

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 779 465**

51 Int. Cl.:

C07D 293/12 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.05.2016 PCT/CN2016/081241**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.11.2016 WO16180274**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.05.2016 E 16792124 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 3296294**

54 Título: **Compuesto para el tratamiento o la prevención del cáncer de mama**

30 Prioridad:

09.05.2015 CN 201510239715

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

17.08.2020

73 Titular/es:

**JIANGSU ATOM BIOSCIENCE AND
PHARMACEUTICAL CO., LTD (100.0%)
99 Chuqiao Road Building 18
Zhenjiang, Jiangsu 212009, CN**

72 Inventor/es:

**SHI, DONGFANG;
FU, CHANGJIN;
CHENG, XI y
ZHU, JIANGHUA**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 779 465 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

Compuesto para el tratamiento o la prevención del cáncer de mama

5 **Campo técnico de la invención**

La presente invención pertenece al campo de la química farmacéutica. La presente invención se refiere concretamente a compuestos de 2-fenil benzoselenazol, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos, como aplicaciones en la preparación de medicamentos para tratar o prevenir el cáncer de mama de mamíferos.

Antecedentes de la invención

Como enfermedades comunes entre las mujeres, las enfermedades de las mamas incluyen principalmente la ciclomastopatía, el fibroadenoma de mama (tumor benigno) y el cáncer de mama (MengQingchun, TianYunxia et al., Survey and Analysis of Women Breast Diseases in Shijiazhuang, Hebei Medical Journal, 2012, 34(6):917-919). El cáncer de mama femenino se ha convertido en el segundo tumor maligno más común del mundo, una seria amenaza para la salud de las mujeres. En 2012, hubo 1,67 millones de casos nuevos de cáncer de mama en mujeres en todo el mundo, que representaron 25,2% de todas las neoplasias malignas en mujeres; hubo 520.000 muertes por cáncer de mama, lo que representó aproximadamente 14,7% de todas las muertes por neoplasias malignas en mujeres. (Bernard W., Stewart, Christopher P., Wild World Cancer Report 2014, The international agency for research on cancer, World Health Organization). La incidencia del cáncer de mama tiene diferencias evidentes de distribución geográfica. Europa y los Estados Unidos tienen la mayor incidencia de cáncer de mama en el mundo, y la incidencia es relativamente baja en Asia y África (Perera N. M. y Gui G. P., Multi-ethnic differences in breast cancer: current concepts and future directions, Int. J. Cancer, 2003, 106:463-467). Aunque las tasas de cáncer de mama en Europa y los Estados Unidos continúan aumentando, las tasas de mortalidad han disminuido año tras año, principalmente debido a la detección y el tratamiento tempranos de los pacientes con cáncer de mama. Sin embargo, en Asia y África, debido a las malas técnicas de detección y los medios de tratamiento, la morbilidad y la mortalidad del cáncer de mama están en aumento (Kawamura T. y Sobue T., Comparison of breast cancer mortality in five countries: France, Italy, Japan, the UK and the USA from the WHO mortality database (1960-2000), Jpn. J. Clin. Oncol., 2005, 35(12):758-759). Con los cambios en el estilo de vida, los hábitos alimenticios y los factores ambientales de las mujeres chinas, el cáncer de mama se convierte en uno de los principales factores que amenazan la salud de las mujeres chinas.

Clínicamente, según las técnicas inmunohistoquímicas y según el nivel de receptores (ER, PR y HER2) y los marcadores genéticos de proliferación celular (Ki-67), existen diferentes subtipos de cáncer de mama: 1, cáncer de mama triple negativo (ER, PR y HER2 son todos negativos); 2, Cáncer de mama luminal (ER y PR son positivos, pero HER2 y Ki67 tienen una expresión diferente); y 3, Expresión en exceso de HER2 en el cáncer de mama (deficiencia de ER y PR, y expresión en exceso de HER), en donde el cáncer de mama triple negativo representa aproximadamente de 10% a 20% del cáncer de mama, que es el que tiene mayor grado de malignidad y es muy fácil que cause transición epitelial-mesenquimatoso, y tiene peor pronóstico que otros subtipos de cáncer de mama. Tanto la endocrinoterapia como las terapias dirigidas son ineficaces para el cáncer de mama triple negativo (Tan A. R. y Swain S. M., Therapeutic strategies for triple-negative breast cancer, Cancer J., 2008, 14(6): 43-351).

En la actualidad, el tratamiento del cáncer de mama incluye tratamiento quirúrgico, radioterapia y quimioterapia coadyuvante. El tratamiento quirúrgico sigue siendo el medio principal para tratar el cáncer de mama en estadio temprano. La radioterapia para el cáncer de mama es una de las medidas importantes para controlar la recurrencia local después de la cirugía, y la radioterapia después de la cirugía conservadora puede disminuir significativamente la tasa de recurrencia local en 75% de promedio (Lim M., Bellon J. R., Gelman R., et al., A prospective study of conservative surgery without radiation therapy in select patients with stage I breast cancer, Int. J. Radiat., Oncol. Biol. Phys., 2006, 65(4):1149).

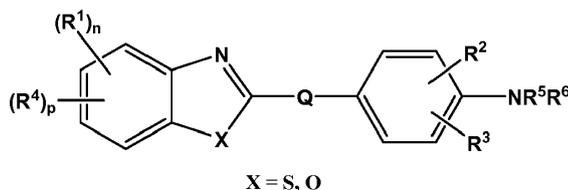
La quimioterapia, como método de tratamiento coadyuvante sistemático, ha atraído una gran atención en la terapia del sistema para el cáncer de mama. Al principio, se utilizan clínicamente CMF (ciclofosfamida/metotrexato/fluorouracilo), CAF (ciclofosfamida/adriamicina/fluorouracilo), FEC y similares (Bonadonna G., Brusamolino E., et al., Combination chemotherapy as an adjuvant treatment in operable breast cancer, N. Engl. J. Med., 1976, 294(8):405-410). La aparición de taxanos, tales como el paclitaxel (Taxol), ha mejorado enormemente la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer de mama de estadio temprano y ha proporcionado ayuda para el tratamiento del cáncer de mama metastásico. El mecanismo del taxol es que actúa sobre el sistema de microtúbulos, promueve la polimerización de la tubulina, inhibe la despolimerización y la migración del ciclo celular se bloquea en la fase M. Pero la selectividad de los taxanos es escasa, y existen graves efectos secundarios de la supresión de la médula ósea, neurotoxicidad, toxicidad cardiovascular y hepática, reacciones alérgicas, que causan un gran dolor físico y mental a los pacientes. Actualmente, la terapia endocrina se ha utilizado como terapia coadyuvante convencional para el cáncer de mama del subtipo Luminal (positivo para

receptor de estrógeno/receptor de progesterona), que puede reducir la tasa de mortalidad anual de este subtipo de cáncer de mama en más de 31% (Gralow J. R., Burtein H. J., Wood W., Preoperative therapy in invasive breast cancer: pathologic assessment and systemic therapy issues in operable disease, *J. Clin. Oncol.*, 2008, 26(5): 814-819).

La terapia molecular dirigida es un punto de atracción en el campo del tratamiento del cáncer de mama, y muchos ensayos clínicos han logrado buenos resultados en China. Entre ellos, Hessaitin y Lapatinib son anticuerpos monoclonales altamente específicos para pacientes con cáncer de mama avanzado con expresión en exceso de HER2; bevacizumab también es eficaz para el cáncer de mama avanzado resistente a taxanos (Miller K. D., Chap L. I., Holmes F. A., et al, Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer, *J. Clin. Oncol.*, 2005, 23(4):792-799). Sin embargo, para los pacientes con cáncer de mama triple negativo y expresión en exceso de HER2, debido a su receptor de estrógeno y receptor de progesterona fueron negativos, por lo que tamoxifeno, letrozol, anastrozol, exemestano y otras terapias endocrinas tradicionales no tuvieron reacción. Por lo tanto, es urgente desarrollar agentes dirigidos contra el cáncer de mama de acuerdo con diferentes subtipos de cáncer de mama.

