



УКРАЇНА

(19) UA (11) 86040 (13) C2

(51) МПК (2009)

C07D 209/30 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61P 43/00

C07D 403/12 (2006.01)

C07D 401/12 (2006.01)

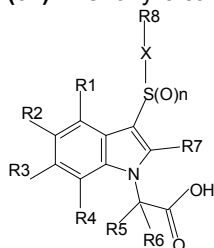
C07D 417/12 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ ІНДОЛУ, ЯКІ МАЮТЬ АКТИВНІСТЬ АНТАГОНІСТІВ РЕЦЕПТОРА CRTN2

1

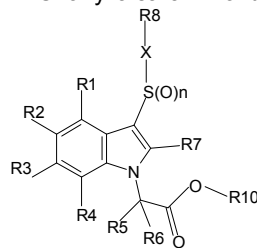
- (21) а200605005
(22) 13.10.2004
(24) 25.03.2009
(86) PCT/GB2004/004336, 13.10.2004
(31) 0324084.3
(32) 14.10.2003
(33) GB
(31) 0400716.7
(32) 14.01.2004
(33) GB
(46) 25.03.2009, Бюл.№ 6, 2009 р.
(72) МІДДЛМІСС ДЕВІД, GB/GB, ЕШТОН МАРК РІЧАРД, GB/GB, БОЙД ЕДВАРД ЕНДРЮ, GB/GB, БРУКФІЛД ФРЕДЕРІК АРТУР, GB/GB, АРМЕР РІЧАРД ЕДВАРД, ПЕТТІФЕР ЕРІК РОЙ, GB/GB
(73) ОКСАДЖЕН ЛІМІТЕД
(56) IMMANUEL F. LUSCHER ET AL.: "Deblocking of o-Nitrophenylsulfenyl-protected peptides by ammonium thiocyanate and (2-methyl-1-indolyl)acetic acid" HELVETICA CHIMICA ACTA., vol. 66, no. 2, 1983, pages 602-605
JOSEFINA GARCIA ET AL.: "A novel synthesis of 3-cyanoindoles and a new route to indole-3-carboxylic acid derivatives" TETRAHEDRON LETTERS., vol. 26, no. 15, 1985, pages 1827-1830
WO 03101961 A, 11.12.2003
WO 03066047 A, 14.08.2003
WO 2004007451 A, 22.01.2004
(57) 1. Сполука загальної формули (I)



де R^1 , R^2 , R^3 і R^4 незалежно означають водень, галоген, C_1 - C_6 алкіл, $-O(C_1$ - C_6 алкіл), $-\text{CON}(R^9)_2$, $-\text{SOR}^9$,

2

- $-\text{SO}_2R^9$, $-\text{SO}_2N(R^9)_2$, $-N(R^9)_2$, $-\text{NR}^9\text{COR}^9$, $-\text{CO}_2R^9$, $-\text{COR}^9$, $-\text{SR}^9$, $-\text{OH}$, $-\text{NO}_2$ або $-\text{CN}$;
кожен з R^9 незалежно означає водень або C_1 - C_6 алкіл;
 R^5 і R^6 кожен незалежно означає водень або C_1 - C_6 алкіл, або разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють C_3 - C_7 циклоалкільну групу;
 R^7 означає водень або C_1 - C_6 алкіл;
п означає 1 або 2;
X означає зв'язок або, коли п означає 2, X може також означати NR^9 групу;
де R^9 має вказані вище значення;
коли X означає зв'язок, R^8 означає C_1 - C_6 алкіл, C_2 - C_6 алкеніл, C_2 - C_6 алкініл, біфеніл або 9-14-членну біциклічну або трициклічну гетероарильну групу;
коли X означає NR^9 групу, R^8 може також бути фенілом, нафтилом або 5-7-членним гетероароматичним кільцем; і
 R^8 група необов'язково заміщена одним або більше замісниками, вибраними з галогену, C_1 - C_6 алкілу, $-O(C_1$ - C_6 алкілу), арилу, $-O$ -арилу, гетероарилу, $-O$ -гетероарилу, $-\text{CON}(R^9)_2$, $-\text{SOR}^9$, $-\text{SO}_2R^9$, $\text{SO}_2N(R^9)_2$, $-N(R^9)_2$, $-\text{NR}^9\text{COR}^9$, $-\text{CO}_2R^9$, $-\text{COR}^9$, $-\text{SR}^9$, $-\text{OH}$, $-\text{NO}_2$ або $-\text{CN}$;
де R^9 має вказані вище значення;
або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват, комплекс або проліки.
2. Сполука загальної формули (II):



де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , n, X, R^7 і R^8 мають значення, вказані для загальної формули (I);

(13) C2

(11) 86040

(19) UA

R^{10} означає C_1 - C_6 алкіл, арил, $(CH_2)_mOC(=O)C_1$ - C_6 алкіл, $(CH_2)_mN(R^{11})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{12})_2$; m означає 1 або 2;

R^{11} означає водень або метил;

R^{12} означає C_1 - C_{18} алкіл.

3. Сполука за п.1 або п.2, де незалежно від будь-якої комбінації:

R^1 означає галоген або водень;

R^2 означає галоген або водень;

R^3 означає галоген або водень;

R^4 означає галоген або водень.

4. Сполука за будь-яким з пп.1-3, де R^1 , R^3 і R^4 означають водень, і R^2 означає галоген.

5. Сполука за п.4, де R^2 означає фтор.

6. Сполука за будь-яким з пп.1-5, де R^5 і R^6 кожен незалежно означає водень або C_1 - C_4 алкіл.

7. Сполука за п.6, де принаймні один з R^5 і R^6 означає водень.

8. Сполука за п.7, де обидва R^5 і R^6 означають водень.

9. Сполука за будь-яким з пп.1-8, де R^7 означає H або C_1 - C_6 алкіл.

10. Сполука за п.9, де R^7 означає метил.

11. Сполука за будь-яким з пп.1-10, де n означає 2.

12. Сполука за будь-яким з пп.1-11, де X означає зв'язок, а R^8 означає C_1 - C_6 алкіл, біфеніл або біциклічну гетероарильну групу, кожна з яких може бути заміщена галогеном, фенілом, $-CO_2R^9$, $CON(R^9)_2$ або $-SO_2R^9$, де R^9 має вказані вище значення.

13. Сполука за п.12, де R^8 означає C_1 - C_4 алкіл, біфеніл, біциклічну гетероарильну групу або 5-7-членний гетероцикл, кожен з яких може бути заміщений фенілом, $-CO_2R^9$, $CON(R^9)_2$ або $-SO_2R^9$, де R^9 означає H або C_1 - C_4 алкіл.

14. Сполука за будь-яким з пп.1-11, де X означає NR^9 , R^9 означає H або метил, і R^8 означає: феніл, необов'язково заміщений одним або більше атомами галогену, C_1 - C_6 алкілом або $-O(C_1$ - C_6 алкільними) групами; C_1 - C_6 алкіл, необов'язково заміщений арилом; або гетероарил.

15. Сполука за п.14, де R^8 означає феніл, бензил або піридил, кожен з яких може бути необов'язково заміщений одним або більше атомами галогену, метилом або метоксигрупами.

16. Сполука, вибрана з групи:

[3-(бутан-1-сульфоніл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

3-(біфеніл-4-сульфоніл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

(3-карбоксиметансульфоніл-5-фтор-2-метиліндол-1-іл)оцтова кислота;

(3-карбамоїлметансульфоніл-5-фтор-2-метиліндол-1-іл)оцтова кислота;

[5-фтор-3-(2-метансульфонілетансульфоніл)-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[3-(бензотіазол-2-сульфоніл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[3-(бензотіазол-2-сульфоніл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[5-фтор-2-метил-3-(хінолін-2-сульфоніл)-індол-1-іл]оцтова кислота;

[5-фтор-2-метил-3-(хінолін-8-ілсульфоніл)-індол-1-іл]оцтова кислота;

(5-фтор-2-метил-3-фенілметансульфоніл-1H-індол-1-іл)оцтова кислота;

[3-(4-хлорфенілсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[3-(3-хлорфенілсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[3-(4-фторфенілсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[3-(2-хлорфенілсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

(3-бензилсульфамойл-5-фтор-2-метиліндол-1-іл)оцтова кислота;

[5-фтор-3-(2-метоксифенілсульфамойл)-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[5-фтор-3-(4-метоксифенілсульфамойл)-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

(5-фтор-2-метил-3-фенілсульфамойліндол-1-іл)оцтова кислота;

[3-(3,4-дихлорбензилсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[5-фтор-3-(3-метоксифенілсульфамойл)-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

(5-фтор-2-метил-3-*m*-толїлсульфамойліндол-1-іл)оцтова кислота;

(5-фтор-2-метил-3-*p*-толїлсульфамойліндол-1-іл)оцтова кислота;

[3-(4-хлорбензилсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[3-(бензилметилсульфамойл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]оцтова кислота;

[5-фтор-2-метил-3-(піридин-3-їлсульфамойл)-індол-1-іл]оцтова кислота;

або C_1 - C_6 алкіл, арил, $(CH_2)_mOC(=O)C_1$ - C_6 алкіл, $(CH_2)_mN(R^{11})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{12})_2$ естери будь-якої з вказаних кислот, де m означає 1 або 2;

R^{11} означає водень або метил;

R^{12} означає C_1 - C_{18} алкіл.

17. Спосіб одержання сполук загальної формули (I) за будь-яким з пп.1-13 або 16, де n означає 1 або 2, і X означає зв'язок, який полягає у тому, що сполуку загальної формули (Ia), а саме сполуку загальної формули (I), де n означає 0 і X означає зв'язок, окиснюють за допомогою придатного окиснювального агента.

18. Спосіб одержання сполук загальної формули (I) за будь-яким з пп.1-16, який полягає у тому, що сполуку загальної формули (II) за п.2, в якій R^{10} означає C_1 - C_6 алкіл, вводять у взаємодію з основою.

19. Сполука за будь-яким з пп.1-16 для медичного застосування.

20. Сполука за будь-яким з пп.1-16 для застосування в терапії алергійної астми, хронічного алергійного риніту, сезонного алергійного риніту, atopічного дерматиту, контактної гіперчутливості (включно з контактним дерматитом), кон'юнктивіту, зокрема алергійного кон'юнктивіту, еозинофільного бронхіту, харчових алергій, еозинофільного гастроентериту, запального захворювання кишечника, неспецифічного виразкового коліту і хвороби Крона, мастоцитозу, інших PGD₂-опосередкованих захворювань, наприклад аутоімунних захворювань, таких як гіпер-IgE-синдром і системний вовчак, псоріаз, акне, розсіяний склероз, відторгнення

алотрансплантата, реперфузійне ураження і хронічне обструктивне захворювання легень; або ревматоїдного артриту, псоріатичного артриту або остеоартриту.

