根据以下过程(方法 A 和方法 B) 制备如上所定义的通式(I) 的化合物及其前药和药学上可接受的盐的方法, 其可以根据本领域技术人员所熟知的方法来进行。以下所述并记录在方案中的一些方法不应该被理解为限制可用于制备本发明的化合物的合成方法的范围。出于代表性目的, 给出了以下方法。取决于要得到的式(I) 的化合物的特性, 本领域的技术人员可以通过选择取代基 R 、 R_1 、 R_2 和 R_3 可以改变的合适的起始材料来采用现存的方法。

[0084] 因此本发明的一个目的是用于制备对应通式(I) 的化合物(Ia) 的方法, 其中 A 是 R , 该方法包括以下步骤:

[0085] (a) 使得式(II) 的化合物与酰化剂反应得到式(III) 的化合物,

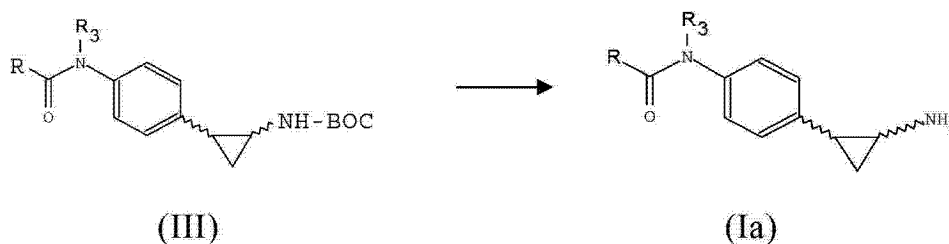
[0086]



[0087] 其中 R 、 R_3 如上定义, Boc 是叔丁氧基羰基保护基团;

[0088] (b) 可任选地将 (a) 中得到的式(III) 的化合物转化为包含在式(III) 中的另一种化合物, 从式(III) 的化合物去除 Boc 保护基团以得到式(Ia) 的化合物:

[0089]



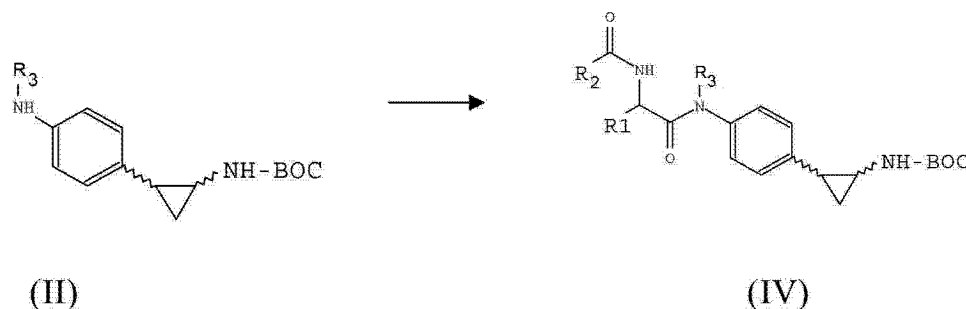
[0090] 根据过程(方法 A)的步骤(a),可以用本领域技术人员已知的不同方法来实现式(II)的化合物与酰化剂的反应得到式(III)的化合物。例如,在碱存在时,可以用合适的酰化剂,例如酰氯对式(II)的化合物进行处理,以得到 Boc 保护的式(III)的化合物。在质子清除剂,例如三乙基胺、N,N-二异丙基乙基胺、哌啶、N,N-二甲基苯胺或者吡啶存在时,在室温至溶剂回流温度的温度范围内,反应可以在合适的溶剂,例如极性非质子溶剂,如二氯甲烷、三氢呋喃、1,4-二噁烷、N,N'-二甲基甲酰胺或其混合物中进行。优选地,在胺,例如三乙基胺存在时,在室温下,使得式(II)的化合物与酰氯在二氯甲烷中反应来进行步骤(a)。可任选地,在 Boc 基团脱保护之前,式(III)的化合物可以转化成另一种式(III)的化合物。例如,根据本领域技术人员已知的标准方法,可以在碱性介质中用烷基卤化物进行处理使得苯胺 NH 烷基化。根据标准方法从式(III)的化合物解离 Boc 基团产生了最终化合物(Ia)。Boc 基团的脱保护如“有机化学中的保护基团”(Protective Groups in Organic Chemistry)第三版, T.W. Greene 和 P.G.M. Wuts, 韦利科学公司 (Wiley-Interscience) (1999)和“保护基团”(Protecting Groups)P. J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994)中所述。例如,通过在约 0° C 至回流的温度范围内,向合适的溶剂,例如极性非质子溶剂,如二氯甲烷、三氢呋喃、1,4-二噁烷、N,N'-二甲基甲酰胺或其混合物中加入酸,例如 HCl 或者三氟乙酸来进行步骤(b)。

[0091] 通过本领域已知的合成方法,可以将式(Ia)的化合物改性成包含在式(Ia)中的其他化合物,和/或将式(Ia)的化合物转化成药学上可接受的盐,和/或可以将其盐转化成式(Ia)的游离化合物。

[0092] 在另一个实施方式中,本发明提供了一种用于制备对应通式(I)的化合物(Ib)的方法,其中 A 是 $\text{CH}(\text{R}_1)\text{-NH-CO-R}_2$, 该方法包括以下步骤:

[0093] (a) 使得式(II)的化合物与酰化剂反应得到式(IV)的化合物

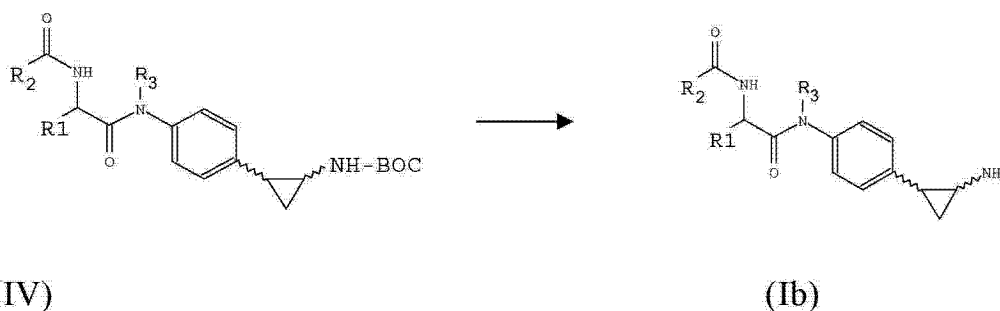
[0094]



[0095] 其中 R_1 、 R_2 、 R_3 和 Boc 如上定义;

[0096] (b) 可任选地将(a)中得到的式(IV)的化合物转化为另一种式(IV)的化合物,从式(IV)的化合物去除 Boc 保护基团以得到式(Ib)的化合物:

[0097]



[0098] 根据过程(方法 B)的步骤(a),可以用本领域技术人员已知的不同方法来实现式(II)的化合物与酰化剂的反应得到式(IV)的化合物。例如,可任选地在偶联试剂,例如(苯并三唑-1-基氧基)三(二甲氨基)-膦-六氟磷酸盐(BOP-试剂)、N,N-羰基二咪唑或者1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐的存在下,用合适的酰化剂,例如Z-保护的氨基酸和碱对式(II)的化合物进行处理,以得到Boc保护的式(IV)的化合物。在质子清除剂,例如三乙基胺、N,N-二异丙基乙基胺、哌啶、N,N-二甲基苯胺或者吡啶存在时,在室温至溶剂回流温度的温度范围内,反应可以在合适的溶剂,例如极性非质子溶剂,如二氯甲烷、三氢呋喃、1,4-二噁烷、N,N'-二甲基甲酰胺或其混合物中进行。优选地,在胺,例如三乙基胺存在时,在室温下,使得式(II)的化合物与Z-保护的氨基酸在N,N-二甲基甲酰胺中反应来进行步骤(a)。可任选地,在Boc基团脱保护之前,式(IV)的化合物可以转化成另一种式(IV)的化合物。例如,根据本领域技术人员已知的标准方法,可以在碱性介质中用烷基卤化物进行处理使得苯胺NH烷基化。通过如上所述的工作进一步解离式(IV)的化合物的Boc基团,产生最终化合物(Ib)。

[0099] 通过本领域已知的合成方法,可以将式(Ib)的化合物改性成包含在式(Ib)中的其他化合物,和/或将式(Ib)的化合物转化成药学上可接受的盐,和/或可以将其盐转化成式(Ib)的游离化合物。

[0100] 上述酰化剂或者Z-保护的氨基酸是市售可得的化合物或者本领域技术人员根据标准过程从已知化合物容易制得的化合物。当酰化剂或者Z-保护的氨基酸具有反应性基团,例如羟基、羧基、硫醇或者氨基基团的情况时,可能需要通过保护基团,例如叔丁氧基羰基、苄基、苄氧基羰基、甲基、以及三甲基甲硅烷基等的保护,并在合成的某个步骤中脱保护以再次得到游离反应性基团。脱保护的基团可以发生进一步反应,例如,烷基化、酰基化或者磺酰化等。官能团的保护和脱保护如“有机化学中的保护基团”第三版, T. W. Greene 和 P. G. M. Wuts, 韦利科学公司 (Wiley-Interscience) (1999) 和“保护基团”P. J. Kocienski, Georg Thieme Verlag(1994) 中所述。

[0101] 对于本领域技术人员,根据上述过程(方法 A 或方法 B)制备得到的式(I)的化合物是否为异构体的混合物是显而易见的,根据传统技术将它们分离成式(I)的单独的异构体仍属于本发明的范围。

