

(11) Número de Publicação: **PT 1682121 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 31/404 (2007.10) **A61K 31/428** (2007.10)
A61K 31/426 (2007.10) **A61K 31/4709**
(2007.10)
A61K 31/498 (2007.10) **A61P 11/02** (2007.10)
A61P 11/06 (2007.10) **A61P 17/00** (2007.10)
A61P 19/02 (2007.10) **A61P 37/00** (2007.10)
A61P 43/00 (2007.10) **C07D 401/06** (2007.10)
C07D 403/06 (2007.10) **C07D 417/06** (2007.10)
C07D 209/20 (2007.10)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2004.10.19**

(30) Prioridade(s): **2003.10.23 GB 0324763**

(43) Data de publicação do pedido: **2006.07.26**

(45) Data e BPI da concessão: **2009.08.12**
213/2009

(73) Titular(es):

OXAGEN LIMITED
91 MILTON PARK, ABINGDON OXFORDSHIRE
OX14 4RY **GB**

(72) Inventor(es):

DAVID MIDDLEMISS **GB**
MARK RICHARD ASHTON **GB**
EDWARD ANDREW BOYD **GB**
FREDERICK ARTHUR BROOKFIELD **GB**
ERIC ROY PETTIPHER **GB**

(74) Mandatário:

ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA
RUA DAS FLORES, Nº 74, 4º AND 1249-235 LISBOA **PT**

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DE COMPOSTOS ANTAGONISTAS DE CRTH2 EM TERAPÊUTICA**

(57) Resumo:

DESCRIÇÃO

"Utilização de compostos antagonistas de CRTH2 em terapêutica"

O presente invento refere-se a certos compostos e à utilização de certos compostos para o fabrico de um medicamento para o tratamento e prevenção de doenças alérgicas tais como asma, rinite alérgica e dermatite atópica e outras doenças inflamatórias mediadas por prostaglandina D₂ (PGD₂) que actuam no receptor CRTH2 em células incluindo eosinófilos, basófilos e linfócitos Th2.

A PGD₂ é um eicosanóide, uma classe de mediador químico sintetizado por células em resposta a dano tecidual local, estímulos normais ou estímulos hormonais ou através de vias de activação celular. Os eicosanóides ligam-se a receptores específicos da superfície celular numa variedade de tecidos, ao longo do corpo e mediam vários efeitos nestes tecidos. A PGD₂ é conhecida por ser produzida por células de mastócitos, macrófagos e linfócitos Th2 e tem sido detectada em elevadas concentrações nas vias aéreas de doentes asmáticos desafiados com antigénio (Murray et al., (1986), *N. Engl. J. Med.* 315: 800-804). A instilação de PGD₂ nas vias aéreas pode provocar muitas características da resposta asmática incluindo broncoconstrição (Hardy et al., (1984), *N. Engl. J. Med.* 311: 209-213; Sampson et al., (1997), *Thorax* 52: 513-518) e acumulação de eosinófilos (Emery et al., (1989), *J. Appl. Physiol.* 67: 959-962).

O potencial da PGD₂ exogenamente aplicada para induzir respostas inflamatórias tem sido confirmado pela utilização de ratinhos transgénicos que sobre-expressam PGD₂-sintase humana e que exibem inflamação eosinofílica dos pulmões exagerada e produção de citocinas Th2 em resposta a antigénio (Fujitani et al., (2002) *J. Immunol.* 168: 443-449).

O primeiro receptor específico para PGD₂ a ser descoberto foi o receptor DP que está ligado à elevação dos níveis intracelulares de AMPc. No entanto, a PGD₂ é considerada mediar muito da sua actividade pró-inflamatória através de interacção com um receptor acoplado a proteína G denominado CRTH2 (molécula homóloga de receptor

químioattractor expressa em células Th2) que é expresso por linfócitos Th2, eosinófilos e basófilos (Hirai et al., (2001), *J. Exp. Med.* 193: 255-261, e EP0851030 e EP-A-1211513 e Bauer et al., EP-A-1170594). Parece evidente que o efeito da PGD₂ na activação de linfócitos Th2 e eosinófilos seja mediado através de CRTH2 uma vez que os agonistas CRTH2 selectivos, 13,14-di-hidro-15-ceto-PGD₂ (DK-PGD₂) e 15R-metil-PGD₂, podem induzir esta resposta sendo os efeitos da PGD₂ bloqueados por um anticorpo anti-CRTH2 (Hirai et al., 2001; Monneret et al., (2003), *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 304: 349-355). Em contraste, o agonista de DP selectivo BW245C não promove a migração de linfócitos Th2 ou eosinófilos (Hirai et al., 2001; Gervais et al., (2001), *J. Allergy Clin. Immunol.* 108: 982-988). Com base nesta evidência, a antagonização de PGD₂ no receptor CRTH2 é uma abordagem atractiva para tratar a componente inflamatória das doenças alérgicas dependentes de Th2 tais como asma, rinite alérgica e dermatite atópica.

Em EP-A-1170594 sugere-se que o método ao qual se refere pode ser utilizado para identificar compostos que são úteis no tratamento da asma alérgica, dermatite atópica, rinite alérgica, doença auto-imune, lesão de reperfusão e um certo número de condições inflamatórias, que são todas mediadas pela acção da PGD₂ no receptor CRTH2.

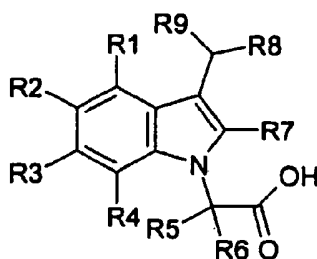
Os compostos que se ligam a CRTH2 são apresentados em WO-A-03066046 e WO-A-03066047. Estes compostos não são novos mas foram primeiramente descritos, juntamente com compostos similares, na GB 1356834, GB 1407658 e GB 1460348, onde se refere terem actividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética. A WO-A-03066046 e a WO-A-03066047 descrevem que os compostos aos quais estão relacionadas são moduladores da actividade do receptor de CRTH2, sendo, por conseguinte, úteis no tratamento ou prevenção de doenças obstrutivas das vias aéreas tais como asma, doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e um certo número de outras doenças incluindo várias condições dos ossos e articulações, pele e olhos, tracto GI, sistema nervoso central e periférico e outros tecidos assim como rejeição de aloenxertos.

As patentes PL 65781 e a JP 43-24418 referem-se também a derivados indol que são similares em estrutura à indometacina

e, tal como a indometacina, são referidos terem actividade anti-inflamatória e antipirética. Assim, embora isto possa não ter sido avaliado na altura em que estes documentos foram publicados, os compostos que descrevem são inibidores da COX, uma actividade que é bastante diferente da dos compostos do presente invento. De facto, os inibidores da COX estão contra-indicados no tratamento de muitas doenças e condições, por exemplo, asma e doença inflamatória intestinal, para as quais os compostos do presente invento são úteis, embora eles por vezes sejam utilizados para tratar condições artríticas.

Os investigadores descobriram agora que certos derivados indol nos quais o azoto indol é substituído por uma porção de ácido carboxílico são antagonistas da PGD_2 no receptor CRTH_2 , sendo úteis num método para o tratamento de doenças e condições mediadas por PGD_2 no receptor CRTH_2 , compreendendo o método a administração a um doente em necessidade de um tal tratamento de uma quantidade adequada de um dos compostos.

Por conseguinte, num primeiro aspecto do invento, é proporcionado um composto de fórmula geral (I):



I

na qual

R^1 , R^3 e R^4 são hidrogénio;

R^2 é halo

R^5 e R^6 são, cada um independentemente, hidrogénio ou alquilo ($\text{C}_1\text{--C}_6$) ou juntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um grupo cicloalquilo ($\text{C}_3\text{--C}_7$);

R^7 é hidrogénio ou alquilo ($\text{C}_1\text{--C}_6$);

R^8 é fenilo, naftalenilo, tiazol, bifenilo, quinolinilo ou quinoxalinilo, podendo qualquer um ser substituído por um ou mais grupos halo, alquilo ($\text{C}_1\text{--C}_6$), $-\text{Oalquilo}(\text{C}_1\text{--C}_6)$, $-\text{SO}_2\text{R}^{11}$ ou $-\text{OH}$;

cada R¹¹ é independentemente hidrogénio ou alquilo(C₁-C₆);
desde que

R⁸ não seja fenilo não substituído;

R⁹ é hidrogénio ou alquilo(C₁-C₆);

ou um seu sal, hidrato, solvato ou complexo farmacêuticamente aceitável.

Os compostos são úteis para o tratamento ou prevenção de asma alérgica, rinite alérgica perene, rinite alérgica sazonal, dermatite atópica, hipersensibilidade de contacto (incluindo dermatite de contacto), conjuntivite, especialmente conjuntivite alérgica, bronquite eosinofílica, alergias a alimentos, gastroenterite eosinofílica, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa e doença de Crohn, mastocitose e também outras doenças mediadas por PGD₂, por exemplo, doenças autoimunes tais como síndrome de hiper IgE e lúpus eritematoso sistémico, psoríase, acne, esclerose múltipla, rejeição de aloenxertos, lesão de reperfusão, doença pulmonar obstrutiva crónica, assim como, nalguns casos, artrite reumatóide, artrite psoriática e osteoartrite.

