



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 698 26 662 T2 2005.02.17

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 993 439 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 698 26 662.5

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US98/13106

(96) Europäisches Aktenzeichen: 98 932 830.7

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 99/001426

(86) PCT-Anmeldetag: 24.06.1998

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 14.01.1999

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 19.04.2000

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 29.09.2004

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 17.02.2005

(51) Int Cl.⁷: C07C 259/10

C07D 295/08, C07D 309/12, A61K 31/165

(30) Unionspriorität:

51440 P 01.07.1997 US

(73) Patentinhaber:

Warner-Lambert Co. LLC, Morris Plains, N.J., US

(74) Vertreter:

Krohn, S., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Ass., 79108 Freiburg

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(72) Erfinder:

BARRETT, Douglas, Stephen, Livonia, US;
BRIDGES, James, Alexander, Saline, US;
DOHERTY, Marian, Annette, F-75016 Paris, FR;
DUDLEY, Thomas, David, Ann Arbor, US; SALTIEL, Robert, Alan, Ann Arbor, US; TECLE, Haile, Ann Arbor, US

(54) Bezeichnung: 4-BROM OR 4-IOD-PHENYLAMINO-BENZHYDROXAMSÄUREDERIVATE UND IHRE ANWENDUNG ALS MEK-INHIBITOREN

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**GEBIET DER ERFINDUNG**

[0001] Die vorliegende Erfindung stellt gewisse Hydroxamsäure-Derivate von Anthranilsäuren zur Verfügung, die gewisse dual-spezifische Kinaseenzyme, die mit proliferativen Erkrankungen, wie Krebs und Restenose, verbunden sind, inhibieren.

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

[0002] Proliferative Erkrankungen werden durch einen Defekt im intrazellulären Signalsystem oder im Signalweitergabemechanismus gewisser Proteine verursacht. Krebs beispielsweise wird im Allgemeinen durch eine Reihe von Defekten in diesen Signalproteinen verursacht, die von einer Änderung entweder in deren intrinsischer Aktivität oder in deren zellulären Konzentrationen herrührt. Die Zelle kann einen Wachstumsfaktor produzieren, der an seine eigenen Rezeptoren binden kann, was zu einem autokrinen Kreislauf führt, der Proliferation kontinuierlich stimuliert. Mutationen oder Überexpression intrazellulärer Signalproteine können zu falschen mitogenen Signalen innerhalb der Zelle führen. Einige der am weitesten verbreiteten Mutationen treten in Genen auf, die das als Ras bekannte Protein codieren, das ein G-Protein darstellt, das aktiviert ist, wenn es an GTP gebunden ist, und inaktiviert ist, wenn es an GDP gebunden ist.

[0003] Die oben erwähnten Wachstumsfaktorrezeptoren und viele andere mitogene Rezeptoren führen, wenn sie aktiviert sind, dazu, dass Ras aus dem GDP-gebundenen Zustand in den GTP-gebundenen Zustand umgewandelt wird. Dieses Signal ist eine absolute Voraussetzung für Proliferation bei den meisten Zellarten. Defekte in diesem Signalsystem, insbesondere in der Deaktivierung des Ras-GTP-Komplexes, sind Krebsarten gemein und führen dazu, dass die Signalkaskade unterhalb von Ras chronisch aktiviert ist.

[0004] Aktiviertes Ras führt wiederum zur Aktivierung einer Kaskade von Serin/Threonin-Kinasen. Eine der Gruppen von Kinasen, von denen man weiß, dass sie zu ihrer eigenen Aktivierung aktives Ras-GTP benötigen, ist die Raf-Familie. Diese wiederum aktivieren MEK, das nachfolgend MAP-Kinase aktiviert. Aktivierung von MAP-Kinase durch Mitogene scheint für Proliferation essentiell zu sein, und konstitutive Aktivierung dieser Kinase ist ausreichend um zelluläre Transformation zu induzieren. Eine Blockade der nachgeschalteten Ras-Signalgebung, beispielsweise unter Verwendung eines dominanten negativen Raf-1-Proteins, kann Mitogenese vollständig inhibieren, ob von Rezeptoren der Zelloberfläche induziert oder von onkogenen Ras-Mutanten induziert. Obwohl Ras selbst keine Proteinkinase ist, ist es an der Aktivierung von Raf und anderer Kinasen beteiligt, höchstwahrscheinlich durch einen Phosphorylierungsmechanismus. Einmal aktiviert, phosphorylieren Raf und andere Kinasen MEK an zwei eng benachbarten Serinresten, S²¹⁸ und S²²² im Fall von MEK-1, die die Voraussetzung für eine Aktivierung von MEK als eine Kinase sind. MEK wiederum phosphoryliert MAP-Kinase sowohl an einen Tyrosin-, Y¹⁸⁵, als auch an einen Threonin-Rest, T¹⁸³, die durch eine einzige Aminosäure getrennt sind. Diese Doppelphosphorylierung aktiviert MAP-Kinase mindestens um einen Faktor 100, und sie kann nun die Phosphorylierung einer großen Zahl von Proteinen, einschließlich mehrerer Transkriptionsfaktoren und anderer Kinasen, katalysieren. Viele dieser MAP-Kinase-Phosphorylierungen sind für das Zielprotein mitogen aktivierend, ob es sich dabei um eine andere Kinase, einen Transkriptionsfaktor oder ein anderes zelluläres Protein handelt. MEK wird ebenso durch mehrere andere Kinasen als Raf-1, einschließlich MEKK, aktiviert, und es scheint selbst eine Signal-integrierende Kinase zu sein. Soweit es derzeit bekannt ist, ist MEK für die Phosphorylierung von MAP-Kinase hochgradig spezifisch. Tatsächlich ist bis heute für MEK kein anderes Substrat als MAP-Kinase gezeigt worden, und MEK phosphoryliert keine Peptide auf Basis der MAP-Kinase-Phosphorylierungssequenz oder sogar keine denaturierte MAP-Kinase. MEK scheint auch in starker Verbindung zu MAP-Kinase zu stehen, bevor es diese phosphoryliert, was nahelegt, dass die Phosphorylierung von MAP-Kinase durch MEK eine vorherige starke Wechselwirkung zwischen den beiden Proteinen erfordern kann. Sowohl dieses Erfordernis als auch die unübliche Spezifität von MEK legen nahe, dass ein ausreichender Unterschied in seinem Wirkungsmechanismus zu anderen Proteinkinasen bestehen kann, so dass selektive Inhibitoren von MEK, die möglicherweise eher durch allosterische Mechanismen als durch die übliche Blockade der ATP-Bindungsstelle einwirken, gefunden werden können.

[0005] Diese Erfindung stellt Verbindungen zur Verfügung, die hochgradig spezifische Inhibitoren der Kinaseaktivität von MEK sind. Sowohl in Enzym-Assays als auch in ganzen Zellen inhibieren die Verbindungen die Phosphorylierung der MAP-Kinase durch MEK, wodurch sie die Aktivierung von MAP-Kinase in Zellen verhindern, in denen die Ras-Kaskade aktiviert worden ist. Die Ergebnisse dieser Enzyminhibierung schließen eine Umkehrung des transformierten Phänotyps einiger Zellarten ein, was sowohl durch die Fähigkeit der transformierten Zellen, auf Adhäsions-unabhängige Weise zu wachsen, als auch durch die Fähigkeit einiger transfor-

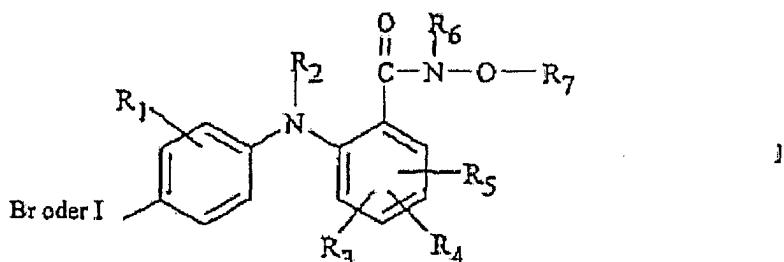
mierter Zelllinien, sich unabhängig von externen Mitogenen zu vermehren, gemessen worden ist.

[0006] Die durch diese Erfindung zur Verfügung gestellten Verbindungen sind Phenylaminobenzhydroxamsäure-Derivate, in denen der Phenylring in der 4-Position mit Brom oder Iod substituiert ist.

[0007] Beispielsweise bezieht sich die US-PS 5 525 625 nur auf 2-(2-Amino-3-methoxyphenyl)-4-oxo-4H-[1]benzopyran oder ein pharmazeutisch annehmbares Säureadditionssalz oder ein Solvat davon, eine pharmazeutische Formulierung, die diese Verbindung zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, Verdünnungsmittel oder Exzipienten umfasst, die MEK inhibieren und als solche bei der Behandlung von Krebs und anderen proliferativen Erkrankungen, wie Psoriasis und Restenose, wirksam sind. Die US-PS Nr. 5 155 110 offenbart eine umfangreiche Auswahl an Fenaminsäure-Derivaten, einschließlich gewisser Phenylaminobenzhydroxamsäure-Derivate, als entzündungshemmende Mittel. In diesem Dokument werden die Verbindung dieser Erfindung und ihre Kinase-inhibierende Aktivität nicht beschrieben.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0008] Diese Erfindung stellt 4-Brom- und 4-Iodphenylaminobenzhydroxamsäure-Derivate zur Verfügung, die Kinaseinhibitoren sind und als solche zur Behandlung proliferativer Erkrankungen, wie Krebs, Psoriasis und Restenose, geeignet sind. Die Verbindungen sind durch die Formel I



definiert, worin:

R₁ Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₈-Alkyl, C₁-C₈-Alkoxy, Halogen, Trifluormethyl oder CN ist;

R₂ Wasserstoff ist;

R₃, R₄ und R₅ unabhängig Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, Trifluormethyl, C₁-C₈-Alkyl, C₁-C₈-Alkoxy, Nitro, CN oder (O oder NH)_m-(CH₂)_n-R₉ sind, worin R₉ Wasserstoff, Hydroxy, CO₂H oder NR₁₀R₁₁ ist;

n 0 bis 4 ist;

m 0 oder 1 ist;

R₁₀ und R₁₁ unabhängig Wasserstoff oder C₁-C₈-Alkyl sind oder zusammengenommen mit dem Stickstoff, an den sie gebunden sind, einen 3- bis 10-gliedrigen zyklischen Ring vervollständigen können, der gegebenenfalls ein, zwei oder drei zusätzliche Heteroatome, ausgewählt aus O, S, NH oder N-C₁-C₈-Alkyl, enthält

R₆ Wasserstoff, C₁-C₈-Alkyl,

O

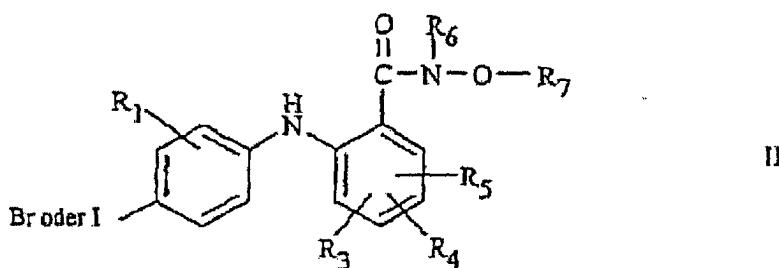
||

C-C₁-C₈-Alkyl,

Aryl, Aralkyl oder C₃-C₁₀-Cycloalkyl ist;

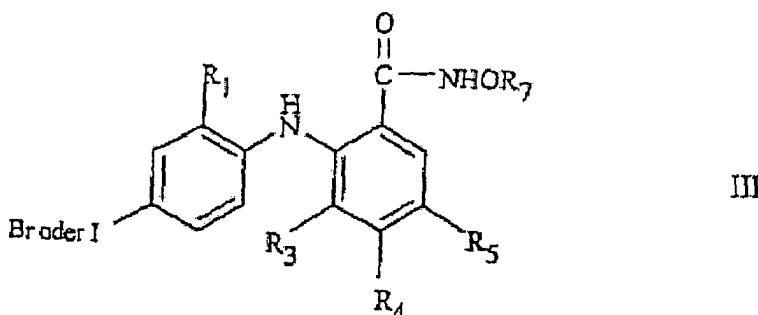
R₇ Wasserstoff, C₁-C₈-Alkyl, C₂-C₁₀-Alkenyl, C₂-C₈-Alkinyl, C₃-C₁₀-(Cycloalkyl oder Cycloalkyl, das gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S oder NR₉, enthält) ist; oder R₆ und R₇ zusammengenommen mit den N-O, an die sie gebunden sind, einen 5- bis 10-gliedrigen zyklischen Ring vervollständigen können, der gegebenenfalls ein, zwei oder drei zusätzliche Heteroatome, ausgewählt aus O, S oder NR₁₀R₁₁, enthält; und worin irgendeine der vorhergehenden Alkyl-, Alkenyl- und Alkinylgruppen unsubstituiert oder durch Cycloalkyl (oder Cycloalkyl, das gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S oder NR₉, enthält), Aryl, Aryloxy, Heteroaryl oder Heteroaryloxy substituiert sein kann.

