

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201792429** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2018.02.28

(22) Дата подачи заявки
2016.05.04

(51) Int. Cl. **C07D 471/08** (2006.01)
C07D 487/08 (2006.01)
C07D 209/04 (2006.01)
C07D 513/08 (2006.01)

**(54) ПРОИЗВОДНЫЕ МОНО- ИЛИ ДИЗАМЕЩЕННЫХ ИНДОЛОВ В КАЧЕСТВЕ
ИНГИБИТОРОВ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ ДЕНГЕ**

(31) **15166900.9; 16163342.5**

(32) **2015.05.08; 2016.03.31**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2016/059975**

(87) **WO 2016/180696 2016.11.17**

(71) Заявитель:
**ЯНССЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US); КАТОЛИКЕ
УНИВЕРСИТЕЙТ ЛЕВЕН (BE)**

(72) Изобретатель:
**Кестелейн Барт Рудольф Романи
(BE), Бонфанти Жан-Франсуа
(FR), Йонкерс Тим Хьюго Мария,
Рабуассон Пьер Жан-Мари Бернар,
Бардио Дороте Алис Мари-Эв,
Маршан Арно Дидье М (BE)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям моно- или дизамещенных индолов, способам предупреждения или лечения вирусной инфекции денге посредством применения указанных соединений, а также относится к указанным соединениям для применения в качестве лекарственного средства, более предпочтительно для применения в качестве лекарственного средства для лечения или предупреждения вирусной инфекции денге. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтическим композициям или комбинированным препаратам на основе соединений, к композициям или препаратам для применения в качестве лекарственного средства, более предпочтительно для предупреждения или лечения вирусной инфекции денге. Настоящее изобретение также относится к способам получения таких соединений.

A1

201792429

201792429

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-545593ЕА/042

ПРОИЗВОДНЫЕ МОНО- ИЛИ ДИЗАМЕЩЕННЫХ ИНДОЛОВ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ ДЕНГЕ

Настоящее изобретение относится к соединениям моно- или дизамещенных индолов, способам предупреждения или лечения вирусной инфекции денге посредством применения указанных соединений, а также относится к указанным соединениям для применения в качестве лекарственного средства, более предпочтительно для применения в качестве лекарственного средства для лечения или предупреждения вирусной инфекции денге. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтическим композициям или комбинированным препаратам на основе соединений, к композициям или препаратам для применения в качестве лекарственного средства, более предпочтительно для предупреждения или лечения вирусной инфекции денге. Настоящее изобретение также относится к способам получения таких соединений.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Флавивirusы, которые переносятся комарами или клещами, являются причиной опасных для жизни инфекций у человека, таких как энцефалит и геморрагическая лихорадка. Известны четыре различных, но тесно связанных серотипа флавивируса, вызывающего денге, так называемые DENV-1, -2, -3 и -4. Денге характерна для большинства тропических и субтропических регионов всего мира, преимущественно в городских и полугородских районах. Согласно Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 2,5 миллиарда людей, из которых 1 миллиард детей, подвержены риску инфицирования DENV (ВОЗ, 2002). По оценкам, ежегодно во всем мире происходит от 50 до 100 миллионов случаев лихорадки денге [DF], полмиллиона случаев заболевания денге в тяжелой форме (т. е. геморрагической лихорадкой денге [DHF] и синдромом шока денге [DSS]) и более чем 20000 смертей. DHF стала основной причиной госпитализации и смерти среди детей в эндемических регионах. В целом денге является наиболее распространенной причиной заболевания, вызванного арбовирусами. Благодаря недавним крупным вспышкам в странах, расположенных в Латинской Америке, Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого Океана (в том числе в Бразилии, Пуэрто-Рико, Венесуэле, Камбодже, Индонезии, Вьетнаме, Таиланде), количество случаев денге сильно возросло за последние годы.

Число случаев денге не только увеличивается по мере распространения заболевания в новых районах, но и вспышки имеют склонность становиться более тяжелыми.

Для предупреждения и/или контроля заболевания, ассоциированного с вирусной инфекцией денге, в настоящее время единственными доступными способами являются стратегии, направленные на уничтожение комаров с целью контроля переносчика инфекции. Хотя и имеет место прогресс в разработке вакцин против денге, существует много трудностей. Они включают существование явления, называемого зависимым от антитела усилением (ADE). Выздоровление от инфекции, вызванной одним серотипом, обеспечивает пожизненный иммунитет против данного серотипа, однако придает лишь частичную и временную защиту против последующей инфекции, вызванной одним из трех остальных серотипов. При последующем инфицировании другим серотипом уже существующие гетерологичные антитела формируют комплексы с вновь инфицирующим серотипом вируса денге, однако не нейтрализуют патоген. Вместе с тем предполагают, что облегчается вхождение вируса в клетки, что приводит к неконтролируемой репликации вируса и повышению пика титров вирусов. Как при первичной, так и при вторичной инфекциях повышение титров вируса ассоциировано с заболеванием денге в более тяжелой форме. Одной из причин того, что дети более подвержены заболеванию денге в тяжелой форме, чем взрослые, может быть факт того, что материнские антитела могут легко передаваться младенцам при грудном вскармливании.

В местах с двумя или несколькими серотипами, которые циркулируют одновременно, также называемыми регионами с повышенной эндемичностью, риск заболевания денге в тяжелой форме значительно выше из-за повышенного риска перенести вторичную, более тяжелую инфекцию. Более того, в условиях повышенной эндемичности вероятность появления более вирулентных штаммов является повышенной, что в свою очередь повышает вероятность геморрагической лихорадки денге (DHF) или синдрома шока денге.

Комары, которые переносят возбудителей денге, в том числе *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* (желтолихорадочный комар), движутся на север земного шара. Согласно Центрам по контролю и профилактике заболеваний (CDC) Соединенных Штатов (США) оба вида комаров в настоящее время являются повсеместными в южном Техасе. Распространение на север комаров, переносящих возбудителей

денге, не ограничено распространением в США, но наблюдается также и в Европе.

Недавно (декабрь 2015 года), вакцина против вируса денге, полученная Sanofi Pasteur, была впервые одобрена в Мексике. Вакцина также была одобрена в Бразилии, Филиппинах и Сальвадоре. Регуляционное тестирование продолжается в других странах, где денге является приоритетом общественного здравоохранения. Тем не менее, вакцина оставляет широкие возможности для улучшения в связи с ограниченной эффективностью, особенно против DENV-1 и -2, низкой эффективностью у субъектов, ранее не обработанных флавивирусами, и длительной схемой приема препарата.

Несмотря на эти недостатки, вакцина представляет собой кардинальную перемену в эндемической ситуации, поскольку она предоставляет защиту большей части населения, но вероятно не младенцам, которые больше всех страдают от денге. Кроме того, схема приема препарата и очень ограниченная эффективность у субъектов, ранее не обработанных флавивирусами, делает ее непригодной и нецелесообразной/нерентабельной для путешественников из не эндемических областей в денге-эндемические области. Упомянутые выше недостатки вакцин против вируса денге являются причиной, почему существует потребность в противовирусном средстве от возбудителя денге для прединфекционной профилактики.

Более того, в настоящее время отсутствуют конкретные противовирусные лекарственные средства для лечения или предупреждения инфекции, вызванной вирусом лихорадки денге. Очевидно, что все еще существует большая неудовлетворенная потребность медицины в терапевтических средствах для предупреждения или лечения вирусных инфекций у животных, более конкретно у людей, а особенно для вирусных инфекций, вызванных флавивирусами, более конкретно вирусом денге. Чрезвычайно необходимыми являются соединения с хорошей противовирусной активностью, которые не имеют побочных эффектов или имеют низкие уровни побочных эффектов, характеризуются широким спектром активности против множества серотипов вируса денге, низкой токсичностью и/или подходящими фармакокинетическими или динамическими свойствами.

В настоящем изобретении представлены соединения, являющиеся производными моно- или дизамещенных индолов, которые проявляют высокую активность против всех четырех (4) серотипов вируса

денге. Также соединения в соответствии с настоящим изобретением обладают хорошим фармакокинетическим профилем и, неожиданно, данные конкретные соединения проявляют улучшенную хиральную стабильность.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

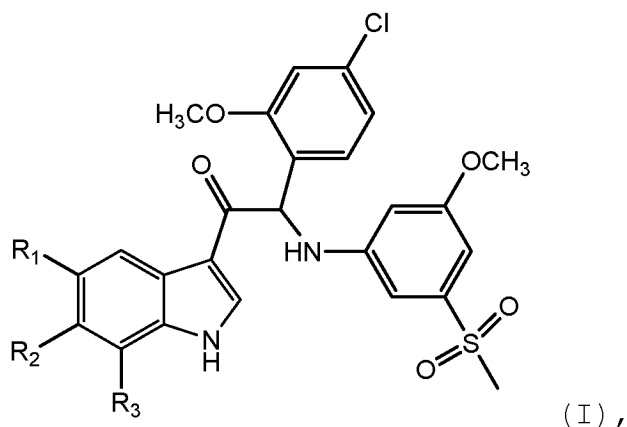
Настоящее изобретение основано на неожиданном обнаружении того, что по меньшей мере одна из вышеупомянутых проблем может быть решена с помощью представленных соединений по настоящему изобретению.

В настоящем изобретении представлены соединения, которые, как было показано, обладают высокой противовирусной активностью против всех четырех (4) серотипов, известных на сегодняшний день. Более того, в настоящем изобретении продемонстрировано, что эти соединения эффективно ингибируют пролиферацию вируса денге (DENV). Следовательно, эти соединения составляют пригодный класс сильнодействующих соединений, которые можно применять при лечении и/или предупреждении вирусных инфекций у животных, млекопитающих и людей, более конкретно для лечения и/или предупреждения инфекций, вызванных вирусами денге.

Более того, настоящее изобретение относится к применению таких соединений в качестве лекарственных препаратов и к их применению для изготовления лекарственных препаратов для лечения и/или предупреждения вирусных инфекций, в частности, вызванных вирусами, принадлежащими к семейству вирусов денге, у животных или млекопитающих, в частности у людей. Настоящее изобретение также относится к способам получения всех таких соединений и к фармацевтическим композициям, включающим их в эффективном количестве.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения или предупреждения вирусной инфекции денге у людей с помощью введения эффективного количества одного или нескольких таких соединений или их фармацевтически приемлемых солей необязательно в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными препаратами, например, с другим противовирусным средством, или вакциной против вируса денге, или ими обоими, пациенту, который нуждается в этом.

Одним аспектом настоящего изобретения является предоставление соединений формулы (I):



их стереоизомерной формы, фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа, содержащих моно- или дизамещенную индольную группу; при этом указанное соединение выбрано из группы, где

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H или CH_3 ,

R_1 представляет собой H, CH_3 или F, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой CH_3 ,

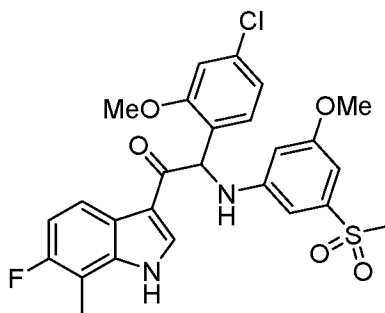
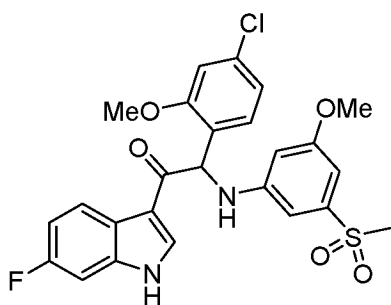
R_1 представляет собой CH_3 , R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H,

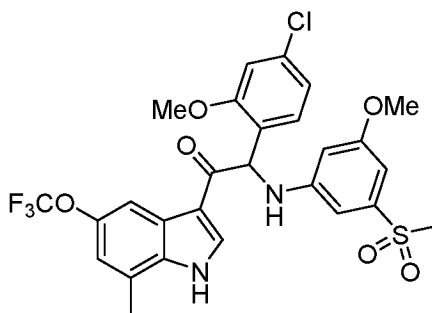
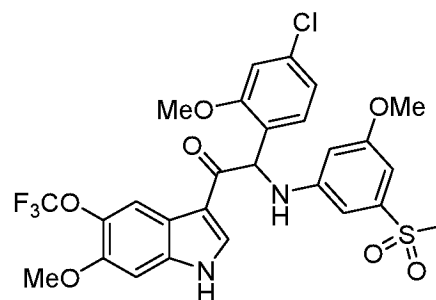
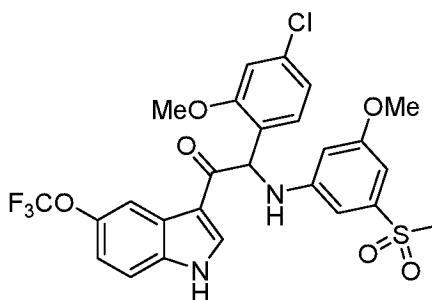
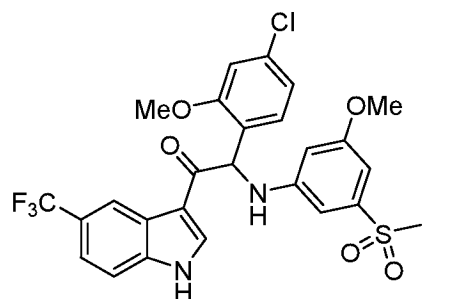
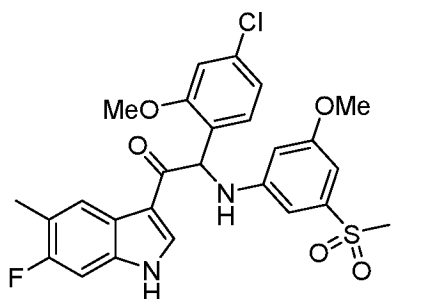
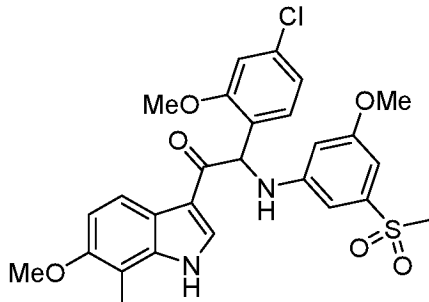
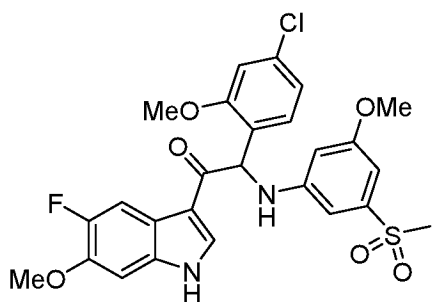
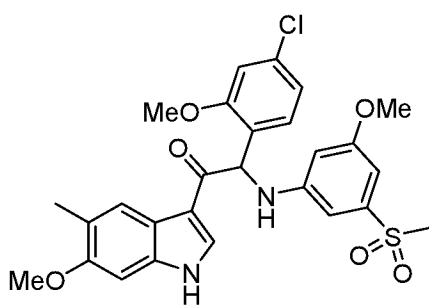
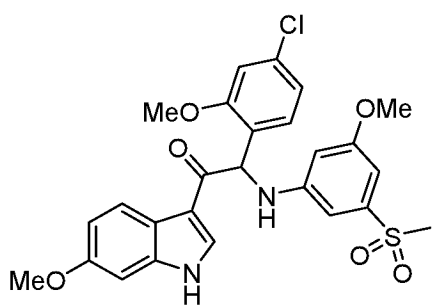
R_1 представляет собой CF_3 или OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

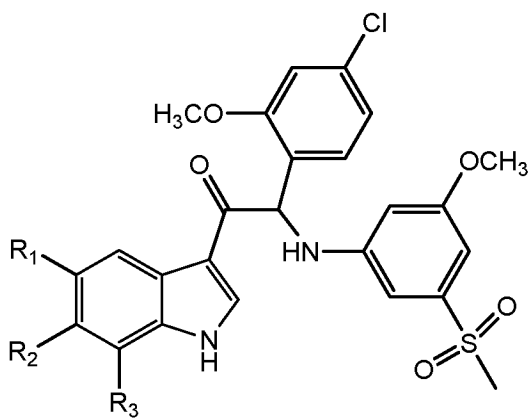
R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой CH_3 .

В частности, соединения по настоящему изобретению или их стереоизомерная форма, фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф выбраны из группы:





Другим аспектом настоящего изобретения является применение соединения, представленного следующей структурной формулой (I):



его стереоизомерной формы, фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа, содержащих моно- или дизамещенную индольную группу; при этом указанное соединение выбрано из группы, где

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H или CH_3 ,

R_1 представляет собой H, CH_3 или F, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой CH_3 ,

R_1 представляет собой CH_3 , R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой CF_3 или OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой CH_3 ,

для ингибирования репликации вируса (вирусов) денге в биологическом образце или у пациента.

Частью настоящего изобретения также является фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его стереоизомерную форму, фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I) включают их соли присоединения кислоты и основные соли. Подходящие соли присоединения кислоты образуются из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Подходящие основные соли образуются из оснований, которые образуют нетоксичные соли.

Соединения по настоящему изобретению также могут существовать в несольватированной и сольватированной формах. Термин "сольват" применяется в данном документе для описания молекулярного комплекса, содержащего соединение по настоящему изобретению и одну или несколько молекул фармацевтически приемлемого растворителя, например этанола.

Термин "полиморф" относится к способности соединения по настоящему изобретению существовать в более чем одной форме или кристаллической структуре.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Они могут быть получены, например, в виде твердой прессованной массы, порошков или пленок посредством таких способов, как осаждение, кристаллизация, сублимационная сушка, сушка распылением или сушка выпариванием. Их можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими соединениями по настоящему изобретению, или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами. Как правило, их будут вводить в виде состава в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями. Термин "наполнитель" используется в данном документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения (соединений) по настоящему изобретению. Выбор наполнителя в большой степени зависит от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние наполнителя на растворимость и стабильность, а также природа лекарственной формы.

Соединения по настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы для целей введения. В качестве подходящих композиций могут быть упомянуты все композиции, обычно применяемые для системно вводимых лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций по настоящему изобретению эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, требующегося для введения. Эти фармацевтические композиции желательно представлены в виде единичной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального или ректального введения. Например, при получении композиций в пероральной лекарственной форме может

использоваться любая из общепринятых фармацевтических сред, такая как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т. п. в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, настойки, эмульсии и растворы; или твердых носителей, таких как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие средства, связующие средства, разрыхлители и т. п. в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительные пероральные единичные лекарственные формы, в случае которых очевидно используются твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые можно преобразовать непосредственно перед применением в жидкие формы.

Особенно предпочтительным является составление вышеупомянутых фармацевтических композиций в виде единичной лекарственной формы для простоты введения и равномерности дозирования. Единичная лекарственная форма, используемая в данном документе, относится к физически отдельным единицам, подходящим в качестве единичных доз, при этом каждая единица содержит предварительно установленное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения необходимого терапевтического эффекта, в сочетании с требующимся фармацевтическим носителем. Примерами таких единичных лекарственных форм являются таблетки (в том числе делимые или покрытые оболочкой таблетки), капсулы, пилюли, пакетики с порошком, пластинки, суппозитории, растворы или суспензии для инъекций и т. п., а также их отдельные множества.

Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество, исходя из результатов тестов, представленных в данном документе ниже. В целом, предполагается, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 мг/кг до 50 мг/кг веса тела, более предпочтительно от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг веса тела. Может оказаться целесообразным вводить требуемую дозу в виде двух, трех, четырех или более частей дозы с соответствующими интервалами на протяжении дня. Указанные части дозы можно составлять в виде единичных лекарственных форм, например содержащих от 1 до 1000 мг и, в частности, от 5 до 200 мг активного ингредиента на единичную лекарственную форму.

Точная дозировка и частота введения зависят от конкретного применяемого соединения формулы (I), конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, веса и общего физического состояния конкретного пациента, а также другого медикаментозного лечения, которое может получать индивидуум, что хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции подвергаемого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединения по настоящему изобретению. Таким образом, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются лишь рекомендациями и не предназначены для ограничения в той или иной мере объема или применения настоящего изобретения.