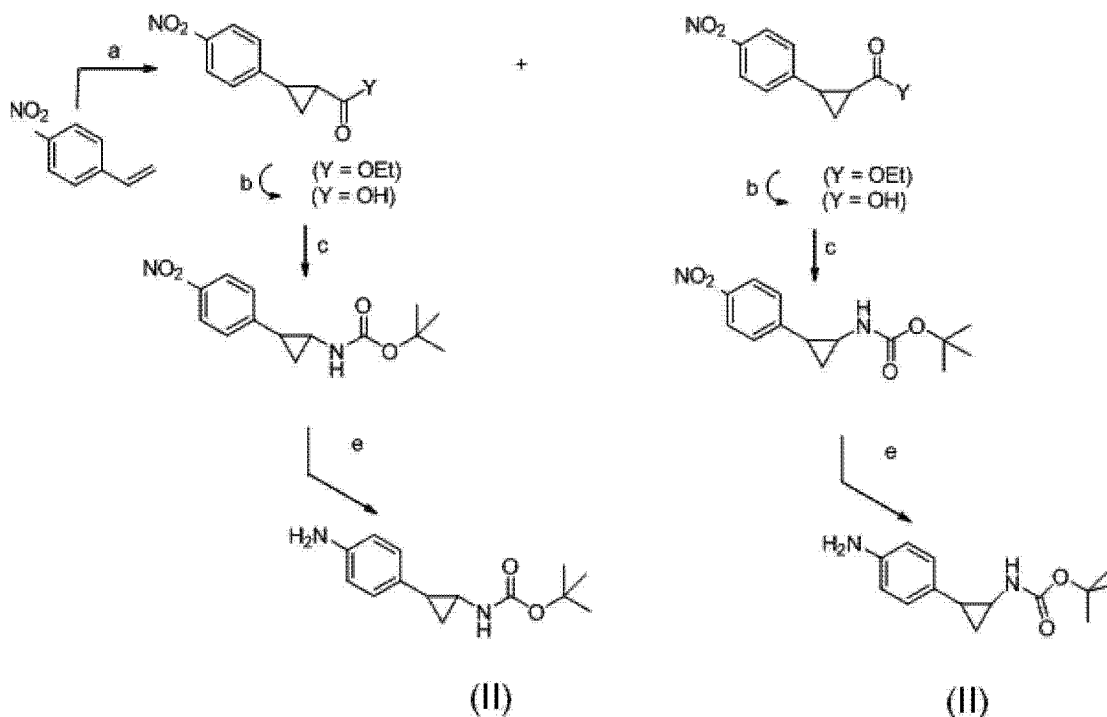
[0102] 在合成式(I)的化合物时,某些官能团会产生不合乎希望的副反应,需要根据传统技术对这些基团进行合适的保护,这对于本领域技术人员是显而易见的。同样地,可以根据本领域技术人员熟知的方法将所述后者转化为对应的脱保护化合物。

[0103] 式(II)的起始材料是根据文献中的标准方法市售可得的已知化合物,这对于本领域技术人员是已知的。可以部分根据如下记录的方法容易地得到式(II)的化合物

(J Am Chem Soc, 80:4015-4018, 1958; J Org Chem, 27:733-736, 1962; Bioorg Med Chem Lett, 16:1840-1845, 2006)。特别地,在氯化铜(I) (CuCl) 的存在下,通过使得市售可得的 4-硝基苯乙烯与重氮乙酸乙酯(EDA)在干燥 CHCl_3 中偶联化(方案 1),得到 2-(4-硝基苯基)环丙基-1 羧酸乙酯的顺式和反式混合物。可以通过用于分离化合物的已知方法,例如通过色谱分离、重结晶技术以及本领域技术人员熟知的其他方法对两种异构体进行分离。乙基酯的碱水解得到了对应的羧酸,其通过与三乙基胺、二苯基磷酰基叠氮化物、叔丁醇和二碳酸二叔丁酯在干燥苯中反应进而转化成相关的氨基甲酸叔丁氧基酯。用次磷酸钠、碳酸钡以及碳酸钾使得这些最后化合物的硝基基团还原,得到式(II)的化合物。

[0104] 方案 1:

[0105]



[0106] 试剂和条件:

[0107] a) EDA、 CuCl 、干燥 CHCl_3 , 60°C , N_2 气氛; b) 2N KOH 、 EtOH , 室温; c) 1) DPPA、 Et_3N 、干燥 $t\text{-BuOH}$ 、干燥苯, 80°C , N_2 气氛; 2) Boc_2O 、干燥苯、 80°C , N_2 气氛; e) 2N K_2CO_3 、 NaH_2PO_2 、 Pd/C 、 THF , 60°C , N_2 气氛。

[0108] 发现本发明的化合物是有效的 LSD1 和 LSD2 抑制剂,在单独使用时对白血病细胞展现出抗肿瘤活性,当与抗白血病药物结合使用时展现出协同活性。

[0109] 本发明的一个目的是,式 I 的化合物作为 LSD1 和 / 或 LSD2 组蛋白去甲基酶的抑制剂。

[0110] 优选地,本发明的化合物用于治疗或者作为促凋亡剂,更优选地,本发明的化合物用作对特征是反常基因转录、细胞分化和增殖的疾病进行预防和 / 或治疗的药物。

[0111] 在一个优选的实施方式中,本发明的化合物用作抗肿瘤剂。

[0112] 在另一个优选的实施方式中,本发明的化合物用作抗病毒剂。

[0113] 本发明的一个目的是一种方法,该方法通过向哺乳动物给予所述治疗所需的治疗有效剂量的如上定义的通式(I)的化合物,用于预防和 / 或治疗与组蛋白去甲基酶 LSD1 和

/ 或 LSD2 的活性相关的疾病和症状,特别是肿瘤、病毒感染。

[0114] 优选地,所述肿瘤选自:成神经细胞瘤、前列腺癌、乳腺癌、急性骨髓性白血病、T- 细胞急性淋巴细胞白血病、膀胱癌、肺癌以及结直肠癌。

[0115] 更优选地,所述病毒感染是由单纯疱疹病毒引起的。

[0116] 本发明的一个目的是一种药物组合物,其包含一种或多种如上定义的通式(I) 的化合物,单独或与其他活性化合物结合使用,以及至少一种药学上可接受的赋形剂。

[0117] 优选地,所述药物组合物包含有效量的单位剂量形式配制的本发明的化合物。

[0118] 本文所用术语“赋形剂”指的是任意物质,其自身不是治疗剂,用作载体或者运载体用于将治疗剂递送到对象或者加入到药物组合物以改善其操作或储存特性或者允许或有助于将单位剂量的组合物配制成成分立的制品,例如,药片、胶囊、药丸、粉末、颗粒、球粒、糖锭、锭剂、酏剂、糖浆、溶液、悬浮剂、乳剂、滴剂、洗剂、喷雾剂、酊剂、乳膏剂、药膏、凝胶、油膏、栓剂以及用于口服给药、肠道给药、胃肠给药或局部给药的透皮装置。

[0119] 术语“单位剂量形式”指适合作为单一剂量用于人体对象或其他哺乳动物的物理离散单位,每个单位包含预定量的活性成分和合适的药用赋形剂,所述预定量经计算能够产生所需的治疗效果。

[0120] 本领域的技术人员熟知适用于配制药物组合物的所有各种所述的赋形剂。合适的药学上可接受的赋形剂是本领域技术人员熟知的。所述赋形剂,通过说明的方式而非限制性方式,包括:稀释剂、增溶剂、填充剂、胶合剂、崩解剂、崩解抑制剂、吸收促进剂、辅剂、粘结剂、载体、悬浮剂/分散剂、成膜剂/涂层、粘合剂、抗粘附剂、润湿剂、润滑剂、助流剂、防腐剂、吸附剂、缓冲剂、表面活性剂、加入以掩盖或抵消令人不快的味道或气味的物质、调味剂、着色剂、香味剂、芳香剂、甜味剂、以及加入以改善组合物外观的物质等。赋形剂的选择很大程度上取决于以下因素,例如特定的给药模式、赋形剂对溶解性和稳定性的作用、以及剂量形式的特性。

[0121] 可以通过各种途径给药本发明的药物组合物,包括口服给药、胃肠给药、静脉给药、通过灌输给药、皮下给药、肌肉给药、腹膜给药、经粘膜给药(包括口腔给药、舌下给药、经鼻给药、尿道给药以及直肠给药)、局部给药、透皮给药、通过吸入给药、眼部途径给药(包括眼部植入给药、储器给药以及可注入治疗例如玻璃体内给药)、经黏膜给药(per mucous) 或者经皮给药或者使用任意其他给药途径。

[0122] 从而以固体或液体、可注射溶液或悬浮剂或多剂量瓶的形式存在,以用于极性溶剂中的经皮给药使用或者用于经黏膜给药使用的片剂、药片或者涂覆的片剂、糖或者覆膜片剂、胶囊、薄片胶囊、凝胶胶囊、药丸、扁囊、装剂、粉末、颗粒、囊片、糖剂、丸药、糖衣丸、干药糖剂、糊剂、栓剂或直肠胶囊、糖浆、酏剂、乳剂、溶液、悬浮剂、乳膏、药膏、擦剂、洗剂、滴剂、喷雾剂、贴片的形式存在。

[0123] 例如,固体口服给药形式可以含有与活性化合物一起给药的稀释剂,例如碱土金属碳酸盐、磷酸镁、乳糖、葡萄糖、蔗糖(saccharose)、蔗糖(sucrose) 纤维素、微晶纤维素衍生物、淀粉、玉米淀粉或土豆淀粉、以及改性淀粉等;润滑剂,例如二氧化硅、滑石、硬脂酸、硬脂酸镁或硬脂酸钙、和/或聚乙二醇;粘结剂,例如淀粉、阿拉伯胶、明胶甲基纤维素、羧甲基纤维素或者聚乙烯基吡咯烷酮;崩解剂,例如淀粉、藻酸、藻酸盐或羟乙酸淀粉钠;泡腾剂混合物;染料;甜味剂;润湿剂,例如卵磷脂、聚山梨醇酯、月桂基硫酸盐;以及通常

用于药物配制的无毒性和药物无活性物质。可以用已知方法,例如通过混合、造粒、压片、挂糖衣或者覆膜方法来制备这些药物。

[0124] 用于口服给药的液体分散剂可以是,例如糖浆、乳剂和悬浮剂。例如,糖浆可以包含,作为载体的蔗糖或者蔗糖与丙三醇和 / 或甘露醇和山梨糖醇。

[0125] 悬浮剂和乳剂可以含有,例如作为载体的天然胶、琼脂、藻酸钠、果胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素或者聚乙烯醇。

[0126] 用于肌肉注射的悬浮剂或者溶液可以含有与活性化合物一起给药的药学上可接收载体,例如消毒水、橄榄油、油酸乙酯、二醇,如丙二醇以及如果需要的话,合适量的盐酸利多卡因。