[0009] Bevorzugte Verbindungen besitzen die Formel II



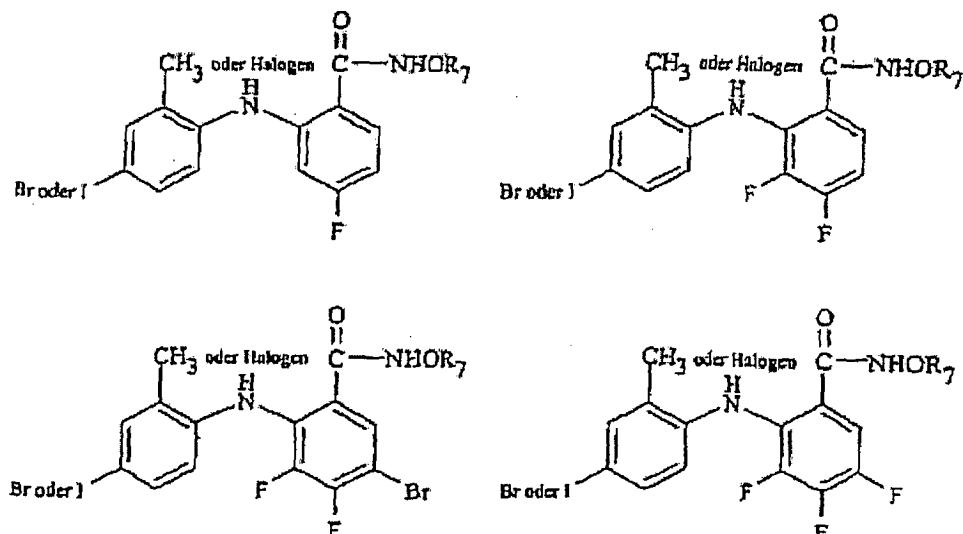
worin R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 und R_7 wie oben definiert sind. Besonders bevorzugt sind Verbindungen, in denen R_1 Methyl oder Halogen ist und R_3 , R_4 und R_5 Halogen sind, wie z.B. Fluor oder Brom.

[0010] Eine andere bevorzugte Gruppe von Verbindungen besitzt die Formel III



worin R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , und R_7 wie oben definiert sind.

[0011] Die am meisten bevorzugten Verbindungen sind diejenigen, in denen R , Methyl oder Halogen, wie z.B. F, Br, Cl und I, ist, R_3 Wasserstoff oder Halogen, wie z.B. Fluor, ist, R_4 Halogen, wie z.B. Fluor, ist, und R_5 Wasserstoff oder Halogen, wie z.B. Fluor oder Brom, ist. Derartige Verbindungen besitzen die Formeln



[0012] Spezielle, durch die Erfindung zur Verfügung gestellte Verbindungen schließen die Folgenden ein:

- 3,4,5-Trifluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
- 5-Chlor-3,4-difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
- 5-Brom-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
- N-Hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-4-nitrobenzamid;
- 3,4,5-Trifluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
- 5-Chlor-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
- 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
- 2-(2-Fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
- 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-3,4,5-trifluor-N-hydroxybenzamid;
- 5-Chlor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;

5-Brom-2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-methylbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-3,4,5-trifluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-5-chlor-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
 4-Fluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid,
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Chlor-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-4-nitrobenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 5-Chlor-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-4-nitrobenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluorbenzamid;
 5-Chlor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 5-Brom-2-(2-brom-4-iodphenylamino)-N-ethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-ethoxy-4-nitrobenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-5-chlor-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-4-nitrobenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-4-fluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-4-fluorbenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-4-fluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isopropylbenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methylbenzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-5-nitrobenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
 3,4-Difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid (HCl-Salz);
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclobutylmethoxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-(2-dimethylaminoethoxy)-3,4-difluorbenzamid-Monohydrochlorid-Salz;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 5-Brom-N-cyclohexylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-cyclopentylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid; und
 5-Brom-N-cyclobutylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid.

[0013] Diese Erfindung stellt ebenso pharmazeutische Formulierungen zur Verfügung, die eine Verbindung der Formel I zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Verdünnungsmittel oder Träger umfassen. Bevorzugte Formulierungen schließen irgendeine der vorangehenden bevorzugten Verbindungen zusammen mit einem Exzipienten, Verdünnungsmittel oder Träger ein.

[0014] Die Verbindungen der Formel I sind wirksame und selektive Inhibitoren von Kinaseenzymen, insbesondere von MEK₁ und MEK₂. Sie sind daher zur Behandlung von Patienten einsetzbar, die unter Krebs und anderen proliferativen Erkrankungen, wie Psoriasis, Restenose, Autoimmunerkrankung und Atherosklerose, leiden. Diese Verbindungen sind besonders gut geeignet um Krebsarten, wie Brustkrebs, Colonkrebs, Prostatakrebs, Hautkrebs und Pankreaskrebs, zu behandeln. Die Verbindungen können ebenso dazu verwendet wer-

den, Schlaganfall, Diabetes, Hepatomegalie, Kardiomegalie, Alzheimer'sche Krankheit, cystische Fibrose und eine virale Erkrankung zu behandeln. Die Erfindung stellt die Verwendung einer Verbindung der Formel I zur Herstellung von Pharmazeutika zur Inhibierung von MEK-Enzymen und der voranstehenden Erkrankungen zur Verfügung.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0015] Wie er hierin verwendet wird, bedeutet der Begriff "Aryl" eine cyclische, bicyclische oder tricyclische aromatische Ringgruppierung mit fünf bis zwölf Kohlenstoffatomen. Beispiele typischer Arylgruppen schließen Phenyl, Naphthyl und Fluorenyl ein. Aryl kann durch eine, zwei oder drei Gruppen substituiert sein, die aus Fluor, Chlor, Brom, Iod, Alkyl, Hydroxy, Alkoxy, Nitro oder Amino ausgewählt ist/sind. Typische substituierte Arylgruppen schließen 3-Fluorphenyl, 3,5-Dimethoxyphenyl, 4-Nitronaphthyl, 2-Methyl-4-chlor-7-aminofluorenyl und dergleichen, ein.

[0016] Der Begriff "Aryloxy" bedeutet eine Arylgruppe, die durch ein Sauerstoffatom gebunden ist, beispielsweise Phenoxy, 3-Bromphenoxy, Naphthoxy und 4-Methyl-1-fluorenyloxy. "Heteroaryl" bedeutet eine cyclische, bicyclische oder tricyclische aromatische Ringgruppierung mit vier bis elf Kohlenstoffatomen und einem, zwei oder drei Heteroatomen, die aus O, S oder N ausgewählt sind. Beispiele schließen Furyl, Thienyl, Pyrrolyl, Pyrazolyl, Triazolyl, Thiazolyl, Xanthenyl, Pyronyl, Indolyl, Pyrimidyl, Naphthyridyl, Pyridyl und Triazinyl ein. Die Heteroarylgruppen können unsubstituiert oder durch eine, zwei oder drei Gruppen substituiert sein, die aus Fluor, Chlor, Brom, Iod, Alkyl, Hydroxy, Alkoxy, Nitro oder Amino ausgewählt sind. Beispiele substituierter Heteroarylgruppen schließen Chlorpyranyl, Methylthienyl, Fluorpyridyl, Amino-1,4-benzisoxazinyl, Nitroisochinolinyl und Hydroxyindolyl ein.

[0017] Die Heteroarylgruppen können durch Sauerstoff unter Bildung von Heteroaryloxygruppen, beispielsweise Thienyloxy, Isothiazolyloxy, Benzofuranyloxy, Pyridyloxy und 4-Methylisochinolinloxy, gebunden sein.

[0018] Der Begriff "C₁-C₈-Alkyl" bedeutet geradkettige oder verzweigt-kettige aliphatische Gruppen mit einem bis acht Kohlenstoffatomen. Typische C₁-C₈-Alkylgruppen schließen Methyl, Ethyl, Isopropyl, tert.-Butyl, 2,3-Dimethylhexyl und 1,1-Dimethylpentyl ein. Die Alkylgruppen können unsubstituiert oder durch Cycloalkyl, Cycloalkyl, das ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S oder NR₉, enthält, Aryl, Aryloxy, Heteroaryl oder Heteroaryloxy substituiert sein, wobei diese Begriffe wie oben definiert sind. Beispiele von Aryl- und Aryloxysubstituierten Alkylgruppen schließen Phenylmethyl, 2-Phenylethyl, 3-Chlorphenylmethyl, 1,1-Dimethyl-3-(2-nitrophenoxy)butyl und 3,4,5-Trifluornaphthylmethyl ein. Beispiele von Alkylgruppen, die durch eine Heteroaryl- oder Heteroaryloxygruppe substituiert sind, schließen Thienylmethyl, 2-Furylethyl, 6-Furyloxyoctyl, 4-Methylchinolyloxymethyl und 6-Isothiazolylhexyl ein. Cycloalkyl-substituierte Alkylgruppen schließen Cyclopropylmethyl, 2-Cyclopentylethyl, 2-Piperidin-1-ylethyl, 3-Tetrahydropyran-2-yl)propyl und Cyclobutylmethyl ein.

[0019] "C₂-C₈-Alkenyl" bedeutet eine gerade oder verzweigte Kohlenstoffkette mit einer oder mehreren Doppelbindungen. Beispiele schließen But-2-enyl, 2-Methylprop-2-enyl, 1,1-Dimethylhex-4-enyl, 3-Ethyl-4-methylpent-2-enyl und 3-Isopropylpent-4-enyl ein. Die Alkenylgruppen können mit Aryl, Aryloxy, Heteroaryl oder Heteroaryloxy substituiert sein, z.B. 3-Phenylprop-2-enyl, 6-Thienylhex-2-enyl, 2-Furyloxybut-2-enyl und 4-Naphthoxyhex-2-enyl.

[0020] "C₂-C₈-Alkinyl" bedeutet eine gerade oder verzweigte Kohlenstoffkette mit zwei bis acht Kohlenstoffatomen und mindestens einer Dreifachbindung. Typische Alkenylgruppen schließen Prop-2-inyl, 2-Methylhex-5-inyl, 3,4-Dimethylhex-5-inyl und 2-Ethylbut-3-inyl ein. Die Alkinylgruppen können durch Aryl, Aryloxy, Heteroaryl oder Heteroaryloxy substituiert sein, beispielsweise 4-(2-Fluorphenyl)but-3-inyl, 3-Methyl-5-thienylpent-4-inyl, 3-Phenoxyhex-4-inyl und 2-Furyloxy-3-methylhex-4-inyl.

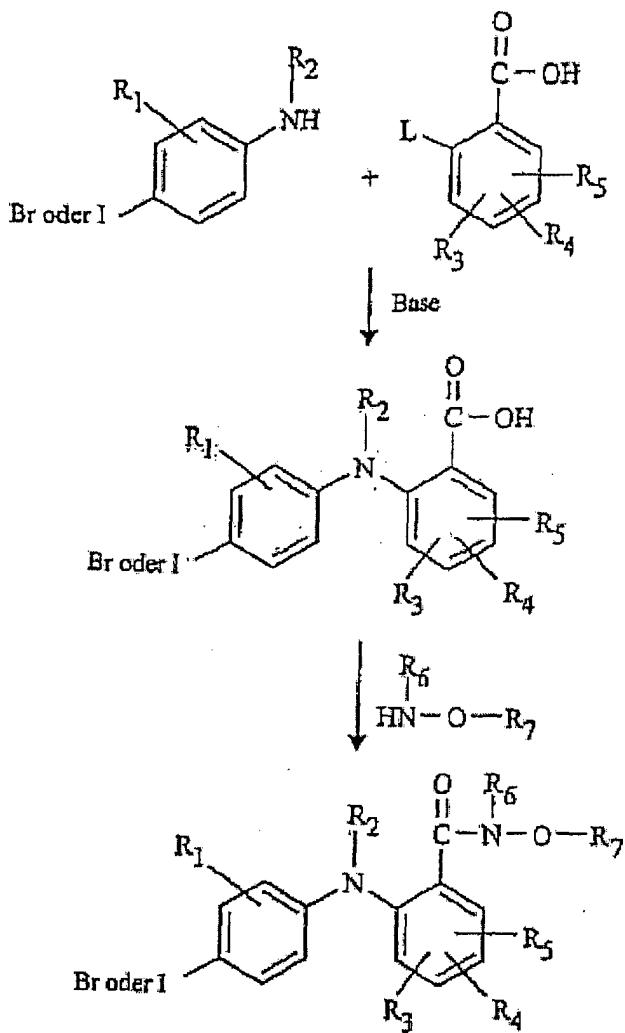
[0021] Die Alkenyl- und Alkinylgruppen können jeweils eine oder mehrere Doppelbindungen oder Dreifachbindungen oder eine Kombination von Doppel- und Dreifachbindungen aufweisen. Beispielsweise schließen typische Gruppen sowohl mit Doppel- als auch mit Dreifachbindungen Hex-2-en-4-inyl, 3-Methyl-5-phenylpent-2-en-4-inyl und 3-Thienyloxyhex-3-en-5-inyl ein.

