

赖氨酸特异性去甲基化酶1(LSD1)抑制剂的研究进展

张晓梦, 付金洋, 何雅楠, 弓建红, 杜 镜, 吴 亚*, 支燕乐**

(河南中医药大学药学院, 郑州 450000)

摘要 赖氨酸特异性去甲基化酶1(LSD1)是一种黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)依赖的单胺氧化酶。研究证实,LSD1的异常表达与肿瘤的转移和增殖密切相关,是目前肿瘤靶向治疗的重要靶点之一。另外,LSD1还参与神经退行性疾病、心血管疾病、炎症反应等多种疾病的的发生发展。目前,已经有多个抑制剂进入临床研究阶段。本文对LSD1的结构、作用机制以及LSD1抑制剂的研究进展作简要介绍,为设计开发新型LSD1抑制剂提供参考。

关键词 LSD1; 肿瘤; 去甲基化酶; 抑制剂; 临床研究

中图分类号 R914.2 文献标志码 A

文章编号 1000-5048(2024)05-0685-12

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023100701

引用本文 张晓梦, 付金洋, 何雅楠, 等. 赖氨酸特异性去甲基化酶1(LSD1)抑制剂的研究进展 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(5): 685–696.

Cite this article as: ZHANG Xiaomeng, FU Jinyang, HE Yanan, et al. Research progress of lysine specific demethylase 1 (LSD1) inhibitors[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(5): 685–696.

Research progress of lysine specific demethylase 1 (LSD1) inhibitors

ZHANG Xiaomeng, FU Jinyang, HE Yanan, GONG Jianhong, DU Kun, WU Ya*, ZHI Yanle**

School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

Abstract Lysine specific demethylase1 (LSD1) is a flavin adenine dinucleotide (FAD)-dependent monoamine oxidase. Studies have confirmed that aberrant expression of LSD1 is closely related to tumor metastasis and proliferation, and is currently one of the important targets for tumor-targeted therapy. In addition, LSD1 is involved in the development of various conditions such as neurodegenerative diseases, cardiovascular diseases, and inflammatory responses. Currently, several inhibitors have been developed for the clinical research stage. In this paper, the structure and mechanism of action of LSD1 and the research progress of LSD1 inhibitors are briefly introduced to provide some reference for the design and development of novel LSD1 inhibitors.

Key words LSD1; tumor; demethylase; inhibitor; clinical research

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.82003566)

癌症是由遗传和表观遗传的累积改变驱动的,研究表明,表观遗传异常是人类癌症的普遍特征^[1]。表观遗传学(epigenetics)是指在DNA序列未改变时,基因的表达与功能发生可逆的、可遗传的改变,包括DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA以及核小体重塑^[2]。组蛋白修饰是表观遗传学的重要研究方向,组蛋白分为H2A、H2B、H3和H4,它们与

DNA组成染色质的基本构成单位——核小体。这些组蛋白,尤其是H3和H4,极易发生乙酰化、磷酸化、甲基化、泛素化、腺苷酸化和ADP核糖基化等共价修饰。组蛋白的甲基化主要发生在组蛋白赖氨酸残基上,由组蛋白甲基转移酶(histone methyl transferase, HMT)和组蛋白去甲基化酶(histone demethylase, HDM)催化完成,在转录调控和维持

收稿日期 2023-10-07 通信作者 *Tel: 13783569267 E-mail: wuya0723@126.com

**Tel: 13783696291 E-mail: zhiy_l@163.com

基金项目 国家自然科学基金项目(No.82003566)

基因组稳定性方面起着关键作用^[3]。由于甲基化修饰形成的 C-N 键化学性质非常稳定, 组蛋白甲基化原来被认为是不可逆的。直到 2004 年 Shi 等^[4]发现了赖氨酸特异性去甲基化酶 1 (lysine specific demethylase 1, LSD1), 确定了组蛋白甲基化的过程是可逆的, 为组蛋白的表观遗传修饰提供了新思路。研究表明, LSD1 在许多肿瘤细胞中异常高表达, 阻碍癌症分化进程, 促进癌细胞增殖、转移和侵袭, 并与不良预后相关。因此, 使 LSD1 失活或下调其表达成为研发新型抗肿瘤药物的方向^[5]。

1 LSD1 的结构、作用机制及其生物学功能

1.1 LSD1 的结构

LSD1 又名 KIAA0601、KDM1、AOF2 或 BHC110, 是一类依赖黄素腺嘌呤二核苷酸 (flavin adenine dinucleotide, FAD) 的单胺氧化酶的同源酶, 能够特异性去除组蛋白 H3 第 4 位和第 9 位赖氨酸

(histone H3 lysine 4/9, H3K4/9) 的单、双甲基。LSD1 由 3 部分结构组成, 包括 N 端的 SWIRM 结构域、中心突出的 Tower 结构域和 C 端的胺氧化酶 (amino oxidase like domain, AOD) 结构域 (图 1-A)^[6]。以下以组蛋白 H3(1-7) 和 LSD1-CoREST 复合物的晶体结构为例, 对 LSD1 的结构进行介绍。

1.1.1 Tower 结构域 Tower 结构域由 C 端 AOD 结构域伸出的两条反向平行的 α 螺旋 (α 1 和 α 2) 组成 (图 1-A), 为沉默转录因子 CoREST 提供结合位点^[6]。LSD1 本身不能使核小体去甲基化, 但 LSD1 能够与 CoREST 形成稳定的 LSD1-CoREST 复合物, 该复合物对核小体底物具有较强的去甲基化活性。Tower 结构域起到“桥梁”的作用, LSD1 通过 Tower 招募 CoREST 蛋白后, 可以催化核小体组蛋白赖氨酸的去甲基化^[7]。

1.1.2 SWIRM 结构域 SWIRM 结构域由 6 个长的 α 螺旋和 2 个链状的 β 折叠组成, 主要通过参与

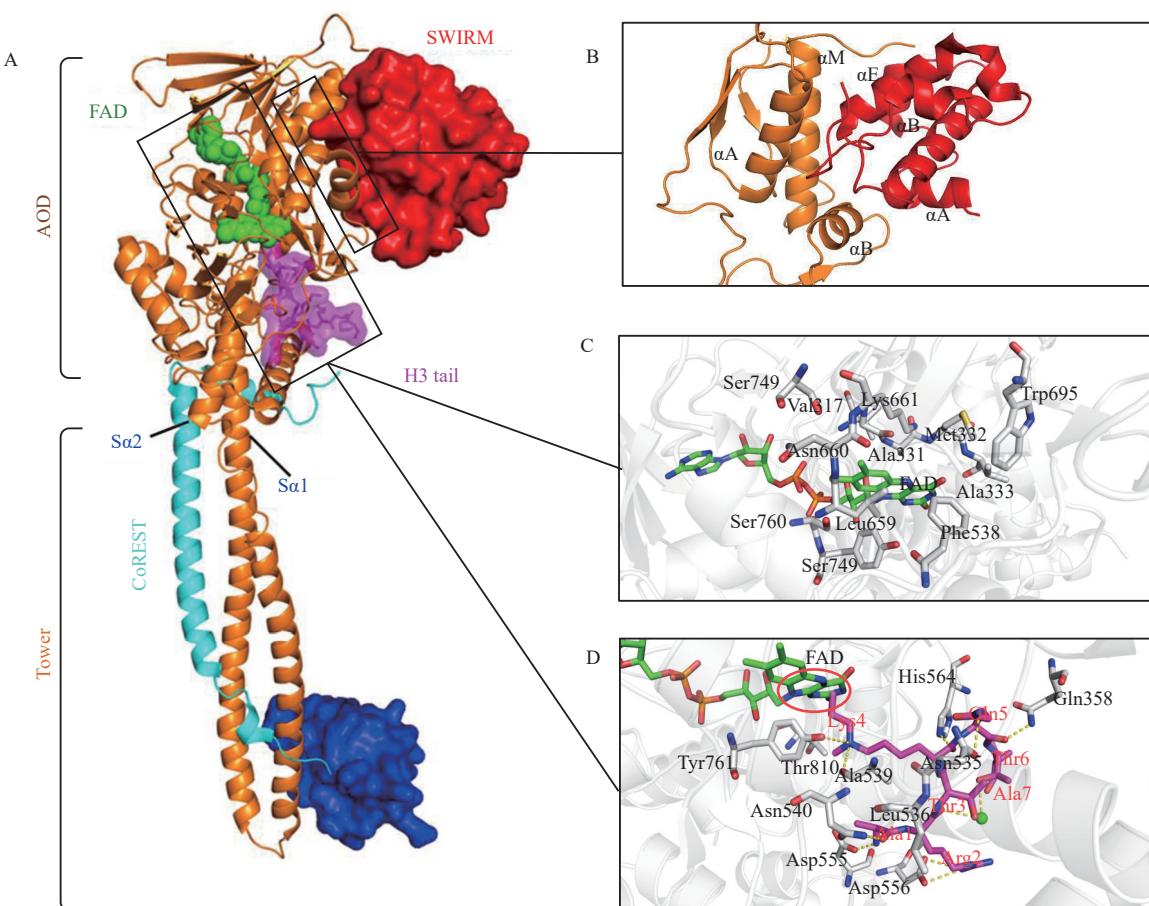


图 1 LSD1/CoREST 复合物的晶体结构(PDB:2UXN)

