

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 352**

51 Int. Cl.:

C07C 233/43	(2006.01)	A61K 31/381	(2006.01)
C07C 233/44	(2006.01)	A61P 35/00	(2006.01)
C07C 233/80	(2006.01)	A61P 31/12	(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)		
A61K 31/325	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2011 E 11716208 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.12.2015 EP 2560949**

54 Título: **Derivados de tranilcipromina como inhibidores de la histona-desmetilasa LSD1 y/o LSD2**

30 Prioridad:

20.04.2010 US 325952 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.03.2016

73 Titular/es:

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "LA SAPIENZA" (25.0%)
Piazzale Aldo Moro, 5
00185 Roma, IT;
FONDAZIONE IEO (25.0%);
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA (25.0%) y
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO (25.0%)**

72 Inventor/es:

**MINUCCI, SAVERIO;
MAI, ANTONELLO y
MATTEVI, ANDREA**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 564 352 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de tranilcipromina como inhibidores de la histona-desmetilasa LSD1 y/o LSD2

5 **Campo de la invención**

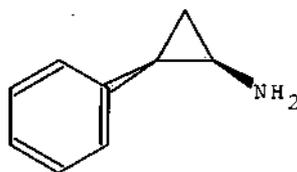
La presente invención se refiere a derivados de tranilcipromina y a su uso como agentes terapéuticos, en particular para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades y afecciones asociadas a la actividad de las histona-desmetilasas LSD1 y LSD2, tales como las enfermedades caracterizadas por la desregulación de la transcripción
10 génica, la diferenciación celular y la proliferación, por ejemplo, tumores, infecciones virales. La invención también se refiere a la preparación de estos compuestos, así como a composiciones que los contienen y al uso terapéutico de los mismos.

15 **Antecedentes de la invención**

Las alteraciones de los estados estructurales y funcionales de la cromatina están implicadas en la patogenia de una diversidad de enfermedades. Los procesos bioquímicos y enzimáticos que catalizan la inserción y eliminación de las modificaciones postraduccionales de los nucleosomas se han convertido en objeto de investigación como posibles dianas para las denominadas terapias epigenéticas (Urduingio RG, Sánchez-Mut JV, Esteller M. *Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. Lancet Neurol.* 8: 1056-1072, 2009). El descubrimiento de un número creciente de histona-desmetilasas ha destacado la naturaleza dinámica de la regulación de la metilación de las histonas, una modificación de la cromatina clave que está implicada en la regulación del genoma y los genes eucariotas. Las histona-lisina-desmetilasas representan dianas muy atractivas para los fármacos epigenéticos y están ganando atención creciente. Una lisina puede estar mono-, di- y trimetilada.
20 Cada modificación en el mismo aminoácido puede ejercer específicamente diferentes efectos biológicos. El reciente descubrimiento de histona-lisina-desmetilasas ha puesto de manifiesto dos tipos de mecanismos enzimáticos (Anand R, Marmorstein R. *Structure and mechanism of lysinespecific demethylase enzymes. J. Biol. Chem.* 282: 35425-35429, 2007). Las enzimas dependientes de hierro pueden desmetilar cadenas laterales de lisina en los tres estados de metilación y muchos desmetilasas de esta familia ahora se han caracterizado. A la inversa, la química oxidativa que refuerza la función de las histona-desmetilasas dependientes de flavina hace imposible que estas
30 enzimas actúen sobre una lisina trimetilada y restringe su actividad sobre sustratos mono- y dimetilados.

Los mamíferos contienen dos desmetilasas flavoenzimáticas: LSD1 y LSD2. La LSD1 fue la primera histona-desmetilasa descubierta y normalmente (pero no siempre) se asocia a la proteína co-represora CoREST. LSD1/CoREST puede asociarse a las histona-desacetilasas 1/2 (HDAC1/2) formando una unidad multienzimática que es reclutada por muchos complejos de cromatina que normalmente están implicados en la regulación de la represión génica (Ballas N, *et al. Regulation of neuronal traits by a novel transcriptional complex. Neuron.* 31: 353-365, 2001). La LSD1 borra los grupos metilo de la mono- y dimetil Lys4 de la histona H3, que es una marca de activación génica bien caracterizada. La enzima es una diana interesante para fármacos epigenéticos como se sugiere por su sobreexpresión en tumores sólidos (Schulte JH, *et al. Lysine-specific demethylase 1 is strongly expressed in poorly differentiated neuroblastoma: implications for therapy. Cancer Res* 69: 2065-2071, 2009), su papel en diversos procesos de diferenciación (Hu X, *et al. LSD1-mediated epigenetic modification is required for TAL1 function and hematopoiesis. Proc Natl Acad Sci USA* 106: 10141-10146, 2009), su implicación en la infección por el virus del herpes (Gu H, Roizman B. *Engagement of the lysine-specific demethylase/HDAC1/CoREST/REST complex by herpes simplex virus 1. J Virol* 83: 4376-4385, 2009) y su asociación a HDAC1, una diana farmacológica validada. La LSD2 es una desmetilasa descubierta más recientemente que, como la LSD1, muestra una especificidad estricta para la Lys4 mono- y dimetilada de H3. Sin embargo, se propone que la biología de la LSD2, que sigue caracterizada solo parcialmente, difiere de la de la LSD1 ya que la LSD2 no se une CoREST y no se ha descubierto hasta ahora en ningún complejo proteínico que contenga LSD1 (Karytinos A, *et al. A novel mammalian flavindependent histone demethylase. J Biol Chem* 284: 17775-17782, 2009).
50

La LSD1 y la LSD2 son proteínas multidominio que comparten un dominio catalítico similar (45 % de identidad de secuencia) que es estructuralmente homólogo con las monoamina-oxidasas (MAO) A y B. La tranilcipromina, (\pm)-*trans*-2-fenilciclopropil-1-amina (TPCPA), un inhibidor de la MAO utilizado como fármaco antidepresivo, también es capaz de inhibir la LSD1 (Schmidt DM, Mc-Cafferty DG *trans*-2-Fenilciclopropilamina is a mechanism-based inactivator of the histone demethylase LSD1. *Biochemistry* 46: 4408-4416, 2007).
55



tPCPA

5 Gooden *et al.* (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 18, 3047-3051, 2008) describe una vía de síntesis para *trans*-2-
 arilciclopropilaminas sustituidas como inhibidores de la LSD1 y de las MAO. Estos derivados son más de 10 veces
 más eficientes en la inhibición de la MAO A y B que de la LSD1.

Culhane *et al.* (*J. Am. Chem. Soc.* 132, 3164-3176, 2010) se refiere a la hidrazina que contiene el inhibidor de la
 MAO fenelzina como un inhibidor de la LSD1 de molécula pequeña.

10 El documento WO 2010011845 describe un método de tratamiento de una infección viral de un hospedador,
 mediante la administración al hospedador un inhibidor de la proteína LSD1 (una molécula de ARNi) y/o un inhibidor
 de la monoamina-oxidasa, por ejemplo, tranilcipromina.

15 El documento EP 1693062 se refiere al uso de al menos un ARNi ("ARN de interferencia corto") y al menos un
 anticuerpo anti-LSD1, también en combinación con un inhibidor de la monoamina-oxidasa, por ejemplo,
 tranilcipromina, para modular la actividad de la LSD1 y controlar la expresión génica dependiente del receptor de
 andrógenos.

20 Los documentos WO 2010/043721, WO 2010/084160 y WO 2010/143582, WO 2011/035941 que se publicaron
 después de la fecha de prioridad de la presente solicitud, desvelan derivados de fenilciclopropilamina capaces de
 inhibir selectivamente la función de la LSD1. Ninguno de los compuestos desvelados está en la presente invención.

25 Por tanto, existe una necesidad de identificar moléculas pequeñas como inhibidores potentes y selectivos de la
 histona-desmetilasa LSD1 y/o LSD2, que son útiles en la prevención o la terapia de enfermedades y afecciones
 asociadas a la actividad de las histona-desmetilasas.

30 Los compuestos de la presente invención son moléculas pequeñas dotadas de una potente actividad inhibidora de
 histona-desmetilasas, que son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades en las que se observa la
 desregulación de la transcripción génica, la diferenciación celular y la proliferación, por ejemplo, tumores, infecciones
 virales.

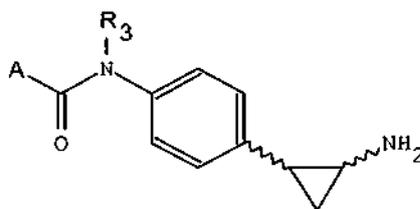
Descripción de la invención

35 La presente invención se refiere a compuestos que están dotados con actividad inhibidora de las histona-
 desmetilasas LSD1 y/o LSD2 y que son útiles en la prevención o la terapia de enfermedades y afecciones asociadas
 a la actividad de las histona-desmetilasas LSD1 y/o LSD2. La invención también se refiere a métodos de
 preparación de dichos compuestos, a composiciones que los contienen y al uso terapéutico de los mismos.

40 La invención descubrió que los derivados de tranilcipromina de fórmula general (I), y los derivados de los mismos,
 están dotados de actividad inhibidora de histona-desmetilasas.

45 Todos los términos como se usan en el presente documento, en la presente solicitud, a menos que se indique lo
 contrario, deberán entenderse en su significado habitual como se conoce en la técnica. Otras definiciones más
 específicas para determinados términos como se usan en la presente solicitud son como se exponen a continuación
 y se pretende que se apliquen de manera uniforme en toda la memoria descriptiva y las reivindicaciones a menos
 que una definición expuesta expresamente de otra manera proporcione una definición más amplia.

Por tanto, es un objeto de la invención un compuesto de fórmula (I)



(I)

en la que:

- 5 **A** es R o $\text{CH}(\text{R}_1)-\text{NH}-\text{CO}-\text{R}_2$;
R y R₂ se seleccionan entre: alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilalquilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilalquilo, cicloalquilalquilamino, arilalquilamino, heteroarilalquilamino, heterocicloalquilalquilamino;
 10 **R₁** se selecciona entre: alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilalquilo;
R₃ es H, alquilo C₁-C₆;

15 así como sus isómeros, tautómeros, formas racémicas, enantiómeros, diastereómeros, epímeros, solvatos, las mezclas de los mismos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

El término "alquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada totalmente saturada lineal o ramificada saturada que tiene de uno a 10 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, t-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo y similares. "alquilo C₁-C₆" significa que contiene de uno a seis átomos de carbono.

El término "alquenilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que tiene de dos a diez átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etenilo, 2-propenilo, isobutenilo y similares.

El término "alquinilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada que tiene de dos a diez átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 2-propinilo, isobutinilo y similares.

30 El término "cicloalquilo" se refiere a cualquier sistema de anillo carbocíclico no aromático de 1 o 2 restos de anillo. Un grupo cicloalquilo puede tener uno o más dobles enlaces carbono-carbono en el anillo siempre que el anillo no se convierta en aromático por su presencia. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos cicloalquilo (C₃-C₇), tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo y terpenos cíclicos y bicíclicos saturados y grupos cicloalqueno (C₃-C₇), tales como ciclopropenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo y cicloheptenilo y terpenos cíclicos y bicíclicos insaturados.

El término "arilo" se refiere a cualquier sistema de anillo carbocíclico aromático de 1 o 2 restos de anillo, ya sea condensados o unidos entre sí a través de un enlace simple. Los grupos arilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, fenilo, α - o β -naftilo, bifenilo, indanilo, indenilo y similares.

El término "heteroarilo" se refiere a anillos aromáticos monocíclicos o policíclicos que comprenden átomos de carbono y uno o más heteroátomos, preferentemente, de 1 a 3 heteroátomos, seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Como es bien sabido por los expertos en la materia, los anillos heteroarilo tienen menos naturaleza aromática que sus homólogos completamente de carbono. Por tanto, para los fines de la invención, un grupo heteroarilo solo necesita tener cierto grado de naturaleza aromática. Los ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, furilo, benzofuranilo, benzodioxolilo, tienilo, benzotiofenilo, piridinilo, piridil-N-óxido, pirimidinilo, piridazinilo, pirazinilo, pirazolilo, oxazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, quinolilo, (1,2,3)- y (1,2,4)-triazolilo, tetrazolilo, triazinilo, pirrolilo, imidazolilo, imidazo[1,2-a]piridin-3-ilo, indazolilo, isotiazolilo, indolilo, benzoimidazolilo, benzotriazolilo, benzoxazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo y similares. El término "heterocicloalquilo" se refiere a un anillo monocíclico o policíclico no aromático que comprende átomos de carbono e hidrógeno y al menos un heteroátomo, preferentemente, de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Un grupo heterocicloalquilo puede tener uno o más dobles enlaces carbono-carbono o dobles enlaces carbono-heteroátomos en el anillo siempre que el anillo no se convierta en aromático por su presencia. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, aziridinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, tiazolidinilo, oxazolidinilo, tetrahidrotienilo, dihidrofuranilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofuranilo, tetrahidropiranilo, pirazolidinilo, 1,3-dioxolanilo, pirrolidinilo, piranilo, dihidropiranilo, isoxazolidinilo, imidazolidinilo y similares. Un grupo

heterocicloalquilo puede estar sin sustituir o sustituido con uno o dos sustituyentes.

El término "cicloalquilalquilo" se refiere al grupo -O-(alquil)-(cicloalquilo), en el que el cicloalquilo y el alquilo se han definido anteriormente.

5 El término "arilalquilo" se refiere al grupo -O-(alquil)-(arilo), en el que el arilo y el alquilo se han definido anteriormente.

10 El término "heteroarilalquilo" se refiere al grupo -O-(alquil)-(heteroarilo), en el que el heteroarilo y el alquilo se han definido anteriormente.

El término "heterocicloalquilalquilo" se refiere al grupo -O-(alquil)-(heterocicloalquilo), en el que el heterocicloalquilo y el alquilo se han definido anteriormente.

15 El término "cicloalquilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo cicloalquilalquilo, en el que el alquilo y el cicloalquilalquilo se han definido anteriormente.

El término "arilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo, en el que el alquilo y el arilo se han definido anteriormente.

20 El término "heteroarilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo heteroarilo, en el que el alquilo y el heteroarilo se han definido anteriormente.

