



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 274 572**

51 Int. Cl.:

C07C 229/58 (2006.01)

C07C 237/30 (2006.01)

C07C 215/68 (2006.01)

C07C 243/38 (2006.01)

C07D 257/04 (2006.01)

C07D 295/12 (2006.01)

A61K 31/195 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **98932829 .9**

86 Fecha de presentación : **24.06.1998**

87 Número de publicación de la solicitud: **0993437**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **19.04.2000**

54

Título: **Derivados de ácido 2-(4-bromo- o 4-yodo-fenilamino) benzoico y su uso como inhibidor de MEK.**

30

Prioridad: **01.07.1997 US 51433 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2007

73

Titular/es: **Warner-Lambert Company L.L.C.**
235 East 42nd Street
New York, New York 10017, US

72

Inventor/es: **Barrett, Stephen, Douglas;**
Bridges, Alexander, James;
Cody, Donna, Reynolds;
Doherty, Annette, Marian;
Dudley, David, Thomas;
Saltiel, Alan, Robert;
Schroeder, Mel, Conrad y
Teclé, Haile

74

Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 274 572 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 ácido 2-(4-bromo- o 4-yodo-fenilamino) benzoico y su uso como inhibidor de MEK.

5 **Campo de la invención**

Esta invención proporciona derivados ácido benzoico y amida de ácidos antranílicos que inhiben ciertas enzimas quinasa de especificidad doble implicadas en enfermedades proliferativas tales como cáncer y restenosis.

10 **Antecedentes de la invención**

Las enfermedades proliferativas están provocadas por un defecto en el sistema de señalización intracelular, o el mecanismo de transducción de señales de ciertas proteínas. El cáncer, por ejemplo, está provocado habitualmente por una serie de defectos en estas proteínas de señalización, que dan como resultado un cambio en su actividad intrínseca o en sus concentraciones celulares. La célula puede producir un factor de crecimiento que se une a sus propios receptores, dando como resultado un bucle autocrino, que estimula continuamente la proliferación. Las mutaciones o la sobreexpresión de proteínas intracelulares de señalización pueden conducir a señales mitogénicas falsas dentro de la célula. Algunas de las mutaciones más habituales ocurren en genes que codifican la proteína conocida como Ras, que es una proteína G que se activa cuando se une a GTP, y se inactiva cuando se une a GDP.

Los receptores del factor de crecimiento mencionados anteriormente, y muchos otros receptores mitogénicos, cuando se activan, conducen a Ras que se transforma del estado unido a GDP al estado unido a GTP. Esta señal es un pre-requisito absoluto para la proliferación en la mayor parte de tipos celulares. Los defectos en este sistema de señalización, especialmente en la desactivación del complejo Ras.GTP, son habituales en cánceres, y conducen a que la cascada de señalización por debajo de Ras se active de forma crónica.

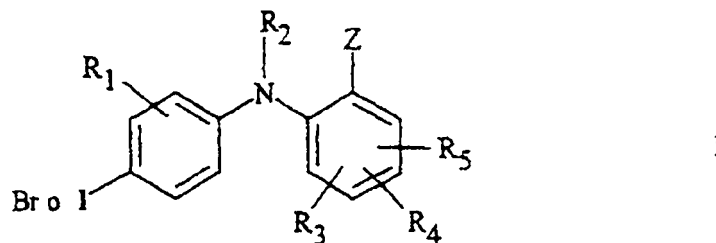
El Ras activado conduce, a su vez, a la activación de una cascada de quinasas serina/treonina. Uno de los grupos de quinasas que se sabe que requiere un Ras.GTP activo para su propia activación es la familia Raf. Estos, a su vez, activan MEK, (por ejemplo, MEK₁ y MEK₂) que después activan la quinasa MAP. La activación de la quinasa MAP por mitógenos parece esencial para la proliferación, y la activación constitutiva de esta quinasa es suficiente para inducir la transformación celular. El bloqueo cadena debajo de la señalización de Ras, por ejemplo usando la proteína dominante negativa Raf-1, puede inhibir completamente la mitogénesis, inducida por los receptores de la superficie celular o por mutantes oncogénicos de Ras. Aunque Ras no es por sí mismo una proteína quinasa, participa en la activación de Raf y otras quinasas, lo más probablemente mediante un mecanismo de fosforilación. Una vez activado, Raf y otras quinasas fosforilan MEK sobre dos restos serina muy próximos, S²¹⁸ y S²²² en el caso de MEK-1, que son el pre-requisito para la activación de MEK como quinasa. MEK, a su vez, fosforila la quinasa MAP tanto en un resto tirosina, Y¹⁸⁵, como en un resto treonina, T¹⁸³, separados por un único aminoácido. Esta doble fosforilación activa la quinasa MAP al menos 100 veces, y ahora puede catalizar la fosforilación de un gran número de proteínas, incluyendo varios factores de transcripción y otras quinasas. Muchas de estas fosforilaciones de la quinasa MAP son mitogénicamente activantes para la proteína diana, bien sea otra quinasa, un factor de transcripción, u otra proteína celular. MEK se activa también por diversas quinasas distintas de Raf-1, incluyendo MEKK, y aparece ella misma como una quinasa de integración de señal. Por lo que se sabe hasta ahora, MEK es muy específico para la fosforilación de quinasa MAP. De hecho, no se ha demostrado hasta la fecha otro sustrato para MEK distinto de la quinasa MAP, y MEK no fosforila péptidos basado en la secuencia de fosforilación de quinasa MAP, ni siquiera fosforila quinasa MAP desnaturada. MEK aparece también asociado fuertemente con la quinasa MAP antes de fosforilarla, lo que sugiere que la fosforilación de la quinasa MAP por MEK puede requerir una fuerte interacción previa entre las dos proteínas. Estos dos requisitos y la especificidad inusual de MEK sugieren que puede tener un mecanismo de acción suficientemente diferente para otras proteínas quinasa y que pueden encontrarse inhibidores selectivos de MEK, que posiblemente funcionan a través de mecanismos alostéricos en lugar de mediante el bloqueo habitual del sitio de unión de ATP. El documento US 5.525.625 se refiere a 2-(2-amino-3-metoxifenil)-4-oxo-4H[1]-benzopirano para tratar trastornos proliferativos.

Esta invención proporciona compuestos que son inhibidores muy específicos de la actividad quinasa de MEK. Tanto en ensayos enzimáticos como en células enteras, los compuestos inhiben la fosforilación de quinasa MAP por MEK, evitando así la activación de la quinasa MAP en células en las que se ha activado la cascada Ras. Los resultados de esta inhibición enzimática incluyen un fenotipo transformado inverso de algunos tipos de células, medido tanto por la capacidad de las células transformadas para crecer de una manera independiente del anclaje como por la capacidad de algunas líneas celulares transformadas para proliferar independientemente de los mitógenos externos.

Los compuestos proporcionados por esta invención son derivados de ácido 2-(fenilamino) benzoico, tetrazol, éster, amida, y alcohol bencílico, en los que el anillo de fenilo está sustituido en la posición 4 con bromo o yodo. La Patente de Estados Unidos N° 5.155.110 describe una amplia variedad de derivados de ácido fenámico, incluyendo ciertos derivados de ácido 2-(fenilamino) benzoico, como agentes anti-inflamatorios. La referencia no describe los compuestos de esta invención o su actividad inhibidora de quinasa.

Sumario de la invención

Esta invención proporciona derivados del ácido 4-bromo y 4-yodo fenilamino benzoico que son inhibidores selectivos de quinasa MEK y, como tales, son útiles para tratar enfermedades proliferativas tales como cáncer, psoriasis, y restenosis. Los compuestos se definen mediante la Fórmula I



en la que:

R₁ es hidroxilo, alquilo C₁-C₈, alcoxi C₁-C₈, halo, trifluorometilo, o CN;

R₂ es hidrógeno;

R₃, R₄, y R₅ son, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, halo, trifluorometilo, alquilo C₁-C₈, alcoxi C₁-C₈, nitro, CN, o -(O o NH)_m-(CH₂)_n-R₉, donde R₉ es hidrógeno, hidroxilo, CO₂H, o NR₁₀R₁₁;

n es 0-4;

m es 0 o 1;

R₁₀ y R₁₁ son, independientemente, hidrógeno o alquilo C₁-C₈, o tomados junto con el nitrógeno al que están unidos, pueden completar un anillo cíclico 3-10 miembros que opcionalmente contiene uno, dos, o tres heteroátomos adicionales seleccionados entre O, S, NH, o N-alquilo C₁-C₈;

Z es COOR₇, tetrazolilo, CONR₆R₇, CONHNR₁₀R₁₁, o CH₂OR₇;

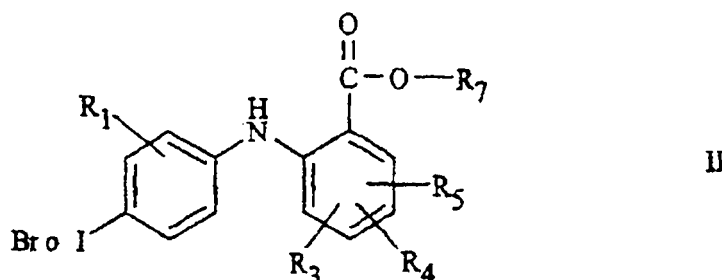
R₆ y R₇ son, independientemente, hidrógeno, alquilo C₁-C₈, alqueno C₂-C₈, alquino C₂-C₈,



arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃-C₁₀, o (cicloalquilo C₃-C₁₀ que opcionalmente contiene uno, dos, o tres heteroátomos seleccionados entre O, S, NH, o N alquilo); o R₆ y R₇ junto con el nitrógeno al que están unidos completan un anillo cíclico 3-10 miembros que opcionalmente contiene 1, 2, o 3 heteroátomos adicionales seleccionados entre O, S, NH, o N alquilo;

y en la que cualquiera de los anteriores grupos alquilo, alqueno, y alquino pueden estar no sustituidos o sustituidos con halo, hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, cicloalquilo, arilo, ariloxi, heteroarilo, o heteroariloxi, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, con la condición de que los compuestos de fórmula I no sean ácido 2'-4'-4'-tribromodifenilamina-2-carboxílico, éster metílico del ácido 2'-4'-4'-tribromodifenilamina-2-carboxílico o ácido 2[(2,4-dibromofenil)amino]-5-bromo-benzoico.

Los compuestos preferidos tienen la Fórmula II



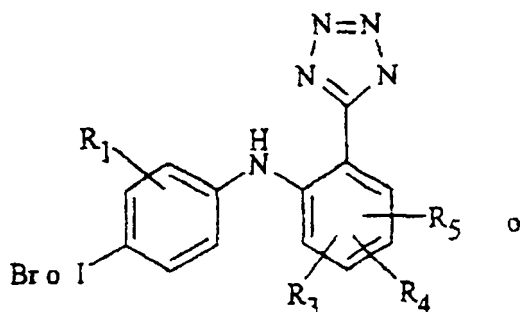
en la que R₁, R₃, R₄, R₅, R₆, y R₇ son como se han definido anteriormente. Se prefieren especialmente compuestos en los que R₁ es metilo o halo, y R₃, R₄, y R₅ son halo tal como fluoro o bromo.