A: LSD1/CoREST 复合物的整体结构; B: SWIRM 结构域与 AOD 结构域接触的界面; C: FAD 结合区中重要的氨基酸; D: 组蛋白 H3(1-7) 与 LSD1 的作用模式

蛋白-蛋白相互作用来调节染色质重塑和组蛋白修饰,有助于 LSD1 行使其催化功能以及维持结构稳定性。在结构上,SWIRM 结构域(包含 α A、 α B 和 α E)与 AOD 结构域(包含 α A、 α B 和 α M)的 C 末端尾部接合(图 1-B),通过范德华力和疏水作用力紧密堆积在一起^[6]。

1.1.3 AOD 结构域 C 端 AOD 结构域被 Tower 结构划分为 2 个功能区,即 FAD 结合区和底物结合区。在它们的界面处产生一个比较大的空腔,为 LSD1 的催化活性中心。FAD 结合区由 α 螺旋和 β 折叠构成,FAD 的结合位置及其配位氨基酸具有高度保守性。如图 1-C, FAD 的黄素环位于由 Val317、Gly330、Ala331、Met332、Val333、Phe538、Leu659、Asn660、Lys661、Trp695、Ser749、Ser760 和 Tyr761 等氨基酸组成的疏水口袋中,这些氨基酸和 FAD 对底物的精确识别和定位非常重要^[8]。在 FAD 结合口袋附近,由 6 个 β 折叠和 6 个 α 融旋形成了一个空腔,即为 LSD1 的底物结合口袋,该口袋与组蛋白底物结合并发挥催化作用。如图 1-D,组蛋白 H3 肽的 2~6 位氨基酸经过连续转折最终形成“蛇形”构象进入底物结合口袋。组蛋白 H3 N 端的 Ala1 位于由 Ala539、Asn540、Trp552、Asp553、Asp555 和 Asp556 组成的带负电的口袋中,并与 Asp553 和 Asn540 形成氢键和静电相互作用;

Arg2 与 Asp556 形成氢键; Lyp4 与 Ala539、Tyr761 和 His564 形成氢键; Gln5 与 Gln358、Asn535 也存在氢键作用。这些相互作用一方面使 LSD1 能够准确地识别组蛋白 H3,另外也能让 H3K4 的 N-甲胺部分位于 FAD 还原性异丙嗪环的正上方(图 1-D),保证去甲基化反应的顺利进行^[9]。

1.2 LSD1 特异性去甲基化作用机制

由于 LSD1 催化的去甲基化需要底物赖氨酸 N-甲基上有孤对电子存在,故 LSD1 只可去除二甲基和单甲基的赖氨酸残基。如图 2 所示,经 FAD 氧化,底物组蛋白赖氨酸 N-甲基的氢质子转移给 FAD,生成亚胺离子中间体。随后,中间体被水分子进攻生成去甲基化的赖氨酸和 1 分子的甲醛。FAD 得到氢质子后转化成 FADH⁻,随即被氧气氧化为 FAD 和 H₂O₂。

位于 FAD 结合区带正电荷的 Lys661 在整个去甲基化过程中起着重要作用。Lys661 具有将氧分子引导到催化位点的“门控”功能。Lys661 通过一个保守的水分子与 FAD 的 N5 原子以氢键形式连接(图 3)。当 O₂ 分子扩散至 FADH⁻的 N5 原子 5~7 Å 时,会迅速置换连接 Lys661 侧链和 FADH⁻的水分子。通过这种方式,氧分子可以插在 Lys661 和结合的组蛋白 H3 肽之间,靠近 FADH⁻的边缘或表面,将 FADH⁻氧化成 FAD 和 H₂O₂^[10~11]。

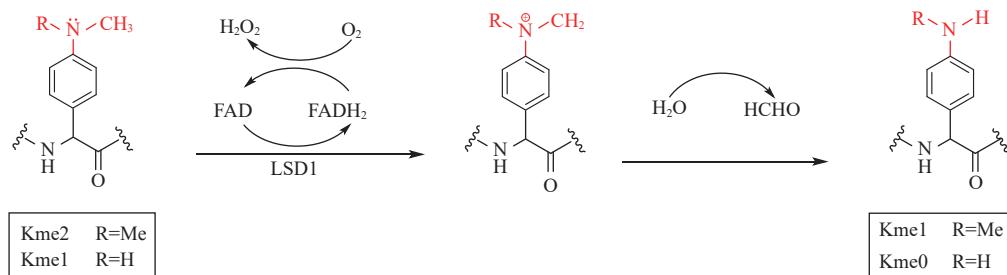


图 2 LSD1 特异性去甲基化作用机制

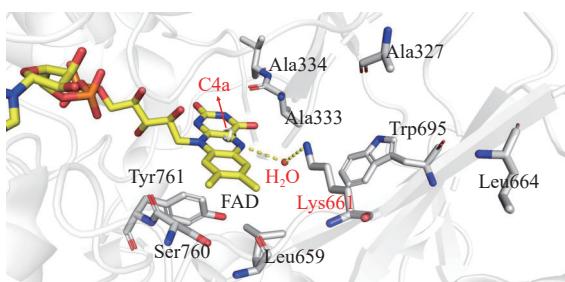


图 3 Lys661 与 FAD 形成氢键相互作用

1.3 LSD1 的生物学功能

LSD1 通过募集不同的蛋白质发挥不同的生理功能。当它与 CoREST、C-末端结合蛋白 1(C-terminal-blinding protein 1, CtBP1)和核小体重塑脱乙酰酶(nucleosome remodeling and deacetylase, NuRD)等蛋白结合形成复合物时,LSD1 通过催化 H3K4me2 和 H3K4me1 的去甲基化发挥转录抑制的作用;与雄激素受体(androgen receptor, AR)和雌激素受体(estrogen receptor, ER)相互作用时,LSD1

通过去甲基化 H3K9me2 和 H3K9me1 作为转录共激活剂, 促进基因转录。此外, LSD1 的神经元特异性异构体 LSD1n 通过催化 H4K20me2 的去甲基化实现对神经元调节基因的转录激活。LSD1 还能调节非组蛋白底物的表达, 包括 DNA 甲基转移酶 1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)、肿瘤抑制蛋白 p53、肌球蛋白磷酸酶靶向亚基 1(MYPT1)、信号转导和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)以及 E2F 转录因子 1(E2F transcription factor 1, E2F1)等。综上所述, LSD1 通过调节组蛋白与非组蛋白基因的表达, 参与各种细胞过程, 包括细胞分化和增殖、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT); 它的失调与肿瘤的侵袭和转移密切相关, 包括急性髓细胞白血病(acute myelocytic leukemia, AML)、结直肠癌(cell resource center, CRC)、小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)、前列腺癌(prostatic cancer, PC)等^[12–30]。