[0022] Der Begriff "C₃-C₁₀-Cycloalkyl" bedeutet einen nicht-aromatischen Ring oder kondensierte Ringe, die drei bis zehn Kohlenstoffatome enthalten. Beispiele schließen Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclooctyl, Bicycloheptyl, Adamantyl und Cyclohexyl ein. Der Ring kann gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S oder NR₉, enthalten. Derartige Gruppen enthalten Tetrahydrofuryl, Tetrahydropyrrrol, Octahydrobenzofuranyl, Octahydroindolyl und Octahydrobenzothiofuranyl ein.

[0023] R₃, R₄ und R₅ können Gruppen einschließen, die durch den Ausdruck (O oder NH)_m-(CH₂)_n-R₉ definiert sind. Beispiele derartiger Gruppen sind Aminomethyl, 2-Aminoethyl, 2-Aminoethylamino, 3-Aminopropoxy, N,N-Diethylamino, 3-(N-Methyl-N-isopropylamino)-propylamino, 2-(N-Acetylamino)ethoxy, 4-(N-Dimethylamino-carbonylamino)butoxy und 3-(N-Cyclopropylamino)propoxy.

[0024] Die 4-Brom- und 4-Iodphenylaminobenzhydroxamsäure-Derivate der Formel I können aus kommerziell erhältlichen Ausgangsmaterialien unter Verwendung synthetischer Methoden, die dem Fachmann auf dem Gebiet der organischen Chemie wohlbekannt sind, hergestellt werden. Eine typische Synthese wird durch Umsetzen eines 4-Brom- oder 4-Iodanilins mit einer Benzoësäure, die in der 2-Position eine Abgangsgruppe aufweist, unter Erhalt einer Phenylaminobenzoesäure und nachfolgendes Umsetzen des Phenylamino-Derivats der Benzoësäure mit einem Hydroxylamin-Derivat durchgeführt. Dieses Verfahren ist in Schema 1 dargestellt.

Schema 1



worin L eine Abgangsgruppe, beispielsweise Halogen, wie Fluor, Chlor, Brom oder Iod, oder eine aktivierte Hydroxygruppe, wie Diethylphosphat, Trimethylsilyloxy, p-Nitrophenoxo oder Phenylsulfonyxo, ist.

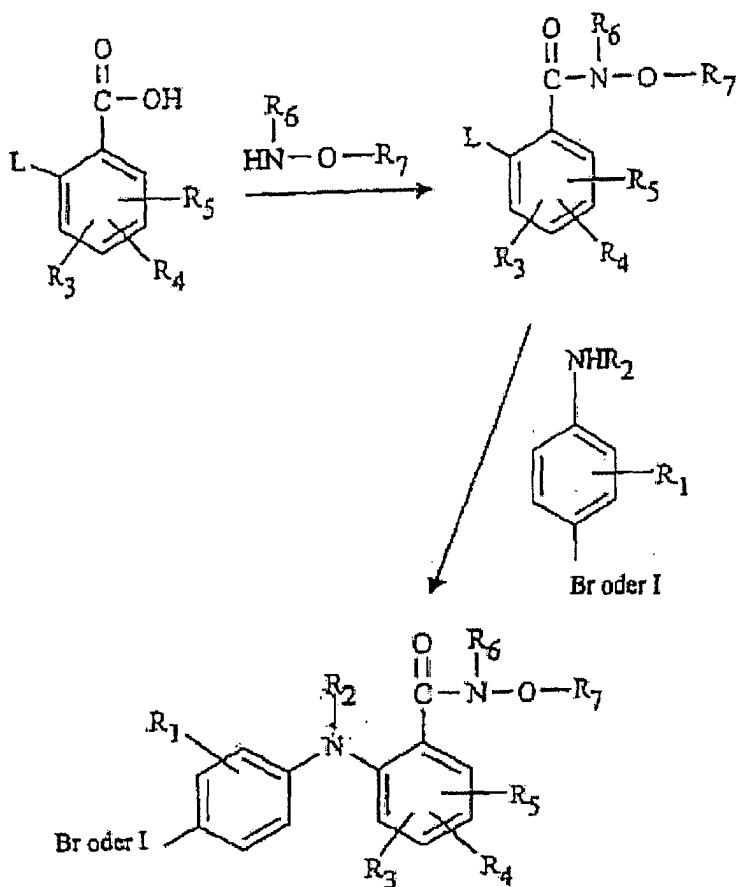
[0025] Die Umsetzung des Anilin-Derivats und des Benzoësäure-Derivats wird im Allgemeinen durch Vermischen der Benzoësäure mit einer äquimolaren Menge oder einem Überschuss des Anilins in einem nicht-reaktiven organischen Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran oder Toluol, in der Anwesenheit einer Base, wie Lithiumdiisopropylamid, n-Butyllithium, Natriumhydrid und Natriumamid, bewerkstelligt. Die Reaktion wird im Allgemeinen bei einer Temperatur von etwa -78°C bis etwa 25°C durchgeführt und ist normalerweise innerhalb von etwa 2 Stunden bis etwa 4 Tagen vollständig. Das Produkt kann durch Entfernen des Lösungsmittels, beispielsweise durch Verdampfen unter verringertem Druck, isoliert und, wenn es gewünscht ist, durch Standardverfahren, wie Chromatographie, Kristallisation oder Destillation, weiter gereinigt werden.

[0026] Die Phenylaminobenzoesäure wird als Nächstes mit einem Hydroxylamin-Derivat HNR₆OR₇ in der Ge-

genwart eines Peptid-Kupplungsreagens umgesetzt. Hydroxylamin-Derivate, die verwendet werden können, schließen Methoxylamin, N-Ethylisopropoxyamin und Tetrahydroooxazin ein. Typische Kupplungsreagentien schließen 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin (EEDQ, 1,3-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC), Bromtris(pyrrolidino)phosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) und (Benzotriazolyloxy)tritypyrrolidinophosphonium-hexafluorophosphat (PyBOP) ein. Die Phenylaminobenzoësäure und das Hydroxylamino-Derivat werden normalerweise in annähernd äquimolaren Mengen in einem nicht-reaktiven organischen Lösungsmittel, wie Dichlormethan, Tetrahydrofuran, Chloroform oder Xylo vermisch, und eine äquimolare Menge des Kupplungsreagens wird zugegeben. Eine Base, wie Triethylamin oder Diisopropylethylamin, kann zugegeben werden um als ein Säurefänger zu fungieren, wenn dies gewünscht wird. Die Kupplungsreaktion ist im Allgemeinen nach etwa 10 Minuten bis etwa 2 Stunden vollständig, und das Produkt kann leicht durch Entfernen des Reaktionslösungsmittels, beispielsweise durch Verdampfen unter reduziertem Druck, und Reinigen des Produkts nach Standardmethoden, wie Chromatographie oder Kristallisation aus Lösungsmitteln, wie Aceton, Diethylether oder Ethanol, isoliert werden.

[0027] Ein alternatives Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen umfasst zunächst das Umwandeln einer Benzoesäure in ein Hydroxamsäure-Derivat und dann das Umsetzen des Hydroxamsäure-Derivats mit einem Anilin. Diese Synthesesequenz ist in Schema 2 dargestellt.

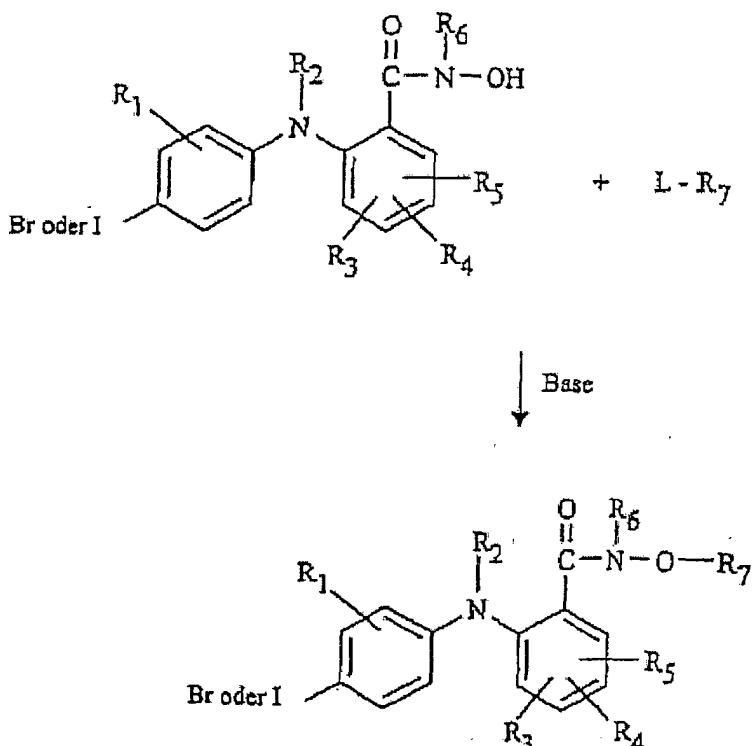
Schema 2



worin L eine Abgangsgruppe ist. Die allgemeinen Reaktionsbedingungen für beide Stufen in Schema 2 sind dieselben, wie sie oben für Schema 1 beschrieben worden sind.

[0028] Ein weiteres anderes Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen umfasst das Umsetzen einer Phenylaminobenzhydroxamsäure mit einer Ester-bildenden Gruppe, wie es in Schema 3 dargestellt ist.

Schema 3



worin L eine Abgangsgruppe, wie Halogen, ist und eine Base Triethylamin oder Diisopropylamin ist.

[0029] Die Synthese der erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I wird durch die vorliegenden detaillierten Beispiele weiter veranschaulicht.

BEISPIEL 1

4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid

(a) Herstellung von 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzoësäure

[0030] Zu einer gerührten Lösung, die 3,16 g (0,0133 mol) 2-Amino-5-iodtoluol in 5 ml Tetrahydrofuran enthielt, wurden bei -78°C 10 ml (0,020 mol) 2,0 M Lithiumdiisopropylamid in Tetrahydrofuran/Heptan/Ethylbenzol-Lösung (Aldrich) gegeben. Die resultierende grüne Suspension wurde 15 Minuten lang kräftig gerührt, wonach eine Lösung von 1,00 g (0,00632 mol) 2,4-Difluorbenzoësäure in 10 ml Tetrahydrofuran zugegeben wurde. Man ließ die Reaktionstemperatur langsam auf Raumtemperatur ansteigen, bei der das Gemisch 2 Tage lang gerührt wurde. Das Reaktionsgemisch wurde durch Verdampfen des Lösungsmittels bei reduziertem Druck eingeengt. Wässrige HCl (10%) wurde zu dem Konzentrat gegeben, und die Lösung wurde mit Dichlormethan extrahiert. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO_4), nachfolgend über einem Dampfbad auf ein geringes Volumen (10 ml) eingeengt und auf Raumtemperatur abgekühlt. Die gebildeten, cremefarbenen Fasern wurden durch Vakuumfiltration gesammelt, mit Hexan gewaschen und in einem Vakuumofen getrocknet (76°C ; ca. 10 mm Hg), was 1,10 g (47%) des gewünschten Materials lieferte; Schmelzpunkt 224–229,5°C;

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

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO): δ 169,87, 166,36 (d, $J_{\text{C-F}}=249,4\text{Hz}$), 150,11 (d, $J_{\text{C-F}}=11,4\text{Hz}$), 139,83, 138,49, 136,07, 135,26 (d, $J_{\text{C-F}}=11,5\text{Hz}$), 135,07, 125,60, 109,32, 104,98 (d, $J_{\text{C-F}}=21,1\text{Hz}$), 99,54 (d, $J_{\text{C-F}}=26,0\text{Hz}$), 89,43, 17,52;

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, DMSO): δ –104,00 bis –104,07 (m);

IR (KBr) 1670 (C=O Streckung) cm^{-1} ;

MS (CI) $M+1 = 372$.