Os documentos WO-A-9950268, WO-A-0032180, WO-A-0151849 e WO-A-0164205 referem-se todos a compostos que são similares aos compostos de fórmula geral (I). No entanto, estes compostos são referidos como inibidores da aldose redutase úteis no tratamento da diabetes mellitus (WO-A-9950268, WO-A-0032180 e WO-A-0164205) ou agentes hipo-uricémicos (WO-A-0151849). Não há qualquer sugestão em nenhum destes documentos de que os compostos sejam úteis para o tratamento de doenças e condições mediadas por PGD₂ no receptor CRTH2. Os compostos preferidos descritos nestes documentos da arte anterior têm principalmente um substituinte benzotiazol na posição equivalente a R⁸ de fórmula geral (I).

A patente US 4363912 refere-se a compostos similares aos do presente invento que são referidos como inibidores da tromboxano sintetase e que são úteis no tratamento de condições tais como trombose, doença cardíaca isquémica e síncope. Os compostos têm um grupo piridilo na posição equivalente a R⁸ de fórmula geral (I).

O documento WO-A-9603376 refere-se a compostos que são referidos como inibidores das PLA₂s que são úteis no tratamento da asma brônquica e rinite alérgica. Estes compostos têm todos substituintes amida ou hidrazida em vez do derivado de ácido carboxílico dos compostos do presente invento.

A patente JP 2001247570 refere-se a um método de produção de um ácido 3-benzotiazolilmetilindolacético, que é referido como um inibidor da aldose redutase.

A patente US 4859692 refere-se a compostos que são referidos como antagonistas do leucotrieno úteis no tratamento de condições tais como asma, febre dos fenos e rinite alérgica assim como certas condições inflamatórias tais como bronquite, eczema atópico e ectópico. Os compostos deste documento são similares aos compostos de fórmula geral (I), no entanto, a fórmula geral (I) exclui especificamente compostos nos quais R⁸ é fenilo substituído por um grupo -COOH, que é a única área de sobreposição. Adicionalmente, *J. Med. Chem.*, 6(33), 1781-1790 (1990), que tem os mesmos autores deste pedido de patente anterior, descreve que os compostos com um grupo de ácido acético no azoto indol não têm a mesma actividade peptidoleucotrieno significativa. Tendo em vista isto, é mais surpreendente que os compostos do presente invento, que têm todos um grupo de ácido acético no azoto indol, sejam úteis no tratamento de condições tais como asma, febre dos fenos e rinite alérgica.

A patente US 4273782 refere-se a compostos similares aos de fórmula geral (I), que são referidos como úteis no tratamento de condições tais como trombose, doença cardíaca isquémica, síncope, ataque isquémico transitório, enxaqueca e as complicações vasculares da diabetes. Não há menção no documento de condições mediadas pela acção da PGD₂ no receptor CRTH2. Os compostos deste documento da arte anterior têm todos um grupo imidazol na posição equivalente a R⁸ de fórmula geral (I).

A patente US 3557142 refere-se a ácidos e ésteres 3-substituído-1-indol-carboxílicos que são referidos como úteis no tratamento de condições inflamatórias.

O documento WO-A-03/097598 refere-se a compostos que são antagonistas dos receptores CRTH2. Eles não têm um substituinte aromático na posição equivalente a R⁸ de fórmula geral (I).

Cross et al., *J. Med. Chem.*, 29, 342-346 (1986), refere-se a um processo para a preparação de compostos similares aos de fórmula geral (I) a partir dos ésteres correspondentes similares aos compostos de fórmula geral (II). Os compostos aos quais se referem são considerados como inibidores da tromboxano sintetase e têm todos um grupo imidazol na posição equivalente a R⁸ de fórmula geral (I).

O pedido EP-A-0539117 refere-se a antagonistas do leucotrieno que são similares em estrutura aos compostos de fórmula geral (I).

O documento US 2003/0153751 refere-se a compostos que são inibidores das PLA₂s. Embora a fórmula estrutural abranja compostos similares aos de fórmula geral (I), todos os compostos exemplificados têm substituintes volumosos nas posições 2 e 5 do sistema indol sendo, por conseguinte, muito diferentes dos compostos do presente invento.

O documento US 2004/011648 descreve compostos que são similares aos compostos de fórmula geral (I) e que são inibidores de PAI-1. Não há qualquer sugestão de que os compostos possam ter actividade antagonista de CRTH2.

O documento WO 2004/058164 refere-se a compostos que são referidos como moduladores da asma e inflamação alérgica. Os únicos compostos para os quais está demonstrada actividade são completamente diferentes em estrutura aos compostos de fórmula geral (I).

Os compostos que se ligam ao receptor CRTH2 são descritos em WO-A-03/097042 e WO-A-03/097598. Estes compostos são ácidos indolacéticos, no entanto, em WO-A-03/097042 o sistema indol é fundido nas posições 2-3 a anel carboxílico de 5-7 membros. Em WO-A-03/097598 há um grupo pirrolidina na posição 3 do indol.

Os documentos WO-A-03/101981 e WO-A-03/101961 referem-se ambas a compostos que são considerados como antagonistas de CRTH2 mas que diferem em estrutura dos compostos de fórmula geral (I) porque há um grupo -S- ou -SO₂- ligado à posição 3 do indol em vez do grupo CH₂ dos compostos de fórmula geral (I).

Na presente descrição "alquilo(C₁-C₆)" refere-se a uma cadeia de hidrocarboneto saturado linear ou ramificada tendo um a seis átomos de carbono e opcionalmente substituída por um ou mais substituintes halo ou por um ou mais grupos cicloalquilo(C₃-C₇). Os exemplos incluem metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, t-butilo, n-hexilo, trifluorometilo, 2-cloroetilo, metilenociclopropilo, metilenociclobutilo e metilenociclopentilo.

"Alquilo(C₁-C₄)" e "alquilo(C₁-C₁₈)" têm significados similares com excepção para o facto de conterem de um a quatro e de um a dezoito átomos de carbono, respectivamente.

Cicloalquilo(C₃-C₇) refere-se a um anel carbocíclico de 3 a 7 membros, saturado. Exemplos de tais grupos incluem ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo e ciclo-hexilo.

Na presente descrição, "halo" refere-se a fluoro, cloro, bromo ou iodo.

Os termos "porção aromática" e "arilo" no contexto da presente descrição referem-se a um sistema de anel aromático tendo de 5 a 14 átomos de carbono em anel e contendo até três anéis, um ou mais dos quais pode ser substituído por um átomo de azoto, oxigénio ou enxofre. Exemplos de porções aromáticas são os sistemas em anel benzeno, piridina, naftaleno, bifenilo, quinolina, isoquinolina, quinazolina, tiazol, benzotiazol, benzoxazol, benzimidazol, indol, indazol e imidazol.

Os sais farmacêutica e veterinariamente aceitáveis adequados, dos compostos de fórmulas gerais (I) e (II) incluem sais de adição básicos tais como sódio, potássio, cálcio, alumínio, zinco, magnésio e outros sais metálicos tais como colina, dietanolamina, etanolamina, etildiamina e outros sais de adição básicos bem conhecidos.

Quando adequado, os sais farmacêutica ou veterinariamente aceitáveis, podem também incluir sais de ácidos orgânicos, especialmente ácidos carboxílicos, incluindo mas não limitados a acetato, trifluoroacetato, lactato, gluconato, citrato, tartarato, maleato, malato, pantotenato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, butirato, digluconato, ciclopentanato, gluco-heptanato, glicerofosfato, oxalato, heptanoato, hexanoato, fumarato, nicotinato, pamoato, pectinato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, tartarato, lactobionato, pivolato, canforato, undecanoato e succinato, de ácidos sulfônicos orgânicos tais como metanossulfonato, etanossulfonato, 2-hidroxietanossulfonato, canforsulfonato, 2-naftaleno-sulfonato, benzenossulfonato, p-clorobenzenossulfonato e p-toluenossulfonato; e de ácidos inorgânicos tais como cloridrato, bromidrato, iodato, sulfato, bissulfato, hemissulfato, tiocianato, persulfato, ácidos fosfórico e sulfônico.

Os sais que não são farmacêutica ou veterinariamente aceitáveis podem ainda ser valiosos como intermediários.

Os pró-fármacos são compostos covalentemente ligados que libertam o fármaco original activo de acordo com a fórmula geral (I) *in vivo*. Os pró-fármacos são ésteres de alquilo dos compostos de fórmula geral (I) seleccionados a partir dos ésteres de fórmula geral (II) abaixo.

