

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992784 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.04.23(22) Дата подачи заявки
2018.05.18

(51) Int. Cl. C07D 209/30 (2006.01)
C07D 209/32 (2006.01)
C07D 209/42 (2006.01)
C07D 471/04 (2006.01)
C07D 513/04 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)
A61K 31/407 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

(54) ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ИНДОЛИНА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ ДЕНГЕ

(31) 17172247.3

(32) 2017.05.22

(33) EP

(86) PCT/EP2018/063029

(87) WO 2018/215316 2018.11.29

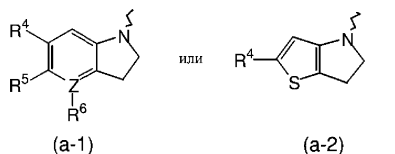
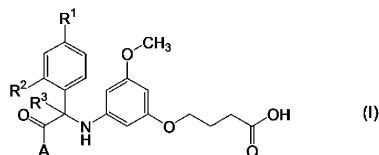
(71) Заявитель:
ЯНССЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US); КАТОЛИКЕ
УНИВЕРСИТЕЙТ ЛЕВЕН (BE)

(72) Изобретатель:

Бонфанти Жан-Франсуа (FR),
Кестелейн Барт Рудольф Романи,
Бардьо Дороте Алис Мари-Эв,
Маршан Арно Дидье М, Кусеманс
Эрвин, Де Бук Бенуа Кристиан
Альбер Гислен, Рабуассон Пьер Жан-
Мари Бернар (BE)

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

(57) Настоящее изобретение относится к замещенным производным индолина, к способам предупреждения или лечения вирусных инфекций денге посредством применения указанных соединений, а также относится к указанным соединениям для применения в качестве лекарственного препарата, более предпочтительно для применения в качестве лекарственного препарата для лечения или предупреждения вирусных инфекций денге. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтическим композициям или к комбинированным препаратам на основе соединений, к композициям или препаратам для применения в качестве лекарственного препарата, более предпочтительно для предупреждения или лечения вирусных инфекций денге. Настоящее изобретение также относится к способам получения таких соединений.



A1

201992784

201992784

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420–559533EA/019

ЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ИНДОЛИНА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ РЕПЛИКАЦИИ ВИРУСОВ ДЕНГЕ

Настоящее изобретение относится к замещенным производным индолина, к способам предупреждения или лечения вирусных инфекций денге посредством применения указанных соединений, а также относится к указанным соединениям для применения в качестве лекарственного препарата, более предпочтительно для применения в качестве лекарственного препарата для лечения или предупреждения вирусных инфекций денге. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтическим композициям или к комбинированным препаратам на основе соединений, к композициям или препаратам для применения в качестве лекарственного препарата, более предпочтительно для предупреждения или лечения вирусных инфекций денге. Настоящее изобретение также относится к способам получения таких соединений.

ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Флавивirusы, которые переносятся комарами или клещами, являются причиной опасных для жизни инфекций у человека, таких как энцефалит и геморрагическая лихорадка. Известны четыре отличающихся, но тесно связанных серотипа флавивируса, вызывающего денге, так называемые DENV–1, –2, –3 и –4. Денге эндемична для большинства тропических и субтропических регионов всего мира, преимущественно для городских и полугородских районов. 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 регистрируют от 50 до 100 миллионов случаев лихорадки денге [DF], полмиллиона случаев заболевания денге в тяжелой форме (т. е. геморрагической лихорадкой денге [DHF] и шоковым синдромом 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. Из-за недавних крупных вспышек в странах, расположенных в Латинской Америке, Юго-Восточной Азии и Западной части Тихого Океана (включая Бразилию, Пуэрто-Рико, Венесуэлу, Камбоджу, Индонезию, Вьетнам, Таиланд), количество случаев денге сильно возросло за последние годы. Не только число случаев денге увеличивается по мере распространения заболевания в новых районах, но и вспышки демонстрируют тенденцию к более тяжелому течению.

При последующем инфицировании другим серотипом уже существующие гетерологичные антитела образуют комплексы с вновь инфицирующим серотипом вируса денге, однако не нейтрализуют патоген. Вместо этого предполагают, что облегчается вход вируса в клетки, что приводит к неконтролируемой репликации вируса и повышенным пиковым титрам вирусов. Как при первичной, так и при вторичной инфекциях более высокие титры вируса ассоциированы с заболеванием денге в более

тяжелой форме. Одной из причин того, что дети более подвержены заболеванию денге в тяжелой форме, чем взрослые, может быть тот факт, что материнские антитела могут легко передаваться младенцам при грудном вскармливании.

В местах распространения двух или более серотипов, которые циркулируют одновременно, также называемых 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 повышена, что, в свою очередь, повышает вероятность возникновения геморрагической лихорадки денге (DHF) или шокового синдрома денге.

Комары, которые переносят возбудителей денге, в том числе *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* (желтолихорадочный комар), мигрируют в северном направлении земного шара. Согласно Центрам по контролю и профилактике заболеваний (CDC) Соединенных Штатов (США) оба вида комаров в настоящее время являются повсеместно распространенными в южном Техасе. Распространение на север комаров, переносящих возбудителей денге, не ограничено распространением в США, но наблюдается также и в Европе.

Вакцина против денге Dengvaxia[®], изготавливаемая Sanofi Pasteur, была впервые одобрена в Мексике и, вместе с тем, получила одобрение в большем количестве стран. Тем не менее, в отношении вакцины остаются широкие возможности для улучшения в связи с ограниченной эффективностью, особенно против DENV-1 и -2, низкой эффективностью у субъектов, ранее не подвергавшихся воздействию флавивирусов, и слишком длительной схемой приема препарата.

Несмотря на эти недостатки, вакцина является революционным продуктом в эндемических условиях, поскольку она будет предоставлять 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 подвергавшихся воздействию флавивирусов, делает ее неподходящей и нецелесообразной/нерентабельной для путешественников из не эндемических районов в районы, эндемические по денге. Упомянутые выше недостатки вакцин против вируса денге являются причиной того, почему существует потребность в противовирусном средстве для доконтактной профилактики денге.

Более того, в настоящее время отсутствуют специфичные противовирусные лекарственные средства для лечения или предупреждения инфекции, вызванной вирусом лихорадки денге. Очевидно, что все еще существует большая неудовлетворенная медицинская потребность в терапевтических средствах для предупреждения или лечения вирусных инфекций у животных, более конкретно у людей, а особенно вирусных инфекций, вызванных флавивирусами, более конкретно вирусом денге. Крайне необходимыми являются соединения с надлежащей противовирусной эффективностью, 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 фармакодинамическими свойствами.

В документе WO 2010/021878 раскрыты производные 2-фенилпирролидина и индолина в качестве антагонистов рецепторов холода и ментола для лечения воспалительных заболеваний и заболеваний центральной нервной системы. В документе WO 2013/045516 раскрыты производные индола и индолина для применения при лечении вирусных инфекций денге.

В настоящем изобретении представлены соединения, замещенные производные индолина, которые проявляют сильнодействующую активность против всех четырех (4) серотипов вируса денге.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

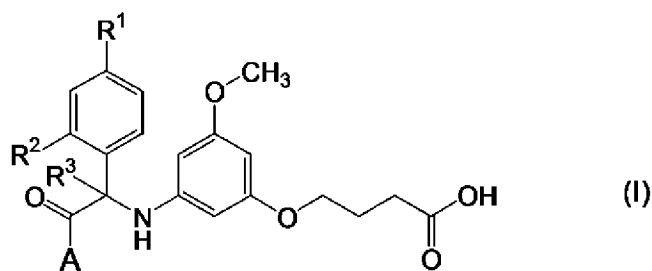
Настоящее изобретение основано на неожиданном обнаружении того, что по меньшей мере одну из вышеупомянутых проблем можно решить посредством представленных соединений по настоящему изобретению.

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

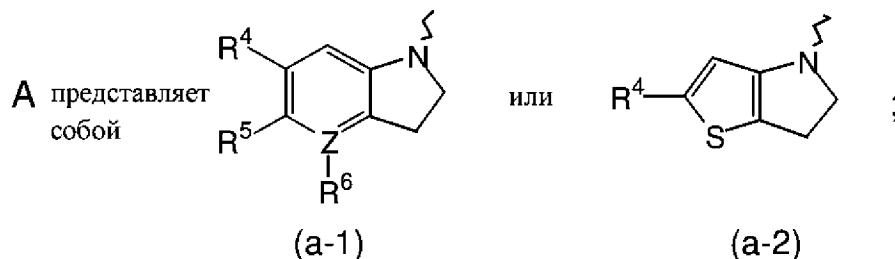
Кроме того, настоящее изобретение относится к применению таких соединений в качестве лекарственных препаратов и к их применению для изготовления лечебных средств для лечения и/или предупреждения вирусных инфекций, в частности вызванных вирусами, принадлежащими к семейству вирусов денге, у животных или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

Настоящее изобретение также относится к способу лечения или предупреждения вирусных инфекций денге у людей посредством введения эффективного количества одного или нескольких таких соединений или их фармацевтически приемлемой соли необязательно в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными препаратами, например с другим противовирусным средством, нуждающемуся в этом пациенту.

Настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I), в том числе к их любой стереохимически изомерной форме,



где



где

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой $(a-1)$, R^4 представляет собой пентафторсульфанил, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, А представляет собой (а-1), R^4 представляет собой трифторметил, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой метил; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, А представляет собой (а-1), R^4 представляет собой трифторметил, R^5 представляет собой фтор, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой $(a-1)$, R^4 представляет собой трифторметокси, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой метил; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой $(a-1)$, R^4 представляет собой трифторметокси, R^5 представляет собой фтор, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой фтор, R^2 представляет собой метокси, R^3 представляет собой водород, A представляет собой $(a-1)$, R^4 представляет собой трифторметокси, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой дейтерий, A представляет собой $(a-1)$, R^4 представляет собой трифторметокси, R^5

представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой –OCH₂CH₂OH, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметокси, R⁵ представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметил, R⁵ представляет собой метокси, Z представляет собой азот, и R⁶ отсутствует; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-2), и R⁴ представляет собой трифторметил; или

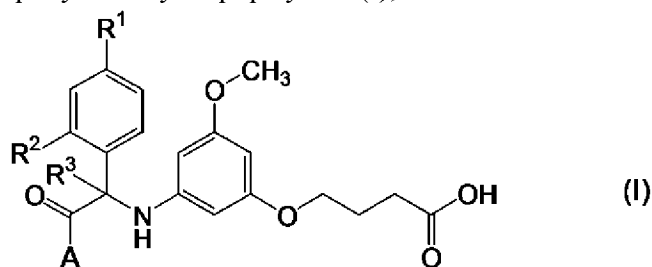
R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметилтио, R⁵ представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород;

или их фармацевтически приемлемой соли, сольвату или полиморфу.

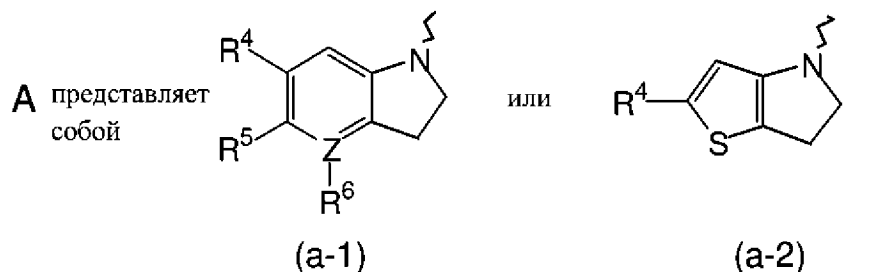
Первая группа соединений формулы (I) представляет собой соединения формулы (I), где радикал A представляет собой (a-1).

Вторая группа соединений формулы (I) представляет собой соединения формулы (I), где радикал A представляет собой (a-2).

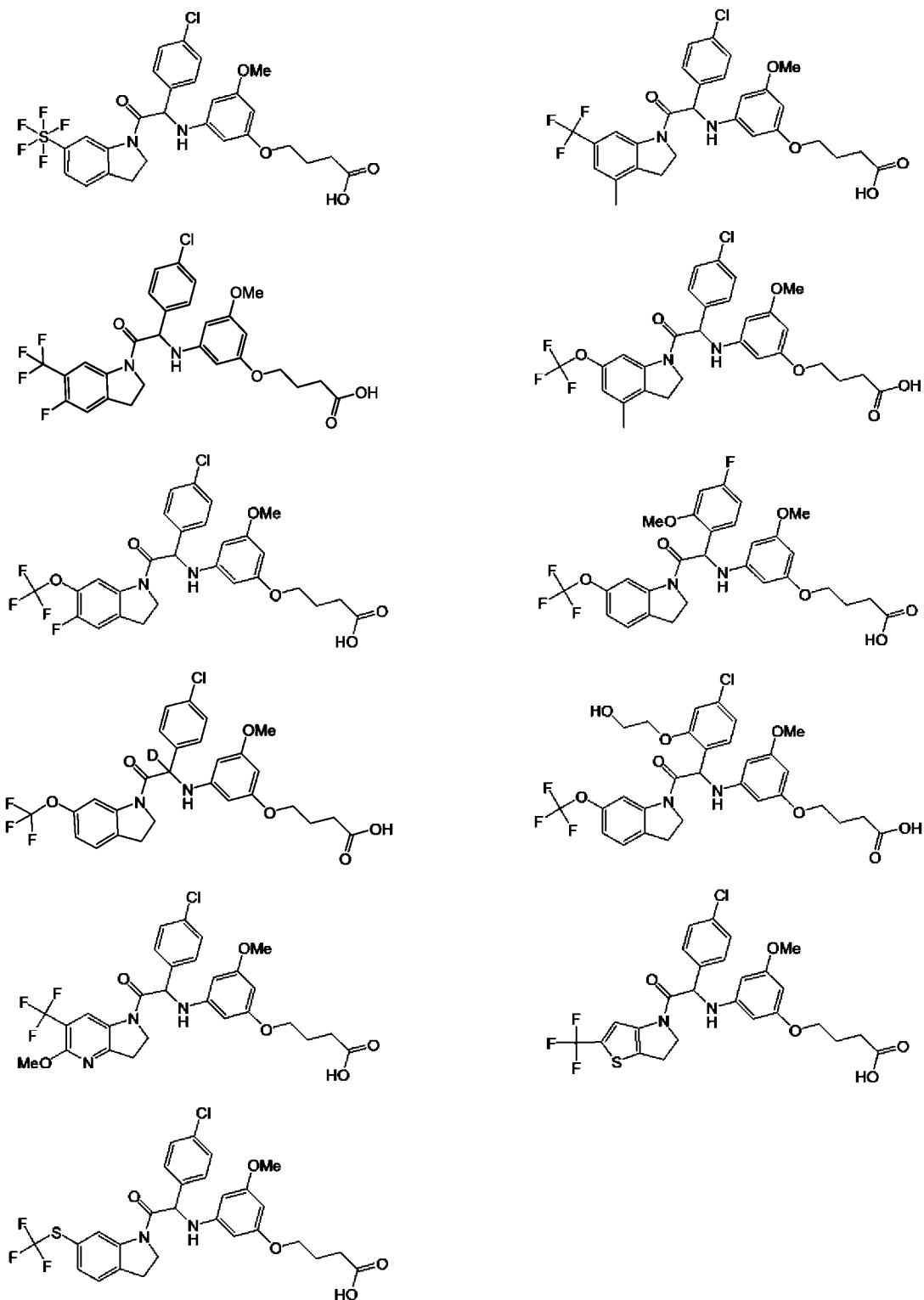
В альтернативном представлении настоящее изобретение относится к соединению, характеризующемуся формулой (I),



где



где соединение выбрано из группы, состоящей из



или его фармацевтически приемлемой соли, сольвату или полиморфу.

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

Фармацевтически приемлемые соли указанных соединений включают их соли присоединения кислоты и основания. Подходящие соли присоединения кислоты

образованы из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Подходящие основные соли образованы из оснований, которые образуют нетоксичные соли.

Подразумевается, что фармацевтически приемлемые кислые соли, приведенные выше в данном документе, включают терапевтически активные нетоксичные формы солей присоединения кислоты, которые соединения формулы (I) способны образовывать. Данные фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты можно легко получать путем обработки основной формы с помощью такой соответствующей кислоты. Соответствующие кислоты включают, например, неорганические кислоты, такие как галогеноводородные кислоты, например, хлористоводородная или бромистоводородная кислота, серная, азотная, фосфорная и подобные кислоты; или органические кислоты, такие как, например, уксусная, пропановая, гидроксидуксусная, молочная, пировиноградная, щавелевая (т. е. этандиовая), малоновая, янтарная (т. е. бутандиовая кислота), малеиновая, фумаровая, яблочная, винная, лимонная, метансульфоновая, этансульфоновая, бензолсульфоновая, п-толуолсульфоновая, цикламовая, салициловая, п-аминосалициловая, памовая кислота и подобные кислоты.

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

Термин "полиморф" означает способность соединения по настоящему изобретению существовать в более чем одной форме или иметь кристаллическую структуру.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Их можно получать, например, в виде твердых прессованных масс, порошков или пленок посредством таких способов, как осаждение, кристаллизация, сублимационное высушивание, высушивание распылением или высушивание 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 и природа лекарственной формы.

Для целей введения соединения по настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы. В качестве соответствующих 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, требуемой для введения. Желательно, если данные фармацевтические композиции представлены в единичной лекарственной форме, подходящей, например, для перорального или ректального введения. Например, при получении композиций в лекарственной форме для перорального применения может применяться любая из общепринятых фармацевтических сред, такая как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т. п. в случае жидких препаратов для перорального применения, таких как суспензии, сиропы, настойки, эмульсии и растворы; или любой из твердых носителей, таких как виды крахмала, сахара, каолин, разбавители, смазывающие средства, связующие, разрыхлители и т. п. в случае порошков, пиллюль, капсул и таблеток. Вследствие простоты их введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее преимущественные стандартные лекарственные формы для перорального введения, в случае которых, несомненно, применяют твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые можно преобразовать в жидкие формы непосредственно перед применением.

Особенно преимущественным является составление вышеупомянутых фармацевтических композиций в виде единичной лекарственной формы для простоты введения и равномерности дозирования. Единичная лекарственная форма, используемая в данном документе, означает физически дискретные единицы, подходящие в качестве единичных доз, при этом каждая единица содержит предварительно заданное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения требуемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Примерами таких единичных лекарственных форм являются таблетки (в том числе делимые или покрытые оболочкой таблетки), капсулы, пиллюли, 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 далее. В целом, предполагается, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 мг/кг до 50 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг массы тела. Может оказаться целесообразным вводить требуемую дозу в виде двух, трех, четырех или более частей дозы через соответствующие интервалы в течение суток. Указанные части дозы могут состояться 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 по настоящему изобретению, конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, массы и общего физического состояния конкретного пациента, а также другого медикаментозного лечения, которое

может получать индивидуум, как это хорошо известно специалистам в данной области техники. Кроме того, очевидно, что эффективное количество можно уменьшать или увеличивать в зависимости от реакции субъекта, подвергаемого лечению, и/или в зависимости от оценки лечащего врача, назначающего соединения по настоящему изобретению. Следовательно, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только рекомендациями и не предназначены для ограничения в какой-либо степени объема или применения настоящего изобретения.

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

Любая химическая формула, используемая в данном документе, связи в которой показаны только в виде сплошных линий, а не в виде сплошных клиновидных или пунктирных клиновидных связей, или иным образом показанная как имеющая конкретную конфигурацию (например, R, S) возле одного или нескольких атомов, предусматривает каждый возможный стереоизомер или смесь двух или более стереоизомеров.

Выше и ниже в данном документе подразумевается, что термины "соединение формулы (I)" и "промежуточные соединения синтеза формулы (I)" включают их стереоизомеры и их таутомерные формы.

Термины "стереоизомеры", "стереоизомерные формы" или "стереохимически изомерные формы" выше или ниже в данном документе используют взаимозаменяемо.

Настоящее изобретение включает все стереоизомеры соединений по настоящему изобретению либо в виде чистого стереоизомера, либо в виде смеси двух или более стереоизомеров. Энантиомеры представляют собой стереоизомеры, которые являются не совпадающими при наложении зеркальными отображениями друг друга. Смесь 1:1 пары энантиомеров представляет собой рацемат или рацемическую смесь. Диастереомеры (или диастереоизомеры) представляют собой стереоизомеры, которые не являются энантиомерами, т. е. они не соотносятся как зеркальные отображения.

Термин "стереоизомеры" также включает любые ротамеры, также называемые конформационными изомерами, которые соединения формулы (I) могут образовывать.

Таким образом, настоящее изобретение включает энантиомеры, диастереомеры, рацематы, E-изомеры, Z-изомеры, цис-изомеры, транс-изомеры, ротамеры и их смеси во всех случаях, когда это возможно с точки зрения химии.

Значения всех этих терминов, т. е. энантиомеры, диастереомеры, рацематы, E-изомеры, Z-изомеры, цис-изомеры, транс-изомеры и их смеси, известны специалисту в данной области.

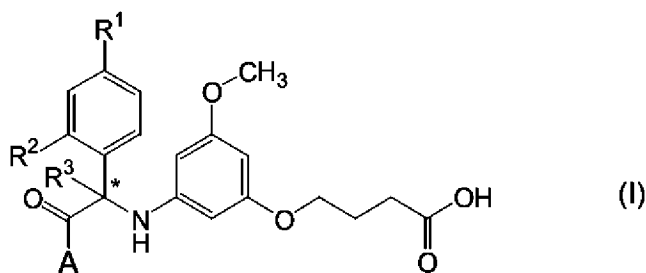
Абсолютная конфигурация указана в соответствии с системой Кана-Ингольда-Прелога. Конфигурация при асимметричном атоме указывается как R или как S. Выделенные стереоизомеры, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут быть обозначены как (+) или (-) в зависимости от направления, в котором они вращают

плоскость поляризации света. Например, выделенные энантиомеры, абсолютная конфигурация которых неизвестна, могут обозначаться как (+) или (–) в зависимости от направления, в котором они вращают плоскость поляризации света.