21. Застосування сполук за будь-яким з пп.1-16 для одержання агента для лікування або профілактики алергійної астми, хронічного алергійного риніту, сезонного алергійного риніту, atopічного дерматиту, контактної гіперчутливості (включно з контактним дерматитом), кон'юнктивіту, зокрема алергійного кон'юнктивіту, еозинофільного бронхіту, харчових алергій, еозинофільного гастроентериту, запального захворювання кишечника, неспецифічного виразкового коліту і хвороби Крона, мастоцитозу, інших PGD₂-опосередкованих захворювань, наприклад аутоімунних захворювань, таких як гіпер-IgE-синдром і системний вовчак, псоріаз, акне, розсіяний склероз, відторгнення алотрансплантата, реперфузійне ураження і хронічне обструктивне захворювання легень; або ревматоїдного артриту, псоріатичного артриту або остеоартриту.

22. Фармацевтична композиція, яка містить сполуку за будь-яким з пп.1-16 разом з фармацевтичним наповнювачем або носієм.

23. Композиція за п.22 у вигляді лікарської форми для перорального, ректального, назального, бронхіального (інгаляційним шляхом), місцевого (включно з краплями для очей, букально і під язик), вагінального або парентерального (включно з підшкірним, внутрішньом'язовим, внутрішньовенним і інтрадермальним) призначення.

24. Композиція за п.23 у вигляді лікарської форми для перорального, назального, бронхіального або місцевого призначення.

25. Композиція за будь-яким з пп.22-24, яка містить один або більше додаткових активних агентів, придатних для лікування захворювань і станів, які опосередковуються PGD₂ в CPTH2-рецепторі.

26. Композиція за п.25, де такі додаткові активні агенти вибрані з:

β2 агоністів, таких як сальметерол;

кортикостероїдів, таких як флутиказон; антигістамінів, таких як лоратидин; антагоністів лейкотриєну, таких як монтелукаст; лікарських засобів на основі антитіл проти IgE, таких як омалізумаб; протизапальних засобів, таких як фусидова кислота (зокрема для лікування atopічного дерматиту); протигрибкових засобів, таких як клотримазол (зокрема для лікування atopічного дерматиту); імуносупресантів, таких як такролімус і, зокрема, пімекролімус у випадку запальних захворювань шкіри; інших антагоністів PGD₂, які впливають на інші рецептори, таких як DP-антагоністи; інгібіторів фосфодіестерази типу 4, таких як цилоніласт; засобів, які модулюють продукування цитокіну, таких як інгібітори TNFα і -перетворюючого ензиму (TACE); лікарських засобів, які модулюють активність Th2 цитокінів IL-4 і IL-5, таких як блокуючі моноклональні антитіла і розчинні рецептори; PPAR-γ агоністів, таких як розиглітазон; інгібіторів 5-ліпоксигенази, таких як цилеутон.

27. Спосіб одержання фармацевтичної композиції за будь-яким з пп.22-26, в якому поєднують сполуку за будь-яким з пп.1-16 з фармацевтично або ветеринарно прийнятним носієм.

28. Продукт, який містить сполуку за будь-яким з пп.1-16 і один або більше агентів за п.26 у вигляді комбінованого препарату для одночасного, окремого або послідовного застосування у лікуванні захворювань або станів, які опосередковуються дією PGD₂ в CPTH2-рецепторі.

29. Застосування за п.21, де такий агент також містить додатковий активний агент, який використовується для лікування захворювань і станів, які опосередковуються PGD₂ в CRTH2- і/або DP-рецепторі.

30. Застосування за п.29, де додатковим активним агентом є один із агентів за п.26.

Цей винахід стосується сполук, які використовуються як лікарські засоби, способів одержання таких сполук, композицій, які їх містять, і їх застосування для лікування і профілактики алергійних захворювань, таких як астма, алергійні риніти і атонічні дерматити, а також інших запальних захворювань, які опосередковуються простагландином D₂ (PGD₂), який впливає на рецептор CRTH2 в клітинах, включно з еозинофілами, базофілами і Th2 лімфоцитами.

PGD₂ представляє собою ейкозаноїд, клас хімічних медіаторів, які синтезуються клітинами у відповідь на локальне ураження тканини, у відповідь на нормальні або гормональні стимули, або через канали активації клітин. Ейкозаноїди зв'язуються з поверхнею специфічних клітинних рецепторів у цілому ряді тканин тіла і опосередковують різні ефекти в цих тканинах. Відомо, що PGD₂ виробляється мастоцитами, макрофагами і Th2 лімфоцитами, і був виявлений у великих кількостях у

дихальних шляхах пацієнтів-астматиків, які перебували під дією антигену [Murray та ін, (1986), N. Engl. J. Med. 315: 800-804]. Крапельне призначення PGD₂ в дихальні шляхи може викликати цілий ряд астматичних реакцій, включно з бронхостенозом [Hardy та ін, (1984) N. Engl. J. Med. 311: 209-213; Sampson та ін, (1997) Thorax 52: 513-518], і накопиченням еозинофілів (Emery та ін, (1989) J. Appl. Physiol. 67: 959-962).

Здатність PGD₂, що призначається зовнішньо, викликати запальні реакції була підтверджена шляхом використання трансгенних мишей, які експресували надлишкові кількості людської PGD₂-синтази і які виявляли ознаки перебільшеного еозинофільного запалення легень та вироблення Th2-цитокінів під впливом антигену [Fujitani та ін, (2002) J. Immunol. 168: 443-449].

Першим виявленим специфічним до PGD₂ рецептором був рецептор DP, з яким пов'язують підвищення внутрішньоклітинних рівнів cAMP. Однак,

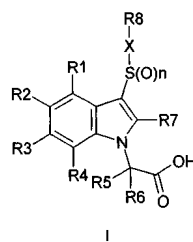
вважається, що PGD₂ опосередковує більшість з його запальних активностей внаслідок взаємодії з рецептором, сполученим з G-протеїном, що називається CRTH2 (молекула, гомологічна з хемоатрактантним рецептором, яка експресується на поверхні клітин Th2) і експресується Th2-лімфоцитами, еозинофілами і базофілами [Hirai та ін, (2001) J. Exp. Med. 193: 255-261, і EP0851030 та EP-A-1211513, а також Bauer та ін, EP-A-1170594]. Схоже, очевидним є те, що вплив PGD₂ на активацію Th2-лімфоцитів і еозинофілів опосередковується CRTH2, оскільки селективні агоністи CRTH2 13,14 дигідро-15-кето-PGD₂ (DK-PGD₂) і 15R-метил-PGD₂ можуть викликати цю реакцію, а ефекти PGD₂ блокуються антитілами проти CRTH2 [Hirai та ін., 2001; Monneret та ін., (2003) J. Pharmacol. Exp. Ther. 304: 349-355]. На противагу цьому, селективний DP-агоніст BW245C не сприяє міграції Th2-лімфоцитів або еозинофілів [Hirai та ін, 2001; Gervais та ін, (2001) J. Allergy Clin. Immunol. 108: 982-988]. Виходячи з цього доказу, антагонізація PGD₂ в CRTH2-рецепторах представляє собою перспективний підхід до лікування алергійних захворювань, залежних від запального компонента Th2, таких як астма, алергійний риніт і atopічний дерматит.

Як випливає з EP-A-1170594, спосіб, якого він стосується, може використовуватись для виявлення сполук, які можуть використовуватись для лікування алергійної астми, atopічного дерматиту, алергійного риніту, аутоімунних захворювань, реперфузійного ураження і ряду запальних станів, кожен з яких опосередковується дією PGD₂ в рецепторі CRTH2.

Сполуки, які зв'язуються з CRTH2, [описані в заявках WO-A-03066046 і WO-A-03066047]. Ці сполуки не є новими, але вперше були описані разом з подібними сполуками [в патентах GB 1356834, GB 1407658 і GB 1460348], відповідно до яких вони мають протизапальну, знеболюючу та антипиретичну активність. [У заявках WO-A-03066046 і WO-A-03066047] зауважується, що сполуки, яких вони стосуються, є модуляторами активності CRTH2-рецептора, а відтак можуть використовуватись для лікування або профілактики обструктивних захворювань дихальних шляхів, таких як астма, хронічне обструктивне захворювання легень (COPD) і ряд інших захворювань, включно з різними захворюваннями кісток і суглобів, шкіри і очей, шлунково-кишкового тракту, центральної і периферійної нервової системи та інших тканин, а також відторгнення аlogenного трансплантата. Сполуки, описані в цих документах, представляють собою індоли з групою карбоксильної кислоти у положенні 3 кільцевої системи індолу, хінолін, хіназолін або бензотіазольну групу у положенні 1.

Цей винахід стосується нових сполук, які зв'язуються з CRTH2 і які, відповідно, можуть використовуватись для лікування захворювань і станів, які опосередковуються активністю PGD₂ в рецепторі CRTH2.

Винахід стосується сполуки загальної формули (I)



де

R¹, R², R³ і R⁴ незалежно означають водень, галоген, C₁-C₆ алкіл, -O(C₁-C₆ алкіл), -CON(R⁹)₂, -SOR⁹, -SO₂R⁹, -SO₂N(R⁹)₂, -N(R⁹)₂, -NR⁹COR⁹, -CO₂R⁹, -COR⁹, -SR⁹, -OH, -NO₂ або -CN;

кожен з R⁹ незалежно означає водень або C₁-C₆ алкіл;

R⁵ і R⁶ кожен незалежно означає водень або C₁-C₆ алкіл, або разом з атомом вуглецю, до якого вони приєднані, утворюють C₃-C₇ циклоалкілну групу;

R⁷ означає водень або C₁-C₆ алкіл

n означає 1 або 2;

X означає зв'язок або, коли n означає 2, X може також означати NR⁹ групу;

де R⁹ має вказані вище значення;

коли X означає зв'язок, R⁸ означає C₁-C₆ алкіл, C₂-C₆ алкеніл, C₂-C₆ алкініл, біфеніл або 9-14-членну біциклічну або трициклічну гетероарильну групу;

коли X означає NR⁹ групу, R⁸ може також бути фенілом, нафтилом або 5-7-членним гетероароматичним кільцем; і

R⁸ група необов'язково заміщена одним або більше замісниками, вибраними з галогену, C₁-C₆ алкілу, -O(C₁-C₆)алкілу, арилу, -O-арилу, гетероарилу, -O-гетероарилу, -CON(R⁹)₂, -SOR⁹, -SO₂R⁹, SO₂N(R⁹)₂, -N(R⁹)₂, -NR⁹COR⁹, -CO₂R⁹, -COR⁹, -SR⁹, -OH, -NO₂ або -CN;

де R⁹ має вказані вище значення;

або її фармацевтично прийнятна сіль, гідрат, сольват, комплекс або проліки.