[0127] 用于静脉注射或灌输给药的溶液可以含有,作为载体的消毒水或者优选地,它们是消毒水性等压盐水溶液形式,或者它们可以含有丙二醇作为载体。

[0128] 栓剂可以含有与活性化合物一起给药的药学上可接受的载体,例如可可油、聚乙二醇、聚氧乙烯去水山梨糖醇脂肪酸酯表面活性剂、水杨酸盐或卵磷脂。

[0129] 吸入气雾剂可以含有与活性化合物一起给药的推进剂气体,例如氢氟烷。推进剂驱动的制剂还可以含有其他成分,例如共溶剂、稳定剂以及可任选的其他赋形剂。包含本发明的化合物的不含推进剂的可吸入制剂可以是水媒介、醇媒介或者水醇媒介中的溶液或悬浮液的形式,并且可以通过本领域已知的喷射或超声雾化器或者软雾雾化器来对它们进行递送。

[0130] 上述用于药物组合物给药的组分仅是代表性的。其他材料以及加工技术等参见 Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物科学) 第 5 部分,第 20 版,2000,宾夕法尼亚州伊斯顿的马克出版公司 (Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania),其通过引用结合入本文。还可以以持续释放形式或者由持续释放药物递送系统来给药本发明的式(I)的化合物。在参考材料的 Remington's Pharmaceutical Sciences (雷明顿药物科学) 中还可以找到代表性持续释放材料的描述。

[0131] 通常用传统方法来制备含本发明化合物的药物组合物,并以合适的药物形式进行给药。

[0132] 可以通过传统的混合、填充、压实来制备固体口服组合物。可以重复混合操作从而使得活性剂分散在含大量填料的组合物中。这些操作是传统的。

[0133] 液体口服制剂可以配制成,例如水性悬浮剂或者油性悬浮剂或者溶液、乳剂、糖浆或者酞剂,或者可以作为冻干产物存在,通过在使用前加入水或者合适的运载体来再生。所述液体制剂可含有常规添加剂,例如助悬剂,如山梨糖醇、糖浆、甲基纤维素、明胶、羟乙基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶或者氢化食用脂肪;乳化剂,如卵磷脂、去水山梨糖醇单油酸酯或阿拉伯胶;非水性运载体(可包含食用油),如杏仁油、分级椰子油,油酯如甘油酯、丙二醇或乙醇;防腐剂,如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或者山梨酸,以及如果需要还含有常规调味剂或着色剂。

[0134] 可以制备含化合物以及消毒运载体的流体剂量单位用于胃肠道外给药。根据选择的运载体和浓度,可以使得化合物悬浮或者溶解。通常通过将化合物溶解在运载体中,过滤消毒,装入合适的药瓶并密封来制备胃肠道外给药溶液。优选地,还可以将合适的助剂,例如局部麻醉剂、防腐剂和缓冲剂溶解在运载体中。为了增加稳定性,在装入药瓶之后可以冷

冻组合物并真空去除水。以基本相同的方式制备胃肠道外给药悬浮剂,不同之处在于,可以使得化合物悬浮在运载体中而不是溶解在运载体中,并且在悬浮在消毒运载体之前用环氧乙烷处理对所述化合物进行消毒。优选地,可以在组合物中包含表面活性剂或者润湿剂,目的在于促进本发明的化合物的均匀分布。

[0135] 本发明的化合物也可以经局部给药。局部给药制剂可以包含,例如药膏、乳膏、凝胶、洗剂、溶液、或者糊剂等,和/或可以制备以含有脂质体、胶束和/或微球体。作为药物制剂领域已知的药膏是半固体制剂,通常基于矿脂或者其他矿脂衍生物。所述药膏的例子包括油脂性药膏基质,例如植物油、动物脂肪和从矿脂得到的半固体碳氢化合物,可乳化药膏基质,例如羟基硬脂硫酸酯、无水羊毛脂和亲水性矿脂,乳剂药膏基质,例如十六烷基醇、单硬脂酸甘油酯、羊毛脂和硬脂酸以及从聚乙二醇制得的各种分子量的水溶性药膏基质。同样为本领域技术人员已知的乳膏是粘性液体或者半固体乳液,并含有油相、乳化剂和水相。所述油相通常包含矿脂和脂肪醇,例如十六烷基醇或者硬脂醇。所述水相通常含有保湿剂。乳膏制剂中的乳化剂选自非离子型、阴离子型、阳离子型或两性表面活性剂。单相凝胶含有基本均匀分布在载体液体中的有机大分子,所述载体液体通常是水性的,但是同样优选地,含有醇以及可任选的油。优选的凝胶剂是交联的丙烯酸聚合物(例如,“carbomer”聚合物,即羧基聚烯烃,其是商标为 Carbopol 的商品)。同样地,优选为亲水性聚合物,例如环氧乙烷、聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物和聚乙烯醇;纤维素聚合物,例如羟丙基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素、以及甲基纤维素;胶,例如黄蓍胶和黄原胶;藻酸钠;以及明胶。可以加入分散剂,例如醇或者丙三醇,或者可以通过研磨、机械混合和/或搅拌来分散凝胶剂,来制备均匀凝胶。

[0136] 本发明的化合物也可以经透皮释放给药。常见的透皮制剂包括传统的水性和非水性载剂(vector),例如乳膏、油、洗剂或糊剂或者可以以膜或者加药膏药来提供。在一个实施方式中,本发明的化合物分散在粘附在皮肤上的压敏膏药中。该制剂允许化合物从膏药经过皮肤扩散进入患者。为了得到经由真皮的持续药物释放,可以使用天然橡胶和硅作为压敏粘合剂。

[0137] 适用于向哺乳动物,例如人类给药的本发明的式(I)的化合物可以作为单独活性剂给药,或者通过常规途径与其他药物活性成分一起给药,并且剂量水平取决于各种因素,包括所使用的具体化合物的活性;治疗个体的年龄、体重、总体健康状况、性别和饮食;给药时间和途径;排泄速率;之前给药的其他药物;进行治疗的特定疾病的严重性,这是本领域技术人员熟知的。

[0138] 例如,用于式(I)化合物口服给药所采用的合适的剂量范围约为每剂 30 至 500mg,每天 1 至 5 次。通常,当采用胃肠道外途径给药时,给药剂量较低。因此,例如,对于静脉给药,通常采用例如 0.5mg 至 30mg 每 kg 体重的剂量范围。

[0139] 可以以各种剂量形式对本发明的化合物进行给药,例如,口服给药,以药片、糖包衣药片、覆膜药片、胶囊、扁囊、作为粉末或者颗粒的形式;作为糖浆、乳剂、溶液或者水性或非水性液体中的悬浮液、作为水包油液体乳剂或者油包水液体乳剂、作为丸药、干药糖剂或者糊剂的形式给药;直肠给药,以栓剂的形式给药;胃肠道外给药,例如肌肉给药或者通过静脉注射或者静脉灌输。优选地,可以单独给药通式(I)的化合物,或者与其他活性成分一起给药,用于预防和/或治疗需要抑制组蛋白去甲基酶 LSD1 和 LSD2 的任意疾病。所述疾

病包括肿瘤、病毒感染。

实施例

[0140] 通过以下非限制性实施例的方式结合附图对本发明进行描述。

[0141] 图 1. 6e 的生物学评价。(A) 6e 与视黄酸 (RA) 在抑制细胞生长方面起了协同作用。在存在或不存在 6e (2 μ M) 的情况下, 用增加的视黄酸浓度 (10nM、100nM 和 1 μ M) 对 NB4 细胞进行处理。在指定的时间点, 通过台盼蓝 (Trypan blue) 排除法对细胞进行计数。NT, 未处理细胞 (仅有运载体)。(B) 6e 与视黄酸 (RA) 在诱导 NB4 细胞分化方面起了协同作用。在存在或不存在 6e (2 μ M) 的情况下, 用视黄酸 (100nM) 或者运载体 (NT) 对 NB4 细胞进行处理。在 7 天后, 将细胞旋涂在载玻片上并进行染色 (May Grunwald-Giemsa)。

[0142] 图 2. 6e 与视黄酸 (RA) 在诱导 NB4 细胞凋亡方面起了协同作用。在存在或不存在 6e (2 μ M) 的情况下, 用增加的视黄酸浓度 (10nM、100nM 和 1 μ M) 或者运载体 (NT) 对 NB4 细胞进行处理。在 7 天后通过透化细胞的碘化丙锭染色来测定凋亡。显示了代表性的实验。

[0143] 1. 化学合成

[0144] 方法

[0145] 除非另有说明, 否则, 所有的起始试剂都是市售可得或者通过文献方法容易制得的, 且未经任意纯化使用。所有的溶剂都是试剂级别的, 当需要时通过标准方法进行纯化和干燥。

[0146] 在反应和提取之后溶液的浓缩涉及在约 20 托的减压下使用旋转蒸发仪操作。有机溶液用无水硫酸钠进行干燥。分析结果在理论值的 $\pm 0.40\%$ 之内。

[0147] 在衬铝氧化硅凝胶板 (Merck DC, Alufolien Kieselgel 60 F254) 上进行 TLC, 通过紫外光观察点。

[0148] 通过 Bruker 400MHz 得到 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 光谱。化学位移的单位是百万分之份数 (ppm, δ 单位)。耦合常数的单位是赫兹 (Hz), 分裂图案描述为 s (单峰)、bs (宽单峰)、d (双峰)、t (三峰)、q (四峰)、quint (五峰)、m (多峰)。

[0149] 用 Fisons Trio 1000 光谱仪记录了 EIMS 光谱, 仅给出了分子离子 (M^+) 峰和基峰。

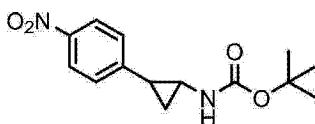
[0150] 在 Buchi 530 熔点设备上测定了熔点, 未校正。

[0151] 实施例 1

[0152] 制备反式和顺式 2-(4-硝基苯基) 环丙基氨基甲酸叔丁酯:

[0153] 反式 2-(4-硝基苯基) 环丙基氨基甲酸叔丁酯

[0154]



[0155] 将干燥苯 (20mL) 中的反式 2-(4-硝基苯基) 环丙基 -1- 羧酸 (5.3mmol, 1.1g) 溶液、三乙基胺 (6.4mmol, 0.9mL)、二苯基磷酰基叠氮化物 (5.8mmol, 1.2mL) 以及叔丁醇 (53mmol, 5mL) 在 80°C 的 N_2 气氛下搅拌 16 小时。之后, 加入二碳酸二 - 叔丁基酯 (8mmol, 1.7g), 在 80°C 下使得反应再搅拌 2 小时。在真空下去除溶剂, 残留物用氧化硅凝胶色谱使用乙酸乙酯 / 正己烷 = 1/3 来洗脱, 以分离纯反式 2-(4-硝基苯基) 环丙基氨基甲酸叔丁