Analyse berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{FINO}_2$:

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

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

(b) Herstellung von 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid

[0031] Zu einer gerührten Lösung von 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzoësäure (0,6495 g, 0,001750 mol), O-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)hydroxylamin (0,2590 g, 0,002211 mol) und Diisopropylethylamin (0,40 ml, 0,0023 mol) in 31 ml einer Lösung aus gleichen Volumenanteilen Tetrahydrofuran und Dichlormethan wurden 1,18 g (0,00227 mol) festes PyBOP ([Benzotriazolyloxy]tritypyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat, Advanced ChemTech) direkt zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 30 Minuten lang gerührt, wonach es im Vakuum eingeengt wurde. Das braune Öl wurde mit 10%iger wässriger Salzsäure behandelt. Die Suspension wurde mit Ether extrahiert. Der organische Extrakt wurde mit 10%igem Natriumhydroxid und nachfolgend noch einmal mit 10%iger Salzsäure gewaschen, getrocknet ($MgSO_4$) und im Vakuum eingeengt, was 1,0 g eines hellbraunen Schaums ergab. Dieses Intermediat wurde in 25 ml ethanolischem Chlorwasserstoff gelöst, und man ließ die Lösung 15 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen. Das Reaktionsgemisch wurde im Vakuum zu einem braunen Öl eingeengt, das durch Flash-Kieselgelchromatographie gereinigt wurde. Eluieren mit Dichlormethan → Dichlormethan-Methanol (166:1) lieferte 0,2284 g eines hellbraunen, viskosen Öls. Kratzen mit Pentan-Hexan und Trocknen unter Hochvakuum lieferte 0,1541 g (23%) eines cremefarbenen Schaums; Schmelzpunkt 61–75°C;

1H -NMR (400 MHz, DMSO): δ 11,34 (s, 1H), 9,68 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 7,65 (d, 1H, $J=1,5Hz$), 7,58 (dd, 1H, $J=8,7, 6,8Hz$), 7,52 (dd, 1H, $J=8,4, 1,9Hz$), 7,15 (d, 1H, $J=8,4Hz$), 6,74 (dd, 1H, $J=11,8, 2,4Hz$), 6,62 (ddd, $J=8,4, 8,4, 2,7Hz$), 2,18 (s, 3H);

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO): δ 165,91, 164,36 (d, $J_{C-F}=247,1Hz$), 146,78, 139,18, 138,77, 135,43, 132,64, 130,60 (d, $J_{C-F}=11,5Hz$), 122,23, 112,52, 104,72 (d, $J=22,1Hz$), 100,45 (d, $J_{C-F}=25,2Hz$), 86,77, 17,03;

^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ –107,20 bis –107,27 (m);

IR (KBr) 3307 (breit, O-H Streckung), 1636 (C=O Streckung) cm^{-1} ;

MS (Cl) M+1 = 387.

Analyse berechnet für $C_{14}H_{12}FIN_2O_2$:

C, 43,54; H, 3,13; N, 7,25.

Gefunden: C, 43,62; H, 3,24; N, 6,98.

BEISPIEL 2

5-Brom-3,4-difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid

(a) Herstellung von 5-Brom-2,3,4-trifluorbenzoësäure

[0032] Zu einer gerührten Lösung, die 1-Brom-2,3,4-trifluorbenzol (Aldrich, 99%; 5,30 g, 0,0249 mol) in 95 ml wasserfreiem Tetrahydrofuran umfasste und auf –78°C gekühlt wurde, wurden langsam 12,5 ml 2,0 M Lithium-diisopropylamid-Lösung in Heptan/Tetrahydrofuran/Ethylbenzol (Aldrich) gegeben. Das Gemisch wurde 1 Stunde lang gerührt und durch eine Kanüle in 700 ml einer gerührten, gesättigten, etherischen Kohlendioxid-Lösung, die auf –78°C gekühlt worden war, transferriert. Das Kühlbad wurde entfernt, und das Reaktionsgemisch wurde 18 Stunden lang bei Umgebungstemperatur gerührt. Verdünnte wässrige Salzsäure (10%; ca. 500 ml) wurde in das Reaktionsgemisch gegossen, und das Gemisch wurde daraufhin an einem Rotationsverdampfer zu einem rohen Feststoff eingeengt. Das feste Produkt wurde zwischen Diethylether (150 ml) und wässriger HCl (330 ml, pH 0) verteilt. Die wässrige Phase wurde mit einer zweiten Menge (100 ml) Diethylether extrahiert, und die vereinigten etherischen Extrakte wurden mit 5%igem wässrigen Natriumhydroxid (200 ml) und Wasser (100 ml, pH 12) gewaschen. Diese vereinigten alkalischen, wässrigen Auszüge wurden mit konzentrierter, wässriger Salzsäure auf pH 0 angesäuert. Die resultierende Suspension wurde mit Ether (2 × 200 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Extrakte wurden getrocknet ($MgSO_4$), im Vakuum eingeengt und bis zum Erreichen einer konstanten Masse einem Hochvakuum unterworfen, was 5,60 g (88% Ausbeute) eines cremefarbenen Pulvers lieferte; Schmelzpunkt 139–142,5°C;

1H -NMR (400 MHz, DMSO): δ 13,97 (breites s, 1H), 8,00–7,96 (m, 1H);

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO): δ 162,96, 129,34, 118,47, 104,54 (d, $J_{C-F}=22,9Hz$);

^{19}F -NMR (376 MHz, DMSO): δ –120,20 bis –120,31 (m); –131,75 bis –131,86 (m), –154,95 bis –155,07 (m);

IR (KBr) 1696 (C=O Streckung) cm^{-1} ;

MS (Cl) M+1 = 255.

Analyse berechnet für $C_{74}H_{21}BrF_3O_2$:

C, 32,97; H, 0,79; N, 0,00, Br, 31,34; F, 22,35.

Gefunden: C, 33,18; H, 0,64; N, 0,01, Br, 30,14; F, 22,75.

(b) Herstellung von 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzoësäure

[0033] Zu einer gerührten Lösung, die 1,88 g (0,00791 mol) 2-Amino-5-iodtoluol in 10 ml Tetrahydrofuran umfasste, wurden bei -78°C 6 ml (0,012 mol) einer 2,0 M Lithiumdiisopropylamid-Lösung in Tetrahydrofuran/Heptran/Ethylbenzol (Aldrich) gegeben. Die resultierende grüne Suspension wurde 10 Minuten lang kräftig gerührt, und danach wurde eine Lösung von 1,00 g (0,00392 mol) 5-Brom-2,3,4-trifluorbenzoësäure in 15 ml Tetrahydrofuran zugegeben. Nachfolgend wurde das Kühlbad entfernt und das Reaktionsgemisch wurde 18 h lang geführt. Das Gemisch wurde eingeengt, und das Konzentrat wurde mit 100 ml verdünnter (10%) wässriger Salzsäure behandelt. Die resultierende Suspension wurde mit Ether extrahiert (2×150 ml), die vereinigten organischen Auszüge wurden getrocknet (MgSO_4) und im Vakuum eingeengt, was einen orangefarbenen Feststoff ergab. Der Feststoff wurde mit siedendem Dichlormethan verrieben, auf Umgebungstemperatur abgekühlt und durch Filtration gesammelt. Der Feststoff wurde mit Dichlormethan gewaschen und im Vakuumofen (80°C) getrocknet, was 1,39 g (76%) eines gelb-grünen Pulvers ergab; Schmelzpunkt 259,5–262°C;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO); δ 9,03 (s, 1H), 7,99 (dd, 1H, $J=7,5, 1,9\text{Hz}$), 7,57 (dd, 1H, $J=1,5\text{Hz}$), 7,42 (dd, 1H, $J=8,4, 1,9\text{Hz}$), 6,70 (dd, 1H, $J=8,4, 6,0\text{Hz}$), 2,24 (s, 3H);

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, DMSO): δ –123,40 bis –123,47 (m); –139,00 bis –139,14 (m);

IR (KBr) 1667 (C=O Streckung) cm^{-1} ;

MS (Cl) $M+1 = 469$.

Analyse berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{BrF}_2\text{INO}_2$:

C, 35,93; H, 1,94; N, 2,99; Br, 17,07; F, 8,12; I, 27,11.

Gefunden: C, 36,15; H, 1,91; N, 2,70; Br, 16,40; F, 8,46, I, 26,05.

(c) Herstellung von 5-Brom-3,4-difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid

[0034] Zu einer gerührten Lösung, die 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzoësäure (0,51 g, 0,0011 mol), O-(Tetrahydro-2H-pyran-2-yl)hydroxylamin (0,15 g, 0,0013 mol) und Diisopropylethylamin (0,25 ml, 0,0014 mol) in 20 ml einer Lösung gleicher Volumenanteile Tetrahydrofuran und Dichlormethan umfasste, wurden direkt 0,6794 g (0,001306 mol) festes PyBOP (Advanced ChemTech) gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 10 Minuten lang bei 24°C gerührt und nachfolgend im Vakuum zur Trockene eingeengt. Das Konzentrat wurde in 100 ml 10%iger wässriger Salzsäure suspendiert. Die Suspension wurde mit 125 ml Diethyl-ether extrahiert. Die Etherschicht wurde abgetrennt, mit 75 ml 10%igem wässrigen Natriumhydroxid und nachfolgend mit 100 ml verdünnter Säure gewaschen. Die Etherlösung wurde getrocknet (MgSO_4) und im Vakuum eingeengt, was 0,62 g (100%) eines cremefarbenen Schaums ergab. Der Schaum wurde in ca. 15 ml methanolischem Chlorwasserstoff gelöst. Nach 5 Minuten wurde die Lösung im Vakuum zu einem Öl eingeengt, und das Öl wurde durch Flash-Silicachromatographie gereinigt. Eluieren mit Dichlormethan → Dichlormethan-Methanol (99:1) lieferte 0,2233 g (42%) eines gelben Pulvers. Das Pulver wurde in Diethylether gelöst und mit verdünnter Salzsäure gewaschen. Die organische Phase wurde getrocknet (MgSO_4) und im Vakuum eingeengt, was 0,200 g eines Schaums ergab. Dieses Produkt wurde mit Pentan verrieben, was 0,1525 g eines Pulvers ergab, das durch Flash-Silicachromatographie wiederum gereinigt wurde. Eluieren mit Dichlormethan lieferte 0,0783 g (15%) einer analytisch reinen Titelverbindung, Schmelzpunkt 80–90°C;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 11,53 (s, 1H), 9,38 (s, 1H), 8,82 (s, 1H), 7,70 (dd, 1H, $J=7,0, 1,9\text{Hz}$), 7,53 (s, 1H), 7,37 (dd, 1H, $J=8,4, 1,9\text{Hz}$), 6,55 (dd, 1H, $J=8,2, 6,5\text{Hz}$), 2,22 (s, 3H);

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, DMSO): δ –126,24 bis –126,29 (m); –137,71 bis –137,77 (m);

IR (KBr) 3346 (breit, O-H Streckung), 1651 (C=O Streckung) cm^{-1} ; MS (Cl) $M+1 = 484$.

Analyse berechnet für $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{BrF}_2\text{IN}_2\text{O}_2$:

C, 34,81; H, 2,09; N, 5,80.

Gefunden: C, 34,53; H, 1,73; N, 5,52.

[0035] Beispiele 3 bis 12 und 78 bis 102 in der unten folgenden Tabelle wurden gemäß der allgemeinen Vorschriften der Beispiele 1 und 2 hergestellt.