Сполуки загальної формули (I) є антагоністами PGD₂ в рецепторі CRTH2, а відтак можуть використовуватись для лікування станів, які опосередковуються зв'язуванням PGD₂ з CRTH2. Ці стани включають алергійні захворювання, астматичні стани і запальні захворювання, приклади яких включають алергічну астму, хронічний алергійний риніт, сезонний алергійний риніт, atopічний дерматит, контактну гіперчутливість (включно з контактним дерматитом), кон'юктивіт, зокрема алергійний кон'юктивіт, еозинофільний бронхіт, харчові алергії, еозинофільний гастроентерит, запальне захворювання кишечника, неспецифічний виразковий коліт і хворобу Крона, мастоцитоз і також інші PGD₂-опосередковані захворювання, наприклад аутоімунні захворювання, такі як гіпер-IgE-синдром і системна вовчанка, псоріаз, акне, розсіяний склероз, відторгнення алотрансплантата, реперфузійне ураження, хронічне обструктивне захворювання легень, а також ревматоїдний артрит, псоріатичний артрит і остеоартрит.

Подібні, проте не ідентичні, сполуки [описані в WO-A-9950268]. Ці сполуки відрізняються від сполук згідно з винаходом тим, що вони не містять частину сульфону/сульфонамід, приєднану до

індольного кінця у положенні 3. Крім того, у цій заявці не говориться про те, що вони можуть використовуватись для лікування станів, таких як астма і алергійні стани, які опосередковуються PGD₂. Натомість, мова йде про те, що вони використовуються для лікування ускладнень, що виникають внаслідок цукрового ідіопатичного діабету.

PL 65781 і JP 43-24418 також стосуються похідних індолу. Однак, сполуки, описані в обох цих документах, відрізняються від сполук цього винаходу тим, що вони представляють собою індол N-сульфонаміди, а не 3-сульфони або 3-сульфонаміди, як сполуки згідно з цим винаходом. [Сполуки, описані в PL 65781 і JP 43-24418], подібні своєю структурою до індометацину і, подібно до індометацину, вважаються такими, що мають протизапальну і антипіретичну активність. Таким чином, хоча на той час, коли були опубліковані ці документи, це могло бути невідомим, сполуки, описані в цих документах, є COX-інгібіторами, активність яких досить відрізняється від активності сполук згідно з винаходом. Натомість, COX-інгібітори протипоказані для лікування ряду захворювань і станів, наприклад астми і запального захворювання кишечника, для яких використовуються сполуки згідно з цим винаходом, хоча іноді вони можуть використовуватись для лікування артритів.

[Сполуки, які зв'язуються з рецептором CRTH2, описані в заявках WO-A-03/097042 і WO-A-03/097598]. Ці сполуки представляють собою індолоцтові кислоти, але у [сполуках згідно з WO-A-03/097042] індольна система у положеннях 2-3 злита з 5-7-членним карбоциклічним кільцем. [У сполуках відповідно до WO-A-03/097598] в індолі у положенні 3 присутня піролідинова група.

[Обидві заявки WO-A-03/101981 і WO-A-03/101961] стосуються CPTH2-антагоністів. [Сполуки, описані в WO-A-03/101961], подібні своєю структурою до сполук згідно з цим винаходом, де X означає зв'язок. Вони відрізняються від сполук загальної формули (I), тому що в них присутня -S-група, сполучена з індолом в положенні 3, замість SO або SO₂ групи в сполуках загальної формули (I). Крім того, групою, еквівалентною R⁸ групі в сполуках загальної формули (I), є арильна або гетероарильна група. Такі сполуки не містять аліфатичних замісників у цьому положенні, як це має місце у сполуках загальної формули (I). Несподівано було виявлено, що хоча ці сполуки мають високу власну активність, вони є менш придатними для застосування у вигляді лікарських засобів, порівняно зі сполуками згідно з цим винаходом. Це пояснюється тим, що деякі [сполуки, описані в WO-A-03/101961], є інгібіторами цитохрому P_{450s}, і це має вплив на метаболізм будь-якого фармакологічного агента, який може призначатися разом з цими сполуками. На противагу цьому, автори цього винаходу несподівано довели, що сполуки згідно з винаходом не інгібують цитохром P_{450s}. Крім того, наші попередні експерименти щодо зв'язування показали, що сульфідні [сполуки, описані в WO-A-03/101961], зв'язуються з людськими еозिनатофілами з низьким ступенем дисоціації, що може призвести до непередбачуваної тривалості дії.

[WO-A-03/10981] стосується сполук, які мають структуру, подібну до сполук згідно з винаходом, за винятком того, що замісник у положенні 3 індольної кільцевої системи представляє собою фенільну, нафтильну або гетероарильну групу без лінкерів SO, SO₂ або SO₂NR⁹, як це має місце у сполуках загальної формули (I). Очевидно, що включення зшиваючої групи повинно мати суттєвий вплив на активність сполуки. Крім того, замісник у положенні 3 індолу не може бути аліфатичною групою, як у випадку даного винаходу.

[WO-A-2004/007451] стосується CRTH2-iHgiToriB, подібних своєю структурою до сполук згідно з винаходом, в яких X означає зв'язок, за винятком того, що групою, еквівалентною R⁸ групі сполук загальної формули (I), є феніл, нафтил або 5-7-членна гетероароматична група. Насправді, всі проілюстровані сполуки мають заміщену фенільну групу у цьому положенні. Це, очевидно, відрізняється від сполук згідно з винаходом, де R⁸ групи є або біциклічними, або трициклічними гетероароматичними кільцями або алкільною, алкенільною або алкінільною групою. Особливо несподівано було виявлено, що солуки, які містять алкільну, алкенільну і алкінільну групи, мають таку активність саме внаслідок відмінності їх структури від структури відомих сполук.

У контексті цього винаходу "C₁-C₆ алкіл" означає нерозгалужений або розгалужений насичений вуглеводневий ланцюг з від одного до шести атомами вуглецю і необов'язково заміщений одним або більше галогенними замісниками або однією чи більше C₃-C₇ циклоалкільними групами. Приклади таких груп включають метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, трет-бутил, н-гексил, трифторметил, 2-хлоретил, метиленциклопропіл, метиленциклобутил, метиленциклобутил і метиленциклопентил.

"C₁-C₄ алкіл" і "C₁-C₁₈ алкіл" мають подібні значення, за винятком того, що вони містять від одного до чотирьох і, відповідно, від одного до вісімнадцяти атомів вуглецю.

C₃-C₇ циклоалкіл означає насичений 3-7-членний карбоцикл. Приклади таких груп включають циклопропіл, циклобутил, циклопентил і циклогексил.

Терміни "C₂-C₆ алкеніл" і "C₂-C₆ алкініл" означають нерозгалужені або розгалужені вуглеводневі ланцюги з від двох до шести атомами вуглецю і які, відповідно, містять принаймні один подвійний зв'язок вуглець-вуглець або принаймні один потрійний зв'язок вуглець-вуглець. Як і у випадку з алкільними групами, вони можуть бути необов'язково заміщеними одним або більше галогенними замісниками або однією або більше C₃-C₇ циклоалкільними групами.

В контексті цього винаходу "галоген" означає фтор, хлор, бром або йод.

Терміни "ароматична частина" і "арил" у контексті цього опису означають кільцеву ароматичну систему, яка містить від 5 до 14 кільцевих атомів вуглецю і має до трьох кілець. Приклади ароматичних частин включають бензол і нафталін. Арильні групи можуть бути заміщені одним або більше замісниками, вибраними з галогену, C₁-C₆ алкілу, C₁-

C₆ алкокси, 5-7-членного гетероциклічного кільця або SO₂R⁹, де R⁹ має вказані вище значення.

Терміни "гетероароматична частина" і "гетероарил" означають ароматичну кільцеву систему, в якій принаймні один із атомів вуглецю кільця заміщений атомом азоту, кисню або сірки. Приклади включають систему з одного кільця, таку як піридин, піримідин, піразол, тіофен, оксазол і ізоксазол. Інші приклади включають злиті кільцеві системи, а саме такі групи, як хінолін, ізохінолін, хіназолін, бензтіазол, бензоксазол, бензімідазол і індол.

Якщо не буде зазначено інакше, гетероароматична частина має від 5 до 14 кільцевих атомів вуглецю, але, наприклад, "5-7-членне гетероароматичне кільце" містить від 5 до 7 кільцевих атомів. Біциклічні і трициклічні гетероарильні групи відповідно містять два або три злитих кільця. Біциклічні гетероарильні групи можуть, наприклад, представляти собою 6,6- або 6-5-кільцеві системи, такі як перелічені вище.

Так само, як у випадку з арильними групами, гетероарильні групи також можуть бути заміщені одним або більше замісниками, вибраними з галогену, C₁-C₆ алкілу, C₁-C₆ алкокси, 5-7-членного гетероциклічного кільця або SO₂R⁹, де R⁹ має вказані вище значення.

Термін "5-7-членне гетероциклічне кільце" означає неароматичну кільцеву систему, яка має від 5 до 7 кільцевих атомів, і в якій принаймні один кільцевий атом вуглецю заміщений атомом азоту, кисню або сірки. Приклади включають піперидин, морфолін, імідазолін, піперазин і тетрагідрофуран.

Придатні фармацевтично прийнятні і придатні для ветеринарного використання солі сполук загальних формул (I) і (II) включають солі приєднання основ, такі як солі натрію, калію, кальцію, алюмінію, цинку, магнію та інших металів, а також холін, діетаноламін, етаноламін, етилдіамін та інші добре відомі солі приєднання основ.

Принагідно фармацевтично або ветеринарно прийнятні солі також можуть включати солі органічних кислот, зокрема карбонових кислот, включно з, але необмежуючись цим переліком, ацетатом, трифторацетатом, лактатом, глюконатом, цитратом, тартратом, малеатом, малатом, пантотенатом, адипатом, альгінатом, аспартатом, бензоатом, бутиратом, диглюконатом, циклопентанатом, глюкогептанатом, гліцерофосфатом, оксалатом, гептаноатом, гексаноатом, фумаратом, нікотинатом, памоатом, пектинатом, 3-фенілпропіонатом, пікратом, півалатом, пропіонатом, тартратом, лактобіонатом, півалатом, камфоратом, ундеканатом і сукцинатом, органічних сульфонових кислот, такі як метансульфонат, етансульфонат, 2-гідроксietансульфонат, камформульфонат, 2-нафталінсульфонат, бензолсульфонат, р-хлорбензолсульфонат і п-толуолсульфонат; а також неорганічних кислот, такі як гідрохлорид, гідробромід, гідройодид, сульфат, бісульфат, гемісульфат, тіоціанат, персульфат, солі фосфорної і сульфенової кислот.

Солі, які не є фармацевтично або ветеринарно прийнятними, можуть, тим не менше, використовуватись як важливі проміжні продукти.

Проліками є будь-які ковалентно зв'язані сполуки, які вивільняють активну материнську лікарську речовину загальної формули (I) *in vivo*. Приклади проліків включають алкілові естери сполук загальної формули (I), наприклад естери загальної формули (II), наведеної далі.