酯浅黄色固体。

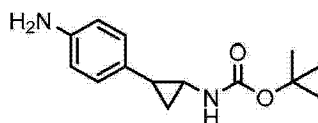
[0156] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1.29–1.33 (m, 2H, CH_2 环丙烷), 1.46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.15–2.17 (m, 1H, PhCH), 2.80–2.82 (m, 1H, CHNH), 4.93 (bs, 1H, NHCO), 7.26–7.28 (d, 2H, 芳族质子), 8.13–8.15 (d, 2H, 芳族质子); ^{13}C NMR($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz, δ ; ppm) δ 14.40, 22.80, 28.40 (3C), 32.60, 79.50, 123.30 (2C), 125.90 (2C), 144.30, 147.80, 155.60; MS (ESI) m/z : 278.13 $[\text{M}]^+$; m. p. = 153–155° C

[0157] 实施例 2

[0158] 制备反式和顺式 2-(4-氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯:

[0159] 反式 2-(4-氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯

[0160]



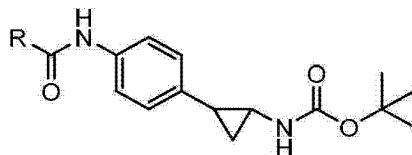
[0161] 将反式 2-(4-硝基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(2.88mmol, 0.8g)、碳酸钾(2.04mmol, 0.28g) 10% 碳载钯(0.016g) 在四氢呋喃(3.88mL) 和水(3.8mL) 中的混合物除气 5 分钟, 然后在剧烈搅拌下逐滴加入次磷酸钠(10.96mmol, 1.16g) 的水(2.32mL) 溶液。所得的混合物在 60° C 下搅拌 5 小时。去除溶剂, 将残留物倒入水(100mL) 中并用二乙醚(3×50mL) 提取。有机层用饱和氯化钠溶液清洗(3×50mL), 用无水硫酸钠干燥并浓缩。残留物用氧化硅凝胶色谱使用乙酸乙酯/正己烷=1/2 来洗脱, 首先得到 1-(4-氨基苯基)丙-2-基氨基甲酸叔丁酯洗出液, 之后为反式 2-(4-氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯, 两者都为黄色油。

[0162] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1.06–1.10 (m, 2H, CH_2 环丙烷), 1.47 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.95–1.97 (m, 1H, PhCH), 2.63–2.65 (m, 1H, CHNH), 3.58 (bs, 2H, NH_2), 4.71 (bs, 1H, NHCO), 6.61–6.63 (d, 2H, 苯质子), 6.96–6.98 (d, 2H, 苯质子); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 14.40, 22.80, 28.40 (3C), 32.60, 79.50, 114.60 (2C), 125.80 (2C), 131.70, 144.80, 155.60; MS (ESI) m/z : 248.15 $[\text{M}]^+$

[0163] 实施例 3

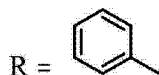
[0164] 制备反式 2-(4-芳酰基氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯或者反式 2-(4-芳基乙酰基氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯或者反式 2-(4-苄氧基羰基氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(1a-h):

[0165]



[0166] 反式 2-(4-苯甲酰基氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(1b)

[0167]



[0168] 向反式 2-(4-氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(0.6mmol, 0.150g) 的干燥二氯甲烷(5mL) 溶液中逐滴加入三乙基胺(0.72mmol, 0.1mL) 和苯甲酰氯(0.6mmol, 0.09mL),

冰浴外部冷却。将所得混合物搅拌 1 小时,然后加入水(50mL),分离有机层并用二氯甲烷(2×30mL)对水性层进行提取。有机相用饱和氯化钠溶液清洗(3×50mL),用无水硫酸钠干燥并浓缩。残留物用氧化硅凝胶色谱柱使用乙酸乙酯/正己烷=1/3 来洗脱纯化,以得到纯化合物 1b 白色固体。

[0169] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1.12-1.15(m, 2H, CH_2 环丙烷), 1.47(s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2.00-2.02(m, 1H, PhCH), 2.70-2.72(m, 1H, CHNH), 4.88(bs, 1H, CHNHCO), 7.14-7.16(d, 2H, 芳族质子), 7.51-7.59(m, 3H, 芳族质子), 7.70-7.72(d, 2H, 芳族质子), 7.94-7.96(d, 2H, 芳族质子), 10.25(bs, 1H, PhNHCO);

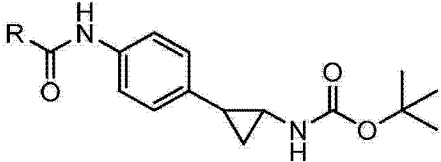
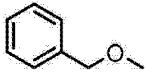
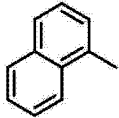
[0170] ^{13}C NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 14.40, 22.80, 28.40(3C), 32.60, 79.50, 121.0(2C), 125.20(2C), 127.50(2C), 128.80(2C), 132.10, 134.20, 134.30, 137.30, 155.60, 164.70;

[0171] MS(ESI)m/z:352.18[M] $^+$;m. p.=172-174 $^\circ$ C

[0172] 根据上述过程用合适的试剂来制备以下化合物(表 2):

[0173] 表 2

[0174]

				
化合物	R	熔点($^\circ\text{C}$)	重结晶溶剂	产率(%)
1a		114-116	环己烷/苯	82
1c		151-153	苯/乙腈	73

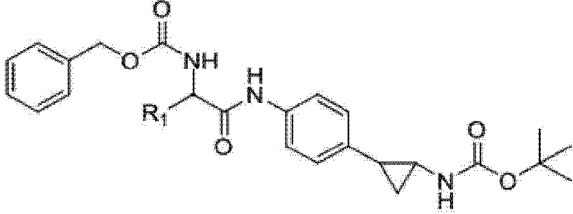
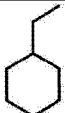
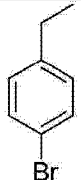
[0175]

2C), 134. 90, 136. 10, 136. 60, 137. 30, 155. 60, 155. 90, 172. 70; MS (ESI) m/z : 529. 26 $[M]^+$; $m.p.$ = 161-163° C

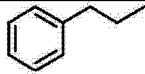
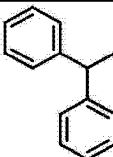
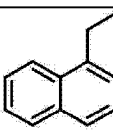
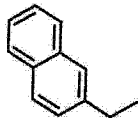
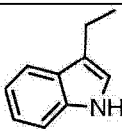
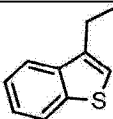
[0183] 根据上述过程用合适的试剂来制备以下化合物(表 3):

[0184] 表 3

[0185]

				
化合物	R ₁	熔点(°C)	重结晶溶剂	产率(%)
2a		油	-	62
2b		油	-	89
2c		油	-	50
2d		66-68	环己烷	68
2f		155-157	苯	73

[0186]

2g		98-100	环己烷/苯	50
2h		150-152	苯	77
2i		108-110	环己烷/苯	73
2j		186-188	乙腈	55
2k		143-145	苯	60
2l		142-144	苯	67
2m		115-117	环己烷/苯	62
3		148-150	苯	76
4		168-170	苯/乙腈	83

[0187] 实施例 5

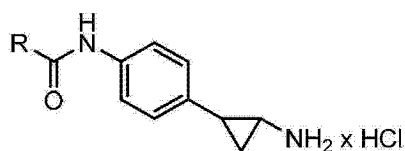
[0188] 制备反式 2-(4-芳酰基)氨基苯基环丙胺盐酸盐或者反式 2-(4-芳基乙酰基)氨基苯基环丙胺盐酸盐或者反式 2-(4-苄氧基羰基)氨基苯基环丙胺盐酸盐(5a-h):

[0189] 反式 4-(N-苄氧基羰基氨基酰基)氨基苯基环丙胺盐酸盐(6a-m);

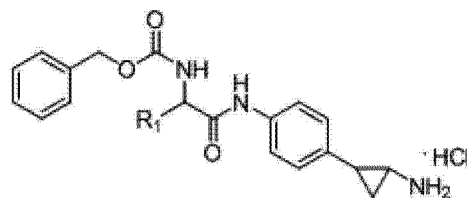
[0190] 反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸 4-溴苄基酯盐酸盐(7);

[0191] 顺式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯盐酸盐(8);

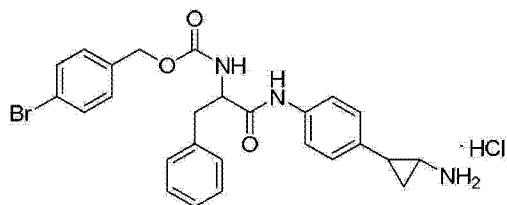
[0192]



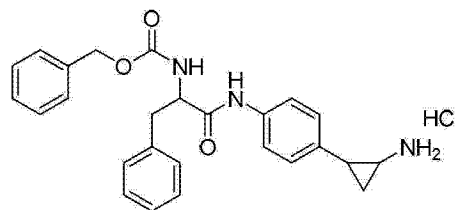
5a-h



6a-m



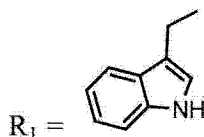
7



8

[0193] 反式 1-(4-(2-氨基环丙基)苯基氨基)-4-(1H-吡啶-3-基)-1-氧代丁-2-基氨基甲酸苄基酯盐酸盐(6I)

[0194]



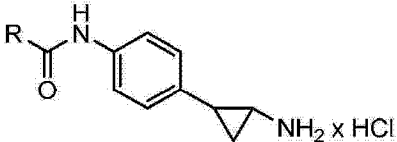
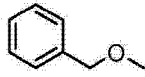
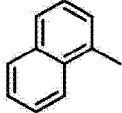
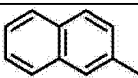
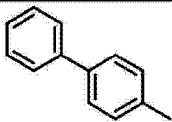
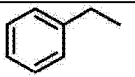
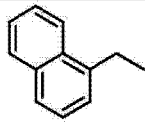
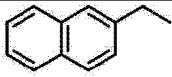
[0195] 将 6N 的 HCl 水溶液(2mL)加入到 2I (0.26mmol, 0.1g)的四氢呋喃(2mL)溶液中,将混合物在室温下搅拌 12 小时。滤出沉淀固体,用二乙醚清洗(3×10mL)并干燥得到纯 6I 无色固体。