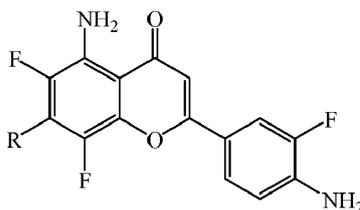
Los compuestos que contienen benzotiazol tienen amplias actividades biológicas (Weekes A. A. y Westwell A. D., 2-Arylbenzothiazole as a privileged scaffold in drug discovery, *Curr. Med. Chem.*, 2009, 16(19):2430-2440). Stevens et al.

Los documentos (WO0114354A1, WO9506469) informaron sobre compuestos de 2-fenilbenzoxazol o 2-fenilbenzotiazoles y sus derivados, que tienen una actividad inhibidora altamente selectiva contra las células de cáncer de mama.



Shi y Aiellohad informaron sobre un grupo de compuestos con líneas inhibitoras altamente selectivas contra el cáncer de mama (Shi D.-F., Bradshaw T. D., Wrigley S., et al, Antitumourbenzothiazoles. 3, Synthesis of 2-(4-aminophenyl)-benzothiazoles and evaluation of their activities against breast cancer cell lines in vitro and in vivo. [J]. *J. Med. Chem.* 1996, 39:3375-3384; Aiello S., Wells G., Stone E. L., et al, Synthesis and biological properties of benzothiazole, benzoxazole, and chromen-4-one analogues of the potent antitumor 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-fluorobenzothiazole (PMX-610, NSC721648), *J. Med. Chem.*, 2008, 51:5135-5139). El mecanismo de acción es inducir la expresión de CYP1A1 en el sistema enzimático P450 en la célula, y a continuación metabolizar CYP1A1 para que se convierta en una sustancia altamente activa, induciendo daño en el ADN y apoptosis de las células tumorales (Bradshaw T. D., Stevens M. F. G., Westwell A. D., The discovery of the potent and selective antitumor agent 2-(4-amino-3-methylphenyl)benzothiazole(DF203) and related compounds. *Curr. Med. Chem.*, 2001, 8(2):203-210; Rodriguez M. And Potter D. A., CYP1A1 regulates breast cancer proliferation and survival, *Mol. Cancer Res.* 2013, 11(7):780-792; Wang K. and Guengerich F. P., Bioactivation of fluorinated 2-arylbenzothiazole antitumor molecules by human cytochrome P450s 1A1 and 2W1 and deactivation by cytochrome P4502S1, *Chem. Res. Toxicol.*, 2012, 25,1740-1751). Phortress de este grupo de compuestos había entrado en el estudio clínico de fase I, pero la toxicidad del compuesto para el hígado y los pulmones y la incapacidad para determinar la dosis óptima del tratamiento dieron por finalizado el ensayo clínico. Esto puede deberse a la toxicidad y al defecto del propio compuesto, y este tipo del compuesto no se ha estudiado más a fondo. Actualmente, Phortress no se ha investigado más como medicamento contra el cáncer de mama en uso clínico.

Akama et al habían informado sobre una serie de compuestos de 5,4'-diamino-6,8,3'-trifluoroflavona, que tenían una buena actividad antitumoral, especialmente para la inhibición de la proliferación celular del cáncer de mama (Akama T., Ishida H., Kimura U., et al, Structure-activity relationships of the 7-substituents of 5,4'-diamino-6,8,3'-trifluoroflavone, a potent antitumor agent, *J. Med. Chem.* 1998, 41, (12):2056-2067).

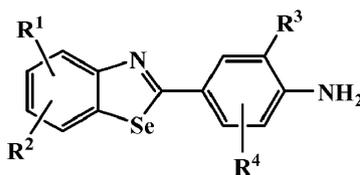


Debido a sus aplicaciones en terapia antitumoral, antiviral y enfermedades relacionadas con el sistema nervioso, los medicamentos que contienen selenio se han convertido en un punto clave de la investigación y el desarrollo de especialistas tanto en China como en países extranjeros. La investigación se ha centrado principalmente en antitumorales, antiinflamatorios, antihipertensivos y similares (Romualdo C., Stefania C., Marina D. G., et al., Novel selenium-containing non-natural diamino acids, Tetrahedron Lett., 2007, 48(7):1425-1427). Entre ellos, el papel de los compuestos orgánicos de selenio en la prevención y el tratamiento de tumores ha sido ampliamente estudiado. Una gran cantidad de estudios han demostrado que los compuestos orgánicos de selenio tienen un efecto definitivo sobre la resistencia de una serie de tumores, que incluyen cáncer colorrectal, tumores del tracto digestivo, cáncer del tracto respiratorio, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de ovario, etc. (El-bayoumy K., y Sinha R., Mechanisms of mammary cancer chemoprevention by organoselenium compounds, Mutat. Res., 2004(551): 181-197).

Compendio de la invención

Un objetivo de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos de 2-fenil benzoselenazol sobre la base de la técnica anterior. Los compuestos tienen un excelente efecto inhibitor sobre el crecimiento de las líneas celulares de cáncer de mama, pero no tienen un efecto inhibitor sobre el crecimiento de algunas líneas celulares, excepto las líneas celulares de cáncer de mama. Estos compuestos tienen buena selectividad. Esta serie de compuestos puede convertirse en una nueva generación de medicamentos con alta selectividad y baja toxicidad para el tratamiento del cáncer de mama.

El objetivo de la presente invención se puede lograr mediante los siguientes esquemas. Se proporcionan los compuestos de la fórmula general (II), o sus sales farmacéuticamente aceptables:



(II)

donde:

R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H, D, halógeno, -CN, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ sustituido, alcoxi C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃ sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, halógeno o alcoxi C₁-C₃; R³ se selecciona entre halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ sustituido, alcoxi C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃ sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, halógeno, alquilo C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃; y R⁴ se selecciona entre H, D, halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ sustituido, alcoxi C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃ sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, halógeno, alquilo C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃,

En un esquema preferido:

R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H, D, halógeno, -CN, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ sustituido, alcoxi C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃ sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, F o alcoxi C₁-C₃; R³ se selecciona entre halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ sustituido, alcoxi C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃ sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, F, alquilo C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃; y R⁴ se selecciona entre H, D, halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C₁-C₃, alquilo C₁-C₃ sustituido, alcoxi C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃ sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, F, alquilo C₁-C₃ o alcoxi C₁-C₃,

En un esquema preferido, R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H, D, F, Cl, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCF₃ o -OCHF₂,

En un esquema preferido, R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H, D, F, Cl, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃ o -OCH₂CH₃,

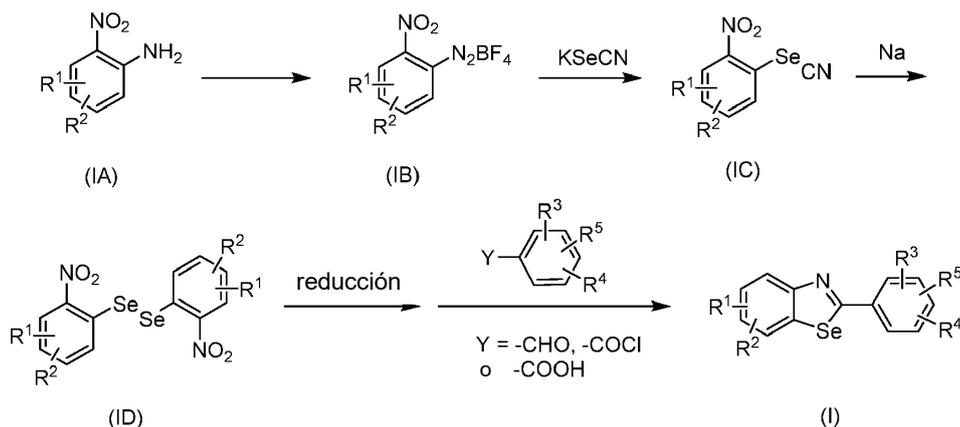
En un esquema preferido, R³ se selecciona entre halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃ y R⁴ se selecciona entre H, D, halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃,

En un esquema preferido, en la fórmula (II) o (I), R¹ y R² se seleccionan independientemente entre H, D, F, Cl, -CN, -CH₃, -CF₃ o -CHF₂; R³ se selecciona entre H, D, F, Cl, Br, I, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃ y R⁴ se selecciona entre H, D, F, Cl, Br, I, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃.