Якщо у сполуці згідно з винаходом присутній хіральний центр або ізомерний центр іншої форми, всі форми такого ізомера або ізомерів, включно з енантіомерами і діастереоізомерами, входять в об'єм правової охорони цього винаходу. Сполуки згідно з винаходом, які мають хіральний центр, можуть використовуватись у вигляді рацемічної суміші, збагаченої енантіомерами суміші, або ж така рацемічна суміш може бути розділена з допомогою відомих методик, і енантіомери можуть використовуватись окремо.

В сполуках загальної формули (I) переважно незалежно від будь-якої комбінації:

R¹ означає галоген або водень;

R² означає галоген або водень;

R³ означає галоген або водень;

R⁴ означає галоген або водень.

У більш переважних сполуках R¹, R³ і R⁴ означають водень, тоді як R² означає галоген, зокрема фтор.

У переважних сполуках загальної формули (I), R⁵ і R⁶ кожен незалежно означає водень або C₁-C₄ алкіл. Однак, у сполуках з більшою активністю принаймні один і переважно обидва R⁵ і R⁶ означають водень.

Сполуки загальної формули (I) переважно мають R⁷ групу, вибрану з H або C₁-C₆ алкілу; більш переважно R⁷ означає метил.

В особливо переважних сполуках загальної формули (I) n означає 2.

Коли X означає зв'язок, переважно R⁸ означає C₁-C₆ алкіл, біфеніл або біциклічну гетероарильну групу, кожна з яких може бути заміщена галогеном, фенілом, -CO₂R⁹ CON(R⁹)₂ або -SO₂R⁹, де R⁹ має вказані вище значення.

Більш переважні сполуки, в яких X означає зв'язок, включають сполуки, в яких R⁸ означає C₁-C₄ алкіл, біфеніл або біциклічну гетероарильну групу, кожна з яких може бути заміщена фенілом, -CO₂R⁹ CON(R⁹)₂ або -SO₂R⁹, де R⁹ означає H або C₁-C₄ алкіл.

Коли X означає NR⁹, переважно R⁹ означає H або метил і R⁸ означає: феніл, необов'язково заміщений одним або більше атомом галогену, C₁-C₆ алкілом або -O(C₁-C₆ алкільними) групами;

C₁-C₆ алкіл, необов'язково заміщений арилом; або гетероарил.

Більш переважні, коли X означає NR⁹, R⁸ означає феніл, бензил або піридил, кожен з яких може бути необов'язково заміщений одним або більше атомом галогену, метилом або метоксигрупами.

Найбільш переважні сполуки включають:

1. [3-(Бутан-1-сульфоніл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]-оцтова кислота

2. 3-(Біфеніл-4-сульфоніл)-5-фтор-2-метиліндол-1-іл]-оцтова кислота

3. (3-Карбоксиметансульфоніл-5-фтор-2-метиліндол-1-іл)-оцтова кислота

4. (3-Карбамоїлметансульфоніл-5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтова кислота

5. [5-Фтор-3-(2-метансульфоніл-етансульфоніл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

6. [3-(Бензотіазол-2-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

7. [3-(Бензотіазол-2-сульфініл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

8. [5-Фтор-2-метил-3-(хінолін-2-сульфоніл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

9. [5-Фтор-2-метил-3-(хінолін-8-ілсульфоніл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

10. (5-Фтор-2-метил-3-фенілметансульфоніл-1-Н-індол-1-іл)-оцтова кислота

11. [3-(4-Хлор-фенілсульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

12. [3-(3-Хлор-фенілсульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

13. [3-(4-Фтор-фенілсульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

14. [3-(2-Хлор-фенілсульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

15. (3-Бензилсульфамоїл-5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтова кислота

16. [5-Фтор-3-(2-метокси-фенілсульфамоїл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

17. [5-Фтор-3-(4-метокси-фенілсульфамоїл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

18. (5-Фтор-2-метил-3-фенілсульфамоїл-індол-1-іл)-оцтова кислота

19. [3-(3,4-Дихлор-бензилсульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

20. [5-Фтор-3-(3-метокси-фенілсульфамоїл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

21. (5-Фтор-2-метил-3-т-толїлсульфамоїл-індол-1-іл)-оцтова кислота

22. (5-Фтор-2-метил-3-р-толїлсульфамоїл-індол-1-іл)-оцтова кислота

23. [3-(4-Хлор-бензилсульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

24. [3-(Бензил-метил-сульфамоїл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

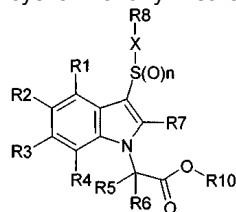
25. [5-Фтор-2-метил-3-(піридин-3-ілсульфамоїл)-індол-1-іл]-оцтова кислота; або C_1-C_6 алкілові, арилові, $(CH_2)_mOC(=O)C_1-C_6$ алкілові, $(CH_2)_mN(R^{11})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{12})_2$ естери будь-якої з вказаних кислот; де

m означає 1 або 2;

R^{11} означає водень або метил;

R^{12} означає C_1-C_{18} алкіл.

Відповідно до ще одного аспекту винахід стосується сполуки загальної формули (II):



де $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, n, X, R^7$ і R^8 мають значення, вказані для загальної формули (I); R^{10} означає C_1-C_6 алкіл, арил, $(CH_2)_mOC(=O)C_1-C_6$ алкіл, $(CH_2)_mN(R^{11})_2$, $CH((CH_2)_mO(C=O)R^{12})_2$;

m означає 1 або 2;

R^{11} означає водень або метил;

R^{12} означає C_1-C_{18} алкіл.

Сполуки загальної формули (II) є новими і можуть використовуватись як проліки для сполук загальної формули (I). Коли сполука загальної формули (II) виступає в ролі проліків, вона після цього перетворюється у лікарську речовину під дією естерази у крові або у тканині пацієнта.

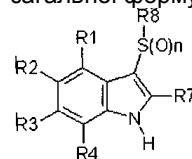
Приклади особливо придатних R^{10} груп для сполуки загальної формули (II), яка використовується як проліки, включають:

метил, етил, пропіл, феніл, $CH_2OC(=O)tBu$, $CH_2CH_2N(Me)_2$, $CH_2CH_2NH_2$ або $CH(CH_2O(C=O)R^{12})_2$, де R^{12} має вказані вище значення.

Сполуки загальної формули (I), де $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7$ і R^8 мають значення, вказані для загальної формули (I), і X означає зв'язок, можуть бути одержані із сполук загальної формули (Ia), а саме сполуки загальної формули (I), в якій p означає 0 і X означає зв'язок, окисненням з допомогою придатного окиснювального агента, такого як пероксимоносульфат калію, m -CPBA, пероксид водню або інші добре відомі окиснювальні реагенти.

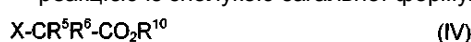
Окрім їх використання в якості проліків, сполуки формули (II), де R^{10} означає C_1-C_6 алкіл, можуть використовуватись у способі одержання сполуки загальної формули (I), який полягає у введенні у взаємодію сполуки загальної формули (II) з основою, такою як гідроксид натрію або гідроксид літію. Реакція може відбуватись у водному розчиннику або в органічному розчиннику чи їх суміші. Типовий розчинник, який використовується для цієї реакції, представляє собою суміш тетрагідрофурану і води. Цей самий спосіб може використовуватись для одержання сполук загальної формули (Ia) як вказано вище із сполук загальної формули (IIa), які є ідентичними із сполуками загальної формули (II), за винятком того, що p означає 0.

Сполуки загальної формули (II) і (IIa), в яких X означає зв'язок, можуть бути одержані із сполук загальної формули (III):



де R^1, R^2, R^3, R^4, R^7 і R^8 мають значення, вказані для загальної формули (I), і p означає 0, 1 або 2;

реакцією із сполукою загальної формули (IV):

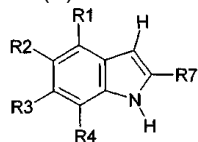


де R^5 і R^6 мають значення, вказані для загальної формули (I), R^{10} має значення, вказані для формули (II), і X означає відщеплювану групу, зокрема гало-групу, наприклад бром.

Реакцію проводять у сильно виражених основних умовах, наприклад у присутності надлишкової кількості гідриду натрію, і в полярному органічному розчиннику, такому як диметилформамід.

Сполуки загальної формули (IV) добре відомі і є легкодоступними або можуть бути одержані з допомогою методик, відомих фахівцям у цій галузі.

Сполуки загальної формули (III), де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^7 і R^8 мають значення, вказані для загальної формули (I), і p означає 2, можуть бути одержані введенням у взаємодію сполуки загальної формули (V):



де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 і R^7 мають значення, вказані для загальної формули (I); із сполукою загальної формули (VI):

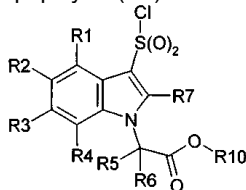


де R^8 має значення, вказані для загальної формули (I).

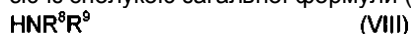
Реакцію проводять у присутності кислоти Льюїса, такої як бромід індію (III). Реакція може проводитись в полярному органічному розчиннику, зокрема в хлорованому розчиннику, такому як 1,2-дихлоретан.

Сполуки загальних формул (V) і (VI) добре відомі у цій галузі і є легкодоступними або можуть бути одержані з допомогою відомих методик.

Сполуки загальної формули (II), в яких X означає NR^9 , можуть бути одержані із сполук загальної формули (VII):



де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 і R^7 мають значення, вказані для загальної формули (I) і R^{10} має значення, вказані для загальної формули (II), реакцією із сполукою загальної формули (VIII):

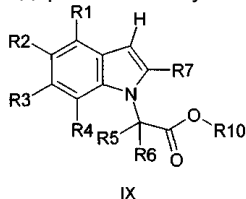


де R^8 і R^9 має вказані вище значення для загальної формули (I).

Розчинник, що використовується для такої реакції, може бути полярним органічним розчинником, таким як дихлорметан.

Сполуки загальних формул (VIII) добре відомі і є легкодоступними або можуть бути одержані з допомогою методик, добре відомих фахівцям у цій галузі.

Сполуки загальної формули (VII) можуть бути одержані із сполук загальної формули (IX)



IX

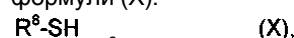
де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 і R^7 мають значення, вказані для загальної формули (I), і R^{10} має значення, вказані для формули (II);

реакцією з хлорсульфоновою кислотою.

Реакція переважно відбувається в неполярному органічному розчиннику.

Сполуки загальної формули (IX) добре відомі і є легкодоступними або можуть бути одержані з допомогою методик, добре відомих фахівцям у цій галузі.