Se um centro quiral ou uma outra forma de centro isomérico estiver presente num composto do presente invento, todas as formas de tal isómero ou isómeros, incluindo enantiómeros e diastereoisómeros, são consideradas incluídas. Os compostos do invento contendo um centro quiral podem ser utilizados como uma mistura racémica, uma mistura enantiomericamente enriquecida ou a mistura racémica pode ser separada utilizando técnicas bem conhecidas e pode-se utilizar isoladamente um enantiómero individual.

Em compostos mais preferidos, R^2 é fluoro.

Em compostos preferidos de fórmula geral (I), R^5 e R^6 são, cada um independentemente, hidrogénio ou alquilo(C_1 - C_4).

No entanto, em compostos mais activos, pelo menos um, e, de preferência, os dois de R⁵ e R⁶ são hidrogénio.

Similarmente, prefere-se que R⁹ seja hidrogénio ou alquilo(C₁-C₄), mais preferivelmente, hidrogénio.

Os compostos de fórmula geral (I) têm, de preferência, um grupo R⁷ escolhido a partir de H ou alquilo(C₁-C₆); mais adequadamente R⁷ é metilo.

Em particular, prefere-se que R⁸ seja fenilo substituído na posição 4 ou naftaleno-2-ilo, quinolin-2-ilo, quinoxalin-2-ilo, tiazol-2-ilo, qualquer um dos quais pode ser opcionalmente substituído por um ou mais dos substituintes acima definidos.

Quando a porção R⁸ é substituída, os substituintes preferidos incluem halo, alquilo(C₁-C₄), haloalquilo(C₁-C₄), alcoxi(C₁-C₄), alquil(C₁-C₄)sulfonilo e hidroxil.

Os substituintes especialmente preferidos para a porção R⁸ incluem cloro, fluoro, metilo, etilo, t-butilo, trifluorometilo, metoxil, metanossulfonilo e hidroxil.

Entre os compostos mais preferidos estão os seguintes:

1. Ácido {3-[1-(4-clorofenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético
2. Ácido {5-fluoro-2-metil-3-[1-(4-trifluorometilfenil)etil]-indol-1-il}acético
3. Ácido {3-[1-(4-*terc*-butilfenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético
4. Ácido {5-fluoro-3-[1-(4-metanossulfonilfenil)etil]-2-metilindol-1-il}acético
5. Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(1-naftalen-2-iletal)-indol-1-il]acético
6. Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)acético
7. Ácido (5-fluoro-2-metil-3-naftalen-2-ilmetilindol-1-il)-acético
8. Ácido [5-fluoro-3-(8-hidroxil-quinolin-2-ilmetil)-2-metilindol-1-il]acético

9. Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinoxalin-2-ilmetilindol-1-il)acético
10. Ácido [5-fluoro-3-(4-metoxibenzil)-2-metilindol-1-il]-acético
11. Éster etílico do ácido (5-fluoro-2-metil-3-tiazol-2-ilmetilindol-1-il)acético
12. Ácido [3-(4-clorobenzil)-5-fluoro-2-metilindol-1-il]-acético
13. Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(4-trifluorometilbenzil)indol-1-il]acético
14. Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(4-*terc*-butilbenzil)indol-1-il]acético
15. Ácido (3-bifenil-4-ilmetil-5-fluoro-2-metilindol-1-il)-acético
16. Ácido [5-fluoro-3-(4-metanossulfonilbenzil)-2-metilindol-1-il]acético
17. Ácido [5-fluoro-3-(6-fluoro-quinolin-2-ilmetil)-2-metilindol-1-il]acético
18. Ácido (2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)acético
19. Ácido (5-cloro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)-acético;

ou os ésteres de alquilo(C₁-C₆), arilo, (CH₂)_mOC(=O)alquilo(C₁-C₆), (CH₂)_mN(R¹³)₂, CH((CH₂)_mO(C=O)R¹⁴)₂ de qualquer um dos acima; em que

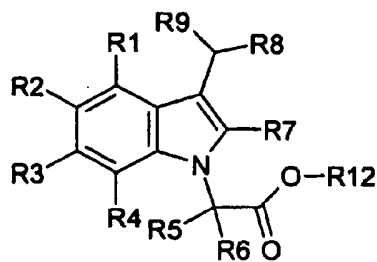
m é 1 ou 2;

R¹³ é hidrogénio ou metilo;

R¹⁴ é alquilo(C₁-C₁₈).

Tem sido demonstrado pelos presentes inventores que os compostos de fórmula geral (I) têm, surpreendentemente, actividade como antagonistas de PGD₂ no receptor CRTH2.

O composto de fórmula geral (I) pode ser derivado *in vivo* a partir de um pró-fármaco. Os pró-fármacos podem ser um composto de fórmula geral (II):



II

na qual R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 e R^9 são como definido para a fórmula geral (I);

R^{12} é alquilo(C_1-C_6), arilo, $(CH_2)_mOC(=O)$ alquilo(C_1-C_6), $(CH_2)_mN(R^{13})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{14})_2$;

m é 1 ou 2;

R^{13} é hidrogénio ou metilo;

R^{14} é alquilo(C_1-C_{18}).

Os compostos de fórmula geral (II) são novos e formam um aspecto adicional do invento.

Exemplos de grupos R^{12} particularmente adequados quando o composto de fórmula geral (II) é utilizado como um pró-fármaco incluem:

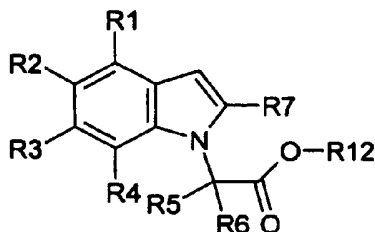
metilo, etilo, propilo, fenilo, $CH_2OC(=O)tBu$, $CH_2CH_2N(Me)_2$, $CH_2CH_2NH_2$ ou $CH(CH_2O(C=O)R^{14})_2$ em que R^{14} é como acima definido.

Alguns dos compostos de fórmula geral (II) mais preferidos são os ésteres de alquilo(C_1-C_6), arilo, $(CH_2)_mOC(=O)$ alquilo(C_1-C_6), $(CH_2)_mN(R^{13})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{14})_2$ dos Compostos 1 a 19 acima, em que m , R^{13} e R^{14} são como acima definido.

Quando o composto de fórmula geral (II) actua como um pró-fármaco, ele é posteriormente transformado no fármaco pela acção de uma esterase no sangue ou num tecido do doente.

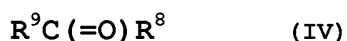
Como descrito em WO-A-9950268, os compostos de fórmula geral (I) podem ser preparados a partir de compostos de fórmula geral (II) na qual R^{12} é alquilo(C_1-C_6) por hidrólise com um alcali tal como hidróxido de sódio ou lítio. A reacção pode ocorrer num solvente aquoso ou num solvente orgânico ou numa mistura dos dois. Um solvente típico utilizado para a reacção é uma mistura de tetra-hidrofurano e água.

Os compostos de fórmula geral (II) podem ser preparados a partir de compostos de fórmula geral (III):



III

na qual R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 e R^7 são como definido na fórmula geral (I) e R^{12} é como definido na fórmula geral (II); por reacção com um composto de fórmula geral (IV):



na qual R^9 é como definido para a fórmula geral (I); sob condições de alquilação redutiva acídica. Os compostos de fórmulas gerais (III) e (IV) estão rapidamente disponíveis ou podem ser preparados por métodos bem conhecidos dos peritos na especialidade.

Outros métodos de preparação de compostos de fórmulas gerais (I) e (II) são descritos em WO-A-9950268 e WO-A-0151489.

Os compostos de fórmula geral (I) são antagonistas da PGD_2 no receptor CRTH2 e os compostos de fórmula geral (II) são pró-fármacos para compostos de fórmula geral (I). Os compostos de fórmulas gerais (I) e (II) são, por conseguinte, úteis num método para o tratamento de doenças e condições mediadas pela PGD_2 no receptor CRTH2, método que compreende a administração a um doente em necessidade de tal tratamento de uma quantidade adequada de um composto de fórmula geral (I) ou (II).

Num aspecto adicional do invento, é proporcionado um composto de fórmula geral (I) ou (II) novo para utilização em medicina, particularmente para utilização no tratamento ou prevenção de doenças e condições mediadas pela PGD_2 no receptor CRTH2.

Como acima mencionado, tais doenças e condições incluem asma alérgica, rinite alérgica perene, rinite alérgica sazonal, dermatite atópica, hipersensibilidade de contacto (incluindo dermatite de contacto), conjuntivite, especialmente conjuntivite alérgica, bronquite eosinofílica, alergias a alimentos, gastroenterite eosinofílica, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa e doença de Crohn, mastocitose e também outras doenças mediadas por PGD_2 , por exemplo, doenças autoimunes tais como síndrome de hiper IgE e lúpus eritematoso sistémico, psoríase, acne, esclerose múltipla, rejeição de aloenxertos, lesão de reperfusão, doença pulmonar obstrutiva crónica, assim como, artrite reumatóide, artrite psoriática e osteoartrite.