Если указан конкретный стереоизомер, это означает, что указанный стереоизомер практически не содержит других изомеров, т. е. относится к содержанию менее 50%, предпочтительно менее 20%, более предпочтительно менее 10%, еще более предпочтительно менее 5%, в частности менее 2% и наиболее предпочтительно менее 1% других стереоизомеров. Таким образом, если соединение формулы (I) указано, например, как (R), это означает, что соединение практически не содержит (S)–изомера.

Некоторые соединения формулы (I) могут также существовать в их таутомерной форме. Предполагается, что такие формы, ввиду того, что они могут существовать, хотя явно и не показаны в вышеприведенной формуле (I), включены в объем настоящего изобретения.

Все соединения формулы (I) по настоящему изобретению содержат по меньшей мере один асимметрический атом углерода, указанный на фигуре ниже как атом углерода, отмеченный *:



Вследствие присутствия указанного хирального центра "соединение формулы (I)" может представлять собой (R)–энантиомер, (S)–энантиомер, рацемическую форму или любую возможную комбинацию двух отдельных энантиомеров в любом соотношении. Если абсолютная (R)– или (S)–конфигурация энантиомера неизвестна, то данный энантиомер можно также идентифицировать с помощью указания того, что энантиомер является либо правовращающим (+)–, либо левовращающим (–)– после измерения удельного оптического вращения указанного конкретного энантиомера.

В одном аспекте настоящее изобретение относится к первой группе соединений формулы (I), где соединения формулы (I) характеризуются (+) удельным вращением.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится ко второму грунту соединений формулы (I), где соединения формулы (I) характеризуются (–) удельным вращением.

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 включали дополнительные детекторы (см. приведенную ниже таблицу способов).

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (MS), 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 номинальную моноизотопную молекулярную массу (MW) соединения. Сбор данных осуществляли с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по их значениям экспериментального времени удерживания (R_t) и ионам. Если в таблице данных не указано иное, то указанный молекулярный ион соответствует $[M+H]^+$ (протонированной молекуле) и/или $[M-H]^-$ (депротонированной молекуле). В случае если соединение не было непосредственно способно к ионизации, указывали тип аддукта (т. е. $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$ и т. д.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl) описанное значение представляет собой значение, которое получали 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, "к. т." означает комнатную температуру, "BEH" означает мостиковый гибрид этилсилоксана/диоксида кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности.

Условные обозначения способов LC/MS (расход, выраженный в мл/мин.; температура колонки (T) – в °C; время анализа – в минутах).

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Расход Т колонки	Время анализа (мин.)
LC-A	Waters: Acquity [®] UPLC [®] – DAD– Quattro Micro [™]	Waters: BEH [®] C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	A: 95% 7 мМ CH ₃ COONH 4/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	От 84,2% А в течение 0,49 мин., до 10,5% А за 2,18 мин., удерживание в течение 1,94 мин., обратно до 84,2% А за 0,73 мин., удерживание в течение 0,73 мин.	0,343 мл/мин 40°C	6,2
LC-B	Waters: Acquity [®] H-Class – DAD и SQD2 [™]	Waters: BEH [®] C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	A: 95% 7 мМ CH ₃ COONH 4/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	От 84,2% А/15,8% В до 10,5% А за 2,18 мин., удерживание в течение 1,96 мин., обратно до 84,2%	0,343 мл/мин 40°C	6,1

				A/15,8% B за 0,73 мин., удерживание в течение 0,49 мин.		
LC-C	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-D	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

Способы SFC/MS

Измерения в ходе SFC осуществляли 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, выдерживающей значения до 400 бар. В случае оснащения масс-спектрометром (MS) поток из колонки направлялся 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 номинальную моноизотопную молекулярную массу (MW) соединения.

Сбор данных осуществляли с помощью соответствующего программного обеспечения. Аналитические способы SFC-MS (расход выражен в мл/мин.; температура колонки (T) – в °C; время анализа – в минутах, противодавление (BPR) – в барах).

Код способа	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Расход	Время анализа
				T колонки	BPR
SFC-A	Колонка Daicel Chiralpak [®] AS3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH (+0,2% iPrNH ₂ +3% H ₂ O)	От 10% до 50% B за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5	9,5
				40	110

SFC–B	Колонка Daicel Chiralpak® OD3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH (+0,2% iPrNH ₂)	от 10% до 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 40	9,5 110
SFC–C	Колонка Daicel Chiralpak® AS3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH (+0,2% iPrNH ₂)	от 10% до 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 40	9,5 110
SFC–D	Колонка Daicel Chiralcel® OD–3 колонка (3 мкм, 100×4,6 мм)	A: CO ₂ B: iPrOH (+0,3% iPrNH ₂)	40% В, удерживание 3 мин.	3,5 35	3 105
SFC–E	Колонка Whelk®–O–(R, R) (5,0 мкм, 250×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH (+0,2% iPrNH ₂)	от 10% до 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 40	9,5 110
SFC–F	Колонка Daicel Chiralpak® ID3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ B: EtOH (+0,2% iPrNH ₂)	от 10% до 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 40	9,5 110
SFC–G	Колонка Regis Whelk O1, S, S (3 мкм, 100×4,6 мм)	A: CO ₂ B: MeOH	40% В, удерживание 3 мин.	3,5 35	3 – 103
SFC–H	Колонка Daicel Chiralcel® OD–3 колонка (3 мкм, 100×4,6 мм)	A: CO ₂ B: MeOH	40% В, удерживание 3 мин.	3,5 35	3 – 103
SFC–I	Колонка Daicel Chiralcel® OD–3 колонка (3 мкм, 100×4,6 мм)	A: CO ₂ B: MeOH	30% В, удерживание 3 мин.	3,5 35	3 – 103

Значения температуры плавления

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

DSC823e (обозначен как DSC)

Для ряда соединений значения температуры плавления определяли с помощью DSC823e (Mettler–Toledo). Значения температуры 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 в г/100 мл, растворитель, T в °C).

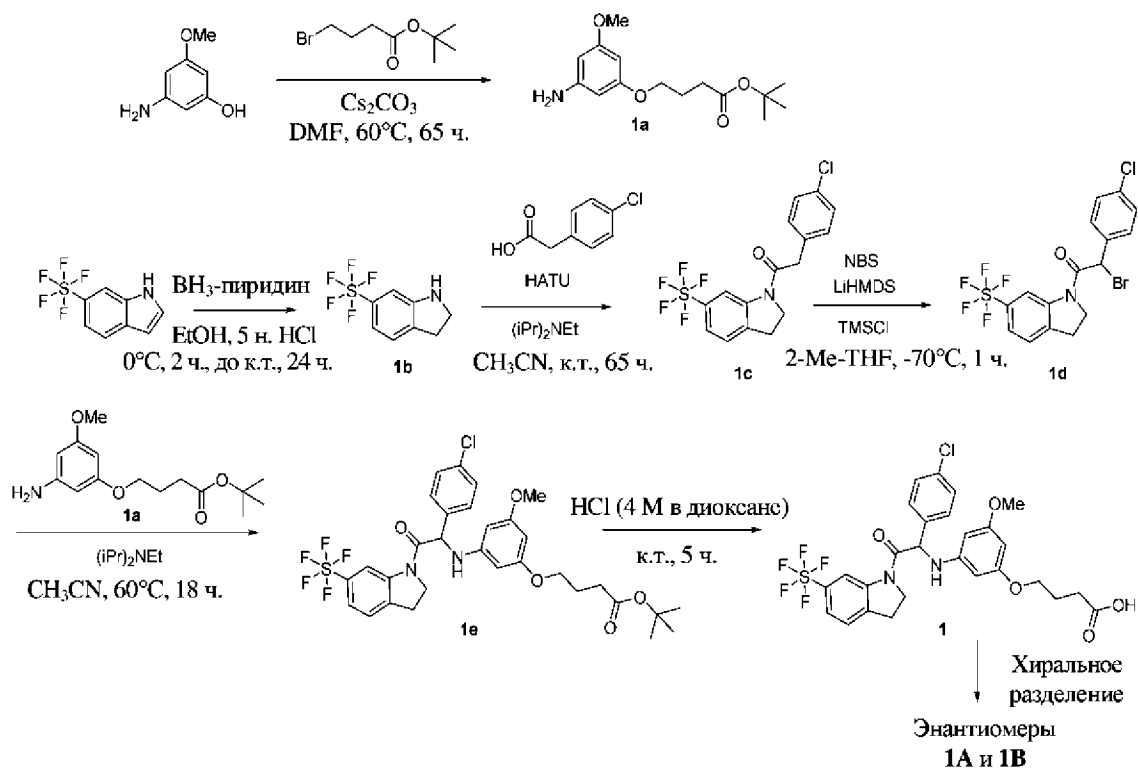
$[\alpha]^\circ_\lambda = (100\alpha)/(l \times c)$, где l означает длину оптического пути в дм, и c означает концентрацию в г/100 мл для образца при температуре T (°C) и длине волны λ (в нм). Если используемая длина волны света составляет 589 нм (D–линия натрия), то вместо нее может использоваться символ D. Всегда нужно приводить знак направления вращения (+ или –). При применении данного уравнения концентрация и растворитель всегда приводятся в круглых скобках после угла вращения. Угол вращения указан в градусах, а единицы концентрации не приведены (считается, что они представлены в г/100 мл).

Сокращения, используемые в экспериментальной части

(M+H) ⁺	протонированный	iPrNH ₂	изопропиламин
MH ⁺	молекулярный ион		
водн.	водный	iPrOH	2–пропанол
Boc	<i>трет</i> –бутилоксикарбонил	K ₂ CO ₃	карбонат калия
Boc ₂ O	ди–трет–бутилдикарбонат	KNO ₃	нитрат калия
br	широкий	LiAlH ₄	алюмогидрид лития
CH ₃ CN	ацетонитрил	масса/заря	отношение массы к заряду
		д	
CHCl ₃	хлороформ	Me	метил
CH ₂ Cl ₂	дихлорметан	MeOH	метанол
CH ₃ OH	метанол	MgSO ₄	сульфат магния
CO ₂	диоксид углерода	мин.	минута(минуты)
CsCO ₃	карбонат цезия	MTBE	метил–трет–бутиловый эфир
d	дублет	N ₂	азот
DCM	дихлорметан	Na ₂ CO ₃	карбонат натрия
DIEA	диизопропилэтиламин	Na ₂ SO ₄	сульфат натрия
DIPE	диизопропиловый эфир	NaBH₄	борогидрид натрия
DMA	диметилацетамид	NaCl	хлорид натрия
DMAP	4–диметиламинопиридин	NaHCO ₃	бикарбонат натрия
DME	1,2–диметоксиэтан	NaOH	гидроксид натрия
DMF	диметилформамид	NH ₄ Cl	хлорид аммония
DMSO	диметилсульфоксид	NH ₄ HCO ₃	бикарбонат аммония
	1–этил–3–(3–		
EDCI	диметиламинопропил)карбодиимид	NMP	N–метилпирролидон
экв.	эквивалент	q	квартет
Et ₂ O	диэтиловый эфир	к. т. или	комнатная температура
		К. Т.	
	триэтиламин		2–
Et ₃ N		SEMCl	(триметилсилил)этоксиметилхлорид

EtOAc	этилацетат	s	синглет
EtOH	этанол	t	триплет
H ₂	водород	tBuOK	<i>трет</i> -бутоксид калия
HNO ₃	азотная кислота	TEA	триэтиламин
H ₂ O	вода	TFA	трифторуксусная кислота
H ₂ SO ₄	серная кислота	THF	тетрагидрофуран
HATU	тетраметилурония гексафторфосфат – CAS [148893–10–1]	2-Me- THF	2-метилтетрагидрофуран
HCl	хлороводородная кислота	TMSCl	триметилсилилхлорид
HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография	TMSCF ₃	трифторметилтриметилсила н

Пример 1. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **1**) и хиральное разделение на энантиомеры **1A** и **1B**.



Синтез промежуточного соединения **1a**

К механически перемешанному раствору *трет*-бутил-4-бромбутаноата [CAS 110661–91–1] (42,3 г, 0,19 моль) в DMF (600 мл) добавляли порциями твердую смесь 3-амино-5-метоксифенола [CAS 162155–27–3] (26,4 г, 0,19 моль) и Cs₂CO₃ (123,6 г, 0,379 моль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 65 ч. и обеспечивали достижение комнатной температуры. Смесь выливали в H₂O (2,5 л). Продукт экстрагировали с помощью Et₂O (2 раза). Объединенные органические слои промывали

солевым раствором, высушивали над MgSO_4 и фильтровали. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с толуолом. Остаток очищали с помощью нормально-фазовой HPLC (неподвижная фаза: силикагель 60А 25–40 мкм (Merck), подвижная фаза: градиент от 20% EtOAc, 80% гептана до 60% EtOAc, 40% гептана) с получением *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокс)бутаноата **1a** (27 г).

Синтез промежуточного соединения **1b**

При 0°C BH_3 -пиридин (1,46 мл, 14,5 ммоль) медленно добавляли к раствору 6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)-1H-индола [CAS 1379811-84-3] (1,0 г, 4,11 ммоль) в EtOH (8,5 мл). Медленно добавляли 5 н. HCl (7 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. и обеспечивали медленное нагревание до комнатной температуры при перемешивании в течение ночи. После охлаждения до 0°C (на ледяной бане) добавляли по каплям 50% NaOH (2 мл) и перемешивание продолжали в течение 15 мин. Добавляли воду (50 мл) и продукт экстрагировали с помощью Et_2O /EtOAc 2/1. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (25 г) с применением градиента гептан/ CH_2Cl_2 от 100/0 до 0/100. Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток высушивали в вакууме при 45°C с получением 6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолина **1b** (328 мг).

Синтез промежуточного соединения **1c**

Смесь полученного 6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолина **1b** (328 мг, 1,34 ммоль), 2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 1878-66-6] (228 мг, 1,34 ммоль), NATU (778 мг, 2,0 ммоль) и диизопропилэтиламина (663 мкл, 4,0 ммоль) в CH_3CN (15 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 65 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в 2-Ме-THF (50 мл) и промывали с помощью 1 н. HCl (25 мл) и солевого раствора. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (12 г) с применением градиента гептан/EtOAc от 100/0 до 0/100. Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Продукт кристаллизовали из CH_2Cl_2 /EtOAc, отфильтровывали, промывали (3х) с помощью EtOAc и высушивали в вакууме при 45°C с получением 2-(4-хлорфенил)-1-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)-этанона **1c** (209 мг). Фильтрат выпаривали при пониженном давлении. Остаток перемешивали в Et_2O (2 мл), отфильтровывали, промывали (3х) с помощью Et_2O и высушивали в вакууме при 45°C с получением второй серии промежуточного соединения **1c** (155 мг).

Синтез промежуточного соединения **1d**

При -70°C в потоке N_2 1 М LiHMDS в THF (1,78 мл, 1,78 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)этанон **1c** (354 мг, 0,89 ммоль) в 2-Ме-THF (35 мл) и смесь поддерживали при -70°C в течение 30 мин. Добавляли по каплям TMSCl (182 мкл, 1,42 ммоль). Смесь перемешивали в течение 30 мин. при -70°C и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимида (198 мг, 1,11

ммоль) в смеси растворителей THF (1,5 мл) и 2-Ме-THF (5 мл). После перемешивания в течение 1 ч. при -78°C реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl (50 мл). Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в течение 50 мин. Добавляли воду (10 мл), и органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали, и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)этанона **1d** (424 мг), который применяли как таковой на следующей стадии.

Синтез соединения **1** и хиральное разделение на энантиомеры **1A** и **1B**

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)этанона **1d** (424 мг, 0,89 ммоль), *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата **1a** (260 мг, 0,92 ммоль) и диизопропилэтиламина (306 мкл, 1,78 ммоль) в CH_3CN (30 мл) перемешивали при 60°C в течение 18 ч. Обеспечивали достижение реакционной смесью комнатной температуры и выливали ее в перемешиваемую воду (150 мл). Продукт экстрагировали (2х) с помощью Et_2O . Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (40 г) с применением градиента гептан/ EtOAc / EtOH от 100/0/0 до 40/45/15. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с диоксаном.

Остаток (602 мг, содержащий 58% промежуточного соединения **1e**) смешивали с 4 М HCl в диоксане (4 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Твердые вещества отфильтровывали, промывали с помощью диоксана (3х) и Et_2O (2х) и высушивали в вакууме при 45°C с получением неочищенной 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **1**, 309 мг). Аналитический образец (60 мг) рацемического соединения **1** дополнительно очищали с помощью препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, CH_3CN). Чистые фракции объединяли и органические летучие вещества выпаривали при пониженном давлении. Оставшийся водный раствор выпаривали при пониженном давлении совместно с о-ксилолом. Остаток растворяли в смеси растворителей, состоящей из CH_3CN и воды, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с диоксаном. Остаток лиофилизировали из смеси растворителей, состоящей из CH_3CN (2 мл) и воды (0,8 мл), с получением чистой 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **1**, 40 мг) в виде порошка.

Энантиомеры соединения **1** (249 мг) разделяли с помощью препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD, 20 × 250 мм, подвижная фаза: CO_2 , EtOH +0,4% $i\text{PrNH}_2$). Фракции, содержащие продукт, представляющий собой первый элюированный энантиомер, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и

выпаривали совместно с MeOH. Остаток перемешивали в воде (3,5 мл) и MeOH (1 мл), твердые вещества отфильтровывали, промывали (3х) с помощью воды/MeOH 4/1 и высушивали в вакууме при 45°C с получением энантиомера **1A** (41 мг). Фракции, содержащие продукт, представляющий собой второй элюированный энантиомер, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с MeOH. Остаток перемешивали в воде (3 мл) и MeOH (0,6 мл), твердые вещества отфильтровывали, промывали (3х) с помощью воды/MeOH 4/1 и высушивали в вакууме при 45°C с получением энантиомера **1B** (48 мг).

Соединение 1

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,86 (quin, J=6,8 Гц, 2 H) 2,33 (t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,12–3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (t, J=6,5 Гц, 2 H) 3,99–4,13 (m, 1 H) 4,47–4,59 (m, 1 H) 5,57 (d, J=8,6 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=2,1 Гц, 1 H) 5,91–5,96 (m, 2 H) 6,45 (d, J=8,6 Гц, 1 H) 7,39–7,50 (m, 3 H) 7,51–7,62 (m, 3 H) 8,58 (d, J=2,0 Гц, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC-C): R_t 1,09 мин, MН⁺ 621

Энантиомер 1A

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,85 (quin, J=6,8 Гц, 2 H) 2,26 (br t, J=6,8 Гц, 2 H) 3,15–3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (br t, J=6,4 Гц, 2 H) 4,02–4,12 (m, 1 H) 4,48–4,60 (m, 1 H) 5,59 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 5,93 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 5,96 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 6,47 (d, J=8,4 Гц, 1 H) 7,42–7,47 (m, 3 H) 7,53–7,59 (m, 3 H) 8,58 (d, J=2,2 Гц, 1 H)

LC/MS (способ LC-D): R_t 1,99 мин, MН⁺ 621

[α]_D²⁰: -44,6° (с 0,28, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 3,54 мин, MН⁺ 621 Хиральная чистота 97,9%.

Энантиомер 1B

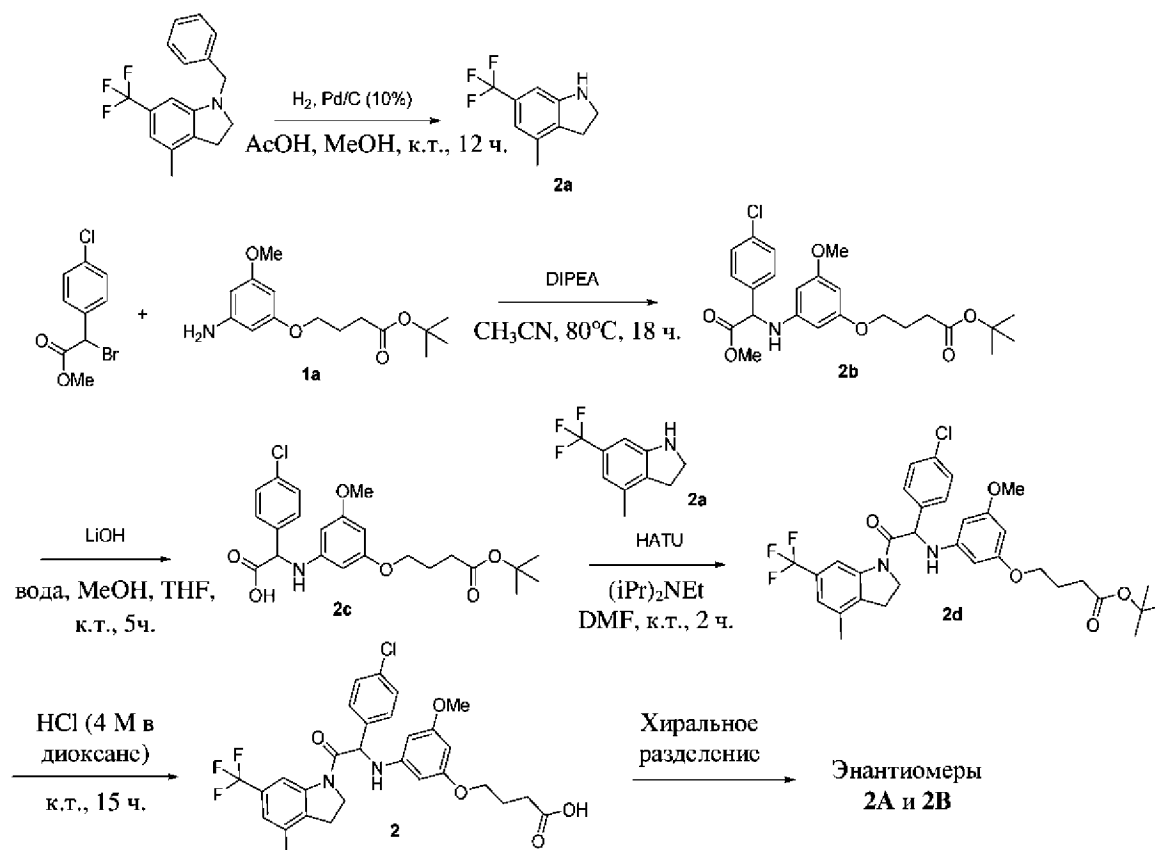
¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,86 (quin, J=6,8 Гц, 2 H) 2,33 (t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,14–3,29 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (t, J=6,4 Гц, 2 H) 4,01–4,11 (m, 1 H) 4,48–4,58 (m, 1 H) 5,58 (d, J=9,1 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 5,93 (t, J=1,8 Гц, 1 H) 5,94–5,96 (m, 1 H) 6,48 (d, J=9,1 Гц, 1 H) 7,41–7,48 (m, 3 H) 7,52–7,61 (m, 3 H) 8,58 (d, J=2,2 Гц, 1 H) 12,13 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC-D): R_t 1,98 мин, MН⁺ 621

[α]_D²⁰: +46,0° (с 0,265, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 3,82 мин, MН⁺ 621 Хиральная чистота 99,0%.