Подразумевается, что настоящее раскрытие также включает в себя любые изотопы атомов, присутствующие в соединениях по настоящему изобретению. Например, изотопы водорода включают тритий и дейтерий, а изотопы углерода включают в себя C-13 и C-14.

Соединения, применяемые в настоящем изобретении, могут также существовать в стереохимически изомерной форме, охватывая все возможные соединения, составленные из одних и тех же атомов, связанных с помощью такой же последовательности связей, однако имеющие разные пространственные структуры, которые не являются взаимозаменяемыми. Если не упомянуто или не указано иное, то химическое обозначение соединений охватывает смесь всех возможных стереохимически изомерных форм, которыми могут обладать указанные соединения.

Указанная смесь может содержать все диастереомеры и/или энантиомеры с основной молекулярной структурой указанного соединения. Подразумевается, что все стереохимически изомерные формы соединений, применяемые по настоящему изобретению либо в чистом виде, либо в смеси друг с другом, предназначены для включения в объем настоящего изобретения, в том числе любые рацемические смеси или рацематы.

Чистые стереоизомерные формы упомянутых в настоящем документе соединений и промежуточных соединений определяются как изомеры, по сути не содержащие других энантиомерных или диастереомерных форм одной и той же основной молекулярной структуры указанных соединений или промежуточных продуктов. В

частности, термин "стереоизомерно чистый" относится к соединениям или промежуточным соединениям, характеризующимся стереоизомерным избытком от по меньшей мере 80% (т. е. минимум 90% одного изомера и максимум 10% других возможных изомеров) до стереоизомерного избытка 100% (т. е. 100% одного изомера и отсутствие другого), более конкретно, к соединениям или промежуточным соединениям, характеризующимся стереоизомерным избытком от 90% до 100%, еще более конкретно, характеризующимся стереоизомерным избытком от 94% до 100%, и наиболее конкретно, характеризующимся стереоизомерным избытком от 97% до 100%. Термины "энантиомерно чистый" и "диастереомерно чистый" следует понимать подобным образом, но в таком случае в отношении соответственно энантиомерного избытка и диастереомерного избытка смеси, представляющей интерес.

Чистые стереоизомерные формы соединений и промежуточных соединений, применяемые в соответствии с настоящим изобретением, можно получить при применении процедур, известных из уровня техники. Например, энантиомеры можно разделять друг от друга с помощью селективной кристаллизации их диастереомерных солей с оптически активными кислотами или основаниями. Их примерами являются винная кислота, дибензоилвинная кислота, дитолуоилвинная кислота и камфорсульфоновая кислота. В качестве альтернативы энантиомеры можно разделять с помощью хроматографических методик с применением хиральных неподвижных фаз. Указанные чистые стереохимически изомерные формы можно также получить из соответствующих чистых стереохимически изомерных форм соответствующих исходных веществ при условии, что реакция протекает стереоспецифически. Предпочтительно, если требуется определенный стереоизомер, указанное соединение будет синтезировано с помощью стереоспецифических способов получения. В данных способах преимущественно применяют энантиомерно чистые исходные вещества.

Общие подходы синтеза

Синтез соединений общей формулы **I** можно осуществлять как изложено на схеме 1. 2-(4-Хлор-2-метоксифенил)уксусная кислота (**II**) может быть превращена в соответствующий 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорид (**III**) с применением реактива для хлорирования, такого как, например, тионилхлорид. Реакцию Фриделя-Крафтса хлорангидрида **III** с замещенным индолом общей формулы **IV** можно осуществлять с применением реактива,

представляющего собой кислоту Льюиса, например такого как Et_2AlCl или TiCl_4 , в подходящем растворителе, например таком как CH_2Cl_2 или 1,2-дихлорэтан, и при подходящих условиях реакции, которые, как правило (но не исключительно), включают охлаждение, с получением 3-ацилированного индола общей формулы **V**. Введение анилинового фрагмента в альфа-положение по отношению к карбонильному фрагменту соединения общей формулы **V** можно осуществлять с помощью последовательности реакций, которая включает, например, бромирование **V** реактивом, например, таким как трибромид фенилтриметиламмоний, в подходящем растворителе, например, таком как THF, с получением соединений общей формулы **VI**, и последующее приведение в реакцию соединений общей формулы **VI** 3-метокси-5-(метилсульфонил) анилина (**VII**) в подходящем растворителе, например, таком как CH_3CN , и, как правило, с применением основания, например, такого как TEA или DIPEA, с получением соединений общей формулы **I** в виде рацемических смесей. Хиральное разделение соединений общей формулы **I** можно осуществлять с помощью, например, хиральной хроматографии для получения энантиомеров **A** и **B** общей формулы **I**.

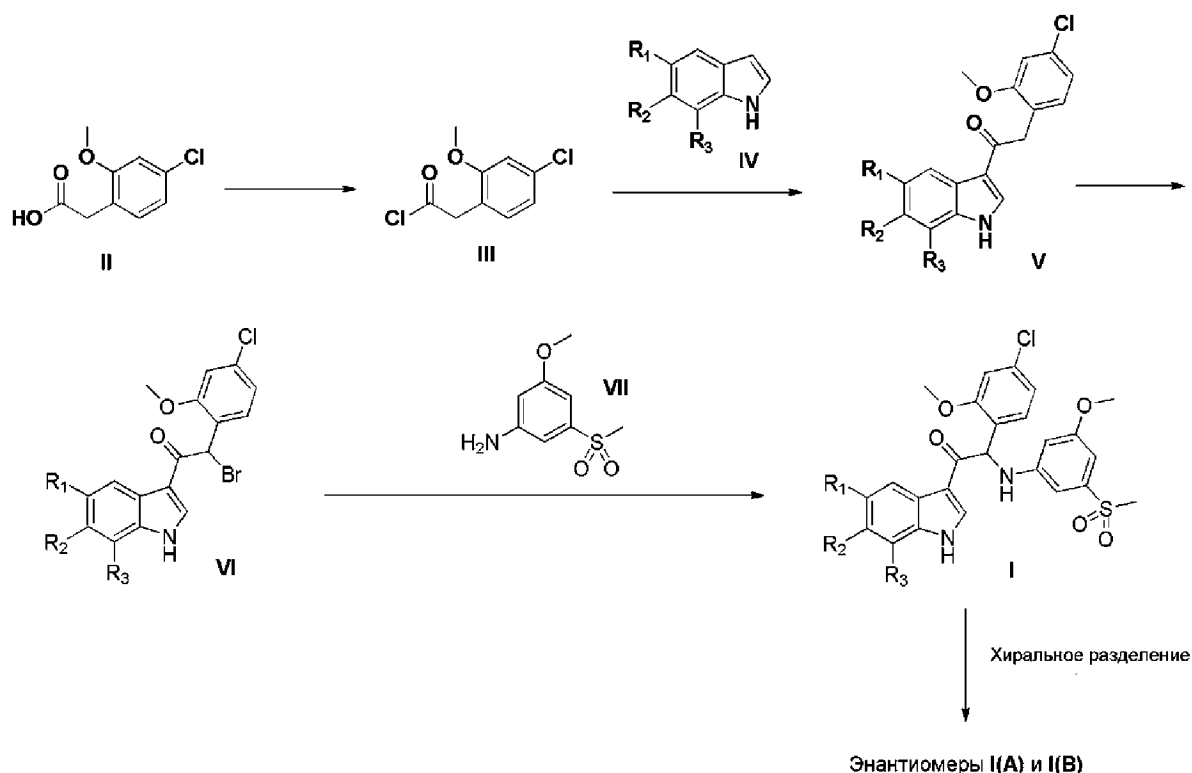


Схема 1

В некоторых случаях синтез промежуточного соединения общей формулы **V** по методу синтеза Фриделя-Крафтса зависит от наличия защитной группы (PG) при индол-N на стадии реакции Фриделя-

Крафтса, как указано на схеме 2. С этой целью замещенный индол общей формулы **IV** может быть сначала превращен в N-защищенное промежуточное соединение общей формулы **VIII**, например такое как N-тозилированное промежуточное соединение общей формулы **VIII** (PG=Ts) с применением реагента, например, такого как тозилхлорид, в присутствии основания, например, такого как гидрид натрия. Реакцию Фриделя-Крафтса замещенного индола общей формулы **IV** с хлорангидридом **III** можно осуществлять с применением реагента, представляющего собой кислоту Льюиса, например, такого как Et_2AlCl или TiCl_4 , в подходящем растворителе, например, таком как CH_2Cl_2 или 1,2-дихлорэтан, и при подходящих условиях реакции, которые, как правило (но не исключительно), включают охлаждение, с получением 3-ацилированного N-защищенного индола общей формулы **IX**. Удаление защитной группы PG индол-N промежуточного соединения общей формулы **IX** может быть осуществлено с помощью реагента, например, такого как LiOH (для PG=Ts), в смеси растворителей, например, такой как THF/вода, и при подходящей температуре реакции с получением 3-ацилированного индола общей формулы **V**.

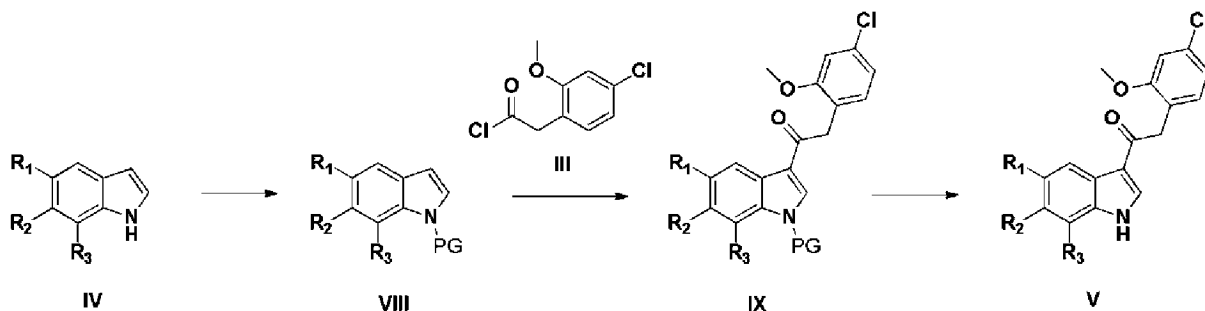


Схема 2

В качестве альтернативного подхода промежуточное соединение общей формулы **V** также можно получить как изложено на схеме 3. N-Вос-защищенный замещенный индол-3-карбальдегид общей формулы **X** можно превратить в соответствующее промежуточное соединение по типу соединения из реакции Штрекера общей формулы **XI** посредством проведения реакции с морфолином в присутствии реагентов, таких как, например, цианид натрия и бисульфит натрия, и в подходящем растворителе, таком как, например, смесь воды и смешиваемого с водой органического растворителя, такого как, например, диоксан. Алкилирование соединения общей формулы **XI** 4-хлор-2-метоксибензилхлоридом можно осуществлять в присутствии основания, такого как, например, гексаметилдисилазан калия, и в подходящем растворителе, таком как, например, DMF, с получением

соединения общей формулы **XII**. Воздействие на соединение общей формулы **XII** подходящего водного кислотного гидролитического условия, такого как, например, обработка водным раствором хлористоводородной кислоты при повышенной температуре, дает промежуточное соединение общей формулы **V**.

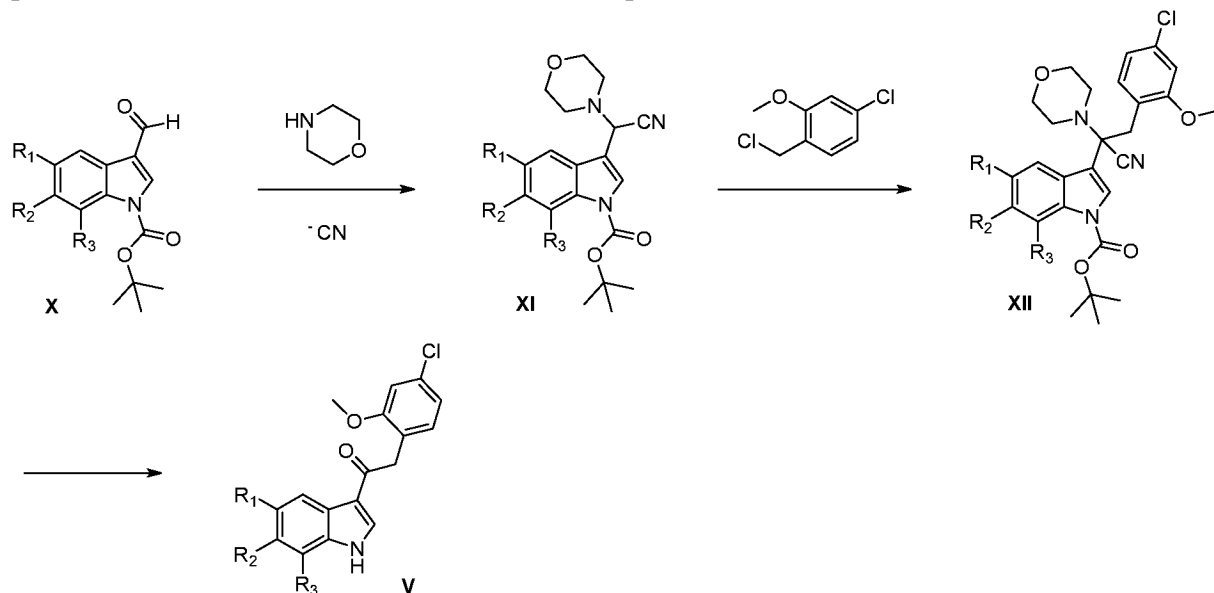


Схема 3

Примеры

Способы LC/MS

Измерения в ходе осуществления высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) проводили с помощью насоса для LC, детектора на диодной матрице (DAD) или УФ-детектора и колонки, как описано в соответствующих способах. При необходимости использовали дополнительные детекторы (см. приведенную ниже таблицу способов).

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (МС), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области техники находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т. п.) с целью получения ионов, позволяющих определить номинальный моноизотопный молекулярный вес (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по их экспериментальному времени удерживания (R_t) и ионам. Если не указано иное, то в таблице данных указанный молекулярный ион представляет собой $[M+H]^+$ (протонированную молекулу) и/или $[M-H]^-$ (депротонированную молекулу). В случае, если соединение не было непосредственно

способно к ионизации, указывают тип аддукта (т. е. $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ и т. д.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl) описанное значение является таким значением, которое получено для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с применяемым способом.

Далее в данном документе "SQD" означает одиночный квадрупольный детектор, "MSD" означает масс-селективный детектор, "RT" означает комнатную температуру, "BEH" означает мостиковый гибрид этилсиликсана/диоксида кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности.

Коды способов LCMS (поток выражен в мл/мин.; температура колонки (T) в °C; время анализа в минутах)

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток ----- T колонки	Время анализа (мин.)
LC-A	Waters: Acquity® UPLC® - DAD-SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	От 95% A до 5% A за 1,3 мин, удерживание в течение 0,7 мин	0,8 мл/мин ----- 55°C	2
LC-B	Waters: Acquity® UPLC® - DAD-SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1×100 мм)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	От 100% A до 5% A за 2,10 мин., до 0% A за 0,90 мин., до 5% A за 0,5 мин.	0,7 мл/мин ----- 55°C	3,5
LC-C	Waters: Acquity® UPLC® - DAD- Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	A: 95% 7 mM CH ₃ COONH ₄ / 5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	84,2% A в течение 0,49 мин до 10,5% A через 2,18 мин, удерживание в течение 1,94 мин, снова до 84,2% A через 0,73 мин, удерживание в течение 0,73 мин.	0,343 мл/мин ----- 40°C	6,2

LC-D	Waters: Acquity® UPLC® - DAD- Acquity® TQ детектор	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм)	A: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ (доведено до pH 10) B: CH ₃ CN	От 50% А до 10% А за 3,5 мин., удерживание в течение 1,5 мин.	0,5 мл/мин ----- 40°C	5
------	--	---	---	--	--------------------------------	---

Способы SFC-MS

Измерения в ходе SFC проводили с применением аналитической системы хроматографии (SFC) со сверхкритической подвижной фазой, укомплектованной насосом для двухкомпонентных смесей для доставки диоксида углерода (CO₂) и модификатора, автоматическим дозатором, термостатом для колонок, детектором на диодной матрице, оснащенный проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающим значения до 400 бар. При оснащении масс-спектрометром (MS) поток из колонки направляли в (MS). В компетенции специалиста в данной области техники находится установка настраиваемых параметров (например, диапазона сканирования, времени выдержки и т. п.) с целью получения ионов, позволяющих определить номинальный моноизотопный молекулярный вес (MW) соединения. Сбор данных проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Аналитические способы SFC-MS (скорость потока выражена в мл/мин.; температура колонки (Т) в °C; противодавление (BPR) в барах).

Код способа	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток ----- Т колонки	Время анализа ----- BPR
SFC-A	WHELK-01 (S,S) 5 мкм 250×4,6 мм Regis	A: CO ₂ B: MeOH	50% В с удержанием 7 мин.	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-B	Колонка Daicel Chiralpak® IC-H (5 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: MeOH	40% В с удержанием 7 мин.	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-C	WHELK-01 (S,S) 5 мкм 250×4,6 мм Regis	A: CO ₂ B: MeOH	60% В с удержанием 9 мин.	3 ----- 35	9 ----- 100
SFC-D	Колонка Daicel Chiralpak® IA-H (5 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: MeOH	50% В с удержанием 7 мин.	3 ----- 35	7 ----- 100

SFC-E	Колонка Daicel Chiralpak® AS3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH +0,2% iPrNH ₂ +3% H ₂ O	10% – 50% B за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
SFC-F	Колонка Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH +0,3% iPrNH ₂	30% B с удерживанием 7 мин.	3 ----- 35	7 ----- 100

Точки плавления

Значения представляют собой либо максимальные значения, либо диапазоны точек плавления, и их получают с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с данным аналитическим способом.

DSC823e (обозначен как DSC)

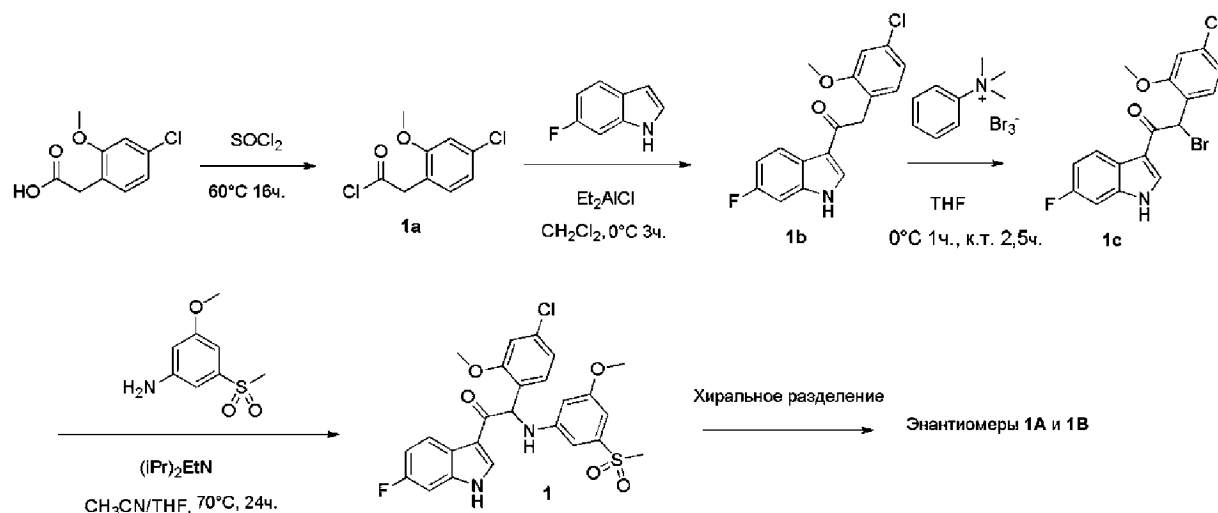
Для ряда соединений точки плавления определяли с помощью DSC823e (Mettler-Toledo). Точки плавления измеряли при градиенте температуры 10°C/минута. Максимальная температура составляла 300°C.

Углы оптического вращения

Углы оптического вращения измеряли на поляриметре Perkin-Elmer 341 с натриевой лампой и обозначали следующим образом: $[\alpha]^\circ$ (λ , с г/100 мл, растворитель, T °C).