25 El término "heterocicloalquilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo heterocicloalquilo, en el que el alquilo y el heterocicloalquilo se han definido anteriormente.

El término "cicloalquilalquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo cicloalquilalquilo, como se define en el presente documento.

30 El término "arilalquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo arilalquilo, como se define en el presente documento.

El término "heteroarilalquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo heteroarilalquilo, como se define en el presente documento.

35 El término "heterocicloalquilalquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo heterocicloalquilalquilo, como se define en el presente documento.

40 Cualquiera de los grupos alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo anteriores puede estar opcionalmente sustituido adicionalmente en cualquiera de sus posiciones libres por uno o más grupos, por ejemplo de 1 a 6 grupos, seleccionados entre: halógeno, carboxi, ciano, alquilo, alquilo polifluorado, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquil-heteroarilo, heteroaril-alquilo, amino-alquilo, grupos amino y derivados de los mismos, tales como, por ejemplo, alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, ureido, alquilureido o arilureido; grupos carbonilamino y derivados de los mismos, tales como, por ejemplo, formilamino, alquilcarbonilamino, alquenilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxycarbonilamino; grupos hidroxilo y derivados de los mismos, tales como, por ejemplo, alcoxi, alcoxi polifluorado, ariloxi, heteroariloxi, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi o cicloalquiloxi; grupos carbonilo y derivados de los mismos, tales como, por ejemplo, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcoxycarbonilo, ariloxycarbonilo, cicloalquiloxycarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, ácido hidroxámico; derivados sulfurados, tales como, por ejemplo, alquiltio, ariltio, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, arilsulfonilo, aminosulfonilo, alquilaminosulfonilo o dialquilaminosulfonilo.

A su vez, cuando sea apropiado, cada uno de los sustituyentes anteriores puede estar sustituido adicionalmente por uno o más de los grupos anteriormente mencionados.

55 El término "halógeno" se refiere a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "alcoxi" se refiere al grupo -O-(alquilo), en el que el alquilo se ha definido anteriormente.

60 Las expresiones "alquilo polifluorado" o "alcoxi polifluorado" se refieren a cualquier grupo alquilo C₁-C₆ o alcoxi lineal o ramificado como se ha definido anteriormente, en el que más de un átomo de hidrógeno está reemplazado por átomos de flúor, tal como, por ejemplo, trifluorometilo, trifluorometoxi, 2,2,2-trifluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetoxi, 1,2-difluoroetilo, 1,1,1,3,3,3-hexafluoropropil-2-ilo y similares.

65 A partir de todo lo anterior, es evidente para el experto que cualquier grupo cuyo nombre se ha identificado como un nombre compuesto tal como, por ejemplo, alquilheteroarilo, alquiltio, ariltio, amino-alquilo, alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, alquilureido, arilureido, alquilcarbonilamino, alquenilcarbonilamino, arilcarbonilamino, ariloxi,

A es $\text{CH}(\text{R}_1)\text{-NH-CO-R}_2$; preferentemente, independientemente o en cualquier combinación:

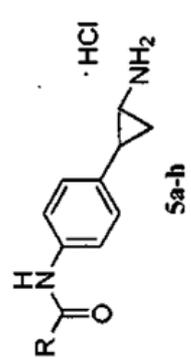
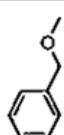
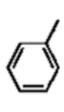
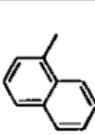
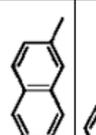
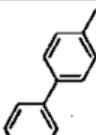
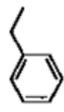
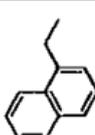
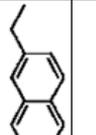
R_1 es alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido;

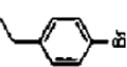
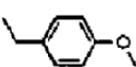
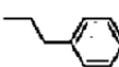
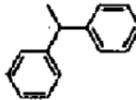
5 R_2 es arilalquilo, heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido; así como sus isómeros, tautómeros, formas racémicas, enantiómeros, diastereómeros, epímeros, solvatos, las mezclas de los mismos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

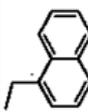
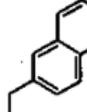
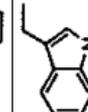
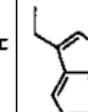
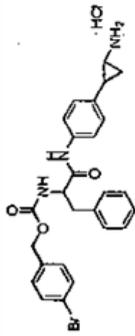
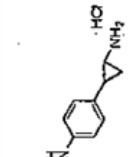
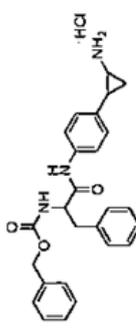
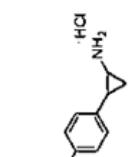
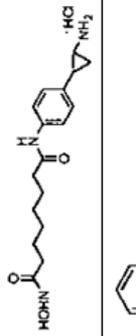
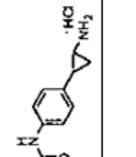
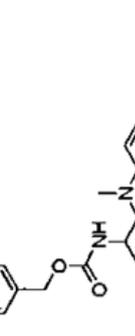
10 Para una referencia a cualquier compuesto específico de fórmula (I) de la invención, opcionalmente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, véase la siguiente sección experimental.

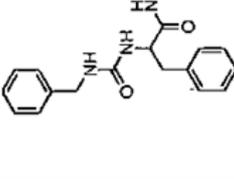
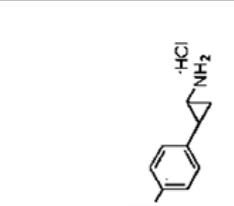
Se muestran ejemplos específicos, no limitantes, de compuestos de fórmula (I) en la siguiente tabla (Tabla 1):

Tabla 1

Compuesto	Código de laboratorio			R ₁	Nombre (todos como clorhidratos)
		R			
5a	MC2574		-	<i>trans</i> 4-(2-aminociclopropil)fenilcarbamato de bencilo	
5b	MC2584		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)benzamida	
5c	MC2634		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-1-naftamida	
5d	MC2653		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-naftamida	
5e	MC2652		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)bifenil-4-carboxamida	
5f	MC2639		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-fenilacetamida	
5g	MC2645		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(naftalen-1-il)acetamida	
5h	MC2646		-	<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(naftalen-2-il)acetamida	
6a	MC2707	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo	

Compuesto	Código de laboratorio	R	R ₁	Nombre (todos como clorhidratos)
6b	MC2663	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-ilcarbamato de bencilo
6c	MC2708	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-ciclohexil-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo
6d	MC2633	-		<i>trans</i> 2-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-2-oxo-1-feniletlicarbamato de bencilo
6e	MC2580	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo
6f	MC2764	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(4-bromofenil)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo
6g	MC2632	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo
6h	MC2662	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-4-fenilbutan-2-ilcarbamato de bencilo
6i	MC2698	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3,3-difenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo

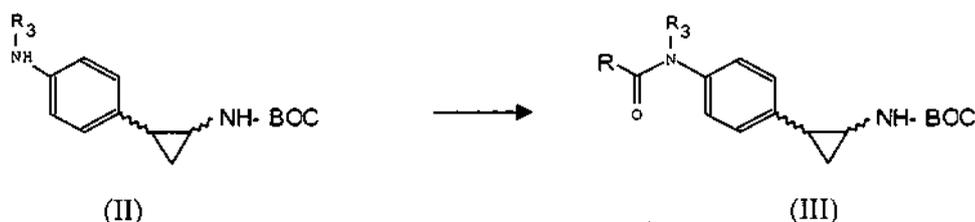
Compuesto	Código de laboratorio	R	R ₁	Nombre (todos como clorhidratos)
6j	MC2687	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(naftalen-1-il)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo
6k	MC2688	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(naftalen-2-il)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo
6l	MC2581	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-(1H-indol-3-il)-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo
6m	MC2699	-		<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-(benzo[b]tiofen-3-il)-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo
7	MC2765			<i>trans</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de 4-bromobencilo
8	MC2829			<i>cis</i> 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo
9	MC2575			<i>trans</i> N ¹ -(4-(2-aminociclopropil)fenil)-N ⁶ -hidroxiocianodiamida
12	MC3043			<i>trans</i> 1-((4-(2-aminociclopropil)fenil)(metil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo

Compuesto	Código de laboratorio	R	R ₁	Nombre (todos como clorhidratos)
16	MC3020			<i>trans</i> N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanamida

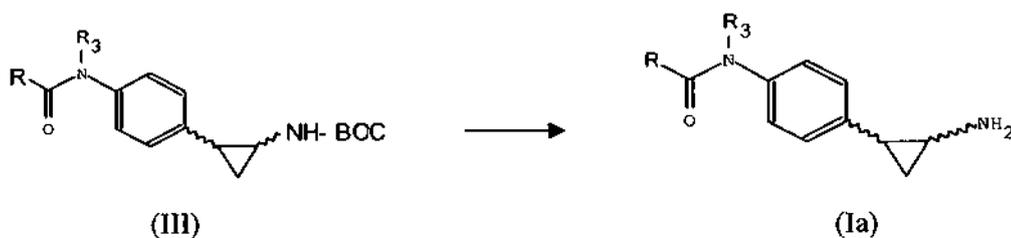
Los isómeros, tautómeros, formas racémicas, enantiómeros, diastereómeros, solvatos, las mezclas y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de los compuestos descritos en la Tabla 1 están todavía dentro del alcance de la invención.

- 5 La presente invención también se refiere a procesos para la preparación de un compuesto de fórmula general (I), como se ha definido anteriormente y de sales farmacéuticamente aceptables, de acuerdo con los siguientes métodos (Método A y Método B), que pueden realizarse de acuerdo con métodos bien conocidos para un experto en la materia. Algunos de los procesos que pueden usarse se describen a continuación y se presentan en los Esquemas y no deben verse como limitantes del alcance de los métodos de síntesis disponibles para la preparación de los compuestos de la invención. Los siguientes procesos se proporcionan con fines representativos. Dependiendo de la naturaleza de los compuestos de fórmula (I) que se vayan a obtener, las metodologías presentadas pueden ser adaptadas por un experto en la materia mediante la selección de los materiales de partida apropiados, en los que la naturaleza de los sustituyentes R, R₁, R₂ y R₃ puede modificarse.
- 10
- 15 Por tanto, es un objeto de la invención un proceso para la preparación del compuesto (Ia), que corresponde a la fórmula general (I) en la que A es R, comprendiendo el proceso:

- (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un agente acilante seleccionado entre el grupo que consiste en haluros de acilos orgánicos, anhídridos de ácidos orgánicos, ácidos carboxílicos, ésteres o anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos-sulfónicos para proporcionar un compuesto de fórmula (III),
- 20



- en la que R, R₃ son como se han definido anteriormente y Boc es el grupo protector terc-butiloxycarbonilo;
- 25 (b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (III) obtenido en a) en otro compuesto comprendido en la fórmula (III), retirando el grupo protector Boc del compuesto de fórmula (III) para obtener el compuesto de fórmula (Ia):

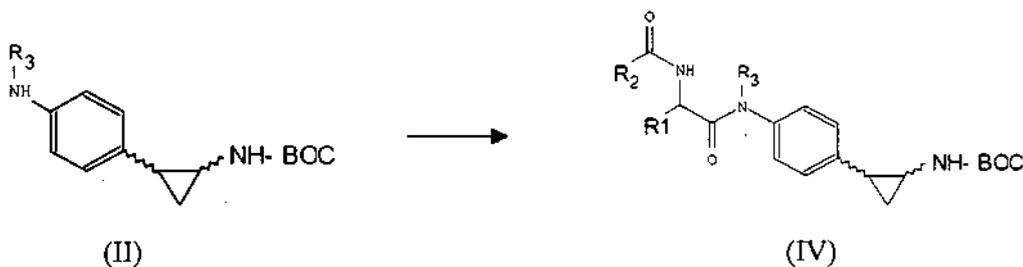


- 30 De acuerdo con la etapa (a) del proceso (Método A), la reacción de un compuesto de fórmula (II) con un agente acilante seleccionado entre el grupo que consiste en haluros de acilos orgánicos, anhídridos de ácidos orgánicos, ácidos carboxílicos, ésteres o anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos-sulfónicos para proporcionar el compuesto de fórmula (III) puede conseguirse con diferentes métodos bien conocidos para un experto en la materia. Como ejemplo, un compuesto de fórmula (II) puede tratarse con el agente acilante apropiado, tal como cloruro de acilo, en presencia de una base para proporcionar el compuesto de fórmula (III) y protegido con Boc. La reacción se realiza en un disolvente adecuado tal como disolventes apróticos polares, por ejemplo, diclorometano, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, N,N'-dimetilformamida o mezclas de los mismos, en presencia de un aceptor de protones, tal como trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, piperidina, N,N-dimetilanilina o piridina, a una temperatura que varía de la temperatura ambiente a la temperatura de reflujo del disolvente. Preferentemente, la etapa (a) se realiza mediante la reacción de un compuesto de fórmula (II) con cloruro de acilo en presencia de una amina, tal como trietilamina, en diclorometano a temperatura ambiente. Opcionalmente, un compuesto de fórmula (III) puede convertirse en otro compuesto de fórmula (III), antes de la desprotección del grupo Boc. Por ejemplo, el NH de la anilina puede alquilarse mediante el tratamiento con haluro de alquilo en medio básico de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos para un experto en la materia. La escisión del grupo Boc del compuesto de fórmula (III) de acuerdo con métodos convencionales proporcionó los compuestos finales (Ia). La desprotección del grupo Boc se describe en "Protective Groups in Organic Chemistry" 3ª edición, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Wiley Interscience (1999) y "Protecting Groups", P. J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994). Por ejemplo, la etapa (b) se realiza a través de la adición de un ácido, tal como HCl o ácido trifluoroacético, en un disolvente adecuado, tal como disolventes apróticos polares, por ejemplo, diclorometano, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, N,N'-dimetilformamida o mezclas de los mismos,
- 35
- 40
- 45
- 50

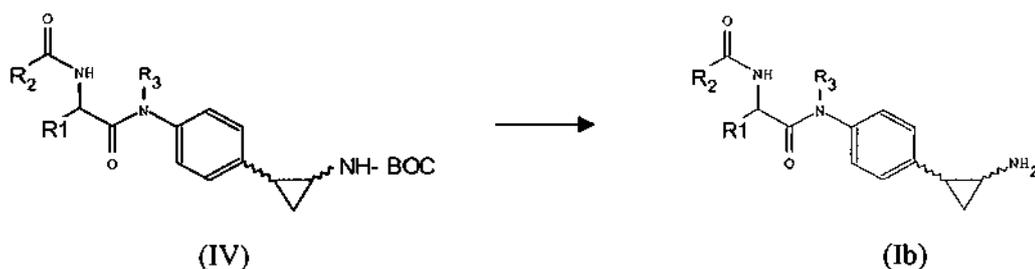
a una temperatura que varía de aproximadamente 0 °C a la temperatura de reflujo.