Пример 2. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение **2**) и хиральное разделение на энантиомеры **2A** и **2B**.



Синтез промежуточного соединения 2a

Pd/C (10%) (1,18 г) добавляли к раствору 1-бензил-4-метил-6-(трифторметил)индолина [CAS 1156512-79-6] (11,8 г, 40,5 ммоль) в AcOH (11,8 мл) и MeOH (118 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. в атмосфере H_2 . Смесь фильтровали через подушку из Celite® и концентрировали при пониженном давлении. Остаток помещали в CH_2Cl_2 , промывали с помощью воды, солевого раствора, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (гептан/EtOAc 9/1). Чистые фракции объединяли и растворитель выпаривали до сухого состояния с получением 8,2 г 4-метил-6-(трифторметил)индолина 2a.

Синтез промежуточного соединения 2b

Трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокс)бутаноат 1a (2,94 г, 10,5 ммоль) добавляли к раствору метил-2-бром-2-(4-хлорфенил)ацетата [CAS 24091-92-7] (2,51 г, 9,53 ммоль) в CH_3CN (200 мл). Добавляли диизопропилэтиламин (2,46 мл, 14,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение ночи. Растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в CH_2Cl_2 и промывали 1 н. HCl. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали до сухого состояния при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (100 г) с применением градиента EtOAc:EtOH(3:1)/гептан от 0/100 до 50/50. Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении и остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-метокси-2-оксоэтил)амино)-5-

метоксифенокси)бутаноата **2b** (3,74 г) в виде желтого масла.

Синтез промежуточного соединения **2c**

Гидроксид лития (336 мг, 14,0 ммоль) добавляли к раствору *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-метокси-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **2b** (3,74 г, 7,02 ммоль) в смеси растворителей, состоящей из воды (25 мл), MeOH (25 мл) и THF (75 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Добавляли насыщенный водный раствор NH₄Cl (50 мл) и органические летучие вещества выпаривали при пониженном давлении. Остаточный водный раствор подкисляли с помощью 1 н. HCl до pH 2 и дважды экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением 2-((3-(4-(*трет*-бутоксид)-4-оксобутоксид)-5-метоксифенил)амино)-2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты **2c** (3,22 г) в виде густого коричневого масла.

Синтез промежуточного соединения **2d**

N, N-диизопропилэтиламин (1,58 мл, 9,57 ммоль) добавляли к раствору 2-((3-(4-(*трет*-бутоксид)-4-оксобутоксид)-5-метоксифенил)амино)-2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты **2c** (1,44 г, 3,19) и 4-метил-6-(трифторметил)индолина **2a** (953 мг, 3,51 ммоль) в сухом DMF (30 мл). Добавляли HATU (1,82 г, 4,78 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в воду (400 мл) и белую суспензию экстрагировали с помощью EtOAc. Водный слой насыщали путем добавления NaCl и снова экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, водой, высушивали над MgSO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (100 г) с применением градиента EtOAc:EtOH(3:1)/гептан от 0/100 до 60/40. Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток (1,41 г) очищали с помощью 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 с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **2d** (808 мг) в виде белого твердого вещества.

Синтез соединения **2** и хиральное разделение на энантиомеры **2A** и **2B**

Трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноат **2d** (808 мг, 1,28 ммоль) смешивали с 4 М HCl в диоксане (9,6 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Реакционную смесь барботировали газообразным азотом в течение 30 мин. Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **2**, 735 мг) в виде светло-коричневого

твёрдого вещества. Энантиомеры соединения **2** (735 мг) разделяли с помощью препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® Diacel OD, 20 × 250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH+0,4% iPrNH₂). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением энантиомера **2A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **2B** в качестве второго элюированного продукта. Оба остатка смешивали с EtOAc и водой. Смесь подкисляли до pH 1–2 с помощью 1 н. HCl. Слои разделяли и водный слой дважды экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением энантиомера **2A** (216 мг) и энантиомера **2B** (184 мг) соответственно.

Соединение 2

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (br quin, J=6,9 Гц, 2 H) 2,25 (s, 3 H) 2,33 (br t, J=7,1 Гц, 2 H) 3,07–3,20 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,84 (br t, J=6,4 Гц, 2 H) 3,97–4,09 (m, 1 H) 4,48–4,60 (m, 1 H) 5,57 (br d, J=8,8 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=1,8 Гц, 1 H) 5,90–5,99 (m, 2 H) 6,43 (br d, J=8,8 Гц, 1 H) 7,25 (s, 1 H) 7,44 (d, J=8,4 Гц, 2 H) 7,56 (br d, J=8,4 Гц, 2 H) 8,22 (s, 1 H) 12,15 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,14 мин, MН⁺ 577

Энантиомер 2A

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=6,8 Гц, 2 H) 2,25 (s, 3 H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,05–3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (t, J=6,4 Гц, 2 H) 4,03 (td, J=10,2, 7,3 Гц, 1 H) 4,54 (td, J=10,2, 6,2 Гц, 1 H) 5,57 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 5,91–5,99 (m, 2 H) 6,42 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 7,44 (d, J=8,4 Гц, 2 H) 7,56 (d, J=8,8 Гц, 2 H) 8,22 (s, 1 H) 12,17 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,26 мин, MН⁺ 577

[α]_D²⁰: –39,0° (с 0,438, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–B): R_t 5,11 мин, MН⁺ 577 Хиральная чистота 100%.

Энантиомер 2B

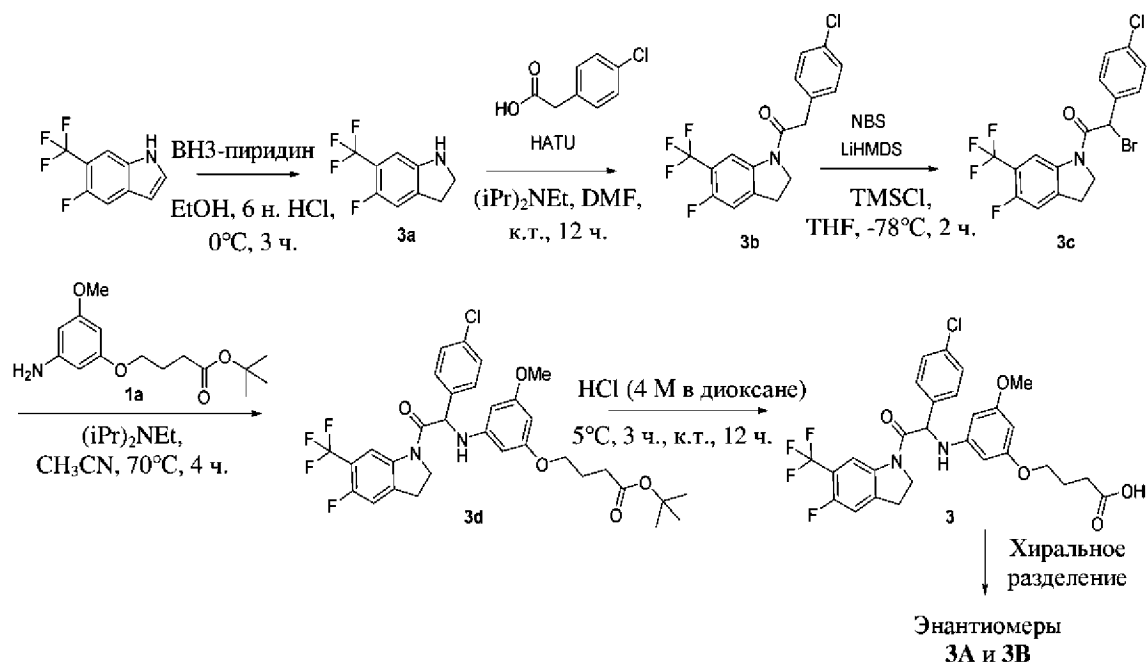
¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,88 (quin, J=6,9 Гц, 2 H) 2,25 (s, 3 H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,06–3,24 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (t, J=6,4 Гц, 2 H) 3,97–4,11 (m, 1 H) 4,55 (td, J=10,3, 6,8 Гц, 1 H) 5,58 (d, J=8,4 Гц, 1 H) 5,77 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 5,92–5,99 (m, 2 H) 6,43 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 7,25 (s, 1 H) 7,41–7,50 (m, 2 H) 7,52–7,60 (m, 2 H) 8,23 (s, 1 H) 12,17 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,25 мин, MН⁺ 577

[α]_D²⁰: +47,1° (с 0,384, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–B): R_t 8,00 мин, MН⁺ 577 Хиральная чистота 99,6%.

Пример 3. Синтез 4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–(5–фтор–6–(трифторметил)индолин–1–ил)–2–оксоэтил)амино)–5–метоксифенокс)бутановой кислоты (соединение **3**) и хиральное разделение на энантиомеры **3A** и **3B**.



Синтез промежуточного соединения **3а**

При 0°C BH_3 -пиридин (10,45 мл, 103,4 ммоль) медленно добавляли к раствору 5-фтор-6-(трифторметил)-1H-индола [CAS 1493800-10-4] (7,0 г, 34,5 ммоль) в EtOH (45 мл). Добавляли по каплям 6 н. HCl (105 мл) при поддержании температуры ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли воду и повышали основность смеси до pH 8,5 с помощью концентрированного раствора NaOH (температура ниже 20°C). Добавляли EtOAc. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Тoluол добавляли и удаляли при пониженном давлении (с удалением следовых количеств пиридина). Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20–45 мкм, 120 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98,5/1,5). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 5-фтор-6-(трифторметил)индолина **3а** (3,5 г).

Синтез промежуточного соединения **3b**

Смесь 5-фтор-6-(трифторметил)индолина **3а** (500 мг, 2,44 ммоль), 2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 1878-66-6] (457 мг, 2,64 ммоль), HATU (1,39 г, 3,66 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,2 мл, 7,31 ммоль) в DMF (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь выливали в ледяную воду, осадок отфильтровывали и поглощали с помощью CH_2Cl_2 . Органический слой высушивали над MgSO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Соединение кристаллизовали из CH_3CN и высушивали с получением 2-(4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **3b** (854 мг).

Синтез промежуточного соединения **3с**

При -78°C в потоке N_2 1 М LiHMDS в THF (4,78 мл, 4,78 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **3b** (854 мг, 2,39 ммоль) в THF (7 мл). Добавляли по каплям TMSCl (485 мкл, 3,82 ммоль).

Смесь перемешивали в течение 15 мин. при -78°C и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимида (510 мг, 2,87 ммоль) в THF (7 мл). После перемешивания в течение 2 ч. при -78°C реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NH_4Cl . Добавляли EtOAc и органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 40 г, CH_2Cl_2 /гептан 50/50). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **3c** (820 мг).

Синтез промежуточного соединения **3d**

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **3c** (820 мг, 1,88 ммоль), *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифеноксид)бутаноата **1a** (528 мг, 1,88 ммоль) и диизопропилэтиламина (388 мкл, 2,25 ммоль) в CH_3CN (20 мл) перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали с помощью EtOAc. Органический слой дважды промывали 1 н. раствором HCl , водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 40 г, 100% CH_2Cl_2). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата **3d** (1,07 г).

Синтез соединения **3** и хиральное разделение на энантиомеры **3A** и **3B**

Раствор *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата **3d** (1,07 г, 1,68 ммоль) в HCl (4 М в диоксане) (20 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч. и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали диизопропиловым эфиром и высушивали. Остаток очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18, 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 65% 0,2% NH_4HCO_3 , 35% CH_3CN до 25% 0,2% NH_4HCO_3 , 75% CH_3CN) с получением соединения **3** (540 мг). Аналитический образец (30 мг) дополнительно очищали с помощью хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18, 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 65% 0,2% NH_4HCO_3 , 35% CH_3CN до 25% 0,2% NH_4HCO_3 , 75% CH_3CN) с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение **3**, 30 мг, 0,16 H_2O). Оставшееся количество соединения **3** (510 мг) применяли для хирального разделения энантиомеров с помощью препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Whelk O1 S, S, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 60% CO_2 , 40% MeOH). Первый элюированный энантиомер (250 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20–45 мкм, 24 г, CH_2Cl_2 /MeOH 98/2). Чистые фракции объединяли и растворитель

концентрировали при пониженном давлении с получением после отверждения в гептане/диизопропиловом эфире энантиомера **3А** (170 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (249 мг) в гептане/диизопропиловом эфире с получением энантиомера **3В** (182 мг).

Соединение 3

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,78–1,92 (m, 2 H) 2,26 (br s, 2 H) 3,15–3,31 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (br s, 2 H) 4,02 (br d, $J=7,88$ Гц, 1 H) 4,54 (br d, $J=5,99$ Гц, 1 H) 5,58 (br d, $J=8,51$ Гц, 1 H) 5,76 (br s, 1 H) 5,90–5,99 (m, 2 H) 6,42 (br d, $J=8,51$ Гц, 1 H) 7,44 (br d, $J=7,88$ Гц, 3 H) 7,55 (br d, $J=7,88$ Гц, 2 H) 8,38 (br d, $J=6,31$ Гц, 1 H) 11,60–12,92 (m, 1 H)

LC/MS (способ LC–A): R_t 2,94 мин, MH^+ 581

Температура плавления: 206°C

Энантиомер 3А

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,87 (quin, $J=6,86$ Гц, 2 H) 2,29–2,39 (m, 2 H) 3,18–3,30 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (t, $J=6,46$ Гц, 2 H) 4,03 (td, $J=10,25, 7,25$ Гц, 1 H) 4,54 (td, $J=10,17, 6,15$ Гц, 1 H) 5,58 (d, $J=8,51$ Гц, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,95 (br d, $J=11,35$ Гц, 2 H) 6,43 (d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 7,43–7,48 (m, 3 H) 7,55 (d, $J=8,51$ Гц, 2 H) 8,39 (d, $J=6,31$ Гц, 1 H) 12,08–12,27 (m, 1 H)

LC/MS (способ LC–A): R_t 2,95 мин, MH^+ 581

$[\alpha]_D^{20}$: –48,9° (с 0,315, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–G): R_t 1,65 мин, MH^+ 581 Хиральная чистота 100%.

Энантиомер 3В

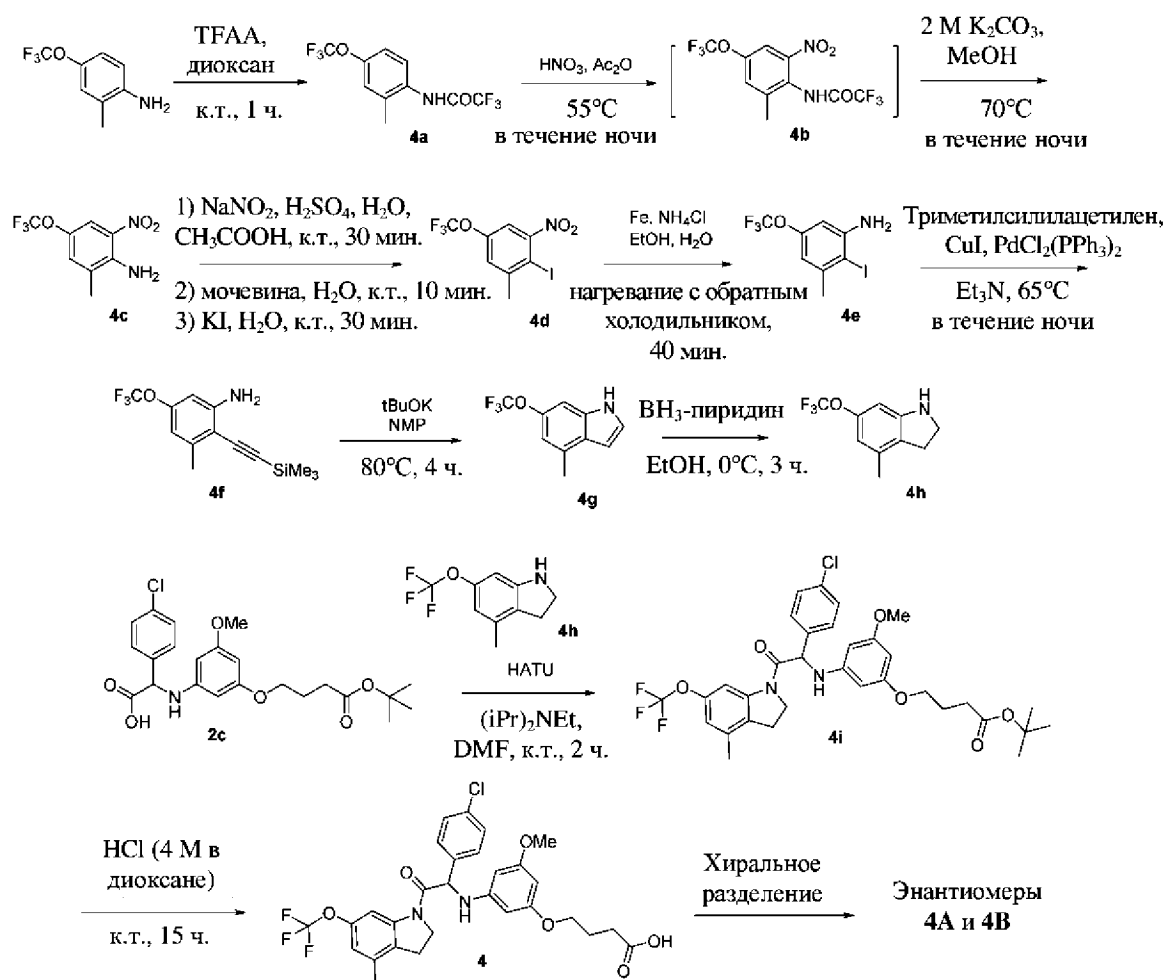
^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,87 (quin, $J=6,54$ Гц, 2 H) 2,25–2,46 (m, 2 H) 3,15–3,31 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (br t, $J=6,31$ Гц, 2 H) 3,98–4,07 (m, 1 H) 4,50–4,59 (m, 1 H) 5,58 (br d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,95 (br d, $J=12,30$ Гц, 2 H) 6,43 (br d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 7,42–7,48 (m, 3 H) 7,56 (br d, $J=8,20$ Гц, 2 H) 8,39 (br d, $J=6,31$ Гц, 1 H) 11,40–12,54 (m, 1 H)

LC/MS (способ LC–A): R_t 2,94 мин, MH^+ 581

$[\alpha]_D^{20}$: +47,8° (с 0,27, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–G): R_t 2,14 мин, MH^+ 581 Хиральная чистота 99,43%.

Пример 4. Синтез 4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–(4–метил–6–(трифторметокси)индолин–1–ил)–2–оксоэтил)амино)–5–метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **4**) и хиральное разделение на энантиомеры **4А** и **4В**.



Синтез промежуточного соединения 4a

К раствору 2-метил-4-(трифторметокси)анилина [CAS 86256-59-9] (10,0 г, 52,3 ммоль) в диоксане (20 мл) добавляли трифторуксусный ангидрид (8 мл, 57,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток распределяли между EtOAc и 1 н. HCl. Фазы разделяли. Органическую фазу промывали с помощью насыщенного раствора NaHCO_3 в воде, H_2O и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 14,7 г 2,2,2-трифтор-N-(2-метил-4-(трифторметокси)фенил)ацетамида **4a** в виде белого порошка. Соединение применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 4c

К уксусному ангидриду (11,4 мл, 61,1 ммоль), охлажденному при 0°C , добавляли по каплям 70% азотную кислоту (3,9 мл). Добавляли порциями 2,2,2-трифтор-N-(2-метил-4-(трифторметокси)фенил)ацетамид **4a** (5 г, 17,4 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 55°C в течение 12 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали с помощью H_2O . Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в метаноле (46 мл). Добавляли 2 М K_2CO_3 (23 мл, 46 ммоль) и реакционную смесь

нагревали при 70°C в течение 4 ч. Добавляли дополнительное количество 2 М K₂CO₃ (10 мл, 20 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 70°C в течение 12 ч. Реакционную смесь частично концентрировали при пониженном давлении с удалением метанола. Остаток экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу промывали с помощью H₂O и солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 20% до 50%) в гептане с получением 3,6 г 2-метил-6-нитро-4-(трифторметокси)анилина **4c** в виде желтого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 4d

К раствору 2-метил-6-нитро-4-(трифторметокси)анилина **4c** (1,8 г, 7,69 ммоль) в уксусной кислоте (10,9 мл) добавляли по каплям раствор нитрита натрия (0,806 г, 11,7 ммоль) в H₂SO₄/H₂O (2 мл, 1/1). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Добавляли H₂O (22 мл) и мочевины (0,802 г, 13,4 ммоль). Через 10 мин. при комнатной температуре добавляли по каплям раствор йодида калия (1,7 г, 10,2 ммоль) в H₂O (11 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Желтое твердое вещество отфильтровывали, промывали с помощью H₂O и высушивали с получением 2,4 г 2-йод-1-метил-3-нитро-5-(трифторметокси)бензола **4d**.