Los compuestos de Fórmula II son ácidos carboxílicos en los que R₇ es hidrógeno, y son ésteres cuando R₇ es distinto de hidrógeno. Los compuestos que son análogos a los ácidos en propiedades físicas y biológicas derivados tetrazolilo de Fórmula IIa

10

15

20

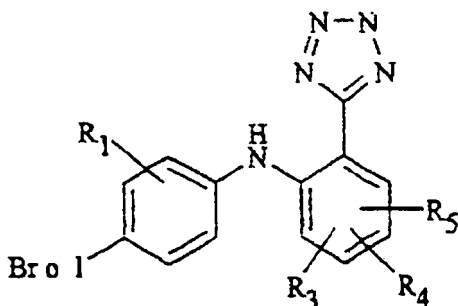


IIa

25

30

35

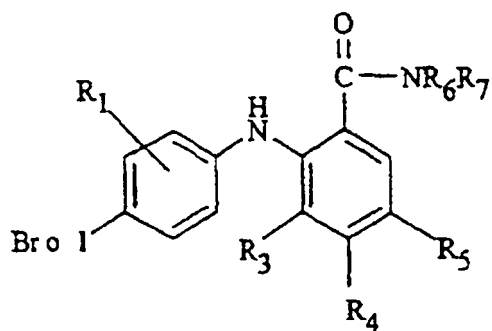


Otro grupo preferido de compuestos son amidas de Fórmula III

40

45

50



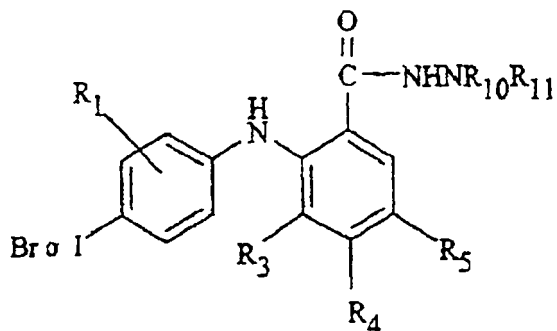
III

e hidrazidas de Fórmula IIIa

55

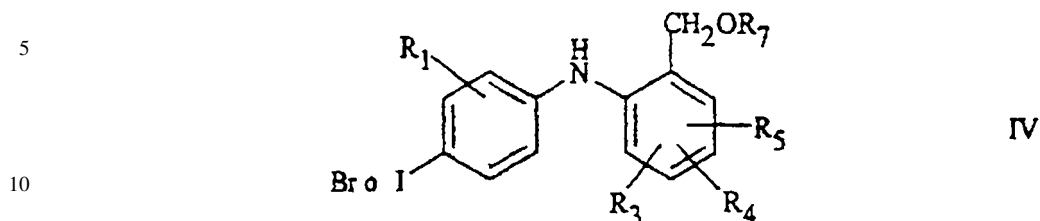
60

65

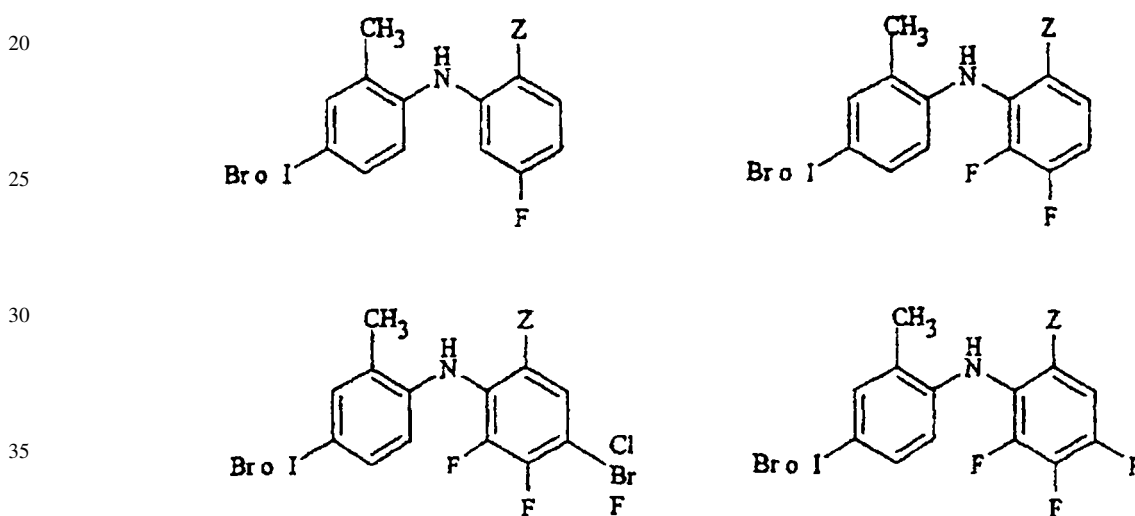


IIIa

Los alcoholes bencílicos de la invención tienen Fórmula IV



15 Los compuestos más preferidos son aquellos en los que R₁ es metilo, R₃ es hidrógeno o halo tal como fluoro, R₄ es halo tal como fluoro, y R₅ es hidrógeno o halo tal como fluoro, bromo, o cloro. Los compuestos representativos tienen las fórmulas



40 Esta invención proporciona también formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I junto con un excipiente, diluyente, o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones preferidas incluyen cualquiera de los compuestos preferidos anteriores junto con un excipiente, diluyente, o vehículo.

45 Los compuestos de Fórmula I son inhibidores potentes y selectivos de enzimas quinasa MEK₁, y MEK₂. Por lo tanto, son útiles para tratar sujetos que padecen cáncer, apoplejía, diabetes, enfermedad de Alzheimer, fibrosis quística, enfermedad viral, insuficiencia cardíaca, y enfermedades proliferativas tales como psoriasis, restenosis, enfermedad autoinmune, y aterosclerosis. Los compuestos son especialmente muy adecuados para tratar cánceres tales como cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de piel, y cáncer pancreático. Son particularmente muy adecuados para usar junto con radioterapia convencional. Los compuestos son también agentes inmunomoduladores y pueden usarse para tratar enfermedades degenerativas en las que un cambio en la activación de MEK conduce a patologías tales como hepatomegalia y cardiomegalia. La invención proporciona un procedimiento para inhibir enzimas MEK y usar los siguientes compuestos para preparar una composición farmacéutica para tratar las enfermedades anteriores administrando a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I.

55 Descripción detallada de la invención

60 Como se usa en este documento, el término "arilo" significa un resto de anillo aromático cíclico, bicíclico, o tricíclico que tiene de cinco a doce átomos de carbono. Los ejemplos de grupos arilo típicos incluyen fenilo, naftilo, y fluorenilo. El arilo puede estar sustituido con uno, dos, o tres grupos seleccionados entre fluoro, cloro, bromo, yodo, alquilo, hidroxilo, alcoxi, nitro, amino, alquilamino, o dialquilamino. Los grupos arilo sustituido típicos incluyen 3-fluorofenilo, 3,5-dimetoxifenilo, 4-nitronaftilo, 2-metil-4-cloro-7-aminofluorenilo, y similares.

65 El término "ariloxi" significa un grupo arilo unido mediante un átomo de oxígeno, por ejemplo fenoxi, 3-bromofenoxi, naftiloxi, y 4-metil-1-fluoreniloxi.

"Heteroarilo" significa un resto de anillo aromático cíclico, bicíclico, o tricíclico que tiene de cuatro a once átomos de carbono y uno, dos, o tres heteroátomos seleccionados entre O, S, o N. Los ejemplos incluyen furilo, tienilo, piro-

ES 2 274 572 T3

lilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tiazolilo, oxazolilo, xantenilo, pironilo, indolilo, pirimidilo, naftiridilo, piridilo, benzimidazolilo, y triazinilo. Los grupos heteroarilo pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno, dos, o tres grupos seleccionados entre fluoro, cloro, bromo, yodo, alquilo, hidroxilo, alcoxi, nitro, amino, alquilamino, o dialquilamino. Los ejemplos de grupos heteroarilo sustituidos incluyen cloropiraniolo, metiltienilo, fluoropiridilo, amino-1,4-benzisoxazinilo, nitroisoquinolinilo, e hidroxindolilo.

Los grupos heteroarilo pueden estar unidos mediante oxígeno para hacer grupos heteroariloxi, por ejemplo tieniloxi, isotiazoliloxi, benzofuraniloxi, piridiloxi, y 4-metilisoquinoliniloxi.

El término “alquilo C₁-C₈” significa grupos alifáticos de cadena lineal o ramificada que tienen de uno a ocho átomos de carbono, preferiblemente de uno a cuatro. Los grupos alquilo C₁-C₈ típicos incluyen metilo, etilo, isopropilo, *tert*-butilo, 2,3-dimetilhexilo, y 1,1-dimetilpentilo. Los grupos alquilo pueden estar no sustituidos o sustituidos con halo, hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, cicloalquilo, arilo; ariloxi, heteroarilo, o heteroariloxi, como estos términos se definen en este documento. Los grupos alquilo sustituidos típicos incluyen clorometilo, 3-hidroxipropilo, 2-dimetilaminobutilo, y 2-(hidroximetilamino)etilo. Los ejemplos de grupos alquilo sustituidos con arilo y ariloxi incluyen fenilmetilo, 2-feniletilo, 3-clorofenilmetilo, 1,1-dimetil-3-(2-nitrofenoxi)butilo, y 3,4,5-trifluoronaftilmetilo. Los ejemplos de grupos alquilo sustituidos con un grupo heteroarilo o heteroariloxi incluyen tienilmetilo, 2-furiletilo, 6-furiloxioctilo, 4-metilquinoliloximetilo, y 6-isotiazolilhexilo. Los grupos alquilo sustituidos con cicloalquilo incluyen ciclopropilmetilo, 2-ciclohexiletilo, piperidil-2-metilo, 2-(piperidin-1-il)-etilo, 3-(morfolin-4-il)propilo.

“Alqueno C₂-C₈” significa una cadena de carbono lineal o ramificada que tiene uno o más dobles enlaces. Los ejemplos incluyen but-2-enilo, 2-metil-prop-2-enilo, 1,1-dimetil-hex-4-enilo, 3-etil-4-metil-pent-2-enilo, y 3-isopropil-pent-4-enilo. Los grupos alqueno pueden estar sustituidos con halo, hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, arilo, ariloxi, heteroarilo, o heteroariloxi, por ejemplo 2-bromoetenilo, 3-hidroxil-2-butenilo, 1-aminoetenilo, 3-fenilprop-2-enilo, 6-tienil-hex-2-enilo, 2-furiloxi-but-2-enilo, y 4-naftiloxi-hex-2-enilo.

“Alquino C₂-C₈” significa una cadena de carbono lineal o ramificada que tiene de dos a ocho átomos de carbono y al menos un triple enlace. Los grupos alquino típicos incluyen prop-2-inilo, 2-metil-hex-5-inilo, 3,4-dimetil-hex-5-inilo, y 2-etil-but-3-inilo. Los grupos alquino pueden estar sustituidos como los grupos alquilo y alqueno, por ejemplo, con arilo, ariloxi, heteroarilo, o heteroariloxi, por ejemplo 4-(2-fluorofenil)-but-3-inilo, 3-metil-5-tienilpent-4-inilo, 3-fenoxi-hex-4-inilo, y 2-furiloxi-3-metil-hex-4-inilo.

Los grupos alqueno y alquino pueden tener uno o más dobles enlaces o triples enlaces, respectivamente, o una combinación de dobles y triples enlaces. Por ejemplo, los grupos típicos que tienen tanto dobles como triples enlaces incluyen hex-2-en-4-inilo, 3-metil-5-fenilpent-2-en-4-inilo, y 3-tieniloxi-hex-3-en-5-inilo.