Los compuestos de fórmula (Ia) pueden modificarse en otros compuestos comprendidos en la fórmula (Ia) a través de cualquier medio de síntesis conocido en la técnica y/o pueden convertirse en una sal farmacéuticamente aceptable y/o la sal de los mismos puede convertirse en el compuesto libre de fórmula (Ia). En otra realización, la invención proporciona un proceso para la preparación de un compuesto (Ib) que corresponde a la fórmula general (I) en la que A es CH(R₁)-NH-CO-R₂, comprendiendo el proceso:

- 10 (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un agente acilante seleccionado entre el grupo que consiste en haluros de acilos orgánicos, anhídridos de ácidos orgánicos, ácidos carboxílicos, ésteres o anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos-sulfónicos para proporcionar un compuesto de fórmula (IV)



- 15 en la que R₁, R₂, R₃ y Boc son como se han definido anteriormente;
 (b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (IV) obtenido en a) en otro compuesto de fórmula (IV), retirando el grupo protector Boc del compuesto de fórmula (IV) para obtener un compuesto de fórmula (Ib):



- 20 De acuerdo con la etapa (a) del proceso (Método B), la reacción de un compuesto de fórmula (II) con un agente acilante seleccionado entre el grupo que consiste en haluros de acilos orgánicos, anhídridos de ácidos orgánicos, ácidos carboxílicos, ésteres o anhídridos de ácidos mixtos carboxílicos-sulfónicos para proporcionar el compuesto de fórmula (IV) puede conseguirse con diferentes métodos bien conocidos para un experto en la materia. Como ejemplo, un compuesto de fórmula (II) puede tratarse con el agente acilante apropiado, tal como un aminoácido protegido con Z, y una base, opcionalmente en presencia de un reactivo de acoplamiento, tal como hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)-fosfonio (reactivo BOP), N,N-carbonildiimidazol o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, para proporcionar el compuesto de fórmula (IV) protegido con Boc. La reacción se realiza en disolventes adecuados, tales como disolventes apróticos polares, por ejemplo, diclorometano, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, N,N'-dimetilformamida o mezclas de los mismos, en presencia de un aceptor de protones, tal como trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, piperidina, N,N-dimetilanilina o piridina, a una temperatura que varía de la temperatura ambiente a la temperatura de reflujo del disolvente. Preferentemente, la etapa (a) se realiza mediante la reacción de un compuesto de fórmula (II) con un aminoácido protegido con Z en presencia de una amina, tal como trietilamina, en N,N-dimetilformamida a temperatura ambiente. Opcionalmente, un compuesto de fórmula (IV) puede convertirse en otro compuesto de fórmula (IV) antes de la desprotección del grupo Boc. Por ejemplo, el NH de la anilina puede alquilarse mediante el tratamiento con haluro de alquilo en medio básico de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos para un experto en la materia. La escisión adicional del grupo Boc del compuesto de fórmula (IV), trabajando como se ha descrito anteriormente proporcionó los compuestos finales (Ib). Los compuestos de fórmula (Ib) pueden modificarse en otros compuestos comprendidos en la fórmula (Ib) a través de cualquier medio de síntesis conocido en la técnica y/o puede convertirse en una sal farmacéuticamente aceptable y/o la sal de los mismos puede convertirse en el compuesto libre de fórmula (Ib).

- 45 El agente acilante seleccionado entre el grupo como se ha definido anteriormente o el aminoácido protegido con Z anterior son compuestos disponibles en el mercado o pueden obtenerse fácilmente a partir de compuestos conocidos de acuerdo con procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la materia. En caso de que el agente acilante seleccionado entre el grupo como se ha definido anteriormente o el aminoácido protegido con Z lleven grupos reactivos como grupos hidroxilo, carboxilo, tiol o amino, pueden necesitar ser protegidos por grupos protectores tales como t-butoxicarbonilo, bencilo, benciloxicarbonilo, metilo, trimetilsililo y similares y, en una etapa

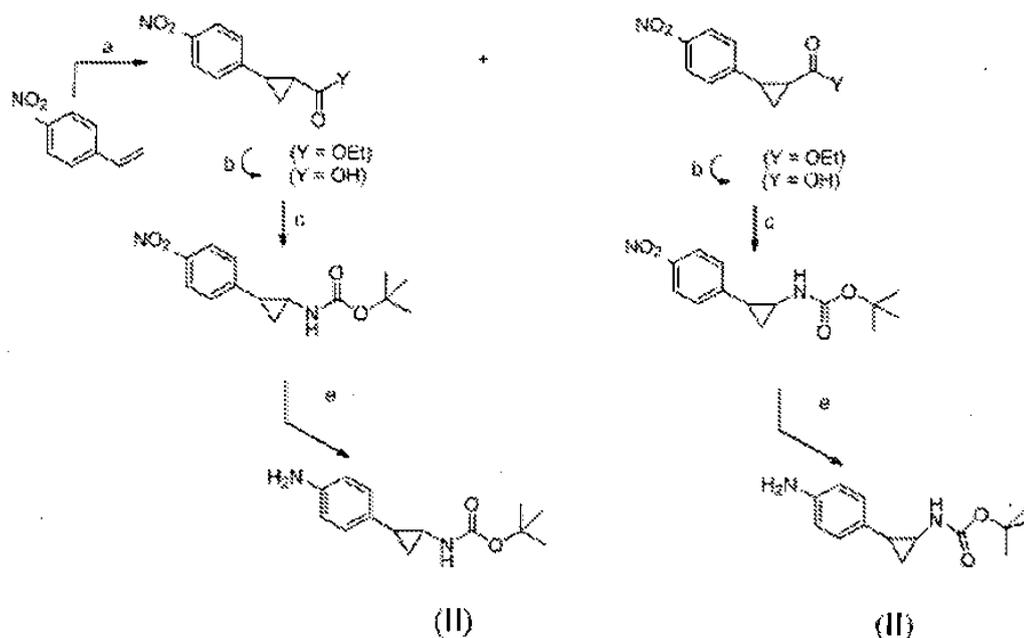
determinada de la síntesis, desprotegerse para obtener de nuevo el grupo reactivo libre. El grupo desprotegido puede hacerse reaccionar adicionalmente, es decir, alquilarse, acilarse, sulfonarse o similar. La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en "Protective Groups in Organic Chemistry" 3ª edición, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Wiley-Interscience (1999) y "Protecting Groups", P. J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994).

Es evidente para el experto en la materia que si un compuesto de fórmula (I), preparado de acuerdo con los procesos anteriores (Método A o Método B), se obtiene como una mezcla de isómeros, su separación en los isómeros individuales de fórmula (I), llevada a cabo de acuerdo con técnicas convencionales, está todavía dentro del alcance de la presente invención.

Como se apreciará por el experto en la materia, cuando, durante la síntesis de compuestos de fórmula (I) determinados grupos funcionales puedan dar origen a reacciones secundarias no deseadas, estos grupos deben ser adecuadamente protegidos de acuerdo con técnicas convencionales. Análogamente, la conversión de estos últimos en los correspondientes compuestos desprotegidos puede realizarse de acuerdo con procedimientos bien conocidos para el experto en la materia.

Los materiales de partida de fórmula (II) pueden obtenerse a partir de compuestos conocidos disponibles en el mercado de acuerdo con procedimientos convencionales disponibles en la bibliografía y bien conocidos para el experto en la materia. Los compuestos de fórmula (II), pueden obtenerse fácilmente siguiendo en parte los procedimientos presentados (*J Am Chem Soc*, 80: 4015-4018, 1958; *J Org Chem*, 27: 733-736, 1962; *Bioorg Med Chem Lett*, 16: 1840-1845, 2006). En particular, el 2-(4-nitrofenil)ciclopropil-1-carboxilato de etilo se obtuvo como una mezcla de *cis* y *trans* mediante el acoplamiento del 4-nitroestireno disponible en el mercado con diazoacetato de etilo (EDA), en presencia de cloruro de cobre (I) (CuCl) en CHCl₃ seco (Esquema 1). Los dos isómeros pueden aislarse usando procedimientos conocidos para la separación de compuestos, por ejemplo mediante separación cromatográfica, técnicas de recrystalización, así como otros métodos bien conocidos para el experto en la materia. La hidrólisis alcalina del éster etílico proporcionó los correspondientes ácidos carboxílicos, que a su vez se convirtieron en los *t*-butoxicarbamatos relacionados a través de la reacción con trietilamina, difenilfosforilazida, *t*-butanol y di-*t*-butildicarbonato en benceno seco. La reducción del grupo nitro de estos últimos compuestos con hipofosfito de sodio, paladio sobre carbono y carbonato de potasio proporcionó los compuestos de fórmula (II).

Esquema 1:

**Reactivos y condiciones:**

a) EDA, CuCl, CHCl₃ seco, 60 °C, atmósfera de N₂; b) KOH 2 N, EtOH, ta; c) 1) DPPA, Et₃N, *t*-BuOH seco, benceno seco, 80 °C, atmósfera de N₂; 2) Boc₂O, benceno seco, 80 °C, atmósfera de N₂; e) K₂CO₃ 2 N, NaH₂PO₂, Pd/C, THF, 60 °C, atmósfera de N₂.

Se descubrió que los compuestos de la presente invención son inhibidores eficaces de la LSD1 y la LSD2 y muestran actividad antitumoral en células leucémicas cuando se toman solos y actividades sinérgicas con fármacos

contra la leucemia cuando se administran en combinación.

5 Un compuesto de fórmula I para su uso como un inhibidor de la histona-desmetilasa LSD1 y/o LSD2 para el tratamiento de tumores o infecciones virales es un objeto de la presente invención. Preferentemente, el compuesto de la invención es para su uso en terapéutica o como agente antitumoral o como agente antiviral, más preferentemente el compuesto es para su uso como un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la desregulación de la transcripción génica, la diferenciación celular y la proliferación.

10 Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de uno o más compuestos de fórmula general (I), como se ha definido anteriormente, solos o en combinación con otros compuestos activos y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, es un objeto de la invención.

15 Preferentemente, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz del compuesto de la invención formulado en una forma de dosificación unitaria.

20 El término "excipiente" en el presente documento significa cualquier sustancia, que no sea en sí misma un agente terapéutico, usada como un medio de soporte o vehículo para la administración de un agente terapéutico a un sujeto o, añadida a una composición farmacéutica, para mejorar sus propiedades de manipulación o almacenamiento o para permitir o facilitar la formación de una unidad de dosis de la composición en un artículo aislado tal como un comprimido, cápsula, píldora, polvo, gránulo, pellet, pastilla para chupar, pastilla, elixir, jarabe, solución, suspensión, emulsión, gota, loción, spray, tintura, crema, pomada, gel, ungüento, supositorio y dispositivos transdérmicos para la administración oral, enteral, parenteral o tópica.

25 La expresión "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente aisladas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

30 Un experto en la materia es consciente de toda una diversidad de dichos excipientes adecuados para formular una composición farmacéutica. Los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados son bien conocidos para los expertos en la materia. Los excipientes incluyen, a modo de ilustración y no de limitación, diluyentes, solubilizantes, cargas, aglutinantes, disgregantes, inhibidores de la disgregación, aceleradores de la absorción, adyuvantes, aglutinantes, vehículos, agentes suspensores/dispersantes, formadores de películas/recubrimientos, adhesivos, antiadherentes, agentes humectantes, lubricantes, sustancias de deslizamiento, conservantes, absorbentes, agentes tamponantes, agentes tensioactivos, sustancias añadidas para enmascarar o contrarrestar un sabor u olor desagradable, saborizantes, colorantes, fragancias, agentes aromatizantes, edulcorantes, sustancias añadidas para mejorar el aspecto de la composición, y similares. La elección del excipiente dependerá en gran medida de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y la estabilidad y la naturaleza de la forma de dosificación.

45 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse mediante una diversidad de vías incluyendo la oral, parenteral, intravenosa, por infusión, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, transmucosa (incluyendo la bucal, sublingual, nasal, transuretral y rectal), tópica, transdérmica, por inhalación, vías oculares (incluyendo los implantes oculares, los implantes de depósito y las terapias inyectables tales como la administración intravítrea), permucosa o percutánea o usando cualquier otra vía de administración.

50 Por tanto, se presentarán en forma de sólidos o líquidos, soluciones o suspensiones inyectables o frascos de múltiples, en forma de comprimidos, comprimidos sencillos o recubiertos, comprimidos recubiertos con azúcar o con película, cápsulas, cápsulas de oblea, cápsulas de gel, píldoras, sellos, sobres, polvos, gránulos, comprimidos oblongos, pastillas para chupar, bolos, grageas, electuarios, pastas, supositorios o cápsulas rectales, jarabes, elixires, emulsiones, soluciones, suspensiones, cremas, pomadas, linimentos, lociones, gotas, pulverizaciones, parches, para su uso percutáneo en un disolvente polar o para su uso permucoso.

55 Por ejemplo, las formas orales sólidas pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, por ejemplo, carbonatos de metales alcalino-térreos, fosfato de magnesio, lactosa, dextrosa, sacarosa, sucrosa, celulosa, derivados de celulosa microcristalina, almidones, almidón de maíz o almidón de patata, almidones modificados y similares; lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, estearato de calcio o magnesio y/o polietilenglicoles; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidones, goma arábiga, metilcelulosa de gelatina, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona; agentes disgregantes, por ejemplo, almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato de almidón de sodio; mezclas efervescentes; materias colorantes; edulcorantes; agentes humectantes, tales como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos y, en general, sustancias atóxicas y farmacológicamente inactivas utilizadas en formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas pueden fabricarse de manera conocida, por ejemplo, por medio de procesos de mezcla, granulación, formación de comprimidos, recubrimiento con azúcar o recubrimiento con película.