[0196] ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1.15-1.17 (m, 1H, CHH 环丙烷), 1.34-1.36 (m, 1H, CHH 环丙烷), 2.27-2.29 (m, 1H, PhCH), 2.74-2.76 (m, 1H, CHNH₃Cl), 3.02-3.04 (dd, 1H, 吡啶-CHHCH), 3.13-3.15 (dd, 1H, 吡啶-CHHCH), 4.43-4.45 (m, 1H, 吡啶-CH₂CH), 4.97 (s, 2H, PhCH₂OCONH), 6.98-7.75 (m, 14H, 芳族质子), 8.33 (bs, 3H, NH₃Cl), δ 10.16 (bs, 1H, PhNHCO), 10.86 (bs, 1H, 吡啶-NH); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 400MHz, δ ; ppm) δ 14.0, 22.0, 27.80, 28.0, 59.50, 66.80, 109.70, 111.10, 118.80, 119.80, 121.0 (2C), 121.70, 123.0, 125.20 (2C), 127.10 (2C), 127.40, 127.60, 128.90 (2C), 134.90, 136.10, 136.50, 138.90, 155.90, 172.70; MS (ESI) m/z : 504.19 [M]⁺; m. p. $\geq 250^\circ\text{C}$

[0197] 根据上述过程用合适的试剂来制备以下化合物(表 4 和表 5):

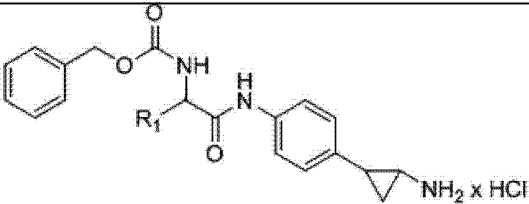
[0198] 表 4

[0199]

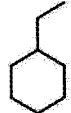
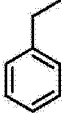
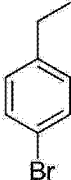
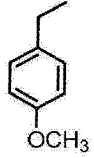
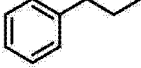
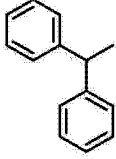
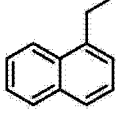
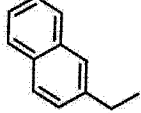
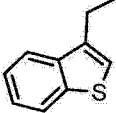
				
化合物	R	熔点(°C)	重结晶溶剂	产率(%)
5a		227-229	乙腈/甲醇	80
5b		210-212	乙腈/甲醇	83
5c		>250	甲醇	76
5d		>250	甲醇	81
5e		>250	甲醇	85
5f		180-182	乙腈	73
5g		240-242	乙腈/甲醇	78
5h		238-240	乙腈/甲醇	84

[0200] 表 5

[0201]

				
化合物	R ₁	熔点(°C)	重结晶溶剂	产率(%)
6a		168-170	苯/乙腈	75
6b		158-160	苯/乙腈	70

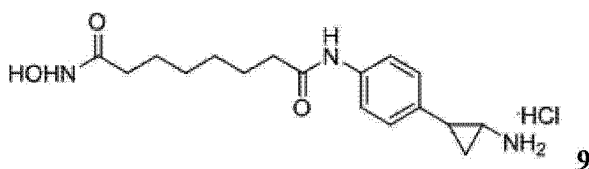
[0202]

6c		120-122	环己烷/苯	53
6d		135-137	环己烷/苯	68
6e		220-222	乙腈	72
6f		215-217	乙腈/甲醇	79
6g		173-175	苯/乙腈	57
6h		198-200	乙腈	76
6i		200-202	乙腈	66
6j		160-162	苯/乙腈	65
6k		156-158	苯/乙腈	68
6m		157-159	苯/乙腈	69
7		220-222	乙腈/甲醇	84
8		215-217	乙腈/甲醇	77

[0203] 实施例 6

[0204] 制备 N¹-(4-反式(2-氨基环丙基)苯基))-N⁸-羟基辛烷二酰胺盐酸盐(9)

[0205]



[0206] 步骤 a

[0207] 合成 8-(4-反式(2-叔-丁氧基羰基氨基环丙基)苯基氨基)-8-氧代辛酸甲酯。

[0208] 向反式 2-(4-氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(0.56mmol, 140mg)的干燥二氯甲烷(5mL)溶液中逐滴加入三乙胺(0.68mmol, 0.09mL)和 8-氯-8-氧代辛酸甲酯(0.564mmol, 0.08mL), 冰浴外部冷却。将所得混合物搅拌 1 小时, 然后加入水(50mL), 分离有机层并用二氯甲烷(2×30mL)对水性层进行萃取。最终的有机溶液用饱和氯化钠溶液清洗(3×50mL), 用无水硫酸钠干燥并浓缩。残留物用氧化硅凝胶色谱柱使用乙酸乙酯/氯仿=1/2 来洗脱纯化, 以得到纯化化合物 8-(4-反式(2-叔-丁氧基羰基氨基环丙基)苯基氨基)-8-氧代辛酸甲酯白色固体。

[0209] ^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1.12-1.15(m, 2H, CH_2 环丙烷), 1.37-1.39(m, 4H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 1.47(s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.63-1.65(m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 1.71-1.73(m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.00-2.02(m, 1H, PhCH), 2.30-2.35(m, 4H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.70-2.72(m, 1H, CHNH), 3.68(s, 3H, OCH_3), 4.88(bs, 1H, CHNHC(O)), 7.08-7.10(d, 2H, 芳族质子), 7.40-7.42(d, 2H, 芳族质子), 7.28(bs, 1H, PhNHCO); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 14.40, 22.80, 25.00, 25.60, 28.30(2C), 28.40(3C), 32.60, 33.60, 38.30, 51.90, 79.50, 121.00(2C), 125.20(2C), 134.90, 137.30, 155.60, 173.10, 179.80; MS(ESI)m/z: 418.24[M] $^+$

[0210] 步骤 b

[0211] 合成 8-(4-反式(2-叔-丁氧基羰基氨基环丙基)苯基氨基)-8-氧代辛酸。

[0212] 将上述 8-(4-反式(2-叔-丁氧基羰基氨基环丙基)苯基氨基)-8-氧代辛酸甲酯(0.53mmol, 220mg)和 LiOH(1.05mmol, 44mg)的四氢呋喃/水(5mL/5mL)溶液在室温下搅拌过夜。通过加入 2N HCl 直至 pH=4 来结束反应, 然后过滤沉淀物, 用水清洗(3×30mL)并干燥以得到纯 8-(4-反式(2-叔-丁氧基羰基氨基环丙基)苯基氨基)-8-氧代辛酸白色固体。

[0213] ^1H NMR($\text{DMSO}-d_6$, 400MHz, δ ; ppm) δ 0.98-1.00(m, 1H, CHH 环丙烷), 1.02-1.05(m, 1H, CHH 环丙烷), 1.24-1.29(m, 4H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 1.38(s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.48-1.50(m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 1.56-1.59(m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 1.82-1.84(m, 1H, PhCH), 2.17-2.19(m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.25-2.27(m, 2H, $\text{OCOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CON}$), 2.50-2.52(m, 1H, CHNH), 6.99-7.01(d, 2H, 苯质子), 7.20(bs, 1H, PhNHCO), 7.45-7.47(d, 2H, 苯质子), 9.76(bs, 1H, CHNHCO), 12.0(bs, 1H, COOH); ^{13}C NMR(CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 14.40, 22.80, 24.70, 25.60, 28.30(2C), 28.40(3C), 32.60, 34.00, 38.30, 79.50, 121.00(2C), 125.20(2C), 134.90, 137.30, 155.60, 178.00, 179.80; MS(ESI)m/z: 404.23[M] $^+$.

[0214] 步骤 c

[0215] 合成 N¹-(4-反式(2-氨基环丙基)苯基)-N⁸-羟基辛烷二酰胺盐酸盐(9)。

[0216] 将氯甲酸乙酯(0.384mmol, 0.04mL)和三乙基胺(0.42mmol, 0.06mL)加入到冷却的(0° C)8-(4-(2-叔-丁氧基羰基氨基环丙基)苯基氨基)-8-氧代辛酸(0.32mmol, 130mg)的干燥四氢呋喃(5mL)溶液中,然后将混合物搅拌10分钟。滤出固体,并向滤出液中加入0-(2-甲氧基-2-丙基)羟基胺(0.96mmol, 0.7mL)。将溶液在0° C搅拌15分钟,然后加入6N HCl溶液(10mL),再搅拌12小时。因此,对沉淀物进行过滤并用二乙醚清洗(3×10mL)以得到纯N¹-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-N⁸-羟基辛烷二酰胺盐酸盐(9)。

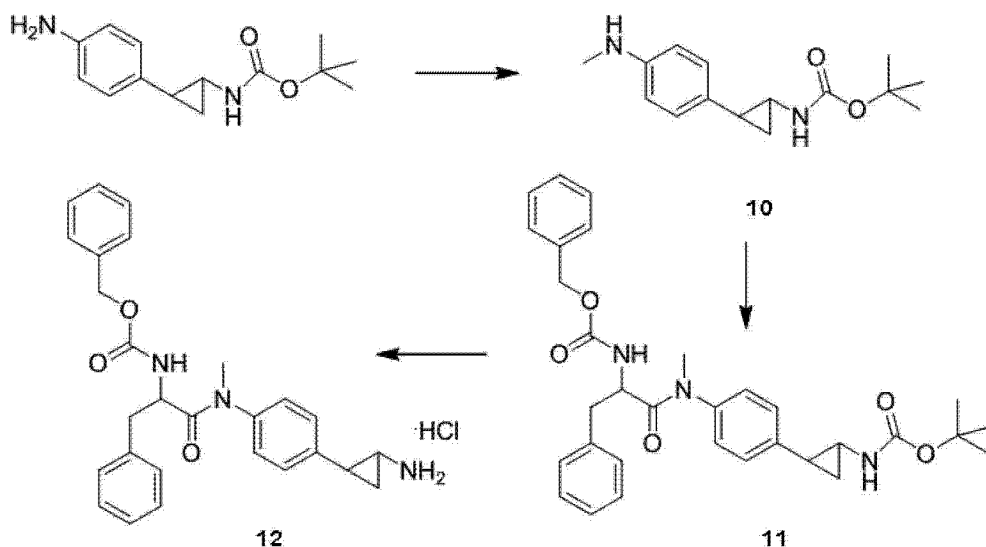
[0217] ¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ ;ppm) δ 1.15-1.17(m, 1H, CHH环丙烷), 1.28-1.26(m, 4H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1.34-1.36(m, 1H, CHH环丙烷), 1.49-1.51(m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1.52-1.56(m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 2.26-2.30(m, 4H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 2.70-2.72(m, 1H, PhCH), 3.06-3.05(m, 1H, CHNH₃Cl), 7.05-7.07(d, 2H, 芳族质子), 7.51-7.53(d, 2H, 芳族质子), 8.56(bs, 3H, NH₃Cl), 9.91(s, 1H, PhNHCO), 10.09(s, 1H, CONHOH), 12.0(bs, 1H, CONHOH); ¹³C NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 14.00, 22.00, 25.60(2C), 27.90(2C), 28.00, 32.50, 38.30, 121.00(2C), 125.20(2C), 134.90, 138.90, 169.90, 179.80;