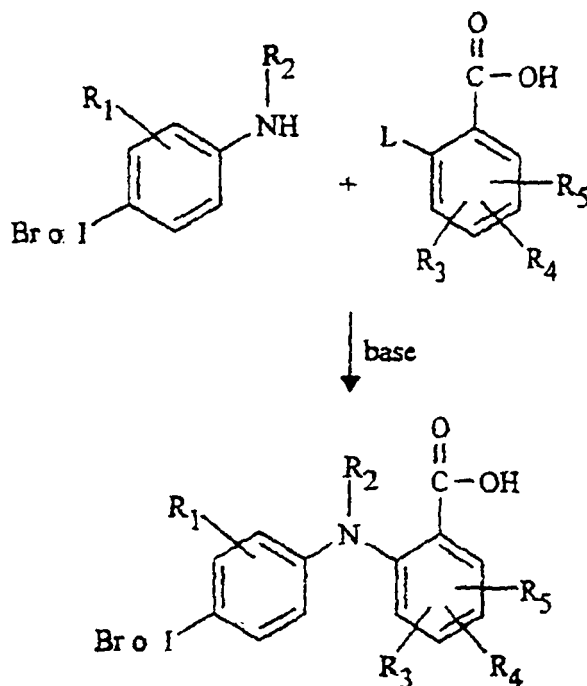
El término “cicloalquilo C₃-C₁₀” significa un anillo no aromático o anillos condensados que contiene de tres a diez átomos de carbono. Los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo, bicicloheptilo, adamantilo, y ciclohexilo. El anillo puede contener opcionalmente uno, dos, o tres heteroátomos seleccionados entre O, S, o NR₉. Dichos grupos incluyen tetrahidrofurilo, tetrahidropirrolilo, octahidrobenzofuranilo, morfolinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, piperidinilo, octahidroindolilo, y octahidrobenzotiofuranilo. Los grupos cicloalquilo pueden estar sustituidos con los mismos sustituyentes que los grupos alquilo y alqueno, por ejemplo, halo, hidroxilo, arilo, y heteroariloxi. Los ejemplos incluyen 3-hidroxiciclohexilo, 2-aminociclopropilo, 2-fenilpirrolidinilo, y 3-tienilmorfolin-1-ilo.

R₆ y R₇ pueden tomarse junto con el nitrógeno al que están unidos para completar un anillo cíclico que tiene de 3 a 10 miembros, que puede contener 1, 2, o 3 heteroátomos adicionales seleccionados entre O, S, NH, o N alquilo. Los ejemplos de dichos anillos cíclicos incluyen piperazinilo, piperidilo, pirrolidinilo, morfolino, N-metilpiperazinilo, aziridinilo, y similares.

Dichos anillos pueden estar sustituidos con halo, hidroxilo, alquilo, alcoxi, amino, alquilo, y dialquilamino, arilo, ariloxi, heteroarilo, y heteroariloxi. Los ejemplos típicos incluyen 3-hidroxipirrolidinilo, 2-fluoro-piperidilo, 4-(2-hidroxietil)-piperidinilo, y 3-tienilmorfolino.

Los derivados de ácido 2-(4-bromo y 4-yodo fenilamino)-benzoico de Fórmula I pueden prepararse a partir de materiales de partida disponibles en el mercado utilizando metodologías sintéticas bien conocidas por los especialistas en la química orgánica. Una síntesis típica se realiza haciendo reaccionar una 4-bromo o 4-yodo anilina con un ácido benzoico que tiene un grupo saliente en la posición 2 para dar un ácido 2-(fenilamino)-benzoico. Este procedimiento se representa en el Esquema 1.

Esquema 1



en el que L es un grupo saliente, por ejemplo halo tal como fluoro.

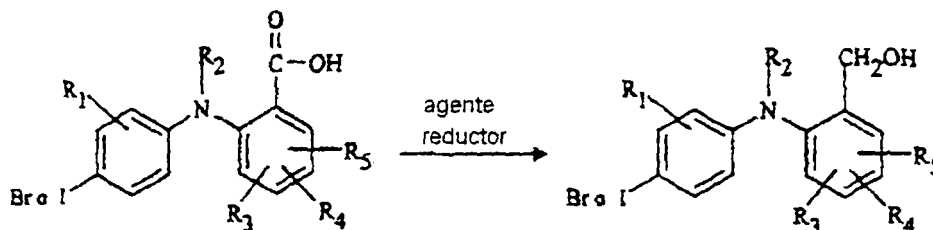
La reacción de anilina y el derivado de ácido benzoico generalmente se realiza mezclando el ácido benzoico con una cantidad equimolar o exceso de la anilina en un disolvente orgánico no reactivo tal como tetrahidrofurano o tolueno, en presencia de una base tal como diisopropilamido de litio, n-butil litio, hidruro sódico, trietilamina, y base de Hunig. La reacción generalmente se realiza a una temperatura de aproximadamente -78°C a aproximadamente 100°C , y normalmente se completa en aproximadamente 2 horas a aproximadamente 4 días. El producto puede aislarse retirando el disolvente, por ejemplo por evaporación a presión reducida, y purificarse adicionalmente, si se desea, por procedimientos convencionales tales como cromatografía, cristalización, o destilación.

El ácido 2-(fenilamino)-benzoico (por ejemplo, la Fórmula I, en la que R_7 es hidrógeno) puede hacerse reaccionar con una base orgánica o inorgánica tal como piridina, trietilamina, carbonato cálcico, o hidróxido sódico para producir una sal farmacéuticamente aceptable. Los ácidos libres pueden hacerse reaccionar también con un alcohol de fórmula HOR_7 (en la que R_7 es distinto de hidrógeno, por ejemplo metilo) para producir el éster correspondiente. La reacción del ácido benzoico con un alcohol puede realizarse en presencia de un agente de acoplamiento. Los reactivos de acoplamiento típicos incluyen 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina (EEDQ), 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC), hexafluorofosfato de bromo-tris(pirrolidino)-fosfonio (PyBrOP), y hexafluorofosfato de (benzotriazoliloxi) tripirrolidino fosfonio (PyBOP). El ácido fenilamino benzoico y el derivado alcohol normalmente se mezclan en cantidades aproximadamente equimolares en un disolvente orgánico no reactivo tal como diclorometano, tetrahidrofurano, cloroformo, o xileno, y se añade una cantidad equimolar del reactivo de acoplamiento. Una base tal como trietilamina o diisopropiletilamina puede añadirse para que actúe como aceptor de ácido si se desea. La reacción de acoplamiento generalmente se completa después de aproximadamente 10 minutos a 2 horas, y el producto se aísla fácilmente retirando el disolvente de reacción, por ejemplo, por evaporación a presión reducida, y purificando el producto mediante procedimientos convencionales tales como cromatografía o cristalizaciones en disolventes tales como acetona, éter dietílico, o etanol.

Las benzamidas de la invención, Fórmula I en la que Z es CONR_6R_7 , se preparan fácilmente haciendo reaccionar los ácidos benzoicos anteriores con un amina de fórmula HNR_6R_7 . La reacción se realiza haciendo reaccionar cantidades aproximadamente equimolares del ácido benzoico y la amina en un disolvente orgánico no reactivo en presencia de un reactivo de acoplamiento. Son disolventes típicos cloroformo, diclorometano, tetrahidrofurano, benceno, tolueno, y xileno. Los reactivos de acoplamiento típicos incluyen DCC, EEDQ, PyBrOP, y PyBOP. La reacción generalmente se completa después de aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 2 horas cuando se realiza a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 60°C . El producto amida se aísla fácilmente retirando el disolvente de reacción, por ejemplo por evaporación, y la purificación adicional puede realizarse mediante procedimientos normales tales como cromatografía, cristalización, o destilación. Las hidrazidas ($z = \text{CONHR}_{10}\text{R}_{11}$) se preparan de forma similar acoplando un ácido benzoico con una hidrazina de fórmula $\text{H}_2\text{HNR}_{10}\text{R}_{11}$.

ES 2 274 572 T3

Los alcoholes bencílicos de la invención, compuestos de Fórmula I en los que Z es CH_2OR_6 y R_6 es hidrógeno, se preparan fácilmente por reducción del ácido benzoico correspondiente de acuerdo con el siguiente esquema



Los agentes reductores típicos empleados habitualmente incluyen borano en tetrahidrofurano. La reducción normalmente se realiza en un disolvente orgánico no reactivo tal como tetrahidrofurano, y generalmente se completa en aproximadamente 2 horas a aproximadamente 24 horas cuando se realiza a una temperatura de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C .

Los siguientes ejemplos detallados ilustran compuestos específicos proporcionados por esta invención.

Ejemplo 1

Ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metilfenilamino) benzoico

A una solución agitada compuesta por 3,16 g (0,0133 mol) de 2-amino-5-yodotolueno en 5 ml de tetrahidrofurano a -78°C se le añadieron 10 ml (0,020 mol) de una solución 2,0 M de diisopropilamido de litio en tetrahidrofurano / heptano / etenilbenceno (Aldrich). La suspensión verde resultante se agitó vigorosamente durante 15 minutos, y después de este tiempo se añadió una solución de 1,00 g (0,00632 mol) de ácido 2,4-difluorobenzoico en 10 ml de tetrahidrofurano. Se permitió que la temperatura de reacción aumentara lentamente a temperatura ambiente, y a esta temperatura se agitó durante 2 días. La mezcla de reacción se concentró. Se añadió HCl acuoso (10%) al concentrado, y la solución se extrajo con diclorometano. La fase orgánica se secó (MgSO_4) y después se llevó a ebullición sobre un baño de vapor para disminuir el volumen y se enfrió a temperatura ambiente. Las fibras blanquecinas se recogieron por filtración al vacío, se enjuagaron con hexanos, y se secaron en un horno al vacío. (76°C ; aprox. 10 mm de Hg) dando 1,10 g (47%) del material deseado; pf $224-229,5^\circ\text{C}$;

^1H RMN (400 MHz; DMSO): Δ 9,72 (s, 1 H), 7,97 (dd, 1 H, $J = 7,0, 8,7$ Hz), 7,70 (d, 1 H, $J = 1,5$ Hz), 7,57 (dd, 1 H, $J = 8,4, 1,9$ Hz), 7,17 (d, 1 H, $J = 8,2$ Hz), 6,61-6,53 (m, 2 H), 2,18 (s, 3 H);

^{13}C RMN (100 MHz; DMSO): Δ 169,87, 167,60, 165,12, 150,17, 150,05, 139,83, 138,49, 136,07, 135,31, 135,20, 135,07, 125,60, 109,32, 105,09, 104,87, 99,72, 99,46, 89,43, 17,52;

^{19}F RMN (376 MHz; DMSO): δ -104,00 a -104,07 (m);

IR (KBr) 1670 (tramo $\text{C} = \text{O}$) cm^{-1} ;

EM (CI) $\text{M}+1 = 372$.

Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{FINO}_2$:

Encontrado: C, 45,31; H, 2,99; N, 3,77.

Encontrado: C, 45,21; H, 2,77; N, 3,64.