BEISPIELE 13 BIS 77

[0036] Beispiele 13 bis 77 wurden unter Verwendung der Methodik der kombinatorischen Synthese durch Umsetzen geeignet substituierter Phenylaminobenzoësäuren (beispielsweise wie in Schema 1 gezeigt) und Hydroxylamine

R_6

|

(z.B. HN-O-R₇)

hergestellt. Nachfolgend ist ein allgemeines Verfahren angegeben:

[0037] In ein 0,8 ml-Autosampler-Fläschchen in einem Metallblock wurden 40 µl einer 0,5 M-Lösung der Säure in DMF und 40 µl des Hydroxylamins (2 M-Lösung bzgl. Hunig-Base und 1 M bzgl. Amin in DMF) gegeben. Eine 0,5 M Lösung von PyBrop wurde frisch hergestellt, und 50 µl wurden in das Autosampler-Fläschchen gegeben. Man ließ die Reaktion 24 Stunden lang stehen.

[0038] Das Reaktionsgemisch wurde in ein 2-Dram-Fläschchen überführt und mit 2 ml Ethylacetat verdünnt. Die organische Schicht wurde mit 3 ml destilliertem Wasser gewaschen, und die Wasserschicht wurde wieder mit 2 ml Ethylacetat gewaschen. Die vereinigten organischen Schichten ließ man in einem offenen Abzug zur Trockene eindampfen.

[0039] Der Rückstand wurde mit 2 ml 50%igem Acetonitril in Wasser aufgenommen und auf eine semipräparative Umkehrphasen-Säule (10 mm × 25 cm, 5 µM sphärisches Kieselgel, Porengröße 115 Å, derivatisiert mit C-18, die Probe wurde bei 4,7 ml/min mit einem linearen Anstieg auf 100% Acetonitril über 8,5 Minuten eluiert. Eluierung mit 100% Acetonitril wurde 8 Minuten lang fortgesetzt). Die Fraktionen wurden unter Kontrolle bei 214 nm gesammelt. Die gewünschten Fraktionen wurden unter Verwendung eines Zymark Turbovaps eingeeengt. Das Produkt wurde in Chloroform gelöst, in ein vorher gewogenes Fläschchen überführt, eingedampft und wieder gewogen um die Ausbeute zu bestimmen. Die Struktur wurde durch Massenspektroskopie bestätigt.

BEISPIELE 3-102

Beispiel Nr.	Verbindung	Schmelz- punkt (°C)	MS (M-H ⁺)
3	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid	56-75 Zers.	523
4	5-Chlor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	65 Zers.	
5	5-Chlor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methylbenzamid	62-67	
6	5-Chlor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydro-pyran-2-yloxy)benzamid	105-108	
7	5-Chlor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methoxybenzamid	64-68	
8	4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-fluor-2-methylphenylamino)benzamid	119-135	
9	4-Fluor-N-hydroxy-2-(2-methylphenylamino)benzamid	101-103	
10	4-Fluor-2-(4-fluor-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydro-pyran-2-yloxy)benzamid	142-146	
11	4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-fluor-2-methylphenylamino)benzamid	133,5-135	
12	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-phenylmethoxybenzamid	107-109,5	
13	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methoxybenzamid		399
14	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methoxybenzamid		417
15	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-methoxybenzamid		369
16	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-ethoxy-3,4-difluorbenzamid		342* (M-EtO)
17	5-Brom-N-ethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid		509
18	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isopropoxybenzamid		445
19	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-isopropoxybenzamid		397

20	4-Fluor-N-(furan-3-ylmethoxy)-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	465
21	3,4-Difluor-N-(furan-3-ylmethoxy)-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	483
22	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-(furan-3-ylmethoxy)benzamid	435
23	5-Brom-3,4-difluor-N-(furan-3-ylmethoxy)-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	561
24	5-Brom-N-(but-2-enyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	536
25	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-inyloxy)benzamid	423
26	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-inyloxy)benzamid	441
27	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(1-methylprop-2-inyloxy)benzamid	455
28	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-(1-methylprop-2-inyloxy)benzamid	407
29	N-(But-3-inyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	455
30	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-(but-3-inyloxy)-3,4-difluorbenzamid	407
31	5-Brom-N-(but-3-inyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	533
32	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(3-phenylprop-2-inyloxy)benzamid	517
33	3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(3-phenylprop-2-inyloxy)benzamid	469
34	3,4-Difluor-N-[3-(3-fluorophenyl)prop-2-inyloxy]-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	535
35	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-[3-(3-fluorophenyl)prop-2-inyloxy]benzamid	487
36	3,4-Difluor-N-[3-(2-fluorophenyl)prop-2-inyloxy]-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	535
37	5-Brom-3,4-difluor-N-[3-(2-fluorophenyl)prop-2-inyloxy]-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	613
39	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-(3-methyl-5-phenylpent-2-en-4-inyloxy)benzamid	510

40	N-Ethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	431
41	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-ethoxy-3,4-difluorbenzamid	383
42	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-propoxybenzamid	427
43	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-propoxybenzamid	445
44	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-propoxybenzamid	397
45	5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-propoxybenzamid	523
46	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isopropoxybenzamid	427
47	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isopropoxybenzamid	445
48	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-isopropoxybenzamid	397
49	5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isopropoxybenzamid	523
50	N-Cyclobutyloxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	457
51	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-cyclobutyloxy-3,4-difluorbenzamid	409
52	N-Cyclopentyloxy-4-fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	453
53	N-Cyclopentyloxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	471
54	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-cyclopentyloxy-3,4-difluorbenzamid	423
55	N-Cyclopropylmethoxy-4-fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	439
56	N-Cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	457
57	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid	409
58	5-Brom-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	435
59	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-phenoxyethoxy)-	505

	benzamid	
60	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-phenoxyethoxy)benzamid	523
61	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-(2-phenoxyethoxy)benzamid	475
62	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(thiophen-2-ylmethoxy)benzamid	481
63	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(thiophen-2-ylmethoxy)benzamid	499
64	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-(thiophen-2-ylmethoxy)benzamid	451
65	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-methylallyloxy)benzamid	439
66	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-methylallyloxy)benzamid	457
67	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-3,4-difluor-N-(2-methylallyloxy)benzamid	410
68	N-(But-2-enyloxy)-4-fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	439
69	N-(But-2-enyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	457
70	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-(but-2-enyloxy)-3,4-difluorbenzamid	410
71	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-inyloxy)benzamid	441
72	N-(But-3-inyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	455
73	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-(4,4-dimethylpent-2-inyloxy)-3,4-difluorbenzamid	449
74	N-(But-2-enyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	457
75	2-(4-Brom-2-methylphenylamino)-N-(but-2-enyloxy)-3,4-difluorbenzamid	410
76	N-(3-tert.-Butylpropin-2-yl)oxy-4-fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	479
77	4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-phenylmethoxybenzamid	577*
78	4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-iso-	*CI Ö1

	propylbenzamid	
79	N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	125-127
80	4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methylbenzamid	45-55
81	4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-5-nitrobenzamid	208-209 (GLAS)
82	2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid	199-200
83	3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid	163-165
84	3,4-Difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	65-75
85	3,4-Difluor-5-brom-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-piperidin-1-ylethoxy)benzamid	95
86	5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid	167-169
87	2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid (HCl-Salz)	165-169
88	2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid	166-167,5
89	3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclobutylmethoxybenzamid	173-174
90	3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid	121-122
91	5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-(2-dimethylaminoethoxy)-3,4-difluorbenzamid-Monohydrochloridsalz	206-211,5 Zers.
92	5-Brom-N-(2-dimethylaminopropoxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	95-105
93	5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid	266-280 Zers.
94	5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid	167,5-169,5
95	3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxybenzamid	172,5-173,5
96	5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid	171-172,5
97	5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-morpholin-4-ylethoxy)benzamid	173,5-175

98	5-Brom-N-(2-diethylaminoethoxy)-3,4-difluor-(4-iod-2-methyl-phenylamino)benzamid	81 Zers.
99	5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isobutoxybenzamid	126-128
100	5-Brom-N-cyclohexylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	139-142
101	5-Brom-N-cyclopentylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	113-115
102	5-Brom-N-cyclobutylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	138-139

[0040] Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind zur Behandlung von Krebs und anderer proliferativer Erkrankungen aufgrund ihrer selektiven Inhibierung der dual-spezifischen Proteinkinasen MEK₁ und MEK₂ verwendbar. Die erfindungsgemäßen Verbindungen wurden in einer Anzahl biologischer Assays beurteilt, die normalerweise zur Ermittlung der Inhibierung von Proteinen und Kinasen und zur Messung mitogener und metabolischer Reaktionen auf eine derartige Inhibierung verwendet werden.

Enzym-Assays

Kaskaden-Assay für Inhibitoren des MAP-Kinasepfads

[0041] Der Einbau von ³²P in basisches Myelinprotein (MBP) wurde in der Gegenwart eines Glutathion-S-Transferase-Fusionsproteins, das p44MAP-Kinase (GST-MAPK) enthielt, und eines Glutathion-S-Transferase-Fusionsproteins, das p45MEK (GST-MEK) enthielt, untersucht. Die Assaylösung enthieilt 20 mM HEPES, pH 7,4, 10 mM MgCl₂, 1 mM MnCl₂, 1 mM EGTA, 50 μM [γ -³²P]ATP, 10 μg GST-MEK, 0,5 μg GST-MAPK und 40 μg MBP in einem Endvolumen von 100 μl. Nach 20 Minuten wurden die Reaktionen durch Zugabe von Trichloressigsäure beendet und durch eine GF/C-Filtermatte filtriert. Auf der Filtermatte zurückgebliebenes ³²P wurde unter Verwendung einer 1205-Betaplate bestimmt. Die Verbindungen wurden bei 10 μM auf die Fähigkeit zur Inhibierung des Einbaus von ³²P bewertet.

[0042] Um zu ermitteln, ob die Verbindungen GST-MEK oder GST-MAPK inhibierten, wurden zwei zusätzliche Vorschriften eingesetzt. In der ersten Vorschrift wurden Verbindungen in Gefäße gegeben, die GST-MEK enthielten, und danach wurde GST-MAPK, MBP und [γ -³²P]ATP zugegeben. In der zweiten Vorschrift wurden Verbindungen in Gefäße gegeben, die sowohl GST-MEK als auch GST-MAPK enthielten, und nachfolgend wurden MBP und [γ -³²P]ATP zugegeben. Die Verbindungen, die gemäß beider Vorschriften eine Aktivität zeigten, wurden als MAPK-Inhibitoren beurteilt, während Verbindungen, die eine Aktivität nur gemäß der ersten Vorschrift zeigten, als MEK-Inhibitoren beurteilt wurden.

MAP-Kinase-Assay in vitro

[0043] Inhibierende Aktivität wurde ebenso in direkten Assays bestätigt. Für eine MAP-Kinase wurde 1 μg GST-MAPK mit 40 μg MBP 15 Minuten lang bei 30°C in einem Endvolumen von 50 μl, das 50 mM Tris (pH 7,5), 10 μM MgCl₂, 2 μM EGTA und 10 μM [γ -³²P]ATP enthielt, inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Laemmli-SDS-Probenpuffer beendet, und phosphoryliertes MBP durch Elektrophorese auf einem 10% Polyacrylamidgel aufgetrennt. In MBP eingebaute Radioaktivität wurde durch Autoradiographie und nachfolgend durch Ausschluss der Banden und anschließendem Szintillationszählen bestimmt.

MEK-Assay in vitro

[0044] Zur Bewertung der direkten MEK-Aktivität wurden 10 μg GST-MEK1 mit 5 μg eines Glutathion-S-Transferase-Fusionsproteins, das p44MAP-Kinase mit einer Mutation von Lysin zu Alanin in Position 71 (GST-MAPK-KA) enthielt, inkubiert. Diese Mutation eliminiert die Kinaseaktivität von MAPK, so dass nur eine Kinaseaktivität verbleibt, die zugegebenem MEK zugeordnet wird. Inkubationen wurden 15 Minuten lang bei 30°C in einem Endvolumen von 50 μl, das 50 mM Tris (pH 7,5), 10 μM MgCl₂, 2 μM EGTA und 10 M [γ -³²P]ATP enthielt, durchgeführt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Laemmli-SDS-Probenpuffer beendet, und phosphoryliertes GST-MAPK-KA wurde durch Elektrophorese auf einem 10% Polyacrylamidgel aufgetrennt. Im

GST-MAPK-KA eingebaute Radioaktivität wurde durch Autoradiographie, nachfolgend durch Ausschluss der Banden und anschließendem Szintillationszählen bestimmt. Zusätzlich wurde ein künstlich aktiviertes MEK verwendet, das Mutationen von Serin zu Glutaminsäure in den Positionen 218 und 222 (GST-MEK-ZE) enthielt, verwendet. Wenn diese Stellen phosphoryliert sind, ist die MEK-Aktivität erhöht. Eine Phosphorylierung dieser Stellen kann durch Mutation der Serinreste zu Glutaminsäure nachgeahmt werden. Für diesen Assay wurden 5 µg GST-MEK-2E mit 5 µg GST-MAPK-KA 15 Minuten lang bei 30°C in dem gleichen Reaktionspuffer, wie oben beschrieben, inkubiert. Die Reaktionen wurden wie oben terminiert und analysiert.