5 La presente invención proporciona adicionalmente los siguientes compuestos específicos, que incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos:

- 10 4-(benzoselenazol-2-il)-2-bromoanilina,
 2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina,
 4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina,
 2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metil-anilina,
 4-(5-bromobenzoselenazol-2-il)-2-cloroanilina,
 2-metil-4-(5-metilbenzoselenazol-2-il)anilina,
 15 2-metil-4-[5-(trifluorometil)benzoselenazol-2-il]anilina,
 4-(6-etoxibenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina,
 4-(6-etoxi-5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina,
 2-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina,
 2-bromo-6-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina,
 20 5-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina,
 4-(5-deuterobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina,
 2,6-difluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina, y
 2-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metil-anilina.

25 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante el siguiente método:



30 Se generó tetrafluoroborato de diazonio correspondiente (IB) mediante la reacción de diazotación entre los compuestos de 2-nitroanilina de fórmula (IA) y nitrito de isoamilo en presencia de dietil eterato de trifluoruro de boro, a continuación se hizo reaccionar el tetrafluoroborato de diazonio con selenocianato de potasio para obtener compuestos de fenil selenocianato (IC), y los compuestos de fenil selenocianato se hicieron reaccionar en sodio/etanol para obtener nitrocompuestos de diselenio (ID). Los compuestos (ID) se redujeron bajo ciertas condiciones para obtener los correspondientes compuestos amínicos, y los compuestos amínicos se ciclaron con el correspondiente benzaldehído, cloruro de benzoilo o ácido benzoico. Los compuestos de benzoselenazol obtenidos
 35 pueden ser productos finales, o pueden estar sujetos a una reacción de reducción, una reacción de halogenación u otras reacciones para obtener los productos diana correspondientes (I). Los grupos R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ se definen como anteriormente.

40 La presente invención proporciona adicionalmente composiciones farmacéuticas que contienen uno cualquiera de los compuestos de la presente invención, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos como componentes activos o componentes activos principales, complementados con coadyuvantes farmacéuticamente aceptables.

45 Los compuestos de la presente invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, se pueden aplicar en la preparación de medicamentos para tratar o prevenir el cáncer de mama.

A menos que se indique lo contrario, los términos en las reivindicaciones y la descripción se definen a continuación.

"Hidrógeno" se refiere al protio (1H) que es un isótopo principal estable de hidrógeno. El "deuterio" es un isótopo estable de hidrógeno y también se denomina hidrógeno pesado, y su símbolo es D.

50

"Halógeno" se refiere a un átomo de flúor, un átomo de cloro, un átomo de bromo o un átomo de yodo. "Hidroxilo" se refiere a -OH.

"Ciano" se refiere a -CN.

"Nitro" se refiere a -NO₂.

"Alquilo" es un grupo alifático saturado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, que incluye un grupo de cadena lineal y un grupo de cadena ramificada (el intervalo numérico (por ejemplo, 1 a 10) mencionado en la presente solicitud significa que este grupo (alquilo en este caso) puede contener un átomo de carbono, dos átomos de carbono, tres átomos de carbono o incluso diez átomos de carbono). Un alquilo que contiene de 1 a 4 átomos de carbono es un alquilo de bajo nivel. Un alquilo de bajo nivel sin ningún grupo sustituyente es un alquilo de bajo nivel no sustituido, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo o similares. El alquilo puede estar sustituido o no sustituido.

"Alcoxi" representa -O-(alquilo no sustituido) y -O-(alcoxi no sustituido), y representa adicionalmente -O-(alquilo no sustituido). Las realizaciones representativas incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, ciclopropoxi o similares.

Las "sales farmacéuticamente aceptables" incluyen sales formadas por los compuestos de fórmula (I) con ácidos orgánicos o ácidos inorgánicos, y representan sales que mantienen la biodisponibilidad y las propiedades de los compuestos precursores.

Estas sales incluyen:

(1) sales formadas por los compuestos con ácidos, que se obtienen haciendo reaccionar las bases libres de los compuestos precursores con ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos, en donde los ácidos inorgánicos incluyen (pero no se limitan a): por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, ácido sulfúrico, ácido sulfuroso, ácido perclórico y similares; los ácidos orgánicos incluyen (pero no se limitan a): por ejemplo, ácido acético, ácido propanoico, ácido acrílico, ácido oxálico, ácido málico (D) o (L), ácido fumárico, ácido maleico, ácido hidroxibenzoico, ácido γ -hidroxibutírico, ácido metoxibenzoico, ácido ftálico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1-naftalenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido mandélico, ácido succínico, ácido malónico y similares; y

(2) sales generadas al sustituir protones ácidos en los compuestos precursores con iones metálicos o coordinar los protones ácidos en los compuestos precursores con bases orgánicas, en donde los iones metálicos incluyen, por ejemplo, iones de metales alcalinos, iones de metales alcalinotérreos o iones de aluminio; y las bases orgánicas incluyen, por ejemplo, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamol, N-metilglucamina y similares.

Las "composiciones farmacéuticas" se refieren a mezclas de uno o más de los compuestos descritos en la presente memoria o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos con otros componentes químicos, por ejemplo, portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas están destinadas a facilitar la administración de los compuestos a un organismo vivo.

La presente invención también abarca uno cualquiera de los compuestos descritos anteriormente, sus sales farmacéuticamente aceptables o sus isómeros. La presente invención se puede preparar en cualquier forma de dosificación clínica o farmacéuticamente aceptable mediante los métodos conocidos en la técnica. Para la administración oral, la presente invención se puede preparar en preparaciones sólidas convencionales tales como comprimidos, cápsulas, píldoras o gránulos, o preparaciones líquidas orales tales como solución oral, suspensión oral o jarabe. Durante la preparación de las preparaciones orales, se pueden añadir agentes de relleno adecuados, agentes aglutinantes, agentes disgregantes, agentes lubricantes y similares. Para la administración parenteral, la presente invención se puede preparar en preparaciones inyectables tales como solución inyectable, polvo estéril para inyectables y solución concentrada para inyectables. Durante la preparación de preparaciones inyectables, se pueden usar los métodos convencionales existentes en el campo farmacéutico. Durante la preparación de las preparaciones inyectables, no se pueden añadir aditivos o no, dependiendo de las propiedades de los medicamentos.

Los compuestos de la presente invención tienen una nueva estructura matriz cíclica de 2-fenil-benzoselenazol, y proporcionan nuevos mecanismos y planes de tratamiento para el tratamiento o prevención del cáncer de mama. Los compuestos de la presente invención tienen las siguientes características:

(1) los compuestos de la presente invención pueden inhibir eficazmente el crecimiento o la proliferación de células de cáncer de mama de mamíferos con tumores; y

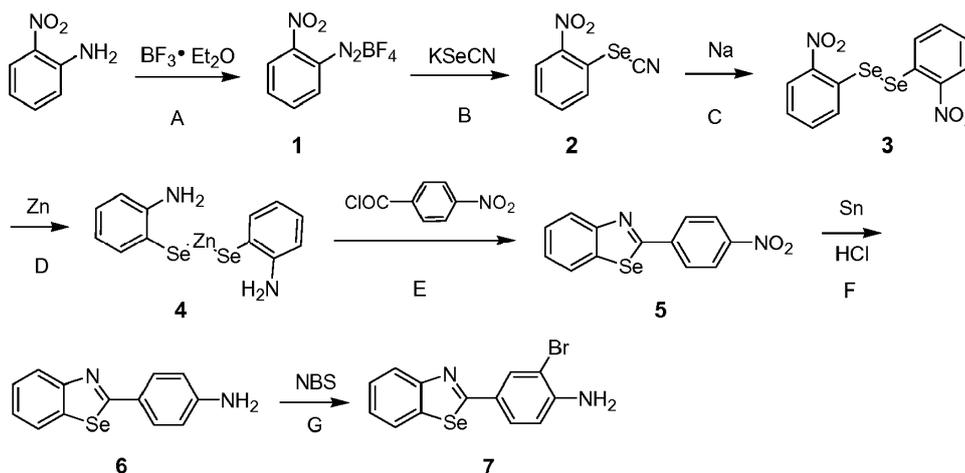
(2) Los compuestos de la presente invención tienen mejores propiedades fisicoquímicas, efecto farmacéutico más notable, baja toxicidad y pocos efectos secundarios.