Ejemplos 2-30

Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 1, se prepararon los siguientes ácidos benzoicos y sales:

ES 2 274 572 T3

Nº de Ejemplo	Compuesto	PF °C
2	Ácido 3,4,5-trifluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	206-210
3	Ácido 3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	240,5-244,5
4	Ácido 5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	259,5-262
5	Ácido 5-cloro-2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-benzoico	255-260
6	Ácido 5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	234-238
7	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoato sódico	310-320 desc
8	Ácido 5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	239,5-240
9	Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-5-nitro-benzoico	289-293
10	Ácido 4-fluoro-2-(3-fluoro-4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	233-235
11	Ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzoico	264-267
12	Ácido 2-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-5-nitro-benzoico	256-258
13	Ácido 2-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-4-fluoro-benzoico	218,5-220

14	Ácido 2-(2-bromo-4-yodo-fenilamino)-5-nitro-benzoico	285-288 desc	
5	15	Ácido 2-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-benzoico	230-234
10	16	Ácido 3-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	218-221
15	17	Ácido 3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metoxi-fenilamino)-benzoico	230-233
	18	Ácido 4-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	245-255 desc
20	19	Ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	218-223
	20	Ácido 5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	243-46
25	21	Ácido 5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	241-245
	22	Ácido 2,3,5-trifluoro-4-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	218-222
30	23	Ácido 4-fluoro-2-(3-cloro-4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	248-252,5
35	24	Ácido 2-(4-yodo-fenilamino)-5-metoxi-benzoico	208-211
	25	Ácido 3-cloro-2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-benzoico	232-233
40	26	Ácido 2-fluoro-6-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	179-182
	27	Ácido 4-fluoro-2-(2,3-dimetil-4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	258-261
45	28	Ácido 5-metil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	209,5-211
	29	Ácido 2-cloro-6-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	171-175
50	30	Ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-4-nitro-benzoico	251-263

Ejemplo 31

55 *5-Cloro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida*

A una solución agitada compuesta por 0,1020 g (0,2632 mmol) de ácido 5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico, 0,1 ml (1,7 mmol) de etanolamina, y 0,05 ml (0,29 mmol) de diisopropiletilamina en 5 ml de una solución 1:1 (v/v) de tetrahidrofurano-diclorometano se le añadieron directamente 0,15 g (0,29 mmol) de PyBOP sólido en polvo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El disolvente se retiró al vacío. El residuo bruto se repartió entre éter (50 ml) y ácido clorhídrico acuoso al 10% (50 ml). La fase orgánica se lavó con hidróxido sódico acuoso al 10% (50 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío dando un aceite de color amarillo parduzco que cristalizó en hexanos-éter dando 0,0831 g (73%) de un polvo de color verde amarillento; pf 120-121°C;

65 ¹H RMN (400 MHz; CDCl₃): δ 9,11 (s, 1 H), 7,56 (d, 1 H, J = 1,4 Hz), 7,46-7,4,1 (m, 2 H), 7,20 (dd, 1 H, J = 8,9, 2,4 Hz), 7,00 (t, 2 H, J = 9,6 Hz), 6,55 (t ancho, 1 H), 3,86 (t, 2 H, J = 5,0 Hz), 3,61 (dd, 2 H, J = 10,1, 5,5 Hz), 2,23 (s, 3 H), 1,56 (s ancho, 1 H);

ES 2 274 572 T3

IR (KBr) 3297 (tramo O-H), 1627 (tramo C = O) cm^{-1} ;

EM (CI) $M+1 = 431$.

5 Análisis calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{ClIN}_2\text{O}_2$:

C, 44,62; H, 3,74; N, 6,50.

Encontrado: C, 44,63; H, 3,67; N, 6,30.

10 Ejemplos 32-48

15 Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 31, se prepararon las siguientes benzamidas haciendo reaccionar el ácido benzoico correspondiente con la amina correspondiente.

15

Nº de Ejemplo	Compuesto	PF °C
20 32	4-Metoxi-N-(4-metoxi-fenil)-3-nitro-benzamida	153,5-156
25 33	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	158
30 34	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-benzamida	102,5-104,5
35 35	N-Etil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	90-91
40 36	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N,N-dimetil-benzamida	aceite
45 37	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(1H-tetrazol-5-il)-benzamida	285-288 desc
50 38	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	180-182

45

50

55

60

65

39	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N,N-dimetil-benzamida	137-138
5	40 [5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-hidroxicarbonilmetil-benzamida	170-173
10	41 4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-propil-benzamida	69-71
15	42 5-Bromo-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	132-133,4
20	43 N,N-Dietil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	aceite
25	44 4-Fluoro-N-{3-[4-(2-hidroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	122-124
30	45 N,N-Dietil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	91-93
35	46 N-Butil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	97-99
40	47 5-Cloro-N,N-dietil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	118-120
45	48 5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N,N-dimetil-benzamida	142,5-144

40 Ejemplo 49

Alcohol 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-bencílico

45 Se disolvió ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico (0,50 g, 1,35 mmol) en 6 ml (6 mmol) de complejo borano-tetrahidrofurano frío 1,0 M en solución de tetrahidrofurano. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se interrumpió con 80 ml de metanol. La concentración al vacío produjo un aceite tostado transparente que se purificó por MPLC. La elución con diclorometano dio 0,4285 g (89%) de un sólido blanco; pf 99-100,5°C;

50 ^1H RMN (400 MHz; DMSO): δ 7,57 (d, 1 H, J = 1,7 Hz), 7,45 (dd, 1 H, J = 8,4, 1,9 Hz), 7,39 (s, 1 H), 7,29 (t, 1 H, J = 7,5 Hz), 6,89 (d, 1 H, J = 8,4 Hz), 6,67-6,60 (m, 1 H), 5,47 (t, 1 H, J = 5,5 Hz), 4,49 (d, 2 H, 5,1 Hz), 2,14 (s, 3 H);

55 IR (KBr) 3372 (tramo O-H) cm^{-1} ;

EM (CI) M+1 = 358.

Análisis calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FINO}$:

60 C, 47,08; H, 3,67; N, 3,92.
Encontrado: C, 47,17; H, 3,75; N, 3,72.

Ejemplos 50-52

65 Los siguientes alcoholes bencílicos se prepararon mediante el procedimiento general del Ejemplo 49.

Nº de Ejemplo	Compuesto	PF °C
50	[5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-metanol	82-85
51	[2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-fenil]-metanol	126,5-128,5
52	[5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-metanol	60,5-63,5

Diversos compuestos de la invención de Fórmula I se prepararon utilizando técnicas de síntesis combinatoria. El procedimiento general es el siguiente:

A un vial tomamuestras de 0,8 ml en un bloque metálico se le añadieron 40 μ l de una solución 0,5 M del ácido en DM F y 40 μ l del reactivo amina (solución 2 M en base de Hunig y 1 M en amina en DMF). Se preparó una solución reciente 0,5 M de PyBrop y 50 μ l se añadieron al vial tomamuestras. La reacción se dejó reposar durante 24 horas.

La mezcla de reacción se transfirió a un vial de 2 bocas y se diluyó con 2 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con 3 ml de agua destilada y la fase acuosa se lavó de nuevo con 2 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas combinada se dejaron evaporar a sequedad en una campana extractora abierta.

El residuo se recogió en 2 ml de acetonitrilo al 50% en agua y se inyectó en una columna en fase inversa semi-prep (10 mm X 25 cm, 5 μ M de sílice esférica, tamaño de poro 115 A derivatizado con C-18, la muestra se eluyó a 4,7 ml/min con una rampa lineal de acetonitrilo al 100% durante 8,5 minutos. La elución con acetonitrilo al 100% continuó durante 8 minutos).

Las fracciones se recogieron controlando a 214 nM. El residuo se disolvió en cloroformo y se transfirió a un vial pre-pesado, se evaporaron, y se pesaron de nuevo para determinar el rendimiento.

Ejemplos 53-206

Los siguientes compuestos de Fórmula I se prepararon por metodología combinatoria:

(Tabla pasa a página siguiente)

N° de Ejemplo	Compuesto	MS M-H
53	5-Bromo-3,4-difluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	510
54	N-(2,3-Dihidroxi-propil)-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	462
55	5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida	577
56	3,4-Difluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	432
57	N-(2,3-Dihidroxi-propil)-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	444
58	3,4-Difluoro-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	446
59	5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	564
60	5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida	571
61	4-Fluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	414
62	5-Bromo-N-(3-dimetilamino-propil)-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	551
63	5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	580
64	3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	501
65	3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	485
66	3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida	493

67	N-(3-Dimetilamino-propil)-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	473	
5	68	N-Bencil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	460
10	69	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-idroxi-etil)-benzamida	384
15	70	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	483
	71	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida	495
20	72	3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida	513
25	73	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-tiofen-2-il-etil)-benzamida	480
	74	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	467
30	75	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	453
35	76	5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida	557
40	77	3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida	479
	78	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino) N-(3-dimetilamino-propil)-3,4-difluoro-benzamida	425
45	79	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida	461
50	80	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida	475
55	81	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida	445
	82	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(3-idroxi-propil)-benzamida	400
60	83	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	437

ES 2 274 572 T3

84	4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-fenetil-benzamida	474
5		
85	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-tiofen-2-il-etil)-benzamida	450
10		
86	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-piridin-4-ilmetil-benzamida	431
15		
87	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-fenetil-benzamida	444
20		
88	2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida	451
25		
89	5-Cloro-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	557*
30		
90	5-Fluoro-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	541 *
35		
91	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-piridin-4-ilmetil-benzamida	487
40		
92	5-Bromo-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	601 *
45		
93	5-Cloro-N-(2-dietilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	486*
50		
94	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida	497*
55		
95	(3-Hidroxi-pirrolidin-1-il)-[2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-fenil]-metanona	466
60		
96	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	484*
65		
97	5-Bromo-N-(2-dietilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	530*
98	N-{2-[Bis-(2-idroxi-etil)-amino]-etil}-5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	518*
99	N-{2-[Bis-(2-idroxi-etil)-amino]-etil}-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	562*
100	[5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-(3-idroxi-pirrolidin-1-il)-	499

ES 2 274 572 T3

5	101	Fenetil éster del ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzoico	501
10	102	N-{3-[4-(2-Hidroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	568*
15	103	[5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-	455
20	104	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida	460
25	105	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	528*
30	106	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida	542*
35	107	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	468*
40	108	5-Cloro-N-(3-dimetilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	472*
45	109	N-{2-[Bis-(2-hidroxi-etil)-amino]-etil}-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	502*
50	110	5-Cloro-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	445*
55	111	5-Cloro-N-(3-dietilamino-2-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	516*
60	112	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida	482*
65	113	5-Bromo-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	489*
	114	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida	556*
	115	N-{2-[Bis-(2-hidroxi-etil)-amino]-etil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	529*
	116	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	500*
	117	5-Cloro-N-(3-dietilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	500*

ES 2 274 572 T3

5	118	5-Cloro-N-(2-diisopropilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	514*
10	119	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida	512*
15	120	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida	509*
20	121	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperazin-1-il-etil)-benzamida	544*
25	122	N-(2-Dietilamino-etil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	470*
30	123	5-Bromo-N-(3-dimetilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	516*
35	124	N-(3-Hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	456*
40	125	5-Fluoro-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	429*
45	126	N-(3-Dietilamino-propil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	484*
50	127	N-(3-Dietilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	511 *
55	128	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	544*
60	129	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida	523 *
65	130	1-[5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-metanona	439
	131	5-Bromo-N-(2-diisopropilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	558*
	132	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida	484*
	133	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida	496*
	134	1-[5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-[4-(2-hidroxi-etil)-piperazin-1-metanona	482