65

Las dispersiones líquidas para la administración oral pueden ser, por ejemplo, jarabes, emulsiones y suspensiones. Como ejemplo los jarabes pueden contener, como vehículo, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y sorbitol.

5 Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplos de vehículos, goma natural, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o alcohol polivinílico.

10 Las suspensiones o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el compuesto activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, por ejemplo, propilenglicol y, si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína. Las soluciones para inyecciones o infusiones intravenosas pueden contener, como vehículo, agua estéril o preferentemente pueden estar en forma de soluciones salinas estériles, acuosas, isotónicas, o pueden contener propilenglicol como vehículo.

15 Los supositorios pueden contener, junto con el compuesto activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicoles, tensioactivos de ésteres de ácidos grasos de sorbitán polioxietileno, salicilatos o lecitina.

20 Los aerosoles para inhalación pueden contener, junto con el compuesto activo, gas propulsor, tal como hidrofluoroalcanos. Las formulaciones que funcionan con gas propulsor también pueden contener otros ingredientes tales como codisolventes, estabilizadores y opcionalmente otros excipientes. Las formulaciones inhalables sin gas propulsor que comprenden los compuestos de la invención pueden estar en forma de soluciones o suspensiones en un medio acuoso, alcohólico o hidroalcohólico y pueden administrarse mediante nebulizadores de chorro o ultrasónicos conocidos de la técnica anterior o mediante nebulizadores de niebla débil.

25 Los componentes anteriormente descritos para la composición farmacéutica administrada son meramente representativos. Se exponen materiales adicionales así como técnicas de procesamiento y similares en la Parte 5 de *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20ª edición, 2000, Merck Publishing Company, Easton, Pennsylvania, que se incorpora en el presente documento por referencia. Los compuestos de la presente invención de fórmula (I) también pueden administrarse en formas de liberación sostenida o desde sistemas de administración de fármacos de liberación sostenida. Una descripción de materiales de liberación sostenida representativos también puede encontrarse en los materiales incorporados en *Remington's Pharmaceutical Sciences*.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención por lo general se preparan siguiendo métodos convencionales y se administran en una forma farmacéutica adecuada.

35 Las composiciones orales sólidas pueden prepararse mediante la mezcla, el llenado o la compresión convencionales. Es posible repetir las operaciones de mezcla para dispersar el agente activo en composiciones que contienen grandes cantidades de cargas. Estas operaciones son convencionales.

40 Las preparaciones orales líquidas pueden formularse, por ejemplo, como suspensiones o soluciones acuosas u oleosas, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden presentarse como productos liofilizados para ser regenerados por la adición de agua o de un vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo sorbitol, jarabe, metilcelulosa, gelatina, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa, gel de estearato de aluminio o grasas comestibles hidrogenadas, agentes emulsionantes, por ejemplo lecitina, monooleato de sorbitán o goma arábiga; vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), por ejemplo aceite de almendra, aceite de coco fraccionado, ésteres oleosos tales como ésteres de glicerina, propilenglicol o alcohol etílico; conservantes, por ejemplo p-hidroxibenzoato de metilo o propilo o ácido sórbico y, si se desea, aromatizantes y colorantes convencionales.

50 Para la administración parenteral, es posible preparar unidades de dosificación fluidas, que contienen el compuesto y un vehículo estéril. El compuesto, dependiendo del vehículo y la concentración elegidos, puede suspenderse o disolverse. Las soluciones parenterales normalmente se preparan mediante la disolución del compuesto en un vehículo, la esterilización por filtración, el llenado de viales adecuados y el sellado. Ventajosamente, también es posible disolver en el vehículo adyuvantes adecuados tales como anestésicos locales, conservantes y agentes tamponantes. Para aumentar la estabilidad, la composición puede congelarse después de llenar el vial y retirar el agua al vacío. Las suspensiones parenterales se preparan sustancialmente de la misma manera, con la diferencia de que el compuesto puede suspenderse en lugar de disolverse en el vehículo, y pueden esterilizarse mediante el tratamiento con óxido de etileno antes de suspenderse en el vehículo estéril. Ventajosamente, es posible incluir un tensioactivo o un agente humectante en la composición con el propósito de facilitar la distribución uniforme del compuesto de la invención.

60 Los compuestos de la invención también pueden administrarse por vía tópica. Las formulaciones tópicas pueden comprender, por ejemplo, una pomada, crema, gel, loción, solución, pasta o similares, y/o pueden prepararse de manera que contenga liposomas, micelas, y/o microesferas. Las pomadas, como es bien sabido en la técnica de la formulación farmacéutica, son preparaciones semisólidas que se basan típicamente en vaselina u otros derivados del petróleo. Los ejemplos de pomadas incluyen bases de pomadas oleaginosas, por ejemplo, aceites vegetales, grasas obtenidas de animales e hidrocarburos semisólidos obtenidos del petróleo, bases de pomadas

emulsionables, por ejemplo, sulfato de hidroxistearina, lanolina anhidra y vaselina hidrófila, bases de pomadas en emulsión, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerilo, lanolina y ácido esteárico y bases de pomadas hidrosolubles preparadas a partir de polietilenglicoles de peso molecular variable. Las cremas, como también es bien sabido por los expertos en la materia, son líquidos viscosos o emulsiones semisólidas y contienen una fase oleosa, un emulsionante y una fase acuosa. La fase de aceite está comprendida generalmente por vaselina y un alcohol graso tal como alcohol cetílico o estearílico. La fase acuosa por lo general contiene un humectante. El emulsionante en una formulación en crema se elige entre tensioactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos o anfóteros. Los geles monofásicos contienen macromoléculas orgánicas distribuidas sustancialmente de manera uniforme por todo el vehículo líquido, que normalmente es acuoso, pero también, preferentemente, contienen un alcohol y, opcionalmente, un aceite. Son agentes gelificantes preferidos los polímeros de ácido acrílico reticulados (tales como polímeros "carbómero", por ejemplo, carboxipolialquilenos que pueden obtenerse comercialmente con la marca comercial Carbopol). También se prefieren los polímeros hidrófilos tales como óxidos de polietileno, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno y alcohol polivinílico; polímeros celulósicos tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa; gomas tales como goma de tragacanto y goma de xantano; alginato de sodio; y gelatina. Para la preparación de geles uniformes, pueden añadirse agentes dispersantes tales como alcohol o glicerina, o puede dispersarse el agente de gelificación mediante trituración, mezcla mecánica y/o agitación. Los compuestos de la invención también pueden administrarse a través de la liberación transdérmica. Las formulaciones transdérmicas típicas incluyen los vectores acuosos y no acuosos convencionales, tales como cremas, aceites, lociones o pastas o pueden proporcionarse como membranas o parches medicinales. En una realización, un compuesto de la invención se dispersa en un parche sensible a la presión que se adhiere a la piel. Esta formulación permite que el compuesto se propague desde el parche al paciente a través de la piel. Para obtener una liberación sostenida del fármaco a través de la piel, pueden usarse el caucho natural y el silicio como adhesivos sensibles a la presión.

Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención, adecuados para su administración a un mamífero, por ejemplo, a seres humanos, pueden administrarse como el único agente activo o en combinación con otros principios activos farmacéuticos por las vías habituales y el nivel de dosificación depende de una diversidad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del individuo que se trata; el tiempo y la vía de administración; la tasa de excreción; otros fármacos que se han administrado previamente; y la gravedad de la enfermedad particular que se somete a terapia, como es bien entendido por los expertos en la materia.

Por ejemplo, una dosificación adecuada adoptada para la administración oral de un compuesto de fórmula (I) puede variar de aproximadamente 30 a 500 mg por dosis, de 1 a 5 veces al día. En general, se administrarán dosis más bajas cuando se emplee una vía parenteral. De este modo, por ejemplo, para la administración intravenosa se usará generalmente una dosis en el intervalo, por ejemplo, de 0,5 mg a 30 mg por kg de peso corporal.

Los compuestos de la invención pueden administrarse en una diversidad de formas de dosificación, por ejemplo, por vía oral, en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos con azúcar o película, cápsulas, sellos, como un polvo o gránulos; como jarabes, emulsiones, una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, como una emulsión líquida aceite-en-agua o una emulsión líquida agua-en-aceite, como un bolo, electuario o pasta; por vía rectal, en forma de supositorios; por vía parenteral, por ejemplo, por vía intramuscular o a través de inyección o infusión intravenosa. Preferentemente, los compuestos de fórmula general (I) solos o combinados con otros principios activos pueden administrarse para la prevención y/o el tratamiento de cualquier enfermedad en la que se requiere la inhibición las histona-desmetilasas LSD1 y LSD2. Dichas enfermedades incluyen los tumores, las infecciones virales.

Ejemplos

La presente invención se describirá ahora por medio de los siguientes ejemplos no limitantes, en referencia a la figura siguiente.

Figura 1. Evaluación biológica de **6e**. (A) **6e** sinergiza con ácido retinoico (AR) en la inhibición de crecimiento celular. Se trataron células NB4 con concentraciones crecientes de ácido retinoico (10 nM, 100 nM y 1 µM) en ausencia o en presencia de **6e** (2 µM). En los puntos temporales indicados, las células se contaron mediante exclusión con azul de tripano. NT, células no tratadas (solo vehículo). (B) **6e** sinergiza con ácido retinoico (AR) en la inducción de la diferenciación en células NB4. Se trataron células NB4 con ácido retinoico (100 nM) o vehículo (NT), en ausencia o en presencia de **6e** (2 µM). Después de 7 días las células preparadas mediante Cytospin se extendieron sobre portaobjetos de vidrio y se tiñeron (May Grunwald-Giemsa).

Figura 2. **6e** sinergiza con ácido retinoico (AR) en la inducción de la apoptosis en células NB4. Se trataron células NB4 con concentraciones crecientes de ácido retinoico (10 nM, 100 nM y 1 µM) o vehículo (NT), en ausencia o en presencia de **6e** (2 µM). La apoptosis se midió mediante tinción con yoduro de propidio de células permeabilizadas después de 7 días. Se muestra un experimento representativo.

1. SÍNTESIS QUÍMICA

Métodos

- 5 A menos que se indique lo contrario, se encontró que todos los reactivos de partida están disponibles en el comercio o son obtenibles fácilmente siguiendo procedimientos de la bibliografía y se usaron sin ninguna purificación. Todos los disolventes eran de calidad reactiva y, cuando fue necesario, se purificaron y se secaron mediante métodos convencionales. La concentración de las soluciones después de las reacciones y las extracciones implicó el uso de un evaporador rotatorio que funciona a presión reducida de aproximadamente 2,66 kPa. Las soluciones orgánicas se
10 secaron sobre sulfato de sodio anhidro. Los resultados analíticos están dentro del $\pm 0,40$ % de los valores teóricos.

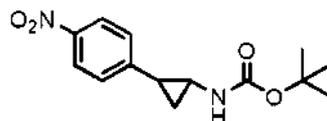
La TLC se realizó sobre placas de gel de sílice reforzadas con aluminio (Merck DC, Alufolien Kieselgel 60 F254) con manchas visualizadas mediante luz UV.

- 15 Los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C se obtuvieron con un Bruker 400 MHz. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm, unidades δ). Las constantes de acoplamiento se expresan en hercios (Hz) y los patrones de división se describen como s (singlete), s a (singlete ancho), d (doblete), t (triplete), c (cuarteto), quint (quinteto), m (multiplete).
- 20 Los espectros de IEME se registraron con un espectrómetro Fisons Trio 1000; solo se proporcionan iones moleculares (M^+) y picos de base.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de punto de fusión Buchi 530 y están sin corregir.

25 **Ejemplo 1**

Preparación de *trans* y *cis* 2-(4-nitrofenil)ciclopropil carbamatos de *terc*-butilo: *trans* 2-(4-nitrofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo

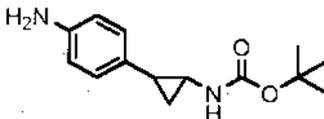


- 30 Una solución de ácido *trans* 2-(4-nitrofenil)ciclopropil-1-carboxílico (5,3 mmol, 1,1 g) en benceno seco (20 ml), trietilamina (6,4 mmol, 0,9 ml), difenilfosforilazida (5,8 mmol; 1,2 ml) y *terc*-butanol (53 mmol, 5 ml) se agitó a 80 °C en atmósfera de N_2 durante 16 h. Después, se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (8 mmol, 1,7 g) y la reacción se
35 agitó a 80 °C durante 2 h adicionales. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se sometió a cromatografía por gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/*n*-hexano 1/3 para aislar el *trans* 2-(4-nitrofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo puro en forma de un sólido de color amarillo pálido.

- 40 RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1,29-1,33 (m, 2H, CH_2 ciclopropano), 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 (s a, 1H, NHCO), 7,26-7,28 (d, 2H, protones aromáticos), 8,13-8,15 (d, 2H, protones aromáticos); RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz, 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; EM (IEN) m/z : 278,13 [M^+]; p.f. = 153-155 °C

Ejemplo 2

- 45 **Preparación de *trans* y *cis* 2-(4-aminofenil)ciclopropil carbamatos de *terc*-butilo: *trans* 2-(4-aminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo**



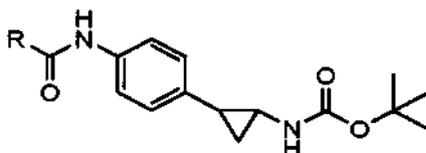
- 50 Una mezcla de *trans* 2-(4-nitrofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (2,88 mmol; 0,8 g), carbonato de potasio (2,04 mmol; 0,28 g), paladio al 10 % sobre carbono (0,016g) en tetrahidrofurano (3,88ml) y agua (3,8ml) se desgasificó durante 5min, después se añadió una solución de hipofosfito de sodio (10,96mmol, 1,16g) en agua (2,32ml) gota a gota con agitación vigorosa. La mezcla resultante se agitó a 60°C durante 5h. El disolvente se retiró y el residuo se vertió en agua (100ml) y se extrajo con éter dietílico (50ml, 3 veces). Las capas orgánicas se lavaron
55 con solución saturada de cloruro de sodio (50ml, 3 veces), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/*n*-hexano 1/2 para proporcionar 1-(4-aminofenil)propan-2-il carbamato de *terc*-butilo como primer eluato seguido de *trans* 2-(4-

aminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo, ambos en forma de aceites de color amarillo.