Синтез промежуточного соединения 4e

К раствору 2-йод-1-метил-3-нитро-5-(трифторметокси)бензола **4d** (3,5 г, 10,0 ммоль) в EtOH (30 мл) добавляли раствор NH₄Cl (2,7 г, 49,9 ммоль) в H₂O (30 мл). Реакционную смесь нагревали при 50°C. Добавляли железо (2,6 г, 46,9 ммоль) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 40 мин. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь фильтровали через Celite®. Твердые вещества промывали с помощью EtOH. Фильтрат частично концентрировали при пониженном давлении с удалением EtOH. Остаток разделяли между EtOAc и насыщенным раствором NaHCO₃ в воде. Фазы разделяли. Органическую фазу промывали с помощью H₂O и солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 0% до 25%) в гептане с получением 2,9 г 2-йод-3-метил-5-(трифторметокси)анилина **4e** в виде желтого масла.

Синтез промежуточного соединения 4f

Раствор 2-йод-3-метил-5-(трифторметокси)анилина **4e** (2,9 г, 9,1 ммоль) в триэтиламине (23 мл) дегазировали с помощью аргона в течение 15 мин. Добавляли дихлорбис(трифенилфосфин)палладий(II) (0,327 г, 0,47 ммоль), йодид меди(I) (0,164 г, 0,86 ммоль) и триметилсилилацетилен (1,8 мл, 13,1 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 12 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью H₂O и экстрагировали с помощью EtOAc (3x). Органические фазы объединяли, промывали с помощью H₂O и солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали

посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 0% до 20%) в гептане с получением 2,6 г 3-метил-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина **4f** в виде оранжевого масла.

Синтез промежуточного соединения **4g**

К раствору 3-метил-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина **4f** (2,7 г, 9,3 ммоль) в NMP (27 мл) добавляли tBuOK (3,1 г, 27,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 4 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью H₂O и экстрагировали с помощью EtOAc (2х). Органические фазы объединяли, промывали с помощью H₂O и солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 0% до 20%) в гептане с получением 1,7 г 4-метил-6-(трифторметокси)-1H-индола **4g** в виде оранжевого масла.

Синтез промежуточного соединения **4h**

При 0°C BN₃-пиридин (1,2 мл, 11,6 ммоль) добавляли по каплям к раствору 4-метил-6-(трифторметокси)-1H-индола **4g** (0,5 г, 2,32 ммоль) в EtOH (3 мл). Медленно добавляли по каплям 6 н. HCl (6 мл) при поддержании температуры реакции ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли воду (12 мл) и повышали основность смеси до pH 8–9 с помощью концентрированного раствора NaOH в воде (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Добавляли толуол и раствор концентрировали при пониженном давлении с получением 450 мг 4-метил-6-(трифторметокси)индолина **4h**.

Синтез промежуточного соединения **4i**

N, N-диизопропилэтиламин (1,58 мл, 9,57 ммоль) добавляли к раствору 2-((3-(4-*трет*-бутокси)-4-оксобутокс)-5-метоксифенил)амино)-2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты **2c** (1,44 г, 3,19) и 4-метил-6-(трифторметокси)индолина **4h** (846 мг, 3,51 ммоль) в сухом DMF (30 мл). Добавляли HATU (1,82 г, 4,78 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в воду (400 мл) и белую суспензию экстрагировали с помощью EtOAc. Водный слой насыщали путем добавления NaCl и снова экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, водой, высушивали над MgSO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (100 г) с применением градиента EtOAc:EtOH(3:1)/гептан от 0/100 до 60/40. Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток (1,47 г) очищали с помощью 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 с получением *трет*-

бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноат **4i** (821 мг) в виде белого твердого вещества.

Синтез соединения **4** и хиральное разделение на энантиомеры **4A** и **4B**

Трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноат **4i** (821 мг, 1,27 ммоль) смешивали с 4 М HCl в диоксане (9,5 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Реакционную смесь барботировали газообразным азотом в течение 30 мин. Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(4-метил-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение **4**, 750 мг) в виде грязно-белого твердого вещества.

Энантиомеры соединения **4** (750 мг) разделяли с помощью препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® Diacel OD, 20 × 250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH+0,4% iPrNH₂). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением энантиомера **4A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **4B** в качестве второго элюированного продукта. Оба остатка смешивали с EtOAc и водой. Смесь подкисляли до pH 1–2 с помощью 1 н. HCl. Слои разделяли и водный слой дважды экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением энантиомера **4A** (213 мг) и энантиомера **4B** (194 мг) соответственно.

Соединение **4**

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=7,0 Гц, 2 H) 2,20 (s, 3 H) 2,33 (t, J=7,1 Гц, 2 H) 2,98–3,16 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (t, J=6,4 Гц, 2 H) 4,04 (td, J=10,4, 7,0 Гц, 1 H) 4,53 (td, J=10,3, 6,4 Гц, 1 H) 5,56 (d, J=9,1 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=2,0 Гц, 1 H) 5,91–5,98 (m, 2 H) 6,45 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 6,87 (s, 1 H) 7,38–7,47 (m, 2 H) 7,50–7,61 (m, 2 H) 7,89 (s, 1 H) 12,18 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): Rt 1,14 мин, MH⁺ 593

Энантиомер **4A**

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2 H) 2,20 (s, 3 H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2 H) 2,98–3,16 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (t, J=6,4 Гц, 2 H) 4,05 (td, J=10,4, 7,0 Гц, 1 H) 4,53 (td, J=10,3, 6,4 Гц, 1 H) 5,56 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=1,8 Гц, 1 H) 5,91–5,99 (m, 2 H) 6,45 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 6,88 (s, 1 H) 7,38–7,49 (m, 2 H) 7,51–7,61 (m, 2 H) 7,89 (s, 1 H) 12,17 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): Rt 1,29 мин, MH⁺ 593

[α]_D²⁰: –39,6° (с 0,455, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–C): Rt 3,34 мин, MH⁺ 593 Хиральная чистота 100%.

Энантиомер **4B**

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,88 (quin, J=6,9 Гц, 2 H) 2,20 (s, 3 H) 2,34 (t,

J=7,1 Гц, 2 H) 2,98–3,16 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (t, J=6,4 Гц, 2 H) 4,05 (td, J=10,3, 7,1 Гц, 1 H) 4,53 (td, J=10,2, 6,6 Гц, 1 H) 5,56 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=1,8 Гц, 1 H) 5,92–5,99 (m, 2 H) 6,46 (d, J=8,8 Гц, 1 H) 6,88 (s, 1 H) 7,38–7,49 (m, 2 H) 7,50–7,63 (m, 2 H) 7,89 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

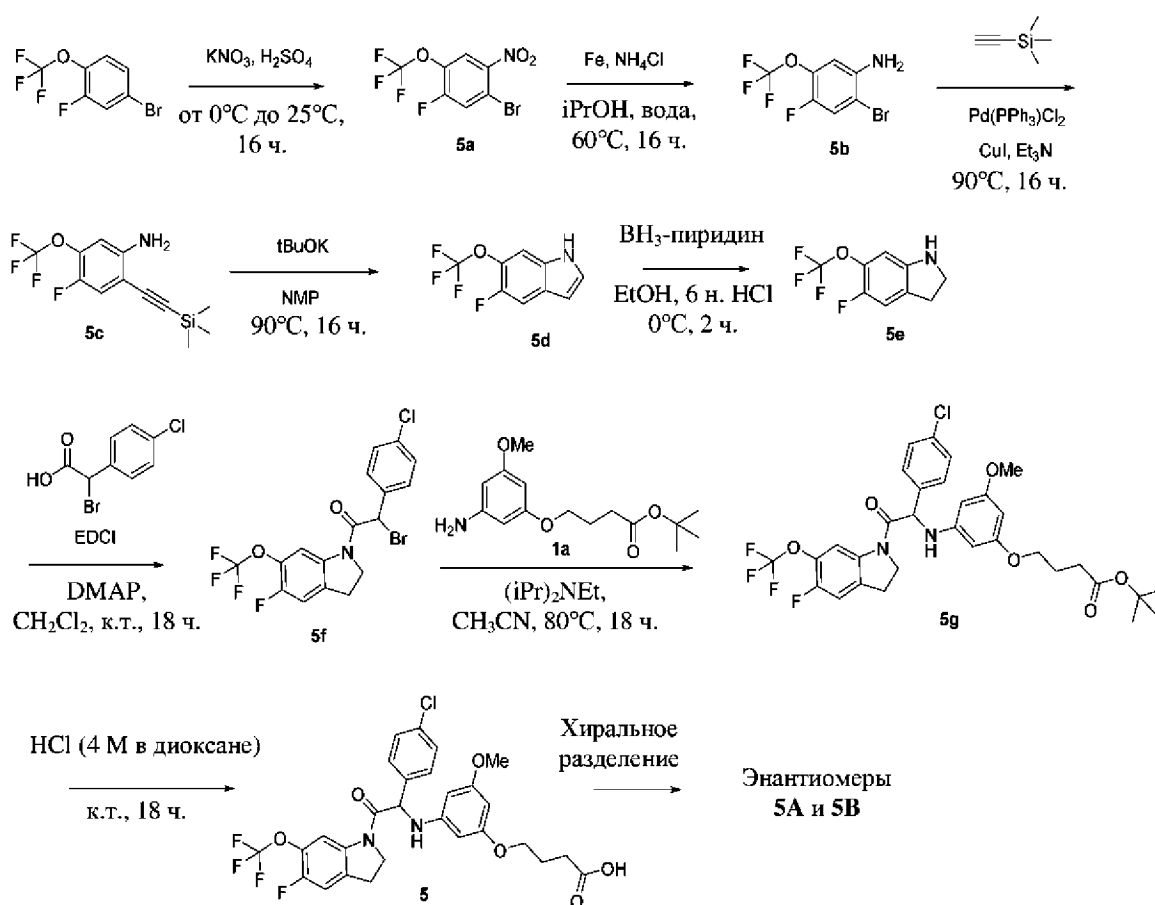
LC/MS (способ LC–C): R_f 1,30 мин, МН⁺ 593
$$[\alpha]_D^{20}: +43,7^\circ \text{ (c 0,38, DMF)}$$

Хиральная SFC (способ способ SFC-C): R_t 3,16 мин, МН⁺ 593 Хиральная чистота 100%.

Пример 5. Синтез

4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-

(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **5**) и хиральное разделение на энантиомеры **5A** и **5B**.



Синтез промежуточного соединения 5a

Охлаждали раствор 4-бром-2-фтор-1-(трифторметокси)бензола [CAS 105529-58-6] (98,7 г, 381,1 ммоль) в концентрированной H_2SO_4 (98%, 200 мл) до 0°C с помощью ледяной бани. Добавляли порциями KNO_3 (43,0 г, 425,3 ммоль). После добавления ледяную баню удаляли и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь выливали в ледяную воду (2 л) при перемешивании. Смесь экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 (3×500 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2×500 мл), соевым раствором (500 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном

давлении с получением 1-бром-5-фтор-2-нитро-4-(трифторметокси)бензола **5a** (117,2 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения **5b**

В перемешиваемую суспензию 1-бром-5-фтор-2-нитро-4-(трифторметокси)бензола **5a** (70,0 г, 230 ммоль) и NH_4Cl (123,2 г, 2,30 моль) в $i\text{PrOH}$ (1 л) и воде (330 мл) добавляли восстановительный порошок железа (64,3 г, 1,15 моль) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (1 л) и фильтровали через Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток разделяли между EtOAc (1 л) и водой (800 мл). Слои разделяли и органическую фазу промывали солевым раствором (1 л), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем перегонки при пониженном давлении (масляный насос, т. кип. 60~64°C). Получали 2-бром-4-фтор-5-(трифторметокси)анилин **5b** (47,3 г) в виде желтого масла.

Синтез промежуточного соединения **5c**

В смесь 2-бром-4-фтор-5-(трифторметокси)анилина **5b** (18,4 г, 67,2 ммоль) и этинил(триметил)силана (19,9 г, 202,4 ммоль, 28,00 мл) в Et_3N (300 мл) добавляли CuI (1,28 г, 6,72 ммоль) и $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (2,40 г, 3,42 ммоль). Реакционную смесь нагревали в атмосфере N_2 при 90°C в течение 16 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь разбавляли с помощью MTBE (300 мл) и фильтровали через Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®, колонка для флэш-хроматографии на силикагеле SepaFlash® 220 г, элюент: градиент от 0 до 5% EtOAc в петролейном эфире при 100 мл/мин.). Получали 4-фтор-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилин **5c** (16,1 г, чистота 90%) в виде коричневого масла.

Синтез промежуточного соединения **5d**

Нагревали смесь 4-фтор-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина **5c** (16,1 г, 55,3 ммоль) и $t\text{BuOK}$ (18,6 г, 165,8 ммоль) в NMP (220,00 мл) при 90°C в течение 16 ч. в атмосфере N_2 . После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь выливали в ледяную воду (1 л) и экстрагировали с помощью MTBE (3 × 300 мл). Объединенные органические фазы промывали водой (2 × 200 мл), солевым раствором (300 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®, колонка для флэш-хроматографии на силикагеле SepaFlash® 120 г, элюент: градиент от 0 до 5% EtOAc в петролейном эфире при 85 мл/мин.) с получением продукта, представляющего собой 5-фтор-6-(трифторметокси)-1H-индол **5d** (11 г), в виде темно-зеленого масла. Остаток объединяли с другой фракцией (общее количество=17,2 г) и дополнительно очищали путем перегонки при пониженном давлении (масляный насос, т. кип. 60~64°C) с получением 5-фтор-6-(трифторметокси)-1H-индола **5d** (14,7 г, чистота 95%) в виде бесцветного масла.

Синтез промежуточного соединения **5e**

При 0°C ВН₃-пиридин (13,8 мл, 136,9 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-фтор-6-(трифторметокси)-1Н-индола **5d** (6 г, 27,4 ммоль) в EtOH (40 мл). Добавляли по каплям 6 н. HCl (90 мл) при поддержании температуры ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Добавляли воду (100 мл) и повышали основность смеси до pH 8–9 с помощью концентрированного раствора NaOH в воде (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Смесь экстрагировали с помощью CH₂Cl₂. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Добавляли толуол и раствор концентрировали при пониженном давлении с получением 5,52 г 5-фтор-6-(трифторметокси)индолина **5e**. Соединение применяли на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения **5f**

К смеси 2-бром-2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 3381-73-5] (0,61 г, 2,4 ммоль), 5-фтор-6-(трифторметокси)индолина **5e** (0,55 г, 2,2 ммоль) и DMAP (0,027 г, 0,22 ммоль) в CH₂Cl₂ (14 мл) добавляли EDCI (0,51 г, 2,7 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Смесь разбавляли 10% раствором K₂CO₃ в воде. Слои декантировали. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона **5f** (1,1 г, пурпурное масло). Соединение применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения **5g**

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона **5f** (1,1 г, 2,2 ммоль), *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифеноксид)бутаноата **1a** (1,0 г, 3,3 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,5 мл, 8,7 ммоль) в CH₃CN (29 мл) перемешивали при 80°C в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (30 мкм, 40 г, градиент гептан/EtOAc от 85/15 до 75/25). Фракции, содержащие ожидаемое соединение, объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата **5g** (480 мг, чистота 57% согласно LC/MS).

Синтез соединения **5** и хиральное разделение на энантиомеры **5A** и **5B**

Смесь *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата **5g** (0,48 г, 0,42 ммоль, чистота 57%) в HCl (4 М в диоксане) (4,6 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, поглощали в Et₃N (5 мл) и снова концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (30 мкм, 24 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH от 99/1 до 96/4). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния. Остаток

(150 мг) дополнительно очищали с помощью HPLC с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18, 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 65% 0,2% NH_4HCO_3 , 35% CH_3CN до 25% 0,2% NH_4HCO_3 , 75% CH_3CN) с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **5**, 71 мг). Энантиомеры (55 мг) разделяли с помощью хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel[®] OD-H, 5 мкм, 250 × 20 мм, подвижная фаза: 55% CO_2 , 45% MeOH) с получением после сублимационного высушивания в смеси растворителей, состоящей из CH_3CN /воды, первого элюированного энантиомера **5A** (25 мг, белое твердое вещество) и второго элюированного энантиомера **5B** (25 мг, белое твердое вещество).

Соединение 5

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,86 (quin, $J=6,70$ Гц, 2 H) 2,24–2,43 (m, 2 H) 3,06–3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3H) 3,84 (br t, $J=6,31$ Гц, 2 H) 3,94–4,13 (m, 1 H) 4,46–4,57 (m, 1 H) 5,56 (br d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 6,45 (br d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 7,44 (br d, $J=8,20$ Гц, 3 H) 7,54 (br d, $J=8,20$ Гц, 2 H) 8,16 (br d, $J=6,62$ Гц, 1 H) 12,12 (br s, 1H)

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,00 мин, MH^+ 597

Энантиомер 5A

^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,86 (quin, $J=6,94$ Гц, 2 H) 2,25–2,44 (m, 2 H) 3,06–3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (t, $J=6,46$ Гц, 2 H) 4,05 (td, $J=10,32$, 7,09 Гц, 1 H) 4,48–4,55 (m, 1 H) 5,56 (d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 5,76 (t, $J=1,89$ Гц, 1 H) 5,94 (br d, $J=11,98$ Гц, 2 H) 6,45 (d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 7,42–7,46 (m, 3 H) 7,54 (d, $J=8,20$ Гц, 2 H) 8,16 (br d, $J=6,94$ Гц, 1 H) 12,01 (br s, 1H)

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,00 мин, MH^+ 597

$[\alpha]_D^{20}$: $-35,8^\circ$ (с 0,257, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-H): R_t 1,34 мин, MH^+ 597 Хиральная чистота 100%.

Энантиомер 5B

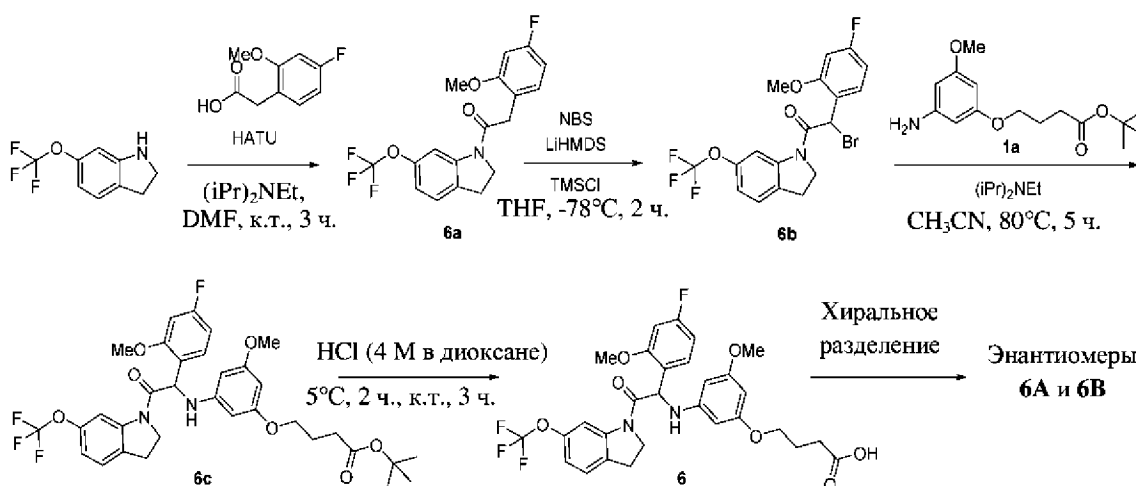
^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,85 (quin, $J=6,86$ Гц, 2 H) 2,27 (t, $J=7,25$ Гц, 2 H) 3,10–3,31 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,78–3,90 (m, 2 H) 4,05 (td, $J=10,40$, 7,25 Гц, 1 H) 4,52 (td, $J=10,32$, 6,46 Гц, 1 H) 5,57 (d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 5,75 (t, $J=1,89$ Гц, 1 H) 5,94 (br d, $J=16,39$ Гц, 2 H) 6,45 (d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 7,41–7,46 (m, 3 H) 7,55 (d, $J=8,51$ Гц, 2 H) 8,16 (br d, $J=6,94$ Гц, 1 H)

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,00 мин, MH^+ 597

$[\alpha]_D^{20}$: $+52,8^\circ$ (с 0,231, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-H): R_t 3,14 мин, MH^+ 597 Хиральная чистота 100%.

Пример 6. Синтез 4-(3-((1-(4-фтор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **6**) и хиральное разделение на энантиомеры **6A** и **6B**.



Синтез промежуточного соединения 6a

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (2 г, 9,84 ммоль), 2-(4-фтор-2-метоксифенил)уксусной кислоты [CAS 886498-61-9] (2,17 г, 10,8 ммоль), HATU (5,62 г, 14,8 ммоль) и диизопропилэтиламина (4,9 мл, 29,5 ммоль) в DMF (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Добавляли воду и лед и осадок отфильтровывали и высушивали с получением 2-(4-фтор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона **6a** (3,44 г).

Синтез промежуточного соединения 6b

При -78°C в потоке N_2 LiHMDS (18,7 мл, 18,7 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-фтор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона **6a** (3,44 г, 9,32 ммоль) в THF (45 мл). Добавляли по каплям TMSCl (1,42 мл, 11,2 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин. при -78°C и добавляли по каплям N-бромсукцинимид (1,83 г, 10,2 ммоль) в THF (35 мл). После перемешивания в течение 2 ч. при -78°C реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH_4Cl . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-фтор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона **6b** (4,48 г). Неочищенное соединение применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 6c

Смесь 2-бром-2-(4-фтор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона **6b** (2,0 г, 4,46 ммоль), *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-фтор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **1a** (1,26 г, 4,46 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,15 мл, 6,69 ммоль) в CH_3CN (45 мл) перемешивали при 80°C в течение 5 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 40 г, гептан/EtOAc 85/15). Фракции, содержащие ожидаемое соединение, объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-фтор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **6c** (1,6 г, чистота 67% согласно LC/MS).