ES 2 274 572 T3

5	135	N-(3-Dietilamino-2-hidroxi-propil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	500*
	136	Ácido [5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoilamino]-acético	443
10	137	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida	495*
15	138	N-(3-Dimetilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	483*
	139	N-(2-Diisopropilamino-etil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	498*
20	140	S-fenetil éster del ácido 5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-tiobenzoico	490
25	141	S-fenetil éster del ácido 5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-tiobenzoico	506
	142	S-bencil éster del ácido 5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-tiobenzoico	536
30	143	S-bencil éster del ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-tiobenzoico	503
35	144	S-bencil éster del ácido 5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-tiobenzoico	476
40	145	S-bencil éster del ácido 5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-tiobenzoico	492
	146	N-Ciclopropil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	409
45	147	5-Cloro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	429
50	148	5-Fluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	413
55	149	N-Benciloxi-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	475
	150	N-Benciloxi-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	593*
60	151	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	567

65

ES 2 274 572 T3

152	5-Bromo-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	473
5	153 N-(2-Hidroxi-etil)-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	521
10	154 N-(2-Hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	440
15	155 2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-5-nitro-N-fenil-benzamida	486
20	156 5-Cloro-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	425
25	157 5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	459
30	158 N-Alil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	409
35	159 N-Benciloxi-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	583
40	160 5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	538
45	161 N-Alil-5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	425
50	162 N-Ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	436
55	163 5-Bromo-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	469
60	164 5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	475
65	165 5-Yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	646
	166 5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	598
	167 N-Alil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	436
	168 2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	565

ES 2 274 572 T3

169	N-Alil-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	469	
5	170	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida	473
10	171	N-Ciclopropil-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	517
15	172	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	519
20	173	N-Benciloxi-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	502
25	174	N-Ciclohexil-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	559
30	175	N-Alil-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	517
35	176	5-Yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida	581
40	177	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-5-nitro-benzamida	500
45	178	5-Yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	567
50	179	N-Ciclohexil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	451
55	180	5-Cloro-N-ciclohexil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	467
60	181	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida	533
65	182	5-Bromo-N-ciclohexil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	511
	183	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida	489
	184	N-Ciclohexil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	478
	185	N-Benciloxi-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	538

ES 2 274 572 T3

186	N-Benciloxi-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	477
5		
187	5-Cloro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	431
10		
188	5-Bromo-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	475
15		
189	2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-5-nitro-N-fenil-benzamida	488
20		
190	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	477
25		
191	N-(2-Hidroxi-etil)-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	523
30		
192	5-Cloro-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	425
35		
193	N-Alil-5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	427
40		
194	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	461
45		
195	N-(2-Hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	442
50		
196	5-Fluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	415
55		
197	5-Bromo-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	472
60		
198	N-Ciclopropil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	411
65		
199	5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	540
200	N-Ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	438
201	N-Alil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	411
202	N-Benciloxi-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	585

ES 2 274 572 T3

5	203	N-Alil-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida	472
10	204	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida	601
15	205	5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida	522
	206	N-Alil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida	438

* M+H

Ejemplo 207

Preparación de [4-Cloro-2-(1H-tetrazol-5-il)fenil]-(4-yodo-2-metil-fenil)amina

Etapa a

Preparación de 5-Cloro-2-fluoro-benzaldehído

A una solución de 1-cloro-4-fluorobenceno (13,06 g, 0,1 mol) en THF (180 ml), a -78°C, se le añadió LDA (solución 2 M en THF, 50 ml, 0,1 mol) gota a gota. Después de agitar a -78°C durante 1,5 horas, se añadió DMF (8 ml) a la mezcla de reacción y se dejó calentar a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre agua y Et₂O. La fase de Et₂O se secó (MgSO₄) y el disolvente se retiró al vacío dando 14,95 g (94%) rendimiento de aldehído bruto:

¹H RMN (CDCl₃): δ, 10,3 (s, -C(=O)H).

Etapa b

Preparación de 5-Cloro-2-fluoro-benzaldehído oxima

Una solución de 5-cloro-2-fluoro-benzaldehído (10 g, 0,0631 mol), clorhidrato de hidroxilamina (6,57 g, 0,0946 mol) y piridina (8,3 ml, 0,1010 mol) en EtOH (100 ml) se calentó a 75°C (temperatura del baño de aceite) durante 1 hora y el disolvente se retiró al vacío dando un aceite. El aceite se repartió entre agua y CH₂Cl₂. La fase de CH₂Cl₂ se secó (MgSO₄) y el disolvente se retiró al vacío dando aldoxima bruta en forma de un sólido. El sólido se purificó mediante cromatografía líquida a presión media sobre sílice. La elución con CH₂Cl₂ dio 4,87 g (28%) de la aldoxima en forma de un sólido blanco: pf 95-97°C;

Análisis calculado para C₇H₅NOFCl:

C, 48,44; H, 2,90; N, 8,07.

Encontrado: C, 48,55; H, 2,69, N, 7,90.

Etapa c

Preparación de 5-Cloro-2-fluoro-benzonitrilo

Una solución de la 5-cloro-2-fluoro-benzaldehído oxima (3,15 g, 0,0182 mol) en anhídrido acético (150 ml) se calentó a reflujo durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en solución acuosa saturada de NaHCO₃ (200 ml). La mezcla se extrajo con Et₂O. La fase de Et₂O se secó (K₂CO₃) y el disolvente se retiró dando el producto en forma de un sólido oleoso. El producto se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

ES 2 274 572 T3

Etapa d

Preparación de 5-(5-Cloro-2-fluoro-fenil)-1H-tetrazol

5 Una mezcla de 5-cloro-2-fluoro-benzonitrilo (2,84 g, 0,01823 mol), butanol (15 ml), azida sódica (1,543 g, 0,0237 mol), ácido acético (1,36 ml, 0,0237 mol) se calentó a reflujo durante 24 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron 1,543 g más de azida sódica, y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 24 horas más. Después de enfriar a temperatura ambiente, Et₂O (100 ml) y NaOH acuoso al 10% (200 ml) se añadieron secuencialmente. La mezcla se agitó vigorosamente. La fase acuosa se separó, se enfrió con un baño de metanol enfriado con hielo (-15°C) y se acidificó a pH 1 con HCl conc. Precipitó un sólido gris. El sólido se secó al vacío a 50°C dando 1,76 g (49%) de 5-(5-cloro-2-fluoro-fenil)-1H-tetrazol: pf fusión parcial a 110°C, fusión completa a 124°C);

¹H (400 Mz, CDCl₃): δ 8,19-8,08 (m, 1 H), 7,77-7,71 (m, 1 H), 7,61-7,52 (m, 1 H);

15 ¹³C (100 Mz, CDCl₃): δ 159,00, 156,49, 140,88, 133,02, 132,93, 130,73, 129,23, 129,21, 129,08, 126,05, 118,96, 118,73, 114,50;

EM (CI) M+1 = 199 (100), M = 198 (6).

20

Etapa e

Preparación de [4-Cloro-2-(1H-tetrazol-5-il)fenil]-(4-yodo-2-metil-fenil)amina

25 A una solución de 2-metil-4-yodoanilina (3,52 g, 0,0151 mol) en THF (25 ml) a -78°C, se le añadió LDA (solución 2 molar en THF, 11,33 ml, 0,02267 mol) gota a gota. Después de agitar durante 0,5 horas una solución de 1-(tetrazol-5-il)-2-fluoro-5-clorobenceno (1,5 g, 0,00756 mol) en THF (15 ml) se añadió gota a gota. La reacción se agitó durante 16 horas mientras se calentaba a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se interrumpió con solución acuosa de NH₄Cl conc. y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó (MgSO₄) y el disolvente se retiró dando un producto bruto en forma de un aceite. El aceite con CH₂Cl₂->CH₂Cl₂:MeOH (9,7:0,3) dio 1,5 g (48%) del producto deseado: pf 205-208;

¹H (400 Mz, DMSO): δ 9,13 (s, 1 H), 8,00-7,99 (s, 1 H), 7,69 (s, 1 H), 7,55-7,52 (m, 1 H), 7,43-7,40 (m, 1 H), 7,12-7,05 (m, 1 H), 2,24 (s, 3 H);

35 ¹³C (100 Mz, CDCl₃): δ 141,87, 139,28, 138,88, 135,47, 133,71, 131,65, 128,15, 123,69, 121,94, 116,68, 87,79, 17,22;

EM (CI) M+2 = 413 (44), M+1 = 412 (85), M = 411 (100).

40

Análisis calculado para C₁₄H₁₁N₅ClI·0,5H₂O:

C, 39,97; H, 2,87; N, 16,65.

45 Encontrado: C, 38,87, H, 2,77; N, 16,47.

Las siguientes fenilaminas sustituidas con tetrazol se prepararon siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 207.

Ejemplo 208

(4-Yodo-2-metil-fenil)-[2-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]amina, pf 231°C (desc.)

Ejemplo 209

55 *[4-Nitro-2-(1H-tetrazol-5-il)fenil]-(4-yodo-2-metil-fenil)-amina, pf 205-208°C*

60 Los compuestos de la invención son útiles para tratar cáncer y otras enfermedades proliferativas mediante su inhibición selectiva de las proteínas quinasa MEK₁ y MEK₂ de doble especificidad. El compuesto de la invención se ha evaluado en numerosos ensayos biológicos que normalmente se utilizan par establecer la inhibición de proteínas y quinanas, y para medir las respuestas mitogénicas y metabólicas a dicha inhibición.

Ejemplos 210-224

65 Los compuestos adicionales de la invención que se prepararon mediante los procedimientos generales descritos anteriormente son:

Nº de Ejemplo	Compuesto	PF °C
210	Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3-fluoro-4-(2-morfolin-4-il-etilamino)-5-nitro-benzoico	239-241 desc
211	Ácido 4-amino-2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3-fluoro-5-nitro-benzoico	>270
212	Ácido 2,4-bis-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3-fluoro-5-nitro-benzoico	>265 desc
213	Ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzoico	218-225 desc
214	Ácido 2-(2,6-difluoro-4-yodo-fenilamino)-3,4-difluoro-benzoico	247-249
215	Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-4-nitro-benzoico	267-269
216	Ácido 2-(2,4-diyodo-fenilamino)-4-fluoro-benzoico	260-261
217	Ácido 2-(2-bromo-4-yodo-fenilamino)-4-fluoro-benzoico	259-262
218	Ácido 4-fluoro-2-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-benzoico	215-217
219	Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-4-fluoro-benzoico	242-247
220	Ácido S-bromo-2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3,4-difluoro-benzoico	312,5-318
221	Sal difluorhidrato del éster metílico del ácido 2,3,5-trifluoro-6-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico	118-121
222	5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida	214-217 desc
223	N',N'-dimetil-hidrazida del ácido 5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	154-175 describe
224	Hidrazida del ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	153,5-156

*Ensayos Enzimáticos**Ensayo de cascada para inhibidores de la ruta de la quinasa MAP*

5 La incorporación de ^{32}P a la proteína básica de mielina (MBP) se ensayó en presencia de una proteína de fusión glutatión S-transferasa que contenía quinasa p44MAP (GST-MAPK) y una proteína de fusión glutatión S-transferasa que contenía p45MEK (GST-MEK). La solución de ensayo contenía HEPES 20 mM, pH 7,4, MgCl_2 10 mM, MnCl_2 1 mM, EGTA 1 mM, $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 50 μM , 10 μg de GST-MEK, 0,5 μg de GST-MAPK y 40 μg MBP en un volumen final de 100 μl . Las reacciones se detuvieron después de 20 minutos por adición de ácido tricloroacético y se filtraron a través de una malla de filtro GF/C. Se determinó el ^{32}P retenido en la malla de filtro usando una placa Betaplate 1205. Los compuestos se evaluaron a 10 μM para su capacidad para inhibir la incorporación de ^{32}P .