Сполуки загальної формули (III), де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^7 і R^8 мають значення, вказані для загальної формули (I), і p означає 0, можуть бути одержані введенням у взаємодію сполуки загальної формули (IX), де R^1 , R^2 , R^3 , R^4 і R^7 мають значення, вказані для загальної формули (I) і R^{10} має значення, вказані для формули (II), із сполукою загальної формули (X):



де R^8 має значення, вказані для загальної формули (I).

Реакцію проводять у присутності йоду і йодиду калію. Реакція може відбуватися у водному або органічному розчиннику, або в їх суміші. Типовим розчинником для цієї реакції є суміш, така як суміш етанолу і води.

Сполуки загальної формули (I) є антагоністами PGD_2 в $CRTH2$ -рецепторі, а сполуки загальної формули (II) є проліками для сполук загальної формули (I). Сполуки загальних формул (I) і (II), відтак, використовуються у способі лікування захворювань і станів, які опосередковуються PGD_2 в $CRTH2$ -рецепторі, який полягає у призначенні пацієнту, який потребує такого лікування, необхідної кількості сполуки загальної формули (I) або (II).

Відповідно до третього аспекту винахід стосується сполуки загальної формули (I) або (II) для медичного застосування, зокрема для застосування в лікуванні або профілактиці захворювань і станів, які опосередковуються PGD_2 в $CRTH2$ -рецепторі.

Більше того, винахід також стосується застосування сполук загальної формули (I) або (II) для одержання агента для лікування або профілактики захворювань і станів, які опосередковуються PGD_2 в $CRTH2$ -рецепторі.

Як зазначалося вище, такі захворювання і стани включають алергійну астму, хронічний алергійний риніт, сезонний алергійний риніт, атопічний дерматит, контактну гіперчутливість (включно з контактним дерматитом), кон'юнктивіт, зокрема алергійний кон'юнктивіт, еозинофільний бронхіт, харчові алергії, еозинофільний гастроентерит, запальне захворювання кишечника, неспецифічний виразковий коліт і хворобу Крона, мастоцитоз, а також інші PCO_2 -опосередковані захворювання, наприклад аутоімунні захворювання, такі як гіпер-IgE-синдром і системна вовчанка, псоріаз, акне, розсіяний склероз, відторгнення алотранспланта, реперфузійне ураження, хронічне обструктивне захворювання легень, а також ревматоїдний артрит, псоріатичний артрит і остеоартрит.

Сполуки загальної формули (I) або (II) мають включатися до складу готових лікарських форм у

ся такі сполуки, можуть бути легко визначені фахівцем у цій галузі шляхом співставлення рівнів цього агента у крові із концентрацією, необхідною для забезпечення терапевтичного ефекту.

Сполуки загальної формули (I) або (II) можуть використовуватись у поєднанні з одним або більше активними агентами, які застосовуються для лікування і профілактики захворювань і станів, перелічених вище, хоча такі активні агенти необов'язково є інгібіторами PGD₂ в CPTH2-рецепторі.

Відповідно, вищеписана фармацевтична композиція може додатково містити один або більше активні агенти.

Також винахід стосується застосування сполук загальної формули (I) або (II) для одержання агента для лікування захворювань і станів, які опосередковуються PGD₂ в CPTH2-рецепторі, де такий агент також містить додатковий активний агент, який використовується для лікування тих самих захворювань і станів.

Такі додаткові активні агенти, які можуть мати цілком відмінний механізм дії, включають відомі лікарські засоби для лікування алергійних та інших запальних захворювань:

β2 агоністи, такі як сальметерол;
кортикостероїди, такі як флутиказон;
антигістаміни, такі як лоратадин;
антагоністи лейкотрієну, такі як монтелукаст;
лікарські засоби на основі антитіл проти IgE, такі як омалізумаб;

протизапальні засоби, такі як фусидова кислота (зокрема для лікування atopічного дерматиту);
протигрибкові засоби, такі як клотримазол (зокрема для лікування atopічного дерматиту);
імуносупресанти, такі як такролімус і, зокрема, пімекролімус у випадку запальних захворювань шкіри.

Антагоністи CPTH2 також можуть поєднуватись з лікарськими засобами, призначеними для лікування запальних захворювань, таких як:

інші антагоністи PGD₂, які впливають на інші рецептори, такі як DP антагоністи;

інгібітори фосфодіестерази типу 4, такі як цилоніласт;

засоби, які модулюють продукування цитокіну, такі як інгібітори TNF -перетворюючого ензиму (TACE);

лікарські засоби, які модулюють активність Tn2 цитокінів IL-4 і IL-5, такі як блокуючі моноклональні антитіла і розчинні рецептори;

PPAR-агоністи, такі як розиглітазон;

інгібітори 5-ліпоксигенази, такі як цилеутон.

Відповідно до ще одного аспекту винахід стосується продукту, який містить сполуку загальної формули (I) або (II) і один або більше вищевказані агенти у вигляді комбінованого препарату для одночасного, окремого або послідовного застосування у лікуванні захворювань або станів, які опосередковуються дією PGD₂ в CPTH2-рецепторі.

Далі винахід більш детально описується з посиланням на приклад і креслення, які не мають обмежуючого характеру, в яких:

На Фігурі 1 показано вплив агоністів CPTH2 на мобілізацію кальцію в клітинах CHO/CPTH2.

Приклад 1 - Синтез похідних 3-Сульфоніліндолу (Метод А)

1. Синтез 3-(Бутан-1-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-1H-індолу

Бромід індію (III) (94.7мг, 0.267ммоль) додавали однією порцією до перемішаного розчину 5-фтор-2-метиліндолу (50мг, 0.34ммоль) і бутансульфонілхлориду (418мг, 2.67ммоль) в 1,2-дихлоретані (2 мл) при кімнатній температурі. Суміш витримували у мікрохвильовій печі (85°C, 150Wат) протягом 45 хвилин, охолоджували до кімнатної температури і після цього концентрували in vacuo до одержання залишка коричневого кольору. В результаті очищення колонковою флеш-хроматографією на силікагелі з використанням в якості елюента 10% суміші етилацетат:гексан із 100% етилацетатом отримували вказаний сульффон (55мг, 15%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини.

2. Синтез [3-(Бутан-1-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтової кислоти (Сполука 1)

До перемішаної суспензії гідриду натрію (11мг, 0.29ммоль; 60% в мінеральному маслі) в ДМФ (1мл) по краплях протягом 1 хвилини при 0°C додавали розчин 3-(Бутан-1-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-1H-індолу (55мг, 0.204ммоль) в ДМФ (1мл). Розчин перемішували при 0°C протягом 45 хвилин, і після цього додавали по краплях етилбромацетат (0.032мл, 0.29ммоль), і отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. РН суміші встановлювали на рівні 4 з допомогою 10% лимонної кислоти і після цього екстрагували в етилацетаті (2×10мл). Об'єднані органічні екстракти сушили і концентрували in vacuo до одержання залишка. Залишок знімали в ТГФ (1мл), і після цього однією порцією додавали розчин моногідрату гідроксиду літію (19мг, 0.464ммоль) у воді (1мл) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин, і після цього рН розчину встановлювали на рівні 4 з допомогою 10% лимонної кислоти. Продукт екстрагували етилацетатом, і об'єднані органічні екстракти сушили і концентрували in vacuo до одержання залишка, який розмелювали з діетиловим ефіром з одержанням карбонової кислоти у вигляді не зовсім білої твердої речовини (5.4мг, 8%),

δ_H (400МГц, MeOD) 7.57 (1H, дд J 9.8, 2.3Гц, Ar), 7.43 (1H, дд J 9.1, 4.0Гц, Ar), 7.04 (1H, тд J 9.1, 2.5Гц, Ar), 4.79 (2H, с, CH₂CO₂H), 3.23-3.19 (2H SO₂CH₂), 2.70 (3H, с, CCH₃), 1.77-1.70 (2H, м, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.47-1.41 (2H, м, CH₂CH₂CH₂CH₃), 0.93 (3H, т J 7.6Гц, CH₂CH₂CH₂CH₃); Tr = 1.38 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 308.24. Tr = 1.82 min (98%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 328.20.

Сполука 2 одержувалась з використанням тієї ж самої методики, що і для Сполуки 1, але з відповідним чином підібраними вихідними матеріалами.

Сполука 2 - 3-(Біфеніл-4-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, MeOD) 8.03 (2H, д, J 8.6Гц Ar), 7.80 (2H, д, J 8.6Гц, Ar), 7.77-7.74 (1H, дд, J 9.6, 2.5Гц, Ar), 7.66-7.64 (2H, дд, J 8.0, 1.3Гц, Ar), 7.49-7.39 (4H, м, Ar), 7.07 (1H, тд, J 9.1, 2.5Гц, Ar), 5.07

(2H, c, CH₂), 2.76 (3H, c, CH₃); T_g = 1.52 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 424.1.

Приклад 2 - Синтез похідних 3-Сульфоніліндолу (Метод В)

1. 2-Метилсульфаніл-етантіол

Розчин метил йодиду (10мл, 22.82г, 0.161моль) в ацетоні (50мл) додавали по краплях до перемішуваної суспензії етандитіолу (11.24мл, 12.62г, 0.134моль) і карбонату калію (37.04г, 0.268моль) в ацетоні (150мл). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Додавали воду (150 мл), і суміш перемішували протягом додаткових 15 хвилин. Реакційну суміш екстрагували дихлорметаном (3×200мл), органічні рідини об'єднували, сушили над сульфатом натрію і випаровували (підтримуючи тиск вище 200мбар для запобігання паралельному випаровуванню продукту) з одержанням 2-метилсульфаніл-етантіолу. Дані РХ/МС показали <5% вихідного матеріалу і суміш у співвідношенні 2:1 моно і біс-метильованого матеріалу. Отриманий матеріал використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

2. Етиловий естер [5-Фтор-2-метил-3-(2-метилсульфаніл-етилсульфаніл)-індол-1-іл]-оцтової кислоти

До перемішуваного розчину етилового естера (5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтової кислоти (1.20г, 5.10ммоль) і 2-метилсульфаніл-етантіолу (1.04г, 6.12ммоль) в 1:1 EtOH:H₂O (40мл) при кімнатній температурі додавали йод (1.29г, 5.10ммоль) і йодид калію (0.847г, 5.10ммоль). Суміш нагрівали до 100°C і перемішували протягом 2 годин, після цього перемішували при кімнатній температурі протягом 16 годин. Реакційну суміш гасили обережним додаванням насиченого NaHCO_{3(aq)}, після цього екстрагували ДХМ (2×50мл). Органічні рідини об'єднували, промивали насиченим тіосульфатом натрію (2×70мл), сушили над сульфатом магнію і випаровували з одержанням масла. Неочищене масло очищували хроматографією (3×12см колонка; 4:1 гексан:EtOAc в якості елюента) з одержанням вказаного естера (1.17г, 67%).