Num outro aspecto do invento, é proporcionada a utilização de um composto de fórmula geral (I) ou fórmula geral (II) como acima definido na preparação de um agente para o tratamento ou prevenção de doenças e condições mediadas pela PGD_2 no receptor CRTH_2 , especialmente o tratamento ou prevenção de asma alérgica, rinite alérgica perene, rinite alérgica sazonal, dermatite atópica, hipersensibilidade de contacto (incluindo dermatite de contacto), conjuntivite, especialmente conjuntivite alérgica, bronquite eosinofílica, alergias a alimentos, gastroenterite eosinofílica, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa e doença de Crohn, mastocitose, doenças autoimunes tais como síndrome de hiper IgE e lúpus eritematoso sistémico, psoríase, acne, esclerose múltipla, rejeição de aloenxertos, lesão de reperfusão, doença pulmonar obstrutiva crónica, artrite reumatóide, artrite psoriática e osteoartrite.

Os compostos de fórmula geral (I) ou (II) devem ser formulados de uma forma adequada dependendo das doenças ou condições às quais se destinam a tratar.

Por conseguinte, num aspecto adicional do invento é proporcionada uma composição farmacêutica compreendendo um composto de fórmula geral (I) ou (II), novo, em conjunto com um excipiente ou veículo farmacêutico. Podem também estar presentes outros materiais activos, como considerado adequado ou aconselhável para a doença ou condição a ser tratada ou prevenida.

O veículo, ou, se estiver presente mais do que um, cada um dos veículos, deve ser aceitável no sentido de ser compatível com os outros ingredientes da formulação e não prejudiciais para o receptor.

As formulações incluem aquelas adequadas para administração oral, rectal, nasal, brônquica (inalada), cutânea (incluindo gotas oculares, bucais e sublinguais), vaginal ou parentérica (incluindo subcutânea, intramuscular, intravenosa e intradérmica) e podem ser preparadas por quaisquer métodos bem conhecidos na arte de farmácia.

A via de administração vai depender da condição a ser tratada, no entanto, as composições preferidas são formuladas para administração oral, nasal, brônquica ou cutânea.

A composição pode ser preparada associando o agente activo acima definido com o veículo. Em geral, as formulações são preparadas por associação uniforme ou íntima do agente activo com veículos líquidos ou veículos sólidos finamente divididos ou ambos, e, em seguida, se necessário, modelação do produto. O invento estende-se a métodos para a preparação de uma composição farmacêutica compreendendo originar um composto de fórmula geral (I) ou (II), novo, em conjunto ou associação com um transportador ou veículo farmacêutica ou veterinariamente aceitável.

As formulações para administração oral no presente invento podem ser apresentadas como: doses descontínuas tais como cápsulas, saquetas ou comprimidos contendo cada uma quantidade pré-determinada do agente activo; como um pó ou grânulos; como uma solução ou uma suspensão do agente activo num líquido aquoso ou num líquido não aquoso; ou como uma emulsão líqüida óleo-em-água ou uma emulsão líqüida água-em-óleo; ou como um bólus.

Para composições para administração oral (por exemplo, comprimidos e cápsulas), o termo "veículo aceitável" inclui veículos tais como excipientes comuns, por exemplo, agentes ligantes, por exemplo, xarope, acácia, gelatina, sorbitol, tragacanta, polivinilpirrolidona (Povidona), metilcelulose, etilcelulose, carboximetilcelulose sódica, hidroxipropil-

metilcelulose, sacarose e amido; enchimentos e veículos, por exemplo, amido de milho, gelatina, lactose, sacarose, celulose microcristalina, caulino, manitol, fosfato dicálcico, cloreto de sódio e ácido algínico; e lubrificantes tais como estearato de magnésio, estearato de sódio e outros estearatos metálicos, estearato de glicerol, ácido esteárico, silicone fluído, talco, ceras, óleos e sílica coloidal. Podem também ser utilizados agentes aromatizantes tais como hortelã-pimenta, óleo de gaultéria, aroma de cereja e semelhantes. Pode ser desejável adicionar um agente corante para tornar a forma de administração rapidamente identificável. Os comprimidos podem também ser revestidos por métodos bem conhecidos na arte.

Um comprimido pode ser preparado por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios. Os comprimidos comprimidos podem ser preparados por compressão numa máquina adequada do agente activo numa forma de escoamento livre tal como um pó ou grânulos, opcionalmente misturado com um ligante, lubrificante, diluente inerte, conservante, agente tensioactivo ou dispersante. Os comprimidos moldados podem ser preparados por moldagem numa máquina adequada de uma mistura do composto em pó humedecido com um diluente líquido inerte. Os comprimidos podem ser opcionalmente revestidos ou ranhurados e podem ser formulados de modo a proporcionar a libertação lenta ou controlada do agente activo.

Outras formulações adequadas para administração oral incluem trociscos compreendendo o agente activo numa base aromatizada, normalmente sacarose e goma arábica ou adragante; pastilhas compreendendo o agente activo numa base inerte tal como gelatina e glicerina, ou sacarose e goma arábica; e elixir compreendendo o agente activo num veículo adequado.

Para aplicação cutânea na pele, os compostos de fórmula geral (I) ou (II) podem ser preparados num creme, pomada, geleia, solução ou suspensão. As formulações de creme ou pomada que podem ser utilizadas para o fármaco são formulações convencionais bem conhecidas na arte, por exemplo, como descrito em livros de texto de farmácia padrão tal como a Farmacopeia Britânica.

Os compostos de fórmula geral (I) ou (II) podem ser utilizados no fabrico de um medicamento para o tratamento do tracto respiratório por administração nasal, brônquica ou bucal. Neste caso, os compostos podem ser formulados como, por exemplo, aerossóis ou pulverizadores que podem dispersar o ingrediente farmacológico activo na forma de um pó ou na forma de gotas de uma solução ou suspensão. As composições farmacêuticas com propriedades dispersantes de pó contêm normalmente, adicionalmente ao ingrediente activo, um propulsor líquido com um ponto de ebulição inferior à temperatura ambiente e, se desejado, auxiliares, tais como tensioactivos não iónicos ou aniónicos e/ou diluentes, líquidos ou sólidos. As composições farmacêuticas nas quais o ingrediente farmacológico activo está em solução contêm, adicionalmente a este, um propulsor adequado, e, ainda, se necessário, um solvente adicional e/ou um estabilizante. Em vez do propulsor, pode também ser utilizado ar comprimido, sendo possível para isto ser produzido quando necessário por meio de um dispositivo de compressão e expansão, adequados.

As formulações parentéricas são geralmente estéreis.

A dose do composto será, tipicamente, de cerca de 0,01 a 100 mg/kg; de forma a manter a concentração de fármaco no plasma a uma concentração eficaz para inibir a PGD₂ no receptor CRTH2. A quantidade precisa de um composto de fórmula geral (I) ou (II) que é terapeuticamente eficaz, e a via pela qual tal composto é melhor administrado, são rapidamente determinadas por um perito na arte por comparação do nível sanguíneo do agente a uma concentração requerida para ter um efeito terapêutico.

Os compostos de fórmula geral (I) ou (II) podem ser utilizados em combinação com um ou mais agentes activos que são úteis no tratamento das doenças e condições acima indicadas, embora estes agentes activos não sejam necessariamente inibidores da PGD₂ no receptor CRTH2.

Por conseguinte, a composição farmacêutica acima descrita pode conter adicionalmente um ou mais destes agentes activos.

É também proporcionada a utilização de um composto de fórmula geral (I) ou (II) na preparação de um agente para o tratamento de doenças e condições mediadas pela PGD_2 no receptor CRTH2, em que o agente compreende também um agente activo adicional útil no tratamento das mesmas doenças ou condições.

Estes agentes activos adicionais que podem ter um modo de acção completamente diferente incluem terapêuticas existentes para doenças alérgicas e outras doenças inflamatórias incluindo:

agonistas β_2 tal como salmeterol;
corticosteróides tal como fluticasona;
anti-histamínicos tal como loratadina;
antagonistas do leucotrieno tal como montelucaste;
terapêuticas com anticorpo anti-IgE tal como omalizumab;
anti-infecciosos tal como ácido fusídico (particularmente para o tratamento da dermatite atópica);
anti-fúngicos tal como clotrimazol (particularmente para o tratamento da dermatite atópica);
imunossuppressores tal como tacrolímus e, particularmente, pimecrolímus no caso de doença inflamatória da pele.

Os antagonistas do CRTH2 podem também ser combinados com terapêuticas que estão em desenvolvimento para indicações inflamatórias incluindo:

outros antagonistas da PGD_2 que actuam noutros receptores tais como antagonistas DP;
inibidores da fosfodiesterase tipo 4 tal como cilonilast;
fármacos que modulam a produção de citocina tais como inibidores da enzima de conversão do $TNF\alpha$ (TACE);
fármacos que modulam a actividade de citocinas Th2 IL-4 e IL-5 tais como anticorpos monoclonais de bloqueio e receptores solúveis;
agonistas PPAR- γ tal como rosiglitazona;
inibidores da 5-lipoxigenase tal como zileuton.