Para determinar si los compuestos inhibían GST-MEK o GST MAPK, se emplearon dos protocolos adicionales. En el primer protocolo, los compuestos se añadieron a tubos que contenían GST-MEK, seguido de adición de GST-MAPK, MBP y $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. En el segundo protocolo, los compuestos se añadieron a tubos que contenían ambas GST-MEK y GST-MAPK, seguido de MBP y $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$. Los compuestos que mostraron actividad en ambos protocolos se clasificaron como inhibidores de MAPK, mientras que los compuestos que mostraron actividad sólo en el primer protocolo se clasificaron como inhibidores de MEK.

Ensayo in vitro de quinasa MAP

La actividad inhibidora se confirmó también en ensayos directos. Para quinasa MAP, 1 μg de GST-MAPK se incubó con 40 μg de MBP durante 15 minutos a 30°C en un volumen final de 50 μl que contenía Tris 50 mM (pH 7,5), MgCl_2 10 μM , EGTA 2 μM , y $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 10 μM . La reacción se detuvo por adición de tampón de muestra Laemmli SDS y el MBP fosforilado se resolvió por electroforesis en un gel de poliacrilamida al 10%. La radiactividad incorporada al MBP se determinó por auto-radiografía, y posteriormente por escisión de las bandas seguido de recuento de centelleo.

Ensayo in vitro de MEK

30 Para la evaluación de la actividad directa de MEK, se incubaron 10 μg de GST-MEK₁ con 5 μg de una proteína de fusión glutatión S-transferasa que contenía quinasa p44MAP con una mutación de lisina a alanina en la posición 71 (GST-MAPK-KA). Esta mutación elimina la actividad quinasa de MAPK, por lo que sólo permanece la actividad quinasa atribuida a la MEK añadida. Las incubaciones fueron de 15 minutos a 30°C en un volumen final de 50 μl que contenía Tris 50 mM (pH 7,5), MgCl_2 10 μM , EGTA 2 μM , y $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 10 μM . La reacción se detuvo por adición de tampón de muestra Laemmli SDS y el GST-MAPK-KA fosforilado se resolvió por electroforesis en un gel de poliacrilamida al 10%. La radiactividad incorporada al GST-MAPK-KA se determinó por auto-radiografía, y posteriormente por escisión de las bandas seguido de recuento de centelleo. Adicionalmente, se utilizó una MEK activada artificialmente que contenía mutaciones de serina a glutamato en las posiciones 218 y 222 (GST-MEK-2E). Cuando estos sitios se fosforilan, la actividad de MEK aumenta. La fosforilación de estos sitios puede estar mimetizada por mutación de los restos serina a glutamato. Para este ensayo, se incubaron 5 μg de GST-MEK-2E con 5 μg de GST-MAPK-KA durante 15 minutos a 30°C en el mismo tampón de reacción como se ha descrito anteriormente. Las reacciones se terminaron y se analizaron como en el caso anterior.

Ensayo de célula entera de quinasa MAP

45 Para determinar si los compuestos podían bloquear la activación de quinasa MAP en células enteras, se usó el siguiente protocolo: las células se pusieron en placas multi-pocillo y se desarrollaron hasta confluencia. Las células se privaron de suero durante una noche. Las células se expusieron a las concentraciones deseadas de compuesto o vehículo (DMSO) durante 30 minutos, seguido de adición de un factor de crecimiento, por ejemplo, PDGF (100 ng/ml). Después de un tratamiento de 5 minutos con el factor de crecimiento, las células se lavaron con PBS, después se lisaron en un tampón compuesto por NaCl 70 mM, HEPES 10 mM (pH 7,4), glicerol fosfato 50 mM, y Triton X-100 al 1%. Los lisados se aclararon por centrifugación a 13.000 x g durante 10 minutos. Se incubaron cinco microgramos de los sobrenadantes resultantes con 10 μg de proteína-2 asociada a microtúbulos (Map2) durante 15 minutos a 30°C en un volumen final de 25 μl que contenía Tris 50 mM (pH 7,4), MgCl_2 10 mM, EGTA 2 mM y $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 30 μM . Las reacciones se terminaron por adición de tampón de muestra Laemmli. La Map2 fosforilada se resolvió sobre geles de acrilamida al 7,5% y la radiactividad incorporada se determinó por auto-radiografía y escisión posterior de las bandas seguido de recuento de centelleo.

Inmunotransferencias de inmunoprecipitación y antifosfotirosina

60 Para determinar el estado de tirosina fosforilación de la quinasa MAP celular, las células se lisaron, la quinasa MAP endógena se inmunoprecipitó con un anticuerpo específico, y el inmunoprecipitado resultante se analizó para la presencia de fosfotirosina de la siguiente manera: las células confluentes se privaron de suero durante una noche y se trataron con compuestos y factores de crecimiento como se ha descrito anteriormente. Las células se rasparon y sedimentaron a 13.000 x g durante 2 minutos. El sedimento celular resultante se resuspendió y disolvió en 100 μl de SDS al 1% que contenía NaVO_4 1 mM. Después de una ebullición y centrifugación alternativas para desnaturalizar la proteína celular, se añadieron 900 μl de tampón RIPA (Tris 50 mM (pH 7,4), NaCl 150 mM, Triton X-100 al 1%, desoxicolato al 0,1%, y EDTA 10 mM). A esta mezcla se le añadieron 60 μl de perlas de agarosa acopladas con inmu-

ES 2 274 572 T3

noglobulina G de conejo y 60 μ l de células Pansorbin para aclarar el lisado de proteínas de unión no específicas. Esta mezcla se incubó a 4°C durante 15 minutos y después se centrifugó a 13.000 x g durante 10 minutos. El sobrenadante resultante se transfirió a tubos nuevos y se incubó con 10 μ l de un antisuero policlonal provocado contra un fragmento de quinasa MAP durante un mínimo de 1 hora a 4°C. Se añadieron setenta microlitros de una suspensión de perlas de agarosa acopladas con proteína G y proteína A y la incubación continuó durante 30 minutos más a 4°C. Las perlas sedimentaron por centrifugación a 13.000 x g durante 5 minutos y se lavaron tres veces con 1 ml de tampón RIPA. Se añadió el tampón de muestra Laemmli al sedimento de perlas final. Esta mezcla se llevó a ebullición durante 5 minutos y después se resolvió en un gel de acrilamida al 10%. Las proteínas sobre el gel se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa y los sitios de unión no específica sobre la membrana se bloquearon por incubación con ovalbúmina al 1% y albúmina de suero bovino al 1% en TBST (NaCl 150 mM, Tris 10 mM (pH 7,4), y Tween 20 al 0,05%). La membrana se incubó después con un anticuerpo disponible en el mercado dirigido contra fosfotirosina. El anticuerpo unido en la membrana se detectó por incubación con ¹²⁵I-proteína A, seguido de auto-radiografía.

Ensayos de Crecimiento Celular

15 Incorporación de ³H-Timidina

Las células se pusieron en placas multi-pocillo y se desarrollaron hasta casi confluencia. Los medios se retiraron después y se sustituyeron con medios de crecimiento que contenían albúmina de suero bovino al 1%. Después de 24 horas de privación de suero, los compuestos y factores de crecimiento específicos se añadieron y las incubaciones continuaron durante 24 horas más. Durante las 2 horas finales, se añadió ³H-timidina al medio. Para terminar las incubaciones, el medio se retiró y las capas celulares se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato enfriada con hielo. Después del lavado final, se añadió ácido tricloroacético al 5% enfriado con hielo y las células se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. La solución de ácido tricloroacético se retiró después y la fase celular se lavó tres veces con agua destilada. Después del lavado final, la fase celular se solubilizó por adición de dodecilsulfato sódico al 2%. La radiactividad de esta solución se determinó por recuento de centelleo.

En las células adipocito 3T3-L1, en las que la inhibición bloque la activación de MAPK por insulina con una CI_{50} de 3 μ M, el compuesto no tenía efecto sobre la captación estimulada de insulina de 2-desoxiglucosa radiomarcada, o sobre la síntesis estimulada por insulina de lípido o glucógeno a una concentración de 10 μ M. Esto demuestra que el inhibidor muestra selectividad entre los efectos mitogénicos y metabólicos de la insulina, y demuestra que el inhibidor mostrará menos toxicidad que un inhibidor que no muestra esta sorprendente selectividad.

35 Crecimiento Monocapa

Las células se colocaron en placas multi-pocillo de 10 a 20.000 células/ml. Cuarenta y ocho horas después de la siembra, los compuestos se añadieron al medio de crecimiento celular y la incubación se continuó durante 2 días más. Las células se retiraron también de los pocillos por incubación con tripsina y se enumeraron en un contador Coulter.

40 Crecimiento en agar blando

Las células se sembraron en platillos de 35 mm de 5 a 10.000 células/platillo usando un medio de crecimiento que contenía agar al 0,3%. Después de enfriar para solidificar el agar, las células se transfirieron en una incubadora a 37°C. Después de un desarrollo de 7 a 10 días, las colonias visibles se enumeraron manualmente con ayuda de un microscopio de disección.

El orden de adición de los experimentos estableció que los compuestos de la invención se inhiben con MEK y no con quinasa MAP. Los experimentos que esperan la fosforilación de un mutante defectuoso en quinasa de quinasa MAP como sustrato (de manera que no puede haber autofosforilación de la quinasa MAP para complicar la interpretación) confirman que el inhibidor inhibe MEK con una CI_{50} esencialmente idéntica a la producida en el ensayo de cascada.

El análisis cinético demuestra que los compuestos de la invención no son competitivos con ATP. Por lo tanto, no se unen al sitio de unión de ATP de la enzima, que es probablemente la explicación de por qué estos compuestos no muestran la actividad inhibitoria no específica de quinasa típica de la mayoría de inhibidores de quinasa, que se unen al sitio de unión de ATP y que son competitivos con ATP. La actividad biológica *in vitro* e *in vivo* de diversos compuestos de Fórmula I representativos en los ensayos anteriores se presenta en la Tabla 1.