Descripción detallada de la invención

5 Para aclarar los objetivos, los esquemas técnicos y las ventajas de la presente invención, la presente invención se describirá adicionalmente a continuación en detalle mediante implementaciones específicas. Se debe entender que las descripciones son meramente ilustrativas y no se pretende que limiten el alcance de la presente invención.

10 Realizaciones de síntesis

Realización 1: síntesis de 4-(benzoselenazol-2-il)-2-bromoanilina (7)



15 Etapa A: se añadió gota a gota una solución de 2-nitroanilina (15,0 g, 108 mmoles) en diclorometano (150 ml) a dietileterato de trifluoruro de boro (23,1 g, 163 mmoles) de -10°C a -15°C y se agitó durante 15 min, y se añadió gota a gota a esta temperatura una solución de nitrito de isoamilo (15,26 g, 130 mmoles) en diclorometano (75 ml). Al final de la adición, la mezcla de reacción se agitó continuamente durante 30 minutos, y a continuación se agitó durante 30 minutos de -10°C a 0°C . Al sistema de reacción se le añadió éter de petróleo frío (250 ml) gota a gota y a continuación se filtró. La torta del filtro se lavó con metil terc-butil éter frío (MTBE) (40 ml) para obtener tetrafluoroborato de 2-nitro-fenil-diazonio (**1**) (18,7 g). El rendimiento fue de 73,1%.

25 Etapa B: se añadió una solución de selenocianato de potasio (8,0 g, 55,5 mmoles) en agua (80 ml) a una mezcla del compuesto **1** (13,0 g, 54,9 mmoles) y agua (300 ml) en un baño de agua con hielo, y la mezcla de reacción se agitó continuamente durante 30 minutos al final de la adición. La mezcla de reacción se filtró y la torta del filtro se lavó con una pequeña cantidad de agua y a continuación se secó al vacío a 60°C para obtener selenocianato de 1-nitro-2-fenilo. (**2**) (11,2 g). El rendimiento fue de 89,8%.

30 Etapa C: se añadió sodio (6,0 g, 261 mmoles) a una mezcla del compuesto **2** (10,5 g, 46,2 mol) y alcohol etílico absoluto (520 ml) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 1 h en un baño de agua. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C a 5°C y se filtró, la torta del filtro se lavó con una pequeña cantidad de etanol frío, y el sólido recogido se suspendió en metilbenceno (100 ml), se calentó a reflujo para disolver el producto, y se filtró de inmediato. El producto filtrado se enfrió a 0°C a 5°C para separar el sólido y a continuación se filtró, y la torta del filtro se recogió para obtener 1,2-di(2-nitrofenil)diselenuro (**3**) (4,5 g). El rendimiento fue de 48,4%.

35 Etapa D: se añadió polvo de zinc (13,5 g, 206 mmoles) a una solución en suspensión del compuesto **3** (4,5 g, 11,2 mmoles) en ácido acético (90 ml) a 40°C , y la mezcla de reacción se calentó a 100°C y se agitó continuamente durante 2 h. La mezcla de reacción se enfrió por debajo de 50°C , se añadió lentamente gota a gota ácido clorhídrico 6 M (40 ml) y la mezcla se filtró para eliminar las sustancias insolubles. El producto filtrado se ajustó con una solución acuosa de acetato de sodio al 20% hasta que el valor de pH fue de 2 a 3, y el sólido se separó. La mezcla de reacción se filtró y la torta del filtro se secó para obtener di[(2-aminofenil)seleno]zinc. (**4**) (3,0 g). El rendimiento fue de 77,8%.

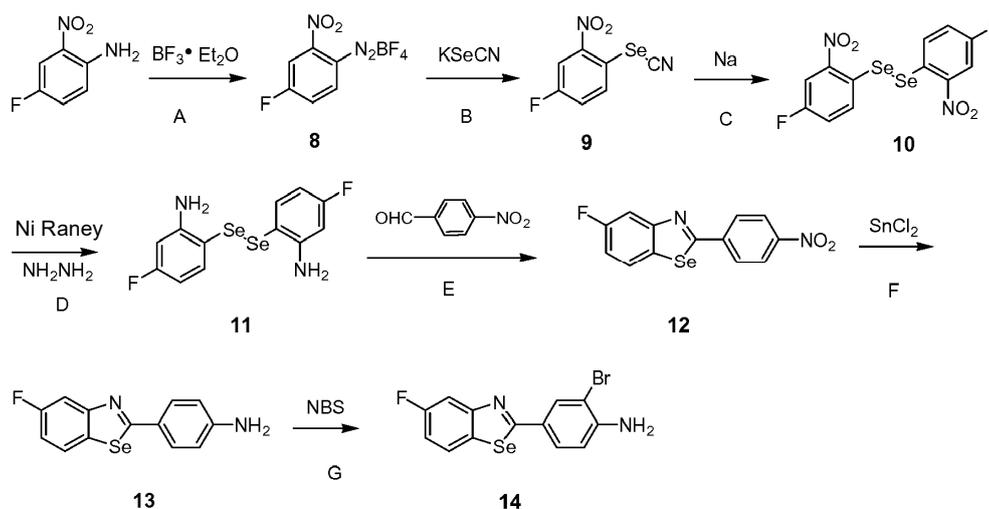
45 Etapa E: una mezcla del compuesto **4** (3,6 g, 17,4 mmoles) y cloruro de 4-nitrobenzoilo (4,77 g, 25,7 mmoles) se agitó durante 2 h a 110°C . La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (60 ml), la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada (20 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se

evaporó a presión reducida, y el producto se purificó por cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:5 a 3:1) para obtener 2-(4-nitrofenil)benzoselenazol (**5**) (500 mg). El rendimiento fue de 6,42%. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8.40 (dd, $J = 2,0, 6.8$ Hz, 2H), 8.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.76-7.74 (m, 1H), 7.36-7.33 (m, 2H), 7.27 -7.23 (m, 1 H).

5 Etapa F: compuesto **5** (450 mg, 1,48 mmoles) se disolvieron en etanol (10 ml), a continuación, se añadieron ácido clorhídrico 2 M (15 ml) y polvo de estaño (2,25 g, 6,74 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 2 h. La mayor parte del disolvente se evaporó a presión reducida, a continuación, se añadió agua (15 ml) y la mezcla se ajustó con solución diluida de hidróxido de sodio hasta que el valor de pH fue de 9 a 10, se extrajo con diclorometano (20 ml x 3) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó por cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:15 a 1:4) para obtener 4-(benzoselenazol-2-ilo)anilina (**6**) (300 mg). El rendimiento fue de 74,2%. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,07 (dd, $J = 0,8, 8,0$ Hz, 1H), 7,89 (dd, $J = 0,8, 8,0$ Hz, 1H), 7,72-7,69 (m, 2H), 7,46-7,42 (m, 1H), 7,28-7,23 (m, 1H), 6,66-6,63 (m, 2H), 5,92 (s, 2H).