除此之外, LSD1 还能够与各种细胞蛋白相互作用, 产生不同的生物学效应。例如: LSD1 作为抑癌因子 FBXW7(F-box and WD repeat domain-containing 7, FBXW7)的假底物, 触发 FBXW7 自身泛素化和降解, 对 FBXW7 进行负调控^[31]; 以非甲基化的方式保护雌激素相关受体 α (estrogen-related receptor α , ERR α)不被蛋白酶依赖性降解^[32]; 在妇科癌症中发现 LSD1 以非催化的方式破坏 p62 蛋白的稳定并抑制自噬^[33]。然而, 对于 LSD1 非去甲基化的生物学功能和机制还有待进一步探索。

2 LSD1 抑制剂的研究进展

随着 LSD1 机制研究的深入, LSD1 抑制剂的开发也有了较大进展。LSD1 抑制剂按照结构可分为 tranylcypromine(TCP)类衍生物、多胺类衍生物、多肽类衍生物、黄酮类化合物、五元杂环类、六元杂环类、稠杂环化合物及其他类化合物。对于多肽类化合物, 最初因 SNAIL1 具有与组蛋白 H3 底物 N 端相似的氨基酸序列, 而作为内源性抑制剂备受人们关注^[34]。但是, 深入研究发现这类化合物生物利用度低、分子量过大且容易被体内的多种酶水解导致代谢不稳定, 近几年研究较少, 不再过多阐述; 本文主要介绍小分子 LSD1 抑制剂的研究进展。根据抑制剂与 LSD1 的结合模式及作用机制不同, 现有的 LSD1 抑制剂可分为不可逆 LSD1 抑制

剂和可逆 LSD1 抑制剂两种类型。

2.1 不可逆 LSD1 抑制剂

TCP 是临幊上用于治疗抑郁症的单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)抑制剂(MAO-A, $K_i = 102 \mu\text{mol/L}$; MAO-B, $K_i = 16 \mu\text{mol/L}$)。因为 LSD1 和 MAO 是同源蛋白, 所以 TCP 对 LSD1 也有一定的抑制活性($K_i = 243 \mu\text{mol/L}$)^[35–36]。TCP 通过单电子转移机制使环丙基环均裂共价结合于 FAD 的 C4 或 N5 位, 经水解得到 4 种不同的 TCP-FAD 加合物, 不可逆的抑制 LSD1。如图 4 所示, FAD-TCP 加合物的周围分布着 3 个疏水口袋, 这为 TCP 的结构修饰提供了空间和作用位点^[37]。

由于 TCP-FAD 加合物的苯环靠近由 His812 和 Thr335 等疏水性氨基酸组成的疏水口袋(蓝色), 所以在苯环上引入氟原子、溴原子等卤素会增强对 LSD1 的抑制活性, 如化合物 1 和化合物 2(图 5)。另外, 由于在 LSD1 分子中苯环所处位置的空腔大于 MAO, 因此, 在苯环上引入体积较大的疏水性基团可以增强对 LSD1 的抑制活性和选择性如化合物 3、化合物 4、化合物 5 和化合物 6, 在苯环对位通过酰胺键或醚键连接含芳环或芳杂环等大基团时, 化合物对 LSD1 的抑制活性和选择性有明显提升。

对 TCP 的胺基进行结构修饰也可以显著提高对 LSD1 的抑制活性, 一般是对胺基进行烷基化修饰, 在其烷基链上引入极性取代基如氨基、羧基等, 伸入周围的疏水空腔内与氨基酸形成氢键, 增强化合物与 FAD 形成加合物的稳定性, 如化合物 7。

TCP 的结构修饰主要集中在苯环和胺基上, 考虑到立体化学对其活性造成的影响, 结构修饰得到的化合物多为反式外消旋衍生物。环丙烷是发挥共价结合的关键基团, 结构修饰较少, 当在环丙烷的 α 或 β 位引入小体积的烷基时可以增强对 LSD1 的抑制活性, 如化合物 8。

迄今为止, 发现了多个 LSD1 不可逆抑制剂^[36], 其中 ORY-1001、ORY-2001、INC059872、IMG-7289、GSK2879552 和 TAK-418 已进入临幊阶段(图 6)。在 GSK2879552 治疗 SCLC 的 I 期临幊试验中, GSK2879552 会引发脑病致患者死亡, 目前关于 GSK2879552 的临幊试验均已被终止^[38]。目前临幊试验进展较快, 已进入 II 期临幊试验阶段的 LSD1 抑制剂有 ORY-1001、ORY-2001 和 IMG-7289。

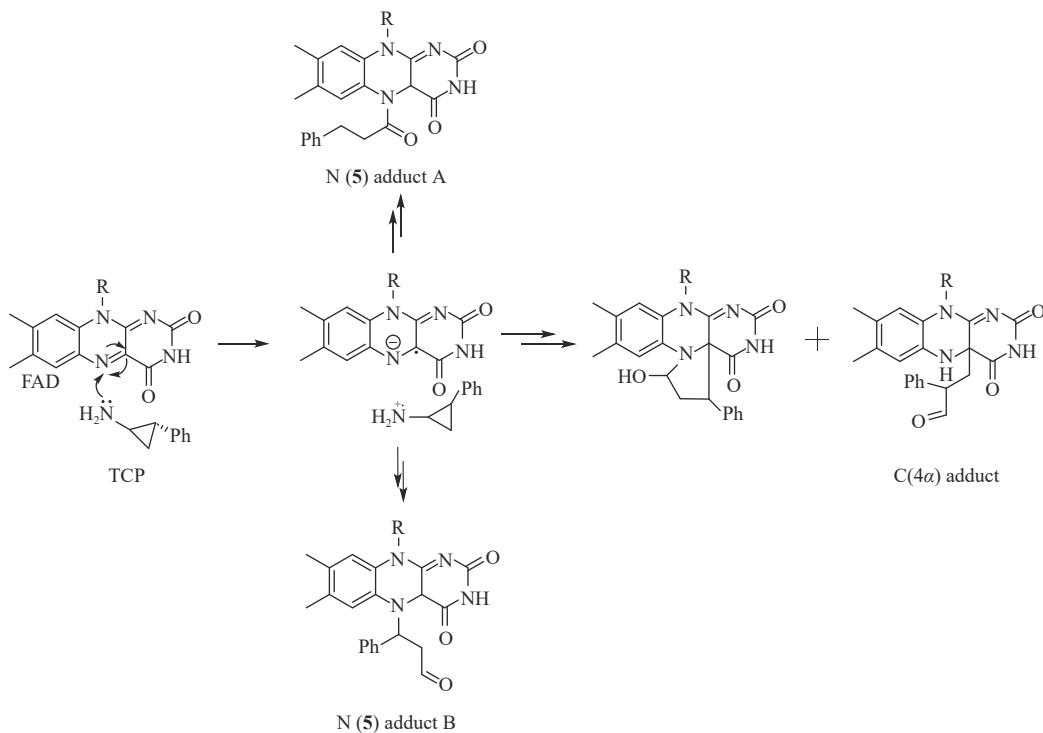


图 4 TCP 与 LSD1 的作用模式(PDB:2UXX)