$[\alpha]_\lambda^T = (100\alpha) / (l \times c)$: где l означает длину пробега в дм, а c означает концентрацию в г/100 мл для образца при температуре T (°C) и длине волны λ (в нм). Если используемая длина волны света составляет 589 нм (D-линия натрия), то вместо этого можно использовать символ D. Всегда следует приводить знак направления вращения (+ или -). В случае применения данного уравнения концентрацию и растворитель всегда приводят в круглых скобках после угла вращения. Угол вращения указывают в градусах, а единицы концентрации не приводят (принято, что они представлены в г/100 мл).

Пример 1. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1H-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **1**) и хиральное разделение на энантиомеры **1A** и **1B**.



Синтез промежуточного соединения 1a

2-(4-Хлор-2-метоксифенил)уксусную кислоту [CAS 170737-95-8] (5,8 г, 28,9 ммоль) добавляли небольшими порциями к тионилхлориду (50 мл) и полученный раствор перемешивали в течение ночи при 60°C . Растворитель концентрировали при пониженном давлении и выпаривали совместно с толуолом с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (6,5 г) в виде маслянистого остатка, который применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 1b

Добавляли по каплям при 0°C 1 М диэтилалюминия хлорид в гексане (37,1 мл, 37,1 ммоль) к раствору 6-фтор-1H-индола [CAS 399-51-9] (3,34 г, 24,76 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл). Через 30 мин. при 0°C раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (6,3 г, 28,76 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) медленно добавляли при 0°C . Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли ледяную воду и осадок отфильтровывали, промывали водой и небольшим количеством CH_2Cl_2 . Твердые вещества высушивали под вакуумом при 70°C в течение ночи с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1H-индол-3-ил)этанона **1b** (4,9 г).

Синтез промежуточного соединения 1c

Добавляли по каплям при 0°C раствор трибромида фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (5,8 г, 15,4 ммоль) в THF (65 мл) к смеси 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1H-индол-3-ил)этанона **1b** (4,9 г, 15,4 ммоль) в THF (60 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. и при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Осадок отфильтровывали и промывали EtOAc. Объединенные фильтраты концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали EtOAc и промывали водой. В органическом слое

появлялся осадок, и его отфильтровывали и высушивали с получением первой партии 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1*H*-индол-3-ил)этанона **1c** (4,6 г). Органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из EtOAc , осадок отфильтровывали, промывали Et_2O и высушивали под вакуумом с получением второй фракции 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1*H*-индол-3-ил)этанона **1c** (1,6 г).

Синтез соединения 1 и хиральное разделение энантиомеров 1A и 1B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1*H*-индол-3-ил)этанона **1c** (3 г, 7,56 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (2,28 мг, 11,35 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,95 мл, 11,35 ммоль) в CH_3CN (60 мл) и THF (30 мл) перемешивали при 70°C в течение 24 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc . Органический слой промывали 1 н. HCl (два раза) и водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, подвижная фаза: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99,5/0,5). Выполняли вторую очистку флеш-хроматографией на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, подвижная фаза: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99,7/0,3). Чистые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **1**, 2 г) в виде рацемической смеси.

Энантиомеры соединения **1** разделяли посредством хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H 5 мкм 20×250 мм, подвижная фаза: 50% CO_2 , 50% MeOH) с получением 740 мг первого элюированного энантиомера и 720 мг второго элюированного энантиомера. Первый элюированный энантиомер кристаллизовали из $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением энантиомера **1A** (645 мг). Второй элюированный энантиомер кристаллизовали из $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением энантиомера **1B** (632 мг).

Соединение 1

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,24 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 6,58 (s, 2 H) 6,91 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,7, 1,9$ Гц, 1 H) 7,02-7,09 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=1,9$ Гц, 1 H) 7,27 (dd, $J=9,5, 1,9$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,5$ Гц,

1 H) 8,14 (dd, $J=8,7, 5,5$ Гц, 1 H) 8,44 (s, 1 H) 12,10 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,08 мин, MH^+ 517

Температура плавления: 174°C

Энантиомер 1A

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,24 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 6,59 (s, 2 H) 6,91 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,8, 2,2$ Гц, 1 H) 7,02-7,10 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=2,2$ Гц, 1 H) 7,27 (dd, $J=9,6, 2,2$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,2$ Гц, 1 H) 8,14 (dd, $J=8,8, 5,7$ Гц, 1 H) 8,44 (s, 1 H) 12,10 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,09 мин, MH^+ 517

$[\alpha]_D^{20}$: +130,3° (с 0,277, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-D): R_t 3,41 мин, MH^+ 517, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 220°C

Энантиомер 1B

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,24 (d, $J=7,6$ Гц, 1 H) 6,53-6,65 (m, 2 H) 6,91 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,6, 2,0$ Гц, 1 H) 7,01-7,09 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=2,0$ Гц, 1 H) 7,27 (dd, $J=9,6, 2,0$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 8,14 (dd, $J=8,6, 5,6$ Гц, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 12,09 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,09 мин, MH^+ 517

$[\alpha]_D^{20}$: -135,3° (с 0,283, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-D): R_t 4,89 мин, MH^+ 517, хиральная чистота 99,35%.

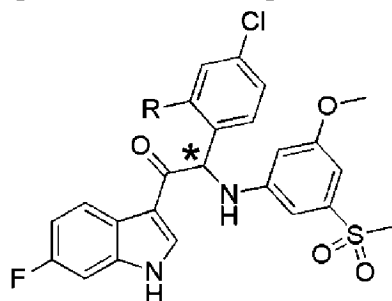
Температура плавления: 218°C

Пример 1.1. Хиральная устойчивость энантиомера **1A** при pH 7,4

Хиральную устойчивость энантиомера **1A** (R=OMe) оценивали посредством определения энантиомерного избытка (ee%) после инкубирования в течение 24 ч. и 48 ч. в буферном растворе при pH 7,4 при 40°C и 60°C. Для оценки влияния метокси-заместителя энантиомера **1A** (R=OMe) на устойчивость к рацемизации тестировали хиральную устойчивость энантиомера **1'A** (R=H) при тех же условиях.

С этой целью получали 5 мкМ буферные (pH=7,4) растворы **1A** и **1'A** посредством смешивания 25 мкл 100 мкМ раствора **1A** или **1'A** в DMSO с 475 мкл водного буфера pH 7,4. Образцы помещали на 24 ч.

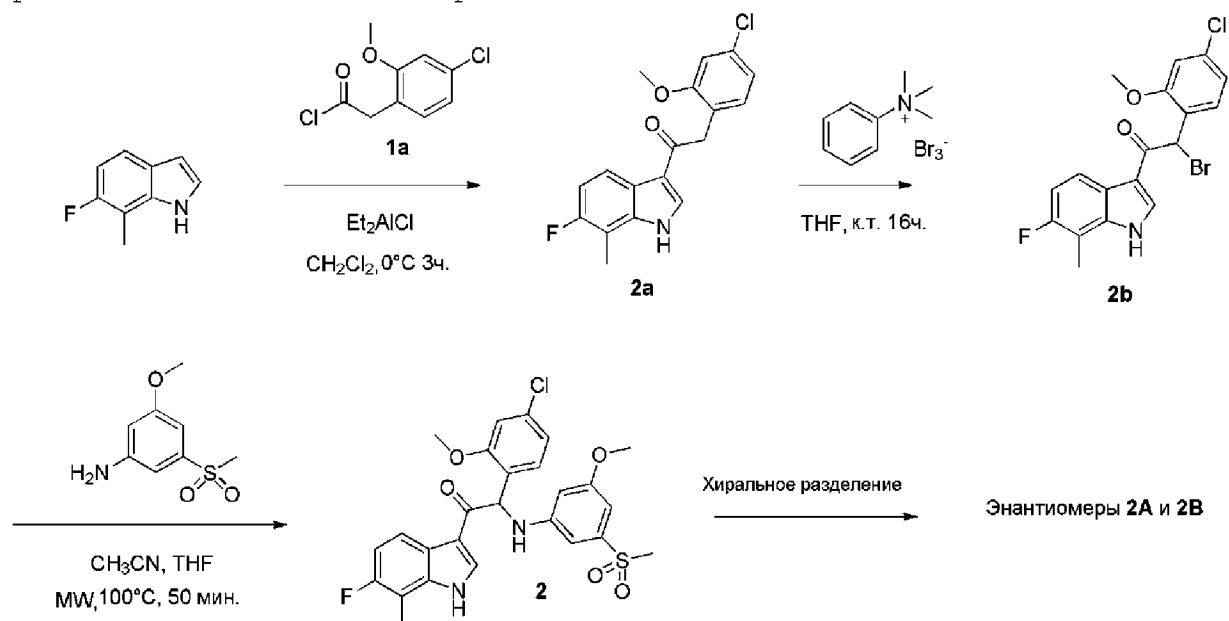
и 48 ч. после инкубирования при 40°C и 60°C. Аналитические образцы анализировали с помощью хиральной SFC (определение MS) и хиральную чистоту выражали в качестве энантиомерного избытка ($ee\% = \% \text{энантиомера А} - \% \text{энантиомера В}$). Оба энантиомера **1A** и **1'A** характеризовались хиральной чистотой 100% до их инкубирования.



1A (R = OMe)
1'A (R = H)

Соединение	Температура	ee%	
		Моменты времени отбора проб (ч.)	
		24	48
1A	40°C	100	100
	60°C	95	88
1'A	40°C	21	10
	60°C	0	0

Пример 2. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **2**) и хиральное разделение на энантиомеры **2A** и **2B**.



Синтез промежуточного соединения 2a

Добавляли по каплям 1 М диэтилалюминия хлорид в гексане (20 г, 20,0 ммоль) при 0°C к раствору 6-фтор-7-метил-1*H*-индола [CAS 57817-10-4] (1,50 г, 10,1 ммоль) в CH₂Cl₂ (45 мл). Через 30 мин. при 0°C медленно добавляли раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида (3,30 г, 15,1 ммоль, синтез: см. пример 1) в дихлорметане (30 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли 1 М раствор соли Рошеля (50 мл) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Твердые вещества отфильтровывали и распределяли между EtOAc и 1 н. HCl. Фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc. Органические фазы объединяли, промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растирали в порошок с EtOAc и гептаном. Осадок отфильтровывали с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **2a** (2,00 г).

Синтез промежуточного соединения 2b

Добавляли по каплям при 0°C раствор трибромида фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (2,49 г, 6,6 ммоль) в THF (45 мл) к раствору 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **2a** (2,00 г, 6,0 ммоль) в THF (65 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Осадок отфильтровывали и промывали EtOAc. Объединенные фильтраты концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали минимальным количеством ацетонитрила. Осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом и высушивали под вакуумом с получением первой партии 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **2b** (1,51 г). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали минимальным количеством ацетонитрила. Осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом и высушивали под вакуумом с получением второй фракции 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **2b** (0,70 г).

Синтез соединения 2 и хиральное разделение энантиомеров 2A и 2B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **2b** (1,8 г, 4,36 ммоль) и 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (2,6 г, 13,0 ммоль) в THF (9 мл) и CH₃CN (9 мл) нагревали микроволновым излучением при

100°C в течение 50 мин. Реакционную смесь разбавляли EtOAc и промывали 1 н. HCl. Фазы разделяли. Органическую фазу промывали водным насыщенным раствором NaHCO₃ и соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали минимальным количеством ацетонитрила. Осадок отфильтровывали, промывали ацетонитрилом и высушивали под вакуумом с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-7-метил-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **2**, 1,7 г) в виде рацемической смеси.

Хиральное разделение энантиомеров соединения **2** (1,59 г) осуществляли посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: (S,S)-Whelk-01 5 мкм 250×21,1 мм, подвижная фаза: 50% CO₂, 50% MeOH). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Первый элюированный энантиомер (746 мг) дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, подвижная фаза: CH₂Cl₂/MeOH 99,5/0,5). Чистые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении (560 мг). Остаток отверждали посредством растирания со смесью Et₂O и нескольких капель CH₃CN. Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением энантиомера **2A** (473 мг). Второй элюированный энантиомер (732 мг) дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, подвижная фаза: CH₂Cl₂/MeOH 99,5/0,5). Чистые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении (550 мг). Остаток отверждали посредством растирания со смесью Et₂O и нескольких капель CH₃CN. Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением энантиомера **2B** (457 мг).

Соединение 2

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,38 (d, *J*=1,5 Гц, 3 H) 3,10 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,27 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,55-6,63 (m, 2 H) 6,93 (m, 1 H) 6,94-7,09 (m, 3 H) 7,13 (d, *J*=1,9 Гц, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,3 Гц, 1 H) 7,97 (dd, *J*=8,7, 5,3 Гц, 1 H) 8,45 (s, 1H) 12,23 (br. s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-D): R_t 1,68 мин, MH⁺ 531

Энантиомер 2A

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,37-2,39 (m, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,26 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,54-6,63 (m, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,4, 1,9 Гц, 1 H) 7,02

(dd, $J=9,9, 9,0$ Гц, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 7,13 (d, $J=1,9$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H) 7,96 (dd, $J=8,5, 5,4$ Гц, 1 H) 8,45 (s, 1 H) 12,24 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,20 мин, MH^+ 531

$[\alpha]_D^{20}$: +104,5° (с 0,2545, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 4,22 мин, MH^+ 531, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 2В

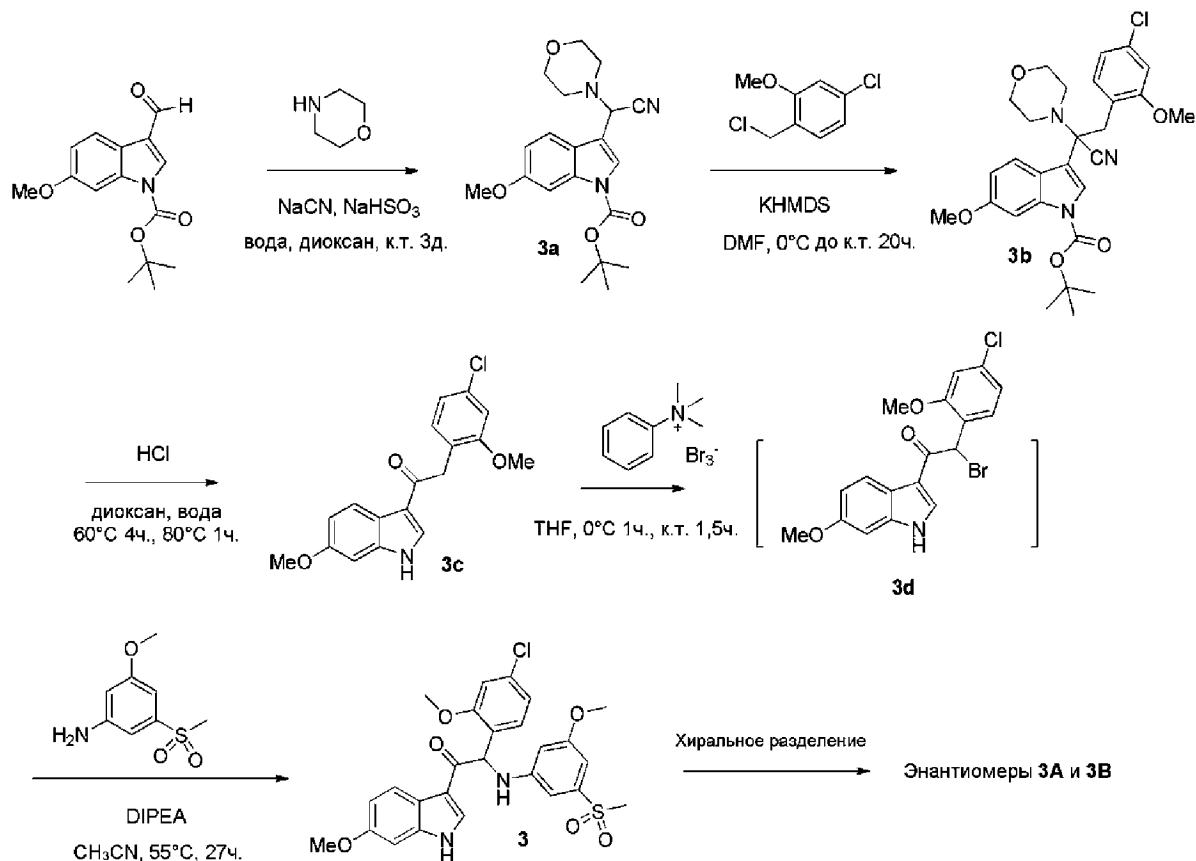
1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 2,36-2,41 (m, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,26 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 6,57-6,64 (m, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,2, 1,9$ Гц, 1 H) 6,99-7,04 (m, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 7,13 (d, $J=1,9$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,2$ Гц, 1 H) 7,96 (dd, $J=8,7, 5,2$ Гц, 1 H) 8,45 (s, 1 H) 12,24 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,20 мин, MH^+ 531

$[\alpha]_D^{20}$: -104,1° (с 0,2536, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 5,12 мин, MH^+ 531, хиральная чистота 99,53%.

Пример 3. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-1H-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **3**) и хиральное разделение на энантиомеры **3А** и **3В**.



Синтез промежуточного соединения 3a

Раствор NaHSO_3 (5,7 г, 54,5 ммоль) в воде (45 мл) добавляли к перемешиваемому раствору *трет*-бутил-3-формил-6-метокси-1*H*-индол-1-карбоксилата [CAS 847448-73-1] (10 г, 36,3 ммоль) в диоксане (45 мл). Через 15 мин. добавляли морфолин (4,8 мл, 54,5 ммоль) и спустя 35 мин. добавляли цианид натрия (NaCN) (1,96 г, 40 ммоль). Полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней до завершения реакции. Продукт отфильтровывали и промывали смесью 1/1 диоксан/вода (3х 35 мл) и затем водой (3х 45 мл) и высушивали под вакуумом при 60°C. Твердые вещества взбалтывали в Et_2O (125 мл), отфильтровывали, промывали с помощью Et_2O (3х) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением *трет*-бутил-3-(циано(морфолино)метил)-6-метокси-1*H*-индол-1-карбоксилата **3a** (12,3 г).

Синтез промежуточного соединения 3b

Смесь *трет*-бутил-3-(циано(морфолино)метил)-6-метокси-1*H*-индол-1-карбоксилата **3a** (6,0 г, 16,2 ммоль) в сухом DMF (80 мл) перемешивали в атмосфере N_2 при охлаждении на ледяной бане. Добавляли по каплям раствор 0,5 М KHMDs в толуоле (35,5 мл, 17,8 ммоль) в течение 10 мин. После перемешивания в течение дополнительных 10 мин. добавляли 4-хлор-1-(хлорметил)-2-метоксибензол [CAS 101079-84-9] (3,09 г, 16,2 ммоль) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь выливали в холодную воду (400 мл) и продукт экстрагировали с помощью Et_2O (2х). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с ксилолом. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 120 г, подвижная фаза: гептан/ EtOAc , градиент от 100/0 до 20/80). Необходимые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с диоксаном с получением *трет*-бутил-3-(2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-циано-1-морфолиноэтил)-6-метокси-1*H*-индол-1-карбоксилата **3b** (7,75 г).

Синтез промежуточного соединения 3c:

К перемешиваемой суспензии *трет*-бутил-3-(2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-циано-1-морфолиноэтил)-6-метокси-1*H*-индол-1-карбоксилата **3b** (7,75 г, 14,7 ммоль) в диоксане (40 мл) и воде (20 мл) добавляли раствор HCl 6 М в изопропанол (36,8 мл, 220 ммоль). Полученную в результате смесь перемешивали при 60°C в

течение 4 ч. и затем при 80°C в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь оставляли на 20 ч. для обеспечения кристаллизации продукта реакции. Продукт отфильтровывали, промывали смесью 1/1/1 *i*PrOH/H₂O/диоксан (2х 15 мл) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-1*H*-индол-3-ил)этанона **3с** (3,67 г).