MAP-Kinase-Assay ganzer Zellen

[0045] Um zu bestimmen, ob Verbindungen dazu in der Lage waren, die Aktivierung von MAP-Kinase in ganzen Zellen zu blockieren, wurde die folgende Vorschrift verwendet: Zellen wurden auf Platten mit vielen Vertiefungen plattiert und zur Konfluenz gewachsen. Daraufhin wurde den Zellen über Nacht das Serum entzogen. Die Zellen wurden den gewünschten Konzentrationen an Verbindung oder Vehikel (DMSO) 30 Minuten lang ausgesetzt, und ihnen wurde daraufhin ein Wachstumsfaktor, z.B. PDGF (100 ng/ml) zugegeben. Nach einer 5-minütigen Behandlung mit dem Wachstumsfaktor wurden die Zellen mit PBS gewaschen und daraufhin in einem Puffer lysiert, der aus 70 mM NaCl, 10 mM HEPES (pH 7,4), 50 mM Glycerinphosphat und 1 % Triton X-100 bestand. Die Lysate wurden durch Zentrifugation bei 13.000 × g 10 Minuten lang geklärt. Fünf Mikrogramm des resultierenden Überstandes wurden mit 10 µg mit Mikrotubuli verbundenem Protein-2 (Map2) 15 Minuten lang bei 30°C in einem Endvolumen von 25 µl inkubiert, das 50 mM Tris (pH 7,4), 10 mM MgCl₂, 2 mM EGTA und 30 µM [γ -³²P]ATP enthielt. Die Reaktionen wurden durch Zugabe von Laemmli-Probenpuffer terminiert. Phosphoryliertes Map2 wurde auf 7,5% Acrylamidgelen aufgetrennt, und die eingebaute Radioaktivität wurde durch Autoradiographie und nachfolgendem Ausschluss der Banden und anschließendem Szintillationszählen bestimmt.

Immunpräzipitation und Antiphosphotyrosin-Immunoblots

[0046] Um den Zustand der Tyrosin-Phosphorylierung von zellulärer MAP-Kinase zu bestimmen, wurden Zellen lysiert, endogene MAP-Kinase wurde mit einem spezifischen Antikörper immunopräzipitiert und das resultierende Immunopräzipitat auf die Anwesenheit von Phosphotyrosin wie folgt untersucht: konfluenten Zellen wurden über Nacht das Serum entzogen, und sie wurden mit Verbindungen und Wachstumsfaktoren, wie oben beschrieben, behandelt. Die Zellen wurden daraufhin abgekratzt und bei 13.000 × g 2 Minuten lang pelletiert. Die resultierenden Zellpellets wurden in 100 µl 1 % SDS, das 1 mM NaVO₄ enthielt, erneut suspendiert und gelöst. Nach abwechselndem Kochen und Vortexen um das zelluläre Protein zu denaturieren, wurden 900 µl RIPA-Puffer (50 mM Tris (pH 7,4), 150 mM NaCl, 1 % Triton X-100, 0,1 % Desoxycholat und 10 mM EDTA) zugegeben. Zu diesem Gemisch wurden 60 µl Agaroseperlen, gekoppelt mit Kaninchen-Immunglobulin G, und 60 µl Pansorbin-Zellen gegeben um das Lysat von nicht-spezifischen, bindenden Proteinen zu klären. Dieses Gemisch wurde bei 4°C 15 Minuten lang inkubiert und nachfolgend bei 13.000 × g 10 Minuten lang zentrifugiert. Der resultierende Überstand wurde in frische Gefäße überführt und mit 10 µl eines polyklonalen Antiseraums, das gegen ein Fragment der MAP-Kinase gezüchtet worden war, mindestens 1 Stunde lang bei 4°C inkubiert. Siebzig Mikroliter einer Aufschämmung von Agaroseperlen, gekoppelt mit Protein G und Protein A, wurden zugegeben, und die Inkubation wurde für zusätzliche 30 Minuten bei 4°C fortgesetzt. Die Perlen wurden durch Zentrifugation bei 13.000 × g 5 Minuten lang pelletiert und dreimal mit 1 ml RIPA-Puffer gewaschen. Laemmli-Probenpuffer wurde zu dem endgültigen Perlenpellet gegeben. Dieses Gemisch wurde 5 Minuten lang gekocht und nachfolgend an einem 10% Acrylamidgel aufgetrennt. Proteine auf dem Gel wurden in eine Nitrocellulose-Membran überführt, und nicht-spezifische Bindungsstellen auf der Membran wurden durch Inkubation mit 1 % Ovalbumin und 1 % Albumin aus Rinderserum in TBST (150 mM NaCl, 10 mM Tris (pH 7,4) und 0,05% Tween 20) blockiert. Die Membran wurde nachfolgend mit einem kommerziell erhältlichen Antikörper gegen Phosphotyrosin inkubiert. An die Membran gebundene Antikörper wurden durch Inkubation mit ¹²⁵I-Protein A und nachfolgender Autoradiographie bestimmt.

Zellwachstums-Assay

³H-Thymidin-Einbau

[0047] Zellen wurden auf Platten mit vielen Vertiefungen plattiert und bis nahe zur Konfluenz gewachsen. Das Medium wurde dann entfernt und durch ein Wachstumsmedium ersetzt, das 1 % Albumin aus Rinderserum enthielt. Nach 24-stündigem Serumengzug wurden Verbindungen und spezifische Wachstumsfaktoren zugegeben, und die Inkubationen wurden für zusätzliche 24 Stunden fortgesetzt. Während der letzten 2 Stunden wurde ³H-Thymidin in das Medium gegeben. Um die Inkubationen zu terminieren, wurde das Medium entfernt,

und die Zellschichten wurden zweimal mit eiskalter Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung gewaschen. Nach dem letzten Waschen wurde eiskalte, 5%ige Trichloressigsäure zugegeben, und die Zellen wurden 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Die Trichloressigsäurelösung wurde dann entfernt, und die Zellschicht wurde dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen. Nach dem letzten Waschen wurde die Zellschicht durch Zugabe von 2% Natriumdodecylsulfat solubilisiert. Die Radioaktivität in dieser Lösung wurde durch Szintillationszählen bestimmt.

[0048] Bei 3T3-L1-Adipozytzenlen, in denen die Inhibierung eine MAPK-Aktivierung durch Insulin mit einem IC_{50} Wert von 3 μM blockiert, besaß die Verbindung keinen Effekt auf die Insulin-stimulierte Aufnahme von radiomarkierter 2-Desoxyglucose oder auf die Insulinstimulierte Synthese von Lipid und Glykogen bei einer Konzentration von 10 μM . Dies beweist, dass der Inhibitor eine Selektivität zwischen den mitogenen und den metabolischen Effekten von Insulin zeigt, und beweist, dass der Inhibitor weniger Toxizität als ein Inhibitor zeigt, der diese überraschende Selektivität nicht zeigt.

Einzelschicht-Wachstum

[0049] Zellen wurden in Platten mit vielen Vertiefungen bei 10 bis 20.000 Zellen/ml plattiert. 48 Stunden nach dem Impfen wurden Verbindungen zu dem Zellwachstumsmedium gegeben, und die Inkubation wurde 2 zusätzliche Tage lang fortgesetzt. Nachfolgend wurden die Zellen aus den Vertiefungen durch Inkubation mit Trypsin entfernt und mit einem Coulter-Zähler gezählt.

Wachstum in Soft-Agar

[0050] Zellen wurden in 35 mm-Schalen bei 5 bis 10.000 Zellen/Schale unter Verwendung eines Wachstumsmediums, das 0,3% Agar enthielt, geimpft. Nach Abkühlen um den Agar zu verfestigen, wurden die Zellen in einen 37°C-Inkubator überführt. Nach 7- bis 10-tägigem Wachstum wurden sichtbare Kolonien manuell mit Hilfe eines Präpariermikroskops gezählt.

[0051] Experimente zur Reihenfolge der Zugabe bestimmten, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen MEK- und nicht MAP-Kinase inhibieren. Experimente, die die Phosphorylierung eines Mutanten von MAP-Kinase ohne Kinaseaktivität als ein Substrat betrachteten (so dass es keine Autophosphorylierung der MAP-Kinase geben kann um die Interpretation zu verkomplizieren), bestätigen, dass der Inhibitor MEK mit einem IC_{50} inhibiert, der im Wesentlichen mit dem im Kaskaden-Assay erzeugt identisch ist.

[0052] Eine kinetische Analyse zeigt, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen nicht kompetitiv zu ATP sind. Somit binden sie nicht an die ATP-Bindungsstelle des Enzyms, was wahrscheinlich die Erklärung ist, warum diese Verbindungen keine nicht-spezifische Kinase-Inhibitoraktivität, typisch für die meisten Kinase-Inhibitoren, die an die ATP-Bindungsstelle binden und die ATP-kompetitiv sind, zeigen.

[0053] Die biologische Aktivität in vitro und in vivo mehrerer repräsentativer Verbindungen der Formel I in den vorgenannten Assays ist in Tabelle 1 gezeigt. Ebenso sind die Daten für einige bekannte Verbindungen gezeigt.

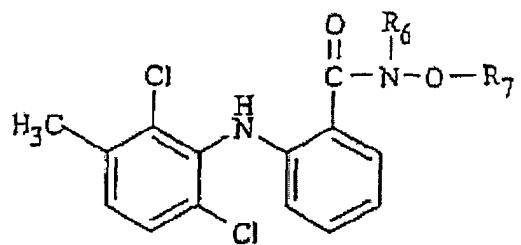
TABELLE 1

Verbindung aus Beispiel Nr.	In vitro IC ₅₀ (μ M)	In vivo (Zellkultur) IC ₅₀ (μ M)
1	0,007	0,05
2	0,003	0,03
3	0,072	3
4	0,023	1
5	0,566	~30
6	0,345	~30
7	0,221	<30
8	7,13	3
9	0,409	1
11	0,334	0,5
12	0,826	
13	0,243	
14	0,061	>2
17	0,014	
20	0,042	0,17
21	0,014	
22	0,137	
23	0,016	
24	0,021	0,12
25	0,102	
27	0,026	
28	0,728	
29	0,076	0,73
30	0,971	
31	0,045	
32	0,017	
33	0,374	
34	0,113	1,5
36	0,056	0,07
37	0,002	
38	0,077	0,065
39	0,147	
40	0,028	0,125

Verbindung aus Beispiel Nr.	In vitro IC ₅₀ (µM)	In vivo (Zellkultur) IC ₅₀ (µM)
41	0,236	
42	0,087	
43	0,040	0,100
44	0,475	
45	0,126	
47	0,087	0,13
49	0,085	
50	0,043	0,22
53	0,140	
55	0,047	
56	0,014	
57	0,181	
58	0,018	0,014
59	0,259	
62	0,086	
63	0,019	
64	0,279	
65	0,057	
66	0,016	0,13
68	0,119	
69	0,016	
70	0,224	
71	0,015	0,39
74	0,035	
77	0,28	
78	0,080	
79	0,008	
80	0,080	
81	0,017	
82	0,003	0,04
83	0,031	
84	0,001	0,005
85	0,024	

Verbindung aus Beispiel Nr.	In vitro IC_{50} (μM)	In vivo (Zellkultur) IC_{50} (μM)
86	0,047	
87	<0,001	
88	0,069	
89	0,005	0,30
90	0,055	
91	0,020	
92	0,033	
93	0,010	0,05
94	0,038	
95	0,001	
96	<0,010	
97	0,015	
98	0,025	
99	0,018	0,50
100	0,026	>1
101	0,008	>1
102	0,004	0,20

[0054] Die folgenden Verbindungen, die in der US-PS Nr 5 155 110 offenbart sind, wurden ebenso in den vorangehenden Assays bewertet, und jede derartige Verbindung zeigte eine geringe oder keine Inhibitoraktivität.