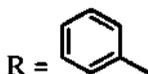
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ; ppm) δ 1,06-1,10 (m, 2H, CH₂ ciclopropano), 1,47 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,95-1,97 (m, 1H, PhCH), 2,63-2,65 (m, 1H, CHNH), 3,58 (s a, 2H, NH₂), 4,71 (s a, 1H, NHCO), 6,61-6,63 (d, 2H, protones de benceno), 6,96-6,98 (d, 2H, protones de benceno); RMN ¹³C (CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 14,40, 22,80, 28,40 (3C), 32,60, 79,50, 114,60 (2C), 125,80 (2C), 131,70, 144,80, 155,60; EM (IEN) *m/z*: 248,15 [M]⁺

Ejemplo 3

Preparación de *trans* 2-(4-aroil (o arilacetil o benciloxicarbonil)aminofenil)ciclopropil carbamatos de *terc*-butilo (1a-h):



trans 2-(4-benzoilaminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (1b)



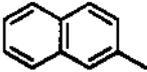
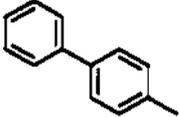
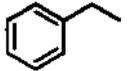
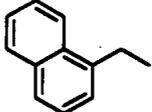
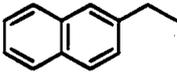
Se añadieron trietilamina (0,72mmol, 0,1ml) y cloruro de benzoilo (0,6mmol, 0,09ml) gota a gota, con enfriamiento externo de baño de hielo, a una solución de *trans* 2-(4-aminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (0,6mmol, 0,150g) en diclorometano seco (5ml). La mezcla resultante se agitó durante 1h, después se añadió agua (50ml), la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (30ml, 2 veces). La fase orgánica se lavó con solución saturada de cloruro de sodio (50ml, 3 veces), se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/*n*-hexano 1/3 para obtener el compuesto puro **1b** en forma de un sólido de color blanco.

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 1,12-1,15 (m, 2H, CH₂ ciclopropano), 1,47 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2,00-2,02 (m, 1H, PhCH), 2,70-2,72 (m, 1H, CHNH), 4,88 (s a, 1H, CHNHCO), 7,14-7,16 (d, 2H, protones aromáticos), 7,51-7,59 (m, 3H, protones aromáticos), 7,70-7,72 (d, 2H, protones aromáticos), 7,94-7,96 (d, 2H, protones aromáticos), 10,25 (s a, 1H, PhNHCO); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 352,18 [M]⁺; p.f. = 172-174 °C

Los siguientes compuestos (Tabla 2) se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente, con reactivos adecuados:

Tabla 2

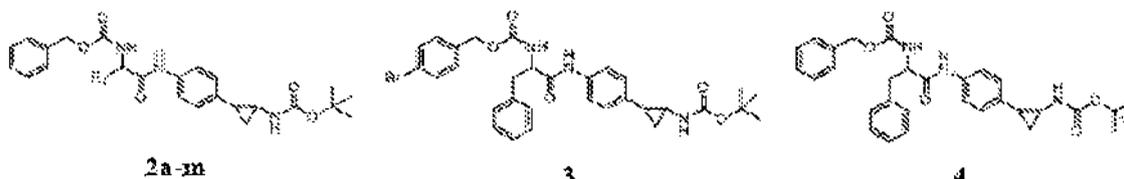
Compuesto	R	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
1a		114-116	ciclohexano/benceno	82
1c		151-153	benceno/acetonitrilo	73

Compuesto	R	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
1d		189-191	acetonitrilo	69
1e		218-220	acetonitrilo/metanol	75
1f		177-179	benceno/acetonitrilo	71
1g		165-167	benceno/acetonitrilo	73
1h		198-200	acetonitrilo/metanol	76

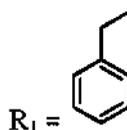
Ejemplo 45 **Preparación de:**

trans 2-[4-(*N*-benciloxicarbonilaminoacil)aminofenil]ciclopropil carbamatos de *terc*-butilo (**2a-m**); *trans* 2-[4-(*N*-4-bromobenciloxicarbonil-fenilalanil)fenil]ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (**3**); *cis* 2-[4-(*N*-benciloxicarbonil-fenilalanil)fenil]ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (**4**):

10



trans 2-[4-(*N*-benciloxicarbonilfenilalanil)fenil]ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (**2e**)



15

Se añadieron trietilamina (2,96mmol, 0,41ml) y reactivo BOP (0,89mmol, 0,39g) en atmósfera de N₂ a una solución de *N*-benciloxicarbonilfenilalanina (0,74mmol, 0,22g) en dimetilformamida seca (2ml) y la mezcla se agitó durante 0,5h. Se añadió *trans* 2-(4-aminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (0,81mmol, 0,2g) en atmósfera de N₂ y la mezcla se agitó durante la noche. La reacción se vertió en agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30ml, 3 veces). Las capas orgánicas se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio (50ml, 3 veces), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/cloroformo 1/5 para proporcionar el compuesto **2e** puro en forma de un sólido de color blanco.

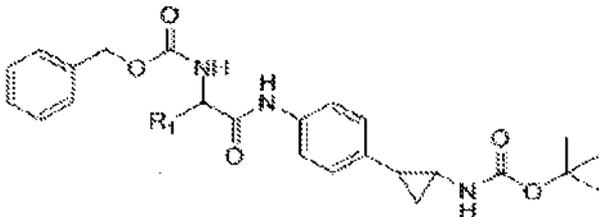
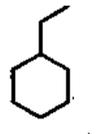
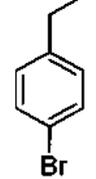
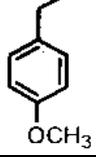
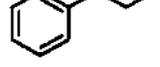
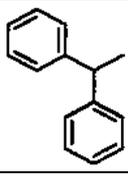
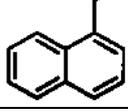
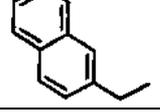
20

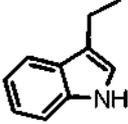
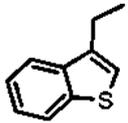
25 RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ; ppm) δ 0,87-0,89 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,05-1,07 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,47 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,99-2,01 (m, 1H, PhCH), 2,67-2,69 (m, 1H, CHNH), 3,08-3,13 (m, 2H, PhCH₂CH), 4,54-4,56 (m, 1H, PhCH₂CH), 4,89 (s a, 1H, NHCOOC(CH₃)₃), 5,10 (s, 2H, PhCH₂OCONH), 5,60 (s a, 1H, NHCOOBn), 7,03-7,05 (d, 2H, protones aromáticos), 7,21-7,34 (m, 12H, protones aromáticos), 7,77 (s a, 1H, PhNHCOCH); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, δ; ppm) δ 14,40, 22,80, 28,40 (3C), 32,60, 37,30, 58,40, 66,80, 79,50, 121,0 (2C), 125,20 (2C), 125,90, 127,10 (2C), 127,60, 127,70 (2C), 128,60 (2C), 128,90 (2C), 134,90, 136,10, 136,60, 137,30, 155,60, 155,90, 172,70; EM (IEN) *m/z*: 529,26 [M]⁺; p.f. = 161-163 °C

30

Los siguientes compuestos (Tabla 3) se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente, con reactivos adecuados:

Tabla 3

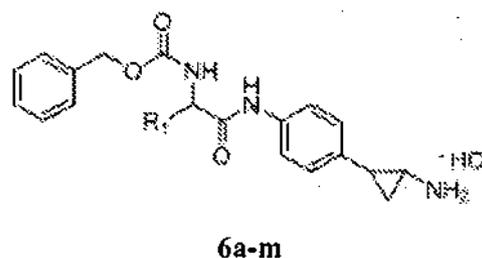
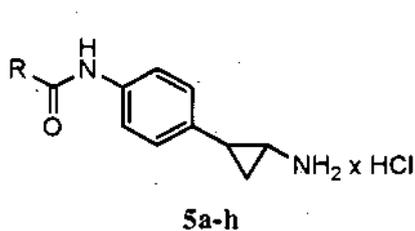
				
Compuesto	R ₁	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
2a		aceite	-	62
2b		aceite	-	89
2c		aceite	-	50
2d		66-68	ciclohexano	68
2f		155-157	Benceno	73
2g		98-100	ciclohexano/benceno	50
2h		150-152	benceno	77
2i		108-110	ciclohexano/benceno	73
2j		186-188	acetonitrilo	55
2k		143-145	benceno	60

Compuesto	R ₁	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
2l		142-144	benceno	67
2m		115-117	ciclohexano/benceno	62
3		148-150	benceno	76
4		168-170	benceno/acetonitrilo	83

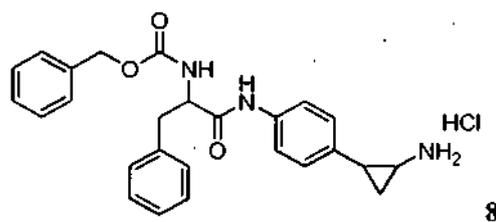
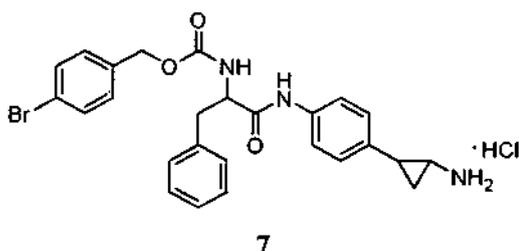
Ejemplo 5

Preparación de:

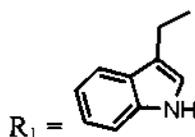
- 5 Clorhidratos de *trans* 2-(4-aroil (o arilacetil o benciloxicarbonil)aminofenil)ciclopropilamina (5a-h);
- Clorhidratos de *trans* 4-(*N*-benciloxicarbonilaminoacil)aminofenil)ciclopropilaminas (6a-m);
- 10 Clorhidrato de *trans* 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de 4-bromobencilo (7);
- Clorhidrato de *cis* 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo (8):



15



- 20 Clorhidrato de *trans* 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-(1H-indol-3-il)-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo (6l)

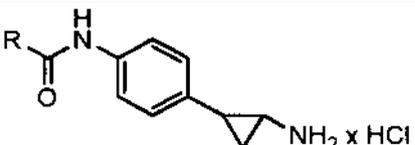
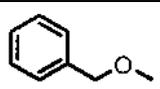
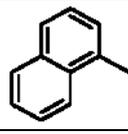
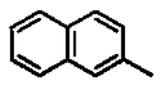
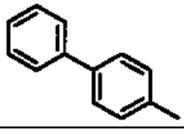
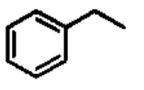
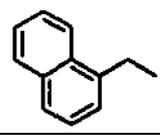
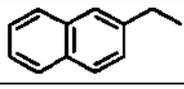


- 25 Una solución acuosa de HCl 6N (2ml) se añadió a una solución de **21** (0,26mmol, 0,1g) en tetrahidrofurano (2ml) y la mezcla se agitó durante 12h a temperatura ambiente. El sólido precipitado se separó por filtración, se lavó con éter dietílico (10ml, 3 veces) y se secó para proporcionar el **6l** puro en forma de un sólido incoloro.
 RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz, δ; ppm) δ 1,15-1,17 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,34-1,36 (m, 1H, CHH ciclopropano), 2,27-2,29 (m, 1H, PhCH), 2,74-2,76 (m, 1H, CHNH₃Cl), 3,02-3,04 (dd, 1H, indol-CHHCH), 3,13-3,15 (dd, 1H, indol-CHHCH), 4,43-4,45 (m, 1H, indol-CH₂CH), 4,97 (s, 2H, PhCH₂OCONH), 6,98-7,75 (m, 14H, protones aromáticos),

8,33 (s a, 3H, NH₃Cl), δ 10,16 (s a, 1H, PhNHCO), 10,86 (s a, 1H, indol-NH); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 504,19 [M]⁺; p.f. = > 250 °C

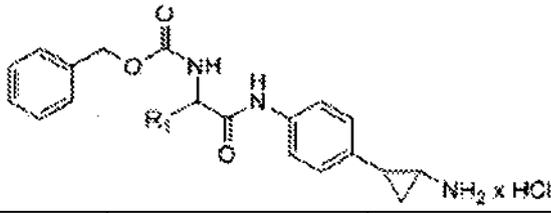
5 Los siguientes compuestos (Tabla 4 y Tabla 5) se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente, con reactivos adecuados:

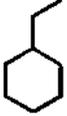
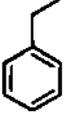
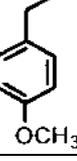
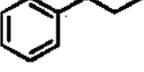
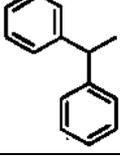
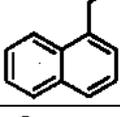
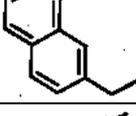
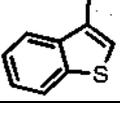
Tabla 4

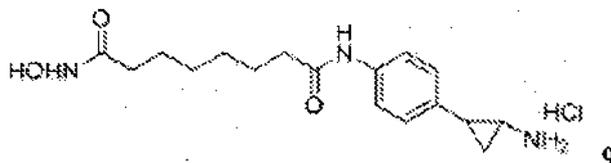
				
Compuesto	R	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
5a		227-229	acetonitrilo/metanol	80
5b		210-212	acetonitrilo/metanol	83
5c		> 250	metanol	76
5d		> 250	metanol	81
5e		> 250	metanol	85
5f		180-182	acetonitrilo	73
5g		240-242	acetonitrilo/metanol	78
5h		238-240	acetonitrilo/metanol	84

10

Tabla 5

				
Compuesto	R ₁	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
6a		168-170	benceno/acetonitrilo	75

Compuesto	R ₁	Punto de fusión (°C)	Disolvente de recristalización	Rendimiento (%)
6b		158-160	benceno/acetonitrilo	70
6c		120-122	ciclohexano/benceno	53
6d		135-137	ciclohexano/benceno	68
6e		220-222	acetonitrilo	72
6f		215-217	acetonitrilo/metanol	79
6g		173-175	benceno/acetonitrilo	57
6h		198-200	acetonitrilo	76
6i		200-202	acetonitrilo	66
6j		160-162	benceno/acetonitrilo	65
6k		156-158	benceno/acetonitrilo	68
6m		157-159	benceno/acetonitrilo	69
7		220-222	acetonitrilo/metanol	84
8		215-217	acetonitrilo/metanol	77

Ejemplo 6**Preparación de clorhidrato de N¹-(4-trans(2-aminociclopropil)fenil)-N⁶-hidroxiocetandiamida (9)**

5

Etapa a**Síntesis de 8-(4-trans(2-*tert*-butoxicarbonilaminociclopropil)fenilamino)-8-oxooctanoato de metilo.**

10

Se añadieron trietilamina (0,68mmol, 0,09ml) y 8-cloro-8-oxooctanoato de metilo (0,564mmol, 0,08ml) gota a gota con enfriamiento externo en baño de hielo a una solución de *trans* 2-(4-aminofenil)ciclopropil carbamato de *tert*-butilo (0,56mmol, 140mg) en diclorometano seco (5ml). La mezcla resultante se agitó durante 1h, después se añadió agua (50ml), la capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con diclorometano (30ml, 2 veces). La solución orgánica final se lavó con solución saturada de cloruro de sodio (50ml, 3 veces), se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/cloroformo 1/2 para obtener el compuesto 8-(4-trans(2-*tert*-butoxicarbonilaminociclopropil)fenilamino)-8-oxooctanoato de metilo puro en forma de un sólido de color blanco.