[0218] MS(ESI)m/z: 320.19[M]⁺

[0219] 实施例7

[0220] 合成反式1-((4-(2-氨基环丙基)苯基)(甲基)氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯盐酸盐(12)

[0221]



[0222] 步骤a

[0223] 合成反式2-(4-甲基氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(10)。在0° C将甲醛(1.88mmol, 0.052mL)、氰基硼氢化钠(5.64mmol, 0.356g)和乙酸(0.2mL)加入到反式2-(4-氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯(1.88mmol, 467mg)的乙腈(5mL)溶液中。混合物在室温下搅拌1小时。加入水(50mL),用乙酸乙酯萃取混合物(3×50mL)。有机相与硫酸钠结合并干燥,然后在减压下去除溶剂。残留油用氧化硅凝胶色谱使用乙酸乙酯/正己烷=1/2来洗脱以得到化合物的黄色油;34%产率;¹H NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 1.05-1.12(d, 2H, 环丙烷质子), 1.46(s, 9H, C(CH₃)₃), 1.94-1.99(m, 1H, PhCHH), 2.65-2.66(dd, 1H, PhCHH), 2.83(s, 3H, NHCH₃), 3.62(bs, 1H, NHCH₃), 4.82-4.84(bs, 1H, NHC=O), 6.54-6.57(d, 2H, 芳族质子), 7.01-7.03(d, 2H, 芳族质子); ¹³C NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 14

. 40, 22. 80, 28. 40 (3C), 29. 60, 32. 60, 79. 50, 112. 90 (2C), 125. 80, 130. 1, 146. 40, 155. 60; MS (ESI) m/z : 262. 17 [M]⁺.

[0224] 步骤 b

[0225] 合成反式 2-[4-(N-甲基-N-苄氧基羰基苯基丙氨酰基)苯基]环丙基氨基甲酸叔丁酯(11)。

[0226] 在 N₂ 气氛下将三乙基胺(0. 61mmol, 0. 08mL)和 PyBOP (0. 18mmol, 0. 095g) 加入到 N-苄氧基羰基苯基丙胺酸(0. 15mmol, 0. 045g) 的干燥二甲基甲酰胺(2mL) 溶液中, 将混合物搅拌 0. 5 小时。在 N₂ 气氛下加入反式 2-(4-甲基氨基苯基)环丙基氨基甲酸叔丁酯 10 (0. 15mmol, 0. 041g), 混合物搅拌过夜。将反应物倒入水(30mL) 中, 并用乙酸乙酯萃取(3×30mL)。有机层用饱和氯化钠溶液清洗(3×30mL), 用无水硫酸钠干燥并浓缩。残留物用氧化硅凝胶色谱柱使用乙酸乙酯/氯仿= 1/5 来洗脱纯化以得到纯化合物无色油; 72% 产率; ¹H NMR(CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 1. 20-1. 25(m, 2H, CH₂ 环丙烷), 1. 46(s, 9H, C(CH₃)₃), 2. 07-2. 09(m, 1H, PhCH), 2. 74-2. 77(m, 1H, CHNH 环丙烷), 2. 89-2. 94(m, 1H, PhCHHCH), 3. 19(s, 3H, NCH₃), 4. 58-4. 60(m, 1H, PhCHHCH), 4. 92(bs, 1H, NHCOC(CH₃)₃), 5. 01(s, 2H, PhCH₂OCONH), 5. 48-5. 50(m, 1H, PhCHHCH), 6. 74(bs, 1H, NHCOCBn), 6. 93-6. 97(d, 2H, 芳族质子), 7. 00-7. 04(m, 2H, 芳族质子), 7. 08-7. 10(m, 2H, 芳族质子), 7. 20-7. 24(m, 3H, 芳族质子), 7. 33-7. 36(m, 5H, 芳族质子); ¹³C NMR(CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 14. 40, 22. 80, 28. 40(3C), 32. 60, 36. 1, 37. 60, 55. 90, 66. 80, 79. 50, 125. 20(2C), 125. 90, 127. 10(2C), 127. 60, 127. 70(2C), 128. 60(2C), 132. 9, 136. 1, 136. 6, 137. 3, 140. 8, 155. 6, 155. 9, 165. 0; MS (ESI) m/z : 543. 27 [M]⁺.

[0227] 步骤 c

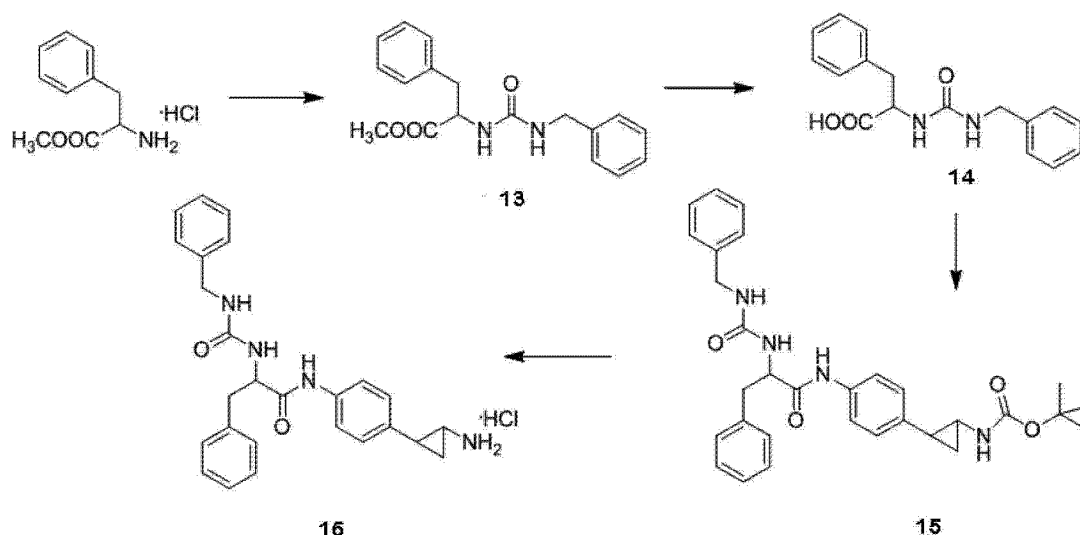
[0228] 合成反式 1-((4-(2-氨基环丙基)苯基)(甲基氨基)-1-氧代-3-苯基丙-2-基氨基甲酸苄基酯盐酸盐(12)。

[0229] 将 6N 的 HCl 溶液(2mL) 加入到反式 2-[4-(N-甲基-N-苄氧基羰基苯基丙氨酰基)苯基]环丙基氨基甲酸叔丁酯 11 (0. 26mmol, 0. 1g) 的四氢呋喃(2mL) 溶液中, 将混合物在室温下搅拌 12 小时。滤出沉淀固体, 用二乙醚清洗(3×10mL) 并干燥得到纯化合物白色固体; 82% 产率, m. p. 156-158° C, 重结晶溶剂: 苯; ¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ; ppm) δ 1. 25-1. 27(m, 1H, CHH 环丙烷), 1. 43-1. 45(m, 1H, CHH 环丙烷), 2. 65-2. 67(m, 1H, PhCH 环丙烷), 2. 68-2. 70(m, 1H, CHNH₃Cl 环丙烷), 2. 70-2. 72(m, 1H, PhCHHCH), 3. 14(s, 3H, NCH₃), 3. 34-3. 36(m, 1H, PhCHHCH), 4. 19-4. 22(m, 1H, PhCHHCH), 4. 94(s, 2H, PhCH₂OCONH), 6. 71-6. 74(m, 2H, 芳族质子), 7. 01-7. 32(m, 12H, 芳族质子), 7. 68(bs, 1H, NHCOCBn), 8. 53(bs, 3H, NH₃Cl); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ; ppm) δ 12. 1, 20. 5, 36. 1, 37. 6, 40. 3, 55. 9, 66. 8, 125. 2(2C), 125. 9, 127. 1(2C), 127. 6, 127. 7(2C), 128. 6(2C), 128. 9(2C), 132. 9, 136. 1, 136. 6, 137. 3, 155. 9, 165. 0, 140. 8; MS (ESI) m/z : 479. 19 [M]⁺.