Ainda num outro aspecto do invento, é proporcionado um produto compreendendo um composto de fórmula geral (I) ou (II), novo, e um ou mais dos agentes acima indicados como uma preparação combinada para utilização simultânea, separada ou sequencial no tratamento de uma doença ou condição mediada pela acção de PGD_2 no receptor CRTH2.

O invento será agora descrito com maior detalhe com referência aos exemplos seguintes.

Exemplo 1 - Preparação dos Compostos 1 a 19

1. Éster etílico do ácido {3-[1-(4-clorofenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético

Trietilsilano (0,34 ml, 2,13 mmole) e ácido trifluoroacético (0,10 ml, 1,29 mmole) foram sequencialmente adicionados, gota-a-gota, durante 1 min a uma solução agitada de éster etílico de ácido (5-fluoro-2-metilindol-1-il)acético (0,10 g, 0,43 mmole) e 4-acetilclorobenzeno (64 mg, 0,41 mmole) em 1,2-dicloroetano (2 ml) a 0°C. A mistura foi então aquecida à temperatura ambiente e agitada durante 16 horas. A mistura resultante foi concentrada *in vacuo* para dar um resíduo que foi partilhado entre acetato de etilo (10 ml) e uma solução saturada de bicarbonato de sódio (10 ml). A fase orgânica foi separada, seca e concentrada *in vacuo* para dar um resíduo que foi purificado por cromatografia em coluna "flash" (Flashmaster) em sílica gel eluindo com acetato de etilo:heptano a 10% até acetato de etilo:heptano a 25% para dar o éster etílico (57 mg, 37%) como um sólido branco, Tr=1,88 min (92%), *m/z* (ES⁺) (M+H)⁺ 374,30.

2. Composto 1 - Ácido {3-[1-(4-clorofenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético

O hidróxido de lítio mono-hidratado (70 mg, 1,67 mmole) foi adicionado numa porção a uma solução agitada de éster etílico do ácido {3-[1-(4-clorofenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético (57 mg, 0,15 mmole) em tetra-hidrofurano:água (5 ml; 1:1) e agitado à temperatura ambiente durante 2 h. A solução foi ajustada a pH 1 com ácido clorídrico concentrado e o produto extractado com acetato de etilo (3x10 ml). Os extractos orgânicos combinados foram secos e concentrados *in vacuo* para dar o ácido carboxílico (35 mg, 67%) como um sólido branco sujo, δ_H (400 MHz, CDCl₃) 7,26-7,21 (4H, m, Ar), 7,06 (1H, dd *J* 9,0, 4,2Hz, Ar), 6,97 (1H, dd *J* 10,0, 2,4Hz, Ar), 6,86 (1H, dt *J* 9,0, 2,4Hz, Ar), 4,80 (2H, s, CH₂CO₂H), 4,35 (1H, q *J* 7,3Hz, CHCH₃), 2,29 (3H, s, CH₃), 1,73 (3H, d *J* 7,3Hz, CHCH₃); Tr=1,73 min (90%), *m/z* (ES⁺) (M+H)⁺ 346,09.

Os Compostos 2 a 19 foram preparados utilizando um método similar ao descrito para o Composto 1, mas com materiais de partida adequadamente escolhidos.

Composto 2 - Ácido {5-fluoro-2-metil-3-[1-(4-trifluorometil-fenil)etil]indol-1-il}acético

δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 7,50 (2H, d J 8,3Hz, Ar), 7,39 (2H, d J 8,3Hz, Ar), 7,07 (1H, dd J 8,8, 4,1Hz, Ar), 6,98 (1H, dd J 10,0, 2,5Hz, Ar), 6,85 (1H, dt J 9,0, 2,5Hz, Ar), 4,80 (2H, s, CH_2CO_2H), 4,42 (1H, q J 7,1Hz, $CHCH_3$), 2,29 (3H, s, CH_3), 1,77 (3H, d J 7,3Hz, $CHCH_3$); Tr=1,65 min (96%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 380,15.

Composto 3 - Ácido {3-[1-(4-terc-butilfenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético

δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 7,32-7,21 (4H, m, Ar), 7,08-7,03 (2H, m, Ar), 6,89-6,83 (1H, m, Ar), 4,82 (2H, s, CH_2CO_2H), 4,36 (1H, q J 7,3Hz, $CHCH_3$), 2,33 (3H, s, CH_3), 1,75 (3H, d J 7,3Hz, $CHCH_3$), 1,29 (9H, s, $C(CH_3)_3$); Tr=1,78 min (97%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 368,21.

Composto 4 - Ácido {5-fluoro-3-[1-(4-metanossulfonilfenil)-etil]-2-metilindol-1-il}acético

δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 7,81 (2H, d J 8,3Hz, Ar), 7,47 (2H, d J 8,1Hz, Ar), 7,06 (1H, dd J 8,8, 4,1Hz, Ar), 6,96 (1H, dd J 10,0, 2,5Hz, Ar), 6,85 (1H, dt J 9,0, 2,5Hz, Ar), 4,78 (2H, s, CH_2CO_2H), 4,43 (1H, q J 7,1Hz, $CHCH_3$), 2,99 (3H, s, CH_3), 2,29 (3H, s, CH_3), 1,79 (3H, d J 7,3Hz, $CHCH_3$); Tr=1,34 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 390,16.

Composto 5 - Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(1-naftalen-2-iletil)-indol-1-il]acético

δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 7,81-7,74 (3H, m, Ar), 7,69 (1H, d J 8,5Hz, Ar), 7,47-7,39 (2H, m, Ar), 7,39-7,33 (1H, m, Ar), 7,09-7,02 (2H, m, Ar), 6,86 (1H, dt J 9,0, 2,4Hz, Ar), 4,83 (2H, s, CH_2CO_2H), 4,54 (1H, q J 7,3Hz, $CHCH_3$), 2,32 (3H, s, CH_3), 1,86 (3H, d J 7,3Hz, $CHCH_3$); Tr=1,66 min (97%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 362,19.

Composto 6 - Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetil-indol-1-il)acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 8,42 (1H, d J 9,0Hz, Ar), 8,23 (1H, d J 9,0Hz, Ar), 8,11 (1H, m, Ar), 7,97 (1H, m, Ar), 7,60 (1H, m, Ar) 7,51 (3H, m, Ar e Ar), 7,09 (1H, m, Ar), 5,19 (2H, s, CH₂), 4,56 (2H, CH₂), 2,63 (3H, s, CH₃); Tr=1,06 min (100%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 349,35.

Composto 7 - Ácido (5-fluoro-2-metil-3-naftalen-2-ilmetil-indol-1-il)acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 7,87 (4H, m, Ar), 7,47 (4H, m, Ar), 7,22 (1H, dd J 6,0, 1,5Hz, Ar), 6,91 (1H, ddd J 9,0, 2,5Hz, Ar), 5,04 (2H, s, CH₂), 4,23 (2H, s, CH₂), 2,42 (3H, s, CH₃); Tr=2,09 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 348,13.

Composto 8 - Ácido [5-fluoro-3-(8-hidroxi-quinolin-2-ilmetil)-2-metilindol-1-il]acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 9,53 (1H, s, OH), 8,20 (1H, d J 8,0Hz, Ar), 7,42 (5H, m, Ar), 7,13 (1H, dd J 6,0, 1,5Hz, Ar), 6,91 (1H, dd J 9,0, 2,5Hz, Ar), 5,00 (2H, s, CH₂), 4,41 (2H, s, CH₂), 2,47 (3H, s, CH₃); Tr=1,13 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 365,12.

Composto 9 - Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinoxalin-2-ilmetil-indol-1-il)acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 9,02 (1H, s, H-3 Ar), 8,30 (2H, m, Ar), 8,05 (2H, m, Ar), 7,53 (2H, m, Ar), 7,07 (1H, m, Ar), 5,01 (2H, s largo, CH₂), 4,64 (2H, s, CH₂), 2,64 (3H, s, CH₃); Tr=1,35 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 350,12.

Composto 10 - Ácido [5-fluoro-3-(4-metoxibenzil)-2-metil-indol-1-il]acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 7,39 (1H, m, Ar), 7,16 (3H, m, Ar), 6,91 (3H, m, Ar) 5,00 (2H, s, CH₂), 3,98 (2H, s, CH₂), 3,74 (3H, s, OCH₃) 2,36 (3H, s, CH₃); Tr=1,93 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 328,13.

Composto 11 - Éster etílico do ácido (5-fluoro-2-metil-3-tiazol-2-ilmetilindol-1-il)acético

Tr=1,09 min, m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 305,26.