Синтез соединения **6** и хиральное разделение на энантиомеры **6A** и **6B**

Раствор *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-фтор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата **6c** (1,5 г, 2,31 ммоль) в HCl (4 М в диоксане) (15 мл) перемешивали при 5°C в течение 2 ч. и при комнатной температуре в течение 3 ч. Растворитель концентрировали при пониженном давлении и добавляли 3 н. NaOH до получения нейтрального значения pH. Раствор экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20–45 мкм, 40 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH от 99,5/0,5 до 95/5). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением соединения **6** (646 мг). Небольшую фракцию кристаллизовали из CH₃CN/диизопропилового эфира с получением 4-(3-((1-(4-фтор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение **6**, 35 мг). Оставшееся количество (600 мг) применяли для хирального разделения энантиомеров с помощью хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H, 5 мкм, 250 × 20 мм, подвижная фаза: 60% CO₂, 40% MeOH) с получением энантиомера **6A** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **6B** в качестве второго элюированного продукта. Оба энантиомера дополнительно очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (20–45 мкм, 12 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH от 100/0 до 95/5). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением после отверждения в диизопропиловом эфире/пентане (с несколькими каплями CH₃CN) энантиомера **6A** (108 мг) и энантиомера **6B** (108 мг) соответственно.

Соединение **6**:

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=6,82 Гц, 2 H) 2,33 (t, J=7,33 Гц, 2 H) 3,08–3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,78–3,91 (m, 5 H) 3,92–4,02 (m, 1 H) 4,33–4,42 (m, 1 H) 5,59 (d, J=8,59 Гц, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,87 (br d, J=7,07 Гц, 2 H) 6,39 (br d, J=8,59 Гц, 1 H) 6,78 (td, J=8,46, 2,27 Гц, 1 H) 6,94–7,02 (m, 2 H) 7,29–7,35 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,14 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC-B): Rt 2,76 мин, MH⁺ 593

Температура плавления: 164°C

Энантиомер **6A**

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=6,78 Гц, 2 H) 2,31–2,47 (m, 2 H) 3,10–3,28 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,80–3,93 (m, 5 H) 3,93–4,06 (m, 1 H) 4,33–4,44 (m, 1 H) 5,59 (br d, J=8,51 Гц, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,88 (br d, J=8,83 Гц, 2 H) 6,39 (br d, J=8,83 Гц, 1 H) 6,79 (td, J=8,43, 2,05 Гц, 1 H) 6,95–7,04 (m, 2 H) 7,30–7,37 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC-A): Rt 2,86 мин, MH⁺ 593

[α]_D²⁰: –37,3° (с 0,255, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-I): Rt 1,03 мин, MH⁺ 593 Хиральная чистота 100%.

Энантиомер **6B**

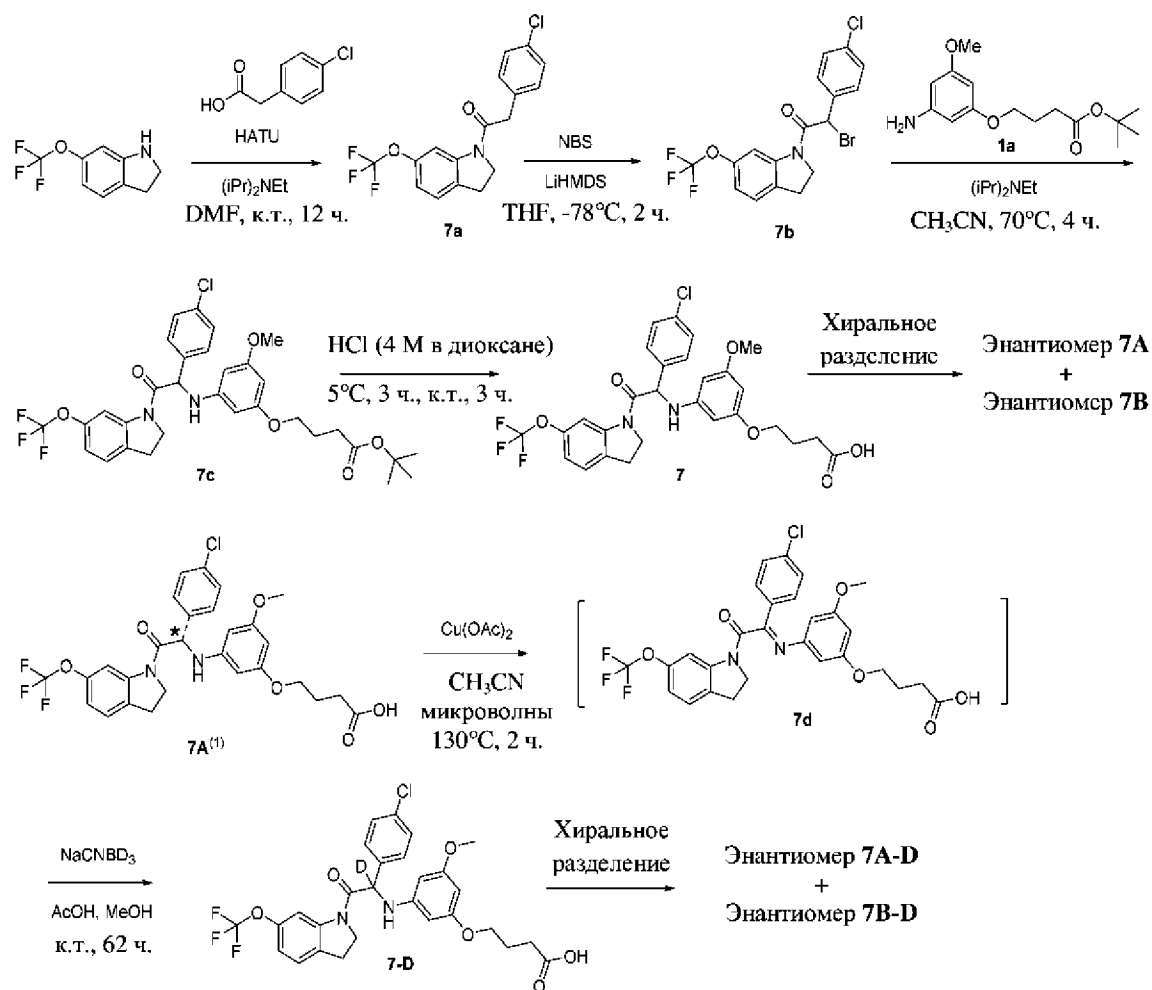
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,87 (quin, $J=6,86$ Гц, 2 H) 2,30–2,45 (m, 2 H) 3,09–3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,80–3,93 (m, 5 H) 3,93–4,06 (m, 1 H) 4,33–4,44 (m, 1 H) 5,59 (br d, $J=8,51$ Гц, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,88 (br d, $J=8,83$ Гц, 2 H) 6,39 (br d, $J=8,51$ Гц, 1 H) 6,79 (td, $J=8,43$, 2,05 Гц, 1 H) 6,95–7,04 (m, 2 H) 7,30–7,37 (m, 2 H) 8,03 (br s, 1 H), 12,18 (br s, 1H)

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,88 мин, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: +32,7° (с 0,294, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-I): R_t 1,82 мин, MH^+ 593 Хиральная чистота 99,56%.

Пример 7. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-1-дейтерио-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **7-D**) и хиральное разделение на энантиомеры **7A-D** и **7B-D**



⁽¹⁾ Абсолютную стереохимию хирального центра (*) энантиомера **7A** не определяли

Синтез промежуточного соединения **7a**

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (2 г, 9,84 ммоль), 2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 1878-66-6] (1,85 г, 10,8 ммоль), HATU (5,6 г, 14,8 ммоль) и диизопропилэтиламина (4,9 мл, 29,5 ммоль) в DMF (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Добавляли воду и осадок отфильтровывали. Остаток поглощали с помощью EtOAc. Органический раствор промывали с помощью 10%

водного раствора K_2CO_3 , солевого раствора, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 80 г, градиент гептан/ $EtOAc$ от 90/10 до 60/40). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2–(4–хлорфенил)–1–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этанона **7a** (3 г).

Синтез промежуточного соединения **7b**

При $-78^\circ C$ в потоке N_2 1,5 М $LiHMDS$ в THF (11,2 мл, 16,9 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2–(4–хлорфенил)–1–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этанона **7a** (3 г, 8,43 ммоль) в THF (50 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин. при $-78^\circ C$ и добавляли по каплям раствор N–бромсукцинимид (1,65 г, 9,3 ммоль) в THF (30 мл). После перемешивания в течение 2 ч. при $-78^\circ C$ реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH_4Cl . Смесь экстрагировали с помощью $EtOAc$. Органический слой отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2–бром–2–(4–хлорфенил)–1–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этанона **7b** (3,6 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения **7c**

Смесь 2–бром–2–(4–хлорфенил)–1–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этанона **7b** (3,6 г, 8,3 ммоль), *трет*-бутил–4–(3–амино–5–метоксифенокси)бутаноата **1a** (2,3 г, 8,3 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,7 мл, 9,94 ммоль) в CH_3CN (80 мл) перемешивали при $70^\circ C$ в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли $EtOAc$ и промывали 1 н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш–хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 120 г, гептан/ $EtOAc$ 80/20). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением после кристаллизации из диизопропилового эфира *трет*-бутил–4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–оксо–2–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этил)амино)–5–метоксифенокси)бутаноата **7c** (2,6 г).

Синтез соединения **7** и хиральное разделение на энантиомеры **7A** и **7B**

Раствор *трет*-бутил–4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–оксо–2–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этил)амино)–5–метоксифенокси)бутаноата **7c** (2,4 г, 3,8 ммоль) в HCl (4 М в диоксане) (24 мл) перемешивали при $5^\circ C$ в течение 3 ч. и при комнатной температуре в течение 3 ч. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–оксо–2–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этил)амино)–5–метоксифенокси)бутановой кислоты в виде соли HCl (соединение **7**, 2 г, 0,8 экв. HCl , 0,07 экв. H_2O). Соединение **7** (2 г, соль HCl) нейтрализовали перед хиральным разделением путем обработки раствора соединения **7** (соль HCl) с помощью 1 н. $NaOH$ и выпаривания органического слоя при пониженном давлении. Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel[®] OD–H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 50% CO_2 , 50% $iPrOH$ (+ 0,3% $iPrNH_2$)) и дополнительно очищали с помощью препаративной ахиральной SFC (неподвижная фаза: Cyano[®], 6 мкм, $150 \times 21,2$

мм, подвижная фаза: 80% CO₂, 20% MeOH (+ 0,3% iPrNH₂). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Два энантиомера поглощали с помощью EtOAc и промывали 1 н. HCl. Органические слои отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера из эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера **7A** (616 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера из эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера **7B** (715 мг).

Соединение 7

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2 H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,07–3,28 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (t, J=6,5 Гц, 2 H) 4,04 (td, J=10,5, 7,1 Гц, 1 H) 4,52 (td, J=10,3, 6,5 Гц, 1 H) 5,57 (s, 1 H) 5,76 (t, J=2,2 Гц, 1 H) 5,90–6,00 (m, 2 H) 7,01 (dd, J=8,2, 1,6 Гц, 1 H) 7,33 (d, J=8,2 Гц, 1 H) 7,41–7,48 (m, 2 H) 7,55 (d, J=8,5 Гц, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (способ LC-B): R_t 2,70 мин, MН⁺ 579

Температура плавления: 150°C

Энантиомер 7A

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (quin, J=6,7 Гц, 2 H) 2,34 (br t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,08–3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (br t, J=6,3 Гц, 2 H) 3,99–4,11 (m, 1 H) 4,47–4,57 (m, 1 H) 5,57 (br s, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,95 (br d, J=10,1 Гц, 2 H) 6,45 (br s, 1 H) 7,01 (br d, J=7,6 Гц, 1 H) 7,34 (br d, J=7,9 Гц, 1 H) 7,44 (br d, J=8,5 Гц, 2 H) 7,55 (br d, J=8,2 Гц, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,95 мин, MН⁺ 579

[α]_D²⁰: -48,5° (с 0,27, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-D): R_t 1,13 мин, MН⁺ 579, Хиральная чистота 100%.

Энантиомер 7B

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (br t, J=6,8 Гц, 2 H) 2,34 (br t, J=7,3 Гц, 2 H) 3,09–3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (br t, J=6,1 Гц, 2 H) 3,99–4,10 (m, 1 H) 4,46–4,59 (m, 1 H) 5,57 (s, 1 H) 5,76 (br s, 1 H) 5,95 (br d, J=10,1 Гц, 2 H) 6,45 (br s, 1 H) 7,01 (br d, J=7,9 Гц, 1 H) 7,34 (br d, J=7,9 Гц, 1 H) 7,44 (br d, J=8,2 Гц, 2 H) 7,55 (br d, J=8,2 Гц, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,94 мин, MН⁺ 579

[α]_D²⁰: +42,9° (с 0,28, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC-D): R_t 2,13 мин, MН⁺ 579, Хиральная чистота 100%.

Синтез дейтерированного соединения 7-D и хиральное разделение на энантиомеры 7A-D и 7B-D

Ацетат меди(II) (241 мг, 1,33 ммоль) добавляли одной порцией к раствору энантиомера **7A** (384 мг, 0,663 ммоль) в CH₃CN (15 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь нагревали в герметизированной пробирке под действием микроволнового излучения при 130°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выпаривали до сухого состояния при пониженном давлении и остаток поглощали с помощью CH₂Cl₂ и

воды. Слои разделяли. Водный слой снова экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 . Объединенные органические слои промывали солевым раствором и водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток, содержащий неочищенное промежуточное соединение **7d**, растворяли в MeOH (20 мл). Добавляли цианобородейтерид натрия (349 мг, 5,31 ммоль) и две капли уксусной кислоты и реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 55 ч. Добавляли дополнительное количество цианобородейтерид натрия (48 мг, 0,663 ммоль) и несколько капель уксусной кислоты и реакцию смесь перемешивали в течение 7 ч. при комнатной температуре. Растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток смешивали с водой и Et_2O . Двухфазную систему подкисляли до pH 1–2 путем добавления 1 н. HCl . Слои разделяли. Водный слой снова экстрагировали с помощью Et_2O . Объединенные органические слои высушивали над MgSO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением рацемической

4–(3–((1–(4–хлорфенил)–1–дейтерио–2–оксо–2–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этил)амино)–5–метоксифенокси)бутановой кислоты

(соединение **7–D**, 242 мг) в виде белого твердого вещества.

Энантиомеры соединения **7–D** (242 мг) разделяли посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Kromasil (R, R) Whelk–O1 10/100, подвижная фаза: CO_2 , $\text{EtOH}+0,4\% \text{iPrNH}_2$). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением энантиомера **7A–D** в качестве первого элюированного продукта и энантиомера **7B–D** в качестве второго элюированного продукта. Оба энантиомера смешивали с Et_2O и водой. Смесь подкисляли до pH 1–2 с помощью 1 н. HCl . Слои разделяли и водный слой дважды экстрагировали с помощью Et_2O . Объединенные органические слои промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и высушивали в вакууме при 50°C с получением энантиомера **7A–D** (85 мг, дейтерированный на 92%, в соответствии с ^1H ЯМР) и энантиомера **7B–D** (77 мг, дейтерированный на 92%, в соответствии с ^1H ЯМР) в виде грязно–белых твердых веществ.

Энантиомер **7A–D**

^1H ЯМР (360 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,87 (quin, $J=7,0$ Гц, 2 H) 2,34 (t, $J=7,1$ Гц, 2 H) 3,07–3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (t, $J=6,4$ Гц, 2 H) 4,05 (td, $J=10,3, 7,1$ Гц, 1 H) 4,52 (td, $J=10,3, 6,4$ Гц, 1 H) 5,76 (t, $J=2,0$ Гц, 1 H) 5,92–5,98 (m, 2 H) 6,45 (s, 1 H) 7,01 (dd, $J=8,1, 1,5$ Гц, 1 H) 7,33 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 7,39–7,49 (m, 2 H) 7,51–7,60 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,17 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,13 мин, MH^+ 580

$[\alpha]_D^{20}$: +54,2° (с 0,41, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–E): R_t 5,51 мин, MH^+ 580, Хиральная чистота 100%.

Энантиомер **7B–D**

^1H ЯМР (360 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,87 (quin, $J=6,9$ Гц, 2 H) 2,34 (t, $J=7,3$ Гц, 2 H) 3,07–3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (t, $J=6,6$ Гц, 2 H) 4,05 (td, $J=10,4, 7,3$ Гц, 1 H) 4,52 (td,

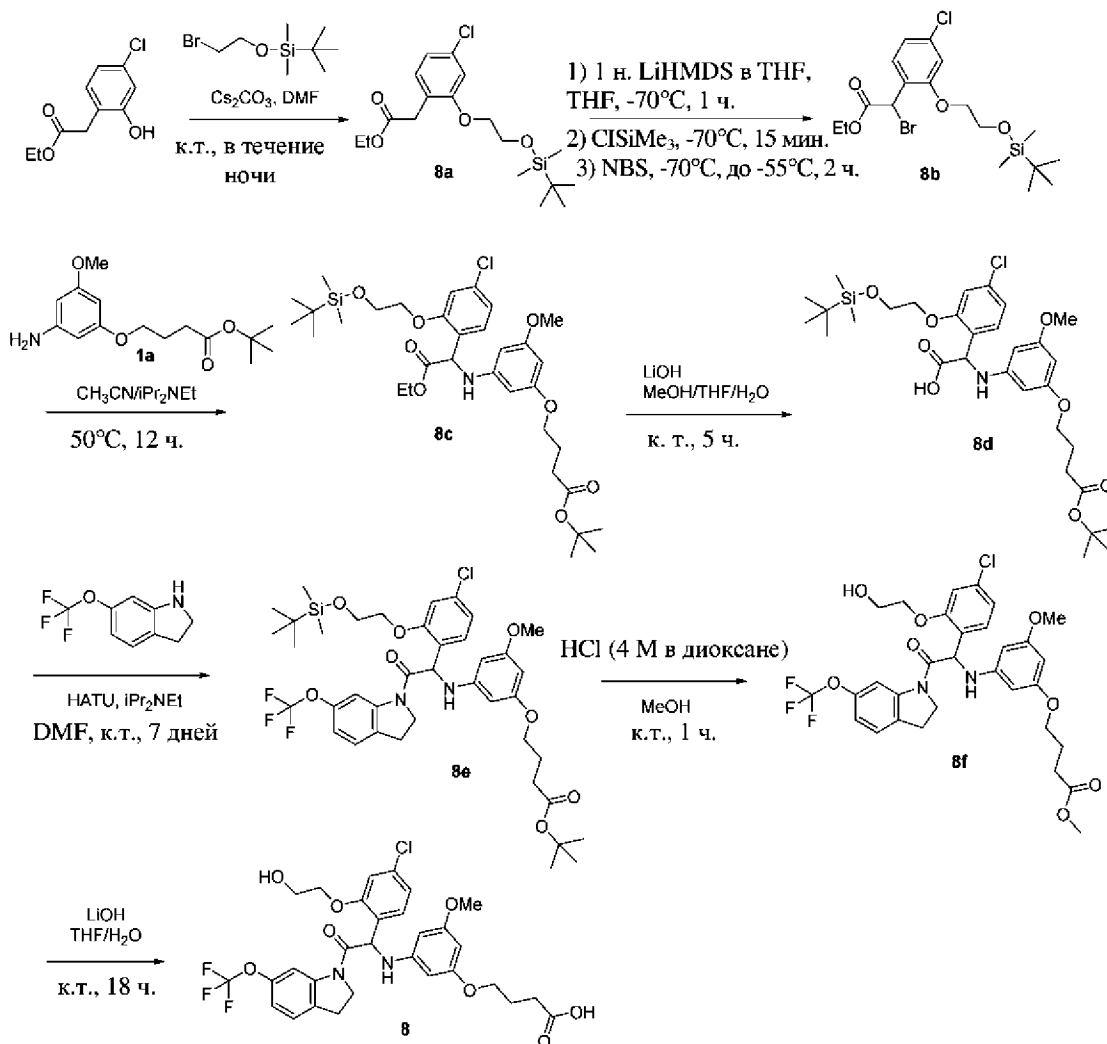
$J=10,3, 6,4$ Гц, 1 H) 5,76 (t, $J=2,0$ Гц, 1 H) 5,92–5,98 (m, 2 H) 6,45 (s, 1 H) 7,01 (dd, $J=8,1, 1,5$ Гц, 1 H) 7,33 (d, $J=8,1$ Гц, 1 H) 7,40–7,49 (m, 2 H) 7,51–7,62 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,10 мин, MH^+ 580

$[\alpha]_D^{20}$: $-50,1^\circ$ (с 0,459, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–E): R_t 6,10 мин, MH^+ 580, Хиральная чистота 100%.

Пример 8. Синтез 4–(3–((1–(4–хлор–2–(2–гидроксиэтокси)фенил)–2–оксо–2–(6–(трифторметокси)индолин–1–ил)этил)амино)–5–метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 8).



Синтез промежуточного соединения 8a

К смеси этил–2–(4–хлор–2–гидроксифенил)ацетата [CAS 1261826–30–5] (5,2 г, 24,2 ммоль) и карбоната цезия (15,8 г, 48,5 ммоль) в DMF (90 мл) при $10^\circ C$ добавляли (2–бромэтокси)(*трет*–бутил)диметилсилан [CAS 86864–60–0] (6,26 мл, 29,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду и смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш–хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20).

Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением этил-2-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)ацетата **8a** (7,8 г).

Синтез промежуточного соединения **8b**

К охлажденному (-70°C) 1 М раствору бис(триметилсилил)амида лития в THF (41,8 мл, 41,8 ммоль) добавляли раствор этил-2-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)ацетата **8a** (7,8 г, 20,9 ммоль) в THF (45 мл). После перемешивания в течение 1 ч. при -70°C добавляли хлортриметилсилан (4,24 мл, 33,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -70°C в течение 15 мин. Добавляли N-бромсукцинимид (4,46 г, 25,1 ммоль) в THF (45 мл) и перемешивание продолжали при -55°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в H_2O и экстрагировали дважды с помощью EtOAc. Органические слои объединяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-бром-2-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)-этокси)-4-хлорфенил)ацетата **8b** (10,1 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения **8c**

Смесь этил-2-бром-2-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)ацетата **8b** (2,0 г, 4,429 ммоль), *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата **1a** (1,62 г, 5,76 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,53 мл, 8,86 ммоль) в CH_3CN (40 мл) перемешивали при 50°C в течение 12 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 80 г, градиент гептан/EtOAc от 85/15 до 60/40). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-этокси-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)-бутаноата **8c** (1,1 г).