A: LSD1 与 TCP 形成不同加合物的机制; B: TCP-FAD 加合物与 3 个疏水口袋的空腔图

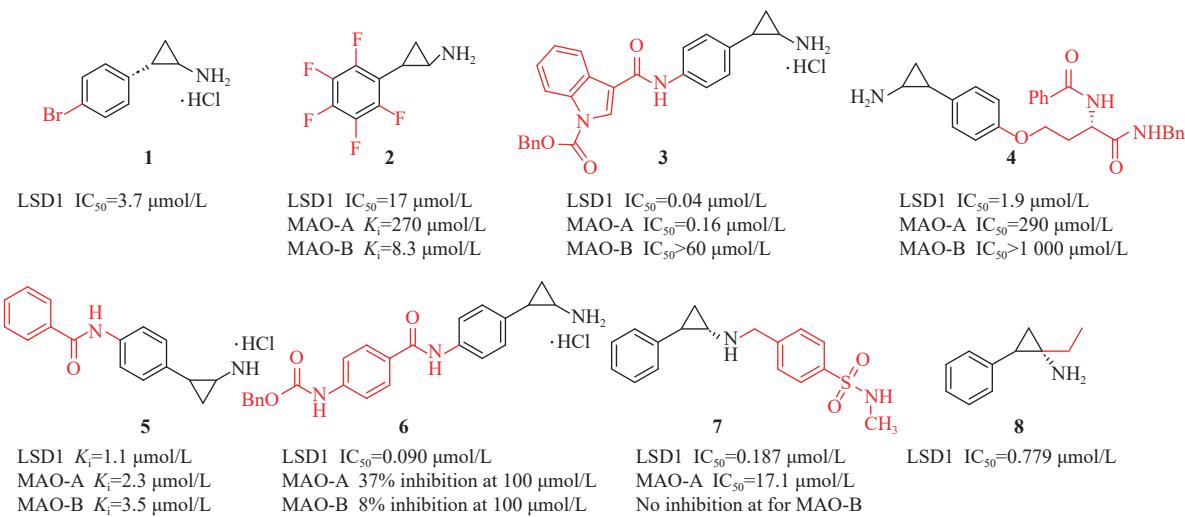


图 5 基于 TCP 结构修饰的化合物

由 Oryzon Genomics 公司开发的 ORY-1001 是一种高效和高选择性的 LSD1 抑制剂, IC_{50} 为 18 nmol/L^[39]。2018 年 9 月 7 日, 该公司开展了 ORY-1001 与阿扎胞苷(azacitidine)联用治疗 AML 的临床试验, 结果显示: 73% 的患者在联合用药后 AML 症状得到缓解, 最常见的不良反应是血小板减少症。2020 年, 一项Ⅱ期临床试验结果表明, 当 ORY-1001 与铂-依托泊苷联合治疗 SCLC 时, 患者的无

进展生存期可长达 15 个月。

ORY-2001 是 Oryzon Genomics 公司开发的另一种 LSD1/MAO-B 双靶点抑制剂, 对 LSD1 的抑制活性为 1.6 nmol/L, 具有较好的口服生物利用度和血脑屏障渗透性, 临幊上主要用于治疗各种神经系统疾病^[35]。

IMG-7289 是由 Imago BioSciences 公司研发的 LSD1 抑制剂 ($IC_{50}=10 \text{ nmol/L}$)。2022 年 3 月

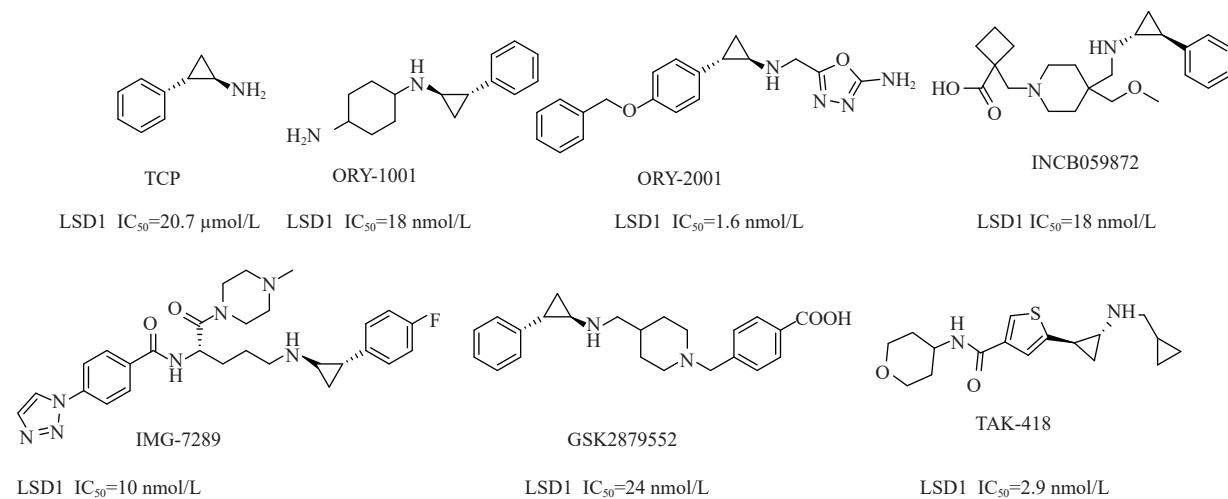


图 6 进入临床的不可逆 LSD1 抑制剂

8 日, 该公司完成了一项用 IMG-7289 治疗骨髓纤维化(myelofibrosis, MF)的Ⅱ期临床研究。在该研究中, IMG-7289 具有良好的耐受性, 能够减小 MF 患者的脾脏体积, 同时改善贫血^[40]。2023 年 3 月 23 日, 完成了用 IMG-7289 治疗原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)的Ⅱ期临床研究。结果表明: ET 患者对 IMG-7289 显示出良好的耐受性, IMG-7289 能够减少血小板的数量、降低白细胞计数, 同时维持血红蛋白的数量。在接受至少 6 周治疗的患者中, 81% 的患者外周血细胞计数完全正常, 且无疾病复发迹象^[41]。

2.2 可逆 LSD1 抑制剂

LSD1 不可逆抑制剂可能会与含有 FAD 结构的非靶标蛋白质进行共价结合, 从而增加不可预期的毒性反应风险。可逆的 LSD1 抑制剂通过以氢键、范德华力和疏水作用力等形式与 LSD1 结合。近年来, 已经有多个可逆 LSD1 抑制剂被报道, 其中 CC-90011 和 SP-2577(图 7)已经进入临床试验阶段^[42]。根据抑制剂的结合位点, 将可逆 LSD1 抑制剂分为 FAD 竞争性和非 FAD 竞争性 LSD1 抑制剂两种类型。

2.2.1 FAD 竞争性 LSD1 抑制剂 FAD 是 LSD1 的辅助因子, LSD1 需要与 FAD 结合后才能发挥催化组蛋白的去甲基化作用。因此, 与 FAD 具有相似结构特征或骨架的化合物可以与 FAD 竞争结合位点, 进而抑制 LSD1 的活性。

2020 年, Ma 等^[43]设计合成了一系列 5-氰基-6-苯基嘧啶衍生物。分子对接表明(图 8), 该类化合物通过竞争性占据 FAD(黄色)的结合位点来抑制 LSD1 的活性。当在化合物 **9** 的结构上引入酰脲基团延伸三唑环的侧链, 酰脲基中的氧原子与 LSD1 中的 Thr624 和 Arg316 形成两个氢键, 对 LSD1 的活性显著增强。进一步结构修饰得到化合物 **10**, 其对 LSD1 的 IC_{50} 为 183 nmol/L。

2020 年, He 等^[44]报道了一类含有苯并呋喃酰基腙结构的 LSD1 抑制剂。化合物 **11** 对 LSD1 表现出显著的抑制活性, IC_{50} 为 14.4 nmol/L(图 9-A)。分子对接表明: 化合物 **11**(绿色)占据 FAD(黄色)的结合位点(图 9-B)。苯并呋喃上的羟基与 Asp555 形成氢键, 呋喃环上的氧原子与 Phe560 形