Composto 12 - Ácido [3-(4-clorobenzil)-5-fluoro-2-metilindol-1-il]acético

Tr=1,63 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 332,16.

Composto 13 - Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(4-trifluorometilbenzil)indol-1-il]acético

Tr=1,66 min, m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 366,06.

Composto 14 - Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(4-*terc*-butilbenzil)-indol-1-il]acético

Tr=1,73 min, m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 354,21.

Composto 15 - Ácido (3-bifenil-4-ilmetil-5-fluoro-2-metilindol-1-il)acético

Tr=2,10 min, m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 374,16.

Composto 16 - Ácido [5-fluoro-3-(4-metanossulfonilbenzil)-2-metilindol-1-il]acético

Tr=1,35 min, m/z (ES^+)=376,05.

Composto 17 - Ácido [5-fluoro-3-(6-fluoro-quinolin-2-ilmetil)-2-metilindol-1-il]acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 8,20 (1H, d J 8,6Hz, Ar), 8,06 (1H, dd J 9,3, 5,6Hz, Ar), 7,70 (1H, dd J 9,4, 2,8Hz, Ar), 7,64 (1H, td J 8,8, 2,9Hz, Ar), 7,37-7,32 (2H, m, Ar), 7,26 (1H, dd J 9,9, 2,6Hz, Ar), 6,86 (1H, td J 9,2, 2,4Hz, Ar), 4,94 (2H, s, CH₂), 4,33 (2H, s, CH₂), 2,40 (3H, s, CCH₃); Tr=1,28 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 367,50.

Composto 18 - Ácido (2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 8,16 (1H, d J 8,6Hz, Ar), 8,01 (1H, d J 8,5Hz, Ar), 7,88 (1H, d J 7,6Hz, Ar), 7,74 (1H, t J 7,0Hz,

Ar), 7,54 (1H, t J 7,0Hz, Ar), 7,44 (1H, d J 8,0Hz, Ar), 7,26 (2H, ap t J 8,9Hz, Ar), 7,00 (1H, t J 7,3Hz, Ar), 6,90 (1H, t J 7,3Hz, Ar), 4,72 (2H, s, CH₂CO₂H), 4,35 (2H, s, CH₂), 2,40 (3H, s, CH₃); Tr=1,07 min (100%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 331,33.

Composto 19 - Ácido (5-cloro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetil-indol-1-il)acético

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 8,21 (1H, d J 8,4Hz, Ar), 8,00 (1H, d J 8,4Hz, Ar), 7,89 (1H, d J 8,0Hz, Ar), 7,77-7,73 (1H, m, Ar), 7,57-7,53 (2H, m, Ar), 7,40 (1H, d J 8,7Hz, Ar), 7,29 (1H, d J 8,5Hz, Ar), 7,04 (1H, dd J 8,6, 2,1Hz, Ar), 5,00 (2H, s, CH₂CO₂H), 4,35 (2H, s, CH₂), 2,41 (3H, s, CH₃); Tr=1,17 min (95%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 365,28.

Exemplo Comparativo 2 - Preparação do Composto 20

1. Éster etílico do ácido [3-(4,5,7-trifluorobenzotiazol-2-ilmetil)indol-1-il]acético

Este composto foi preparado utilizando o procedimento descrito em WO-A-0151489.

δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) 7,75-7,69 (1H, m, Ar), 7,56 (1H, d J 7,8Hz, Ar), 7,49 (1H, s, CH), 7,43 (1H, d J 8,2Hz, Ar), 7,19 (1H, ap t J 7,0Hz, Ar), 7,08 (1H, ap t J 7,1Hz, Ar), 5,17 (2H, s, CH₂), 4,69 (2H, s, CH₂); 4,17 (2H, q J 7,2Hz, CH₂CH₃), 1,23 (3H, t J 7,2Hz, CH₂CH₃); Tr=1,62 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 405,15.

2. Composto 20 - Ácido [3-(4,5,7-trifluorobenzotiazol-2-ilmetil)indol-1-il]acético

O hidróxido de lítio (31 mg, 0,74 mmole) em água (6 ml) foi adicionado numa porção a uma solução agitada de éster etílico do ácido [3-(4,5,7-trifluorobenzotiazol-2-ilmetil)-indol-1-il]acético (73 mg, 0,18 mmole) em tetra-hidrofurano (6 ml) à temperatura ambiente. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 15 min. e, em seguida, a solução foi ajustada a pH ~3 com ácido clorídrico 1M. A fase aquosa foi então extractada com acetato de etilo (3x10 ml) e os extractos orgânicos combinados foram lavados com salmoura (10 ml), secos e concentrados *in vacuo* para dar o ácido

carboxílico (62 mg, 92%) como um sólido amarelo, δ_{H} (400 MHz, d_6 -DMSO) 7,76–7,69 (1H, m, Ar), 7,56 (1H, d J 8,0Hz, Ar), 7,48 (1H, s, CH), 7,43 (1H, d J 8,3Hz, Ar), 7,18 (1H, ap t J 7,1Hz, Ar), 7,07 (1H, ap t J 7,1Hz, Ar), 5,05 (2H, s, CH₂), 4,68 (2H, s, CH₂); Tr=1,94 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 377,00.

Exemplo 3 - Medição da actividade antagonista de CRTH2

Materiais e Métodos

Materiais

O corante de cálcio-3 foi adquirido a partir de Molecular Devices (Wokingham, UK). O meio de resolução mono-poli foi obtido a partir de Dainippon Pharmaceuticals (Osaka, Japão). As micropérolas Maps anti-CD16 eram de Miltenyi biotec (Bisley, Surrey). As placas ChemoTx foram adquiridas a partir de Neuroprobe (Gaithersburg, MD). Os pratos de 96 cavidades revestidos com poli-D-lisina foram obtidos a partir de Greiner (Gloucestershire, UK). [³H]PGD₂ era de Amersham Biosciences (Buckinghamshire, UK). [³H]SQ29548 foi adquirido a partir de Perkin Elmer Life Sciences (Buckinghamshire, UK). Todos os outros reagentes foram obtidos a partir de Sigma-Aldrich (Dorset, UK), a não ser que de outro modo referido.

Métodos

Cultura de células

As células de Ovário de Hamster Chinês foram transfectadas com receptores CRTH2 ou DP (CHO/CRTH2 e CHO/DP) e foram mantidas em cultura numa atmosfera humidificada a 37°C (CO₂ a 5%) em Meio Essencial Mínimo (MEM) suplementado com soro de bovino fetal a 10%, glutamina 2mM e 1 mg ml⁻¹ de G418 activo. As células foram passadas todos os 2-3 dias. Para o teste de ligação de radioligando, as células foram preparadas em balões de camada tripla ou em balões de 175 cm² (para preparação de membrana). Para o teste de mobilização de cálcio, as células foram deixadas crescer numa placa de 96 cavidades, 24 h antes do teste, numa densidade de 80000 células por cavidade.

Preparação de membranas de células

As membranas foram preparadas quer a partir de células CHO/CRTH2 e CHO/DP, quer a partir de plaquetas (como uma fonte de receptores TP). As células CHO deixadas crescer até à confluência foram lavadas com PBS e separadas utilizando uma solução Versene (15 ml por balão). Quando as células foram deixadas crescer num balão de 175 cm², elas foram recolhidas por raspagem em PBS. As suspensões de células foram centrifugadas (1700 rpm, 10 min, 4°C) e ressuspensas em 15 ml de tampão (1xHBSS, suplementado com HEPES 10mM, pH 7,3). As suspensões de células foram então homogeneizadas utilizando Ultra Turrax regulado para 4-6, durante 20 s. O homogeneizado foi centrifugado a 1700 rpm durante 10 min e o sobrenadante foi recolhido e centrifugado a 20000 rpm durante 1 h, a 4°C. A pelota resultante foi ressuspensa em tampão e armazenada a -80°C em alíquotas de 200-500 µl. A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina de soro de bovino como padrão. As plaquetas foram lavadas por centrifugação a 600xg durante 10 min e ressuspensas em tampão de teste gelado (Tris-HCl 10mM, pH 7,4, Glucose 5mM, NaCl 120mM, indometacina 10µM) e directamente centrifugadas a 20000 rpm durante 30 min a 4°C. A pelota resultante foi tratada como acima descrito.

Testes de ligação de radioligando

As experiências de ligação de [³H]PGD₂ (160 Ci/mmol) foram realizadas em membranas preparadas como acima descrito. Os testes foram realizados num volume final de 100 µl de tampão (1xHBSS/HEPES 10mM, pH 7,3). Membranas de células (15 µg). As membranas de células 15 mg foram pré-incubadas à temperatura ambiente com concentrações variáveis de ligando de competição durante 15 min. Adicionou-se então [³H]PGD₂ (mol, concentração final) e a incubação continuou durante mais uma hora à temperatura ambiente. A reacção terminou pela adição de 200 µl de tampão de teste gelado a cada cavidade, seguida por filtração rápida através de filtros de fibra de vidro Whatman GF/B utilizando um colector Unifilter Cell (PerkinHelmer Life Sciences) e seis lavagens de 300 µl de tampão gelado. As placas Unifilter foram secas à temperatura ambiente durante, pelo menos, 1 h e a radioactividade retida

nos filtros foi determinada num contador Beta Trilux (PerkinHelmer Life Sciences), após adição de 40 µl de líquido de cintilação Optiphase Hi-Safe 3 (Wallac). A ligação não específica foi definida na presença de PGD₂ não marcada 10µM. Os testes foram realizados em duplicado.