15 Etapa G: se añadió gota a gota una solución de NBS (117 mg, 0,657 mmoles) en diclorometano (15 ml) en una solución del compuesto **6** (200 mg, 0,732 mmoles) en diclorometano (5 ml) a -10°C , y la mezcla se agitó continuamente durante 0,5 h a esta temperatura al final de la adición. La mezcla de reacción se lavó con agua (10 ml) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10) para obtener 4-(benzoselenazol-2-il)-2-bromoanilina (**7**) (179 mg). El rendimiento fue de 69,5%. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,10 (dd, $J = 1,0, 8,0$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 7,94 (dd, $J = 1,0, 8,0$ Hz, 1H), 7,72 (dd, $J = 1,0, 8,0$ Hz, 1H), 7,49-7,45 (m, 1H), 7,31-7,27 (m, 1H), 6,88 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 6,11 (s, 2H). MS (EI, m/z): 350,9 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

25 **Realización 2: síntesis de 4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina (**13**) y 2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina (**14**)**



30 Etapa A: se añadió gota a gota una solución de 2-nitro-4-fluoroanilina (5,0 g, 32,0 mmoles) en diclorometano (50 ml) a dietil éterato de trifluoruro de boro (6,8 g, 47,9 mmoles) de -10°C a -15°C y se agitó durante 15 minutos, y se añadió gota a gota a esta temperatura una solución de nitrito de isoamil (4,5 g, 38,4 mmoles) en diclorometano (25 ml). Al final de la adición, la mezcla se agitó continuamente durante 30 minutos, y a continuación se agitó durante 30 minutos a una temperatura de -10°C a 0°C . La mezcla de reacción se añadió gota a gota con éter de petróleo enfriado (80 ml) y a continuación se filtró. La torta del filtro se lavó con MTBE frío (10 ml) para obtener tetrafluoroborato de 2-nitro-4-fluorofenil-diazonio. (**8**) (13,0 g). El compuesto se usó directamente en la siguiente reacción sin purificación.

40 Etapa B: se añadió una solución de selenocianato de potasio (4,84 g, 33,6 mmoles) en agua (30 ml) a una mezcla del compuesto bruto **8** (13,0 g) y agua (170 ml) en un baño de agua con hielo, y la mezcla de reacción se agitó continuamente durante 20 minutos al final de la adición. La mezcla de reacción se filtró y la torta del filtro se lavó con una pequeña cantidad de agua y a continuación se secó al vacío a 60°C para obtener selenocianato de 4-fluoro-2-nitro-1-fenilo. (**9**) (9,1 g). El compuesto se usó directamente en la siguiente reacción sin purificación.

45 Etapa C: se añadió sodio (4,1 g, 178 mmoles) a una mezcla del compuesto bruto **9** (9,1 g) y alcohol etílico absoluto (300 ml) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó durante 1 hora en un baño de agua. La mezcla se enfrió a 0°C a 5°C y se filtró, y la torta del filtro se lavó con una pequeña cantidad de etanol frío. El sólido recogido se suspendió

en metilbenceno (80 ml), se calentó a reflujo para disolver el producto y se filtró inmediatamente. El producto filtrado se enfrió a 0°C a 5°C para separar el sólido y a continuación se filtró, y la torta del filtro se recogió para obtener 1,2-di(4-fluoro-2-nitrofenil)diselenuro (**10**) (2,0 g). El rendimiento total de las reacciones en las etapas A, B y C fue de 21,9%.

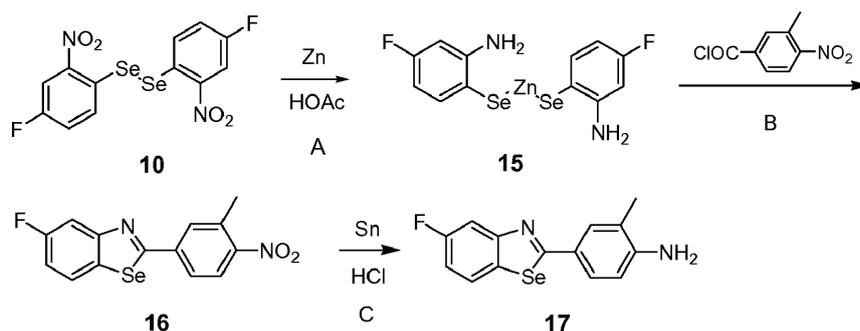
5 Etapa D: compuesto **10** (1,49 g, 3,4 mmoles) y níquel Raney (1,2 g) se suspendieron en isopropanol (30 ml), se añadió hidrato de hidrazina al 85% (1,8 ml), y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó continuamente durante 2,5 h. La mezcla se filtró inmediatamente a través de un lecho de celite, la torta del filtro se lavó con una pequeña cantidad de isopropanol y el producto filtrado se recogió. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10 a 1:5) para obtener 6,6'-diselenodi(3-fluoroanilina) (**11**) (370 mg). El rendimiento fue de 28,8%.

15 Etapa E: una mezcla que contenía el compuesto **11** (370 mg, 0,978 mmoles), 4-nitrobenzaldehído (296 mg, 1,958 mmoles), metabisulfito de sodio (372 mg, 1,956 mmoles) y DMSO anhidro (15 ml) se agitó durante 72 h bajo nitrógeno a 120°C. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió con solución acuosa saturada de cloruro de amonio (60 ml), se extrajo con acetato de etilo (25 ml x 3) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó a presión reducida mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:50) para obtener 5-fluoro-2-(4-nitrofenil)benzoselenazol (**12**) (76 mg). El rendimiento fue de 12,1%. RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 8,39-8,28 (m, 5H), 8,01 (dd, J = 2,4, 9,9 Hz, 1H), 7,41-7,34 (m, 1H).

25 Etapa F: el compuesto **12** (70 mg, 0,218 mmoles) se disolvió en etanol (5 ml) y a continuación se añadió con cloruro de estaño hidrato (246 mg, 1,09 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 5 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió solución salina saturada (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (25 ml x 3) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:15 a 1:5) para obtener 4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina (**13**) (50 mg). El rendimiento fue 78,8%, MS (EI, m/z): 291,0 [M-H].

30 Etapa G: se añadió gota a gota una solución de NBS (29,6 mg, 0,166 mmoles) en diclorometano (40 ml) a una solución del compuesto **13** (44 mg, 0,151 mmoles) en diclorometano (40 ml) en un baño de sal de hielo, y la mezcla se agitó continuamente durante 10 minutos a esta temperatura al final de la adición. La mezcla de reacción se lavó con agua (20 ml x 2) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:20) para obtener 2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina (**14**). RMN ^1H (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 8,14-8,09 (m, 1H), 8,03 (d, J = 1,8 Hz, 1H), 7,78-7,70 (m, 2H), 7,23-7,16 (m, 1H), 6,87 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,14 (s, 2H). MS (EI, m/z): 369,0 [M-H].

40 Realización 3: síntesis de 4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina (**17**)



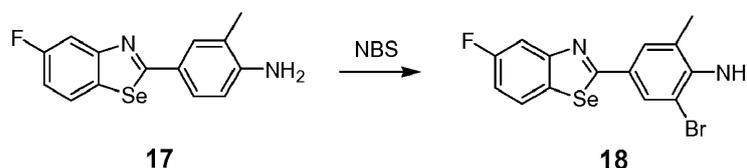
45 Etapa A: se añadió polvo de zinc (5,5 g, 84,1 mmoles) a una suspensión del compuesto **10** (2,0 g, 4,57 mmoles) en ácido acético (40 ml) a 40°C, a continuación se calentó a 100°C y se agitó continuamente durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió por debajo de 50°C, se añadió lentamente ácido clorhídrico 6 M (40 ml) y la mezcla se filtró para eliminar las sustancias insolubles. El producto filtrado se ajustó con acetato de sodio al 20% hasta que el valor de pH fue de 2 a 3, y el sólido se recogió por filtración y se secó para obtener di[(2-amino-4-fluorofenil)seleno]zinc (**15**) (1,2 g). El rendimiento fue de 61,9%.