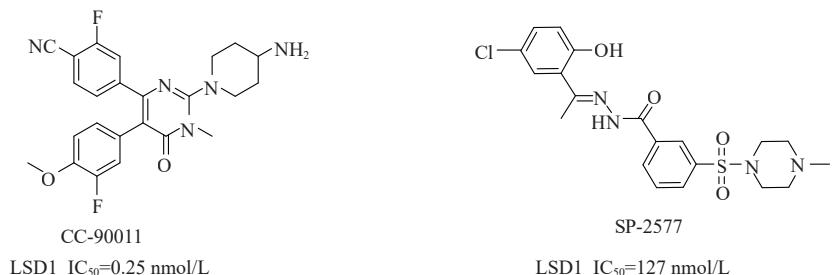


图 7 进入临床的可逆 LSD1 抑制剂

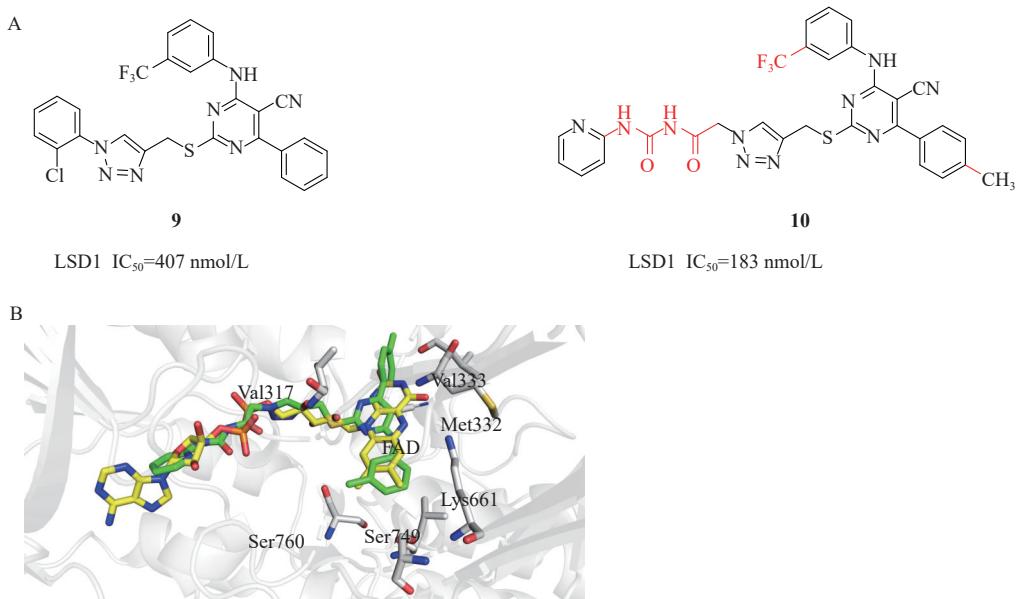


图 8 化合物 9、化合物 10 的结构以及化合物 10 与 LSD1 的结合模式

A: 化合物 9、化合物 10 的结构; B: 化合物 10(绿色)与 LSD1(PDB:2DW4)的分子对接图

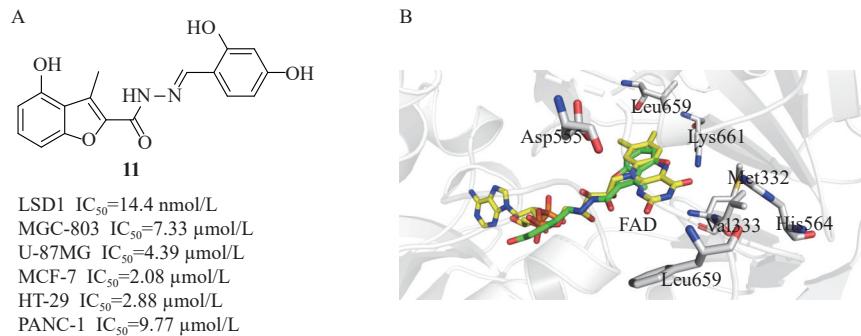


图 9 化合物 11 的结构及其与 LSD1 的结合模式

A: 化合物 11 的结构; B: 化合物 11(绿色)与 LSD1(PDB:5X60)的作用模式

成氢键, 羰基与 His564 形成氢键。体外抗肿瘤活性表明, 化合物 11 对 MGC-803、U-87MG、PANC-1、HT-29 和 MCF-7 等肿瘤细胞株表现出较强的抗增殖活性。

抗精神病药物氯丙嗪和 FAD 具有相似的结构。2023 年, Dai 等^[45]发现氯丙嗪对 LSD1 具有抑制活性, IC_{50} 为 $5.135 \mu\text{mol/L}$ 。对氯丙嗪进行结构修饰发现侧链末端为吗啉, 并且侧链长度为二个亚甲基时(化合物 12), 对 LSD1 的抑制活性最强, IC_{50} 为 $0.247 \mu\text{mol/L}$ (图 10-A)。相较于 LSD2 以及 MAO-A/B, 化合物 12 对 LSD1 具有较好的选择性。对接结果表明, 化合物 12 占据 FAD 的结合位点, 吡噻嗪与氨基酸 Met332 和 Ala331 形成 π -H 相互作用(图 10-B)。因此, 吡噻嗪母核可作为新型

LSD1 抑制剂开发的先导化合物。

2.2.2 非 FAD 竞争性 LSD1 抑制剂

非 FAD 竞争性 LSD1 抑制剂大多作用于 LSD1 的催化活性中心, 不与 FAD 发生共价结合或竞争作用。这类抑制剂通过阻断 H3 底物被识别来抑制 LSD1 的去甲基化活性。

Celgene 公司开发的 CC-90011(图 11-A)是第一个进入临床试验的可逆的 LSD1 抑制剂($IC_{50}=0.25 \text{ nmol/L}$)。研究表明, CC-90011 对 THP-1 ($EC_{50}=7 \text{ nmol/L}$) 以及 Kasumi-1 细胞 ($EC_{50}=2 \text{ nmol/L}$) 表现出显著的抗增殖活性。目前正在进行 CC-90011 与 nivolumab 联合用药治疗小细胞肺癌或鳞状非小细胞肺癌的Ⅱ期临床试验^[46]。

CC-90011 与 LSD1-CoREST 的晶体复合物已

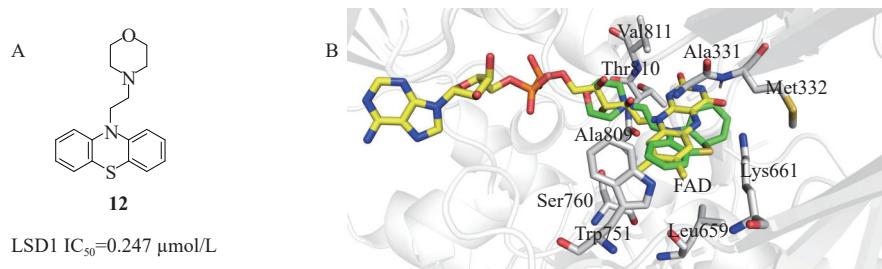


图 10 化合物 12 及其与 LSD1 的结合模式

A: 化合物 12 的结构; B: 化合物 12(绿色)与 LSD1(PDB:2V1D)的分子对接图

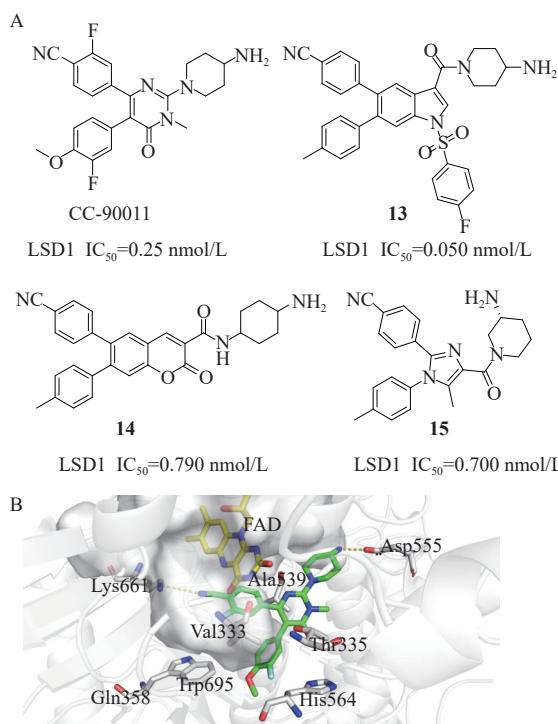


图 11 “Y”型构象化合物的结构以及 CC-90011 与 LSD1 的结合模式
 A: “Y”型构象的化合物的结构; B: CC-90011(绿色)与 LSD1 的结合模式图(PDB:6W4K)

经被解析出来(图 11-B),该化合物以“Y”型构象与 LSD1 结合,随后多个类似化合物被开发出来,如化合物 **13**、化合物 **14** 和化合物 **15**(图 11-A)。该类化合物与 FAD 的作用模式与 CC-90011 相似(图 12):中心母核多为含氮杂环或苯并杂环,能够与 FAD 或空腔内的氨基酸形成 $\pi-\pi$ 或 $\pi-H$ 相互作用;R¹ 部分用不同的碱基片段修饰,和 Asp555 或 Asp552 形成氢键或盐桥作用;在 R² 部分引入疏水性基团,与 Gln358、His564 和 Trp695 等氨基酸形成疏水作用;分子中的氰基可与 LSD1 中的关键氨基酸 Lys661 形成氢键,在 R³ 部分适当引入卤素进行取代,可能会对其活性造成影响;在 R⁴ 部分引入