Os resultados das experiências de ligação de radioligando aos receptores CRTH2 e DP são apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Dados de ligação de radioligando (K_i no Receptor CRTH2)

Compostos	K _i (nM)
Composto 4	5±4
Composto 6	9±3
Composto 8	6±4
Composto 12	11±2
Composto 16	7±2
Composto 17	1,3±0,6
Composto 20 (lidorestat)	886±248

Tabela 2 - Dados de ligação de radioligando (K_i no Receptor DP)

Compostos	K _i (nM)
Composto 4	30440±9805
Composto 6	17870±7290
Composto 8	7710±1780
Composto 12	12220±2250
Composto 17	7740±1442
Composto 20 (lidorestat)	3960

A ligação de radioligando ao receptor TP foi realizada em membranas preparadas a partir de plaquetas. 15-40 µg de proteína foram pré-incubadas com concentrações variáveis de ligando de competição durante 15 min à temperatura ambiente em tampão de teste (Tris-HCl 10mM, pH 7,4, glucose 5mM, NaCl 120mM, indometacina 10µM). Foi então adicionado [³H]SQ29548 (38 Ci/mole, concentração final 10nM) e a incubação continuou durante mais 30 min à temperatura ambiente. A reacção foi terminada pela adição de 200 µl de tampão de teste gelado a cada cavidade, seguida por filtração rápida através de filtros de fibra de vidro Whatman GF/C utilizando um colector Unifilter Cell (PerkinHelmer Life Sciences)

seguido por seis lavagens de 300 μ l de tampão gelado. A radioactividade foi determinada como acima descrito.

Todos os compostos estudados neste teste ligaram-se ao receptor TP com baixa afinidade ($K_i > 1 \mu\text{M}$).

Os compostos de fórmula geral (I) ligaram-se ao receptor CRTH2 expresso em células CHO com um intervalo de afinidade que variou de muito elevado a moderado. De facto, os valores de K_i determinados em competição versus [^3H]PGD₂ variaram de 500pM a 1 μM . Os compostos de fórmula geral (I) não tinham qualquer actividade (ou muito fraca actividade) nos receptores DP e TP. A selectividade de ligação dos compostos de fórmula geral (I) para o receptor CRTH2 foi superior a 200 vezes para o receptor CRTH2, quando comparado aos receptores DP e TP.

Teste de mobilização de cálcio

As células foram semeadas em placas de 96 poços revestidos com poli-D-lisina numa densidade de 80000 células por cavidade e incubadas a 37°C, durante a noite, para permitir às células aderir. As células foram lavadas duas vezes com HBSS e incubadas durante 1 h a 37°C em 100 μ l de HBSS e 100 μ l de corante de cálcio-3 (Molecular Devices), suplementado com probenecid 4mM. As alterações na fluorescência foram monitorizadas durante cursos de 50 s com a adição de agonista a 17 s utilizando um Flexstation (Molecular Devices).

Efeito dos agonistas CRTH2 na mobilização de cálcio em células CHO-CRTH2

A PGD₂ causou um aumento dependente da dose na mobilização de Ca²⁺ intracelular em células CHO/CRTH2, com uma CE₅₀ = 2,4 $\pm$ 0,5nM (n=3).

Efeito dos compostos de fórmula geral (I) na mobilização de cálcio induzida por PGD₂

O fluxo de Ca²⁺ estimulado por PGD₂ foi totalmente inibido pelos compostos de fórmula geral (I) e o valor de CI₅₀ para cada composto no teste de cálcio foi comparável ao

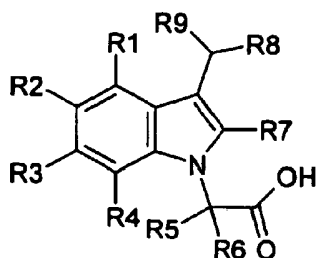
seu valor de K_i na ligação de Radioligando. Os valores de CI_{50} dos compostos de fórmula geral (I) variaram de 5nM a 1 μ M. Os resultados para vários compostos de fórmula geral (I) são apresentados na Tabela 3. Doses crescentes dos compostos de fórmula geral (I) causaram uma mudança dependente da dose e paralela da curva de dose-resposta de PGD_2 em células CHO/CRTH2, indicando assim que os compostos são antagonistas de CRTH2 competitivos.

O efeito antagonista dos compostos de fórmula geral (I) parece ser selectivo para CRTH2, uma vez que não se observou qualquer efeito inibidor no fluxo de Ca^{2+} estimulado por ATP.

Tabela 3 - Inibição do fluxo de cálcio induzido por PGD_2

Compostos	CI_{50} (nM)
Composto 4	55 $\pm$ 18
Composto 6	30 $\pm$ 6
Composto 7	38 $\pm$ 16
Composto 8	11 $\pm$ 6
Composto 10	47 $\pm$ 8
Composto 12	108 $\pm$ 29
Composto 16	64 $\pm$ 5
Composto 17	10 $\pm$ 5
Composto 20 (lidorestat)	885 $\pm$ 96

Lisboa, 2009-10-28

REIVINDICAÇÕES**1.** Composto da fórmula geral (I):**I**

na qual

R^1 , R^3 e R^4 são hidrogénio;

R^2 é halo

R^5 e R^6 são, cada um independentemente, hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6) ou juntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um grupo cicloalquilo(C_3-C_7);

R^7 é hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6);

R^8 é um grupo fenilo, naftalenilo, tiazol, bifenilo, quinolinilo ou quinoxalinilo, podendo qualquer um ser substituído por um ou mais grupos halo, alquilo(C_1-C_6), -O-alquilo(C_1-C_6), $-SO_2R^{11}$ ou -OH;

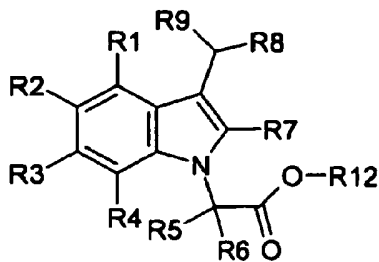
cada R^{11} é independentemente hidrogénio ou alquilo-
(C_1-C_6);

desde que

R^8 não seja fenilo não substituído;

R^9 é hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6);

ou um seu sal, hidrato, solvato ou complexo farmacêuticamente aceitável.

2. Composto da fórmula geral (II):**II**

na qual R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 e R^9 são como definido na reivindicação 1;

R^{12} é alquilo(C_1-C_6), arilo, $(CH_2)_mOC(=O)$ alquilo(C_1-C_6), $(CH_2)_mN(R^{13})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{14})_2$;

m é 1 ou 2;

R^{13} é hidrogénio ou metilo;

R^{14} é alquilo(C_1-C_{18}).

3. Composto de acordo com a reivindicação 1 ou reivindicação 2 na qual, no composto de fórmula geral (I) ou (II), independentemente ou em qualquer combinação:

R^5 e R^6 são, cada um independentemente, hidrogénio ou alquilo(C_1-C_4);

R^7 é H ou alquilo(C_1-C_6); e

R^9 é hidrogénio ou alquilo(C_1-C_4).

4. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, no qual R^2 é fluoro.

5. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, no qual pelo menos um de R^5 e R^6 é hidrogénio.

6. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, no qual R^7 é metilo.

7. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 6, no qual R^5 , R^6 e R^9 são hidrogénio e R^7 é metilo.

8. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, no qual a porção R^8 é substituída por um ou mais substituintes seleccionados a partir de halo, alquilo(C_1-C_4), haloalquilo(C_1-C_4), alcoxi(C_1-C_4), alquil(C_1-C_4)-sulfonilo e hidroxilo.

9. Composto de acordo com a reivindicação 8, no qual a porção R^8 é substituída por um ou mais substituintes escolhidos a partir de cloro, fluoro, metilo, etilo, t-butilo, trifluorometilo, metoxi, metanossulfonilo e hidroxilo.