50 Etapa B: una mezcla del compuesto **15** (590 mg, 3,10 mmoles) y cloruro de 3-metil-4-nitrobenzoilo (663 mg, 3,32 mmoles) se agitó durante 4 h a 100°C. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (15 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (30 ml x 2). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada (10 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El

disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:15 a 1:1) para obtener 5-fluoro-2-(3-metil-4-nitrofenil)benzoselenazol (**16**) (750 mg). El rendimiento fue de 72,2%. RMN H^1 (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 8,32-8,27 (m, 1H), 8,19-8,13 (m, 3H), 7,98 (dd, $J = 2,4, 9,9$ Hz, 1H), 7,40-7,33 (m, 1H), 2,64 (s, 3H).

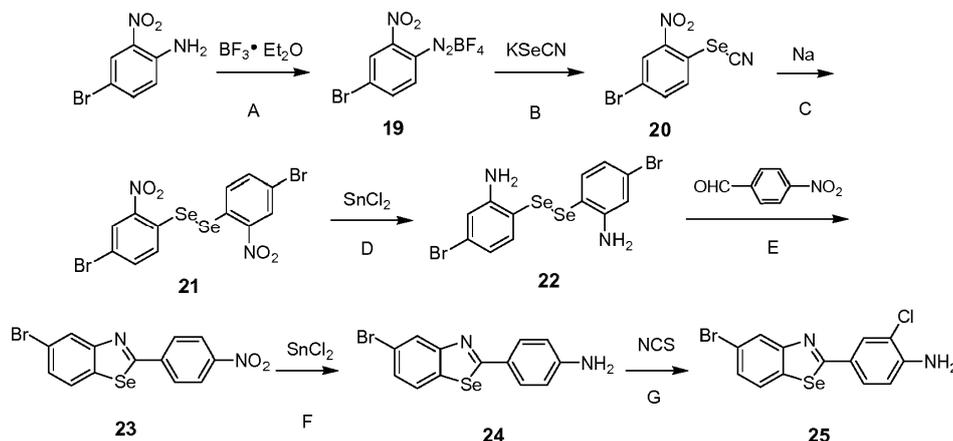
Etapa C: el compuesto **16** (200 mg, 0,597 mmoles) se disolvieron en etanol (5 ml), a continuación, se añadieron ácido clorhídrico 3 M (4 ml) y polvo de estaño (800 mg, 6,74 mmoles) y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 1,5 h. La mayor parte del disolvente se evaporó a presión reducida, a continuación, se añadió agua (15 ml) y la mezcla se ajustó con solución diluida de hidróxido de sodio hasta que el valor de pH fue de 9 a 10, se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 2) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:15 a 1:4) para obtener 4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina (**17**) (103 mg). El rendimiento fue de 56,4%. RMN H^1 (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,08-8,05 (m, 1H), 7,72-7,69 (m, 1H), 7,62-7,57 (m, 2H), 7,18-7,13 (m, 1H), 6,68 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,75 (s, 2H), 2,14 (s, 3H). MS (EI, m/z): 305,0 $[M-H]^+$.

Realización 4: síntesis de 2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metil-anilina (**18**)



Se añadió NBS (57 mg, 0,320 mmoles) a una solución del compuesto **17** (88 mg, 0,229 mmoles) en DMF (5 ml) a temperatura ambiente, y la mezcla se agitó continuamente durante 20 minutos a esta temperatura al final de la adición. Se añadió agua (25 ml) a la mezcla que a continuación se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 2), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:5) para obtener 2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metil-anilina (**18**) (73 mg). El rendimiento fue de 83,0%. RMN H^1 (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 8,13-8,10 (m, 1H), 7,92 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,21-7,17 (m, 1H), 5,76 (s, 2H), 2,26 (s, 3H). MS (EI, m/z): 384,9 $[M + H]^+$.

Realización 5: síntesis de 4-(5-bromobenzoselenazol-2-il)-2-cloroanilina (**25**)



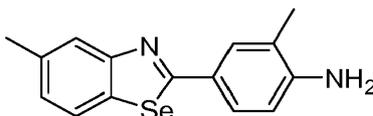
Las etapas A, B y C se refieren a las etapas A, B y C en la Realización 2.

Etapa D: el compuesto **21** (1,9 g, 3,393 mmoles) se disolvió en etanol (40 ml) y a continuación se añadió hidrato de cloruro estannoso (3,8 g, 16,84 mmoles), y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 3,5 h bajo nitrógeno. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió solución salina saturada (20 ml), la mezcla se extrajo con acetato de etilo (25 ml x 3) y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10) para obtener 6,6'-diselenodi(3-bromoanilina) (**22**) (450 mg). El rendimiento fue de 26,5%.

Etapa E: refiriéndose a la etapa E en la Realización 2, para obtener 5-bromo-2-(4-nitrofenil) benzoselenazol (**23**). RMN H^1 (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 8,39-8,30 (m, 5H), 8,23 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H).

Etapas F y G: refiriéndose a la etapa F en la Realización 2 para obtener compuesto **24**. El compuesto **23** se redujo para obtener un compuesto **24**. El compuesto **24** (80 mg, 0,227 mmoles) se disolvió en DMF (5 mL), se añadió NCS (34 mg, 0,255 mmoles) y la mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua (25 ml) a la mezcla que se extrajo con acetato de etilo (15 ml x 3), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:15) para obtener 4-(5-bromobenzoselenazol-2-il)-2-cloroanilina (**25**). RMN H^1 (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 8,10-8,04 (m, 2H), 7,87 (s, 1H), 7,68 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,43 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 6,16 (s, 2H). MS (EI, m/z): 384,9 [M-H]⁻.

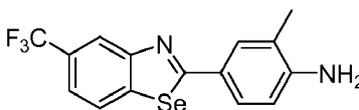
Realización 6: síntesis de 2-metil-4-(5-metilbenzoselenazol-2-il)anilina (**26**)



26

El método para preparar el compuesto **26** se refiere a las etapas A, B, C y D en la Realización 2 y las etapas E y F en la Realización 5. La 2-nitro-4-fluoroanilina en la etapa A de la Realización 2 se reemplazó por 2-nitro-4-metil-anilina y el 4-nitrobenzaldehído en la etapa E de la Realización 5 se reemplazó por 3-metil-4-nitrobenzaldehído. RMN H^1 (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 7,89 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,59-7,54 (m, 2H), 7,08 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,67 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,62 (s, 2H), 2,41 (s, 3H), 2,14 (s, 3H). MS (EI, m/z): 301,0 [M-H]⁻.

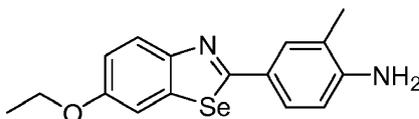
Realización 7: síntesis de 2-metil-4-[5-(trifluorometil) benzoselenazol-2-il]anilina (**27**)



27

El método para preparar compuesto **27** se refiere a las etapas A, B, C y D en la Realización 2 y las etapas E y F en la Realización 5. La 2-nitro-4-fluoroanilina en la etapa A de la Realización 2 se reemplazó por 2-nitro-4-trifluorometilanilina y el 4-nitrobenzaldehído en la etapa E de la Realización 5 se reemplazó por 3-metil-4-nitrobenzaldehído. RMN H^1 (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 8,31 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,65-7,62 (m, 2H), 7,55 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 6,70 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 5,77 (s, 2H), 2,15 (s, 3H). MS (EI, m/z): 355,0 [M-H]⁻.