[0230] 实施例 8

[0231] 合成反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(3-苄基脒基)-3-苯基丙酰胺盐酸盐(16)。

[0232]



[0233] 步骤 a

[0234] 合成 2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酸甲酯(13)。在 0° C 下将三乙基胺(1.86mmol, 0.26mL)和异氰酸苄酯(1.86mmol, 0.23mL)加入到苯丙氨酸甲基酯盐酸盐(0.93mmol, 0.2g)的四氢呋喃溶液中,将混合物搅拌 12 小时。将反应物倒入水(30mL)中并用乙酸乙酯萃取(5×30mL)。有机层用饱和氯化钠溶液清洗(3×30mL),用无水硫酸钠干燥并浓缩。残留物用氧化硅凝胶色谱柱使用乙酸乙酯/正己烷=1/2 来洗脱纯化,以得到纯化合物无色油,95% 产率;¹H NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 2.91-2.92(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 2.96-2.97(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 3.56(s, 3H, COOCH₃), 4.70-4.71(m, 1H, PhCHHCHCOO), 4.17-4.19(dd, 1H, PhCHHNHCONH), 4.22-4.24(dd, 1H, PhCHHNHCONH), 5.46(bs, 2H, NHCONH), 7.03-7.04(2H, 芳族质子), 7.17-7.25(m, 8H, 芳族质子);¹³C NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 36.3, 44.4, 51.9, 57.3, 125.9, 126.7, 126.9(2C), 127.7(2C), 128.5(2C), 128.6(2C), 136.6, 137.9, 157.9, 171.5;MS(ESI)m/z:312.14[M]⁺。

[0235] 步骤 b

[0236] 合成 2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酸(14)。将 2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酸乙酯 13 (2.66mmol, 0.83g)和 2N 氢氧化锂(5.32mmol, 0.22g)的乙醇(20mL)溶液在室温下搅拌过夜。通过加入 2N HCl 直至 pH=2 来结束反应,之后对沉淀物过滤,用水清洗(3×30mL)并干燥以得到纯 2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酸灰白色固体;95% 产率, m. p. 115-117° C; 重结晶溶剂:环己烷/苯;¹H NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 2.85-2.87(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 2.89-2.91(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 4.38-4.40(m, 1H, PhCHHCHCOO), 6.14-6.17(d, 1H, PhCHHNHCONH), 6.54-6.57(m, 1H, PhCHHNHCONH), 7.18-7.30(m, 10H, 芳族质子), 12.65(bs, 1H, COOH);¹³C NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ;ppm) δ 36.0, 44.4, 56.8, 125.9, 126.7, 126.9(2C), 127.7(2C), 128.5(2C), 128.6(2C), 136.6, 137.9, 157.6, 174.7;MS(ESI)m/z:298.32[M]⁺。

[0237] 步骤 c

[0238] 合成反式 2-[4-[2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酰基]氨基苯基]环丙基氨基甲酸叔丁酯(15)。在 N₂ 气氛下将三乙基胺(1.92mmol, 0.27mL)和 PyBOP (0.57mmol, 0.30g)加入到 2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酸(0.48mmol, 0.14g)的干燥二甲基甲酰胺(2mL)溶液中,将混合物搅拌 0.5 小时。在 N₂ 气氛下加入 (2-(4-氨基苯基)环丙基)氨基甲酸叔丁酯(0.52mmol, 0.13g),混合物搅拌过夜。将反应物倒入水(30mL)中,

并用乙酸乙酯萃取(3×30mL)。有机层用饱和氯化钠溶液清洗(3×30mL),用无水硫酸钠干燥并浓缩。残留物用氧化硅凝胶色谱柱使用乙酸乙酯/正己烷=1/1来洗脱纯化,以得到纯化合物15白色固体,70%产率;m.p. 100–102° C;重结晶溶剂:环己烷¹H NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ; ppm) δ 1.09–1.10(m, 1H, CHH环丙烷), 1.18–1.19(m, 1H, CHH环丙烷), 1.46(s, 9H, C(CH₃)₃), 2.30–2.31(m, 1H, PhCH环丙烷), 2.52–2.54(m, 1H, CHNH环丙烷), 2.98–3.00(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 3.01–3.02(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 4.18–4.20(m, 2H, PhCHHCHCOO), 4.27–4.28(m, 1H, PhCHHNHCONH), 4.89(bs, 1H, NHCOC(CH₃)₃), 4.92–4.94(d, 1H, PhCHHNHCONH), 6.05–6.07(m, 1H, PhCHHNHCONH), 6.75–6.77(m, 1H, PhCHHNHCONH), 6.90–6.94(d, 2H, 芳族质子), 7.10–7.27(m, 12H, 芳族质子), 9.23(bs, 1H, PhNHCOCH); ¹³C NMR(CDCl₃, 400MHz, δ ; ppm) δ 14.40, 22.80, 28.40(3C), 32.60, 36.90, 44.4, 59.0, 79.50, 121.0(2C), 125.20(2C), 125.90, 126.7, 126.9(2C), 127.70(2C), 128.5(2C), 128.60(2C), 134.90, 136.60, 137.3, 137.9, 155.6, 157.60, 172.70; MS(ESI)m/z: 528.27[M]⁺.

[0239] 步骤 d

[0240] 合成反式 N-(4-(2-氨基环丙基)苯基)-2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酰胺盐酸盐(16)。

[0241] 将6N的HCl水溶液(2mL)加入到反式2-[4-[2-(3-苄基脲基)-3-苯基丙酰基]氨基苯基]环丙基氨基甲酸叔丁酯(0.30mmol, 0.1g)的四氢呋喃(2mL)溶液中,将混合物在室温下搅拌12小时。滤出沉淀固体,用二乙醚清洗(3×10mL)并干燥得到纯化合物16白色固体;82%产率,m.p. 153–155° C,重结晶溶剂:苯;¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ ; ppm) δ 1.10–1.11(m, 1H, CHH环丙烷), 1.20–1.21(m, 1H, CHH环丙烷), 2.30–2.32(m, 1H, PhCH环丙烷), 2.43–2.45(m, 1H, CHNH₃Cl环丙烷), 2.91–2.92(dd, 1H, PhCHHCHCOO), 2.96–2.97(d, 1H, PhCHHCHCOO), 4.17–6.19(m, 1H, PhCHHNHCONH), 4.20–4.22(d, 1H, PhCHHNHCONH), 4.70–4.71(m, 1H, PhCHHCHCOO), 6.32–6.34(m, 1H, PhCHHNHCONH), 6.55–6.56(m, 1H, PhCHHNHCONH), 7.04–7.05(d, 2H, 芳族质子), 7.10–7.27(m, 10H, 芳族质子), 7.49–7.51(d, 2H, 芳族质子), 8.34(bs, 3H, CHNH₃Cl), 10.08(bs, 1H, PhNHCOCH); ¹³C NMR(DMSO-d₆, 400MHz, δ ; ppm) δ 12.1, 20.5, 36.9, 40.3, 44.4, 59.0, 121.0(2C), 125.9, 125.2(2C), 126.7, 126.9(2C), 127.7(2C), 128.5(2C), 128.6(2C), 134.9, 136.6, 137.3, 137.9, 157.6, 172.7; MS(ESI)m/z: 464.19[M]⁺.

[0242] 2. 生物学测试

[0243] 方法

[0244] 根据(Binda C等Proc.Natl.Acad.Sci.USA 100:9750–9755, 2003)中所公开的,对人重组MAO A和MAO B用巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)表达并纯化。根据公开的方法(Binda C等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 100:9750–9755, 2003)使用犬尿胺(MAO A)和苄胺(MAO B)作为底物在pH 7.5进行抑制试验和K_i值的测定。如(Karytin A等J. Biol. Chem. 284:17775–17782, 2009)所述,对鼠重组LSD2用大肠杆菌表达并纯化。对人重组LSD1/CoREST用大肠杆菌作为独立蛋白质表达并用之前所报告的方法(Forneris F等Trends Biochem Sci 33:181–189, 2008)进行共纯化。两种去甲基酶的酶活性和抑制试验使用甲基化H3肽在pH 7.5–8.0下进行(Forneris F, 等,

[0245] J. Biol. Chem. 282:20070–20074 2007, Karytin A, 等,

[0246] J. Biol. Chem. 284:17775-17782, 2009)。

[0247] 通过过氧化物酶偶联试验在 25° C 使用不饱和底物浓缩物对化合物的酶活性的潜在效果进行筛选。将化合物(最终浓度范围 25 μ M 至 150 μ M, 取决于溶解度)存在时测定的表观 k_{cat} 值与不存在测试化合物时的参考试验中的表观 k_{cat} 值进行比较, 见表 6。

[0248] 在 pH 为 7.5 的 50mM Hepes/NaOH 中使用 Lys4 单甲基化的组蛋白 H3 肽作为底物进行 LSD1 活性试验。在 pH 为 8.0 的 50mM Hepes/NaOH 中使用 Lys4 二甲基化的底物组蛋白 H3 肽测定 LSD2 的活性, 见表 6。通过分别使用犬尿胺和苄胺作为底物在 pH 为 7.5 的 50mM Hepes/NaOH、0.5%(v/v) 还原的曲通(Triton) X-100 中, 进行 MAO A 和 MAO B 的试验, 见表 6。

[0249] 用不同浓度的 6e 对 NB4 细胞进行处理(图 1)。将 6e 和视黄酸(RA, Sigma 公司)以 1000X 浓度溶解在 DMSO 中。NB4 细胞在 RPMI 介质中生长, 补充有 10%FBS、100U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素, 并保持在 37° C、10%O₂ 和 5%CO₂ 的湿化培养箱中。细胞密度为 150,000/ml, 在存在或不存在 2 μ M 6e 的情况下用 RA (10nM、100nM 和 1 μ M) 进行处理。在运载体处理的细胞中, 加入的 DMSO 的最终浓度为 0.2%。在每个时间点(2 天、4 天以及 7 天), 收集细胞用台盼蓝溶液进行染色并用血细胞计数器计数。仅计算活细胞。与此同时, 将细胞旋涂在载玻片上, 空气干燥并用 May Grunwald-Giemsa 法进行染色。

[0250] 结果

[0251] 反苯环丙胺是 MAO 和 LSD 的共价抑制剂, 其粘合导致了易于测定的蛋白质结合的黄素吸光度的漂白(Li M, Hubalek F, Restelli N, Edmondson DE, Mattevi A, “Insights into the mode of inhibition of human mitochondrial monoamine oxidase B from high-resolution crystal structures”(从高分辨率晶体结构研究人线粒体单胺氧化酶 B 的抑制模式)Proc Natl Acad Sci USA100:9750-9755, 2003; Schmidt DM, McCafferty DG, “trans-2-Phenylcyclopropylamine is a mechanism-based inactivator of the histone demethylase LSD1”(反-2-苯基环丙基胺是组蛋白去甲基酶 LSD1 的基于机制的失活剂)Biochemistry 46:4408-4416, 2007; Karytinis A, Forneris F, Profumo A, Ciossani G, Battaglioli E, Binda C, Mattevi A, “A novel mammalian flavin-dependent histone demethylase”(新型哺乳动物的基于黄素的组蛋白去甲基酶)J Biol Chem 284:17775-17782, 2009)。所述特性为本发明的反苯环丙胺衍生物的快速和高效筛选提供了方法。通过测定对于酶活性的作用进一步评估了每种化合物, 见表 6。对于选定化合物计算的 Ki 值见表 7。

[0252] 表 6: 本发明的代表性化合物的活性概况

[0253]

化合物	LSD1 ^{a, b}	LSD2 ^{a, b}	MAO A ^{a, c}	MAO B ^{a, c}
5a	+	+	+	+
5b	+	+	+	+
5c	+	+	+	+