Синтез соединения 3 и хиральное разделение энантиомеров 3А и 3В

Перемешиваемую смесь 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-1*H*-индол-3-ил)этанона **3с** (2 г, 6,07 ммоль) в THF (80 мл) охлаждали на ледяной бане в атмосфере N₂. Добавляли трибромид фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (2,39 г, 6,37 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при 0°C в течение 1 ч. и затем при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Добавляли 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилин [CAS 62606-02-4] (3,66 г, 18,2 ммоль) и выпаривали растворитель при пониженном давлении. Остаток растворяли в CH₃CN (100 мл). Добавляли диизопропилэтиламин (2,09 мл, 12,1 ммоль) и нагревали реакционную смесь при 55°C в течение 27 ч. Обеспечивали остывание реакционной смеси до комнатной температуры и вливали в воду с перемешиванием (400 мл). Продукт экстрагировали с помощью 2-МеTHF (2х). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток (8 г) очищали посредством флеш-хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 120 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc, градиент от 100/0 до 0/100). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток (5,4 г) дополнительно очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD - 10 мкм, 50×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH₄HCO₃ в воде, CH₃CN). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении и затем выпаривали совместно с MeOH. Остаток кристаллизовали из смеси EtOAc (15 мл), CH₃CN (2 мл) и MeOH (2 мл). Твердые вещества отфильтровывали, промывали EtOAc (3х) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **3**, 681 мг) в виде рацемической смеси.

Хиральное разделение энантиомеров соединения **3** (0,63 г) осуществляли посредством хирального разделения с использованием

нормальной фазы (неподвижная фаза: AS 20 мкм, подвижная фаза: 100% метанол). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Первый элюированный энантиомер очищали посредством колоночной хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 12 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH, градиент от 100/0/0 до 40/45/15). Желаемые фракции объединяли, выпаривали, а затем выпаривали совместно с EtOAc. Оставшееся масло отверждали путем перемешивания в H₂O (4 мл) и медленного добавления MeOH (1,6 мл). После перемешивания в течение 20 минут продукт отфильтровывали, промывали (3х) смесью 1/2 MeOH/H₂O и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера **3А** (168 мг) в виде аморфного твердого вещества. Второй элюированный энантиомер очищали посредством колоночной хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 12 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH, градиент от 100/0/0 до 40/45/15). Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с EtOAc. Оставшуюся пену отверждали путем перемешивания в H₂O (4 мл) и медленного добавления MeOH (2 мл). После перемешивания в течение 15 минут продукт отфильтровывали, промывали (3х) смесью 1/2 MeOH/H₂O и высушивали при 50°C под вакуумом с получением энантиомера **3В** (146 мг) в виде аморфного твердого вещества.

Соединение 3

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,21 (d, J=7,9 Гц, 1 H) 6,54-6,64 (m, 2 H) 6,83 (dd, J=8,7, 2,3 Гц, 1 H) 6,91 (t, J=1,4 Гц, 1 H) 6,94-6,99 (m, 2 H) 7,04 (d, J=7,7 Гц, 1 H) 7,12 (d, J=2,0 Гц, 1 H) 7,35 (d, J=8,1 Гц, 1 H) 8,02 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 11,84 (s, 1 H) LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,20 мин, MH⁺ 529

Энантиомер 3А

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,22 (d, J=8,1 Гц, 1 H) 6,55-6,61 (m, 2 H) 6,84 (dd, J=8,8, 2,2 Гц, 1 H) 6,91 (t, J=1,8 Гц, 1 H) 6,94-7,00 (m, 2 H) 7,07 (d, J=7,0 Гц, 1 H) 7,13 (d, J=1,8 Гц, 1 H) 7,35 (d, J=8,4 Гц, 1 H) 8,02 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 8,32 (d, J=2,9 Гц, 1 H) 11,87 (d, J=2,6 Гц, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,08 мин, MH⁺ 529

[α]_D²⁰: +134,9° (с 0,545, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 4,31 мин, MH^+ 529, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 3В

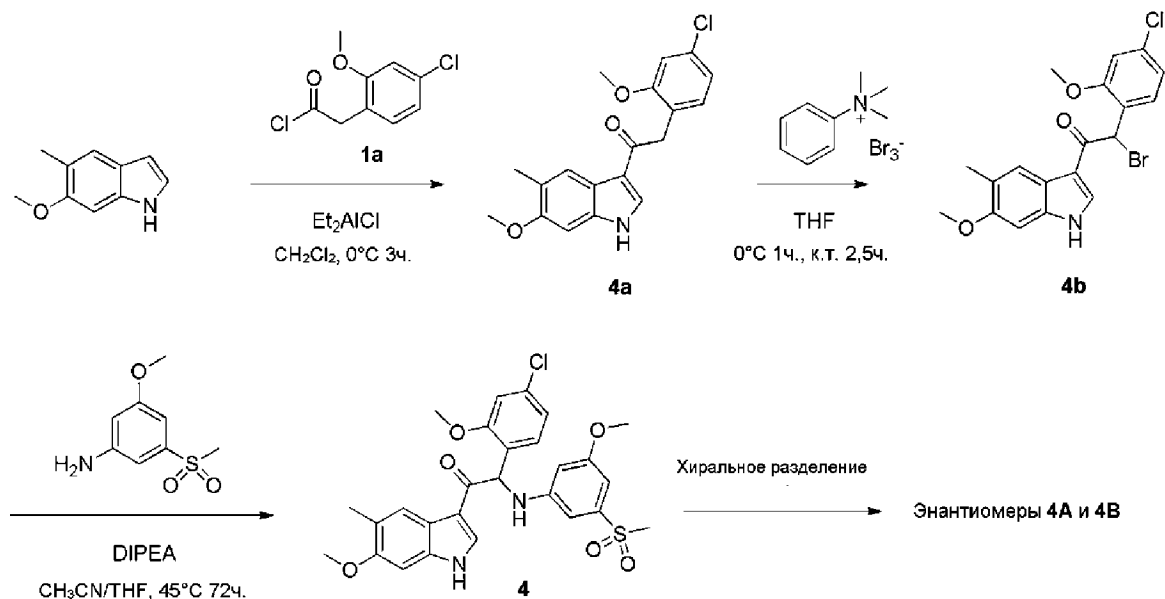
1H ЯМР (360 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,21 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 6,54–6,62 (m, 2 H) 6,83 (dd, $J=8,6, 2,4$ Гц, 1 H) 6,91 (t, $J=1,5$ Гц, 1 H) 6,94–6,99 (m, 2 H) 7,07 (d, $J=7,0$ Гц, 1 H) 7,13 (d, $J=1,8$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 8,02 (d, $J=8,8$ Гц, 1 H) 8,32 (d, $J=2,9$ Гц, 1 H) 11,87 (br d, $J=2,2$ Гц, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,08 мин, MH^+ 529

$[\alpha]_D^{20}$: $-116,7^\circ$ (с 0,51, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 4,63 мин, MH^+ 529, хиральная чистота 94,7%.

Пример 4. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(6-метокси-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **4**) и хиральное разделение на энантиомеры **4А** и **4В**.



Синтез промежуточного соединения 4а

Добавляли по каплям 1 М диэтилалюминия хлорид в гексане (13,5 мл, 13,5 ммоль) при $0^\circ C$ к раствору 6-метокси-5-метил-1*H*-индола [CAS 1071973-95-9] (1,45 г, 9 ммоль) в CH_2Cl_2 (45 мл). Через 30 мин. при $0^\circ C$ медленно добавляли раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (2,4 г, 10,9 ммоль) в CH_2Cl_2 (45 мл) при $0^\circ C$. Реакционную смесь перемешивали при $0^\circ C$ в течение 3 ч. Добавляли ледяную воду и осадок отфильтровывали и промывали водой. Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением 2-

(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **4a** (2,1 г).

Синтез промежуточного соединения **4b**

Добавляли по каплям при 0°C раствор трибромид арилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (2,4 г, 6,4 ммоль) в THF (65 мл) к смеси 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **4a** (2,1 г, 6,1 ммоль) в THF (60 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. и при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Осадок отфильтровывали и промывали EtOAc. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали минимальным количеством диизопропилового эфира. Осадок отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **4b** (2,36 г).

Синтез соединения **4** и хиральное разделение энантиомеров **4A** и **4B**

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **4b** (4,0 г, 9,46 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (2,86 г, 14,2 ммоль) и диизопропилэтиламина (2,44 мл, 14,2 ммоль) в CH₃CN/THF (1/1) (100 мл) перемешивали при 45°C в течение 72 ч. Растворители удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в EtOAc. Органический слой промывали два раза 1*N*. HCl, промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Соединение кристаллизовали из CH₃CN/диизопропилового эфира с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(6-метокси-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **4**, 1,1 г) в виде рацемической смеси.

Хиральное разделение энантиомеров соединения **4** осуществляли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: (S,S)-Whelk-O1 5 мкм 250×21,1 мм, подвижная фаза: 45% CO₂, 55% MeOH) с получением 500 мг первого элюированного энантиомера и 531 мг второго элюированного энантиомера. Первый элюированный энантиомер кристаллизовали из CH₃CN/Et₂O с получением энантиомера **4A** (401 мг). Второй элюированный энантиомер кристаллизовали из CH₃CN/Et₂O с получением энантиомера **4B** (396 мг).

Соединение **4**

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,20 (d, *J*=7,9 Гц, 1

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,58 (s, 2 H) 6,88-6,93 (m, 2 H) 6,96 (dd, *J*=8,5, 1,9 Гц, 1 H) 7,02 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Гц, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,5 Гц, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,24 (s, 1 H) 11,78 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): *R*_t 3,16 мин, МН⁺ 543

Температура плавления: 208°C

Энантиомер 4А

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,20 (d, *J*=7,6 Гц, 1 H) 6,58 (d, *J*=1,6 Гц, 2 H) 6,87-6,93 (m, 2 H) 6,96 (dd, *J*=8,2, 1,9 Гц, 1 H) 7,02 (d, *J*=7,6 Гц, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Гц, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Гц, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,25 (s, 1 H) 11,78 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): *R*_t 3,15 мин, МН⁺ 543

[α]_D²⁰: +141,8° (с 0,3936, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-C): *R*_t 4,95 мин, МН⁺ 543, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 173°C

Энантиомер 4В

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,20 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,58 (s, 2 H) 6,88-6,93 (m, 2 H) 6,96 (dd, *J*=8,2, 1,9 Гц, 1 H) 7,02 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Гц, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Гц, 1 H) 7,90 (s, 1 H) 8,25 (s, 1 H) 11,79 (br. s., 1 H)

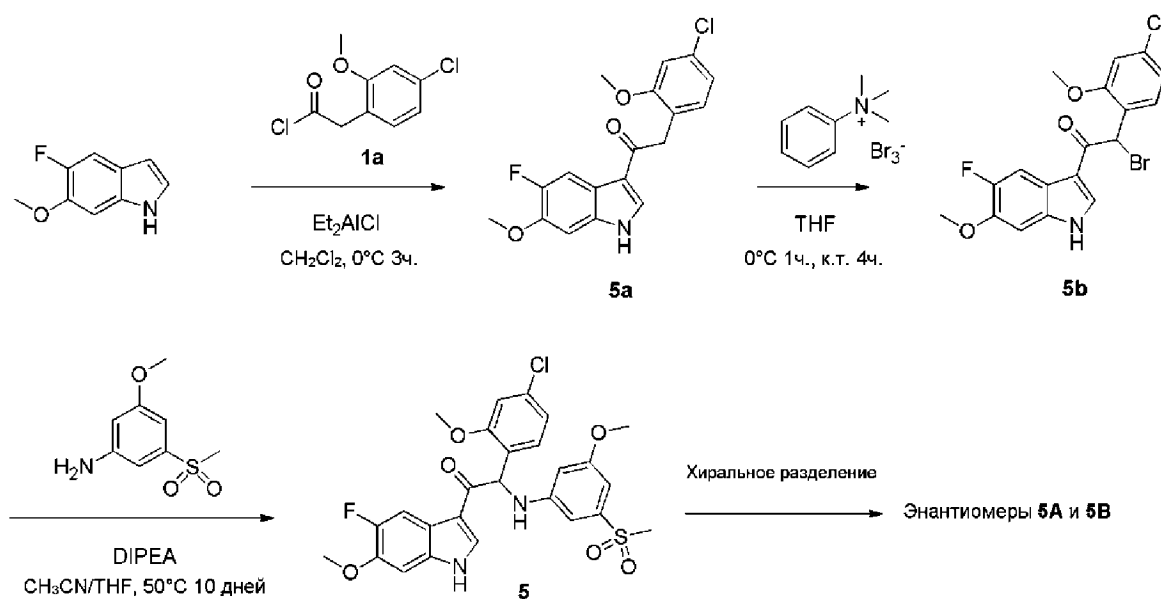
LC/MS (Способ LC-C): *R*_t 3,15 мин, МН⁺ 543

[α]_D²⁰: -142,2° (с 0,3909, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-C): *R*_t 6,84 мин, МН⁺ 543, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 174°C

Пример 5. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-фтор-6-метокси-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **5**) и хиральное разделение на энантиомеры **5А** и **5В**.



Синтез промежуточного соединения 5a

Добавляли по каплям 1 М диэтилалюминия хлорид в гексане (15,7 мл, 15,7 ммоль) при 0°C к раствору 5-фтор-6-метокси-1H-индола [CAS 1211595-72-0] (2 г, 12,1 ммоль) в CH₂Cl₂ (50 мл). Через 30 мин. при 0°C медленно добавляли раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (3,2 г, 14,6 ммоль) в CH₂Cl₂ (50 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли ледяную воду и осадок отфильтровывали, промывали водой и минимальным количеством CH₂Cl₂. Твердое вещество высушивали под вакуумом с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-фтор-6-метокси-1H-индол-3-ил)этанона **5a** (2,82 г).

Синтез промежуточного соединения 5b

Добавляли по каплям при 0°C раствор трибромида фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (3,5 г, 8,1 ммоль) в THF (20 мл) к раствору 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-фтор-6-метокси-1H-индол-3-ил)этанона **5a** (2,82 г, 8,1 ммоль) в THF (46 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. и при комнатной температуре в течение 4 ч. Осадок отфильтровывали и промывали EtOAc. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в EtOAc и промывали водой. Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток поглощали минимальным количеством EtOAc. Осадок отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-фтор-6-метокси-1H-индол-3-ил)этанона **5b** (2,5 г).

Синтез соединения 5 и хиральное разделение энантиомеров 5A и 5B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-фтор-6-метокси-1*H*-индол-3-ил)этанона **5b** (2,5 г, 5,86 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (1,415 г, 7,03 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,515 мл, 8,79 ммоль) в CH₃CN (55 мл) и THF (100 мл) перемешивали при 50°C в течение 10 дней. Растворители удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, подвижная фаза: CH₂Cl₂/CH₃OH 99,25/0,75). Чистые фракции объединяли и выпаривали. Соединение растворяли в EtOAc и перемешивали 1 н. HCl в течение 15 мин. Появлялся осадок, и его отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-фтор-6-метокси-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **5**, 1,3 г) в виде рацемической смеси.

Хиральное разделение энантиомеров соединения **5** осуществляли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IC 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 55% CO₂, 45% MeOH). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали. Первый элюированный энантиомер отверждали посредством растирания с гептаном/диизопропиловым эфиром. Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением энантиомера **5A** (502 мг) в виде аморфного белого порошка. Второй элюированный энантиомер отверждали посредством растирания с гептаном/диизопропиловым эфиром. Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением энантиомера **5B** (490 мг) в виде аморфного белого порошка.

Соединение 5

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,21 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,58 (d, *J*=1,3 Гц, 2 H) 6,90 (s, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,2, 1,9 Гц, 1 H) 7,06 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,10-7,18 (m, 2 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Гц, 1 H) 7,82 (d, *J*=12,0 Гц, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,98 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,01 мин, MH⁺ 547

Температура плавления: 182°C

Энантиомер 5A

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,21 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,58 (d, *J*=1,3 Гц, 2 H) 6,90 (s, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,2, 2,0 Гц, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,11-7,17 (m, 2 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Гц, 1 H) 7,82 (d, *J*=11,7 Гц, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,98 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,00 мин, MH^+ 547

$[\alpha]_D^{20}$: +136,4° (с 0,28, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 3,43 мин, MH^+ 547, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 5В

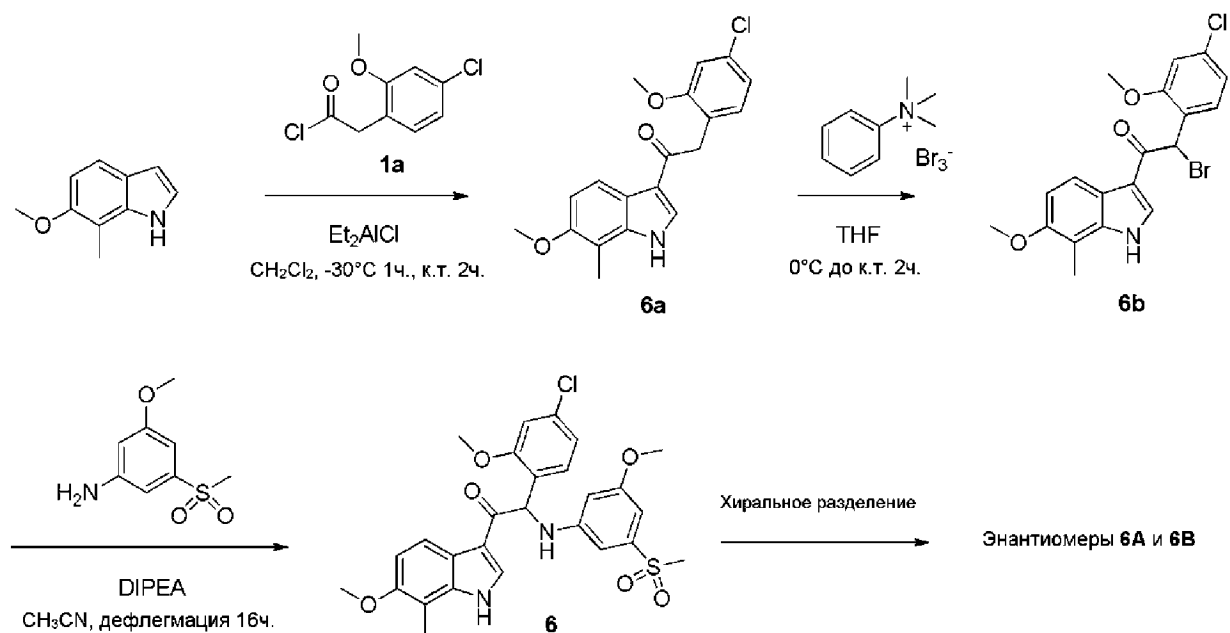
1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,21 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 6,58 (d, $J=1,3$ Гц, 2 H) 6,90 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,2, 2,0$ Гц, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 7,11–7,19 (m, 2 H) 7,34 (d, $J=8,2$ Гц, 1 H) 7,82 (d, $J=11,7$ Гц, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,95 (br. s., 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,00 мин, MH^+ 547

$[\alpha]_D^{20}$: -126,3° (с 0,2755, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 4,80 мин, MH^+ 547, хиральная чистота 98,06%.

Пример 6. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(6-метокси-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **6**) и хиральное разделение на энантиомеры **6А** и **6В**.



Синтез промежуточного соединения 6а

Добавляли по каплям 1 М диэтилалюминия хлорид в гексане (32,8 мл, 32,8 ммоль) к охлажденному ($-30^\circ C$) раствору 6-метокси-7-метил-1*H*-индола [CAS 19500-05-1] (3,53 г, 21,9 ммоль) в CH_2Cl_2 (150 мл). После перемешивания в течение 15 мин. при $-30^\circ C$ медленно добавляли раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (6,71 г, 30,6 ммоль) в CH_2Cl_2 (150 мл) при $-30^\circ C$. Реакционную смесь перемешивали при $-30^\circ C$ в течение

1 ч. и обеспечивали ее нагревание до комнатной температуры при перемешивании в течение 2 ч. Реакционную смесь вливали в ледяную воду/раствор соли Рошеля. Смесь фильтровали через тонкий слой Dicalite® и осадок на фильтре несколько раз промывали THF. Слои разделяли. Водный слой экстрагировали с помощью THF. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Твердый остаток суспендировали в CH_2Cl_2 (50 мл) и твердые вещества отфильтровывали и промывали небольшим количеством CH_2Cl_2 и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **6a** (6,85 г) в виде грязно-белого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 6b

Добавляли по каплям при 0°C раствор трибромид анилина [CAS 4207-56-1] (8,2 г, 21,8 ммоль) в THF (150 мл) к раствору 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **6a** (6,8 г, 19,8 ммоль) в THF (250 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Осадок отфильтровывали и промывали THF. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из CH_2Cl_2 . Осадок отфильтровывали, промывали CH_2Cl_2 (2х) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **6b** (5,38 г).