极性小基团进行取代,可与 LSD1 空腔内的氨基酸形成更多的相互作用有利于活性的提升。

化合物 **16**(图 13-A)早期作为组蛋白 H3K9 甲基转移酶 G9a 和 G9a-like 的抑制剂。研究表明化合物 **16** 对 LSD1 具有较强的抑制活性, IC_{50} 为 $0.243 \mu\text{mol/L}$ ^[47]。分子对接显示, 化合物 **16** 与带负电荷的 Asp555、Asp557 和 Glu559 之间存在静电相互作用, 多个化合物 **16** 之间通过 $\pi-\pi$ 堆积重叠在一起阻塞底物与 FAD 接触(图 13-B)。将化合物 **16** 支链末端的苯环替换为萘环得到化合物 **17** (图 13-A), 其对 LSD1 的 IC_{50} 达到 $0.075 \mu\text{mol/L}$ 。化合物 **17** 与 Asp555、Asp556、Asp557 和 Glu559 形成氢键, 还与 Trp552、Asp556、Phe558 和 Tyr761 之间存在疏水作用力(图 13-C)。这些相互作用增强了化合物 **17** 对 LSD1 的抑制活性, 同时化合物 **17** 对 THP-1 和 MDA-MB-231 的抗增殖作用也明显增强^[48]。

2020年,Romussi等^[49]报道了一种 嘻吩并吡咯类的LSD1抑制剂。该课题组以化合物**18**为先导化合物,在咪唑环的R¹位用一系列的小烷基进行取代,发现引入环丁烷得到的化合物对LSD1的抑制活性最好。随后在咪唑环的R²位引入不同链长的末端环胺。其中,化合物**19**(图14-A)对LSD1表现出较好的抑制活性,IC₅₀为0.190 nmol/L。分子对接表明,化合物**19**以“U”形构象与LSD1结合,其嘻吩并吡咯基团与Val333、Thr335和Leu659等氨基酸形成疏水作用,与FAD的黄素环之间形成π-π相互作用,哌啶环的氨基与Asp555和Asp556形成氢键,环丁烷位于由Phe538、Leu659、Lys661和Trp695组成的疏水口袋中(图14-B)。化合物**19**能够有效抑制白血病细胞系THP-1和MV4-11的增殖,在体内实验中也表现出较强的抗肿瘤效果。