Realización 8: síntesis de 4-(6-etoxibenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina (**29**)



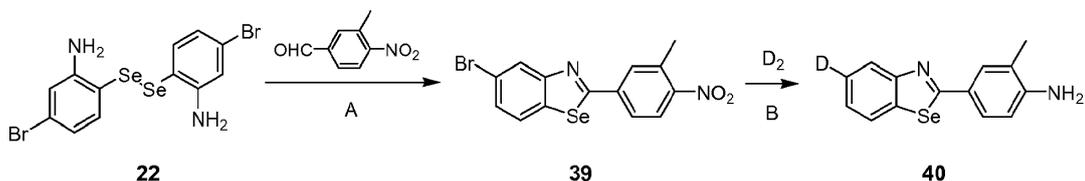
29

El método para preparar compuesto **29** se refiere a las etapas A, B, C y D en la Realización 2 y las etapas E y F en la Realización 5. La 2-nitro-4-fluoroanilina en la etapa A se reemplazó por 2-nitro-5-fluoroanilina y el 3-metil-4-nitrobenzaldehído en la etapa E de la Realización 5 se reemplazó por 3-metil-4-nitrobenzaldehído. En las reacciones de reducción en las etapas C y F, el disolvente era etanol, de modo que F en el sexto sitio de benzaldehído fue sustituido con etoxi. El producto final resultante fue 4-(6-etoxibenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina (**29**). RMN H^1 (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 7,76 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,55-7,50 (m, 2H), 6,99 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,66 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 5,58 (s, 2H), 4,09 (q, J = 6,6 Hz, 2H), 2,13 (s, 3H), 1,35 (t, J = 6,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 333,0 [M + H]⁺.

Realización 9: síntesis de 4-(6-etoxi-5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metil-anilina (**30**)

H_z, 1H), 2,13 (s, 3H). MS (EI, m/z): 305,1 [M-H]⁻.

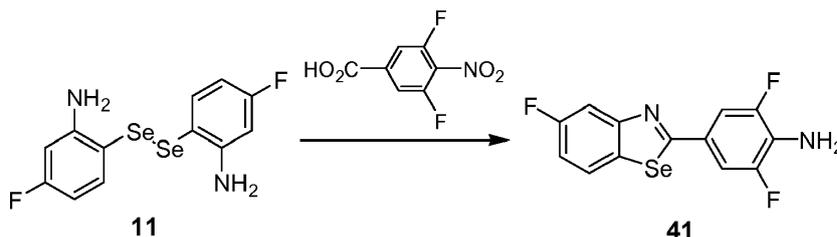
Realización 12: síntesis de 4-(5-deuterobenzoselenazol-2-il)-2-metilaniлина (40)



Etapa A: El compuesto **22** y 3-metil-4-nitrobenzaldehído se utilizaron como materias primas, y la operación experimental de preparación del compuesto **39** se refiere a la etapa E en la Realización 2. RMN H¹ (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,35 (s, 1H), 8,24 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,15-8,14 (m, 2H), 7,62 (dd, J = 2,0, 8,4 Hz, 1H), 2,65 (s, 3H).

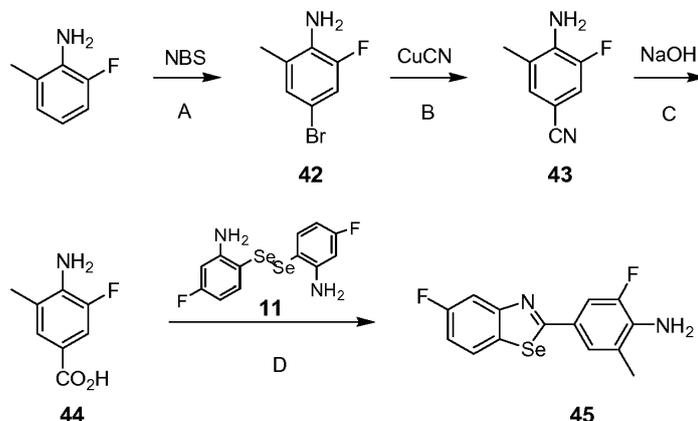
Etapa B: El compuesto **39** (42 mg, 0,106 mmoles) se suspendieron en DMF (5 ml) y a continuación se añadieron óxido de deuterio (0,5 ml) y paladio sobre carbono al 5%, y la mezcla se agitó durante la noche bajo gas de deuterio a presión normal. La mezcla se filtró a través de un lecho de celite, se añadió agua (20 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 2), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada (10 ml x 2) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:10) para obtener 4-(5-deuterobenzoselenazol-2-il)-2-metilaniлина (**40**). RMN H¹ (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,06-8,02 (m, 2H), 7,62-7,59 (m, 2H), 8,16 (dd, J = 2,0, 8,8 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,78 (s, 2H), 2,14 (s, 3H). MS (EI, m/z): 288,0 [M-H]⁻.

Realización 13: síntesis de 2,6-difluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)aniлина (41)



El método para preparar compuesto **41** se refiere a la etapa A en la Realización 13, en donde el 3-fluoro-4-nitrobenzaldehído en la etapa A de la Realización 13 se reemplazó por 3,5-difluoro-4-nitrobenzaldehído. RMN H¹ (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,18-8,14 (m, 1H), 7,79 (dd, J = 2,4, 10,0 Hz, 1H), 7,62 (dd, J = 2,4, 7,2 Hz, 2H), 7,26-7,21 (m, 1H), 6,11 (s, 2H). MS (EI, m/z): 327,0 [M-H]⁻.

Realización 14: síntesis de 2-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metilaniлина (45)



Etapa A: se añadió gota a gota una solución de NBS (5,0 g, 28,1 mmoles) en DMF (20 ml) a una solución de 2-fluoro-6-metilaniлина (3,5 g, 28,0 mmoles) en DMF (10 ml) en un baño de hielo-agua, y la mezcla se agitó continuamente durante 5 minutos al final de la adición. El baño de agua con hielo se retiró y la mezcla de reacción

se agitó 0,5 ha temperatura ambiente. Se añadió agua (150 ml) a la mezcla que se extrajo con acetato de etilo (80 ml x 3), y las fases orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con solución saturada de bicarbonato de sodio (40 ml x 2) y solución salina saturada (40 ml x 2), y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener 4-bromo-2-fluoro-metilaniлина. **(42)** (5,3 g). El rendimiento fue de 92,8%.

Etapa B: una mezcla del compuesto **42** (5,3 g, 26,0 mmoles), cianuro cuproso (3,0 g, 33,5 mmoles) y N-metilpirrolidona (15 ml) se agitó durante una noche en nitrógeno a 180°C. Se añadió agua (75 ml) a la mezcla, que se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3), y las fases orgánicas combinadas se lavaron sucesivamente con agua (30 ml x 2) y solución salina saturada (30 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:30 a 1:5) para obtener 4-amino-3-fluoro-5-metilbenzonitrilo **(43)** (2,96 g). El rendimiento fue de 75,8%.

Etapa C: una mezcla del compuesto **43** (2,95 g, 19,6 mmoles), solución de hidróxido de sodio 1 M (50 ml) y etanol (5 ml) se calentó a reflujo y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió agua (50 ml) y la mezcla se lavó con MTBE (20 ml x 2), y la fase acuosa se usó como producto. La fase acuosa se ajustó con ácido clorhídrico 2 M hasta que el valor de pH fue de 3 a 4, y el sólido se separó. La mezcla se filtró y la torta del filtro se secó para obtener ácido 4-amino-3-fluoro-5-metilbenzoico. **(44)** (2,90 g). El rendimiento fue de 87,5%.

Etapa D: se añadió tributilfosfina (2,15 g, 10,6 mmoles) a una mezcla del compuesto **11** (1,74 g, 4,60 mmoles), el compuesto **44** (600 mg, 3,55 mmoles) y metilbenceno (25 ml), y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 48 h bajo nitrógeno. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió agua (40 ml) y la mezcla se ajustó con una solución de hidróxido de sodio 2 M hasta que el valor de pH fue de 9 a 10, La mezcla se extrajo con acetato de etilo (40 ml x 3), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada (25 ml) y se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el producto se purificó mediante cromatografía (mallas 200 a 300 de gel de sílice, elución con acetato de etilo:éter de petróleo = 1:100 a 1:30) para obtener 2-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metilaniлина **(45)**. RMN H¹ (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,14-8,10 (m, 1H), 7,77-7,74 (m, 1H), 7,58-7,55 (m, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 5,76 (s, 2H), 2,22 (s, 3H). MS (EI, m/z): 323,0 [M-H]⁻.

Realizaciones de bioactividad

Realización 15: Efectos de inhibición de los compuestos sobre el crecimiento de líneas celulares de cáncer de mama de MCF-7 y MDA-MB-468

Métodos y resultados experimentales.