Синтез соединения 6 и хиральное разделение энантиомеров 6A и 6B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **6b** (1,96 г, 4,65 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (1,40 г, 6,97 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,20 мл, 6,97 ммоль) в CH_3CN (50 мл) нагревали с применением обратного холодильника в течение ночи. Растворители удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в CH_2Cl_2 и промывали 0,5 н. HCl и водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (неподвижная фаза: Biotage® SNAP Ultra 100 г, подвижная фаза: EtOAc:EtOH (3:1)/гептан, градиент от 0/100 до 50/50). Чистые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-(3-метокси-5-

(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(6-метокси-7-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **6**, 1,0 г) в виде рацемической смеси.

Хиральное разделение энантиомеров соединения **6** (1,0 г) осуществляли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® Diacel OD 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH, содержащая 0,2% *i*PrNH₂). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали. Первый элюированный энантиомер отверждали посредством растирания со смесью MeOH/вода (1/1). Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера **6A** (368 мг) в виде аморфного белого порошка. Второй элюированный энантиомер отверждали посредством растирания со смесью MeOH/вода (1/1). Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера **6B** (303 мг) в виде аморфного белого порошка.

Энантиомер 6A

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 3,10 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 4,02 (s, 3 H) 6,24 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 6,56-6,59 (m, 1 H) 6,59-6,62 (m, 1 H) 6,92 (t, *J*=1,6 Гц, 1 H) 6,93-6,99 (m, 2 H) 7,06 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,8 Гц, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,4 Гц, 1 H) 7,94 (d, *J*=8,4 Гц, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,91 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,18 мин, MH⁺ 543

[α]_D²⁰: +122,9° (с 0,48, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 4,15 мин MH⁺ 543, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 6B

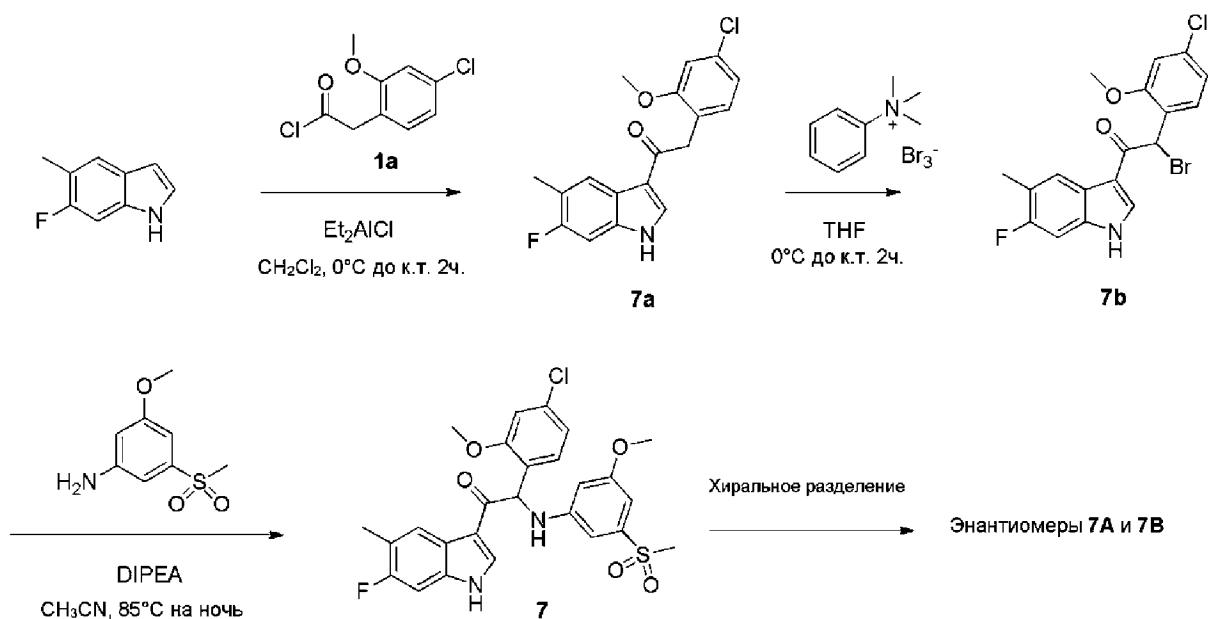
¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 3,10 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 4,02 (s, 3 H) 6,24 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 6,57-6,59 (m, 1 H) 6,59-6,62 (m, 1 H) 6,92 (t, *J*=1,8 Гц, 1 H) 6,93-7,00 (m, 2 H) 7,06 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,8 Гц, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,1 Гц, 1 H) 7,94 (d, *J*=8,8 Гц, 1 H) 8,35 (d, *J*=2,2 Гц, 1 H) 11,91 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,22 мин, MH⁺ 543

[α]_D²⁰: -120,6° (с 0,2755, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 4,50 мин, MH⁺ 543, хиральная чистота 99,35%.

Пример 7. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-5-метил-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **7**) и хиральное разделение на энантиомеры **7A** и **7B**.



Синтез промежуточного соединения **7a**

Раствор 6-фтор-5-метил-1*H*-индола [CAS 162100-95-0] (1,7 г, 11,4 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере N_2 . Добавляли по каплям 1 М раствор диэтилалюминия хлорида в гексане (17,1 мл, 17,1 ммоль) и полученную в результате смесь выдерживали при 0°C в течение 15 мин. Добавляли по каплям раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (3,50 г, 16 ммоль) в CH_2Cl_2 (50 мл). Перемешивание продолжали при 0°C в течение 1 ч. и при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в перемешиваемый раствор льда/соли Рошеля. После того, как лед растаял, смесь фильтровали через Dicalite® и осадок на фильтре несколько раз промывали THF. Фильтраты объединяли. Слои разделяли и органический слой промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Твердый остаток суспендировали в CH_2Cl_2 (30 мл), осадок отфильтровывали и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **7a** (2,76 г).

Синтез промежуточного соединения **7b**

Перемешиваемый раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **7a** (2,76 г, 8,32 ммоль) в THF (350 мл) охлаждали до 0°C . Добавляли по каплям раствор трибромид фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (3,44 г, 9,15 ммоль) в THF (50 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. и при комнатной температуре в течение 2 ч. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации и промывали THF. Объединенные

фильтраты выпаривали при пониженном давлении. Остаток смешивали с EtOAc (50 мл). Твердые вещества выделяли посредством фильтрации, промывали небольшим количеством EtOAc и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **7b** (3,21 г) в виде белого твердого вещества, который применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез соединения 7 и хиральное разделение энантиомеров 7A и 7B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-5-метил-1*H*-индол-3-ил)этанона **7b** (1,6 г, 3,90 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (1,18 г, 5,84 ммоль) и диизопропилэтиламина (671 мкл, 3,90 ммоль) в CH₃CN (100 мл) перемешивали в течение ночи при 85°C. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в CH₂Cl₂ (100 мл), промывали 1 н. HCl (100 мл) и водой (100 мл), высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 120 г, подвижная фаза: EtOAc:EtOH (3:1)/гептан, градиент от 0/100 до 50/50). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток осаждали из CH₂Cl₂/гептана. Твердые вещества выделяли посредством фильтрации и промывали CH₂Cl₂/гептаном (1/1). Неочищенный продукт дополнительно очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: Uptisphere® C18 ODB - 10 мкм, 200 г, 5 см, подвижная фаза: 0,25% раствор NH₄HCO₃ в воде, CH₃CN). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Твердый остаток перемешивали с EtOAc (20 мл) и твердые вещества выделяли посредством фильтрации и промывали небольшим количеством EtOAc с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-фтор-5-метил-1*H*-индол-3-ил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)этанона (соединение **7**, 341 мг) в виде рацемической смеси. Фильтрат выпаривали при пониженном давлении и остаток поглощали MeOH. После перемешивания в течение 30 мин. твердые вещества выделяли посредством фильтрации с получением второго выхода соединения **7** (92 мг).

Хиральное разделение энантиомеров соединения **7** (402 мг) осуществляли посредством хирального разделения с использованием нормальной фазы (неподвижная фаза: (S,S)-Whelk-O1, подвижная фаза: 100% метанол). Фракции, содержащие продукт, объединяли и

выпаривали с получением энантиомера **7A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **7B** в качестве второго элюированного продукта. Энантиомер **7A** дополнительно очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 12 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH от 100/0/0 до 40/45/15). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток растирали в порошок с H₂O (1,75 мл) и MeOH (0,75 мл). Твердые вещества отфильтровывали, промывали H₂O/MeOH 7/3 (2х) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера **7A** (48 мг). Энантиомер **7B** дополнительно очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 12 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH от 100/0/0 до 40/45/15). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток растирали в порошок с H₂O (1,75 мл) и MeOH (0,75 мл). Твердые вещества отфильтровывали, промывали H₂O/MeOH 7/3 (2х) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера **7B** (43 мг).

Соединение 7

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (d, *J*=0,9 Гц, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 6,54-6,63 (m, 2 H) 6,92 (t, *J*=1,5 Гц, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,3, 1,9 Гц, 1 H) 7,01 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,8 Гц, 1 H) 7,22 (d, *J*=10,2 Гц, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,4 Гц, 1 H) 8,02 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 8,37 (s, 1 H) 11,97 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,19 мин, МН⁺ 531

Энантиомер 7A

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (d, *J*=1,5 Гц, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,56-6,60 (m, 2 H) 6,91 (t, *J*=1,7 Гц, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,3, 2,1 Гц, 1 H) 7,01 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 7,12 (d, *J*=2,0 Гц, 1 H) 7,22 (d, *J*=10,1 Гц, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,1 Гц, 1 H) 8,02 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 8,37 (s, 1 H) 11,96 (s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,15 мин, МН⁺ 531

[α]_D20: -163,2° (с 0,435, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 4,26 мин, МН⁺ 531, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 7B

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (d, *J*=1,5 Гц, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H)

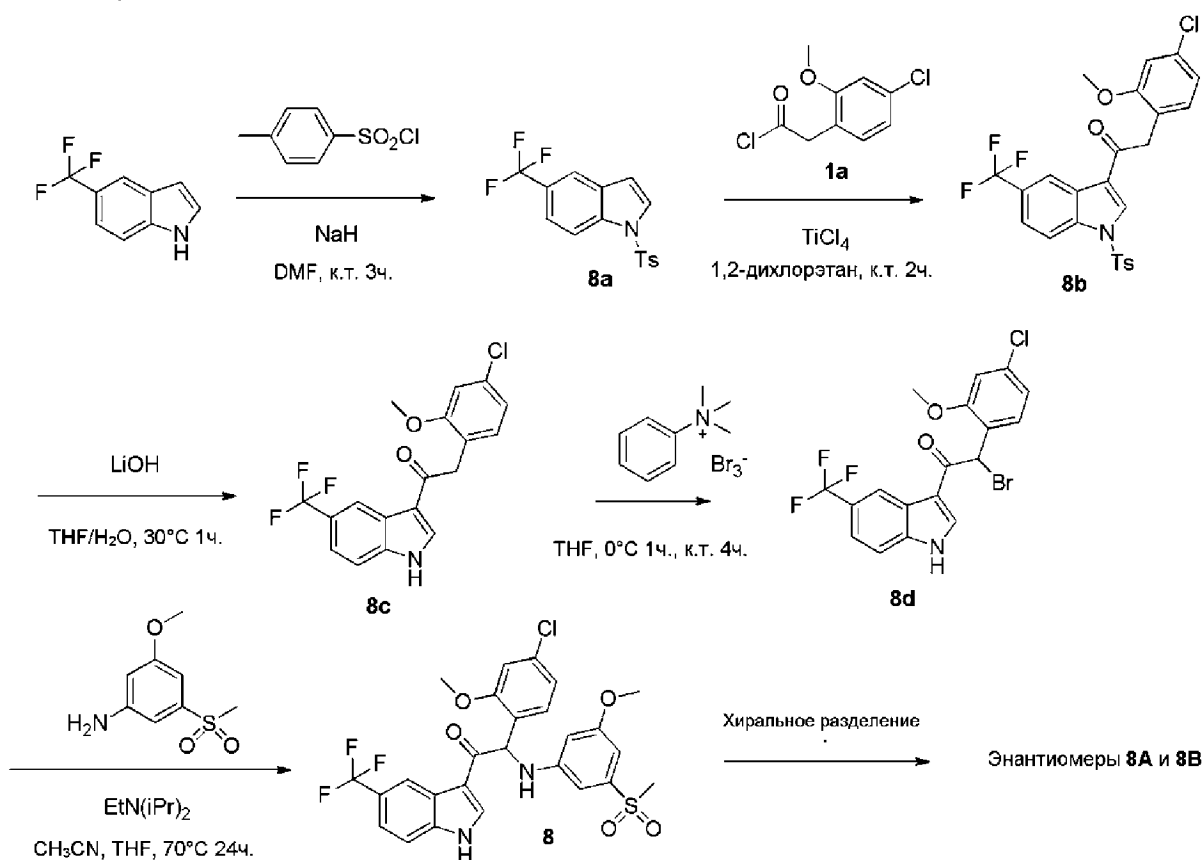
6,57-6,61 (m, 2 H) 6,92 (t, $J=1,8$ Гц, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,1, 2,0$ Гц, 1 H) 7,01 (d, $J=7,7$ Гц, 1 H) 7,12 (d, $J=2,0$ Гц, 1 H) 7,22 (d, $J=10,0$ Гц, 1 H) 7,35 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H) 8,02 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 8,37 (d, $J=2,4$ Гц, 1 H) 11,97 (s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,15 мин, MH^+ 531

$[\alpha]_D^{20}$: +166,6° (с 0,5, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 3,78 мин, MH^+ 531, хиральная чистота 100%.

Пример 8: Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(5-(трифторметил)-1H-индол-3-ил)этанона (соединение **8**) и хиральное разделение на энантиомеры **8A** и **8B**.



Синтез промежуточного соединения **8a**

Гидрид натрия добавляли частями при 0°C в потоке N_2 (2,48 г, 64,8 ммоль) к смеси 5-(трифторметил)-1H-индола [CAS 100846-24-0] (10 г, 54,0 ммоль) в DMF (150 мл) и смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. По каплям добавляли раствор тозилхлорида (11,3 г, 59,4 ммоль) в DMF (50 мл) и полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. При 0°C смесь гасили посредством добавления воды. Осадок отфильтровывали и высушивали в течение ночи под вакуумом при 70°C с получением 1-тозил-5-(трифторметил)-1H-индола **8a** (18,4 г).

Синтез промежуточного соединения 8b

По каплям добавляли хлорид титана(IV) (2,4 мл, 21,9 ммоль) при комнатной температуре к раствору 1-тозил-5-(трифторметил)-1*H*-индола **8a** (3,7 г, 10,95 ммоль) и 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (4,8 г, 21,9 ммоль, синтез: см. пример 1) в 1,2-дихлорэтаноле (120 мл). Реакцию перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли ледяную воду. Реакционную смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, подвижная фаза: CH₂Cl₂/MeOH 99,5/0,5). Фракции, содержащие соединение **8b**, объединяли и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение поглощали CH₃CN/диизопропиловым эфиром. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(1-тозил-5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона **8b** (2,8 г).

Синтез промежуточного соединения 8с:

Добавляли гидроксид лития (0,64 г, 15,3 ммоль) к раствору 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(1-тозил-5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона **8b** (3,2 г, 6,13 ммоль) в THF (18 мл) и воды (6 мл). Смесь перемешивали при 30°C в течение 1 ч. Добавляли воду и EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Твердое вещество поглощали диизопропиловым эфиром. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона **8c** (2,1 г).

Синтез промежуточного соединения 8d:

Добавляли по каплям при 0°C раствор трибромида фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (2,1 г, 5,7 ммоль) в THF (60 мл) к смеси 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона **8c** (2,15 г, 5,7 ммоль) в THF (60 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. и при комнатной температуре в течение 4 ч. Осадок отфильтровывали и промывали EtOAc. Объединенные фильтраты концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток поглощали диизопропиловым эфиром. Осадок отфильтровывали и высушивали с

получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона **8d** (2,5 г).

Синтез соединения 8 и хиральное разделение на энантиомеры 8А и 8В

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона **8d** (1 г, 2,24 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (496 мг, 2,46 ммоль) и диизопропилэтиламина (0,38 мл, 2,24 ммоль) в CH₃CN (50 мл) и THF (25 мл) перемешивали при 70°C в течение 24 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в EtOAc и раствор промывали 1 н. HCl. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение кристаллизовали из диизопропилового эфира/CH₃CN с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(5-(трифторметил)-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **8**, 310 мг) в виде рацемической смеси.

Энантиомеры соединения **8** разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H 5 мкм 250×20 мм, подвижная фаза: 70% CO₂, 30% *i*PrOH + 0,3% *i*PrNH₂) с получением после кристаллизации в петролейном эфире/диизопропиловом эфире 122 мг первого элюированного энантиомера **8А** и 128 мг второго элюированного энантиомера **8В**.

Соединение 8

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,10 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,29 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,56-6,62 (m, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,4, 2,0 Гц, 1 H) 7,09 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,9 Гц, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,5 Гц, 1 H) 7,54 (dd, *J*=8,5, 1,6 Гц, 1 H) 7,69 (d, *J*=8,5 Гц, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 8,61 (s, 1 H) 12,45 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,19 мин, MH⁺ 567

Температура плавления: 168°C

Энантиомер 8А

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,29 (d, *J*=7,6 Гц, 1 H) 6,60 (br s, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,3, 1,8 Гц, 1 H) 7,07 (d, *J*=8,1 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,5 Гц, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,1 Гц, 1 H) 7,54 (d, *J*=8,1 Гц, 1 H) 7,69 (d, *J*=8,6 Гц, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 8,60 (s, 1 H) 12,41 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,25 мин, MH⁺ 567

$[\alpha]_D^{20}$: $-119,2^\circ$ (с 0,2727, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-F): R_t 2,64 мин, MH^+ 567, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 8В

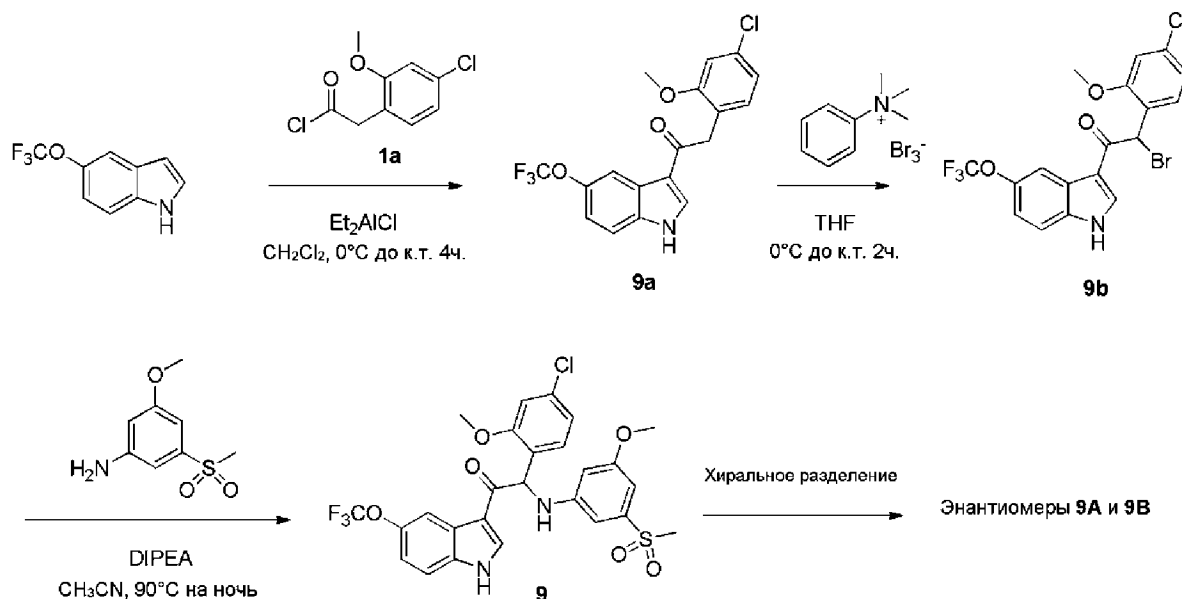
1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,29 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 6,60 (s, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,98 (dd, $J=8,6$, 2,0 Гц, 1 H) 7,07 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 7,13 (d, $J=2,0$ Гц, 1 H) 7,36 (d, $J=8,6$ Гц, 1 H) 7,54 (dd, $J=8,6$, 1,5 Гц, 1 H) 7,69 (d, $J=8,6$ Гц, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 8,60 (s, 1 H) 12,40 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-C): R_t 3,25 мин, MH^+ 567

$[\alpha]_D^{20}$: $+125,1^\circ$ (с 0,2455, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-F): R_t 3,44 мин, MH^+ 567, хиральная чистота 100%.