60

65

ES 2 274 572 T3

TABLA I

Compuesto del Ejemplo N°	In Vitro	In Vivo (Cultivo Celular)
	% de Inhibición CI_{50} μ M	% de Inhibición CI_{50} μ M
1	0,019	
2	0,014	3
3	0,0111	10
4	0,005	1
5	0,066	
6	0,071	
7	0,072	
8	0,086	
9	0,097	
10	0,101	
11	0,128	
12	0,135	
13	0,178	
14	0,179	
15	0,194	
16	0,323	
17	0,434	
18	0,446	
19	0,524	50% a 30 μ M
20	0,557	
21	0,569	
22	1,581	30% a 30 μ M

ES 2 274 572 T3

	23	1,588	
5	24	1,944	
	25	2,363	
	26	2,609	50% a 30 µM
10	27	2,269	
	28	3,670	
	29	5,331	
15	30	105	10
	31	0,226	
	32	0,028	
20	33	0,052	
	34	0,098	
	35	0,121	
25	36	0,129	
	37	0,237	
	38	0,412	
30	39	0,497	
	40	0,651	30% a 30 µM
35	41	0,872	
	42	0,920	
	43	> 1,000	
40	44	1,481	
	45	1,755	
	46	1,814	
45	47	1,911	
	48	1,945	
	49	0,418	3
50	50	0,179	
	51	0,887	
	52	2,346	
55	53	0,047	0,54
	54	0,158	
60	55	0,114	
	57	0,399	
	89	0,186	
65			

ES 2 274 572 T3

	89	0,614
5	90	0,604
	91	2,071
	92	0,253
10	93	0,521
	95	1,001
15	96	0,374
	100	1,994
	184	0,278
20	186	0,555
	187	0,561
	188	0,771
25	189	0,859
	190	0,921
	191	1,355
30	192	1,797
	193	2,902
	194	4,952
35	195	12,831
	208	1,215
40	209	1,372
	211	> 0,1
	212	0,034
45	213	0,062
	214	0,303
	215	0,031
50	216	1,000
	217	> 1,00
	218	0,051
55	219	0,108
	220	0,029
60	221	0,002
	222	0,085
	223	0,043
65	224	0,028

ES 2 274 572 T3

Los compuestos de la invención se utilizarán para preparar una composición farmacéutica para tratar sujetos que padecen cáncer y otras enfermedades proliferativas, inmunodeficiencia, y ciertas enfermedades degenerativas, y en necesidad de tratamiento. Los compuestos son idealmente adecuados para preparar una composición farmacéutica para tratar psoriasis, restenosis, enfermedad autoinmune, y aterosclerosis. Los compuestos generalmente se utilizarán como una formulación farmacéutica, en la que el compuesto de Fórmula I está presente en una concentración de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 95% en peso. Los compuestos pueden formularse para la administración conveniente por vía oral, parenteral, tópica, rectal, o vías similares. El compuesto se formulará con diluyentes, excipientes, y vehículos habituales utilizados rutinariamente en medicina, por ejemplo, con polioles tales como glicerina, etilenglicol, sorbitol 70; mono- y diésteres de ácido graso de etilenglicol. Almidones y azúcares tales como almidón de maíz, sacarosa, lactosa, y similares, pueden utilizarse para preparaciones sólidas. Dichas formulaciones sólidas pueden estar en forma de comprimidos, trociscos, píldoras, cápsulas, y similares. Pueden incorporarse agentes aromatizantes tales como menta, aceite de gaulteria, y similares.

Las dosis típicas de compuesto activo son aquellas que son eficaces para tratar el cáncer u otro trastorno proliferativo que afecta al mamífero. Las dosis generalmente serán de aproximadamente 0,1 mg por kilogramo de peso corporal a aproximadamente 500 mg por kilogramo de peso corporal. Dichas dosis se administrarán de una a aproximadamente cuatro veces al día, o según sea necesario para tratar eficazmente el cáncer, psoriasis, restenosis, u otro trastorno proliferativo.

Un procedimiento preferido para suministrar el compuesto de la invención es por vía oral mediante un comprimido, cápsula, solución, o jarabe. Otro procedimiento es por vía parenteral, especialmente mediante infusión intravenosa de una solución del benzopirano en solución salina isotónica o glucosa acuosa al 5%.

Las siguientes son formulaciones típicas proporcionadas por la invención.

Ejemplo 225

Preparación de Comprimidos de 50 mg

Por Comprimido		Por 10.000 Comprimidos
0,050 g	ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico	500 g
0,080 g	lactosa	800 g
0,010 g	almidón de maíz (para mezcla)	100 g
0,008 g	almidón de maíz (para pasta)	80 g
0,002 g	estearato de magnesio (1%)	20 g
0,150 g		1500 g

El ácido benzoico, lactosa, y almidón de maíz (para mezcla) se mezclan hasta uniformidad. El almidón de maíz (para pasta) se suspende en 600 ml de agua y se calienta con agitación para formar una pasta. La pasta se usa para granular los polvos mezclados. Los gránulos se hacen pasar a través de un tamiz del N° 8 y se secan a 48,9°C (120°F). Los gránulos secos se hacen pasar a través de un tamiz del N° 16. La mezcla se lubrica con estearato de magnesio al 1% y se comprime en comprimidos. Los comprimidos se administran a un mamífero para inhibir enzimas MEK y tratar restenosis, aterosclerosis, y psoriasis.

Ejemplo 226

Preparación de una Suspensión Oral

	Ingrediente	Cantidad
5	5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(metil)-benzamida	500 mg
10	Solución de sorbitol (70% NF)	40 ml
	Benzoato sódico	150 mg
	Sacarina	10 mg
15	Colorante rojo	10 mg
	Aroma de Cereza	50 mg
20	Agua destilada cs ad	100 ml

La solución de sorbitol se añade a 40 ml de agua destilada y el derivado de benzamida se suspende en la misma. La sacarina, benzoato sódico, aroma, y colorante se añaden y se disuelven. El volumen se ajusta a 100 ml con agua destilada. Cada mililitro de jarabe contiene 5 mg del compuesto de la invención. El jarabe se administra a un mamífero para tratar enfermedades proliferativas, especialmente cáncer de mama y cáncer de piel.

Ejemplo 227

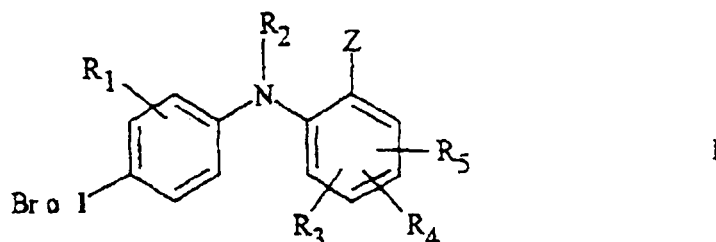
Preparación de una Solución Parenteral

En una solución de 700 ml de propilenglicol y 200 ml de agua para inyección se añaden 20,0 g de alcohol 4-fluoro-2-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-bencílico. El volumen de la solución se ajusta a 1000 ml por adición de agua para inyección. La formulación se esteriliza térmicamente, se rellenan ampollas de 50 ml conteniendo cada una 2,0 ml (40 mg de 4-fluoro-2-(4-bromo-2-metil-fenil amino)-bencilo), y se sellan con nitrógeno.

El compuesto de la invención formulado de esta manera se administrará a un mamífero en necesidad de tratamiento para un trastorno proliferativo tal como cáncer, psoriasis, restenosis, aterosclerosis, enfermedad autoinmune, y otras enfermedades inmunodeficientes y trastornos degenerativos, a una proporción y dosis eficaces para tratar una afección. Una "cantidad antiproliferativa" de un compuesto de la invención es aquella cantidad de compuesto que inhibe o reduce la proporción de proliferación de células diana. Los cánceres típicos para tratar de acuerdo con esta invención incluyen cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de piel, y similares. El compuesto de la invención es especialmente muy adecuado para usar en combinación con radiación para tratar cáncer. El compuesto es muy adecuado para el tratamiento de psoriasis, restenosis, y aterosclerosis, y para inhibir la actividad de enzimas MEK, especialmente MEK₁ y MEK₂. Todo lo que se necesita para inhibir estas enzimas es administrar a un mamífero una cantidad inhibidora de MEK de un compuesto de la invención. Una "cantidad inhibidora de MEK" de un compuesto de la invención es una cantidad que cuando se administra a un mamífero provoca una inhibición medible de la enzima MEK. Las cantidades inhibidoras de MEK típicas serán de aproximadamente 0,1 μ g a aproximadamente 500 mg de compuesto activo por kilogramo de peso corporal. Para tratar las enfermedades proliferativas mencionadas anteriormente, las dosis típicas serán de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/kg, normalmente dadas de una a aproximadamente cuatro veces al día.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I



en la que:

R_1 es hidroxilo, alquilo C_1-C_8 , alcoxi C_1-C_8 , halo, trifluorometilo, o CN;

R_2 es hidrógeno;

R_3 , R_4 , y R_5 son, independientemente, hidrógeno, hidroxilo, halo, trifluorometilo, alquilo C_1-C_8 , alcoxi C_1-C_8 , nitro, CN,

o $-(O \text{ o } NH)_m-(CH_2)_n-R_9$, en la que R_9 es hidrógeno, hidroxilo, COOH, o $NR_{10}R_{11}$;

n es 0-4;

m es 0 o 1;

R_{10} y R_{11} son, independientemente, hidrógeno o alquilo C_1-C_8 , o tomados junto con el nitrógeno al que están unidos pueden completar un anillo cíclico 3-10 miembros que opcionalmente contiene 1, 2, o 3 heteroátomos adicionales seleccionados entre O, S, NH, o N-alquilo C_1-C_8 ;

Z es $COOR_7$, tetrazolilo, $CONR_6R_7$, $CONHN R_{10}R_{11}$, o CH_2OR_7 ;

R_6 y R_7 son, independientemente, hidrógeno, alquilo C_1-C_8 , alquenoilo C_2-C_8 , alquinoilo C_2-C_8 ,



arilo, heteroarilo, o cicloalquilo C_3-C_{10} que opcionalmente contiene uno, dos, o tres heteroátomos seleccionados entre O, S, NH, o N alquilo; o R_6 y R_7 junto con el nitrógeno al que están unidos completan un anillo cíclico 3-10 miembros que opcionalmente contiene 1, 2, o 3 heteroátomos adicionales seleccionados entre O, S, NH, o N-alquilo; y en la que cualquiera de los anteriores grupos alquilo, alquenoilo, y alquinoilo pueden estar no sustituidos o sustituidos con halo, hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino, cicloalquilo, arilo, ariloxi, heteroarilo, o heteroariloxi, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, con la condición de que los compuestos de fórmula I no sean ácido 2'-4-4'-tribromodifenilamina-2-carboxílico, éster metílico del ácido 2'-4-4'-tribromodifenilamina-2-carboxílico o ácido 2[(2,4-di-bromofenil)amino]-5-bromo-benzoico.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en el que R_1 es CH_3 o halo.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 en el que Z es $COOR_7$, tetrazolilo, o una sal del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 que es

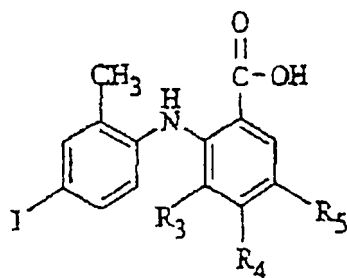
[4-Cloro-2-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]-(4-yodo-2-metil-fenil)-amina;

(4-Yodo-2-metil-fenil)-[2-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]amina; y

[4-Nitro-2-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]-(4-yodo-2-metil-fenil)-amina.

ES 2 274 572 T3

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 que tiene la fórmula



6. Un compuesto de la reivindicación 5 en el que R₃ es hidrógeno, fluoro, o cloro; R₄ es hidrógeno, fluoro, cloro, o nitro; y R₅ es hidrógeno, cloro, fluoro, bromo, nitro, o metoxi.