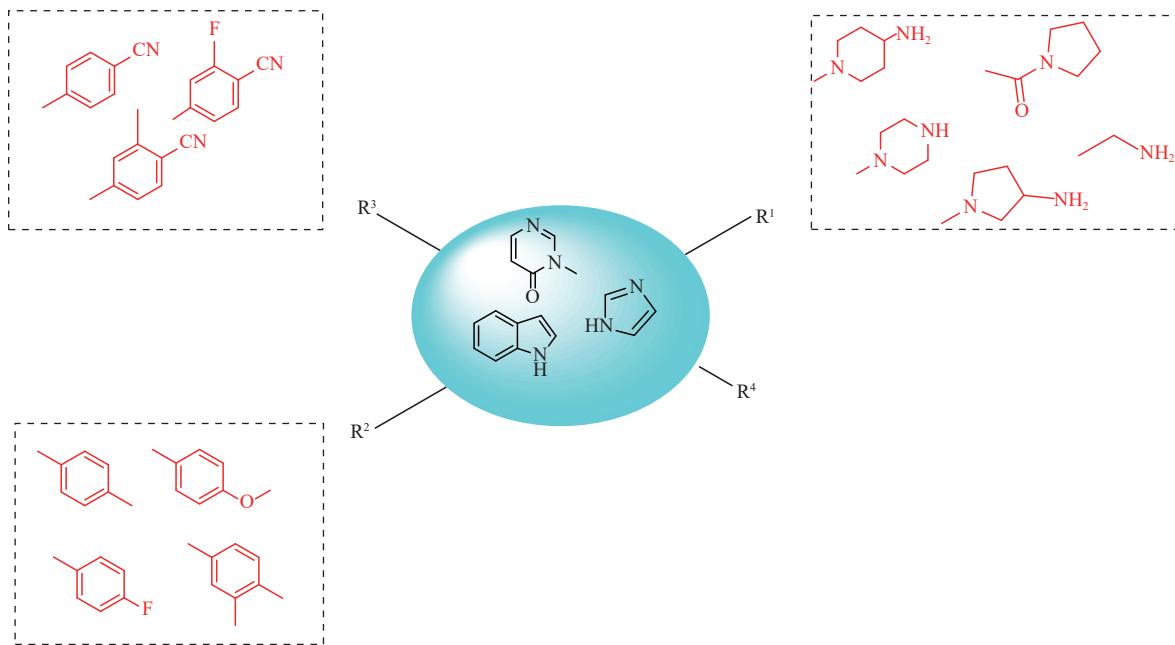


图 12 “Y”型化合物的构效关系

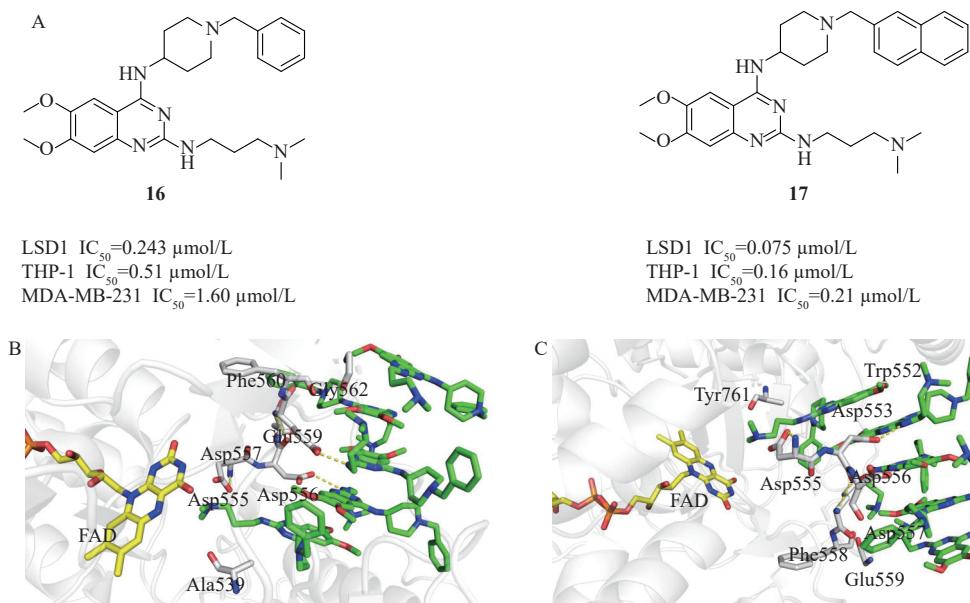


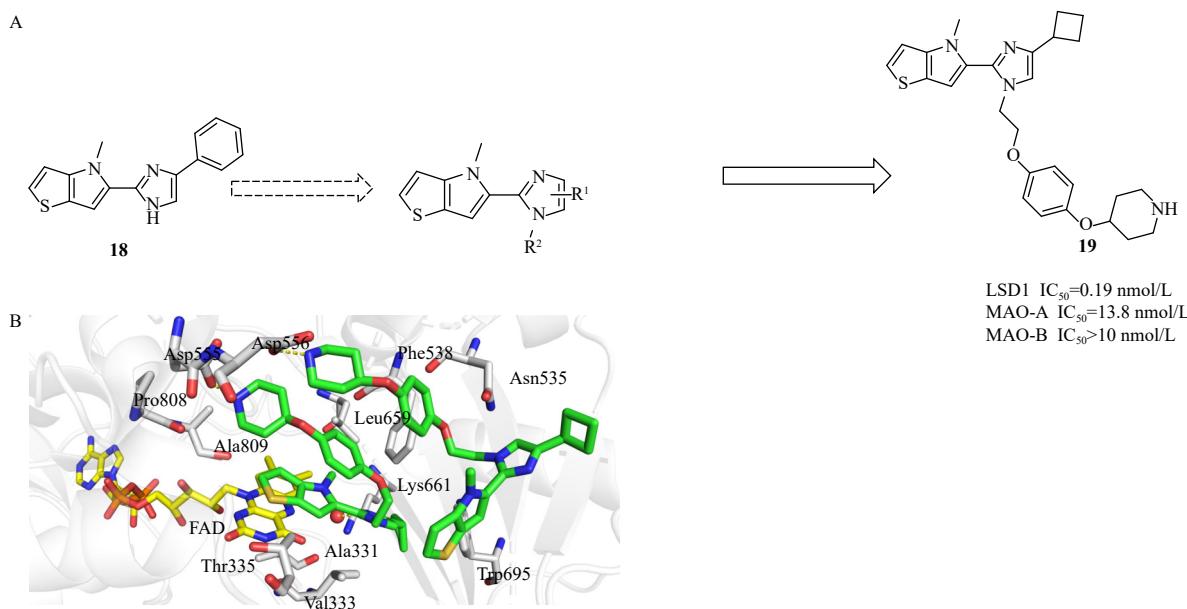
图 13 化合物 16 和化合物 17 的结构及其与 LSD1 的结合模式

A: 化合物 16 和化合物 17 的结构; B: 化合物 16(绿色)与 LSD1 的结合模式(PDB:5L3E); C: 化合物 17(绿色)与 LSD1 的结合模式(PDB:6TUY)

3 总结与展望

LSD1 作为一个表观遗传相关的药物靶点, 自被发现以来, 迅速成为了医药研究领域的热点。近年来, LSD1 抑制剂的研究取得了较大的进展, 越来越多的药物进入临床试验, 并在肿瘤和神经系统疾病的治疗中表现出了较大的治疗潜力。

目前开发出来的 LSD1 抑制剂主要分为可逆和不可逆两种类型, 不可逆抑制剂对多种疾病尤其是 SCLC 和 AML 表现出较好的治疗潜力, 但其较差的选择性会引起潜在的毒性。相对来讲, 可逆抑制剂更有利避免不良反应。目前已经有可逆抑制剂进入临床研究阶段, 例如 CC-9001 和 SP-2577 对 LSD1 都表现显著的抑制活性, 为新型



LSD1 $IC_{50}=0.19$ nmol/L
MAO-A $IC_{50}=13.8$ nmol/L
MAO-B $IC_{50}>10$ nmol/L

图 14 化合物 19 及其与 LSD1 的结合模式

A: 化合物 18 结构修饰为化合物 19; B: 化合物 19(绿色)与 LSD1 的结合模式(PDB:6TE1)

LSD1 抑制剂的开发提供了思路。因此,开发新型高效低毒的可逆 LSD1 抑制剂是 LSD1 抑制剂的研究方向。另外,在 LSD1 中除了高度保守的催化活性中心, LSD1 其他的结构域(例如:LSD1 的 SWIRM/AOD、CoREST/Tower 和 AOD/Tower 界面的铰链区)也能够与各种蛋白、核酸相互作用,对 LSD1 发挥去甲基化以及非去甲基化功能有着重要作用。因此,靶向这些结构域来开发 LSD1 抑制剂也是重要研究方向。

抑癌基因在肿瘤细胞中的表达受多种因素影响,作用机制复杂。联合使用 LSD1 抑制剂和其他药物以及设计多靶点抑制剂可以从不同方面抑制肿瘤的生长增殖,改善治疗效果,并减少其耐药性。临幊上维奈托克(venetoclax)和阿扎胞苷(azacitidine)联用是治疗老年 AML 患者的传统方法。CC-90011 与这两种药物联用可以增强对 LSD1 的抑制活性以及维奈托克和阿扎胞苷的敏感性(NCT04748848)。另外,由于 LSD1 的非去甲基化功能在肿瘤的发生发展过程中也发挥着重要的作用,PROTAC 技术可以直接降解 LSD1,因此,设计开发基于 LSD1 的降解剂可以完全抑制 LSD1 的功能,有利于增强其抗肿瘤活性。虽然目前尚未有 LSD1 抑制剂上市,但数据已经证明了 LSD1 是一个优秀的肿瘤治疗靶点,随着研究的不断深入,LSD1 必定在肿瘤的治疗中取得新的突破。

References

- [1] Feng S, De Carvalho DD. Clinical advances in targeting epigenetics for cancer therapy[J]. *FEBS J*, 2022, **289**(5): 1214-1239.
- [2] Hogg SJ, Beavis PA, Dawson MA, et al. Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, **19**(11): 776-800.
- [3] Greer EL, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance[J]. *Nat Rev Genet*, 2012, **13**(5): 343-357.
- [4] Shi Y, Lan F, Matson C, et al. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1[J]. *Cell*, 2004, **119**(7): 941-953.
- [5] Yang GJ, Lei PM, Wong SY, et al. Pharmacological Inhibition of LSD1 for Cancer Treatment[J]. *Molecules*, 2018, **23**(12): 3194.
- [6] Chen Y, Yang Y, Wang F, et al. Crystal structure of human histone lysine-specific demethylase 1 (LSD1)[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, **103**(38): 13956-13961.
- [7] Pilotti S, Speranzini V, Tortorici M, et al. Interplay among nucleosomal DNA, histone tails, and corepressor CoREST underlies LSD1-mediated H3 demethylation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112**(9): 2752-2757.
- [8] Stavropoulos P, Blobel G, Hoelz A. Crystal structure and mechanism of human lysine-specific demethylase-1[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, **13**(7): 626-632.
- [9] Yang M, Culhane JC, Szewczuk LM, et al. Structural basis of histone demethylation by LSD1 revealed by suicide inactivation[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, **14**(6): 535-539.