Пример 9. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона (соединение **9**) и хиральное разделение на энантиомеры **9А** и **9В**.



Синтез промежуточного соединения 9а

Раствор 5-(трифторметокси)-1H-индола [CAS 262593-63-5] (3 г, 14,9 ммоль) в CH_2Cl_2 (150 мл) охлаждали до $0^\circ C$ в атмосфере N_2 . Добавляли по каплям 1 М раствор диэтилалюминия хлорида в гексане (22,4 мл, 22,4 ммоль) и полученную в результате смесь выдерживали при $0^\circ C$ в течение 15 мин. Добавляли по каплям раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (4,57 г, 20,9 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл). Перемешивание продолжали при $0^\circ C$ в течение 1 ч. и реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре

в течение 4 ч. Реакционную смесь выливали в перемешиваемый раствор льда/соли Рошеля. После того, как лед растаял, смесь фильтровали через Dicalite® и осадок на фильтре несколько раз промывали THF. Фильтраты объединяли. Слои разделяли и органический слой промывали солевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток растирали в порошок с CH_2Cl_2 (50 мл). Полученный осадок отфильтровывали и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **9a** (4,39 г).

Синтез промежуточного соединения **9b**

Перемешиваемый раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **9a** (4,39 г, 11,4 ммоль) в THF (200 мл) охлаждали до 0°C.

Добавляли по каплям раствор трибромида фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (4,73 г, 12,6 ммоль) в THF (100 мл). Полученную в результате суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации и промывали THF. Объединенные фильтраты выпаривали при пониженном давлении. Остаток смешивали с EtOAc (30 мл). Твердые вещества выделяли посредством фильтрации, промывали небольшим количеством EtOAc и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **9b** (5,0 г) в виде белого твердого вещества, который применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез соединения **9** и хиральное разделение энантиомеров **9A** и **9B**

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **9b** (2,5 г, 5,40 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (1,49 г, 7,38 ммоль) и диизопропилэтиламина (931 мкл, 5,40 ммоль) в CH_3CN (100 мл) перемешивали в течение ночи при 90°C. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в CH_2Cl_2 (100 мл), промывали 1 н. HCl (100 мл) и водой (100 мл), высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 120 г, подвижная фаза: EtOAc:EtOH (3:1)/гептан, градиент от 0/100 до 50/50). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток осаждали из EtOAc (10 мл) при перемешивании.

Твердые вещества выделяли посредством фильтрации и промывали небольшим количеством EtOAc с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **9**, 477 мг) в виде рацемической смеси. Фильтрат выпаривали при пониженном давлении и остаток поглощали EtOAc (5 мл). После перемешивания в течение ночи твердые вещества выделяли посредством фильтрации и промывали EtOAc с получением второго выхода соединения **9** (216 мг).

Хиральное разделение энантиомеров соединения **9** (663 мг) осуществляли посредством хирального разделения с использованием нормальной фазы (неподвижная фаза: AS 20 мкм, подвижная фаза: 100% метанол). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали с получением энантиомера **9A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **9B** в качестве второго элюированного продукта. Энантиомер **9A** перемешивали в H₂O (2 мл) и MeOH (3 мл) при 40°C. Твердые вещества отфильтровывали, промывали H₂O/MeOH 1/1 (3x) и высушивали под вакуумом при 45°C с получением энантиомера **9A** (151 мг). Энантиомер **9B** дополнительно очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 12 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH от 100/0/0 до 40/45/15). Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с EtOAc. Остаток перемешивали в MeOH (5 мл) и осаждали посредством медленного добавления H₂O (4 мл). Твердые вещества отфильтровывали, промывали H₂O/MeOH 1/1 (3x) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера **9B** (132 мг).

Соединение **9**

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,26 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,57-6,62 (m, 2 H) 6,91 (t, *J*=1,9 Гц, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,4, 2,0 Гц, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,0 Гц, 1 H) 7,22 (dd, *J*=8,6, 2,2 Гц, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,4 Гц, 1 H) 7,59 (d, *J*=8,8 Гц, 1 H) 8,06 (d, *J*=0,9 Гц, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 12,28 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,31 мин, MH⁺ 583

Энантиомер **9A**

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,26 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,55-6,62 (m, 2 H) 6,91 (t, *J*=1,5 Гц, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,4, 2,0 Гц, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,0 Гц, 1 H) 7,21 (dd, *J*=8,8, 1,8 Гц, 1 H)

7,36 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H) 7,59 (d, $J=8,8$ Гц, 1 H) 8,07 (d, $J=0,9$ Гц, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 12,29 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,20 мин, MH^+ 583

$[\alpha]_D^{20}$: +130,3° (с 0,555, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 3,10 мин, MH^+ 583, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 9В

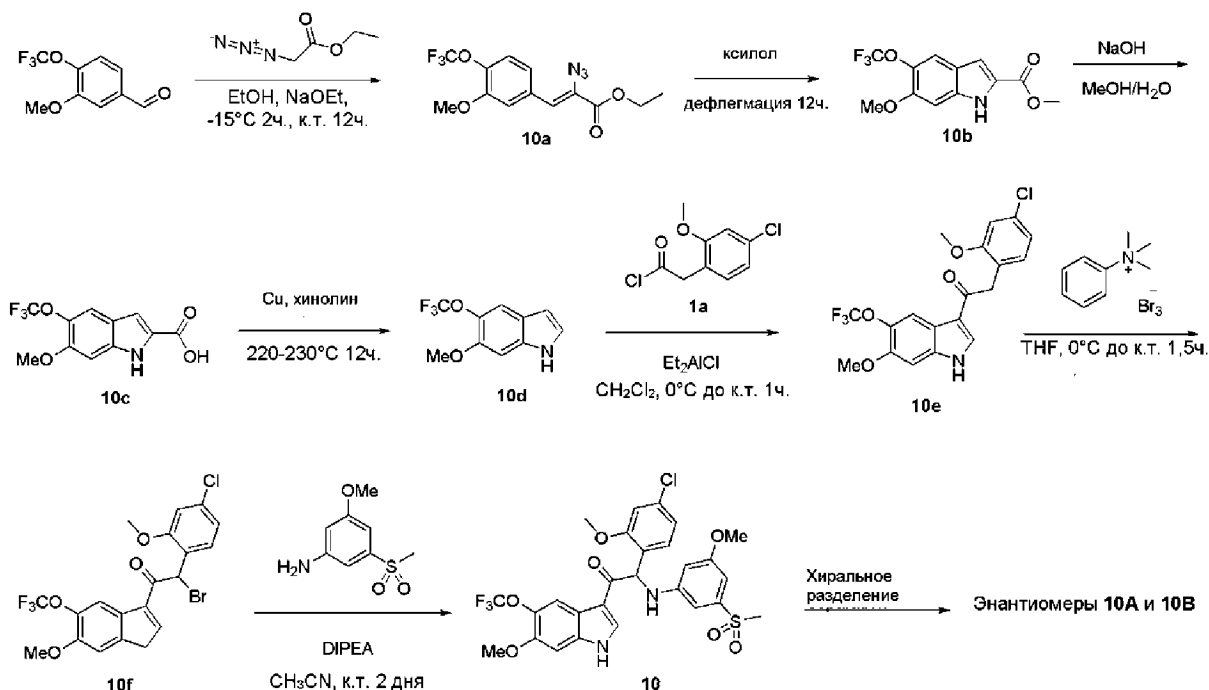
1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,26 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 6,56-6,62 (m, 2 H) 6,92 (t, $J=2,0$ Гц, 1 H) 6,98 (dd, $J=8,1, 2,0$ Гц, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Гц, 1 H) 7,13 (d, $J=2,0$ Гц, 1 H) 7,22 (dd, $J=8,8, 1,8$ Гц, 1 H) 7,36 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H) 7,59 (d, $J=8,8$ Гц, 1 H) 8,07 (d, $J=0,9$ Гц, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 12,30 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): R_t 1,20 мин, MH^+ 583

$[\alpha]_D^{20}$: -133,2° (с 0,5, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 3,50 мин, MH^+ 583, хиральная чистота 100%.

Пример 10. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(6-метокси-5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона (соединение 10) и хиральное разделение на энантиомеры 10А и 10В.



Синтез промежуточного соединения 10а

Раствор NaOEt (0,69 моль, полученный из 15,9 г Na и 700 мл EtOH) в течение 2 ч. добавляли по каплям к охлажденному (-15°C)

раствору 3-метокси-4-(трифторметокси)бензальдегида [CAS 853771-90-1] (50 г, 230 ммоль) и этилазидоацетата (89 г, 690 ммоль) в EtOH (400 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После охлаждения на ледяной бане реакцию гасили насыщенным раствором NH_4Cl (1,2 л) и перемешивали в течение 10 мин. Осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали с получением (Z)-этил-2-азидо-3-(3-метокси-4-(трифторметокси)фенил)акрилата **10a** (32 г) в виде желтоватого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 10b

Раствор (Z)-этил-2-азидо-3-(3-метокси-4-(трифторметокси)фенил)акрилата **10a** (3 г, 10 ммоль) в ксилоле (40 мл) нагревали с применением обратного холодильника в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры растворитель выпаривали досуха. Остаток растирали в порошок с гексаном (50 мл) и осадок отфильтровывали с получением метил 6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-2-карбоксилата **10b** (выход: 1,4-1,6 г) в виде желтого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 10c:

NaOH (7 г, 175 ммоль) добавляли к смеси метил-6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-2-карбоксилата **10b** (25 г, 87 ммоль) в $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (2/1, 300 мл) и смесь нагревали с применением обратного холодильника до получения прозрачного раствора. После охлаждения до комнатной температуры большую часть метанола удаляли при пониженном давлении и оставшийся водный раствор подкисляли конц. HCl до pH 3-4. Продукт экстрагировали с помощью EtOAc (2x 250 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали и выпаривали при пониженном давлении с получением 6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-2-карбоновой кислоты **10c** (22,7 г) в виде серого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 10d:

Суспензию 6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-2-карбоновой кислоты **10c** (7,5 г, 27 ммоль) и Cu (1,22 г, 0,7 экв.) в хинолине (150 мл) нагревали до 220-230°C в инертной атмосфере в течение 12 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь разбавляли метил-трет-бутиловым эфиром (MTBE, 400 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaHSO_4 (2x 500 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали через небольшой слой силикагеля и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с получением

6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индола **10d** (3,75 г) в виде желтого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 10e:

Раствор 6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индола **10d** (1,61 г, 6,96 ммоль) в CH₂Cl₂ (150 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере N₂. Добавляли по каплям 1 М диэтилалюминия хлорид в гексане (10,4 мл, 10,4 ммоль) и полученную в результате смесь выдерживали при 0°C в течение 30 мин. Добавляли по каплям раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (2,28 г, 10,4 ммоль) в CH₂Cl₂ (75 мл). Перемешивание продолжали при 0°C в течение 1 ч. и при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли по каплям раствор тартрата калия-натрия тетрагидрата (соль Рошеля, 3,93 г, 13,9 ммоль) в воде (6 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. при 0°C. Добавляли THF (200 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Добавляли Na₂SO₄ (25 г), смесь перемешивали в течение ночи, фильтровали через Dicalite® и осадок на фильтре несколько раз промывали THF (4x 150 мл). Фильтраты объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Твердый остаток перемешивали в смеси диизопропилового эфира (25 мл) и EtOAc (2 мл). Твердые вещества отфильтровывали, промывали DIPE (3x) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанона **10e** (3,6 г).

Синтез промежуточного соединения 10f:

Перемешиваемый раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанона **10e** (3,6 г, 6,53 ммоль) в THF (130 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере N₂. Добавляли трибромид фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (2,58 г, 6,85 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 45 мин. и при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации и промывали THF (2x). Объединенные фильтраты выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанона **10f** (4,16 г), который применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез соединения 10 и хиральное разделение энантиомеров 10A и 10B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанона **10f** (4,16 г, 6,50 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (2,62 г,

13,0 ммоль) и диизопропилэтиламина (2,24 мл, 13,0 ммоль) в CH₃CN перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней в атмосфере азота N₂. Добавляли воду (250 мл) и продукт экстрагировали с помощью Et₂O (2х). Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Grace Reveleris® 100 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH, градиент от 100/0/0 до 40/45/15). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток дополнительно очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 мкм, 50×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH₄HCO₃ в воде, CH₃CN). Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток, содержащий рацемический 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(6-метокси-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанон (соединение **10**, 380 мг), подвергали хиральному разделению посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AS 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH+0,4% iPrNH₂). Фракции, содержащие продукт, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с MeOH с получением энантиомера **10A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **10B** в качестве второго элюированного продукта. Оба энантиомера осаждали из смеси растворителей MeOH и воды, отфильтровывали и высушивали при 50°C под вакуумом с получением энантиомера **10A** (135 мг) и энантиомера **10B** (144 мг).

Энантиомер 10A

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 6,55–6,59 (m, 2 H) 6,88–6,91 (m, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,1, 1,8 Гц, 1 H) 7,08 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,2 Гц, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,1 Гц, 1 H) 8,02 (d, *J*=1,5 Гц, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 12,05 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ Способ LC-A): *R*_t 1,20 мин, МН⁺ 613

[α]_D²⁰: +81,4° (с 0,29, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): *R*_t 3,34 мин, МН⁺ 613, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 10B

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Гц, 1 H) 6,55–6,60

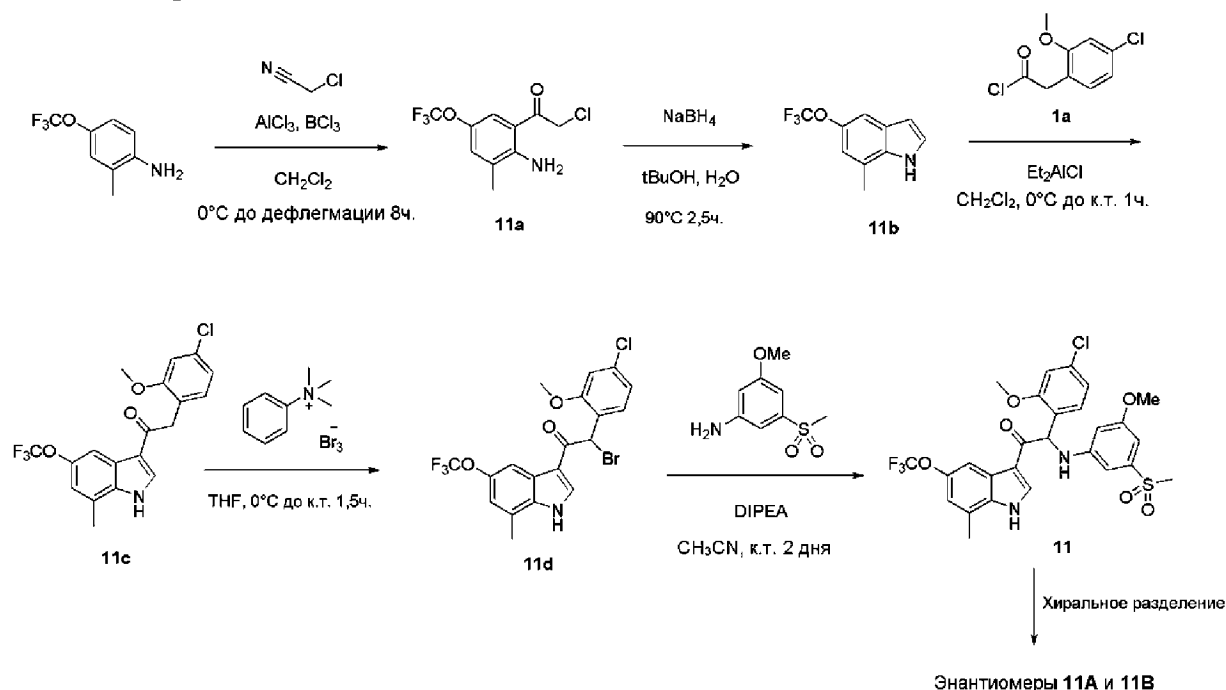
(m, 2 H) 6,90 (t, $J=1,6$ Гц, 1 H) 6,98 (dd, $J=8,2, 2,0$ Гц, 1 H) 7,08 (d, $J=7,8$ Гц, 1 H) 7,13 (d, $J=2,2$ Гц, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,34 (d, $J=8,4$ Гц, 1 H) 8,01 (d, $J=1,1$ Гц, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 12,08 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ Способ LC-A): R_t 1,20 мин, MH^+ 613

$[\alpha]_D^{20}$: $-99,6^\circ$ (с 0,261, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 3,69 мин, MH^+ 613, хиральная чистота 100%.

Пример 11. Синтез 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(7-метил-5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона (соединение **11**) и хиральное разделение на энантиомеры **11A** и **11B**.



Синтез промежуточного соединения **11a**

Смесь хлорида бора (III) 1 М в CH_2Cl_2 (25,5 мл, 25,5 ммоль) и хлорида алюминия (III) (3,40 г, 25,5 ммоль) разбавляли CH_2Cl_2 (20 мл) и охлаждали на ледяной бане в атмосфере N_2 . Добавляли по каплям раствор 2-метил-4-(трифторметокси)анилина [CAS 86256-59-9] (4,88 г, 25,5 ммоль) и хлорацетонитрила (3,24 мл, 51,0 ммоль) в CH_2Cl_2 (7,5 мл). После добавления водяную баню убирали и смесь нагревали с применением обратного холодильника в течение 8 ч. Смесь снова охлаждали до $0^\circ C$ с применением водяной бани. Добавляли по каплям 2 н. HCl (75 мл), что вызывало сильное осаждение. Полученную в результате суспензию нагревали с применением обратного холодильника в течение 90 мин. и охлаждали до комнатной температуры. Твердые вещества удаляли посредством

филтрации. Осадок на фильтре промывали CH_2Cl_2 (4х). Фильтраты объединяли и фазы разделяли. Органический слой выделяли, промывали водным раствором NaHCO_3 , высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Biotage® SNAP Ultra 100 г, подвижная фаза: гептан/ CH_2Cl_2 , градиент от 100/0 до 0/100). Требуемые фракции объединяли и концентрировали до остаточного объема 30 мл. Осадок отфильтровывали, промывали гептаном и CH_2Cl_2 и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 1-(2-амино-3-метил-5-(трифторметокси)фенил)-2-хлорэтанона **11a** (1,37 г). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Твердый остаток перемешивали в смеси гептана (20 мл) и диизопропилового эфира (3 мл), отфильтровывали, промывали гептаном (3х) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением второй фракции **11a** (0,24 г).

Синтез промежуточного соединения 11b

Борогидрид натрия (326 мг, 8,61 ммоль) добавляли в перемешиваемый раствор 1-(2-амино-3-метил-5-(трифторметокси)фенил)-2-хлорэтанона **11a** (1,92 г, 7,17 ммоль) в *трет*-бутаноле (50 мл) и воде (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. и при 90°C в течение 2,5 ч. Добавляли воду (50 мл) и продукт экстрагировали с помощью диэтилового эфира (2х). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии (неподвижная фаза: силикагель Biotage® SNAP Ultra 25 г, подвижная фаза: гептан/ EtOAc , градиент от 100/0 до 20/80). Требуемые фракции объединяли, концентрировали при пониженном давлении, выпаривали совместно с гептаном и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 7-метил-5-(трифторметокси)-1*H*-индола **11b** (1,2 г).