δ_H (400МГц, CDCl₃) 7.36 (1H, дд J 9.2, 2.5Гц, Ar), 7.11 (1H, дд J 8.8, 4.1Гц, Ar), 7.05 (1H, тд J 9.2, 2.3Гц, Ar), 4.79 (2H, c, CH₂CO₂Et), 4.21 (2H, кв J 7.2Гц, CO₂CH₂CH₃), 2.86-2.79 (2H, м, CH₂CH₂), 2.59-2.55 (2H, м, CH₂CH₂), 2.50 (3H, c, SCH₃), 2.04 (3H, c, CCH₃), 1.25 (3H, т J 7.2Гц, CO₂CH₂CH₃).

3. Етиловий естер [5-Фтор-3-(2-метансульфоніл-етансульфоніл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтової кислоти

До перемішуваного розчину етилового естера [5-фтор-2-метил-3-(2-метилсульфаніл-етилсульфаніл)-індол-1-іл]-оцтової кислоти (1.17г, 3.43ммоль) в 4:1 1,4-діоксан:H₂O при кімнатній температурі додавали оксон (8.43г, 13.7ммоль). Через 30 хвилин реакційну суміш гасили обережним додаванням насиченого бікарбонату натрію (50мл; обережно -інтенсивне пінення), після цього екстрагували ДХМ (2×100мл). Органічні рідини об'єднували і промивали сольовим розчином (2×100мл). Після цього водні шари повторно екстрагували ДХМ (100мл). Всі органічні шари об'єднували, сушили над сульфатом магнію і випаровува-

ли з одержанням блідо-зеленої кристалічної твердої речовини. Тверду речовину суспендували в ДХМ і збирали фільтруванням з одержанням вказаного естера (1.06г, 76%).

δ_H (400МГц, CDCl₃) 7.66 (1H, дд J 9.1, 2.5Гц, Ar), 7.22 (1H, дд J 9.0, 4.0Гц, Ar), 7.08 (1H, тд J 8.9, 2.5Гц, Ar), 4.86 (2H, c, CH₂CO₂Et), 4.26 (2H, кв J 7.1Гц, CO₂CH₂CH₃), 3.61-3.57 (2H, м, CH₂CH₂), 3.48-3.44 (2H, м, CH₂CH₂), 2.99 (3H, c, SCH₃), 2.71 (3H, c, CH₃), 1.30 (3H, т J=7.1Гц, CO₂CH₂CH₃).

4. Сполука 5 - [[5-Фтор-3-(2-метансульфоніл-етансульфоніл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

Моногідрат гідроксиду літію (132мг, 3.14ммоль) додавали однією порцією до перемішуваного розчину етилового естера [5-фтор-3-(2-метансульфоніл-етансульфоніл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтової кислоти (1.06г, 2.61ммоль) в суміші ТГФ : вода (5:1; 15мл), і отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. Суміш концентрували in vacuo до одержання залишка, який розділяли між етилацетатом і 10% лимонною кислотою. Органічний шар відділяли, і водний розчин екстрагували етилацетатом (3×100мл). Об'єднані органічні екстракти сушили і концентрували in vacuo до одержання не зовсім білої твердої речовини. Твердий продукт після цього розтирали з дихлорметаном з одержанням карбонової кислоти у вигляді не зовсім білої твердої речовини, (438 мг, 44 %), δ_H (400 МГц, сіб-Ацетон) 7.58-7.63 (2H, м, Ar) 7.09 (1H, тд J 9.2, 2.6Гц, Ar), 5.22 (2H, c, CH₂CO₂H), 3.60-3.66 (2H, м, SO₂CH₂CH₂), 3.45 (2H, м, SO₂CH₂CH₂), 3.02 (3H, c, SO₂CH₃), 2.75 (3H, c, CH₃); T_g = 1.08 min (98 %), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 378.16.

Сполуки 3 і 4 були одержані подібним способом з використанням відповідних вихідних матеріалів.

Сполука 3 - (3-Карбоксиметансульфоніл-5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтова кислота

T_g = 1.16 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 330.10.

Сполука 4 - (3-Карбаомілметансульфоніл-5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтова кислота

T_g = 1.50 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 329.17.

Приклад 3 - Синтез похідних 3-Сульфоніліндолу (Метод В2)

Для синтезу наведених далі проміжних сполук використовувався метод, подібний до описаного для стадії 2 Прикладу 2. Однак, гідроліз з одержанням кислоти відбувся перед окисненням з одержанням вказаного сульфону або сульфоксидної похідної.

[5-Фтор-2-метил-3-(хінолін-8-ілсульфаніл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, MeOD) 8.95-8.94 (1H, м, Ar), 8.36 (1H, дд J 8.3, 1.7Гц, Ar), 7.64-7.60 (2H, м, Ar), 7.45 (1H, дд J 8.8, 4.2Гц, Ar), 7.29 (1H, т J 7.8Гц, Ar), 7.09 (1H, дд J 9.2, 2.6Гц, Ar), 7.00 (1H, тд J 9.2, 2.6Гц, Ar), 6.85 (1H, арр д J 7.3Гц, Ar), 5.14 (2H, c, CH₂CO₂H), 2.52 (3H, c, CCH₃); T_g = 1.30 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 367.39.

[5-Фтор-2-метил-3-(хінолін-2-ілсульфаніл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, MeOD) 8.01 (1H, д J 8.6Гц, Ar), 7.93 (1H, д J 7.8Гц, Ar), 7.82 (1H, д J 8.1Гц, Ar), 7.76(1H, арр тд J 7.1, 1.4Гц, Ar), 7.53 (1H, арр тд

J 7.0, 1.1 Гц, Ar), 7.47 (1H, дд J 9.1, 4.2 Гц, Ar), 7.16 (1H, дд J 9.0, 2.4 Гц, Ar), 7.03 (1H, тд J 9.2, 2.6 Гц, Ar), 6.87 (1H, д J 8.8 Гц, Ar), 5.14 (2H, с, CH₂CO₂H), 2.55 (3H, с, CCH₃); Tr = 1.37 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 367.24.

[3-(Бензотіазол-2-ілсульфаніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400 МГц, MeOD) 7.81 (1H, д J 8.3 Гц, Ar), 7.71 (1H, д J 7.8 Гц, Ar), 7.50-7.43 (2H, м, Ar), 7.31-7.24 (2H, м, Ar), 7.06 (1H, тд J 9.0, 2.4 Гц, Ar), 5.15 (2H, с, CH₂CO₂H), 2.60 (3H, с, CCH₃); Tr = 1.49 min, m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 373.34.

(3-Бензилсульфаніл-5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтова кислота

δ_H (250 МГц, d₆-DMCO) 7.46 (1H, дд J 8.8, 4.3 Гц, Ar), 7.21-7.18 (3H, м, Ar), 7.14 (1H, дд J 9.5, 2.5 Гц, Ar), 7.01-6.92 (3H, м, Ar), 4.99 (2H, с, CH₂CO₂H), 3.75 (2H, с, ArCH₂), 2.01 (3H, с, CH₃); Tr = 1.56 min (100%) m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 330.16.

Ці проміжні сполуки можуть після цього окиснюватись з одержанням сполуки загальної формули (I), де p означає 1 або 2, з використанням наступної методики.

1. Сполука 6 - [3-(Бензотіазол-2-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота і Сполука 7 - [3-(Бензотіазол-2-сульфоніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

Пероксимоносульфат калію (131.0 мг, 214 ммоль) додавали однією порцією до перемішаного розчину [3-(бензотіазол-2-ілсульфаніл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтової кислоти, 20.0 мг, 53.6 ммоль в суміші 1, 4-діоксан:вода (0.3 мл; 4:1) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин і після цього додавали насичений розчин бікарбонату натрію (5 мл). Продукт екстрагували етилацетатом (3×2 мл), і об'єднані органічні екстракти промивали сольовим розчином, сушили і концентрували in vacuo до одержання твердої речовини, яку очищували препаративною ВЕРХ з одержанням вказаного сульфону, Сполука 6 (10.0 мг, 46%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини,

δ_H (400 МГц, MeOD) 8.11 (2H, obs дд J 7.9, 2.8 Гц, Ar), 7.79 (1H, дд J 9.6, 2.5 Гц, Ar), 7.65-7.57 (2H, м, Ar), 7.43 (1H, дд J 8.8, 4.3 Гц, Ar), 7.06 (1H, тд J 9.1, 2.5 Гц, Ar), 4.76 (2H, с, CH₂CO₂H), 2.85 (3H, с, CCH₃); Tr = 1.44 min (100%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 405.21, і the sulfoxide, Сполука 7 (3.2 мг, 15%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини,

δ_H (400 МГц, MeOD) 8.16 (1H, app д J 9.1 Гц, Ar), 8.01 (1H, д J 8.1 Гц, Ar), 7.62-7.54 (2H, м, Ar), 7.47 (1H, дд J 9.1, 4.0 Гц, Ar), 7.23 (1H, дд J 9.6, 2.5 Гц, Ar), 7.02 (1H, тд J 9.1, 2.0 Гц, Ar), 5.10 (2H, с, CH₂CO₂H), 2.78 (3H, с, CCH₃); Tr = 1.34 min (100%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 389.09.

Сполуки 8-10 були одержані способом, подібним до описаного для Сполук 6 і 7, але з використанням відповідних вихідних матеріалів.

Сполука 8 - [5-Фтор-2-метил-3-(хінолін-2-сульфоніл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400 МГц, MeOD) 8.57 (1H, д J 8.6 Гц, Ar), 8.20 (1H, д J 8.6 Гц, Ar), 8.13 (1H, д J 8.6 Гц, Ar), 8.02 (1H, д J 8.1 Гц, Ar), 7.89-7.82 (2H, м, Ar), 7.73 (1H, app т J 8.1 Гц, Ar), 7.42 (1H, дд J 8.8, 4.3 Гц, Ar), 7.05 (1H, тд J 9.1, 2.5 Гц, Ar), 5.08 (2H, с, CH₂CO₂H), 2.86

(3H, с, CCH₃); Tr = 1.39 min (92 %), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 399.26.

Сполука 9 - [5-Фтор-2-метил-3-(хінолін-8-ілсульфоніл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400 МГц, MeOD) 8.89 (1H, app д J 4.3 Гц, Ar), 8.71 (1H, дд J 7.3 Гц, Ar), 8.34 (1H, app д J 8.3 Гц, Ar), 8.20 (1H, app д J 8.3 Гц, Ar), 7.80 (1H, т J 8.1 Гц, Ar), 7.58 (1H, дд J 10.1, 2.5 Гц, Ar), 7.53 (1H, дд J 8.3, 4.3 Гц, Ar), 7.34 (1H, дд J 8.8, 4.3 Гц, Ar), 6.95 (1H, тд J 9.1, 2.5 Гц, Ar), 5.02 (2H, с, CH₂CO₂H), 2.97 (3H, с, CCH₃); Tr = 1.78 min (100%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 399.29.