- [10] Karasulu B, Patil M, Thiel W. Amine oxidation mediated by lysine-specific demethylase 1: quantum mechanics/molecular mechanics insights into mechanism and role of lysine 661[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, **135**(36): 13400-13413.
- [11] Baron R, Binda C, Tortorici M, et al. Molecular mimicry and ligand recognition in binding and catalysis by the histone demethylase LSD1-CoREST complex[J]. *Structure*, 2011, **19**(2): 212-220.
- [12] Kim SA, Zhu J, Yennawar N, et al. Crystal structure of the LSD1/CoREST histone demethylase bound to its nucleosome substrate[J]. *Mol Cell*, 2020, **78**(5): 903-914.
- [13] Ferrarese R, Izzo A, Andrieux G, et al. ZBTB18 inhibits SREBP-dependent lipid synthesis by halting CTBPs and LSD1 activity in glioblastoma[J]. *Life Sci Alliance*, 2023, **6**(1): e202201400.
- [14] Zheng Y, Zeng Y, Qiu R, et al. The homeotic protein SIX3 suppresses carcinogenesis and metastasis through recruiting the LSD1/NuRD(MTA3) complex[J]. *Theranostics*, 2018, **8**(4): 972-989.
- [15] Bennesch MA, Segala G, Wider D, et al. LSD1 engages a corepressor complex for the activation of the estrogen receptor α by estrogen and cAMP[J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(18): 8655-8670.
- [16] Wang J, Telese F, Tan Y, et al. LSD1n is an H4K20 demethylase regulating memory formation via transcriptional elongation control[J]. *Nat Neurosci*, 2015, **18**(9): 1256-1264.
- [17] Kim D, Kim KI, Baek SH. Roles of lysine-specific demethylase 1 (LSD1) in homeostasis and diseases[J]. *J Biomed Sci*, 2021, **28**: 41.
- [18] Park JW, Bae YS. Downregulation of JMJD2a and LSD1 is involved in CK2 inhibition-mediated cellular senescence through the p53-SUV39h1 pathway[J]. *BMB Rep*, 2022, **55**(2): 92-97.
- [19] Cho HS, Suzuki T, Dohmae N, et al. Demethylation of RB regulator MYPT1 by histone demethylase LSD1 promotes cell cycle progression in cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2011, **71**(3): 655-660.
- [20] Zhen H, Zhang X, Zhang L, et al. SP2509, an inhibitor of LSD1, exerts potential antitumor effects by targeting the JAK/STAT3 signaling[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2021, **53**(8): 1098-1105.
- [21] Doi K, Murata K, Ito S, et al. Role of lysine-specific demethylase 1 in metabolically integrating osteoclast differentiation and inflammatory bone resorption through hypoxia-inducible factor 1 α and E2F1 α [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2022, **74**(6): 948-960.
- [22] Diao W, Zheng J, Li Y, et al. Targeting histone demethylases as a potential cancer therapy (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2022, **61**(3): 103.
- [23] Xie Q, Tang T, Pang J, et al. LSD1 promotes bladder cancer progression by upregulating LEF1 and enhancing EMT[J]. *Front Oncol*, 2020, **10**: 1234.
- [24] Zhang S, Liu M, Yao Y, et al. Targeting LSD1 for acute myeloid leukemia (AML) treatment[J]. *Pharmacol Res*, 2021, **164**: 105335.
- [25] Vinyard ME, Su C, Siegenfeld AP, et al. CRISPR-suppressor scanning reveals a nonenzymatic role of LSD1 in AML[J]. *Nat Chem Biol*, 2019, **15**(5): 529-539.
- [26] Chen J, Zhao J, Ding J, et al. Knocking down LSD1 inhibits the stemness features of colorectal cancer stem cells[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2020, **53**(7): e9230.
- [27] Zhang HS, Liu HY, Zhou Z, et al. TSPAN8 promotes colorectal cancer cell growth and migration in LSD1-dependent manner[J]. *Life Sci*, 2020, **241**: 117114.
- [28] Ding X, Zhang J, Feng Z, et al. MiR-137-3p inhibits colorectal cancer cell migration by regulating a KDM1A-dependent epithelial-mesenchymal transition[J]. *Dig Dis Sci*, 2021, **66**(7): 2272-2282.
- [29] Yan W, Chung CY, Xie T, et al. Intrinsic and acquired drug resistance to LSD1 inhibitors in small cell lung cancer occurs through a TEAD4-driven transcriptional state[J]. *Mol Oncol*, 2022, **16**(6): 1309-1328.
- [30] Wang Z, Gao S, Han D, et al. LSD1 activates PI3K/AKT signaling through regulating p85 expression in prostate cancer cells[J]. *Front Oncol*, 2019, **9**: 721.
- [31] Qin XK, Du Y, Liu XH, et al. LSD1 promotes prostate cancer cell survival by destabilizing FBXW7 at post-translational level[J]. *Front Oncol*, 2021, **10**: 616185.
- [32] Zhang L, Carnesecchi J, Cerutti C, et al. LSD1-ERR α complex requires NRF1 to positively regulate transcription and cell invasion[J]. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 10041.
- [33] Gong Z, Li A, Ding J, et al. OTUD7B deubiquitinates LSD1 to govern its binding partner specificity, homeostasis, and breast cancer metastasis[J]. *Adv Sci*, 2021, **8**(15): e2004504.
- [34] Tortorici M, Borrello MT, Tardugno M, et al. Protein recognition by short peptide reversible inhibitors of the chromatin-modifying LSD1/CoREST lysine demethylase[J]. *ACS Chem Biol*, 2013, **8**(8): 1677-1682.
- [35] Fang Y, Liao G, Yu B. LSD1/KDM1A inhibitors in clinical trials: advances and prospects[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, **12**(1): 1-14.
- [36] Dai XJ, Liu Y, Xiong XP, et al. Tranylcypromine based lysine-specific demethylase 1 inhibitor: summary and perspective[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(23): 14197-14215.
- [37] Itoh Y, Ogasawara D, Ota Y, et al. Synthesis, LSD1 inhibitory activity, and LSD1 binding model of optically pure lysine-PCPA conjugates[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2014, **9**: e201402002.
- [38] Bauer TM, Besse B, Martinez-Marti A, et al. Phase I, open-la-

- bel, dose-escalation study of the safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and efficacy of GSK2879552 in relapsed/refractory SCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, **14**(10): 1828-1838.
- [39] Maes T, Mascaró C, Tirapu I, et al. ORY-1001, a potent and selective covalent KDM1A inhibitor, for the treatment of acute leukemia[J]. *Cancer Cell*, 2018, **33**(3): 495-511. e12.
- [40] Pettit KM, Gill H, Yacoub A, et al. A phase 2 study of the LSD1 inhibitor bomedemstat (IMG-7289) for the treatment of advanced myelofibrosis (MF): updated results and genomic analyses[J]. *Blood*, 2022, **140**(Supplement 1): 9717-9720.
- [41] Palandri F, Vianelli N, Ross DM, et al. A phase 2 study of the LSD1 inhibitor Img-7289 (bomedemstat) for the treatment of essential thrombocythemia (ET)[J]. *Blood*, 2021, **138**: 386.
- [42] Dai XJ, Liu Y, Xue LP, et al. Reversible lysine specific demethylase 1 (LSD1) inhibitors: a promising wrench to impair LSD1[J]. *J Med Chem*, 2021, **64**(5): 2466-2488.
- [43] Ma L, Wang H, You Y, et al. Exploration of 5-cyano-6-phenylpyrimidin derivatives containing an 1, 2, 3-triazole moiety as potent FAD-based LSD1 inhibitors[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, **10**(9): 1658-1668.
- [44] He X, Gao Y, Hui Z, et al. 4-Hydroxy-3-methylbenzofuran-2-carbohydrazones as novel LSD1 inhibitors[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, **30**(10): 127109.
- [45] Dai XJ, Zhao LJ, Yang LH, et al. Phenothiazine-based LSD1 inhibitor promotes T-cell killing response of gastric cancer cells[J]. *J Med Chem*, 2023, **66**(6): 3896-3916.
- [46] Kanouni T, Severin C, Cho RW, et al. Discovery of CC-90011: a potent and selective reversible inhibitor of lysine specific demethylase 1 (LSD1)[J]. *J Med Chem*, 2020, **63**(23): 14522-14529.
- [47] Speranzini V, Rotili D, Ciossani G, et al. Polymyxins and quinazolines are LSD1/KDM1A inhibitors with unusual structural features[J]. *Sci Adv*, 2016, **2**(9): e1601017.
- [48] Menna M, Fiorentino F, Marrocco B, et al. Novel non-covalent LSD1 inhibitors endowed with anticancer effects in leukemia and solid tumor cellular models[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, **237**: 114410.
- [49] Romussi A, Cappa A, Vianello P, et al. Discovery of reversible inhibitors of KDM1A efficacious in acute myeloid leukemia models[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2020, **11**(5): 754-759.

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2025 年《中国药科大学学报》

《中国药科大学学报》是由中华人民共和国教育部主管,中国药科大学主办的药学中文核心期刊,主要刊登合成药物化学、天然药物化学、生药学、中药学、调剂学、药物分析、药代动力学、药物生物技术、药理学、药事管理等学科的原创研究论著。

《中国药科大学学报》在药学界享有较高的学术声誉,目前已被国际上多家著名权威数据库(CA, IPA, SCOPUS, IST, IC, EMBASE, Excerpta Medica, CAS)等所收录,被国内权威数据库《中文核心期刊要目总览》(2023 年版),中国科学引文数据库(CSCD 核心库)、中国科技论文统计源数据库等列为药学类核心期刊,屡获原国家新闻出版总署、教育部、科技部等各种优秀期刊奖。

2022 年,《中国药科大学学报》被评为中国高校百佳科技期刊,2021 年被评为华东地区优秀期刊。根据中国知网《中国学术期刊影响因子年报》的数据显示:《中国药科大学学报》2023 年复合影响因子为 1.427,在药学期刊界的学术声誉和影响力持续不断攀升,在高等院校、科研机构、制药企业、医院等单位拥有众多读者。

本刊为双月刊,128 页。国际标准开本,国内外公开发行。欢迎到当地邮局订阅,漏订者可直接与编辑部联系。

国内刊号:CN 32-1157/R

国内邮发代号:28-115

地 址:南京市童家巷 24 号

电 话:025-83271566

E-mail:xuebao@cpu.edu.cn

ISSN:1000-5048

定 价:40 元/期,全年 240 元

邮 政 编 码:210009

<https://jcpu.cpu.edu.cn>