7. Un compuesto de la reivindicación 6 que es

Ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metilfenilamino)-benzoico;

Ácido 3,4,5-trifluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoato sódico;

Ácido 5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzoico;

Ácido 4-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

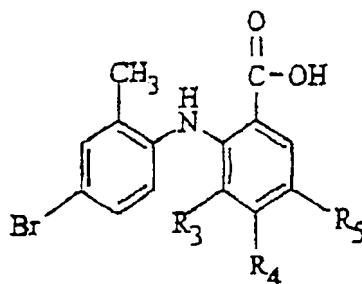
Ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-4-nitro-benzoico; y

Ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzoico.

8. Un compuesto de la reivindicación 3 que tiene la fórmula



9. Un compuesto de la reivindicación 8 en el que R₃ es hidrógeno, cloro, o fluoro; R₄ es hidrógeno, cloro, fluoro, o nitro; R₅ es hidrógeno, cloro, fluoro, bromo, nitro, o metoxi.

ES 2 274 572 T3

10. Un compuesto de la reivindicación 1 que es

Ácido 2-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-4-fluoro-benzoico;

Ácido 2-(2-bromo-4-yodo-fenilamino)-5-nitro-benzoico;

Ácido 2-(4-bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-benzoico;

Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3-fluoro-4-(2-morfolin-4-il-etilamino)-5-nitro-benzoico;

Ácido 4-amino-2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3-fluoro-5-nitro-benzoico;

Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-4-nitro-benzoico;

Ácido 2-(2,4-di-yodo-fenilamino)-4-fluoro-benzoico;

Ácido 2-(2-bromo-4-yodo-fenilamino)-4-fluoro-benzoico;

Ácido 4-fluoro-2-(2-fluoro-4-yodo-fenilamino)-benzoico;

Ácido 2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-4-fluoro-benzoico;

Ácido 5-bromo-2-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3,4-difluoro-benzoico;

Ácido 5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Ácido 2-(4-yodo-fenilamino)-5-metoxi-benzoico;

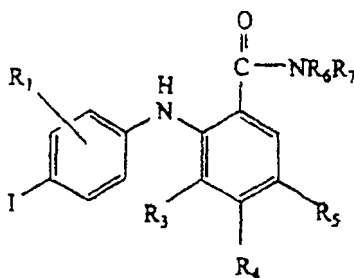
Ácido 5-metil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

N',N'-dimetil-hidrazida del ácido 5-bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico; e

Hidrazida del ácido 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico.

11. Un compuesto de la reivindicación 2 en el que Z es CONR₆R₇

12. Un compuesto de la reivindicación 11 que tiene la fórmula



en la que:

R₁ es CH₃ o halo.

13. Un compuesto de la reivindicación 12 en el que R₃ es hidrógeno, cloro, o fluoro; R₄ es hidrógeno, cloro, fluoro, o nitro; y R₅ es hidrógeno, cloro, fluoro, bromo, nitro, o metoxi.

14. Un compuesto de la reivindicación 1 que es

5-Cloro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-benzamida;

ES 2 274 572 T3

- N-Etil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N,N-dimetil-benzamida;
5 4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(1H-tetrazol-5-il)-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N,N-dimetil-benzamida;
10 5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-idroxicarbonilmetil-benzamida;
4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-propil-benzamida;
15 5-Bromo-N-(2-idroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N,N-Dietil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
4-Fluoro-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
20 N,N-Dietil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
N-Butil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
25 5-Cloro-N,N-dietil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N,N-dimetil-benzamida;
5-Bromo-3,4-difluoro-N-(2-idroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
30 N-(2,3-Diidroxi-propil)-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida;
35 3,4-Difluoro-N-(2-idroxi-etil)-1-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-(2,3-Diidroxi-propil)-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
3,4-Difluoro-N-(3-idroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
40 5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida;
45 4-Fluoro-N-(2-idroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-N-(3-dimetilamino-propil)-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
50 3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
55 3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida;
N-(3-Dimetilamino-propil)-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-Bencil-4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
60 2-(4-Bromo-2-metil-fenil amino)-3,4-difluoro-N-(2-idroxi-etil)-benzamida;
4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
65 4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida;
3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida;

ES 2 274 572 T3

- 4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-tiofen-2-il-etil)-benzamida;
4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
5 2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida;
3,4-Difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida;
10 2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-N-(3-dimetilaminopropil)-3,4-difluoro-benzamida;
4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida;
15 4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida;
2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-piridin-4-il-etil)-benzamida;
2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(3-idroxi-propil)-benzamida;
20 2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
4-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-fenil-benzamida;
25 2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-tiofen-2-il-etil)-benzamida;
2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-piridin-4-ilmetil-benzamida;
2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-fenil-benzamida;
30 2-(4-Bromo-2-metil-fenilamino)-3,4-difluoro-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida;
5-Cloro-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
35 5-Fluoro-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-piridin-4-ilmetil-benzamida;
5-Bromo-N-{3-[4-(2-idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
40 5-Cloro-N-(2-dietilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida;
45 (3-Idroxi-pirrolidin-1-il)-[2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-fenil]-metanona;
5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
5-Bromo-N-(2-dietilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
50 N-{2-[Bis-(2-idroxi-etil)-amino]-etil}-5-cloro-2-(4-yodo-2-metilfenilamino)-benzamida;
N-{2-[Bis-(2-idroxi-etil)-amino]-etil}-5-bromo-2-(4-yodo-2-metilfenilamino)-benzamida;
55 N-{3-[4-(2-Idroxi-etil)-piperazin-1-il]-propil}-2-(4-yodo-2-metilfenilamino)-benzamida;
5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-piridin-4-ilmetil-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-etil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
60 5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida;
5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-pirrolidin-1-il-etil)-benzamida;
65 5-Cloro-N-(3-dimetilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-{2-[Bis-(2-idroxi-etil)-amino]-etil}-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metilfenilamino)-benzamida;

ES 2 274 572 T3

- 5-Cloro-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-N-(3-dietilamino-2-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5 5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida;
5-Bromo-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida;
10 N-{2-[Bis-(2-hidroxi-etil)-amino]-etil}-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
15 5-Cloro-N-(3-dietilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-N-(2-diisopropilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida;
20 2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(2-piperidin-1-il-etil)-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-piperazin-1-il-etil)-benzamida;
25 N-(2-Dietilamino-etil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-N-(3-dimetilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-(3-Hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
30 5-Fluoro-N-(3-hidroxi-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-(3-Dietilamino-propil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
35 N-(3-Dietilamino-propil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida;
40 1-[5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-1-(3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-metanona;
5-Bromo-N-(2-diisopropilamino-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
45 5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(2-morfolin-4-il-etil)-benzamida;
5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-piperidin-1-il-propil)-benzamida;
1-[5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-1-[4-(2-hidroxi-etil)-piperazin-1-il]-metanona;
50 N-(3-Dietilamino-2-hidroxi-propil)-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-Ciclopropil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
55 5-Cloro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Fluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-Benciloxi-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
60 N-Benciloxi-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;
65 5-Bromo-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-(2-Hidroxi-etil)-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

ES 2 274 572 T3

- N-(2-Hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-etil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-5-nitro-N-fenil-benzamida;
5 5-Cloro-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida;
N-Alil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
10 N-Benciloxi-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;
15 N-Alil-5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-Ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
5-Bromo-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
20 5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida;
5-Yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;
25 5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;
N-Alil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;
30 N-Alil-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida;
35 N-Ciclopropil-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida;
N-Benciloxi-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
40 N-Ciclohexil-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
N-Alil-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
45 5-Yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida;
2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-5-nitro-benzamida;
5-Yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida;
50 N-Ciclohexil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-N-ciclohexil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
55 5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida;
5-Bromo-N-ciclohexil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(3-metil-bencil)-benzamida;
60 N-Ciclohexil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;
N-Benciloxi-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
65 N-Benciloxi-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;
5-Cloro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

ES 2 274 572 T3

5-Bromo-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-5-nitro-N-fenil-benzamida;

5 5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida;

N-(2-Hidroxi-etil)-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

5-Cloro-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

10

N-Alil-5-cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida;

15

N-(2-Hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;

5-Fluoro-N-(2-hidroxi-etil)-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

5-Bromo-N-ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

20

N-Ciclopropil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

5-Fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;

25

N-Ciclopropil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida;

N-Alil-5-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

N-Benciloxi-5-yodo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

30

N-Alil-5-bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzamida;

5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-sulfamoil-bencil)-benzamida;

35

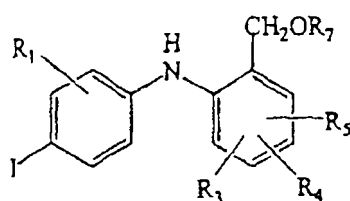
5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-metil-N-fenil-benzamida; y

N-Alil-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-benzamida.

15. Un compuesto de la reivindicación 2 en el que Z es CH_2OR_7 .

40

16. Un compuesto de la reivindicación 15 que tiene la fórmula



50

en la que:

R_1 , es CH_3 o halo.

55

17. Un compuesto de la reivindicación 16 en el que: R_3 es hidrógeno, cloro, o fluoro; R_4 es hidrógeno, cloro, fluoro, o nitro; y R_5 es hidrógeno, cloro, fluoro, bromo, nitro, o metoxi.

18. Un compuesto de la reivindicación 17 que es

60

Alcohol 4-fluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-bencilico;

[5-Cloro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-metanol;

[2-(4-Yodo-2-metil-fenilamino)-5-nitro-fenil]-metanol; y

65

[5-Bromo-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-fenil]-metanol.

ES 2 274 572 T3

19. Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 1 junto con un excipiente, diluyente, o vehículo farmacéuticamente aceptable.

20. Una formulación de la reivindicación 19 que comprende un compuesto en el que Z es COOH o una sal del mismo.

21. Una formulación de la reivindicación 19 que comprende un compuesto en el que Z es CONR₆R₇.

22. Una formulación de la reivindicación 19 que comprende un compuesto en el que Z es CH₂OR₇.

23. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para inhibir enzimas MEK en un mamífero.

24. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece una enfermedad proliferativa.

25. Uso de acuerdo con la reivindicación 24 en el que la enfermedad proliferativa es psoriasis, restenosis, enfermedad autoinmune, o aterosclerosis.

26. Uso de acuerdo con la reivindicación 24 en el que la enfermedad proliferativa es cáncer.

27. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece apoplejía.

28. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece insuficiencia cardíaca.

29. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece hepatomegalia.

30. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece cardiomegalia.

31. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece diabetes.

32. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece la enfermedad de Alzheimer.

33. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece cáncer.

34. Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece fibrosis quística.

35. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 para preparar una composición farmacéutica para tratar a un mamífero que padece una enfermedad viral.

36. Un compuesto que es

Ácido 2,3,5-trifluoro-4-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico;

Sal difluorhidrato del éster metílico del ácido 2,3,5-trifluoro-6-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-4-(4-metil-piperazin-1-il)-benzoico;

5-Bromo-3,4-difluoro-2-(4-yodo-2-metil-fenilamino)-N-(4-metil-piperazin-1-il)-benzamida; y

Ácido 2,4-bis-(2-cloro-4-yodo-fenilamino)-3-fluoro-5-nitro-benzoico.

Ácido 4-fluoro-2-(3-fluoro-4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico

Ácido 4-fluoro-2-(3-cloro-4-yodo-2-metil-fenilamino)-benzoico

Ácido 4-fluoro-2-(2,3-dimetil-4-yodo-2 metil-fenilamino)-benzoico

4-Metoxi-N-(4-metoxi-fenil)-3-nitro benzamida.