Синтез промежуточного соединения **8d**

Моногидрат гидроксида лития (142 мг, 3,37 ммоль) в воде (7,5 мл) добавляли по каплям к раствору *трет*-бутил-4-(3-((1-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-этокси-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **8c** (1,1 г, 1,69 ммоль) в THF/ CH_3OH (1/1) (15 мл) при 10°C . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч., разбавляли водой и охлаждали до 0°C . Раствор медленно подкисляли до pH 6–7 с помощью 0,5 н. HCl и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-((3-(4-(*трет*-бутоксид)-4-оксобутоксид)-5-метоксифенил)амино)-2-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)уксусной кислоты **8d** (675 мг). Соединение применяли без дополнительной очистки на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения **8e**

К раствору 2-((3-(4-(*трет*-бутоксид)-4-оксобутоксид)-5-метоксифенил)амино)-2-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)уксусной кислоты **8d** (675

мг, 1,08 ммоль) в DMF (6 мл) добавляли NATU (617 мг, 1,62 ммоль), диизопропилэтиламин (536 мкл, 3,24 ммоль) и 6-(трифторметокси)индолин [CAS 959235-95-1] (220 мг, 1,08 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 7 дней. Реакционную смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали 10% раствором K₂CO₃ и водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **8e** (385 мг). Соединение применяли без дополнительной очистки на следующей стадии реакции.

Синтез промежуточного соединения **8f**

В потоке N₂ при 5°C HCl (4 М в диоксане) (1,19 мл, 4,76 ммоль) добавляли по каплям к раствору *трет*-бутил-4-(3-((1-(2-(2-((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **8e** (385 мг, 0,476 ммоль) в MeOH (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K₂CO₃ и экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 24 г, CH₂Cl₂/MeOH 99/1). Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением метил-4-(3-((1-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **8f** (99 мг).

Синтез соединения **8**

Моногидрат гидроксида лития (32 мг, 0,76 ммоль) в воде (2,5 мл) добавляли по каплям к раствору метил-4-(3-((1-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **8f** (99 мг, 0,152 ммоль) в THF (2,5 мл) при 10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20–45 мкм, 12 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH от 99/1 до 90/10). Фракции, содержащие ожидаемое соединение, объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении. Вторую очистку осуществляли посредством обращенно-фазовой HPLC (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18, 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 65% 0,2% NH₄HCO₃, 35% CH₃CN до 25% 0,2% NH₄HCO₃, 75% CH₃CN) с получением после сублимационного высушивания в смеси, состоящей из воды/CH₃CN (8/2), 4-(3-((1-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **8**, 16 мг).

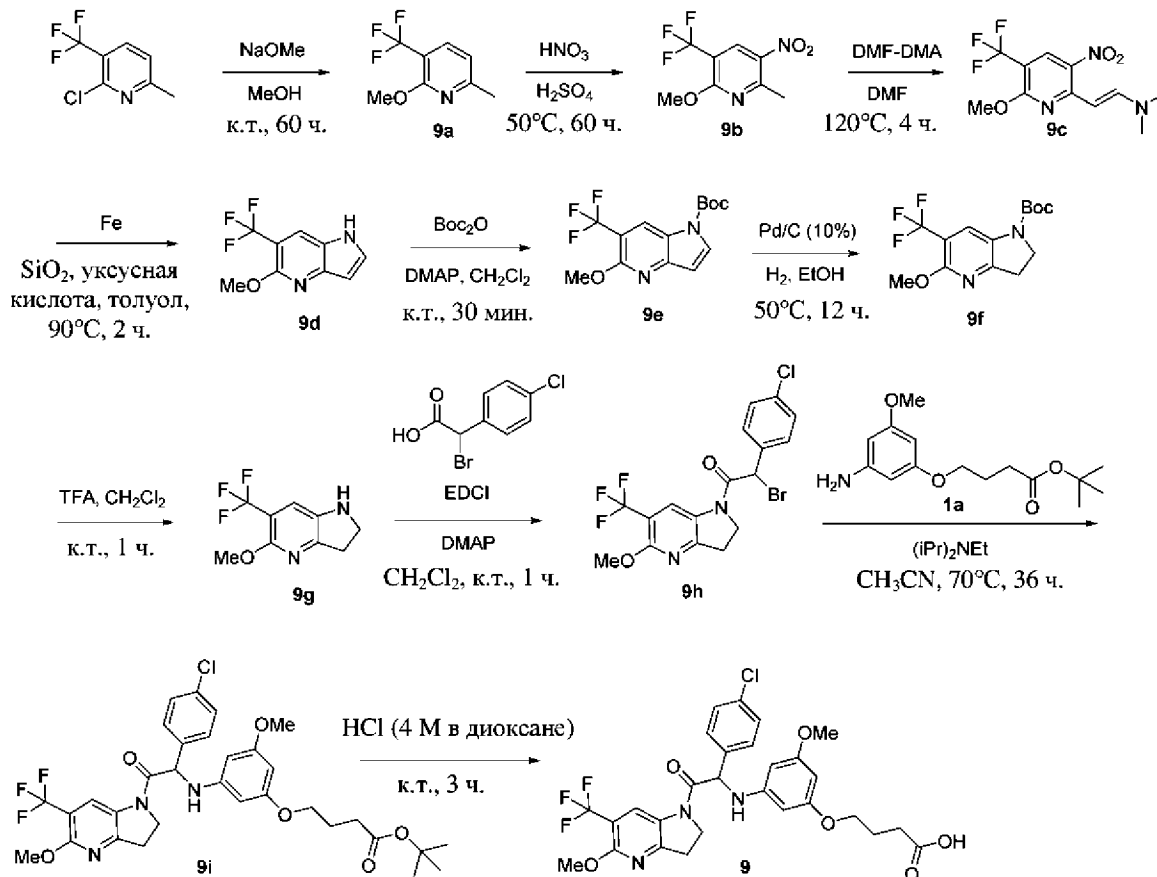
Соединение **8**

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,86 (quin, J=6,86 Гц, 2 H) 2,28–2,47 (m, 2 H)

3,10–3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68–3,88 (m, 4 H) 4,06–4,23 (m, 3 H) 4,39 (td, $J=10,09$, 6,62 Гц, 1 H) 5,70–5,76 (m, 2 H) 5,91 (br d, $J=9,14$ Гц, 2 H) 6,44 (d, $J=8,83$ Гц, 1 H) 6,99–7,03 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=1,89$ Гц, 1 H) 7,34 (d, $J=8,20$ Гц, 2 H) 8,02 (s, 1 H)

LC/MS (способ LC–B): R_t 2,65 мин, MH^+ 639

Пример 9. Синтез 4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–(5–метокси–6–(трифторметил)–2,3–дигидро–1H–пирроло[3,2–b]пиридин–1–ил)–2–оксоэтил)амино)–5–метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **9**).



Синтез промежуточного соединения **9a**

Суспензию 2-хлор-6-метил-3-(трифторметил)пиридина [CAS 1099597–74–6] (4,8 г, 24,6 ммоль в метоксиде натрия (25% в MeOH) (24 мл, 105 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 60 ч. Смесь выливали в ледяную воду и дважды экстрагировали с помощью Et₂O. Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-метокси-6-метил-3-(трифторметил)пиридина **9a** (4,69 г). Продукт применяли как таковой на следующем этапе.

Синтез промежуточного соединения **9b**

HNO₃ (2,32 мл, 49,1 ммоль) добавляли по каплям к охлажденному (0°C) раствору 2-метокси-6-метил-3-(трифторметил)пиридина **9a** (4,69 г, 24,5 ммоль) в H₂SO₄ (63,3 мл, 1,128 моль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 60 ч. Реакционную смесь осторожно выливали в ледяную воду и смесь перемешивали при 0°C в течение 30 мин. Твердое вещество отфильтровывали и промывали водой с получением 2-метокси-6-

метил-5-нитро-3-(трифторметил)пиридина **9b** (4,38 г) в виде белого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения **9c**

В атмосфере N_2 2-метокси-6-метил-5-нитро-3-(трифторметил)пиридин **9b** (4,38 г, 18,5 ммоль) растворяли в сухом DMF (84 мл). Добавляли DMF-DMA (12,2 мл, 91,5 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 120°C в течение 4 ч. После охлаждения до комнатной температуры смесь концентрировали при пониженном давлении и твердый остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (120 г) с применением градиента петролейный эфир/EtOAc от 100/0 до 60/40). Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением (E)-2-(6-метокси-3-нитро-5-(трифторметил)пиридин-2-ил)-N, N-диметилэтенамина **9c** (4,5 г) в виде красного твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения **9d**

В атмосфере N_2 (E)-2-(6-метокси-3-нитро-5-(трифторметил)пиридин-2-ил)-N, N-диметилэтенамин **9c** (4,5 г, 15,5 ммоль) растворяли в толуоле (87 мл). Добавляли силикагель (4,64 г), порошок железа (8,63 г, 154,5 ммоль) и уксусную кислоту (35,4 мл) и реакционную смесь перемешивали при 90°C в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали через Celite® и твердое вещество несколько раз прополаскивали с помощью EtOAc. Объединенные фильтраты выпаривали и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (градиент петролейный эфир/EtOAc от 100/0 до 65/35) с получением 5-метокси-6-(трифторметил)-1H-пирроло[3,2-b]пиридина **9d** (3,1 г) в виде желтого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения **9e**

В атмосфере N_2 5-метокси-6-(трифторметил)-1H-пирроло[3,2-b]пиридин **9d** (2,04 г, 9,44 ммоль) растворяли в сухом CH_2Cl_2 (90 мл). Добавляли DMAP (123 мг, 1,01 ммоль) и Woc_2O (2,49 г, 11,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. при комнатной температуре, концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (градиент петролейный эфир/EtOAc от 100/0 до 96/4) с получением *трет*-бутил-5-метокси-6-(трифторметил)-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-карбоксилата **9e** (2,95 г) в виде белого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения **9f**

Трет-бутил-5-метокси-6-(трифторметил)-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-карбоксилат **9e** (1,45 г, 4,59 ммоль) растворяли в EtOH (30 мл) и реакционную смесь продували азотом. К реакционной смеси добавляли Pd/C (10%) (976 мг, 0,917 ммоль) и гидрогенизировали ее в течение ночи при 50°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через Celite®. Осадок на фильтре промывали с помощью EtOH и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (градиент петролейный эфир/EtOAc от 100/0 до 95/5) с получением *трет*-бутил-5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-карбоксилата **9f** (1,2 г) в виде белого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 9g

Раствор *трет*-бутил-5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-карбоксилата **9f** (1,2 г, 3,77 ммоль) в TFA/CH₂Cl₂ (1/1) (19 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью CH₂Cl₂ (60 мл), промывали насыщенным водным раствором Na₂CO₃ (60 мл) и соевым раствором (60 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (40 г, градиент петролейный эфир/EtOAc от 80/20 до 40/60) с получением 5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридина **9g** (745 мг) в виде желтого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 9h

В атмосфере N₂ 5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин **9g** (350 мг, 1,60 ммоль) растворяли в сухом CH₂Cl₂ (6,5 мл). Добавляли DMAP (28 мг, 0,229 ммоль) и 2-бром-2-(4-хлорфенил)уксусную кислоту [CAS 3381-73-5] (460 мг, 1,84 ммоль). Добавляли EDCI (383 мг, 1,998 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью CH₂Cl₂, охлаждали до 0°C и добавляли насыщенный водный раствор K₂CO₃. Слои разделяли и органический слой промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (40 г, градиент петролейный эфир/EtOAc от 100/0 до 60/40). Осуществляли вторую очистку на силикагеле (40 г, градиент толуол/Et₂O от 100/0 до 90/10). Осуществляли третью очистку (12 г, градиент толуол/Et₂O от 98/2 до 97/3). Чистые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-ил)этанона **9h** (407 мг) в виде бледно-зеленой пены.

Синтез промежуточного соединения 9i

В атмосфере N₂ 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-ил)этанон **9h** (400 мг, 0,89 ммоль) и *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифеноксид)бутаноат **1a** (300 мг, 1,07 ммоль) растворяли в сухом CH₃CN (40 мл). Добавляли диизопропилэтиламин (232 мкл, 1,33 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 70°C в течение 36 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью 20 мл EtOAc и промывали с помощью 1 M HCl и соевого раствора. Органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (40 г, градиент толуол/EtOAc от 100/0 до 94/6). Вторую очистку осуществляли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (2×12 г, градиент петролейный эфир/ацетон от 100/0 до 95/5). Чистые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-

метоксифенокси)бутаноата **9i** (341 мг) в виде белой пены.

Синтез соединения 9

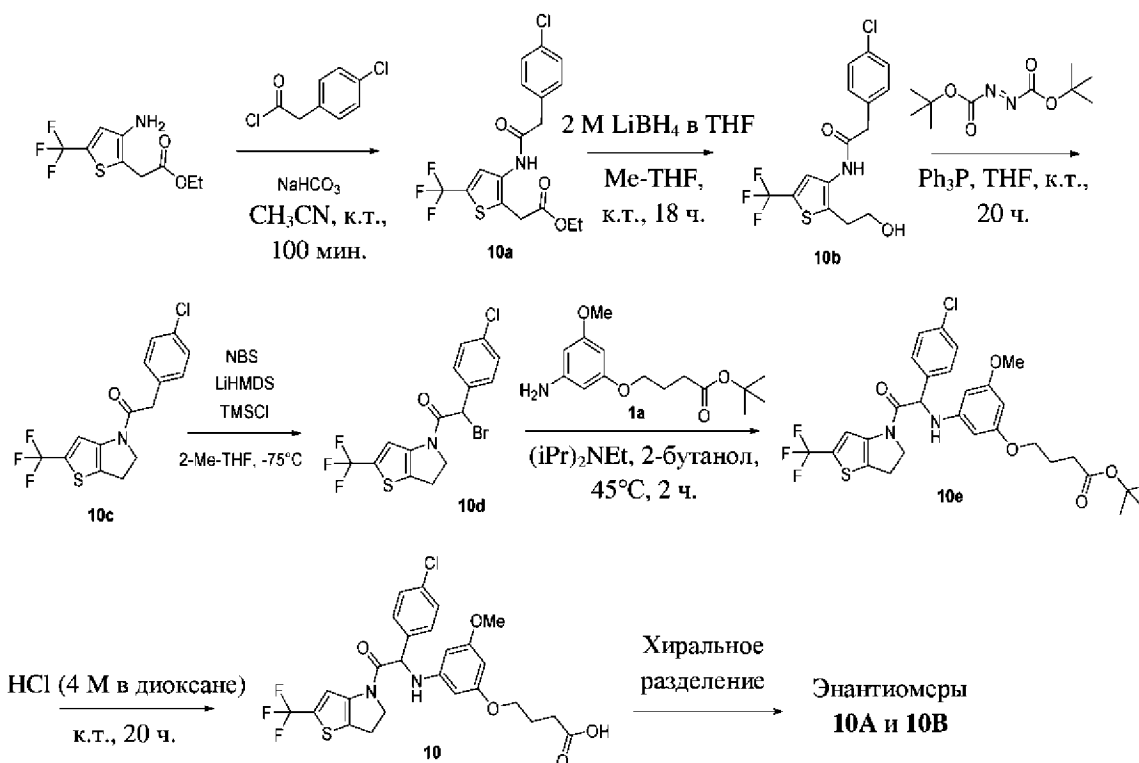
Трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноат **9i** (341 мг, 0,525 ммоль) растворяли в атмосфере N₂ в HCl (4 М в диоксане) (6,62 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (40 г, градиент толуол/EtOAc/AcOH от 99/0/1 до 50/49/1). Осуществляли вторую очистку на силикагеле (2×12 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH/AcOH от 99/0/1 до 96/3/1). Осуществляли третью очистку на силикагеле (12 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH/AcOH от 98/1/1 до 96,5/2,5/1). Чистые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)-2,3-дигидро-1H-пирроло[3,2-b]пиридин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **9**, 72 мг) в виде белого твердого вещества.

Соединение 9

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,84–1,91 (m, 2 H) 2,30–2,37 (m, 2 H) 3,21–3,30 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,80–3,89 (m, 2 H) 3,94 (s, 3 H) 3,98–4,12 (m, 1 H) 4,56 (td, J=10,64, 6,15 Гц, 1 H) 5,58 (d, J=8,83 Гц, 1 H) 5,76 (t, J=1,89 Гц, 1 H) 5,95 (br d, J=10,72 Гц, 2 H) 6,40 (d, J=8,83 Гц, 1 H) 7,44 (d, J=8,51 Гц, 2 H) 7,56 (d, J=8,51 Гц, 2 H) 8,53 (s, 1 H) 12,06–12,26 (m, 1 H)

LC/MS (способ LC-A): Rt 2,87 мин, MH⁺ 594

Пример 10. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-b]пиррол-4-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **10**) и хиральное разделение на энантиомеры **10A** и **10B**.



Синтез промежуточного соединения 10a

Раствор этил-2-(3-амино-5-(трифторметил)тиофен-2-ил)ацетата ([CAS 860398–39–6] (1,49 г, 5,88 ммоль) в CH_3CN (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере N_2 . Добавляли NaHCO_3 (0,544 г, 6,47 ммоль) и 2-(4-хлорфенил)ацетилхлорид ([CAS 25026–34–0] (861 мкл, 5,88 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 100 мин. Смесь выливали в перемешиваемую H_2O (200 мл) и экстрагировали с помощью Et_2O (2×100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (50 г) с применением градиента гептан/ EtOAc от 100/0 до 80/20. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с толуолом с получением этил-2-(3-(2-(4-хлорфенил)ацетамидо)-5-(трифторметил)тиофен-2-ил)ацетата **10a** (1,15 г).

Синтез промежуточного соединения 10b

2 М раствор LiBH_4 в THF (2,59 мл, 5,18 ммоль) медленно добавляли к перемешиваемому раствору этил-2-(3-(2-(4-хлорфенил)ацетамидо)-5-(трифторметил)тиофен-2-ил)ацетата **10a** (1,05 г, 2,59 ммоль) в 2-*Me*-THF (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Смесь выливали в перемешиваемую смесь H_2O (100 мл) и Et_2O (100 мл). Добавляли по каплям 1 н. HCl (10 мл) (для пенообразования) и после перемешивания в течение 15 минут разделяли слои. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (25 г) с применением градиента

гептан/*i*PrOH от 100/0 до 50/50. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с толуолом. Остаток перемешивали в толуоле (6 мл) при 45°C в течение 15 минут, отфильтровывали при комнатной температуре, промывали с помощью толуола (3х) и высушивали в вакууме при 50°C с получением 2-(4-хлорфенил)-N-(2-(2-гидроксиэтил)-5-(трифторметил)тиофен-3-ил)ацетамида **10b** (1,15 г).

Синтез промежуточного соединения **10c**

Трифенилфосфин (1,02 г, 3,85 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору 2-(4-хлорфенил)-N-(2-(2-гидроксиэтил)-5-(трифторметил)тиофен-3-ил)ацетамида **10b** (1,0 г, 2,75 ммоль) в THF (20 мл) в атмосфере N₂. Добавляли ди-*трет*-бутилазодикарбоксилат (0,71 г, 3,02 ммоль) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (25 г) с применением градиента CH₂Cl₂/гептан от 0/100 до 100/0. Требуемые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении до остаточного объема, составляющего 15 мл. Обеспечивали кристаллизацию продукта в течение периода, составляющего 4 дня. Твердые вещества отфильтровывали, промывали с помощью гептана (4х) и высушивали в вакууме при 50°C с получением 2-(4-хлорфенил)-1-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-*b*]пиррол-4-ил)этанона **10c** (0,75 г).

Синтез промежуточного соединения **10d**

При -75°C в потоке N₂ 1 М LiHMDS в THF (4,34 мл, 4,34 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-*b*]пиррол-4-ил)этанона **10c** (750 мг, 2,17 ммоль) в 2-Ме-THF (30 мл) и смесь поддерживали при -75°C в течение 20 мин. Добавляли по каплям TMSCl (444 мкл, 3,47 ммоль). Смесь перемешивали в течение 20 мин. при -75°C и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (502 мг, 2,82 ммоль) в THF (5 мл). После перемешивания в течение 20 мин. при -75°C реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl (25 мл). Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали до тех пор, пока температура реакции не достигала -15°C. Добавляли воду (25 мл) и DIPE (25 мл) и смесь перемешивали в течение 10 мин. Органический слой отделяли и водную фазу экстрагировали с помощью Et₂O. Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-*b*]пиррол-4-ил)этанона **10d** (921 мг), который применяли как таковой на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения **10e**

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-*b*]пиррол-4-ил)этанона **10d** (921 мг, 2,17 ммоль), *трет*-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата **1a** (1,22 г, 4,34 ммоль) и диизопропилэтиламина (747 мкл, 4,34 ммоль) в 2-бутаноле (15 мл) перемешивали при 45°C в течение 2 ч. Обеспечивали достижение реакционной смесью комнатной температуры и выливали ее в

перемешиваемую воду (50 мл). Продукт экстрагировали (2х) с помощью Et₂O. Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с диоксаном (2х). Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (40 г) с применением градиента гептан/EtOAc/EtOH от 100/0/0 до 40/45/15. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с диоксаном (2х) с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-b]пиррол-4-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **10e** (1,36 г), который применяли как таковой на следующей стадии.