15

20

25

RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 1,12-1,15 (m, 2H, CH₂ ciclopropano), 1,37-1,39 (m, 4H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1,47 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,63-1,65 (m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1,71-1,73 (m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON) 2,00-2,02 (m, 1H, PhCH), 2,30-2,35 (m, 4H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 2,70-2,72 (m, 1H, CHNH), 3,68 (s, 3H, OCH₃) 4,88 (s a, 1H, CHNHCO), 7,08-7,10 (d, 2H, protones aromáticos), 7,40-7,42 (d, 2H, protones aromáticos), 7,28 (s a, 1H, PhNHCO); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, 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; EM (IEN) m/z: 418,24 [M]⁺

Etapa b**Síntesis de ácido 8-(4-trans(2-*tert*-butoxicarbonilaminociclopropil)fenilamino)-8-oxooctanoico.**

30

Una solución del 8-4-trans(2-*tert*-butoxicarbonilaminociclopropil)fenilamino)-8-oxooctanoato de metilo (0,53mmol, 220mg) anterior y LiOH (1,05mmol, 44mg) en tetrahidrofurano/agua (5ml)/5ml) se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se inactivó mediante la adición de HCl 2N hasta pH = 4, después el precipitado se filtró, se lavó con agua (30ml, 3 veces) y se secó para obtener el ácido 8-(4-trans(2-*tert*-butoxicarbonilaminociclopropil)fenilamino)-8-oxooctanoico puro en forma de un sólido de color blanco.

35

40

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz, δ ppm) δ 0,98-1,00 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,02-1,05 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,24-1,29 (m, 4H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1,38 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,48-1,50 (m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1,56-1,59 (m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1,82-1,84 (m, 1H, PhCH), 2,17-2,19 (m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 2,25-2,27 (m, 2H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 2,50-2,52 (m, 1H, CHNH), 6,99-7,01 (d, 2H, protones de benceno), 7,20 (s a, 1H, PhNHCO), 7,45-7,47 (d, 2H, protones de benceno), 9,76 (s a, 1H, CHNHCO), 12,0 (s a, 1H, COOH); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, 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; EM (IEN) m/z: 404,23 [M]⁺

45

Etapa c**Síntesis de clorhidrato de N¹-(4-trans(2-aminociclopropil)fenil)-N⁶-hidroxiocetandiamida (9).**

50

Se añadieron cloroformiato de etilo (0,384mmol, 0,04ml) y trietilamina (0,42mmol, 0,06ml) a una solución enfriada (0°C) de ácido 8-(4-(2-*tert*-butoxicarbonilaminociclopropil)fenilamino)-8-oxooctanoico (0,32mmol, 130mg) en tetrahidrofurano seco (5ml) y la mezcla se agitó durante 10min. El sólido se separó por filtración y se añadió *O*-(2-metoxi-2-propil)hidroxilamina (0,96mmol, 0,7ml) al filtrado. La solución se agitó durante 15min a 0°C, después se añadió una solución de HCl 6N (10ml) y la agitación continuó durante 12h adicionales. Por tanto, el precipitado se filtró y se lavó con éter dietílico (10ml, 3 veces) para proporcionar el clorhidrato de N¹-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-N⁶-hidroxiocetandiamida puro (9).

55

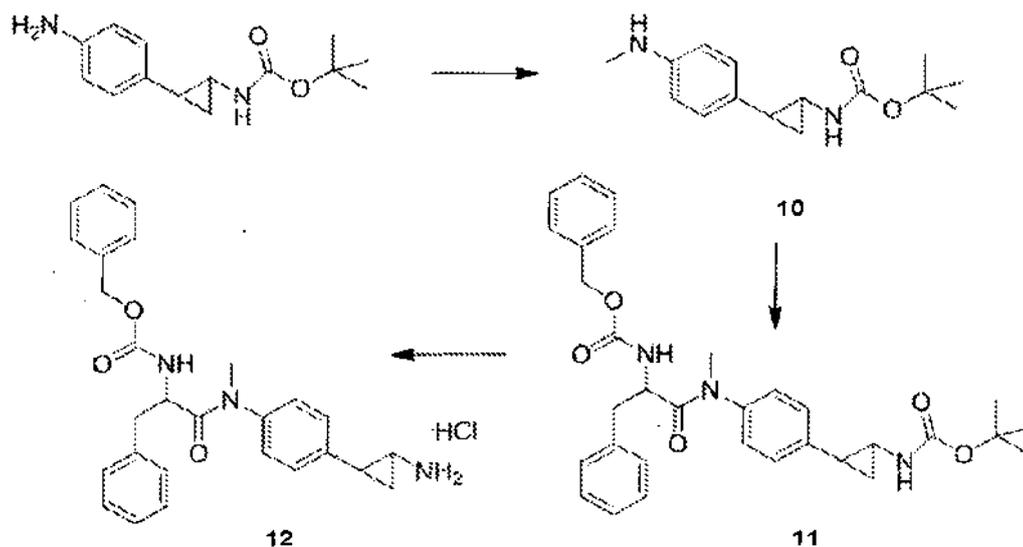
60

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz, δ; ppm) δ 1,15-1,17 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,28-1,26 (m, 4H, OCOCH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CON), 1,34-1,36 (m, 1H, CHH ciclopropano), 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, protones aromáticos), 7,51-7,53 (d, 2H, protones aromáticos), 8,56 (s a, 3H, NH₃Cl), 9,91 (s, 1H, PhNHCO), 10,09

(s, 1H, CONHOH), 12,0 (s a, 1H, CONHOH); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz, 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; EM (IEN) m/z : 320,19 $[\text{M}]^+$

5 Ejemplo 7

Síntesis de clorhidrato de *trans* 1-((4-(2-aminociclopropil)fenil)(metil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo (12)



Etapa a

Síntesis de *trans* 2-(4-metilaminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (10).

Se añadieron formaldehído (1,88mmol, 0,052ml), cianoborohidruro de sodio (5,64 $^{\circ}$ mmol, 0,356g) y ácido acético (0,2ml) a 0°C a una solución de *trans* 2-(4-aminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (1,88mmol, 467mg) en acetonitrilo (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1h. Se añadió agua (50ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50ml, 3 veces). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio, después el disolvente se retiró a presión reducida. El aceite residual se sometió a cromatografía en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/*n*-hexano 1/2 para proporcionar el compuesto en forma de un aceite de color amarillo; rendimiento del 34%; RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1,05-1,12 (d, 2H, protones de ciclopropano), 1,46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,94-1,99 (m, 1H, PhCHH), 2,65-2,66 (dd, 1H, PhCHH), 2,83 (s, 3H, NHCH_3), 3,62 (s a, 1H, NHCH_3), 4,82-4,84 (s a, 1H, NHCO), 6,54-6,57 (d, 2H, protones aromáticos), 7,01-7,03 (d, 2H, protones aromáticos); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz, 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; EM (IEN) m/z 262,17 $[\text{M}]^+$

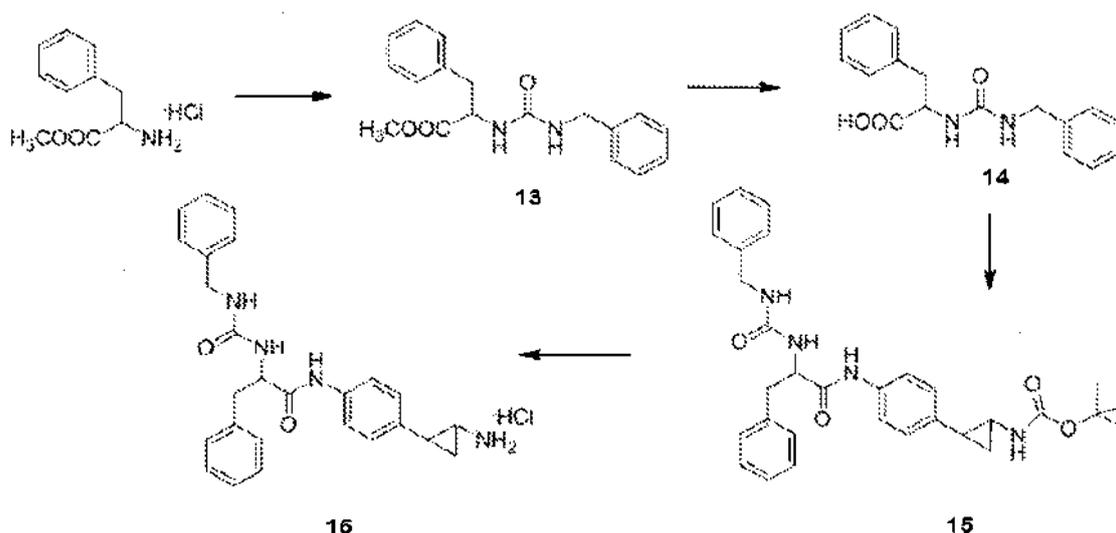
Etapa b

Síntesis de *trans* 2-[4-(*N*-metil-*N*-benciloxicarbonilfenilalanil)fenil]ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (11).

Se añadieron trietilamina (0,61mmol, 0,08ml) y PyBOP (0,18mmol, 0,095g) en atmósfera de N_2 a una solución de *N*-benciloxicarbonilfenilalanina (0,15mmol, 0,045g) en dimetilformamida seca (2ml) y la mezcla se agitó durante un periodo de 0,5h. Se añadió *trans* 2-(4-metilaminofenil)ciclopropil carbamato de *terc*-butilo **10** (0,15mmol, 0,041g), en atmósfera de N_2 y la mezcla se agitó durante la noche. La reacción se vertió en agua (30ml) y se extrajo con acetato de etilo (30ml, 3 veces). Las capas orgánicas se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio (30ml, 3 veces), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/cloroformo 1/5 para proporcionar el compuesto puro en forma de un aceite incoloro, rendimiento del 72%; RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz, δ ; ppm) δ 1,20-1,25 (m, 2H, CH_2 ciclopropano), 1,46 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,07-2,09 (m, 1H, PhCH), 2,74-2,77 (m, 1H, CHNH ciclopropano), 2,89-2,94 (m, 1H, PhCHHCH), 3,19 (s, 3H, NCH_3), 4,58-4,60 (m, 1H, PhCHHCH), 4,92 (s a, 1H, $\text{NHCOOC}(\text{CH}_3)_3$), 5,01 (s, 2H, $\text{PhCH}_2\text{OCONH}$), 5,48-5,50 (m, 1H, PhCHHCH), 6,74 (s a, 1H, NHCOOBn), 6,93-6,97 (d, 2H, protones aromáticos), 7,00-7,04 (m, 2H, protones aromáticos), 7,08-7,10 (m, 2H, protones aromáticos), 7,20-7,24 (m, 3H, protones aromáticos), 7,33-7,36 (m, 5H, protones aromáticos); RMN ^{13}C (CDCl_3 , 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; EM (IEN) m/z : 543,27 $[\text{M}]^+$

Etapa c**Síntesis de clorhidrato de *trans* 1-((4-(2-aminociclopropil)fenil)(metil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo (12).**

5 Una solución de HCl 6N (2ml) se añadió a una solución de *trans* 2-[4-(*N*-metil-*N*-benciloxicarbonilfenilalanil)fenil]ciclopropil carbamato de *tert*-butilo **11** (0,26mmol, 0,1g) en tetrahidrofurano (2ml) y la mezcla se agitó durante 12h a temperatura ambiente. El sólido precipitado se filtró, se lavó con éter dietílico (10ml, 3 veces) y se secó para proporcionar el compuesto puro en forma de un sólido de color blanco; rendimiento del 82 %, p.f. 156-158°C, disolvente de recristalización: benceno; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz, δ; ppm) δ 1,25-1,27 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,43-1,45 (m, 1H, CHH ciclopropano), 2,65-2,67 (m, 1H, PhCH ciclopropano), 2,68-2,70 (m, 1H, CHNH₃Cl ciclopropano), 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, protones aromáticos), 7,01-7,32 (m, 12H, protones aromáticos), 7,68 (s a, 1H, NHCOOBn), 8,53 (s a, 3H, NH₃Cl); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 479,19 [M]⁺

Ejemplo 8**Síntesis de clorhidrato de *trans* N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanamida (16).****Etapa a**

25 **Síntesis de 2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoato de metilo (13).** Se añadieron trietilamina (1,86mmol, 0,26ml) e isocianato de bencilo (1,86mmol, 0,23ml) a 0°C a una solución de clorhidrato de éster metílico de fenilalanina (0,93mmol, 0,2g) en tetrahidrofurano, y la mezcla se agitó durante un periodo de 12h. La reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (30 ml, 5 veces). Las capas orgánicas se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio (30ml, 3 veces), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/*n*-hexano 1/2 para proporcionar el compuesto puro en forma de un aceite incoloro, rendimiento del 95%; RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, 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 (s a, 2H, NHCONH), 7,03-7,04 (2H, protones aromáticos), 7,17-7,25 (m, 8H, protones aromáticos); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 312,14 [M]⁺

Etapa b

40 **Síntesis de ácido 2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoico (14).** Una solución de 2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoato de etilo **13** (2,66mmol, 0,83g) e hidróxido de litio 2N (5,32mmol, 0,22g) en etanol (20ml) se mantuvo en agitación durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se inactivó mediante la adición de HCl 2N hasta pH = 2, después el precipitado se filtró, se lavó con agua (30 ml, 3 veces) y se secó para obtener el ácido 2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoico puro en forma de un sólido de color blanco pálido; rendimiento del 95 %, p.f. 115-117 °C; disolvente de recristalización: ciclohexano/benceno; RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 2,85-2,87 (dd, 1H, PhCHHCHCOO), 2,89-2,91 (dd, 1H, PhCHHCOO), 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, protones aromáticos), 12,65 (s a, 1H, COOH); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 298,32 [M]⁺

5 Etapa C

Síntesis de *trans* 2-[4-[2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoilo]aminofenil]ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (15).