Сполука 10 - (5-Фтор-2-метил-3-фенілметансульфоніл-1H-індол-1-іл)-оцтова кислота

δ_H (250 МГц, d₆-DMCO) 7.61 (1H, дд J 9.0, 4.5 Гц, Ar), 7.35 (1H, дд J 9.8, 2.5 Гц, Ar), 7.30-7.19 (3H, м, Ar), 7.10 (1H, тд J 9.1, 2.6 Гц, Ar), 7.02 (2H, м, Ar), 5.10 (2H, с, CH₂CO₂H), 4.51 (2H, с, ArCH₂), 2.06 (3H, с, CH₃); Tr = 1.30 min (100%) m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 362.13.

Приклад 4 - Синтез похідних 3-Сульфамойліндолу (Метод С)

Нижчеописаний метод використовують для сполук загальної формули (I), в яких X означає NR⁹.

1. Етиловий естер [3-(4-Хлор-фенілсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтової кислоти

До перемішаного розчину етилового естера (5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтової кислоти (100 мг, 0.43 ммоль) в простому ефірі (1 мл) при 0°C додавали по краплях протягом 1 хв хлорсульфонову кислоту (0.042 мл, 0.63 ммоль). Розчин перемішували при 0°C протягом 10 хв, і після цього концентрували in vacuo до одержання залишка, який азеотропували дихлорметаном (2×2 мл). Залишок знімали в дихлорметан, і після цього додавали N,N-діізопропілетиламін (0.075 мл, 0.43 ммоль) і 4-хлоранілін (53.4 мг, 0.42 ммоль). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 40 хв і після цього концентрували in vacuo до одержання залишка, який розділяли між етилацетатом (5 мл) і водою (5 мл). Органічний шар після цього відділяли, промивали насиченим розчином гідроксиду натрію (20 мл), сушили і концентрували in vacuo до одержання залишка, який очищували колонковою флеш-хроматографією (Flashmaster) на силікагелі з використанням в якості елюента 15% суміші етилацетат : гептан з одержанням вказаного сульфонаміду (6 мг, 3%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини,

δ_H (400 МГц, CDCl₃) 7.63 (1H, дд J 9.5, 2.4 Гц, Ar), 7.18-7.12 (3H, м, Ar), 7.05-6.99 (1H, м, Ar), 6.96-6.90 (2H, м, Ar), 6.55 (1H, с, NH), 4.73 (2H, с, NCH₂), 4.20 (2H, кв J 7.3 Гц, OCH₂CH₃), 2.33 (3H, с, CCH₃), 1.22 (3H, т J 7.3 Гц, OCH₂CH₃); Tr = 1.57 min (100%), m/z (ES⁺) (M+H)⁺ 425.

2. Сполука 11 - [3-(4-Хлор-фенілсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

Моногідрат гідроксиду літію (7.0 мг, 0.17 ммоль) у воді (2 мл) додавали однією порцією до перемішаного розчину етилового естера [3-(4-хлор-фенілсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтової кислоти (6 мг, 0.014 ммоль) в тетрагідрофу-

рані (2мл). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин, і після цього рН суміші встановлювали на рівні 1 з допомогою 1М хлор водневої кислоти. Продукт екстрагували етилацетатом (2×10мл), і об'єднані органічні екстракти після цього сушили і концентрували in vacuo з одержанням карбонової кислоти (4.3мг, 77%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини.

δ_H (400МГц, $CDCl_3$) 8.74 (1H, c, NH), 7.70 (1H, dd J 9.5, 2.6Гц, Ar), 7.13-7.06 (3H, м, Лг), 6.99-6.92 (3H, м, Ar), 4.67 (2H, c, NCH_2), 2.41 (3H, c, CH_3); Tr = 1.84 min (91 %), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 397.

Сполуки 12-25 були отримані з використанням того ж самого загального методу, але з використанням придатних вихідних матеріалів.

Сполука 12 - [3-(3-Хлор-фенілсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, $CDCl_3$) 7.63 (1H, dd J 9.3, 2.6Гц, Ar), 7.17-7.14 (1H, м, Ar), 7.10-6.98 (5H, м, Ar, NH), 6.86-6.84 (1H, м, Ar), 4.73 (2H, c, NCH_2), 2.46 (3H, c, CH_3); Tr = 1.84 min (100 %), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 397.

Сполука 13 - [3-(4-Фтор-фенілсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, $CDCl_3$) 8.45 (1H, c, NH), 7.66 (1H, dd J 9.7, 2.3Гц, Ar), 7.11 (1H, dd J 9, 4.2Гц, Ar), 6.97-6.90 (3H, м, Ar), 6.81-6.77 (2H, м, Ar), 4.64 (2H, c, NCH_2), 2.29 (3H, c, CH_3); Tr = 1.79 min (99 %), t/r (ES^+) ($M+H$)⁺ 381.

Сполука 14 - [3-(2-Хлор-фенілсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, $CDCl_3$) 7.69 (1H, c, NH), 7.58-7.49 (2H, м, Ar), 7.23-7.13 (3H, м, Ar), 7.03-6.93 (2H, м, Ar), 4.70 (2H, c, NCH_2), 2.44 (3H, c, CH_3); Tr = 1.83 (100 %), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 397.

Сполука 15 - (3-Бензилсульфамойл-5-фтор-2-метил-індол-1-іл)-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 7.99 (1H, т J 6.3Гц, Ar), 7.58 (2H, м, Ar), 7.21 (4H, м, Ar), 7.09 (1H, тд J 9.23, 2.65Гц, Ar), 5.11 (2H, c, CH_2CO_2H), 3.92 (2H, д J 6.31Гц, NCH_2) 2.56 (3H, c, CH_3), Tr = 1.31 min (100%), t/r (ES^+) ($M+H$)⁺ 377.25.

Сполука 16 - [5-Фтор-3-(2-метокси-фенілсульфамойл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 9.18 (1H, c, SO_2NH), 7.52 (1H, dd J 9.00, 4.4Гц, Ar), 7.47 (1H, dd J 10.2, 2.6Гц, Ar), 7.23 (1H, dd J 7.9, 1.6 Гц, Ar), 7.09-7.01 (2H, м, Ar), 6.84 (1H, т J 7.7Гц, Ar), 6.77 (1H, д J 7.2Гц, Ar), 5.05 (2H, c, CH_2CO_2H), 3.24 (3H, OCH_3), 2.30 (3H, c, CH_3); Tr = 1.31 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 393.25.

Сполука 17 - [5-Фтор-3-(4-метокси-фенілсульфамойл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 9.62 (1H, c, SO_2NH), 7.49 (1H, dd J 10.3, 2.6Гц, Ar), 7.36 (1H, dd J 9.0, 4.6Гц, Ar), 6.98 (1H, dd J 9.2, 2.8 Гц, Ar), 6.93 (2H, д J 9.1Гц, Ar), 6.74 (2H, д J 9.1Гц, Ar), 4.45 (2H, c, CH_2CO_2H), 3.64 (3H, c, OCH_3), 2.36 (3H, c, CH_3); Tr = 1.27 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 393.26.

Сполука 18 - (5-Фтор-2-метил-3-фенілсульфамойл-індол-1-іл)-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 10.15 (1H, c, SO_2NH), 7.60 (1H, dd J 10.1, 2.6Гц, Ar), 7.53 (1H, dd J 9.1, 4.5Гц, Ar), 7.17 (2H, м, Ar), 7.07 (1H, dd J 9.1, 2.6Гц,

Ar), 7.03 (2H, м, Ar), 6.96 (1H, т J 7.3Гц, Ar), 5.03 (2H, c, CH_2CO_2H), 2.48 (3H, c, CH_3); Tr = 1.28 min (96%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 363.25.

Сполука 19 - [3-(3,4-Дихлор-бензилсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 7.92 (1H, bs, SO_2NH), 7.47 (1H, dd J 10.3, 2.6Гц, Ar), 7.40 (1H, д J 8.3Гц, Ar), 7.37 (1H, д J 7Гц, Ar), 7.31 (1H, dd J 9.0, 4.6Гц, Ar), 7.13 (1H, dd J 8.2, 2.0Гц, Ar), 6.96 (1H, тд J 9.3, 2.7Гц, Ar), 4.32 (2H, c, CH_2CO_2H), 3.93 (2H, c, NCH_2), 2.49 (3H, c, CH_3); Tr = 1.43 min (97%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 445.15.

Сполука 20 - [5-Фтор-3-(3-метокси-фенілсульфамойл)-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 10.22 (1H, c, SO_2NH), 7.60 (1H, dd J 9.9, 2.5Гц, Ar), 7.50 (1H, dd J 9.1, 4.1Гц, Ar), 7.05 (2H, м, Ar), 6.61 (2H, м, Ar), 6.50 (1H, д 8.7Гц, Ar), 4.88 (2H, c, CH_2CO_2H), 3.60 (3H, c, OCH_3), 2.54 (3H, c, CH_3); Tr = 1.28 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 393.28.

Сполука 21 - (5-Фтор-2-метил-3-толілсульфамойл-індол-1-іл)-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 10.11 (1H, c, SO_2NH), 7.61 (1H, dd J 10.1, 2.6Гц, Ar), 7.55 (1H, dd J 9.1, 4.5Гц, Ar), 7.08 (1H, dd J 9.2, 2.6Гц, Ar), 7.03 (1H, д J 7.8, Ar), 6.85-6.81 (2H, м, Ar), 6.76 (1H, д J 7.6Гц, Ar), 5.08 (2H, c, CH_2CO_2H), 2.50 (3H, c, CH_3), 2.15 (3H, c, $ArCH_3$), Tr = 1.33 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 377.24.

Сполука 22 - (5-Фтор-2-метил-3-р-толілсульфамойл-індол-1-іл)-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 9.90 (1H, bs, SO_2NH), 7.55 (1H, dd J 10.2, 2.6Гц, Ar), 7.32 (1H, dd J 9.1, 4.6, Ar), 6.94 (5H, м, Ar), 4.31 (2H, c, CH_2CO_2H), 2.45 (3H, c, CH_3), 2.15 (3H, c, CH_3), Tr=1.33 min (100%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 377.25.

Сполука 23 - [3-(4-Хлор-бензилсульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, cfe -ДМСО) 8.04 (1H, т J 5.9Гц, NH), 7.58-7.51 (2H, м, Ar), 7.25 (2H, д J 8.6Гц, Ar), 7.18 (2H, д J 8.6Гц, Ar), 7.07 (1H, тд J 9.5, 2.7Гц, Ar), 5.07 (2H, c, CH_2CO_2H), 3.93 (2H, д J 6.3Гц, NCH_2) 2.56 (3H, c, CH_3); Tr = 1.38 min (91%), m/z (ES^+) ($M+H$)⁺ 411.07.