5d	+	+	+	+
5e	-	-	+	-
5f	+	+	+	+
5g	+	+	+	+
5h	+	+	+	-
6a	+	+	+	-
6b	+	+	+	-
6c	+	+	+	-
6d	+	+	+	-
6e	+	+	+	-
6f	+	ND	ND	ND
6g	+	+	+	-
6h	+	+	+	-
6i	+	+	+	-
6j	+	+	+	-
6k	-	-	-	-
6l	+	+	+	-
6m	+	+	+	-
7	+	+	+	-
8	+	+	+	-
9	+	+	ND	+
12	+	+	+	-
16	+	+	+	+

[0254] ^a 没有抑制表示为“-”，抑制表示为“+”。用于抑制研究的最大抑制剂浓度是 1mM 或者对于抑制剂 <1mM 溶解度为相应的抑制剂饱和的溶液的浓度。

[0255] ^b 在 pH 7.5 的 50mM Hepes/NaOH 中使用 Lys4 单甲基化的组蛋白 H3 肽作为底物进行 LSD1 活性试验。在 pH 8.0 的 50mM Hepes/NaOH 中使用 Lys4 二甲基化的底物组蛋白 H3 肽测定 LSD2 的活性。

[0256] ^c 通过分别使用犬尿胺和苄胺作为底物在 pH 为 7.5 的 50mM Hepes/NaOH、0.5%(v/v) 还原的曲通 X-100 中,进行 MAO A 和 MAO B 的试验。

[0257] 表 7:选定的本发明的化合物对于 LSD1、LSD2 和单胺氧化酶的抑制。

[0258]

化合物	LSD1 ^{a,b} Ki (μM)	LSD2 ^{a,b} Ki (μM)	MAO A ^{a,c} Ki (μM)	MAO B ^{a,c} Ki (μM)
5a	1.9 μM	20	0.5	7.4
5b	1.1	61	2.3	3.5
6e	1.3	38.0	12.5 ^c	没有抑制 ^d
6l	40	12	49	没有抑制 ^d
7	3.3	ND	ND	没有抑制 ^d
8	2.1	20	4.0	没有抑制 ^d
12	34	ND	19	没有抑制 ^d
16	18	ND	ND	ND

[0259] ^a 在 25° C 使用过氧化物酶偶联试验测定酶活性。Ki 的测定误差在其值的 30% 之内;ND,未测定。通过稳态竞争实验测定 Ki 值。不可逆抑制的缓慢速度使得可以通过普通的稳态方法来进行这些实验。

[0260] ^b 在 pH 7.5 的 50mM Hepes/NaOH 中使用 Lys4 单甲基化的组蛋白 H3 肽作为底物进行 LSD1 活性试验。在 pH 8.0 的 50mM Hepes/NaOH 中使用 Lys4 二甲基化的底物组蛋白 H3 肽测定 LSD2 的活性。

[0261] ^c 通过分别使用犬尿胺和苄胺作为底物在 pH 为 7.5 的 50mM Hepes/NaOH、0.5%(v/v) 还原的曲通 X-100 中,进行 MAO A 和 MAO B 的试验。

[0262] ^d 对应于抑制剂饱和溶液,在最大测试浓度下没有发现抑制。

[0263] ^e 使用改进的 MAO A 制剂对 Ki 进行重新测定,导致其与 Binda C 等 J. Am. Chem. Soc. 132:6827-6833, 2010 中公布的值有略微不同。

[0264] 对化合物 6e 进一步评估了其对于 NB4 细胞的生物学活性(图 1)。用不同浓度的 6e 对 NB4 细胞进行处理。令人感兴趣的是,尽管 6e 本身没有效果,但是其可以强烈地增强 RA 的分化作用。这是在低至 10nM 的 RA 浓度观察到的,当不存在 6e 时,这几乎是完全无效的。如图 1 的代表性细胞涂片(cytospin)所示,在所有测试的剂量下 RA 和 6e 的结合协同地抑制了细胞生长并导致增强的分化。当测定对于 NB4 细胞的诱导细胞凋亡能力时显示出了类似的效果。6e 的作用是增强视黄酸诱导凋亡的功效。

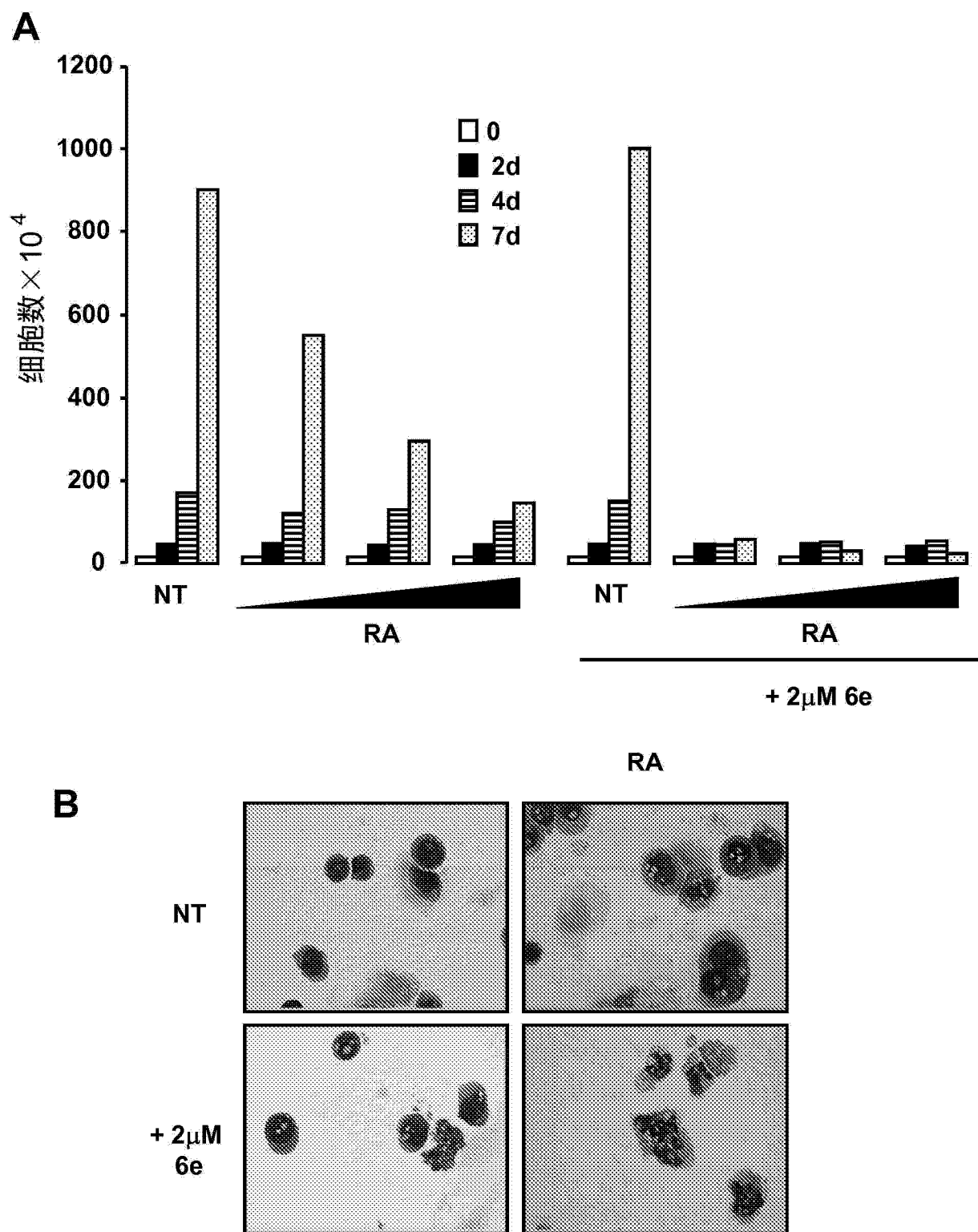


图 1

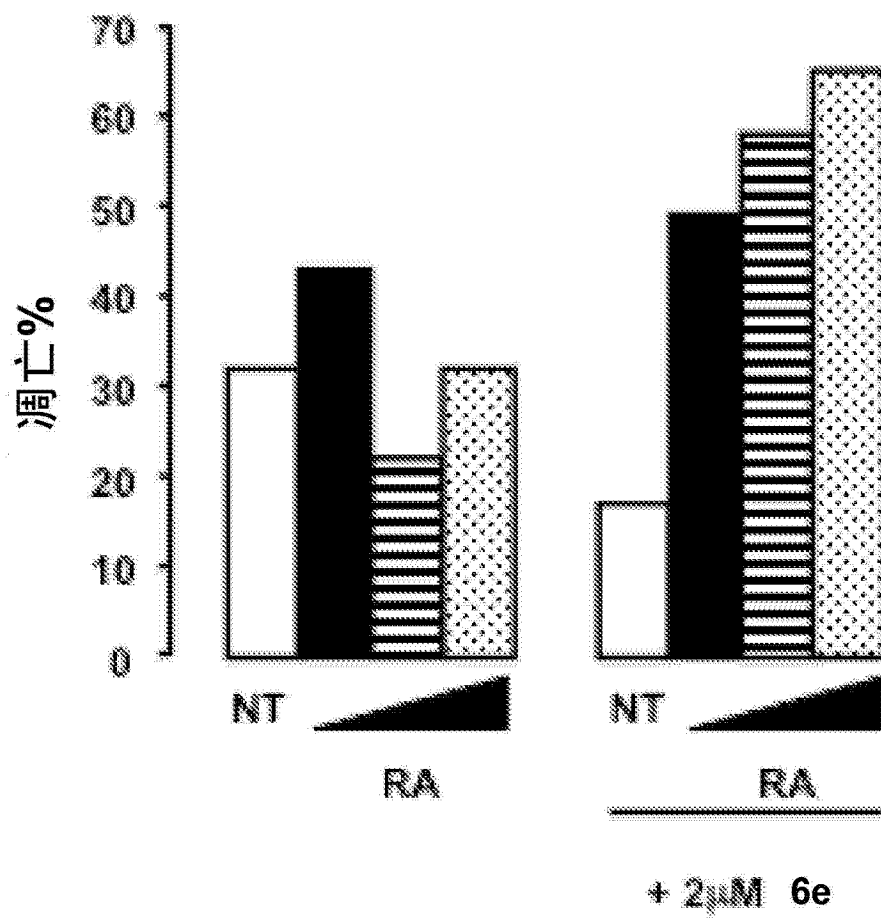


图 2