Синтез промежуточного соединения 11c:

Механически перемешиваемый раствор 7-метил-5-(трифторметокси)-1*H*-индола **11b** (1,5 г, 6,97 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере N_2 . Добавляли по каплям 1 М раствор диэтилалюминия хлорида в гексане (10,5 мл, 10,5 ммоль) и полученную в результате смесь выдерживали при 0°C течение 25 мин. Добавляли по каплям раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетилхлорида **1a** (2,29 г, 10,5 ммоль) в CH_2Cl_2 (40 мл) при поддержании температуры реакции ниже 6°C . Перемешивание

продолжали при 0°C в течение 1 ч. и реакционную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли по каплям раствор соли Рошеля [CAS 6100-16-9] (3,94 г, 13,9 ммоль) в воде (4 мл). После перемешивания в течение 1 ч. реакционную смесь фильтровали через Dicalite® и осадок на фильтре промывали THF (5x 100 мл). Объединенные фильтраты выпаривали при пониженном давлении. Остаток затвердевал при отстаивании в течение ночи. Твердые вещества перемешивали в CH₃CN (5 мл), отфильтровывали, промывали CH₃CN (3x 1,5 мл) и высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(7-метил-5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **11c** (1,9 г).

Синтез промежуточного соединения 11d:

Перемешиваемый раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(7-метил-5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **11c** (2,13 г, 5,35 ммоль) в THF (80 мл) охлаждали до 0°C в атмосфере N₂. Добавляли трибромид фенилтриметиламмония [CAS 4207-56-1] (2,11 г, 5,62 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 40 мин. и при комнатной температуре в течение 2 ч. Твердые вещества удаляли посредством фильтрации и промывали THF (2x). Объединенные фильтраты выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(7-метил-5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **11d** (3,45 г), который применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез соединения 11 и хиральное разделение энантиомеров 11A и 11B

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(7-метил-5-(трифторметокси)-1H-индол-3-ил)этанона **11d** (3,45 г, 6,87 ммоль), 3-метокси-5-(метилсульфонил)анилина [CAS 62606-02-4] (2,76 г, 13,7 ммоль) и диизопропилэтиламина (2,37 мл, 13,7 ммоль) в CH₃CN (60 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 дней в атмосфере N₂. Добавляли воду (125 мл) и продукт экстрагировали с помощью Et₂O (2x). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD - 10 мкм, 50x150 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH₄HCO₃ в воде, CH₃CN). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением рацемического 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-((3-метокси-5-(метилсульфонил)фенил)амино)-1-(7-

метил-5-(трифторметокси)-1*H*-индол-3-ил)этанона (соединение **11**, 1,74 г). Хиральное разделение энантиомеров соединения **11** (1,74 г) осуществляли посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AS 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH+0,4% iPrNH₂). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением энантиомера **11A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **11B** в качестве второго элюированного продукта. Оба энантиомера осаждали из смеси растворителей MeOH и воды, отфильтровывали и высушивали при 50°C под вакуумом с получением энантиомера **11A** (777 мг) и энантиомера **11B** (712 мг).

Энантиомер 11A

¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,50 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,28 (d, *J*=7,8 Гц, 1 H) 6,56-6,63 (m, 2 H) 6,92 (br s, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,4, 1,9 Гц, 1 H) 7,05 (br s, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,9 Гц, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,4 Гц, 1 H) 7,90 (br s, 1 H) 8,53 (s, 1 H) 12,41 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): *R*_t 1,26 мин, МН⁺ 597

[α]_D²⁰: +81,3° (с 0,3455, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): *R*_t 2,96 мин, МН⁺ 597, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 11B

¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,51 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,28 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 6,58-6,60 (m, 2 H) 6,92 (t, *J*=1,8 Гц, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,4, 1,9 Гц, 1 H) 7,05 (br s, 1 H) 7,06 (d, *J*=7,9 Гц, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,1 Гц, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,2 Гц, 1 H) 7,89 (br s, 1 H) 8,53 (s, 1 H) 12,37 (br s, 1 H)

LC/MS (Способ LC-A): *R*_t 1,26 мин, МН⁺ 597

[α]_D²⁰: -87,4° (с 0,342, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-E): *R*_t 3,44 мин, МН⁺ 597, хиральная чистота 100%.

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ ПО НАСТОЯЩЕМУ ИЗОБРЕТЕНИЮ

Анализ противовирусной активности в отношении DENV-2

Тестировали противовирусную активность всех соединений по настоящему изобретению против штамма 16681 DENV-2, который метили усиленным зеленым флуоресцентным белком (eGFP, таблица 1). Среда для культивирования состояла из минимальной поддерживающей среды, дополненной 2% термически инактивированной

фетальной телячьей сыворотки, 0,04% гентамицина (50 мг/мл) и 2 мМ L-глутамина. Клетки Vero, полученные из ECACC, суспендировали в среде для культивирования и добавляли по 25 мкл в 384-луночные планшеты (2500 клеток/лунка), которые уже содержали противовирусные соединения. Как правило, эти планшеты содержали 5-кратное серийное разбавление, состоящее из 9 стадий разбавления тестируемого соединения при 200-кратной конечной концентрации в 100% DMSO (200 нл). Кроме того, концентрацию каждого соединения тестировали в четырех повторностях (диапазон конечной концентрации: 25 мкМ – 0,000064 мкМ или 2,5 мкМ – 0,0000064 мкМ для наиболее активных соединений). В результате каждый планшет содержал лунки, которые принимали в качестве контролей с вирусом (содержащих клетки и вирус без соединения), контролей с клетками (содержащих клетки без вируса и соединения) и контролей со средой (содержащих среду без клеток, вируса и соединений). В лунки, которые принимали в качестве контролей со средой, добавляли 25 мкл среды для культивирования вместо клеток Vero. После того, как клетки добавляли в планшеты, планшеты инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре, что позволило клеткам равномерно распространиться в лунках. Далее планшеты инкубировали в полностью увлажненном инкубаторе (37°C, 5% CO₂) до следующего дня. Затем штамм 16681 DENV-2, меченый eGFP, добавляли при множественности инфекции (MOI), равной 0,5. Следовательно, 15 мкл вирусной суспензии добавляли во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и во все лунки, которые принимали в качестве контроля с вирусом. Одновременно добавляли 15 мкл среды для культивирования к контролю со средой и контролям с клетками. Далее планшеты инкубировали в течение 3 дней в полностью увлажненном инкубаторе (37°C, 5% CO₂). В день проведения считывания измеряли флуоресценцию eGFP с применением автоматизированного флуоресцентного микроскопа при 488 нм (голубой лазер). Применяя служебную систему LIMS, рассчитывали кривые зависимости ингибирования от дозы для каждого соединения и определяли полумаксимальную эффективную концентрацию (EC₅₀). Следовательно, рассчитывали процент ингибирования (I) для каждой тестируемой концентрации с применением следующей формулы: $I = 100 * (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$; S_T, S_{CC} и S_{VC} представляют собой уровень сигнала eGFP в лунках с тестируемыми соединениями, контролями с клетками и контролями с вирусом соответственно. EC₅₀ представляет собой концентрацию соединения, при которой репликация вируса

ингибируется на 50%, что измерено с помощью 50% уменьшения интенсивности флуоресценции eGFP по сравнению с контролем с вирусом. Рассчитывали EC₅₀ с применением линейной интерполяции.

Одновременно оценивали токсичность соединений на тех же планшетах. После считывания сигнала eGFP во все лунки 384-луночных планшетов добавляли 40 мкл ATPlite, красителя, показывающего жизнеспособность клеток. АТФ присутствует во всех метаболически активных клетках, и когда клетки подвергаются некрозу или апоптозу, его уровень резко снижается. Система анализа ATPlite основана на выработке света, вызванного реакцией АТФ с добавленной люциферазой и D-люциферинном. Планшеты инкубировали в течение 10 минут при комнатной температуре. Затем планшеты измеряли на ViewLux. Также определяли полумаксимальную цитотоксическую концентрацию (CC₅₀), определенную как концентрация, необходимая для уменьшения люминесцентного сигнала на 50% по сравнению с лунками контроля с клетками. В результате определяли индекс избирательности (SI) для соединений, который рассчитывали как указано ниже: $SI = CC_{50} / EC_{50}$.

Таблица 1. EC₅₀, CC₅₀, и SI для соединений по настоящему изобретению в анализе противовирусной активности в отношении DENV-2

№ соединения	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1	0,00052	5	5,5	4	11500	4
1A	0,00026	8	4,3	8	19700	8
1B	0,012	6	6,5	6	530	6
2	0,00060	4	5,0	4	8410	4
2A	0,00026	4	4,8	4	22000	4
2B	0,026	4	7,4	4	285	4
3	0,00058	4	>11	6	37700	4
3A	0,00025	5	7,2	5	29800	5
3B	0,0038	3	>9,7	5	2480	3
4	0,00039	4	5,9	4	14900	4
4A	0,00027	11	4,2	13	16900	11
4B	0,036	5	12	5	341	5

№ соединения	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
5	0,00062	4	5,5	4	8780	4
5A	0,00041	5	5,0	5	12900	5
5B	0,068	4	13	4	206	4
6A	0,000068	8	>25	8	>65500	8
6B	0,019	4	11	4	603	4
7	0,00047	4	3,2	3	>7040	3
7A	0,013	3	6,8	3	538	3
7B	0,00020	5	3,2	5	18500	5
8	0,00013	6	2,9	7	30400	6
8A	0,0030	3	7,4	3	2510	3
8B	0,000069	5	3,4	5	>40900	5
9	0,000074	6	3,1	8	>39100	6
9A	0,000067	9	2,9	9	>37500	9
9B	0,0038	5	6,2	6	1480	5
10A	0,00012	3	2,6	3	22600	3
10B	0,0039	3	9,8	3	2530	3
11A	0,000085	3	2,6	3	30100	3
11B	0,0041	3	9,2	3	2220	3

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Анализ с количественной ПЦР с обратной транскриптазой (RT-qPCR) в отношении квадριвалентной вакцины. Протокол А.

Тестировали противовирусную активность соединений по настоящему изобретению против штамма TC974#666 DENV-1 (NCPV; таблица 6), штамма 16681 DENV-2 (таблица 7), штамма H87 DENV-3 (NCPV; таблица 8) и штаммов H241 DENV-4 (NCPV; таблица 9A) и SG/06K2270DK1/2005 DENV-4 (EDEN; таблица 9B) в анализе с RT-qPCR. Следовательно, клетки Vero инфицировали либо штаммом DENV-1, либо -2, или -3, или -4, в присутствии или при отсутствии тестируемых соединений. На 3-й день после инфицирования клетки лизировали и клеточные лизаты применяли для получения кДНК как для вируса-мишени (3'UTR DENV; таблица 2), так и эталонного гена

клетки (β -актин, таблица 2). Впоследствии осуществляли дуплексную ПЦР в режиме реального времени на приборе Lightcycler480. Генерируемый уровень C_r является обратно пропорциональным по отношению к количеству экспрессируемой РНК этих мишеней. Ингибирование репликации DENV с помощью тестируемого соединения привело к сдвигу C_r для гена 3'UTR. С другой стороны, если тестируемое соединение является токсичным по отношению к клеткам, то будет наблюдаться похожий эффект и в отношении экспрессии β -актина. Для вычисления EC_{50} применяют сравнительный способ $\Delta\Delta C_r$, который основан на относительной генной экспрессии гена-мишени (3'UTR), нормализованного конститутивным геном клетки (β -актином).

Таблица 2. Праймеры и зонды, применяемые для количественной RT-PCR в реальном времени

Праймер/зонд	Мишень	Последовательность ^{a, б}
F3utr258	DENV 3'-UTR	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	DENV 3'-UTR	5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'
P3utr343	DENV 3'-UTR	FAM -5'-AAGGACTAG- ZEN -AGGTTAGAGGAGACCCCCC-3'- IABkFQ
Factin743	β -актин	5'-GGCCAGGTCATCACCATT-3'
Ractin876	β -актин	5'-ATGTCCACGTCACACTTCATG-3'
Pactin773	β -актин	HEX -5'-TTCCGCTGC- ZEN -CCTGAGGCTCTC-3'- IABkFQ

^a Элементы репортерных красителей (FAM, HEX) и гасителей люминесценции (ZEN и IABkFQ) выделены жирным и курсивом.

^б Выбирали нуклеотидную последовательность праймеров и зондов из консервативной области в 3'UTR области генома вируса денге на основании выравнивания 300 нуклеотидных последовательностей четырех серотипов вируса денге, депонированных в Genbank (Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Chapter 16).

Среда для культивирования состояла из минимальной поддерживающей среды, дополненной 2% термически инактивированной фетальной телячьей сыворотки, 0,04% гентамицина (50 мг/мл) и 2 мМ L-глутамина. Клетки Vero, полученные из ECACC, суспендировали в среде для культивирования и добавляли по 75 мкл/лунка в 96-луночные планшеты (10000 клеток/лунка), которые уже содержали противовирусные соединения. Как правило, эти планшеты содержали 5-кратное серийное разбавление, состоящее из 9 стадий разбавления тестируемого соединения в 200-кратной конечной

концентрации в 100% DMSO (500 нл; диапазон конечной концентрации: 25 мкМ – 0,000064 мкМ или 2,5 мкМ – 0,0000064 мкМ для наиболее активных соединений). Кроме того, каждый планшет содержал лунки, которые принимали в качестве контролей с вирусом (содержащих клетки и вирус без соединения) и контролей с клетками (содержащих клетки без вируса и соединения). После добавления клеток в планшеты планшеты инкубировали в полностью увлажненном инкубаторе (37°C, 5% CO₂) до следующего дня. Серотипы 1, 2, 3 и 4 вируса денге разводили с целью получения Ср ~22-24 в анализе. Следовательно, 25 мкл вирусной суспензии добавляли во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и во все лунки, которые принимали в качестве контролей с вирусом. Одновременно к клеточным контролям добавляли 25 мкл среды для культивирования. Далее планшеты инкубировали в течение 3 дней в полностью увлажненном инкубаторе (37°C, 5% CO₂). Через 3 дня удаляли надосадочную жидкость из лунок и дважды промывали клетки ледяным PBS (~100 мкл). Сгустки клеток в 96-луночных планшетах хранили при -80°C в течение по меньшей мере 1 дня. Далее экстрагировали РНК с применением набора для лизирования Cells-to-CT™ согласно инструкциям изготовителя (Life Technologies). Клеточные лизаты можно хранить при -80°C или сразу же применять на стадии с обратной транскрипцией.

При подготовке к стадии с обратной транскрипцией получали смесь А (таблица 3А) и распределяли по 7,57 мкл/лунка в 96-луночном планшете. После добавления 5 мкл клеточных лизатов осуществляли пятиминутную стадию денатурации при 75°C (таблица 3В). Позже добавляли 7,43 мкл смеси В (таблица 3С) и инициировали стадию обратной транскрипции (таблица 3D) для образования кДНК.

В результате получали смесь С (таблица 4А) – смесь для RT-qPCR – и распределяли по 22,02 мкл/лунка в 96-луночных планшетах для qPCR LightCycler, куда добавляли 3 мкл кДНК и осуществляли qPCR на LightCycler 480 согласно условиям в таблице 4В.

Кривые зависимости от дозы для каждого соединения рассчитывали с применением программного обеспечения LightCycler и служебной системы LIMS и определяли полумаксимальную эффективную концентрацию (EC₅₀) и полумаксимальную цитотоксическую концентрацию (CC₅₀).

Таблица 3. Синтез кДНК с применением смеси А, денатурации, смеси В и обратной транскрипции

А Смесь А

Планшеты	8				
Образцы	828				Об. реакционной смеси (мкл)
Элемент смеси	Концентрация			Объем (мкл)	
	Единица измерения	Исходная	Конечная	1 образец	
Milli-Q H ₂ O				7,27	
R3utr425	мкМ	20	0,27	0,15	
Ractin876	мкМ	20	0,27	0,15	
Объем смеси/лунка (мкл)				7,57	
Клеточные лизаты				5,00	

В Стадия денатурации

Стадия	Температура	Время
Денатурация	75°C	5'
Удержание	4°C	удержание

С Смесь В

Образцы	864				
Элемент смеси	Концентрация			Объем (мкл)	
	Единица измерения	Исходная	Конечная	1 образец	х образцов
Буфер 2 Expand HIFI	Х	10,00	1,00	2,00	1728,0
MgCl ₂	мм	25,00	3,50	2,80	2419,2
dNTP	мм	10,00	1,00	2,00	1728,0
Ингибитор РНК-азы	У/мкл	40,00	1,00	0,50	432,0
Expand RT	У/мкл	50,00	0,33	0,13	112,3
Общий объем смеси (мкл)			7,43		

D **Протокол синтеза кДНК**

Стадия	Температура	Время
Обратная транскрипция	42°C	30 '
Денатурация	99°C	5 '
Удержание	4°C	удержание

Таблица 4 Смесь для qPCR и протокол

A **Смесь С**

Образцы	833			Об. реакционной смеси (мкл)	25
Элемент смеси	Концентрация			Объем (мкл)	х образцов
	Единица измерения	Исходная	Конечная	1 образец	
H ₂ O для PCR от Roche				7,74	6447,42
Смесь Roche 2xMM	X	2	1	12,50	10412,50
F3utr258	мкМ	20	0,3	0,38	316,54
R3utr425	мкМ	20	0,3	0,38	316,54
P3utr343	мкМ	20	0,1	0,13	108,29
Factin743	мкМ	20	0,3	0,38	316,54
Ractin876	мкМ	20	0,3	0,38	316,54
Pactin773	мкМ	20	0,1	0,13	108,29
Объем смеси/пробирку (мкл)				22,02	
кДНК				3,00	

В Протокол qPCR3			
Стадия	Температура	Время	Скорость изменения
Предварительная инкуб./денат.	95°C	10 мин	4,4
Денатурация	95°C	10 с	4,4
Отжиг	58°C	1 мин	2,2
Элонгация	72°C	1 с	4,4
Охлаждение	40°C	10 с	1,5

Анализ с количественной PCR с обратной транскриптазой (RT-qPCR) в отношении квадριвалентной вакцины. Протокол В.

Тестировали противовирусную активность соединений по настоящему изобретению против штамма Djibouti DENV-1 (D1/H/IMTSSA/98/606; таблица 6), штамма NGC DENV-2 (таблица 7), штамма H87 DENV-3 (таблица 8) и штамма SG/06K2270DK1/2005 DENV-4 (таблица 9В) в анализе с RT-qPCR. Клетки Vero-B или Vero-M (5×10^4) высевали в 96-луночные планшеты. Спустя один день среду для культивирования клеток заменяли 100 мкл среды для количественного определения, содержащей 2х, 3х или 5х серийное разведение соединения (диапазон концентрации: 50 мкг/мл – 0,00038 мкг/мл, 50 мкг/мл – 0,0076 мкг/мл и 50 мкг/мл – 0,00013 мкг/мл, соответственно) и 100 мкл инокулята вируса денге (DENV). После 2-часового инкубационного периода 3 раза промывали клеточный монослой средой для количественного определения с удалением остаточного не адсорбированного вируса и дополнительно инкубировали в течение либо 4 дней (DENV-2 NGC) или 7 дней (штамм Djibouti D1/H/IMTSSA/98/606 DENV-1, прототип, представляющий собой штамм H87 DENV-3, штамм H241 DENV-4 и штамм EDEN DENV-4) в присутствии ингибитора. Собирали надосадочную жидкость и определяли РНК-нагрузку с помощью количественной RT-PCR в режиме реального времени. 50% эффективную концентрацию (EC₅₀), которую определяют как концентрацию соединения, которая необходима для ингибирования репликации вирусной РНК на 50%, определяли с применением логарифмической интерполяции.