Сполука 24 - [3-(Бензил-метил-сульфамойл)-5-фтор-2-метил-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d_6 -ДМСО) 7.52 (1H, dd J 10.0, 2.6Гц, Ar), 7.46 (1H, dd J 8.9, 4.4Гц, Ar), 7.39-7.28 (5H, м, Ar), 7.03 (1H, тд J 9.4, 2.8Гц, Ar), 4.46 (2H, c, CH_2CO_2H), 4.10 (2H, c, NCH_2), 2.60 (3H, c, NCH_3), 2.48 (3H, c, CH_3); Tr = 1.43 min (100%), t/r (ES^+) ($M+H$)⁺ 391.15.

Сполука 25 - [5-Фтор-2-метил-3-(піридин-3-ілсульфамойл)-індол-1-іл]-оцтова кислота

δ_H (400МГц, d -ДМСО) 10.42 (1H, c, SO_2NH), 8.25 (1H, д J 2.6Гц, Ar), 8.19 (1H, д, 3.3Гц, Ar), 7.59-7.55 (2H, м, Ar), 7.40 (1H, д J 8.3Гц, Ar), 7.24-7.21 (2H, м, Ar), 5.10 (2H, c, CH_2CO_2H), 2.49 (3H, c, CH_3); Tr = 0.96 min (100%), t/r (ES^+) ($M+H$)⁺ 364.1.

Приклад 5 - Визначення активності антагоніста CRTH2-реуеріТора Матеріали і Методи

Матеріали

Барвник Кальцій-3 закупляли у Molecular Devices (Уокінгем, Сполучене Королівство). Монопольне розчіплювальне середовище отримували від Dainippon Pharmaceuticals (Осака, Японія). Мікрогранули Macs anti-CD16 отримували від Miltenyi biotec (Біслі, Саррей). Планшети ChemoTx закупляли у Neuroprobe (Гейтсбург, MD). 96-лункові полі-D-лізинові планшети отримували від Greiner (Глаустершир, Сполучене Королівство). [³H]PGD₂ отримували від Amersham Biosciences (Бакінгемшир, Сполучене Королівство). [³H]SQ29548 закупляли у Perkin Elmer Life Sciences (Бакінгемшир, Сполучене Королівство). Всі інші реагенти отримували у Sigma-Aldrich (Дорсет, Сполучене Королівство), якщо не буде зазначено інакше.

Методики

Клітинна культура

Клітини яєчників китайського хом'яка трансфюкували рецепторами CRTH2 або DP (CHO/CRTH2 і CHO/DP) і витримували в культурі у вологій атмосфері при 37°C (5% CO₂) в мінімально необхідному середовищі (MEM), доповненому 10% зародковою бичачою сироваткою, 2мМ глутаміном і 1мг мл⁻¹ активного G418. Клітини пасували кожні 2-3 дні. Для проведення аналізу на зв'язування з радіоактивними лігандами клітини готували у тришарових пробірках або у квадратних пробірках площею 175см² (для приготування мембран). Для аналізу мобілізації кальцію клітини вирощували в 96-лунковому планшеті за 24 години до проведення аналізу при густині 80000 клітин на лунку.

Одержання мембран

Мембрани одержували або з клітин CHO/CRTH2 і CHO/DP, або з тромбоцитів (в якості джерела TP-рецепторів). CHO-клітини, вирощені до злиття, промивали забуференим фосфатом фізіологічним розчином і розділяли з використанням розчину Versene (15мл на пробірку). У випадку вирощування клітин у квадратній пробірці 175см², їх збирали зіскоблюванням у забуференому фосфатом фізіологічному розчині. Клітинні суспензії центрифугували (1700об./хв, 10хв, 4°C) і ресуспендували в 15мл буфера (1xHBSS, доповненого 10 мМ HEPES, pH 7.3). Клітинні суспензії після цього гомогенізували з допомогою гомогенізатора Ultra Turrax з установкою 4-6 протягом 20 секунд. Гомогенат центрифугували при 1700об./хв. протягом 10хв, і надосадову рідину збирали і центрифугували при 20,000об./хв протягом 1год. при 4°C. Одержаний гранулят ресуспендували в буфері і зберігали при -80°C в аліквотах 200-500мкл. Концентрацію протеїнів визначали методом Брадфорда (1976), використовуючи бичачий сироватковий альбумін в якості стандарту. Тромбоцити промивали центрифугуванням при 600хг протягом 10хв і ресуспендували в крижаному буфері для аналізу (10мМ Тріс-HCl, pH 7.4, 5мМ глюкоза, 120мМ NaCl, 10мкМ індометацин) і безпосередньо центрифугували при 20000 об./хв. протягом 30хв. при 4°C. Одержані гранули обробляли як вказано вище.

Аналіз зв'язування з радіоактивним лігандом

Експерименти на зв'язування з [³H]PGD₂ (160Сі/ммоль) проводили на мембранах, отриманих за вищеписаними методиками. Аналіз проводили при кінцевому об'ємі 100мкл буфера

(1XHBSS/HEPES 10мМ, pH 7.3). Клітинні мембрани (15мкг). Клітинні мембрани (15мг) попередньо інкубували при кімнатній температурі із змінною концентрацією конкуруючого ліганда протягом 15хв. Після цього додавали [³H]PGD₂ (моль, кінцева концентрація), і інкубування продовжували протягом ще однієї години при кімнатній температурі. Реакцію припиняли додаванням 200мкл крижаного буфера для аналізу до кожної лунки, після чого здійснювали швидку фільтрацію через скловолонконні фільтри Ватмана GF/B з використанням колектора клітин Unifilter Cell (PerkinElmer Life Sciences) і шести порцій промивної рідини - 300мкл крижаного буфера. Планшети Unifilter сушили при кімнатній температурі протягом принаймні 1 години, і радіоактивність на фільтрах визначали з допомогою лічильника Beta Trilux (PerkinElmer Life Sciences), з наступним додаванням 40мкл рідкого сцинтилятора Optiphase Hi-Safe 3 (Wallac). Неспецифічне зв'язування визначали у присутності 10мкМ неміченого PGD₂. Аналізи проводили двічі.

Результати експериментів на зв'язування CRTH2 і DP-рецепторів з радіоактивними лігандами наведені у Таблиці 1.

Результати, наведені у Таблиці 1 вказують на те, що сполуки загальної формули (I) мають високу афінність з рецептором CRTH2. У випадках, коли робились порівняння, афінність сполук загальної формули (I) є значно вищою щодо CRTH2-рецептора, аніж щодо DP-рецептора.

Таблиця 1

Дані аналізу на зв'язування з радіоактивними лігандами (Кі на C13TH2-рецепторі і DP-рецепторі)

Сполука	CRTH2 зв'язування Кі nM	DP зв'язування Кі μM
1	192	>10
2	75	>10
3	2000	ND
4	2300	ND
5	89	>10
6	209	ND
7	54	ND
8	249	ND
9	254	>10
10	6	ND
11	51	>10
12	45	>10
13	182	ND
14	225	ND
15	278	>10
16	771	>10
17	1450	>10
18	236	>10
19	181	>10
20	531	>10
21	176	>10
22	1240	>10
23	164	>10
24	119	>10
25	4250	>10

Зв'язування TP-рецептора з радіоактивним лігандом здійснювали на мембранах, отриманих з тромбоцитів. 15-40мкг протеїну попередньо інкубували при змінних концентраціях конкуруючого

ліганда протягом 15 хвилин при кімнатній температурі в буфері для аналізу (10мМ Тріс-НСІ, рН 7.4, 5мМ глюкоза, 120мМ NaCl, 10мкМ індометацин). Після цього додавали [^3H]SQ29548 (38Ci/ммоль, кінцева концентрація 10нМ), і інкубування продовжували протягом додаткових 30хв при кімнатній температурі. Реакцію припиняли додаванням 20мкл крижаного буфера для аналізу у кожну лунку, з наступним швидким фільтруванням через склофільтр Ватмана GF/C з використанням колпектора для клітин Unifilter (PerkinElmer Life Sciences) і шести порцій промивної рідини - 300мкл крижаного буфера. Радіоактивність визначали як описано вище.

Всі сполуки, які вивчались у цьому аналізі, зв'язуються з TP-рецептором з низькою афінністю ($K_i > 10\mu\text{M}$).

Сполуки загальної формули (I) зв'язуються з CRTH2-рецептором, який експресується в CHO-клітинах з діапазоном афінності, яка змінюється від дуже високої до помірної. Фактично, значення K_i , які визначаються у змагнанні з [^3H]PGD₂, змінювались від 500рМ до 1мкМ. Сполуки загальної формули (I) не мали впливу (або мали дуже слабкий вплив) на DP і TP рецептори. Селективність у зв'язуванні сполук загальної формули (I) з CRTH2 рецептором була вищою більше, ніж у 200 разів, порівняно із DP і TP рецепторами.

Аналіз мобілізації кальцію

Клітини висівали на покриті полі-D-лізином 96-лункові планшети по 80000 клітин у лунку і інкубували при 37°C протягом ночі, даючи можливість клітинам злипнутися. Клітини двічі промивали HBSS і інкубували протягом 1 години при 37°C в 100мкл HBSS і 100мкл розчину барвника кальцій-3 (Molecular Devices), доповненого 4мМ пробенециду. Зміни у флуоресцентності спостерігали з інтервалом в 50 секунд при додаванні на 17-й секунді агоніста з допомогою Flexstation (Molecular Devices).

Вплив агоністів рецептора CRTH2 на мобілізацію кальцію в клітинах CHO-CRTH2 PGD₂ викликає залежне від дози підвищення внутрішньоклітинної мобілізації Ca^{2+} в клітинах CHO/CRTH2, при $\text{EC}_{50} = 2.4 \pm 0.5\text{nM}$ ($n=3$) (Фігура 1).

Вплив сполук загальної формули (I) на мобілізацію кальцію, індуковану PGD₂ PCO_2 -стимульований потік Ca^{2+} повністю інгібувався сполуками загальної формули (I), і значення IC_{50} для кожної сполуки в цьому аналізі співставляли з відповідним їй значенням афінності K_i в аналізі на зв'язування з радіоактивними лігандами. Значення IC_{50} для сполук загальної формули (I) змінювались від 5нМ до 1мкМ. Результати для декількох сполук загальної формули (I) наведені в Таблиці 2. Підвищення доз сполук загальної формули (I) викликало залежний від дози паралельний зсув в кривій відповіді PGD₂ в клітинах CHO/CRTH2, що вказує на те, що ці сполуки є конкурентоспроможними антагоністами CRTH2.

Антагоністична дія сполук загальної формули (I) є селективною щодо CRTH2, так як не було виявлено інгібуючого ефекту з ATP-стимульованим потоком Ca^{2+} в клітинах CHO/CRTH2.

Таблиця 2

Інгібування PGD ₂ -індукованого кальцієвого потоку	
2	163
5	268
6	345
7	163
8	330
10	79
11	197
12	82
13	1650
14	390
21	1060

Вплив CRTH2-агоністів на мобілізацію кальцію в клітинах CHO/CRTH2