R_6	R_7	$\%$ Inhibierung In vitro
--------------	--------------	------------------------------

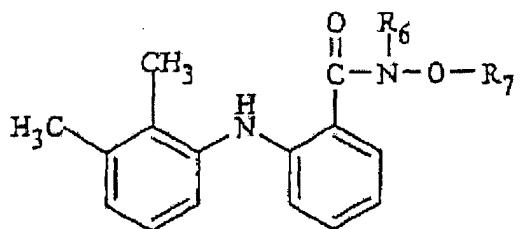
H	H	9 bei $1 \mu\text{M}$ -3 bei $10 \mu\text{M}$
------------	------------	--

H	CH_3	-8 bei $1 \mu\text{M}$ 8 bei $10 \mu\text{M}$
------------	---------------	--

CH_3	H	-5 bei $1 \mu\text{M}$ 19 bei $10 \mu\text{M}$
---------------	------------	---

iPr	H	17 bei $1 \mu\text{M}$ 9 bei $10 \mu\text{M}$
--------------	------------	--

$\text{CH}_2\text{-Ph}$	H	-4 bei $1 \mu\text{M}$ 18 bei $10 \mu\text{M}$
-------------------------	------------	---



R ₆	R ₇	% Inhibierung In vitro
H	H	6 bei 1 µM -4 bei 10 µM
H	CH ₃	-6 bei 1 µM 12 bei 10 µM
CH ₃	H	13 bei 1 µM 19 bei 10 µM
iPr	H	-11 bei 1 µM 7 bei 10 µM

BEISPIEL 103

[0055] Die Verbindung aus Beispiel 95, 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid, wurde bei Tieren bewertet, denen ein Maus-Colontumor, C26/Klon 10, implantiert worden war. Männlichen CD2F1-Mäusen (NCI: Charles River, Kingston) wurden Tumorfragmente (annähernd 30 mg) im Bereich der rechten Achselhöhle am Tag 0 subkutan implantiert. Die Verbindung aus Beispiel 95 wurde intraperitoneal (IP) oder oral (PO) an den Tagen 1 bis 14 nach der Implantation insgesamt 14 Tage lang verabreicht (6 Mäuse pro Gruppe). Das Vehikel für die Testverbindung und für Kontrolltiere war 10% EtOH/10% Cremophor-EL (Sigma)/80% H₂O, pH 5,0. Tumorvolumina wurden dreimal wöchentlich durch Messung der Länge und Breite der einzelnen Tumore und Berechnen der Masse in Milligramm gemäß der Formel $(a \times b^2)/2$, wobei a und b die Länge und die Breite des Tumors sind, aufgezeichnet. Der Prozentsatz behandelt/Kontrolle (T/C) wurde auf Basis des Verhältnisses des durchschnittlichen Tumorvolumens der behandelten Tumore im Vergleich zum durchschnittlichen Tumorvolumen der Kontrolltiere an bestimmten Messtagen berechnet.

[0056] Bei der Studie, in der die Verbindung aus Beispiel 95 IP verabreicht wurde, betrugen die Dosen 200, 124, 77 und 48 mg/kg/Tag. Die erfundungsgemäße Verbindung inhibierte das Tumorwachstum zu 59% bis 100%, bewertet an Tag 15. Die durchschnittliche Größe der Kontrolltumore an Tag 15 betrug 1594 mg. Tabelle 2 zeigt die Anzahl der gestorbenen Tiere in jeder Behandlungsgruppe, die Änderung des Körpergewichts, den Prozentsatz des durchschnittlichen Tumorvolumens der behandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe und den Prozentsatz der Inhibition.

TABELLE 2

Dosis	Nicht-spezifische Todesfälle	Änderung im Körpergewicht (Gramm)	% T/C (Tag 15)	% Inhibierung
200	1/6	+2	0	100
124	1/6	+3	4	96
77	2/5	+2	2	98
48	0/6	+3	41	59

[0057] In dem Test, in dem die Verbindung aus Beispiel 95 oral verabreicht wurde, betrugen die Dosen 300, 186, 115 und 71 mg/kg/Tag. Die erfindungsgemäße Verbindung inhibierte das Tumorwachstum um 64% bis 83%, bewertet an Tag 17. Die durchschnittliche Größe des Kontrolltumors an Tag 17 betrug 1664 mg. Tabelle 3 zeigt die Anzahl der Todesfälle bei den Tieren in jeder Behandlungsgruppe, die Änderung im Körpergewicht, den Prozentsatz des durchschnittlichen Tumorvolumens der behandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe und den Prozentsatz der Inhibition.

TABELLE 3

Dosis	Nicht-spezifische Todesfälle	Änderung im Körpergewicht (Gramm)	% T/C (Tag 15)	% Inhibierung
300	0/6	+2	17	83
186	0/6	+2	25	75
115	1/6	+2	21	79
71	0/6	+2	36	64

[0058] Der vorhergehende Test zeigte, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I besonders nützlich zur Behandlung von Krebskrankungen, wie Colonkrebs, ist. Die Verbindungen sind besonders gut geeignet zur Verwendung in Kombination mit Strahlung um Krebskrankungen zu behandeln und zu kontrollieren.

[0059] Die erfindungsgemäßen Verbindungen werden zur Behandlung von Patienten eingesetzt, die unter Krebs und anderen proliferativen Erkrankungen leiden und einer Behandlung bedürfen. Die Verbindungen sind ideal zur Behandlung von Psoriasis, Restenose, Autoimmunerkrankung und Atherosklerose geeignet. Die Verbindungen werden im Allgemeinen als eine pharmazeutische Formulierung eingesetzt, in der die Verbindung der Formel I in einer Konzentration von etwa 5 Gew.-% bis etwa 95 Gew.-% vorliegt. Die Verbindungen können für einen geeigneten oralen, parenteralen, topikalen, rektalen Weg der Verabreichung oder dergleichen, formuliert sein. Die Verbindungen werden mit gebräuchlichen Verdünnungsmitteln, Exzipienten und Trägern formuliert sein, die routinemäßig auf dem Gebiet der Medizin verwendet werden, beispielsweise mit Polyolen, wie Glycerin, Ethylenglykol, Sorbitol 70; Mono- und Difettsäureestern von Ethylenglykol. Stärken und Zucker, wie Maisstärke, Saccharose, Lactose, und dergleichen, können für feste Zubereitungen eingesetzt werden. Solche feste Formulierungen können in der Form von Tabletten, Pastillen, Pillen, Kapseln, und dergleichen, sein. Aromastoffe, wie Pfefferminz, Wintergrünöl, und dergleichen, können eingearbeitet sein.

[0060] Typische Dosen aktiver Verbindung sind diejenigen, die zur Behandlung des Krebses oder anderer proliferativer Erkrankung, die den Säugern plagen, wirksam sind. Die Dosen werden im Allgemeinen von etwa 0,1 mg pro Kilogramm Körpergewicht bis etwa 500 mg pro Kilogramm Körpergewicht betragen. Derartige Dosen werden ein- bis etwa viermal täglich verabreicht oder wie es zur wirksamen Behandlung des Krebses, der Psoriasis, der Restenose oder der anderen proliferativen Störung notwendig ist.

[0061] Eine bevorzugte Methode zur Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindung ist oral mittels einer Tablette, einer Kapsel, einer Lösung oder eines Sirups. Eine andere Methode ist parenteral, insbesondere mit-

tels intravenöser Infusion einer Lösung des Benzopyrans in isotonischer Kochsalzlösung oder in 5%iger wässriger Glucose.

[0062] Die Folgenden sind typische Formulierungen, die gemäß der vorliegenden Erfindung zur Verfügung gestellt werden.

BEISPIEL 104

Herstellung von 50 mg-Tableten

pro Tablette		pro 10000 Tabletten
0,050 g	4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid	500 g
0,080 g	Lactose	800 g
0,010 g	Maisstärke (für Mischung)	100 g
0,008 g	Maisstärke (für Paste)	80 g
0,002 g	Magnesiumstearat (1%)	20 g
0,150 g		1500 g

[0063] Die Benzhydroxamsäure, Lactose und Maisstärke (für die Mischung) werden bis zur Einheitlichkeit vermischt. Die Maisstärke (für eine Paste) wird in 600 ml Wasser suspendiert und unter Rühren erwärmt, wodurch eine Paste gebildet wird. Die Paste wird verwendet um die gemischten Pulver zu granulieren. Die Körnchen werden durch ein #8-Sieb passiert und bei 120°F (49°C) getrocknet. Die getrockneten Körnchen werden durch ein #16-Sieb passiert. Das Gemisch wird mit 1 % Magnesiumstearat eingefettet und zu Tabletten verpresst. Die Tabletten werden an einen Säger zur Inhibierung von MEK-Enzymen sowie zur Behandlung von Restenose, Atherosklerose und Psoriasis verabreicht.

BEISPIEL 105

Herstellung einer oralen Suspension

Ingrediens	Menge
5-Chlor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(methoxy)benzamid	500 mg
Sorbitollösung (70% NF)	40 ml
Natriumbenzoat	150 mg
Saccharin	10 mg
Roter Farbstoff	10 mg
Kirscharoma	50 mg
Destilliertes Wasser qs ad	100 ml

[0064] Die Sorbitollösung wird zu 40 ml destilliertem Wasser gegeben, und das Benzhydroxamsäure-Derivat wird darin suspendiert. Das Saccharin, das Natriumbenzoat, der Aromastoff und der Farbstoff werden zugegeben und gelöst. Das Volumen wird mit destilliertem Wasser auf 100 ml eingestellt. Jeder Milliliter des Sirups enthält 5 mg der erfindungsgemäßen Verbindung. Der Sirup wird an einen Säger zur Behandlung einer proliferativen Erkrankung, insbesondere Brustkrebs und Hautkrebs, verabreicht.

BEISPIEL 106

Herstellung einer parenteralen Lösung

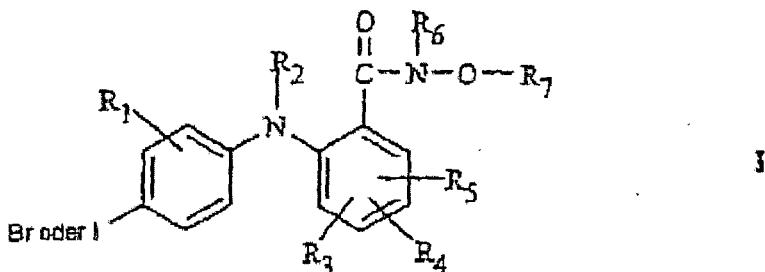
[0065] In eine Lösung aus 700 ml Propylenglykol und 200 ml Wasser zur Injektion werden 20,0 g 4-Fluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(hydroxy)benzamid gegeben. Das Volumen der Lösung wird 1000 ml

durch Zugabe von Wasser zur Injektion eingestellt. Die Formulierung wird durch Erwärmen sterilisiert, in 50 ml-Ampullen gefüllt, die jeweils 2,0 ml (40 mg 4-Fluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(hydroxy)benzamid) enthalten, und unter Stickstoff verschlossen.

[0066] Die auf diese Weise formulierten erfindungsgemäßen Verbindungen werden an einen Säuger verabreicht, der einer Behandlung einer proliferativen Erkrankung, wie Krebs, Psoriasis, Restenose, Atherosklerose und Autoimmunerkrankung, in einer Rate und einer Dosis bedarf, die bei der Behandlung des Krankheitsbilds wirksam ist. Eine "antiproliferative Menge" einer erfindungsgemäßen Verbindung ist diejenige Menge der Verbindung, die die Proliferationsrate der Targetzellen inhibiert oder reduziert. Typische, erfindungsgemäß zu behandelnde Krebsarten schließen Brustkrebs, Colonkrebs, Prostatakrebs, Hautkrebs, und dergleichen, ein. Die Verbindungen sind zur Behandlung von Psoriasis, Restenose und Atherosklerose sowie zur Inhibierung der Aktivität von MEK-Enzymen, insbesondere MEK₁ und MEK₂, gut geeignet. All das ist zur Verabreichung einer MEK-inhibierenden Menge einer erfindungsgemäßen Verbindung an einen Säuger erforderlich. Eine "MEK-inhibierende Menge" einer erfindungsgemäßen Verbindung ist eine Menge, die eine messbare Inhibition des MEK-Enzyms verursacht, wenn sie an einen Säuger verabreicht worden ist. Typische MEK-inhibierende Mengen werden von etwa 0,1 µg bis etwa 500 mg aktive Verbindung pro Kilogramm Körpergewicht betragen. Zur Behandlung der oben erwähnten proliferativen Erkrankungen werden typische Dosen von etwa 0,1 bis etwa 50 mg/kg, normalerweise einmal bis etwa viermal täglich verabreicht, betragen.