Se añadieron trietilamina (1,92mmol, 0,27ml) y PyBOP (0,57mmol, 0,30g) en atmósfera de N₂ a una solución de ácido 2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoico (0,48mmol, 0,14g) en dimetilformamida seca (2ml) y la mezcla se agitó durante 0,5h. Se añadió (2-(4-aminofenil)ciclopropil)carbamato de *terc*-butilo (0,52mmol, 0,13g), en atmósfera de N₂ y la agitación continuó durante la noche. La reacción se vertió en agua (30ml) y se extrajo con acetato de etilo (30ml, 3 veces). Las capas orgánicas se lavaron con solución saturada de cloruro de sodio (30ml, 3 veces), se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron. El residuo se purificó mediante columna cromatográfica en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo/*n*-hexano 1/1 para proporcionar el compuesto puro 15 en forma de un sólido de color blanco, rendimiento del 70%; p.f. 100-102°C; disolvente de recristalización: ciclohexano RMN ¹H (CDCl₃, 400MHz, δ; ppm) δ 1,09-1,10 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,18-1,19 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,46 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2,30-2,31 (m, 1H, PhCH ciclopropano), 2,52-2,54 (m, 1H, CHNH ciclopropano), 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 (s a, 1H, NHCOOC(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, protones aromáticos), 7,10-7,27 (m, 12H, protones aromáticos), 9,23 (s a, 1H, PhNHCOCH); RMN ¹³C (CDCl₃, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 528,27 [M]⁺

25 Etapa d

Síntesis de clorhidrato de *trans* N-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanamida (16).

Una solución acuosa de HCl 6N (2ml) se añadió a una solución de *trans* 2-[4-[2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanoilo]aminofenil]ciclopropil carbamato de *terc*-butilo (0,30mmol, 0,1g) en tetrahidrofurano (2ml) y la mezcla se agitó durante 12 h a temperatura ambiente. El sólido precipitado se filtró, se lavó con éter dietílico (10ml, 3 veces) y se secó para proporcionar el compuesto puro 16 en forma de un sólido de color blanco; rendimiento del 82 %, p.f. 153-155°C, disolvente de recristalización: benceno; RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400MHz, δ; ppm) δ 1,10-1,11 (m, 1H, CHH ciclopropano), 1,20-1,21 (m, 1H, CHH ciclopropano), 2,30-2,32 (m, 1H, PhCH ciclopropano), 2,43-2,45 (m, 1H, CHNH₃Cl ciclopropano), 2,91-2,92 (dd, 1H, PhCHHCHCOO), 2,96-2,97 (dd, 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, protones aromáticos), 7,10-7,27 (m, 10H, protones aromáticos), 7,49-7,51 (d, 2H, protones aromáticos), 8,34 (s a, 3H, CHNH₃Cl), 10,08 (s a, 1H, PhNHCOCH); RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 400 MHz, 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; EM (IEN) *m/z*: 464,19 [M]⁺

2. ENSAYOS BIOLÓGICOS

45 Métodos

Se expresaron MAO A y MAO B recombinantes humanas en *Pichia pastoris* y se purificaron como se publicó (Binda C, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 9750-9755, 2003). Los ensayos de inhibición y los valores de K_i se midieron usando kinuramina (MAO A) y bencilamina (MAO B) como sustratos a pH 7,5 de acuerdo con los procedimientos publicados (Binda C, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 9750-9755, 2003). Se expresó LSD2 recombinante de ratón en *E. coli* y se purificó como se describe (Karytinovs A, et al., J. Biol. Chem. 284: 17775-17782, 2009). Se expresaron LSD1/CoREST recombinantes humanos en *E. coli* como proteínas separadas y se copurificaron siguiendo los procedimientos presentados anteriormente (Forneris F, et al., Trends Biochem Sci 33: 181-189, 2008). Las actividades enzimáticas y los ensayos de inhibición con ambas desmetilasas se realizaron a pH 7,5-8,0 usando un péptido de H3 metilado (Forneris F, et al., J. Biol. Chem. 282: 20070-20074 2007, Karytinovs A, et al., J. Biol. Chem. 284: 17775-17782, 2009).

Los compuestos se exploraron para determinar su posible efecto sobre la actividad enzimática mediante un ensayo acoplado a peroxidasa a 25°C usando concentraciones de sustrato no saturantes. Los valores de K_{cat} aparentes medidos en presencia de un compuesto (concentración final que varía desde 25°μM a 150°μM, dependiendo de la solubilidad) se compararon con los de un ensayo de referencia realizado en ausencia del compuesto ensayado, Tabla 6.

Las actividades de la LSD1 se ensayaron en Hepes 50°mM/NaOH pH 7,5 usando un péptido de histona H3 monometilado en Lys4 como sustrato. Las actividades de la LSD2 se midieron en Hepes 50°mM/NaOH pH 8,0 con el sustrato péptido de histona H3 dimetilado en Lys4, Tabla 6. Los ensayos de MAO A y MAO B se realizaron en

Hepes 50mM/NaOH pH 7,5, Triton X-100 reducido al 0,5 % (v/v) usando kinuramina y bencilamina, respectivamente, como sustrato, Tabla 6.

5 Se trataron células NB4 a diferentes concentraciones de 6e (Figura 1). Se disolvieron 6e y el ácido retinoico (AR, Sigma) en DMSO a una concentración de 1000X. Se cultivaron células NB4 en medio RPMI, suplementado con FBS al 10 %, penicilina 100 U/ml, estreptomycin 100 µg/ml y se mantuvieron en una incubadora humidificada a 37 °C, O₂ al 10 % y CO₂ al 5 %. Las células se colocaron en placas a una densidad de 150.000/ml y se trataron con AR (10 nM, 100 nM y 1°µM) en presencia o ausencia de 6e 2 µM. En las células tratadas con vehículo se añadió DMSO a una concentración final del 0,2 %. En cada punto temporal (2, 4 y 7 días), se recogieron las células, se tiñeron con una solución de azul de tripano y se contaron usando un hemocitómetro. Solo se puntuaron las células viables. En paralelo, las células preparadas mediante Cytospin se extendieron sobre portaobjetos de vidrio, se secaron al aire y se tiñeron con el método de May Grunwald-Giemsa.

15 Resultados

La tranilcipromina es un inhibidor covalente de las MAO y las LSD y su unión provoca una decoloración de la absorbancia de la flavina unida a proteínas que puede medirse fácilmente (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. Proc Natl Acad Sci USA* 100: 9750-9755, 2003; Schmidt DM, McCafferty DG *trans-2-Phenylcyclopropylamine is a mechanismbased inactivator of the histone demethylase LSD1. Biochemistry* 46: 4408-4416, 2007; Karytinov A, Forneris F, Profumo A, Ciossani G, Battaglioli E, Binda C, Mattevi A. *A novel mammalian flavin-dependent histone demethylase J Biol Chem* 284: 17775-17782, 2009). Esta característica proporcionó una herramienta para una exploración rápida y eficaz de los derivados de tranilcipromina de la presente invención. Cada compuesto se evaluó adicionalmente mediante la medición del efecto sobre las actividades enzimáticas como se presenta en la Tabla 6. Los valores de Ki calculados para los compuestos seleccionados se presentan en la Tabla 7.

Tabla 6: Perfil de actividad de compuestos representativos de la invención

Compuesto	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	+	+	+	-

Compuesto	LSD1 ^{a,b}	LSD2 ^{a,b}	MAO A ^{a,c}	MAO B ^{a,c}
7	+	+	+	-
8	+	+	+	-
9	+	+	ND	+
12	+	+	+	-
16	+	+	+	+

^a Ninguna inhibición se indica con "-", mientras que la inhibición se describe mediante "+". Las concentraciones de inhibidor máximas utilizadas para estudios de inhibición fueron 1^omM o las concentraciones correspondientes a soluciones saturadas de inhibidor para los inhibidores con solubilidad < 1^omM.

^b Las actividades de la LSD1 se ensayaron en Hepes 50^omM/NaOH pH 7,5 usando un péptido de histona H3 monometilado en Lys4 como sustrato. Las actividades de la LSD2 se midieron en Hepes 50^omM/NaOH pH 8,0 con el sustrato péptido de histona H3 dimetilado en Lys4.

^c Los ensayos de la MAO A y la MAO B se realizaron en Hepes 50^omM/NaOH pH 7,5, Triton X-100 reducido al 0,5 % (v/v) mediante el uso de kinuramina y bencilamina, respectivamente, como sustrato.

Tabla 7: Inhibición de compuestos seleccionados de la invención frente a LSD1, LSD2 y monoamina-oxidasas

Compuesto	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 ^e	ninguna inhibición ^d
6l	40	12	49	ninguna inhibición ^d
7	3,3	ND	ND	ninguna inhibición ^d
8	2,1	20	4,0	ninguna inhibición ^d
12	34	ND	19	ninguna inhibición ^d
16	18	ND	ND	ND

^a Las actividades enzimáticas se midieron a 25 °C usando el ensayo acoplado a peroxidasa. Los errores en la determinación de Ki se encuentran dentro del 30 % de sus valores; ND, no determinado. Los valores de Ki se determinaron mediante experimentos de competencia en el estado estable. La lenta tasa de inhibición irreversible permitió que estos experimentos se realizaran mediante enfoques normales del estado estacionario.

^b Las actividades de la LSD1 se ensayaron en Hepes 50^omM/NaOH pH 7,5 usando un péptido de histona H3 monometilado en Lys4 como sustrato. Las actividades de la LSD2 se midieron en Hepes 50^omM/NaOH pH 8,0 con el sustrato péptido de histona H3 dimetilado en Lys4.

^c Los ensayos de la MAO A y la MAO B se realizaron en Hepes 50^omM/NaOH pH 7,5, Triton X-100 reducido al 0,5 % (v/v) mediante el uso de kinuramina y bencilamina, respectivamente, como sustrato.

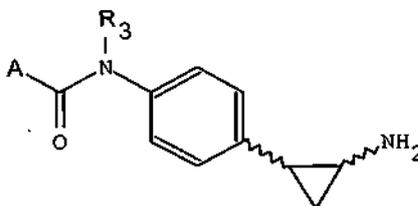
^d Ninguna inhibición detectable a las concentraciones ensayadas máximas, correspondientes a soluciones saturadas de inhibidor.

^e El valor de Ki se volvió a determinar usando preparaciones de MAO A mejoradas dando como resultado un valor ligeramente diferente del publicado en Binda C, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 132: 6827-6833, 2010

- 5 El compuesto 6e se evaluó adicionalmente para determinar su actividad biológica en células NB4 (Figura 1). Se trataron células NB4 a diferentes concentraciones de 6e. Curiosamente, aunque no era eficaz en sí mismo, 6e fue capaz de potenciar fuertemente el efecto diferenciador del AR. Esto se observó a concentraciones de AR tan bajas como 10 nM, que son casi totalmente ineficaces en ausencia de 6e. La combinación de AR y 6e en todas las dosis ensayadas, inhibió cooperativamente el crecimiento celular y condujo a una diferenciación potenciada, como se muestra en las preparaciones de cytospin representativas de la Figura 1. Se mostró un efecto similar cuando se midió la capacidad de inducir la apoptosis celular en células NB4 (Fig. 2). El efecto de 6e fue aumentar la eficacia del ácido retinoico para inducir la apoptosis.
- 10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I)



(I)

5

o un isómero, tautómero, forma racémica, enantiómero, diastereómero, epímero, solvato, mezclas del mismo, sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 10 **A** es R o CH(R₁)-NH-CO-R₂;
R y **R**₂ se seleccionan entre: alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilalquilo, cicloalquilalquilamino, arilalquilamino, heteroarilalquilamino, heterocicloalquilalquilamino;
- 15 **R**₁ se selecciona entre: alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilalquilo;
R₃ es H, alquilo C₁-C₆,

20 y en la que cualquiera de los grupos alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo anteriores está opcionalmente sustituido adicionalmente en cualquiera de sus posiciones libres con uno o más grupos seleccionados entre halógeno, carboxi, ciano, alquilo, alquilo polifluorado, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquil-heteroarilo, heteroaril-alquilo, aminoalquilo, grupos amino y derivados de los mismos seleccionados entre alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino, ureido, alquilureido o arilureido; grupos carbonilamino y derivados de los mismos seleccionados entre formilamino, alquilcarbonilamino, alquencilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcóxicarbonilamino; grupos hidroxilo y derivados de los mismos seleccionados entre alcoxi, alcoxi polifluorado, ariloxi, heteroariloxi, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi o cicloalquiloxi; grupos carbonilo y derivados de los mismos seleccionados entre alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alcóxicarbonilo, ariloxicarbonilo, cicloalquiloxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, dialquilaminocarbonilo, ácido hidroxámico; derivados sulfurados seleccionados entre alquiltio, ariltio, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, arilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilaminosulfonilo o dialquilaminosulfonilo; cada uno de dichos sustituyentes pueden estar sustituido adicionalmente con uno o más de los grupos mencionados anteriormente.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

- 35 **A** es R;
R₃ es H.

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que:

- 40 **R** es alquilo, arilo, arilalquilo, arilalquilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

- 45 **A** es CH(R₁)-NH-CO-R₂;
R₃ es -H.

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:

- 50 **A** es CH(R₁)-NH-CO-R₂;
R₃ es -CH₃.

6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 y 5, en el que, independientemente o en cualquier combinación:

- 55 **R**₁ es alquilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

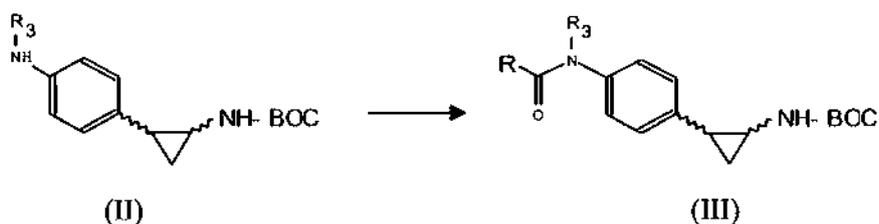
R_2 es arilalquiloxi, heteroarilalquiloxi, arilalquilamino, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido.

7. El compuesto de la reivindicación 1, que pertenece al siguiente grupo:

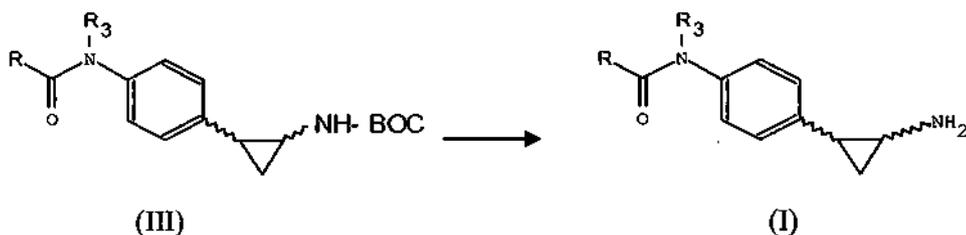
- 5
trans 4-(2-aminociclopropil)fenilcarbamato de bencilo;
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)benzamida;
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-1-naftamida;
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-naftamida;
10 *trans* *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)bifenil-4-carboxamida;
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-fenilacetamida;
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(naftalen-1-il)acetamida;
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(naftalen-2-il)acetamida;
15 *trans* 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-metil-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-ciclohexil-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 2-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-2-oxo-1-feniletilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(4-bromofenil)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo;
20 *trans* 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(4-metoxifenil)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-4-fenilbutan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3,3-difenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(naftalen-1-il)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-3-(naftalen-2-il)-1-oxopropan-2-ilcarbamato de bencilo;
25 *trans* 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-(1H-indol-3-il)-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-4-(benzo[b]tiofen-3-il)-1-oxobutan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de 4-bromobencilo;
cis 1-(4-(2-aminociclopropil)fenilamino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo;
trans *N*¹-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-*N*⁶-hidroxiocetanodiamida;
30 *trans* 1-((4-(2-aminociclopropil)fenil)(metil)amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de bencilo
trans *N*-(4-(2-aminociclopropil)fenil)-2-(3-bencilureido)-3-fenilpropanamida o un isómero, tautómero, forma racémica, enantiómero, diastereómero, epímero, solvato, mezclas del mismo, sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 8. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula general (I) como se ha definido en la reivindicación 1, en el que A es R, comprendiendo el proceso:

- (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un agente acilante seleccionado entre el grupo que
40 consiste en haluros de acilos orgánicos, anhídridos de ácidos orgánicos, ácidos carboxílicos, ésteres o anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos-sulfónicos para proporcionar un compuesto de fórmula (III)

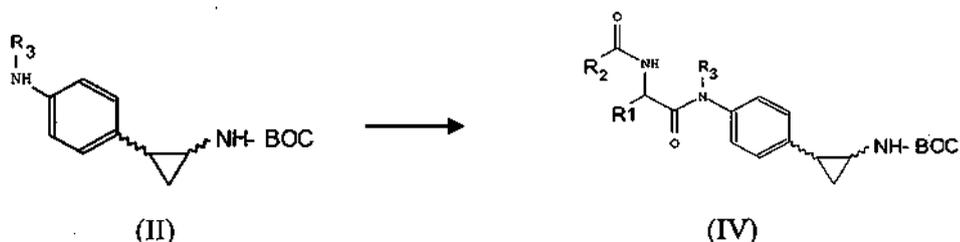


- 45 en la que R, R_3 son como se han definido en la reivindicación 1 y Boc es el grupo protector *tert*-butiloxicarbonilo;
(b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (III) obtenido en a) en otro compuesto de fórmula (III), retirando el grupo protector Boc del compuesto de fórmula (III) para obtener el compuesto de fórmula (I):



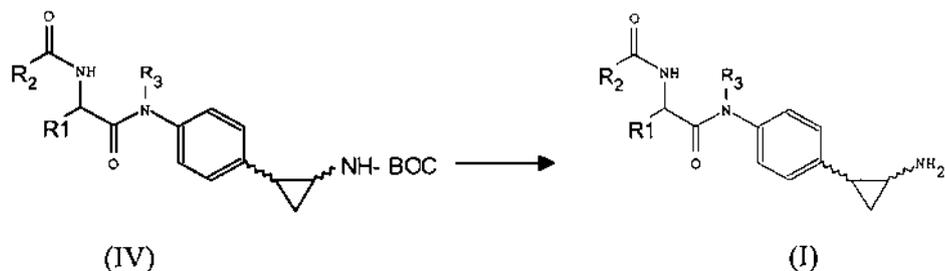
9. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula general (I), de acuerdo con la reivindicación 1, en el que A es CH(R₁)-NH-CO-R₂, comprendiendo el proceso:

- 5 (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II) con un agente acilante seleccionado entre el grupo que consiste en haluros de acilos orgánicos, anhídridos de ácidos orgánicos, ácidos carboxílicos, ésteres o anhídridos mixtos de ácidos carboxílicos-sulfónicos para proporcionar un compuesto de fórmula (IV)



- 10 en la que R₁, R₂, R₃ son como se han definido en la reivindicación 1 y Boc es el grupo protector *tert*-butiloxicarbonilo;

(b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (IV) obtenido en a) en otro compuesto de fórmula (I), retirando el grupo protector Boc del compuesto de fórmula (IV) para obtener el compuesto de fórmula (I):



- 15 10. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 7 para su uso como un inhibidor de la histona-desmetilasa LSD1 y/o LSD2 para el tratamiento de tumores o infecciones virales.

- 20 11. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en terapia.

12. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso como un agente antitumoral o un agente antiviral.

- 25 13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 11 para su uso como un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades y afecciones **caracterizadas por** la desregulación de la transcripción génica, la diferenciación y la proliferación celular.

- 30 14. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de uno o más compuestos de fórmula general (I), de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, solos o en combinación con otros compuestos activos y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15. La composición farmacéutica de la reivindicación 14 que se formula en una forma de dosificación unitaria.

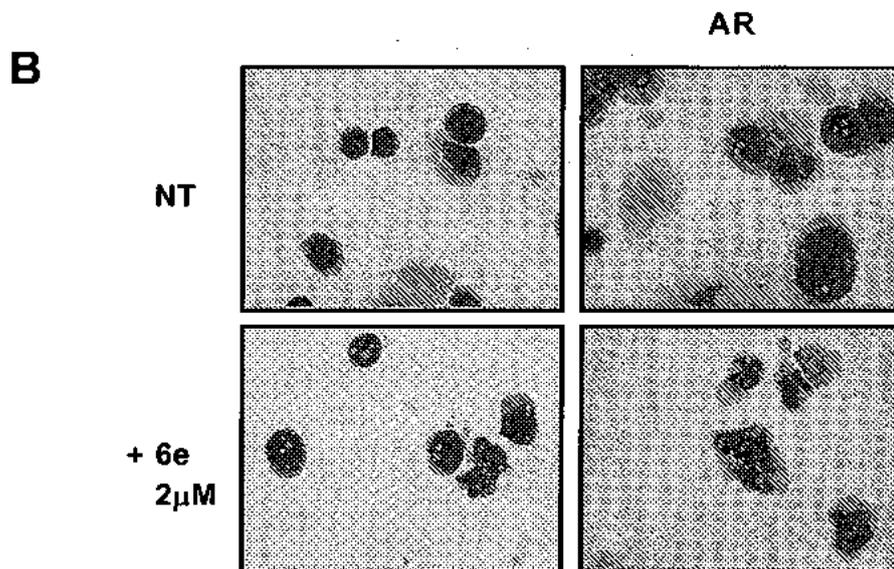
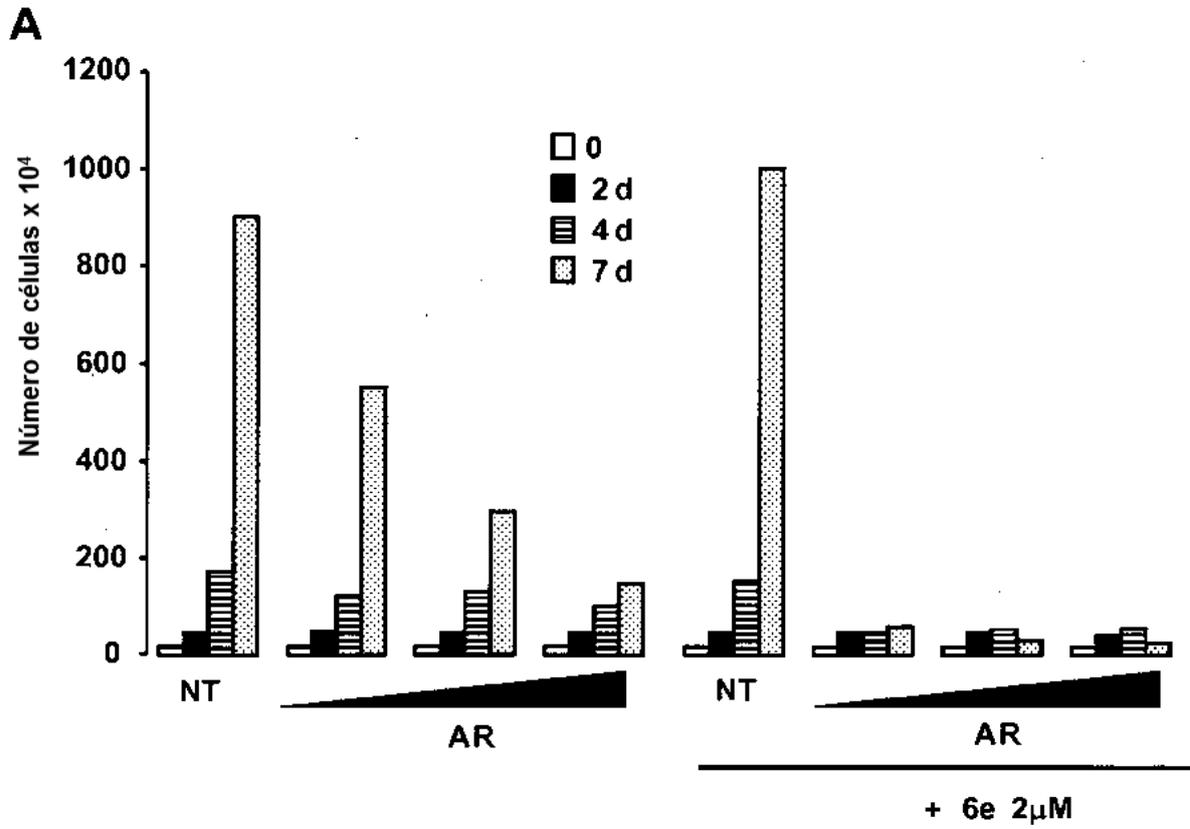


Fig. 1

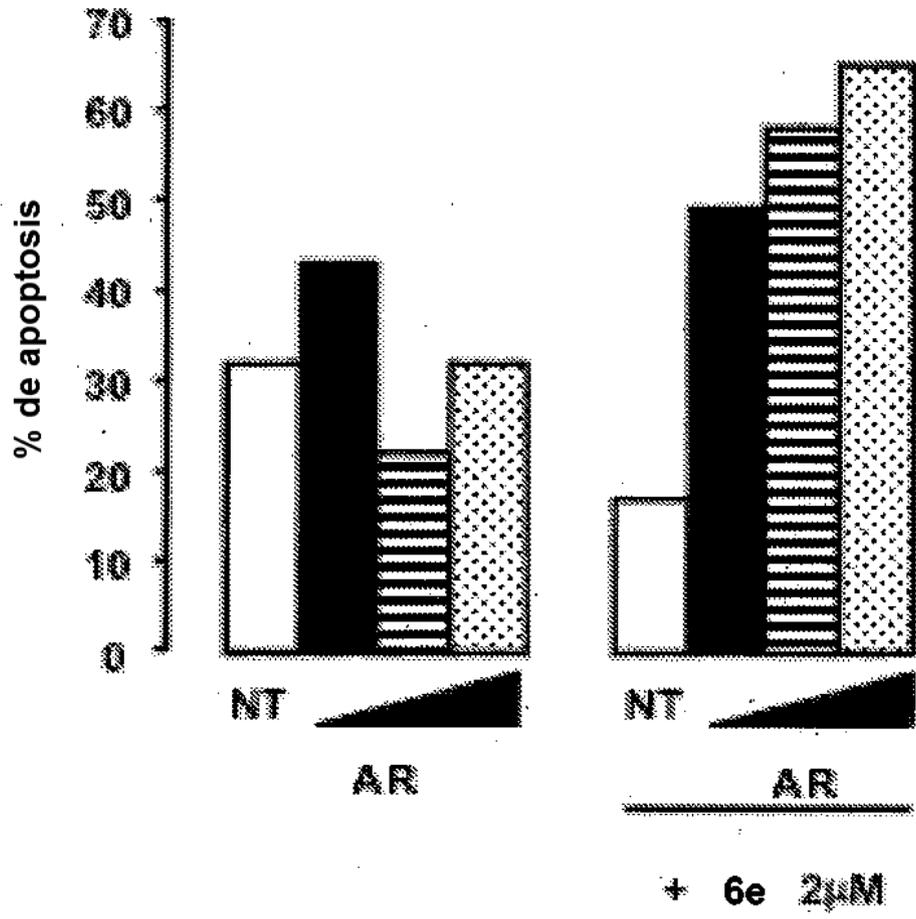


Fig. 2