Синтез соединения **10** и хиральное разделение на энантиомеры **10A** и **10B**

Трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-b]пиррол-4-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноат **10e** (1,36 г, 2,17 ммоль) смешивали с 4 М HCl в диоксане (15 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Твердые вещества отфильтровывали, промывали диоксаном (3х) и высушивали в вакууме при 50°C. Остаток (1,4 г) очищали с помощью 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 органические летучие вещества выпаривали при пониженном давлении. Оставшийся водный раствор экстрагировали (2х) с помощью смеси растворителей, состоящей из Et₂O/2-Me-THF (2/1). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенной 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(2-(трифторметил)-5,6-дигидро-4H-тиено[3,2-b]пиррол-4-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **10**, 0,54 г). Аналитический образец (40 мг) растворяли в перемешиваемом Et₂O (1 мл) и добавляли 4 М HCl в диоксане (250 мкл). После перемешивания в течение 2 мин. продукт отфильтровывали, промывали (3х) с помощью Et₂O/диоксана (4/1) и высушивали в вакууме при 50°C с получением соединения **10** (20 мг).

Энантиомеры соединения **10** (500 мг) разделяли с помощью препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel IC, 20×250 мм, подвижная фаза: CO₂, EtOH). Фракции, содержащие продукт, представляющий собой первый элюированный энантиомер, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (12 г) с применением градиента гептан/EtOAc:EtOH:AcOH от 100/0:0:0 до 60/30:9,8:0,2. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с DCM. Остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением энантиомера **10A** (164 мг). Фракции, содержащие продукт, представляющий собой второй элюированный энантиомер, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (12 г) с применением градиента гептан/EtOAc:EtOH:AcOH от 100/0:0:0 до 60/30:9,8:0,2. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при

пониженном давлении и выпаривали совместно с DCM. Остаток высушивали в вакууме при 50°C с получением энантиомера **10B** (167 мг).

Соединение 10

¹H ЯМР (360 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,87 (t, J=6,8 Гц, 2 H), 2,31–2,37 (m, 2 H), 3,26–3,38 (m, 2 H), 3,62 (s, 3 H), 3,84 (br t, J=6,4 Гц, 2 H), 4,29 (td, J=10,5, 6,8 Гц, 1 H), 4,79 (td, J=10,2, 6,2 Гц, 1 H), 5,49 (s, 1 H), 5,76 (t, J=2,0 Гц, 1 H), 5,91–5,97 (m, 2 H), 7,44 (d, J=8,4 Гц, 2 H), 7,54 (d, J=8,8 Гц, 2 H), 7,76 (s, 1 H)

LC/MS (способ LC–D): R_t 1,93 мин, MН⁺ 569

Энантиомер 10A

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,83–1,91 (m, 2 H), 2,30–2,36 (m, 2 H), 3,23–3,30 (m, 2 H), 3,62 (br s, 3 H), 3,85 (br s, 2 H), 4,30 (m, J=9,5 Гц, 1 H), 4,79 (m, J=6,8 Гц, 1 H), 5,48 (br d, J=8,8 Гц, 1 H), 5,76 (br s, 1 H), 5,94 (br d, J=9,0 Гц, 2 H), 6,35 (br d, J=8,1 Гц, 1 H), 7,43 (br d, J=7,3 Гц, 2 H), 7,54 (br d, J=8,1 Гц, 2 H), 7,76 (br s, 1 H), 12,10 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,03 мин, MН⁺ 569

[α]_D²⁰: +36,9° (с 0,4445, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–F): R_t 5,52 мин, MН⁺ 569 Хиральная чистота 100%.

Энантиомер 10B

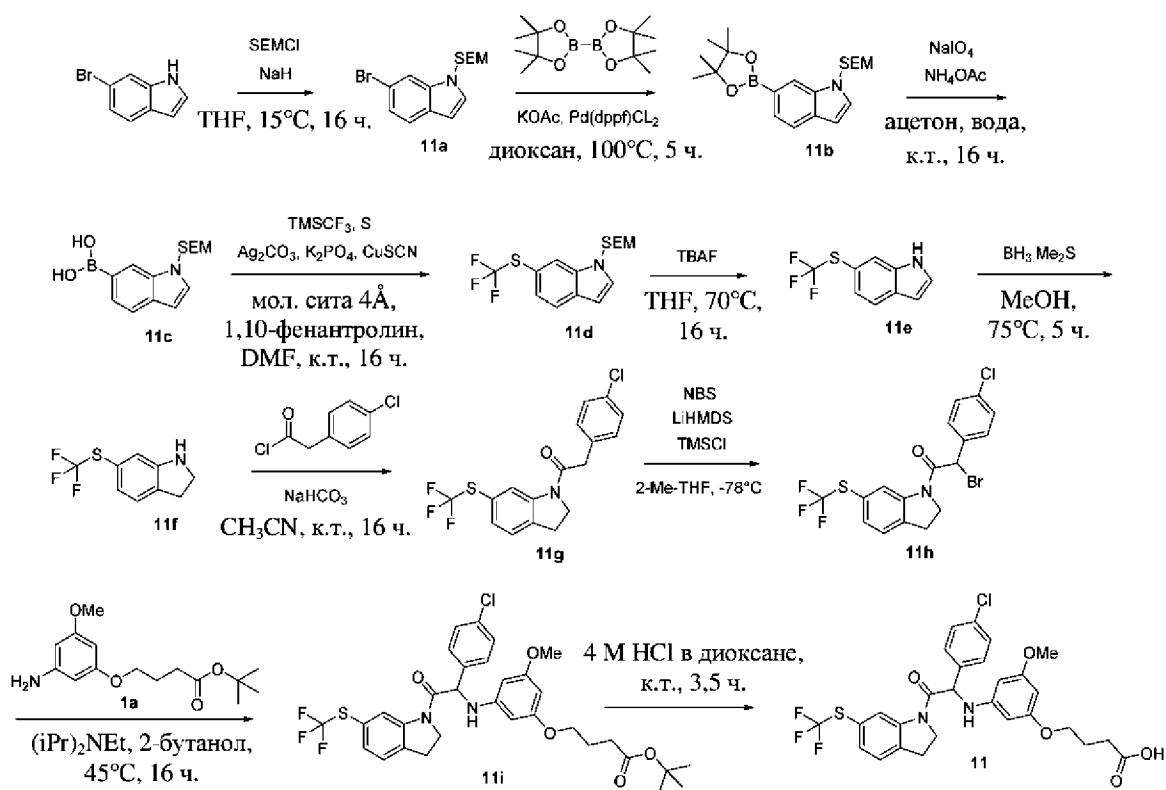
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,83–1,91 (m, 2 H), 2,34 (br t, J=6,8 Гц, 2 H), 3,23–3,30 (m, 2 H), 3,62 (s, 3 H), 3,85 (br t, J=5,9 Гц, 2 H), 4,25–4,35 (m, 1 H), 4,75–4,83 (m, 1 H), 5,48 (br d, J=8,4 Гц, 1 H), 5,76 (br s, 1 H), 5,94 (br d, J=8,8 Гц, 2 H), 6,35 (br d, J=8,4 Гц, 1 H), 7,43 (br d, J=7,7 Гц, 2 H), 7,54 (br d, J=7,9 Гц, 2 H), 7,76 (s, 1 H), 12,11 (br s, 1 H)

LC/MS (способ LC–C): R_t 1,03 мин, MН⁺ 569

[α]_D²⁰: –39,1° (с 0,437, DMF)

Хиральная SFC (способ SFC–F): R_t 6,98 мин, MН⁺ 569 Хиральная чистота 97%.

Пример 11. Синтез 4–(3–((1–(4–хлорфенил)–2–оксо–2–(6–((трифторметил)тио)индолин–1–ил)этил)амино)–5–метоксифенокс)бутановой кислоты (соединение **11**)



Синтез промежуточного соединения 11a

К суспензии NaH (26,5 г, 663 ммоль, 60% в масле) в THF (100 мл) при 0°C добавляли порциями 6-бром-1H-индол [CAS 52415-29-9] (100 г, 510 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. при 15°C. После охлаждения до 0°C добавляли SEMCl (93,6 г, 561 ммоль, 99,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 ч. при 15°C и выливали в насыщенный водный раствор хлорида аммония (200 мл). Смесь разбавляли этилацетатом (300 мл). Слои разделяли и водный слой экстрагировали этилацетатом (2×200 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (500 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали *in vacuo*. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с применением петролейного эфира. Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением 6-бром-1-((2-(триметилсилил)этокс)метил)-1H-индола **11a** (134 г) в виде желтого масла.

Синтез промежуточного соединения 11b

Смесь 6-бром-1-((2-(триметилсилил)этокс)метил)-1H-индола **11a** (134 г, 411 ммоль), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (158,5 г, 624 ммоль), Pd(dppf)Cl₂ (15,02 г, 20,5 ммоль) и KOAc (161,2 г, 1,64 моль) в 1,4-диоксане (1,5 л) перемешивали при 100°C в течение 5 ч. в атмосфере N₂. Реакционную смесь охлаждали до 25°C и фильтровали через подушку из Celite®. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (градиент петролейный эфир/этилацетат от 100/0 до 50/1). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением 6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметилсилил)этокс)метил)-1H-индола

11b (104 г) в виде светло–желтого масла.

Синтез промежуточного соединения **11c**

К раствору 6–(4,4,5,5–тетрамethyl–1,3,2–диоксаборолан–2–ил)–1–((2–(триметилсилил)этокси)метил)–1H–индола **11b** (52 г, 139 ммоль) в ацетоне (2,4 л) и H₂O (2,4 л) добавляли NaIO₄ (119 г, 557 ммоль) и NH₄OAc (53,7 г, 696 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 часов. Реакцию повторяли в таком же масштабе (52 г соединения **11b**) и реакционные смеси из обеих реакций объединяли для обработки. Осадок отфильтровывали и растворитель (ацетон) удаляли при пониженном давлении. Добавляли этилацетат (5 л) и органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом (3×5 л). Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали in vacuo с получением 1–((2–(триметилсилил)этокси)метил)–1H–индол–6–ил)бороновой кислоты **11c** (85 г) в виде черно–коричневого твердого вещества, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения **11d**

Смесь TMSCF₃ (207,5 г, 1,46 моль), CuSCN (10,7 г, 87,6 ммоль), S₈ (224,6 г, 875,6 ммоль), 1–((2–(триметилсилил)этокси)метил)–1H–индол–6–ил)бороновой кислоты **11c** (85 г, 292 ммоль), Ag₂CO₃ (161 г, 584 ммоль), K₃PO₄ (186 г, 876 ммоль), 1,10–фенантролина (31,6 г, 175 ммоль) и молекулярных сит 4Å (85 г) в DMF (1 л) перемешивали при 25°C в течение 16 часов в атмосфере N₂. Реакционную смесь фильтровали через подушку из Celite®. Фильтрат разбавляли с помощью MTBE (1 л), промывали водой (3×500 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (петролейный эфир/этилацетат 100/1). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением 6–((трифторметил)тио)–1–((2–(триметилсилил)этокси)метил)–1H–индола **11d** (38 г) в виде светло–желтого масла.

Синтез промежуточного соединения **11e**

К раствору 6–((трифторметил)тио)–1–((2–(триметилсилил)этокси)метил)–1H–индола **11d** (38 г, 109 ммоль) в THF (1,5 л) добавляли TBAF·3H₂O (345 г, 1,09 моль) и этан–1,2–диамин (131,45 г, 2,19 моль). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 16 ч. Реакционную смесь охлаждали до 25°C и выливали в насыщенный водный раствор NaHCO₃ (3 л). Водную смесь экстрагировали этилацетатом (3×1 л). Объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством препаративной HPLC (колонок: Phenomenex Gemini C18, 250×50 мм, 10 мкм, подвижная фаза: вода (0,05% гидроксида аммония, об./об.), CH₃CN) с получением 6–((трифторметил)тио)–1H–индола **11e** (10,1 г) в виде грязно–белого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения **11f**

Смесь 6–((трифторметил)тио)–1H–индола **11e** (1,0 г, 4,6 ммоль) и комплекса

боран–диметилсульфид (7 мл) нагревали в герметизированной пробирке при 75°C в течение 5 ч. Обеспечивали достижение реакционной смесью комнатной температуры и добавляли по каплям к перемешиваемому MeOH (30 мл) (экзотермическая реакция). После добавления полученный раствор нагревали с обратным холодильником в течение 3 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью флэш–хроматографии на силикагеле (25 г) с применением градиента гептан/CH₂Cl₂ от 100/0 до 40/60. Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с диоксаном. Продукт высушивали в вакууме при 50°C с получением 6–((трифторметил)тио)индолина **11f** (0,79 г).

Синтез промежуточного соединения **11g**

Раствор 6–((трифторметил)тио)индолина **11f** (0,79 г, 3,6 ммоль) в CH₃CN (30 мл) перемешивали в атмосфере N₂. Добавляли NaHCO₃ (0,333 г, 3,96 ммоль) и реакционную смесь охлаждали на ледяной бане. Добавляли раствор 2–(4–хлорфенил)ацетилхлорида ([CAS 25026–34–0] (0,852 г, 4,51 ммоль) в CH₃CN (20 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Смесь выливали в перемешиваемую H₂O (100 мл). Осадок отфильтровывали и промывали водой (4×10 мл). Твердые вещества перемешивали в Et₂O/гептан (3/2) (20 мл), отфильтровывали, промывали с помощью Et₂O/гептан (3/2) (2×10 мл) и высушивали в вакууме при 50°C с получением 2–(4–хлорфенил)–1–(6–((трифторметил)тио)индолин–1–ил)этанона **11g** (1,033 г).

Синтез промежуточного соединения **11h**

При –78°C в потоке N₂ 1 М LiHMDS в THF (5,56 мл, 5,56 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2–(4–хлорфенил)–1–(6–((трифторметил)тио)индолин–1–ил)этанона **11g** (1,033 мг, 2,78 ммоль) в 2–Me–THF (40 mL) и смесь поддерживали при –78°C в течение 20 мин. Добавляли по каплям TMSCl (568 мкл, 4,45 ммоль). Смесь перемешивали в течение 35 мин. при –78°C и добавляли по каплям раствор N–бромсукцинимид (643 мг, 3,61 ммоль) в THF (8 мл). После перемешивания в течение 35 мин. при –78°C реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NH₄Cl (30 мл). Охлаждающую баню удаляли и реакционную смесь перемешивали до достижения реакционной смесью комнатной температуры. Добавляли воду (30 мл) и DIPE (30 мл) и смесь перемешивали в течение 20 мин. Органический слой отделяли, промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2–бром–2–(4–хлорфенил)–1–(6–((трифторметил)тио)индолин–1–ил)этанона **11h** (1,25 г), который применяли как таковой на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения **11i**

Смесь 2–бром–2–(4–хлорфенил)–1–(6–((трифторметил)тио)индолин–1–ил)этанона **11h** (1,25 мг, 2,78 ммоль), *трет*–бутил–4–(3–амино–5–метоксифенокс)бутаноата **1a** (1,56 г, 5,56 ммоль) и диизопропилэтиламина (957 мкл, 5,56 ммоль) в 2–бутаноле (25 мл) перемешивали при 45°C в течение 16 ч. Обеспечивали достижение реакционной смесью комнатной температуры и выливали в перемешиваемую воду (100 мл). Продукт

экстрагировали (2х) с помощью CH_2Cl_2 . Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (40 г) с применением градиента гептан/ EtOAc / EtOH от 100/0/0 до 70/20/10. Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-((трифторметил)тио)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата **11i** (2,0 г), который применяли как таковой на следующей стадии.

Синтез соединения 11

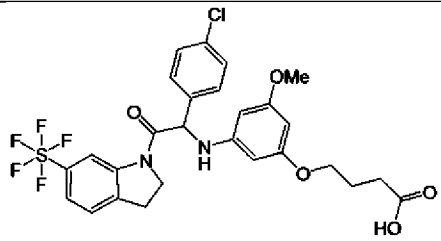
Трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-((трифторметил)тио)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноат **11i** (1,81 г, 2,78 ммоль) смешивали с 4 М HCl в диоксане (20 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Твердые вещества отфильтровывали, промывали с помощью диоксана (3х) и Et_2O (20 мл). Твердые вещества растворяли в CH_2Cl_2 (100 мл) и смешивали с водой (50 мл) и насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (30 мл). После перемешивания в течение 15 мин. слои разделяли. Органический слой промывали соевым раствором, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством препаративной HPLC (неподвижная фаза: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 мкм, 30 × 150 мм, подвижная фаза: 0,25% раствор NH_4HCO_3 в воде, CH_3CN). CH_3CN выпаривали и остаточный водный раствор подкисляли до pH 3 с помощью 1 н. HCl . Продукт экстрагировали EtOAc (100мL). Органический слой промывали соевым раствором (50 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с CH_2Cl_2 с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-((трифторметил)тио)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение **11**, 164 мг).

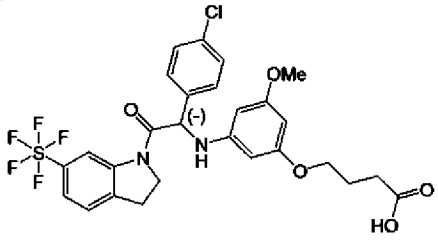
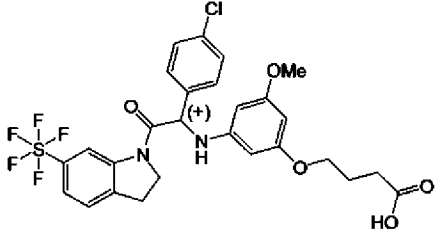
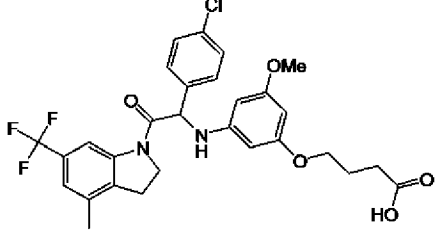
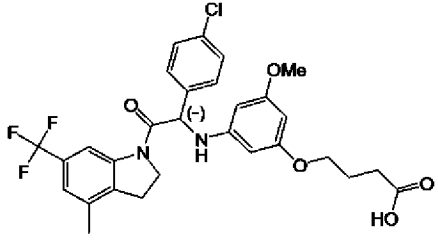
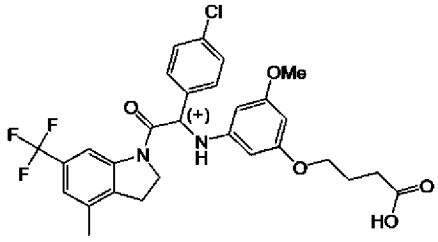
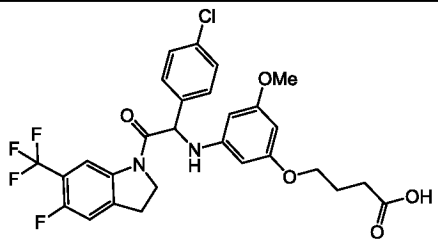
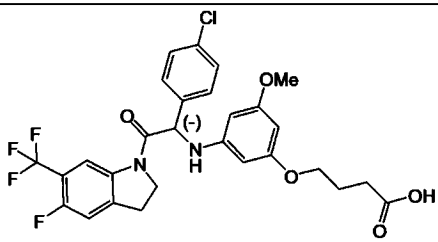
Соединение 11

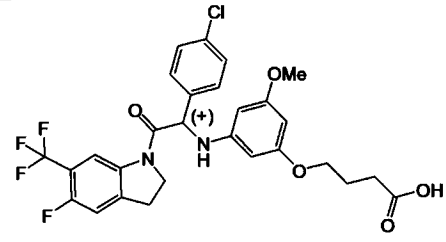
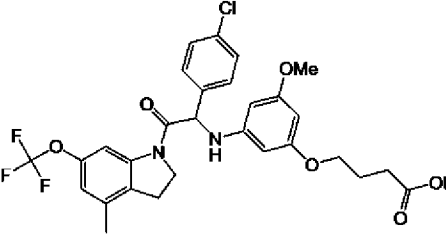
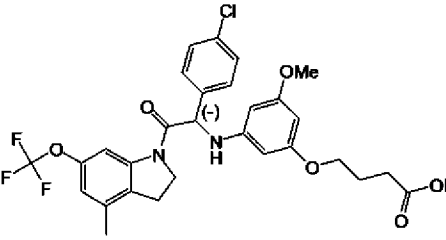
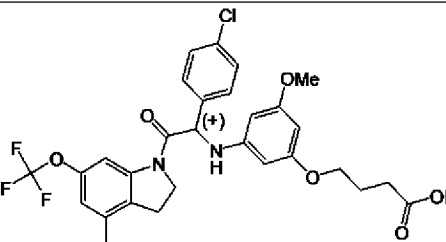
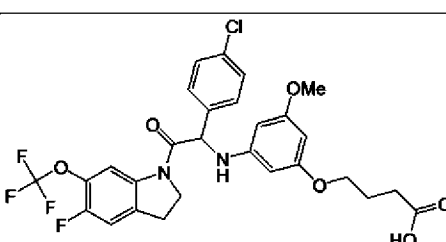
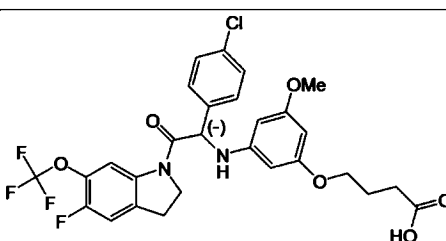
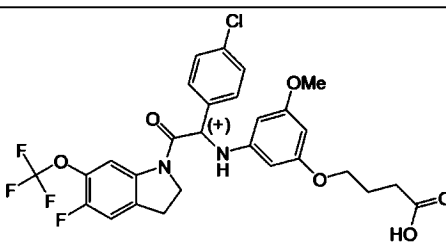
^1H ЯМР (360 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,87 (quin, $J=7,1$ Гц, 2 H) 2,25–2,38 (m, 2 H) 3,16–3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,81–3,87 (m, 2 H) 3,95–4,08 (m, 1 H) 4,44–4,56 (m, 1 H) 5,57 (br d, $J=8,8$ Гц, 1 H) 5,74–5,77 (m, 1 H) 5,90–5,98 (m, 2 H) 6,47 (br d, $J=8,8$ Гц, 1 H) 7,34–7,40 (m, 2 H) 7,41–7,48 (m, 2 H) 7,51–7,59 (m, 2 H) 8,39 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