10. Composto seleccionado a partir de:

Ácido {3-[1-(4-clorofenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}-acético

Ácido {5-fluoro-2-metil-3-[1-(4-trifluorometilfenil)etil]-indol-1-il}acético

Ácido {3-[1-(4-*terc*-butilfenil)etil]-5-fluoro-2-metilindol-1-il}acético

Ácido {5-fluoro-3-[1-(4-metanossulfonilfenil)etil]-2-metilindol-1-il}acético

Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(1-naftalen-2-iletel)-indol-1-il]-acético

Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)-acético

Ácido (5-fluoro-2-metil-3-naftalen-2-ilmetilindol-1-il)-acético

Ácido [5-fluoro-3-(8-hidroxi-quinolin-2-ilmetil)-2-metilindol-1-il]acético

Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinoxalin-2-ilmetilindol-1-il)-acético

Ácido [5-fluoro-3-(4-metoxibenzil)-2-metilindol-1-il]acético

Éster etílico do ácido (5-fluoro-2-metil-3-tiazol-2-ilmetilindol-1-il)acético

Ácido [3-(4-clorobenzil)-5-fluoro-2-metilindol-1-il]acético

Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(4-trifluorometilbenzil)indol-1-il]-acético

Ácido [5-fluoro-2-metil-3-(4-*terc*-butilbenzil)indol-1-il]-acético

Ácido (3-bifenil-4-ilmetil-5-fluoro-2-metilindol-1-il)acético

Ácido [5-fluoro-3-(4-metanossulfonilbenzil)-2-metilindol-1-il]acético

Ácido [5-fluoro-3-(6-fluoro-quinolin-2-ilmetil)-2-metilindol-1-il]acético

Ácido (5-cloro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)-acético;

ou um seu sal, hidrato, solvato ou complexo farmacêuticamente aceitável;

ou os ésteres de alquilo(C₁-C₆), arilo, (CH₂)_mOC(=O)alquilo(C₁-C₆), (CH₂)_mN(R¹³)₂, CH((CH₂)_mO(C=O)R¹⁴)₂ de qualquer um dos acima; em que

m é 1 ou 2;

R¹³ é hidrogénio ou metilo;

R¹⁴ é alquilo(C₁-C₁₈).

11. Ácido (5-fluoro-2-metil-3-quinolin-2-ilmetilindol-1-il)acético ou um seu sal, hidrato, solvato ou complexo farmaceuticamente aceitável.

12. Ácido [5-fluoro-3-(4-metanossulfonilbenzil)-2-metil-indol-1-il)acético ou um seu sal, hidrato, solvato ou complexo farmaceuticamente aceitável.

13. Processo para a preparação de um composto de fórmula geral (I) de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado por compreender a hidrólise de um composto de fórmula geral (II) de acordo com a reivindicação 2 e em que R¹² é alquilo(C₁-C₆).

14. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12 para utilização em medicina.

15. Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, para utilização no tratamento ou prevenção de asma alérgica, rinite alérgica perene, rinite alérgica sazonal, dermatite atópica, hipersensibilidade de contacto (incluindo dermatite de contacto), conjuntivite, especialmente conjuntivite alérgica, bronquite eosinofílica, alergias a alimentos, gastroenterite eosinofílica, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa e doença de Crohn, mastocitose, doenças autoimunes tais como síndrome de hiper IgE e lúpus eritematoso sistémico, psoríase, acne, esclerose múltipla, rejeição de aloenxertos, lesão de reperfusão, doença pulmonar obstrutiva crónica, artrite reumatóide, artrite psoriática e osteoartrite.

16. Utilização de um composto como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 12 na preparação de um agente para o tratamento ou prevenção de asma alérgica, rinite alérgica perene, rinite alérgica sazonal, dermatite atópica, hipersensibilidade de contacto (incluindo dermatite de contacto), conjuntivite, especialmente conjuntivite alérgica, bronquite eosinofílica, alergias a alimentos, gastroenterite eosinofílica, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa e doença de Crohn, mastocitose, doenças autoimunes tais como síndrome de hiper IgE e lúpus eritematoso sistémico, psoríase, acne, esclerose múltipla, rejeição de aloenxertos,

lesão de reperfusão, doença pulmonar obstrutiva crónica, artrite reumatóide, artrite psoriática e osteoartrite.

17. Composição farmacêutica que compreende um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12 juntamente com um excipiente ou veículo farmacêutico.

18. Composição de acordo com a reivindicação 17, formulada para administração oral, nasal, brônquica ou tópica.

19. Composição de acordo com a reivindicação 17 ou reivindicação 18, que contém um ou mais agentes activos adicionais úteis no tratamento de doenças e condições mediadas por PGD₂ no receptor CRTH2.

20. Composição de acordo com a reivindicação 19, na qual os agentes activos adicionais são seleccionados a partir de:

agonistas β 2 tal como salmeterol;
corticosteróides tal como fluticasona;
anti-histamínicos tal como loratadina;
antagonistas do leucotrieno tal como montelucaste;
terapêuticas com anticorpo anti-IgE tal como omalizumab;
anti-infecciosos tal como ácido fusídico (particularmente para o tratamento da dermatite atópica);
anti-fúngicos tais como clotrimazol (particularmente para o tratamento da dermatite atópica);
imunossupressores tal como tacrolímus e, particularmente, pimecrolímus no caso de doença inflamatória da pele;
outros antagonistas da PGD₂ que actuam noutros receptores tais como antagonistas DP;
inibidores da fosfodiesterase tipo 4 tal como cilonilast;
fármacos que modulam a produção de citocina tais como inibidores da enzima de conversão do TNF α (TACE);
fármacos que modulam a actividade de citocinas Th2 IL-4 e IL-5 tais como anticorpos monoclonais de bloqueio e receptores solúveis;
inibidores da 5-lipoxigenase tal como zileuton.

21. Processo para a preparação de uma composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 17

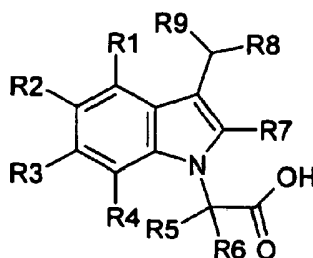
a 20, que compreende proporcionar um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12 em conjunto ou associação com um transportador ou veículo farmacêutica ou veterinariamente aceitável.

22. Produto que compreende um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12 e um ou mais agentes indicados na reivindicação 20 como uma preparação combinada para utilização simultânea, separada ou sequencial, no tratamento ou prevenção de asma alérgica, rinite alérgica perene, rinite alérgica sazonal, dermatite atópica, hipersensibilidade de contacto (incluindo dermatite de contacto), conjuntivite, especialmente conjuntivite alérgica, bronquite eosinofílica, alergias a alimentos, gastroenterite eosinofílica, doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa e doença de Crohn, mastocitose, doenças autoimunes tais como síndrome de hiper IgE e lúpus eritematoso sistémico, psoríase, acne, esclerose múltipla, rejeição de aloenxertos, lesão de reperfusão, doença pulmonar obstrutiva crónica, artrite reumatóide, artrite psoriática e osteoartrite.

23. Utilização de acordo com a reivindicação 16, na qual o agente compreende também um agente activo adicional útil para o tratamento de doenças e condições mediadas por PGD₂ no receptor CRTH2 e/ou DP.

24. Utilização de acordo com a reivindicação 23, na qual o agente activo adicional é um dos agentes indicados na reivindicação 20.

Lisboa, 2009-10-28

RESUMO**"Utilização de compostos antagonistas de CRTH2 em terapêutica"****I**

Os compostos de fórmula geral (I) na qual R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são, independentemente, hidrogénio, halo, alquilo(C_1-C_6), -Oalquilo(C_1-C_6), $-CON(R^{11})_2$, $-SOR^{11}$, $-SO_2R^{11}$, $-SO_2N(R^{11})_2$, $-N(R^{11})_2$, $-NR^{11}COR^{11}$, $-CO_2R^{11}$, $-COR^{11}$, $-SR^{11}$, $-OH$, $-NO_2$ ou $-CN$; cada R^{11} é, independentemente, hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6); R^5 e R^6 são, cada um independentemente, hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6) ou juntamente com o átomo de carbono ao qual estão ligados formam um grupo cicloalquilo(C_3-C_7); R^7 é hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6); R^8 é uma porção aromática opcionalmente substituída por um ou mais substituintes seleccionados a partir de halo, alquilo(C_1-C_6), -Oalquilo(C_1-C_6), $-CON(R^{11})_2$, $-SOR^{11}$, $-SO_2R^{11}$, $-SO_2N(R^{11})_2$, $-N(R^{11})_2$, $-NR^{11}COR^{11}$, $-CO_2R^{11}$, $-COR^{11}$, $-SR^{11}$, $-OH$, $-NO_2$ ou $-CN$; em que R^{11} é como acima definido; R^9 é hidrogénio ou alquilo(C_1-C_6); desde que: R^8 não seja fenilo substituído por $-COOH$; quando quaisquer dois de R^1 , R^2 , R^3 e R^4 são hidrogénio, nenhum dos outros dois de R^1 , R^2 , R^3 e R^4 é alquilo(C_3-C_6); e seus sais, hidratos, solvatos, complexos ou pró-fármacos farmacologicamente aceitáveis são úteis na preparação de medicamentos para o tratamento de doenças alérgicas tais como asma, rinite alérgica e dermatite atópica.