1. Las células de cáncer de mama MCF-7 (células de tipo luminal) y MDA-MB-468 (células de tipo basal, que son del tipo triple negativo sin transición epitelial-mesenquimal) se adquirieron en el Centro de Recursos Celulares de los Institutos de Ciencias Biológicas de Shanghai de la Academia de Ciencias de China, y se cultivaron con medio de cultivo DMEM (que contenía suero bovino fetal al 10%, 10 U/ml de penicilina y 0,1 mg/ml de estreptomycin) en una incubadora con CO₂ al 5% a 37°C hasta que la densidad celular fue de aproximadamente 90%.

2. Las células se inocularon en una placa de 96 pocillos a una población celular de 3 x 10³/pocillo y a continuación se cultivaron en la incubadora con CO₂ al 5% durante 24 ha 37°C.

3. Los compuestos probados de diferentes gradientes de concentración se prepararon utilizando el medio de cultivo DMEM, y se añadieron a los pocillos a 100 µL/pocillo como pocillos de compuestos probados; y, el líquido de cultivo DMEM se añadió a los pocillos a 100 µL/pocillo como pocillos de control negativo. A 37°C y en la incubadora con CO₂ al 5%, las células MCF-7 se cultivaron durante 120 h, y las células MDA-MB-468 se cultivaron durante 72 h.

4. La resazurina (15 mg/50 ml), el azul de metileno (25 mg/10 ml), el ferricianuro de potasio (0,329 g/100 ml) y el ferrocianuro de potasio (0,422 g/100 ml) se disolvieron en PBS (0,1 M, pH = 7,4) para obtener la solución de Alamar Blue para el modo de reposo.

5. Las células se lavaron dos veces con PBS (0,1 M, pH = 7,4), y la solución de Alamar Blue se añadió a los pocillos a 100 µL/pocillo; se añadieron 100 µL de solución de Alamar Blue a los pocillos sin células para servir como células de control de blanco. La placa de 96 pocillos se colocó en la incubadora con CO₂ al 5% a 37°C y cultivada durante 3 h.

6. El valor de fluorescencia de las células fue detectado a incubadora 530/590 nm por ELIASA Victor X4 (Perkin Elmer). El valor de fluorescencia en cada concentración se midió repetidamente 4 veces para obtener un valor promedio y una desviación estándar. La viabilidad celular se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Viabilidad celular (\%)} = \frac{\text{pocillos de los compuestos probados} - \text{pocillos de control de blanco}}{\text{pocillos de control negativo} - \text{pocillos de control de blanco}} \times 100\%$$

7. La concentración inhibitoria de 50% (CI₅₀) de los compuestos probados contra las líneas celulares se obtuvo de

acuerdo con la viabilidad celular mediante el soporte lógico Prism Graph. Los resultados experimentales se muestran en la Tabla 1.

5 **Tabla 1: Concentración inhibitoria de 50% (CI₅₀, nM) de los compuestos contra líneas celulares de MCF-7 y MDA-MB-468**

ID de compuesto	MCF-7	MDA-MB-468
7	56,69	74,07
14	187,71	137,94
17	72,81	58,45
18	91,86	70,93
26	133,8	
34	52,38	29,06
35	41,59	39,67
37	449,56	113,63
41	56,77	20,1
Paclitaxel	4,6*	4,43

* Nota: En la Tabla 1, el fármaco de control positivo paclitaxel tiene solo una tasa de inhibición de 70% para la línea celular MCF-7 en su concentración más alta a 500 nM. Por lo tanto, la CI₅₀ del paclitaxel para las cepas de células MCF-7 calculadas mediante el soporte lógico es menor.

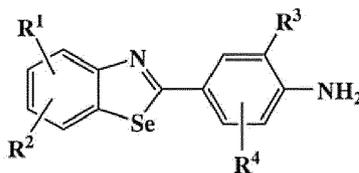
10 **Realización 16: Efectos de inhibición de los compuestos sobre el crecimiento de células de cáncer de pulmón humano H1299, células de cáncer de colon humano HT29, células de cáncer de hígado humano SK-HEP-1, células de cáncer de colon humano HCT116, células de hígado humano normales L-02 y WRL-68**

15 Se realizaron pruebas de inhibición del crecimiento de los compuestos probados 7, 17, 18, 34, 35 y 41 sobre las células de cáncer de pulmón humano H1299, células de cáncer de colon humano HT29, células de cáncer de hígado humano SK-HEP-1, células de cáncer de colon humano HCT116, células hepáticas normales humanas L-02 y WRL-68, y el método se refiere a la Realización 19 "Efectos de inhibición de los compuestos sobre el crecimiento de células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-468". Los compuestos 7, 17, 18, 34, 35 y 41 tenían una concentración inhibitoria de 50% (CI₅₀) mayor que 10 µM para las células, y no tuvo efectos de inhibición obvios. La concentración inhibitoria de 50% (CI₅₀) del fármaco de control positivo paclitaxel para las seis líneas celulares estaba dentro de un intervalo de 1,59 nM a 15,31 nM.

20 Los resultados experimentales indicaron que los compuestos 7, 17, 18, 34, 35 y 41 tuvieron muy buenos efectos de inhibición del crecimiento en las células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-468; y la concentración inhibitoria de 50% (CI₅₀) para otras cepas celulares probadas tales H1299, HT29, SK-HEP-1, HCT116, L-02 y WRL-68 fue mayor de 10 µM; y, el medicamento positivo paclitaxel todavía tenía una fuerte toxicidad de inhibición en las células cancerosas además de las células cancerosas de mama y las células normales. Por lo tanto, se indicó que los
25 compuestos de la presente solicitud tenían una selectividad notable para la inhibición de las líneas celulares de cáncer de mama.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(II)

5

en donde:

10 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H, D, halógeno, -CN, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, halógeno o alcoxi C_1-C_3 ; R^3 se selecciona entre halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, halógeno, alquilo C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 ; y R^4 se selecciona entre H, D, halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, halógeno, alquilo C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 .

15

2. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde:

20 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H, D, halógeno, -CN, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, F o alcoxi C_1-C_3 ; R^3 se selecciona entre halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, F, alquilo C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 ; y R^4 se selecciona entre H, D, halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -NH₂ sustituido, alquilo C_1-C_3 , alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 sustituido, y el grupo sustituyente se selecciona entre D, F, alquilo C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 .

25

3. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H, D, F, Cl, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCF₃ o -OCHF₂.

30

4. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde R^3 se selecciona entre halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃ y R^4 se selecciona entre H, D, halógeno, -OH, -CN, -NH₂, -CH₃, -CH₂CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃.

35

5. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, en donde R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre H, D, F, Cl, -CN, -CH₃, -CF₃ o -CHF₂; R^3 se selecciona entre F, Cl, Br, I, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃ y R^4 se selecciona entre H, D, F, Cl, Br, I, -CN, -CH₃, -CF₃, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -OCHF₂ o -OCF₃.

40

6. El compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, que se selecciona entre:

45 4-(benzoselenazol-2-il)-2-bromoanilina,
2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina,
4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metilanilina,
2-bromo-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metilanilina,
4-(5-bromobenzoselenazol-2-il)-2-cloroanilina,
2-metil-4-(5-metilbenzoselenazol-2-il)anilina,
50 2-metil-4-[5-(trifluorometil)benzoselenazol-2-il]anilina,
4-(6-etoxibenzoselenazol-2-il)-2-metilanilina,
4-(6-etoxi-5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metilanilina,
2-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina,
2-bromo-6-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina,
55 5-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-2-metilanilina,
4-(5-deuterobenzoselenazol-2-il)-2-metilanilina,
2,6-difluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)anilina, y

2-fluoro-4-(5-fluorobenzoselenazol-2-il)-6-metilanilina.

5 7. Una composición farmacéutica, que contiene el compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, como componente activo o componente activo principal, y coadyuvantes farmacéuticamente aceptables.

8. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 1, para su uso en un método de tratamiento o prevención del cáncer de mama.