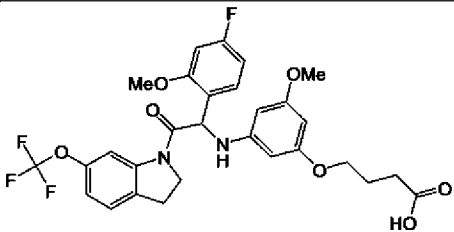
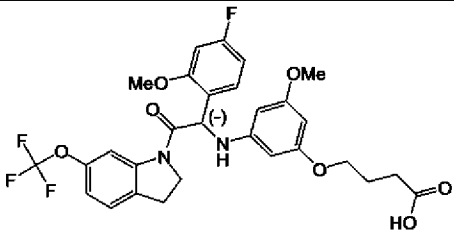
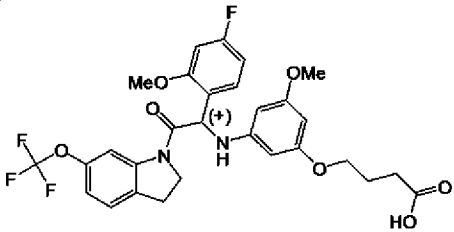
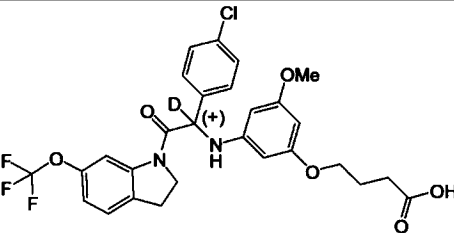
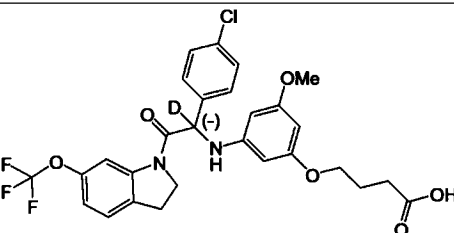
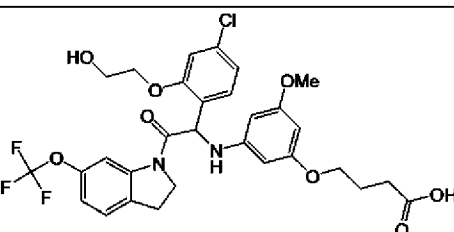
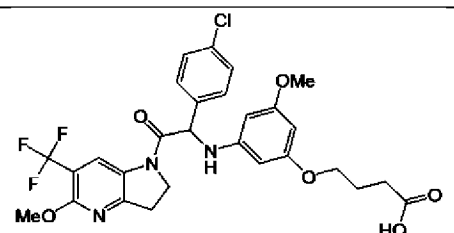
LC/MS (способ LC–C): Rt 1,12 мин, MH^+ 595

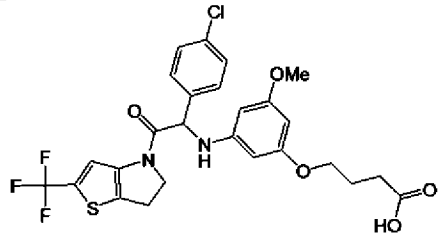
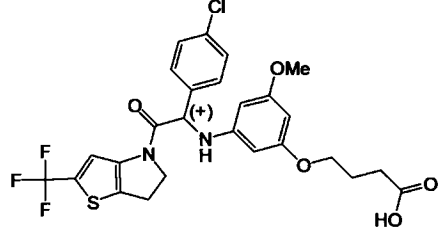
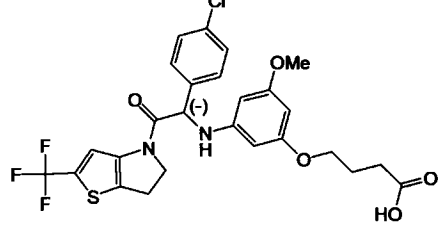
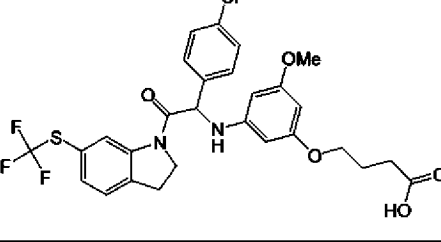
Таблица. Соединения, полученные, как описано выше

Соединение	Структура	Оптическое вращение
1		рацемическое

Соединение	Структура	Оптическое вращение
1A		$[\alpha]_D^{20} = -44,6^\circ$
1B		$[\alpha]_D^{20} = +46,0^\circ$
2		рацемическое
2A		$[\alpha]_D^{20} = -39,0^\circ$
2B		$[\alpha]_D^{20} = +47,1^\circ$
3		рацемическое
3A		$[\alpha]_D^{20} = -48,9^\circ$

Соединение	Структура	Оптическое вращение
3B		$[\alpha]_D^{20} = +47,8^\circ$
4		рацемическое
4A		$[\alpha]_D^{20} = -39,6^\circ$
4B		$[\alpha]_D^{20} = +43,7^\circ$
5		рацемическое
5A		$[\alpha]_D^{20} = -35,8^\circ$
5B		$[\alpha]_D^{20} = +52,8^\circ$

Соединение	Структура	Оптическое вращение
6		рацемическое
6A		$[\alpha]_D^{20} = -37,3^\circ$
6B		$[\alpha]_D^{20} = +32,7^\circ$
7A-D		$[\alpha]_D^{20} = +54,2^\circ$
7B-D		$[\alpha]_D^{20} = -50,1^\circ$
8		рацемическое
9		рацемическое

Соединение	Структура	Оптическое вращение
10		рацемическое
10A		$[\alpha]_D^{20} = +36,9^\circ$
10B		$[\alpha]_D^{20} = -39,1^\circ$
11		рацемическое

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЙ ПО НАСТОЯЩЕМУ ИЗОБРЕТЕНИЮ

Анализ противовирусной активности в отношении DENV-2

Противовирусную активность всех соединений по настоящему изобретению тестировали в отношении штамма 16681 DENV-2, который метили усиленным зеленым флуоресцентным белком (eGFP). 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-кратные серийные разбавления, полученные в результате 9 стадий разбавления тестируемого соединения, концентрация которого в 200 раз превышала конечную концентрацию, в 100% DMSO (200 нл). Кроме того, каждую концентрацию соединения тестировали в четырех параллельных анализах (конечный диапазон концентраций: 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 по 25 мкл среды для культивирования вместо клеток Vero. После того, как клетки были добавлены в планшеты, планшеты инкубировали в течение 30 минут при комнатной температуре для обеспечения равномерного распределения клеток в лунках. Далее планшеты инкубировали в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO₂) до следующего дня. Затем добавляли штамм 16681 DENV-2, меченый eGFP, из расчета множественности заражения (MOI), составляющей 0,5. Таким образом, добавляли по 15 мкл вирусной суспензии во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и во все лунки, которые принимали в качестве контролей с вирусом. Одновременно добавляли по 15 мкл среды для культивирования к контролям со средой и контролям с клетками. Далее планшеты инкубировали в течение 3 дней в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO₂). В день проведения считывания измеряли флуоресценцию eGFP с применением автоматизированного флуоресцентного микроскопа при 488 нм (голубой лазер). Применяя внутрилабораторную систему LIMS, рассчитывали кривые зависимости ингибирования от дозы для каждого соединения и определяли полумаксимальную эффективную концентрацию (EC₅₀). Таким образом, для каждой тестируемой концентрации рассчитывали процент ингибирования (I) с применением следующей формулы: $I = 100 \times (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$; при этом 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 по 50% снижению интенсивности флуоресценции eGFP по сравнению с контролем с вирусом. Рассчитывали EC₅₀ с применением линейной интерполяции (таблица 1).

Параллельно оценивали токсичность соединений на тех же планшетах. После считывания сигнала eGFP во все лунки 384-луночных планшетов добавляли по 40 мкл ATPlite – красителя, показывающего жизнеспособность клеток. АТР присутствует во всех метаболически активных клетках, и если клетки подвергаются некрозу или апоптозу, его уровень резко снижается. Система анализа ATPlite основана на выработке света, вызванной реакцией АТР 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, требуемая для снижения люминесцентного сигнала на 50% по сравнению с лунками контроля с клетками. Наконец, определяли индекс селективности (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	0,00064	3	13	4	19800	3
1A	0,0013	3	12	3	9200	3
1B	0,00011	3	13	4	104092	3
2	0,00038	3	12	4	32100	3
2A	0,015	3	12	3	799	3
2B	0,000078	4	14	4	166670	4
3	0,00056	3	13	3	22700	3
3A	0,036	3	12	3	346	3
3B	0,00012	3	13	3	91000	3
4	0,00011	4	12	4	96000	4
4A	0,011	3	13	3	1180	3
4B	0,000057	4	13	4	186421	4
5	0,00011	3	10	3	90900	3
5A	0,0023	6	10	9	4440	6
5B	0,00012	4	12	4	>54214	4
6	0,00063	3	12	3	19500	3
6A	0,25	3	11	3	46	3
6B	0,00039	3	15	4	39700	3
7A–D	0,000100	3	12	3	118813	3
7B–D	0,016	3	9,6	3	584	3
8	0,00015	3	13	4	86800	3
9	0,00099	4	12	4	12600	4
10	0,00052	3	19	3	40900	3
10A	0,00030	3	14	3	58900	3
10B	0,037	3	12	3	330	3
11	0,00028	3	13	3	43300	3

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Анализ с применением количественной ПЦР с обратной транскриптазой (RT-qPCR) в отношении четырех серотипов

Противовирусную активность соединений по настоящему изобретению тестировали в отношении штамма TC974#666 DENV-1 (NCPV), штамма 16681 DENV-2, штамма H87 DENV-3 (NCPV) и штамма H241 DENV-4 (NCPV) в анализе с RT-qPCR. Таким образом, клетки Vero инфицировали одним из DENV-1, или -2, или -3, или -4 в присутствии или при отсутствии тестируемых соединений. В день 3 после инфицирования клетки лизировали и клеточные лизаты использовали для получения кДНК как вируса-мишени (3'UTR DENV; таблица 2), так и эталонного гена клетки (β-актин, таблица 2). Затем осуществляли дуплексную ПЦР в режиме реального времени на приборе Lightcycler480. Получаемое значение C_p обратно пропорционально уровню экспрессии РНК этих мишеней. Ингибирование репликации DENV под действием тестируемого

соединения приводит к сдвигу C_p для гена 3'UTR. С другой стороны, если тестируемое соединение является токсичным в отношении клеток, то аналогичный эффект будет наблюдаться и в отношении экспрессии β -актина. Для расчета EC_{50} применяли сравнительный способ $\Delta\Delta C_p$, который основан на относительной генной экспрессии гена-мишени (3'UTR), нормализованной по конститутивному гену клетки (β -актину). Кроме того, определяли значения CC_{50} на основании значений C_p , полученных для конститутивного гена β -актина.

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

Праймер/зонд	Мишень	Последовательность ^{a, b}
F3utr258	3'-UTR DENV	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	3'-UTR DENV	5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'
P3utr343	3'-UTR DENV	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, представляющие собой репортерные красители (FAM, HEX) и гасители люминесценции (ZEN и IABkFQ), выделены жирным и курсивом.

^b Нуклеотидную последовательность праймеров и зондов выбирали из консервативного участка в 3'UTR-участке генома вируса денге, исходя из 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-кратные серийные разбавления, полученные в результате 9 стадий разбавления тестируемого соединения, концентрация которого в 200 раз превышала конечную концентрацию, 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 того, как клетки добавляли в планшеты, планшеты инкубировали в термостате с полностью увлажненной

атмосферой (37°C, 5% CO₂) до следующего дня. Серотипы 1, 2, 3 и 4 вируса денге разбавляли с целью получения в анализе Ср, составляющего ~22–24. Таким образом, добавляли по 25 мкл вирусной суспензии во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и во все лунки, которые принимали в качестве контролей с вирусом. Одновременно добавляли по 25 мкл среды для культивирования к контролям с клетками. Далее планшеты инкубировали в течение 3 дней в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO₂). Через 3 дня надосадочную жидкость удаляли из лунок и клетки дважды промывали ледяным PBS (~100 мкл). Клеточные осадки хранили в 96-луночных планшетах при –80°C в течение по меньшей мере 1 дня. Далее экстрагировали РНК с применением набора для лизирования Cells-to-CT™ в соответствии с инструкциями производителя (Life Technologies). Клеточные лизаты можно хранить при –80°C или сразу же применять на стадии обратной транскрипции.

При подготовке к стадии обратной транскрипции готовили смесь А (таблица 3А) и распределяли ее по 7,57 мкл/лунка в 96-луночный планшет. После добавления 5 мкл клеточных лизатов осуществляли пятиминутную стадию денатурации при 75°C (таблица 3В). После этого добавляли 7,43 мкл смеси В (таблица 3С) и инициировали стадию обратной транскрипции (таблица 3D) для получения кДНК.

Наконец, получали смесь С (таблица 4А), смесь для RT-qPCR, и ее распределяли по 22,02 мкл/лунка в 96-луночных планшетах для qPCR LightCycler, в которые добавляли по 3 мкл кДНК, и осуществляли qPCR на LightCycler 480 в соответствии с условиями в таблице 4В.

Применяя программное обеспечение LightCycler и внутрилабораторную систему LIMS, для каждого соединения рассчитывали кривые зависимости эффекта от дозы и определяли полумаксимальную эффективную концентрацию (EC₅₀) и полумаксимальную цитотоксическую концентрацию (CC₅₀) (таблицы 5–8).

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

Смесь А					
А	Планшеты	8			
	Образцы	828			Объем реакционной смеси (мкл) 20
	Элемент смеси	Концентрация			Объем (мкл)
		Единица измерения	Исходная	Конечная	1 образец х образцов
	Milli-Q H ₂ O				7,27 6019,56

R3utr425	<i>мкМ</i>	20	0,27	0,15	124,20
Ractin876	<i>мкМ</i>	20	0,27	0,15	124,20
Объем смеси/лунка (мкл)				7,57	
Клеточные лизаты				5,00	

Стадия**В 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	X	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 РНКазы	Ед./мкл	40,00	1,00	0,50	432,0
Expand RT	Ед./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 и протокол для qPCR

А Смесь С

Образцы	833	Объем	25
----------------	------------	--------------	-----------

				реакцио нной смеси (мкл)	
Элемент смеси	Концентрация			Объем (мкл)	
	Единица измерения	Исход ная	Конечная	1 образе ц	х образц ов
H ₂ O для ПЦР 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/пробирка (мкл)				22,02	
кДНК				3,00	

В Протокол qPCR3

Стадия	Температура	Время	Скорость изменения	40 циклов
предварительная инкубация/денатурация	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	

Таблица 5. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений в отношении серотипа 1 в анализах с применением RT-qPCR

№ соединения	RT-qPCR серотипа 1 TC974#666					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1В	0,000096	4	>2,5	4	>79500	4
2В	0,000091	5	>1,0	5	>33100	5
3В	0,00010	3	>2,5	3	>54200	3

RT-qPCR серотипа 1 TC974#666						
№ соединения	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
4B	0,00011	4	>1,0	4	>45200	4
5B	0,00033	3	>1,0	3	>5910	3
6B	0,00064	4	13	4	20500	4
7A–D	0,00024	3	>1,0	3	>6180	3
10A	0,00022	5	13	5	56000	5

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Таблица 6. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений в отношении серотипа 2 в анализах с применением RT-qPCR

RT-qPCR 16681 серотипа 2						
№ соединения	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1B	0,00018	4	>2,5	4	>11700	4
2B	0,000061	4	>1,0	4	>36300	4
3B	0,000096	3	>2,5	3	>46900	3
4B	0,000067	4	>1,0	4	>39400	4
5B	0,00029	3	>1,0	3	>5770	3
6B	0,00041	3	15	4	28100	3
7A–D	0,00016	3	>1,0	3	>9330	3
10A	0,00011	6	15	5	131977	5

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Таблица 7. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений в отношении серотипа 3 в анализах с применением RT-qPCR

RT-qPCR серотипа 3 H87						
№ соединения	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1B	0,0019	4	>2,5	4	>1590	4
2B	0,00085	4	>1,0	4	>2050	4
3B	0,0015	3	>2,5	3	>3870	3
4B	0,00092	4	>1,0	4	>2360	4
5B	0,0026	3	>1,0	3	>719	3
6B	0,0056	4	13	4	2520	4
7A–D	0,0024	3	>1,0	3	>574	3
10A	0,0042	5	15	5	6210	5

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

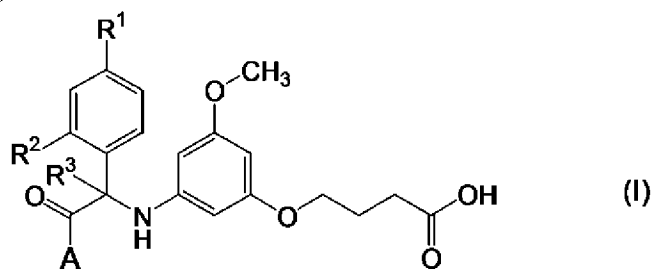
Таблица 8. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений в отношении серотипа 4 в анализах с применением RT-qPCR

№ соединения	RT-qPCR серотипа 4 H241					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1B	0,0096	4	8,8	4	2980	4
2B	0,010	4	4,1	4	1020	4
3B	0,014	3	3,6	1	333	1
4B	0,012	3	6,8	2	563	2
5B	0,020	3	8,4	3	618	3
6B	0,029	4	9,7	3	317	3
7A–D	0,013	3	8,2	3	1000	3
10A	0,030	5	3,2	5	105	5

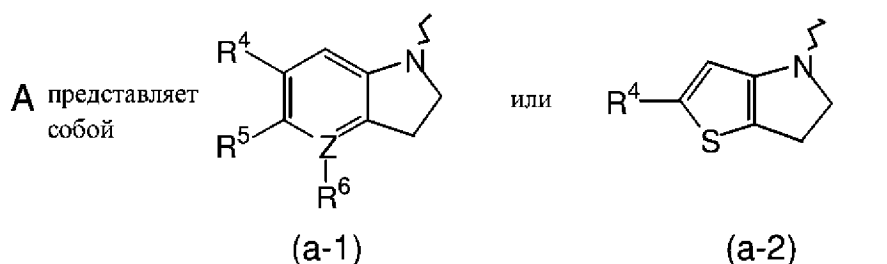
N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I), в том числе его любая стереохимически изомерная форма,



где



где

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R^4 представляет собой пентафторсульфанил, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R^4 представляет собой трифторметил, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой метил; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R^4 представляет собой трифторметил, R^5 представляет собой фтор, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R^4 представляет собой трифторметокси, R^5 представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой метил; или

R^1 представляет собой хлор, R^2 представляет собой водород, R^3 представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R^4 представляет собой трифторметокси, R^5 представляет собой фтор, Z представляет собой углерод, и R^6 представляет собой водород; или

R^1 представляет собой фтор, R^2 представляет собой метокси, R^3 представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R^4 представляет собой трифторметокси, R^5

представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой дейтерий, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметокси, R⁵ представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой -OCH₂CH₂OH, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметокси, R⁵ представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметил, R⁵ представляет собой метокси, Z представляет собой азот, и R⁶ отсутствует; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-2), и R⁴ представляет собой трифторметил; или

R¹ представляет собой хлор, R² представляет собой водород, R³ представляет собой водород, A представляет собой (a-1), R⁴ представляет собой трифторметилтио, R⁵ представляет собой водород, Z представляет собой углерод, и R⁶ представляет собой водород;

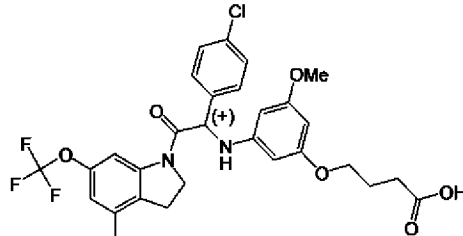
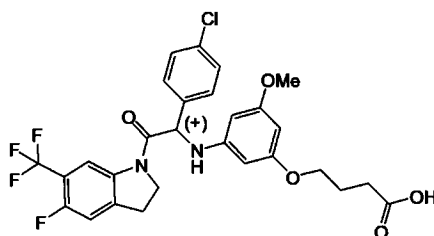
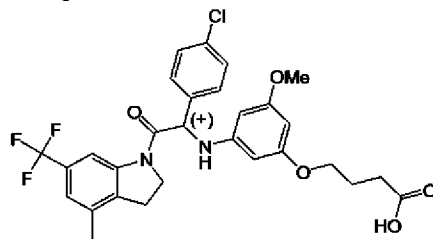
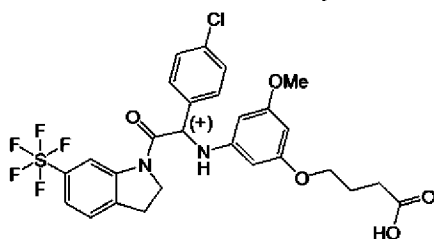
или его фармацевтически приемлемая соль, сольват или полиморф.

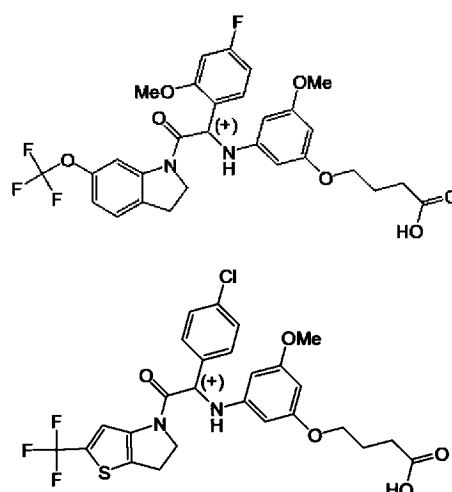
2. Соединение по п. 1, где A представляет собой (a-1).

3. Соединение по п. 1, где A представляет собой (a-2).

4. Соединение по любому из пп. 1–3, где указанное соединение характеризуется (+) удельным вращением.

5. Соединение по п. 1, где указанное соединение выбрано из





11. Соединение формулы (I) для применения по п. 10, где инфекция денге представляет собой инфекцию, вызванную вирусами штамма DENV-1, DENV-2, DENV-3 или DENV-4.

По доверенности