РНК выделяли из 100 мкл (или в некоторых случаях 150 мкл) надосадочной жидкости с помощью набора NucleoSpin 96 Virus (Filter Service, Дюрен, Германия) как описано производителем. Последовательности праймеров TaqMan (прямой праймер для DENV, обратный праймер для DENV; таблица 5) и зондов TaqMan (зонд для DENV, таблица 5) выбирали из неструктурного гена 3 (NS3) или NS5

соответствующих флавивирусов с применением программного обеспечения Primer Express (версия 2.0; Applied Biosystems, Ленник, Бельгия). Зонд TaqMan флуоресцентно метили с помощью 6-карбоксихлоресцеина (FAM) на 5'-конце в качестве репортерного красителя и связывающегося с малой бороздкой ДНК вещества (MGB) на 3'-конце в качестве гасителя люминесценции (таблица 5). Проводили одноэтапную количественную RT-PCR в общем объеме 25 мкл с содержанием 13,9375 мкл H₂O, 6,25 мкл мастер-микса (Eurogentec, Серен, Бельгия), 0,375 мкл прямого праймера, 0,375 мкл обратного праймера, 1 мкл зонда, 0,0625 мкл обратной транскриптазы (Eurogentec) и 3 мкл образца. Проводили RT-PCR с применением ABI 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Бранчберг, Нью-Джерси, США) и с применением следующих условий: 30 мин. при 48°C и 10 мин. при 95°C с последующими 40 циклами 15 с при 95°C и 1 мин. при 60°C. Данные анализировали с применением программного обеспечения ABI PRISM 7500 SDS (версия 1.3.1; Applied Biosystems). Для полного количественного анализа составляли стандартные кривые с применением 10-кратного разведения полученной матрицы с известными концентрациями.

Таблица 5. Праймеры и зонды, применяемые для количественной RT-PCR в реальном времени

Праймер/зонд	Последовательность (5'–3') ^a	Источник ^b	Мишень
Прямой праймер для DENV	TCGGAGCCGGAGTTTACAAA (SEQ ID N.1)	DENV 2 NGC	NS3
Обратный праймер для DENV	TCTTAACGTCCGCCCATGAT (SEQ ID N.2)		
Зонд DENV	FAM -ATTCCACACAATGTGGCAT- MGB (SEQ ID N.3)		
DenS	GGATAGACCAGAGATCCTGCTGT (SEQ ID N.4)	DENV-1, -3, -4	NS5
DenAS1-3	CATTCCATTTTCTGGCGTTC (SEQ ID N.5)	DENV-1, -3	
DenAS4	CAATCCATCTTGCGGCGCTC (SEQ ID N.6)	DENV-4	
Зонд DEN_1-3	FAM -CAGCATCATTCAGGCACAG- MGB (SEQ ID N.7)	DENV-1, -3	
Зонд DEN_4	FAM -CAACATCAATCCAGGCACAG- MGB (SEQ ID N.8)	DENV-4	

^a Элементы репортерного красителя (FAM) и гасителя люминесценции (MGB/TAMRA) выделены жирным и курсивом.

^b Нуклеотидную последовательность и положение праймеров и зондов в геноме выводили из нуклеотидной последовательности NGC DENV 2 (номер доступа в GenBank M29095; Irie et al., 1989), штамма Djibouti D1/H/IMTSSA/98/606 серотипа 1 вируса денге (номер доступа в Genbank AF298808), прототипа, представляющего собой штамм H87 серотипа 3 вируса денге (с93130), штамма H241 серотипа 4 вируса денге (нет доступных последовательностей), штамма EDEN серотипа 4 вируса денге (нет доступных последовательностей).

Цитотоксический анализ

Оценивали потенциальные цитотоксические эффекты соединений в неинфицированных покоящихся клетках Vero-B или Vero-M. Клетки высевали при 5×10^4 клеток/лунка в 96-луночный планшет при двух-, трех- или пятикратных серийных разведениях (в диапазоне 50 мкг/мл – 0,0038 мкг/мл, 50 мкг/мл – 0,0076 мкг/мл и 50 мкг/мл – 0,00013 мкг/мл соответственно) соединения и инкубировали в течение от 4 до 7 дней. Отбирали среду для культивирования и 100 мкл 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолия/феназинметосульфата (MTS/PMS; Promega, Лейден, Нидерланды) в PBS добавляли в каждую лунку. После 2-часового инкубационного периода при 37°C определяли плотность клеток при 498 нм. Рассчитывали цитотоксическую активность с применением следующей формулы: % жизнеспособных клеток = $100 \times (OD_{\text{соединение}} / OD_{\text{CC}})$, где $OD_{\text{соединение}}$ и OD_{CC} соответствуют оптической плотности при 498 нм неинфицированных культур клеток, обработанных с помощью соединения, и неинфицированных, необработанных культур клеток соответственно. 50% цитотоксическую концентрацию (т. е. концентрацию, которая уменьшает общее количество клеток на 50%; CC_{50}) рассчитывали с применением линейной интерполяции.

Таблица 6. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений против серотипа 1 в анализах RT-qPCR

№ соединения	Протокол А						Протокол В					
	RT-qPCR TC974#666 серотипа 1						RT-qPCR Djibouti серотипа 1					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1A	0,0025	9	5,0	9	1950	9	<0,015	3	8	6	>533	3
2A	0,0024	6	5,3	6	2190	6	<0,014	2	7,3	3	>523	2
3A	0,0042	6	5,5	5	1360	5	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
4A	0,00097	8	5,1	8	4400	8	<0,014	3	4,3	4	>306	3
5A	0,0036	6	5,2	6	1460	6	<0,014	2	9,2	2	>658	2
6A	0,0016	6	>10	6	>8160	6	<0,014	2	> 92	3	>6571	2
7B	0,00040	3	2,2	2	6600	2	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
8B	0,00045	5	1,9	6	3130	4	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
9A	0,00011	4	1,7	5	13300	4	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
10A	0,00027	2	1,6	2	5670	2	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
11A	0,00013	2	>2,5	2	>22100	2	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения. Н. О.: не определено.

Таблица 7. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений против серотипа 2 в анализах RT-qPCR

№ соединения	Протокол А						Протокол В					
	RT-qPCR 16681 серотипа 2						RT-qPCR NGC-Tongalike серотипа 2					
	EC50 (мкМ)	N	CC50 (мкМ)	N	SI	N	EC50 (мкМ)	N	CC50 (мкМ)	N	SI	N
1A	0,00028	7	3,8	12	15300	8	<0,00027	4	11	4	>40470	4
2A	0,00024	5	4,9	6	21500	5	<0,00024	1	11	1	>45833	1
3A	0,00030	6	5,0	6	9970	6	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
4A	0,00020	7	3,9	10	25400	6	0,00032	1	6,6	1	20339	1
5A	0,00034	5	5,8	6	19000	5	<0,00023	1	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
6A	0,00011	7	>10	6	>142306	6	<0,00024	1	> 92	1	>383333	1
7B	0,00017	3	2,9	5	23600	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
8B	0,00031	4	2,2	6	23400	4	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
9A	0,000057	3	2,2	4	31700	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
10A	0,000057	3	1,6	3	28200	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
11A	0,000051	3	>2,5	3	>69000	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения. Н. О.: не определено.

Таблица 8. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений против серотипа 3 в анализах RT-qPCR

№ соединения	Протокол А					Протокол В						
	RT-qPCR H87 серотипа 3					RT-qPCR H87 серотипа 3						
	EC50 (мкМ)	N	CC50 (мкМ)	N	SI	N	EC50 (мкМ)	N	CC50 (мкМ)	N	SI	N
1A	0,023	7	3,7	5	169	5	<0,015	3	8,0	6	>533	3
2A	0,019	4	4,3	3	224	3	<0,014	1	7,3	3	>521	1
3A	0,048	4	4,1	3	67	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
4A	0,015	6	3,1	4	195	4	<0,014	1	4,3	4	>307	1
5A	0,053	4	4,4	2	75	2	0,022	1	9,2	2	422	1
6A	0,019	4	6,7	3	318	3	<0,014	1	> 92	3	>6571	1
7B	0,0078	3	1,6	3	240	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
8B	0,0058	4	2,1	3	609	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
9A	0,0021	3	1,6	1	474	1	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
10A	0,0037	3	1,0	3	280	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.
11A	0,0012	3	>2,5	3	>2630	3	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.	Н. О.

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения. Н. О.: не определено.

Таблица 9. EC_{50} , CC_{50} и SI для соединений против серотипа 4 в анализах RT-qPCR

<u>A</u>	Протокол A					
	RT-qPCR H241 серотипа 4					
	№ соединения	EC_{50} (мкМ)	N	CC_{50} (мкМ)	N	SI
	1A	0,093	10	3,0	9	30
	2A	0,083	6	3,7	6	42
	3A	0,11	6	3,8	4	37
	4A	0,053	11	2,5	11	54
	5A	0,10	6	4,0	6	39
	6A	0,095	7	7,7	5	69
	7B	0,044	5	2,2	5	53
	8B	0,015	5	1,7	3	122
	9A	0,012	5	1,5	5	121
	10A	0,011	3	1,6	2	127
	11A	0,011	3	3,1	3	>250

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

<u>B</u>	Протокол A					
	RT-qPCR EDEN серотипа 4					
	№ соединения	EC_{50} (мкМ)	N	CC_{50} (мкМ)	N	SI
	1A	0,0024	5	4,6	5	1927
	2A	0,0013	2	5,0	2	3913
	3A	0,0030	2	5,4	2	1802
	4A	0,00055	2	> 2,5	1	> 4520
	5A	0,0029	2	5,5	2	1878
	6A	0,00042	2	> 10	2	> 24085

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Janssen Pharmaceuticals, Inc
Katholieke Universiteit Leuven

<120> ПРОИЗВОДНЫЕ МОНО- ИЛИ ДИЗАМЕЩЕННЫХ ИНДОЛОВ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ
РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ ДЕНГЕ

<130> T1P 328 PCT

<150> EP15166900.9

<151> 2015-05-08

<150> EP16163342.5

<151> 2016-03-31

<160> 14

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1

<211> 20

<212> ДНК

<213> Вирус денге

<220>

<221> источник

<222> (1) .. (20)

<223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"

<400> 1

tcggagccgg agtttataaaa

20

<210> 2

<211> 20

<212> ДНК

<213> Вирус денге

<220>

<221> источник

<222> (1) .. (20)

<223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"

<400> 2

tcttaacgtc cgcccatgat

20

<210> 3

<211> 19

<212> ДНК

<213> Вирус денге

<220>

<221> источник

<222> (1) .. (19)

<223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"

<400> 3

attccacaca atgtggcat

19

<210> 4

<211> 23

<212> ДНК

<213> Вирус денге
 <220>
 <221> источник
 <222> (1) .. (23)
 <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"
 <400> 4
 ggatagacca gagatcctgc tgt 23

<210> 5
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Вирус денге
 <220>
 <221> источник
 <222> (1) .. (20)
 <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"
 <400> 5
 cattccattt tctggcgttc 20

<210> 6
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Вирус денге
 <220>
 <221> источник
 <222> (1) .. (20)
 <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"
 <400> 6
 caatccatct tgcggcgctc 20

<210> 7
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Вирус денге
 <220>
 <221> источник
 <222> (1) .. (20)
 <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"
 <400> 7
 cagcatcatt ccaggcacag 20

<210> 8
 <211> 20
 <212> ДНК
 <213> Вирус денге
 <220>
 <221> источник
 <222> (1) .. (20)
 <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"
 <400> 8

caacatcaat ccaggcacag	20
<210> 9 <211> 19 <212> ДНК <213> Вирус денге <220> <221> источник <222> (1)..(19) <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"	
<400> 9 cggtagagg agaccsctc	19
<210> 10 <211> 21 <212> ДНК <213> Вирус денге <220> <221> источник <222> (1)..(21) <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"	
<400> 10 gagacagcag gatctctggg c	21
<210> 11 <211> 28 <212> ДНК <213> Вирус денге <220> <221> источник <222> (1)..(28) <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"	
<400> 11 aaggactaga ggtagagga gaccccc	28
<210> 12 <211> 18 <212> ДНК <213> Вирус денге <220> <221> источник <222> (1)..(18) <223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"	
<400> 12 ggccaggtca tcaccatt	18
<210> 13 <211> 21 <212> ДНК <213> Вирус денге	

<220>
<221> источник
<222> (1)..(21)
<223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"

<400> 13
atgtccacgt cacacttcat g 21

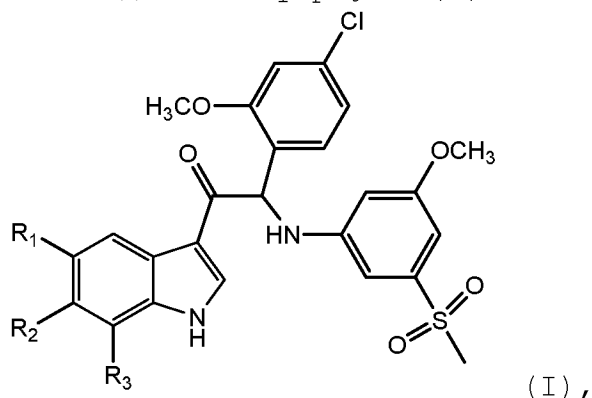
<210> 14
<211> 21
<212> ДНК
<213> Вирус денге

<220>
<221> источник
<222> (1)..(21)
<223> /организм="вирус денге" тип_молекулы="неопределенная ДНК"

<400> 14
ttccgctgcc ctgaggctct c 21

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I):



его стереоизомерная форма, фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф, содержащие моно- или дизамещенную индольную группу; при этом указанное соединение выбрано из группы, где

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H или CH_3 ,

R_1 представляет собой H, CH_3 или F, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой CH_3 ,

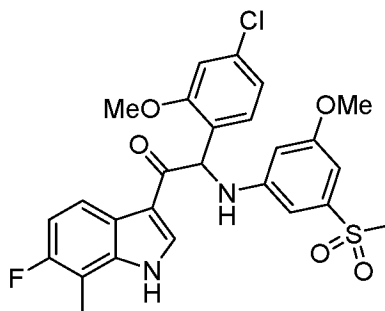
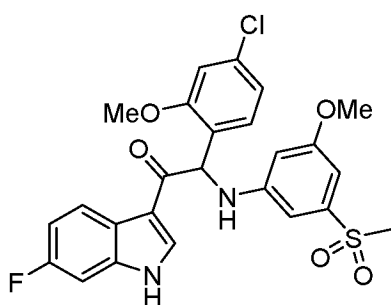
R_1 представляет собой CH_3 , R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H,

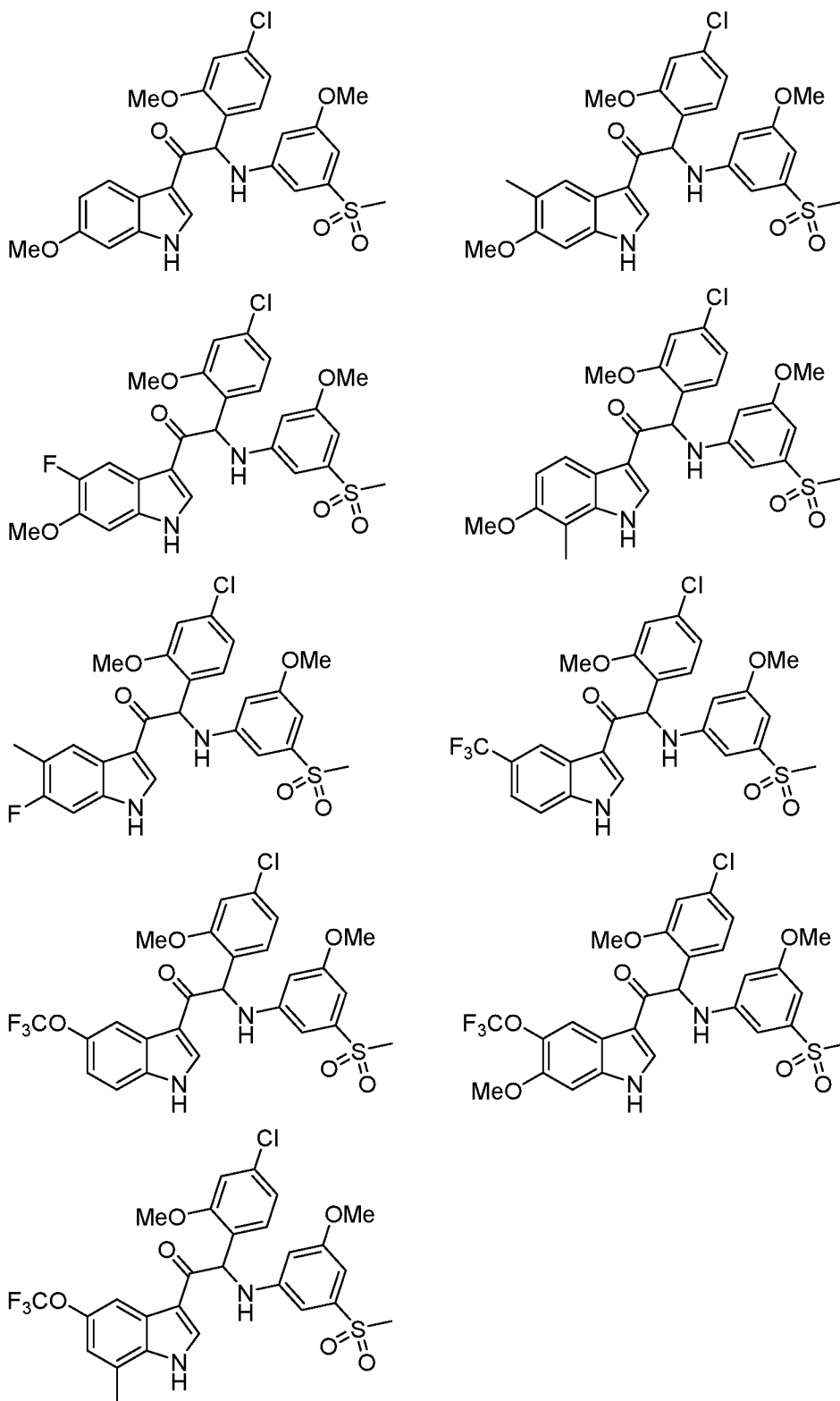
R_1 представляет собой CF_3 или OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой CH_3 .

2. Соединение или его стереоизомерная форма, фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф по п. 1, где указанное соединение выбрано из группы:





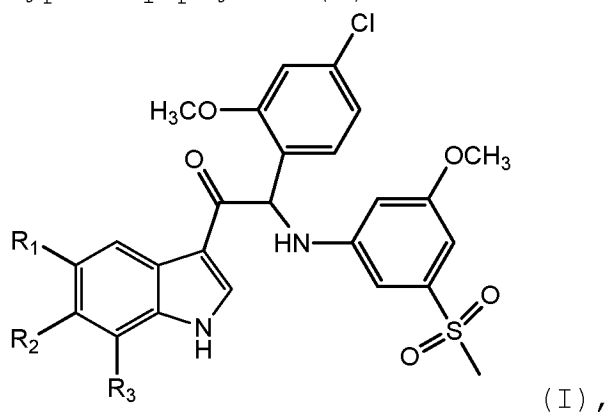
3. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его стереоизомерную форму, фармацевтически приемлемую соль, сольват или полиморф по п. 1 или п. 2 вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

4. Соединение формулы (I) или его стереоизомерная форма, фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф по п. 1

или фармацевтическая композиция по п. 3 для применения в качестве лекарственного препарата.

5. Соединение формулы (I) или его стереоизмерная форма, фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф по п. 1 или фармацевтическая композиция по п. 3 для применения при лечении денге.

6. Применение соединения, представленного следующей структурной формулой (I):



его стереоизмерной формы, фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа, содержащих моно- или дизамещенную индольную группу; при этом указанное соединение выбрано из группы, где

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H или CH_3 ,

R_1 представляет собой H, CH_3 или F, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

R_1 представляет собой H, R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой CH_3 ,

R_1 представляет собой CH_3 , R_2 представляет собой F, и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой CF_3 или OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой H,

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой OCH_3 , и R_3 представляет собой H, и

R_1 представляет собой OCF_3 , R_2 представляет собой H, и R_3 представляет собой CH_3 ,

для ингибирования репликации вируса (вирусов) денге в биологическом образце или у пациента.

7. Применение соединения по п. 6, дополнительно предусматривающее совместное введение дополнительного терапевтического средства.

8. Применение по п. 7, где указанное дополнительное терапевтическое средство выбрано из противовирусного средства, или вакцины против вируса денге, или их обоих.

По доверенности