Patentansprüche

1. Verbindungen der allgemeinen Formel I



in der:

R₁ Wasserstoff, Hydroxy, C₁-C₈-Alkyl, C₁-C₈-Alkoxy, Halogen, Trifluormethyl oder CN ist;

R₂ Wasserstoff ist;

R₃, R₄ und R₅ unabhängig Wasserstoff, Hydroxy, Halogen, Trifluormethyl, C₁-C₈-Alkyl, C₁-C₈-Alkoxy, Nitro, CN oder (O oder NH)_m-(CH₂)_n-R₉ sind, worin R₉ Wasserstoff, Hydroxy, CO₂H oder NR₁₀R₁₁ ist;

n 0 bis 4 ist;

m 0 oder 1 ist;

R₁₀ und R₁₁ unabhängig Wasserstoff oder C₁-C₈-Alkyl sind oder mit dem Stickstoff, an den sie gebunden sind, zusammen genommen einen 3- bis 10-gliedrigen cyclischen Ring vervollständigen können, der gegebenenfalls ein, zwei oder drei zusätzliche Heteroatome, ausgewählt aus O, S, NH oder N-C₁-C₈-Alkyl, enthält;

R₆ Wasserstoff, C₁-C₈-Alkyl,

O

||

C-C₁-C₈-Alkyl,

Aryl, Aralkyl oder C₃-C₁₀-Cycloalkyl ist;

R₇ Wasserstoff, C₁-C₈-Alkyl, C₂-C₈-Alkenyl, C₂-C₈-Alkinyl, C₃-C₁₀-Cycloalkyl oder C₃-C₁₀-Cycloalkyl, das ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S oder NR₉, enthält, ist;

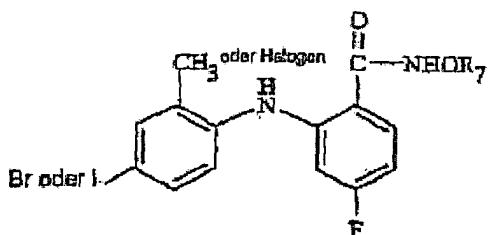
oder R₆ und R₇ mit dem N-O, an das sie gebunden sind, zusammen genommen einen 5- bis 10-gliedrigen cyclischen Ring vervollständigen können, der gegebenenfalls ein, zwei oder drei zusätzliche Heteroatome, ausgewählt aus O, S oder NR₁₀R₁₁, enthält;

und worin irgendeine der vorangehenden Alkyl-, Alkenyl- und Alkinylgruppen unsubstituiert oder durch Cycloalkyl (oder Cycloalkyl, das gegebenenfalls ein Heteroatom, ausgewählt aus O, S oder NR₉, enthält), Aryl, Aryloxy, Heteroaryl oder Heteroaryloxy substituiert sein können.

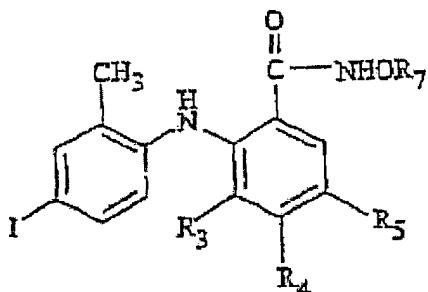
2. Verbindung nach Anspruch 1, in der R₁ C₁-C₈-Alkyl oder Halogen ist.

3. Verbindung nach Anspruch 2, in der R₆ Wasserstoff ist.

4. Verbindung nach Anspruch 3 der Formel

5. Verbindung nach Anspruch 3, in der R₁ Methyl ist.

6. Verbindung nach Anspruch 5 mit der Formel

7. Verbindung nach Anspruch 6, in der R₄ Fluor ist und R₃ und R₅ Wasserstoff sind.

8. Verbindung nach Anspruch 7, nämlich:

4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(methoxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-inyloxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-phenoxyethoxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-thienylmethoxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-enyloxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(cyclopropylmethoxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(cyclopentoxy)benzamid;
 4-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(phenylmethoxy)benzamid.

9. Verbindung nach Anspruch 6, worin R₃ und R₄ Fluor sind und R₅ Wasserstoff ist.

10. Verbindung nach Anspruch 9, nämlich:

3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(3-furylmethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-ethoxybenzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(but-2-enyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(cyclopropylmethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(1-methylprop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(3-phenylprop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(propoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(cyclobutyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-thienylmethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-methylprop-2-enyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-phenoxyethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(but-2-enyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(but-3-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(cyclopentyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(3-(2-fluorophenyl)prop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid.

11. Verbindung nach Anspruch 6, worin R₃ und R₄ Fluor sind und R₅ Brom ist.

12. Verbindung nach Anspruch 11, nämlich:

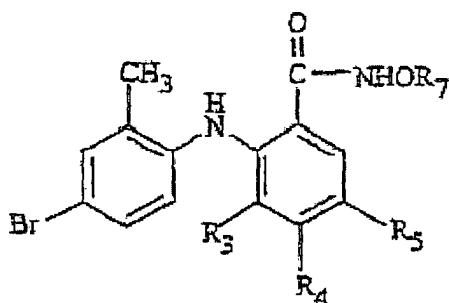
5-Brom-3,4-difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(n-propoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-N-(furan-3-ylmethoxy)-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-(but-2-enyloxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-butoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(3-methylbut-2-enyloxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(prop-2-inyloxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-[3-(3-methoxyphenyl)prop-2-inyloxy]benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(thiophen-2-ylmethoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(pyridin-3-ylmethoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(3-(2-fluorophenyl)prop-2-inyloxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(ethoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(cyclopropylmethoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(isopropoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(but-3-inyloxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-piperidin-1-ylethoxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(2-morpholin-4-ylethoxy)benzamid;
 5-Brom-N-(2-diethylaminoethoxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isobutoxybenzamid;
 5-Brom-N-cyclohexylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-cyclopentylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-cyclobutylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-(2-dimethylaminoproxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid.

13. Verbindung nach Anspruch 6, in der R₃ und R₄ Wasserstoff sind und R₅ Halogen ist.

14. Verbindung nach Anspruch 13, nämlich:

5-Chlor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Chlor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 5-Chlor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methoxybenzamid;
 5-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Iod-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-phenylmethoxybenzamid; und
 5-Fluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid.

15. Verbindung nach Anspruch 5 mit der Formel

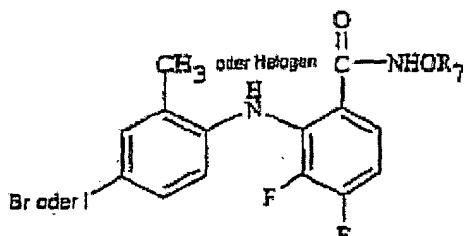
16. Verbindung nach Anspruch 15, in der R₃ und R₄ Fluor sind und R₅ Wasserstoff ist.

17. Verbindung nach Anspruch 16, nämlich:

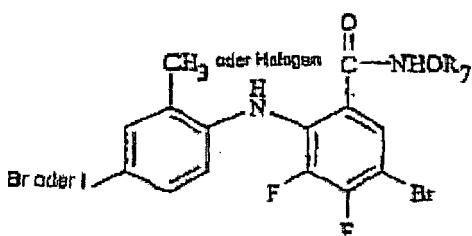
3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(3-phenylprop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(3-furylmethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(2-thienylmethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(but-3-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(2-methylprop-2-enyloxy)benzamid;-
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(but-2-enyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(methoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(ethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(cyclobutoxy)benzamid;

3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(isopropoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(2-phenoxyethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(cyclopropylmethoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(n-propoxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(1-methylprop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(3-(3-fluorophenyl)prop-2-inyloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(4,4-dimethylpent-2-inyloxy)benzamid; und
 3,4-Difluor-2-(4-brom-2-methylphenylamino)-N-(cyclopentoxy)benzamid.

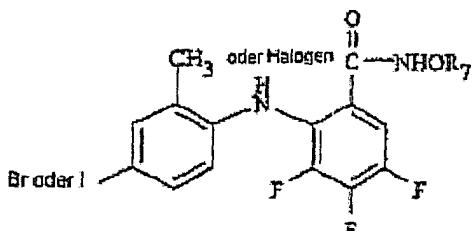
18. Verbindung nach Anspruch 1 mit der Formel



19. Verbindung nach Anspruch 1 mit der Formel



20. Verbindung nach Anspruch 1 mit der Formel



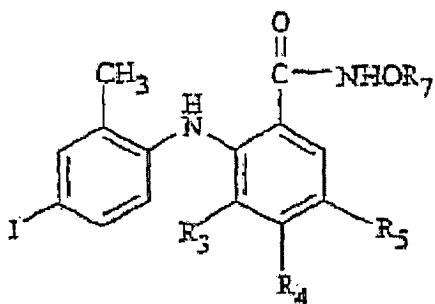
21. Verbindung nach Anspruch 1, nämlich:

3,4,5-Trifluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Chlor-3,4-difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
 N-Hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-4-nitrobenzamid;
 3,4,5-Trifluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
 5-Chlor-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-3,4,5-trifluor-N-hydroxybenzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-5-nitrobenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
 5-Chlor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-brom-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-methylbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-3,4,5-trifluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-5-chlor-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
 4-Fluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-N-hydroxybenzamid;

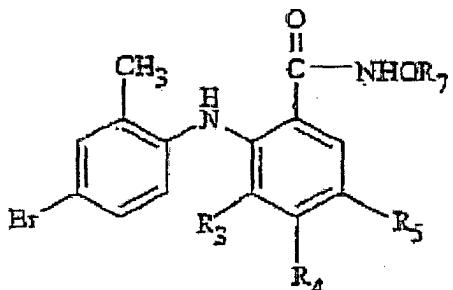
2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Chlor-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-4-nitrobenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 5-Chlor-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)-4-nitrobenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluorbenzamid;
 5-Chlor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 5-Brom-2-(2-brom-4-iodphenylamino)-N-ethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-ethoxy-4-nitrobenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-5-chlor-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-4-nitrobenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-4-fluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4-difluor-2-(2-fluor-4-iodphenylamino)benzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-4-fluorbenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-4-fluorbenzamid;
 2-(2-Brom-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-5-nitrobenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-hydroxy-4-nitrobenzamid;
 3,4-Difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-hydroxybenzamid (HCl-Salz);
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-4-fluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclobutylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-(2-dimethylaminoethoxy)-3,4-difluorbenzamid-Monohydrochlorid-salz;
 5-Brom-N-(2-dimethylaminopropoxy)-3,4-difluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 2-(2-Chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid; und
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-isopropylbenzamid;
 4-Fluor-N-hydroxy-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-methylbenzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclobutylmethoxybenzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzamid;
 3,4-Difluor-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-(2-dimethylaminoethoxy)-3,4-difluorbenzamid-Monohydrochlorid-salz;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-hydroxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-3,4-difluor-N-(tetrahydropyran-2-yloxy)benzarnid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid; und
 4-Brom-2-(4-iod-2-methylphenylamino)-N-phenylmethoxybenzamid;
 5-Brom-2-(2-chlor-4-iodphenylamino)-N-cyclopropylmethoxy-3,4-difluorbenzamid und N-Cyclopropylmethoxy-3,4,5-trifluor-2-(4-iod-2-methylphenylamino)benzamid.

22. Pharmazeutische Formulierung, umfassend eine Verbindung nach Anspruch 1, die mit einem pharmazeutisch annehmbaren Exzipienten, Verdünnungsmittel oder Träger vermischt worden ist.

23. Formulierung nach Anspruch 22, umfassend eine Verbindung der Formel



24. Formulierung nach Anspruch 22, umfassend eine Verbindung der Formel



25. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Inhibierung von MEK-Enzymen in einem Säuger.

26. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an einer proliferativen Erkrankung leidet.

27. Verwendung nach Anspruch 26, in der die proliferative Erkrankung Psoriasis, Restenose, Autoimmunerkrankung oder Atherosklerose ist.

28. Verwendung nach Anspruch 26, in der die proliferative Erkrankung Krebs ist.

29. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Schlaganfall leidet.

30. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Herzversagen bzw. Herzinsuffizienz leidet.

31. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Hepatomegalie leidet.

32. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Cardiomegalie leidet.

33. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Diabetes leidet.

34. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Alzheimer'scher-Krankheit leidet.

35. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an Krebs leidet.

36. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an cystischer Fibrose leidet.

37. Verwendung einer Verbindung nach den Ansprüchen 1 bis 21 zur Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen zur Behandlung eines Säugers, der an einer viralen Erkrankung leidet.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen