

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 037988

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2021.06.21

(21) Номер заявки  
201892219

(22) Дата подачи заявки  
2017.03.31

(51) Int. Cl. C07D 209/26 (2006.01)  
A61K 31/404 (2006.01)  
A61P 31/12 (2006.01)

---

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

---

(31) 16163488.6

(32) 2016.04.01

(33) EP

(43) 2019.03.29

(86) PCT/EP2017/057661

(87) WO 2017/167951 2017.10.05

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

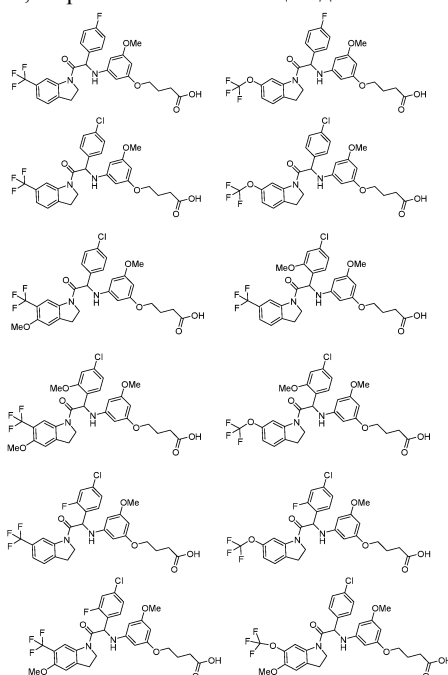
(72) Изобретатель:

Кестелейн Барт Рудольф Романи,  
Рабуассон Пьер Жан-Мари Бернар  
(BE), Бонфанти Жан-Франсуа (FR),  
Бардьо Дороте Алис Мари-Эв,  
Маршан Арно Дидье М (BE)

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

(56) WO-A1-2013045516  
WO-A1-2010021878

(57) Изобретение относится к замещенным производным индолина, применению указанных соединений в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге, применению указанных соединений для лечения вирусных инфекций денге, применению указанных соединений для ингибирования репликации вируса(-ов) денге в биологическом образце или у пациента. Изобретение дополнительно относится к фармацевтическим композициям или комбинированным препаратам на основе указанных соединений для лечения вирусных инфекций денге, к применению композиций для в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге, к применению композиций для лечения вирусных инфекций денге.



B1

037988

037988

B1

Изобретение относится к замещенным производным индолина, применению указанных соединений в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге, применению указанных соединений для лечения вирусных инфекций денге, применению указанных соединений для ингибирования репликации вируса(-ов) денге в биологическом образце или у. Настоящее изобретение дополнительно относится к фармацевтическим композициям или комбинированным препаратам на основе указанных соединений для лечения вирусных инфекций денге, к применению композиций для в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге, к применению композиций для лечения вирусных инфекций денге.

### Предпосылки изобретения

Флавивирусы, 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 (в том числе в Бразилии, Пуэрто-Рико, Венесуэле, Камбодже, Индонезии, Вьетнаме, Таиланде), количество случаев денге сильно возросло за последние годы. Число случаев денге не только увеличивается по мере распространения заболевания в новых районах, но и вспышки имеют склонность приобретать более тяжелое течение.

Хотя прогресс в разработке вакцин против денге с доступностью вакцины Dengvaxia® имеет место, существует множество трудностей. Они включают существование явления, называемого зависимым от антитела усилением (ADE). Выздоровление от инфекции, вызванной одним серотипом, обеспечивает пожизненный иммунитет против данного серотипа, однако придает лишь частичную и временную защиту против последующего инфицирования одним из трех других серотипов.

При последующем инфицировании другим серотипом уже существующие гетерологичные антитела образуют комплексы с вновь инфицирующим серотипом вируса денге, однако не нейтрализуют патоген. Вместе с тем 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 факт того, 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 является повышенной, 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* (тигровый комар), мигрируют в северную часть земного шара. Согласно Центрам по контролю и профилактике заболеваний (CDC) Соединенных Штатов (США) оба вида комара в настоящее время являются повсеместно распространенными в южном Техасе. Распространение на север комаров, переносящих возбудителей денге, не ограничено распространением в США, а наблюдается также и в Европе.

Вакцина против денге Dengvaxia®, полученная 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 непригодной и, по-видимому, нецелесообразной/неэкономичной для путешественников из неэндемических районов в районы, эндемические по денге. Упомянутые выше недостатки вакцин против вируса денге являются причиной, почему существует потребность в противовирусном средстве для доконтактной профилактики

денге.

Более того, в настоящее время отсутствуют специфические 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 человека, а конкретнее вирусных инфекций, вызванных флавивирусами, конкретнее вирусом денге. Крайне необходимы являются соединения с подходящей 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 Холодовых рецепторов для лечения воспалительных заболеваний и заболеваний центральной нервной системы. В документе WO 2013/045516 раскрыты производные индола и индолина для применения для лечения 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

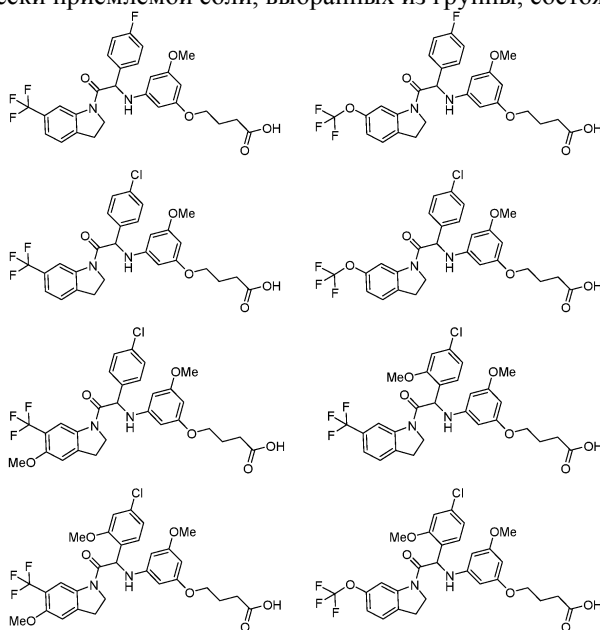
Настоящее изобретение основано на неожиданном обнаружении того, что по меньшей мере одна из вышеупомянутых проблем может быть решена с помощью представленных соединений по настоящему изобретению.

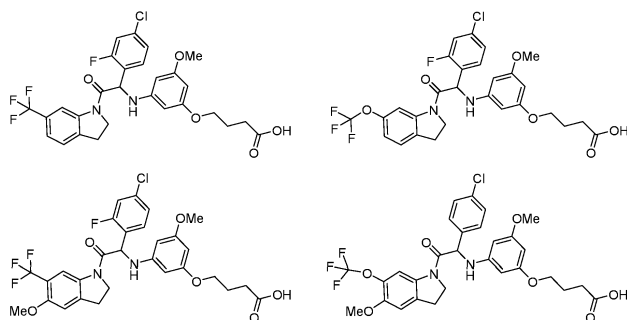
В настоящем изобретении предусмотрены соединения, которые, как было показано, обладают высокой противовирусной активностью в отношении всех четырех (4) серотипов, известных на сегодняшний день. Кроме того, в настоящем изобретении продемонстрировано, что эти соединения эффективно ингибируют пролиферацию вируса денге (DENV). Следовательно, эти соединения составляют применимый класс высокоэффективных соединений, которые можно применять в лечении и/или предупреждении 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 лекарственных препаратов для лечения и/или предупреждения вирусных инфекций, в частности вызванных вирусами, принадлежащими к семейству вирусов денге, у животных или млекопитающих, в частности у людей. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим их в эффективном количестве.

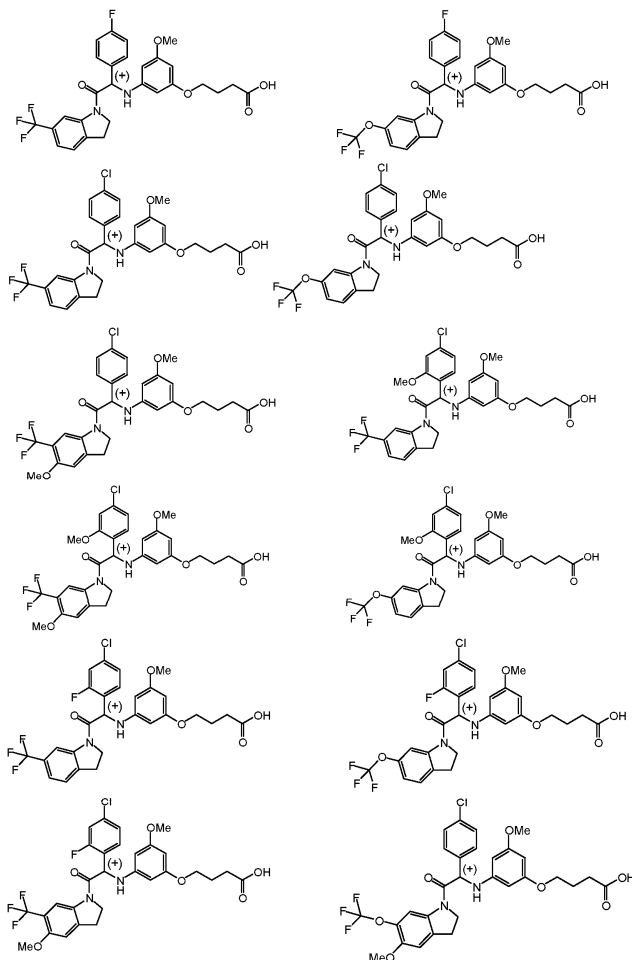
Настоящее изобретение также относится к применению соединения для ингибирования репликации вируса(-ов) денге в биологическом образце или у пациента, дополнительно предусматривающее совместное введение дополнительного терапевтического средства, например с другого противовирусного средства, нуждающемуся в этом пациенту.

Одним аспектом настоящего изобретения является обеспечение соединений, их стереоизомерной формы или фармацевтически приемлемой соли, выбранных из группы, состоящей из





В альтернативном варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению, представляющему собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

Частью настоящего изобретения также является фармацевтическая композиция, содержащая соединение, указанное выше, или его стереоизомерную форму или фармацевтически приемлемую соль 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 получают из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Подходящие основные соли получают из оснований, образующих нетоксичные соли.

Соединения по настоящему изобретению можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Их можно получить, например, в виде твердой прессованной массы, порошков или пленок посредством таких способов, как осаждение, кристаллизация, лиофильная сушка, сушка распылением или сушка выпариванием. Их можно вводить отдельно, или в комбинации с одним или несколькими другими соединениями по настоящему изобретению, или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами. Как правило, их будут вводить в виде состава в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями. Термин "наполнитель" используется в данном документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения(-й) 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.

Соединения по настоящему изобретению или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы для целей введения. В качестве подходящих композиций могут быть упомянуты все композиции, обычно применяемые для системно вводимых лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций по настоящему изобретению эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, требуемой для введения. Эти фармацевтические композиции целесообразны в виде единичной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального или ректального введения. Например, в получении композиций в пероральной лекарственной форме может использоваться любая из общепринятых фармацевтических сред, таких как, например, вода, гликоли, масла, спирты и им подобные, в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, настойки, эмульсии и растворы; или твердых носителей, таких как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие средства, связующие средства, разрыхлители и им подобные, в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительные единичные лекарственные формы для перорального применения, в случае которых, разумеется, используются твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые можно преобразовать непосредственно перед применением в жидкие формы.

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, относится к физически отдельным единицам, подходящим в качестве единичных доз, при этом каждая единица содержит предварительно заданное количество активного ингредиента, рассчитанное для получения необходимого терапевтического эффекта в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем. Примерами таких единичных лекарственных форм являются таблетки (в том числе делимые или покрытые оболочкой таблетки), капсулы, пилюли, пакетики с порошком, пластинки, суппозитории, растворы или суспензии для инъекций и т.п., а также их отдельные множества.

Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество, исходя из результатов тестов, представленных далее в данном документе. В целом, предполагается, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 до 50 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 до 10 мг/кг массы тела. Может оказаться целесообразным вводить требуемую дозу в виде двух, трех, четырех или более частей дозы с соответствующими интервалами в течение дня. Указанные части дозы могут составляться 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. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции подвергаемого лечению субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединение по настоящему изобретению. Следовательно, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только методическими рекомендациями и не предназначены для ограничения 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.

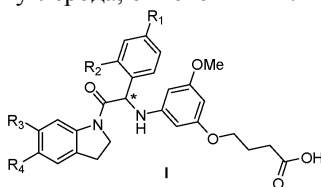
Данные соединения, применяемые в настоящем изобретении, могут также существовать в своей стереохимически изомерной форме с определением всех возможных соединений, составленных из одних и тех же атомов, связанных с помощью такой же последовательности связей, однако имеющих разные пространственные структуры, которые не являются взаимозаменяемыми. Если не упомянуто или не указано иное, то химическое обозначение соединений охватывает смесь всех возможных стереохимически изомерных форм, которые могут иметь указанные соединения. Указанная смесь может содержать все диастереомеры и/или энантиомеры с основной молекулярной структурой указанного соединения. Подразумевается, что все стереохимически изомерные формы соединений, применяемых в настоящем изобретении либо в чистом виде, либо в смеси друг с другом, включены в объем настоящего изобретения, в том числе любые рацемические смеси или рацематы.

Чистые стереоизомерные формы упомянутых в данном документе соединений и промежуточных соединений определяются как изомеры, по сути не содержащие других энантиомерных или диастереомерных форм с той же основной молекулярной структурой указанных соединений или промежуточных соединений. В частности, термин "стереоизомерно чистый" относится к соединениям или промежуточным соединениям, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим по меньшей мере от 80% (т.е. минимум 90% одного изомера и максимум 10% других возможных изомеров) до 100% (т.е.

100% одного изомера и отсутствие другого), более конкретно к соединениям или промежуточным соединениям, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от 90 до 100%, еще более конкретно, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от 94 до 100%, и наиболее конкретно, характеризующимся стереоизомерным избытком, составляющим от 97 до 100%. Термины "энантиомерно чистый" и "диастереомерно чистый" следует понимать подобным образом, но в таком случае в отношении соответственно энантиомерного избытка и диастереомерного избытка рассматриваемой смеси.

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

Все соединения по настоящему изобретению имеют по меньшей мере один хиральный атом углерода, указанный на фигуре ниже как атом углерода, отмеченный \*:



Вследствие присутствия указанного хирального атома углерода "соединение" 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, данный энантиомер можно также идентифицировать путем указания того, что энантиомер является правовращающим (+)-, либо левовращающим (-)-после измерения удельного оптического вращения указанного конкретного энантиомера.

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

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится ко второй группе соединений, где соединения характеризуются (-) удельным вращением.

### Примеры

#### Способы LC/MS.

Измерения в ходе высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) осуществляли с применением 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 (МС), который был оснащен источником ионизации при атмосферном давлении. В компетенции специалиста в данной области 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 проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Соединения описывали по значениям их 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, указывают тип аддукта (т.е.  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+HCOO]^-$  и пр.). Для молекул со сложными изотопными распределениями (Br, Cl) указываемым значением является значение, которое получено для наименьшей массы изотопа. Все результаты получали с экспериментальными погрешностями, которые обычно связаны с применяемым способом.

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

Условное обозначение способов LC/MS (скорость потока, выраженная в мл/мин; температура колонки (T) в °C; время анализа в минутах).

| Условное обозначение способа | Прибор                                                               | Колонка                                              | Подвижная фаза                                                                                                               | Градиент                                                                                                                                                  | Расход<br>-----<br>Т<br>колонок     | Время<br>анализа<br>за<br>(мин.) |
|------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| LC-A                         | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC® -<br>DAD-<br>Quattro<br>Micro™          | Waters:<br>BEH C18<br>(1,7 мкм,<br>2,1×100<br>мм)    | A: 95%<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub><br>7mM/5%<br>CH <sub>3</sub> CN, B:<br>CH <sub>3</sub> 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<br>мл/минуты<br>-----<br>40°C | 6,2                              |
| LC-B                         | Waters:<br>Acquity®<br>H-Class -<br>DAD и<br>SQD2TM                  | Waters<br>BEH®<br>C18 (1,7<br>мкм,<br>2,1×100<br>мм) | A:<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub><br>7mM 95%/<br>CH <sub>3</sub> CN 5%,<br>B: CH <sub>3</sub> 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% А/15,8% В за 0,73 мин.,                                     | 0,343<br>мл/минуты<br>-----<br>40°C | 6,1                              |
|                              |                                                                      |                                                      |                                                                                                                              | удерживание в течение 0,49 мин.                                                                                                                           |                                     |                                  |
| LC-C                         | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC® -<br>DAD-<br>Acquity®<br>TQ<br>детектор | Waters:<br>HSS C18<br>(1,8 мкм,<br>2,1×50 мм)        | A: 0,1%<br>HCOOH<br>B: CH <sub>3</sub> CN                                                                                    | От 50% А до 10% А за 3,5 мин., удерживание в течение 1,5 мин.                                                                                             | 0,5<br>мл/минуты<br>-----<br>40°C   | 5                                |
| LC-D                         | Waters:<br>Acquity®<br>UPLC® -<br>DAD/SQ<br>D                        | Waters:<br>BEH C18<br>(1,7 мкм,<br>2,1×50 мм)        | A: 10mM<br>CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub><br>в 95%<br>H <sub>2</sub> O+5%<br>CH <sub>3</sub> CN<br>B: CH <sub>3</sub> CN | От 95% А до 5% А за 1,3 мин., удерживание в течение 0,7 мин.                                                                                              | 0,8<br>мл/минуты<br>-----<br>55°C   | 2                                |

#### 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 (CO<sub>2</sub>) и модификатора, автоматическим дозатором, термостатом для колонок, детектором на диодной матрице, оснащенный проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающим значения до 400 бар. При оснащении масс-спектрометром (MS) поток из колонки направлялся в (MS). В компетенции специалиста в данной области 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 проводили с помощью соответствующего программного обеспечения.

Аналитические способы SFC/MS (скорость потока выражена в мл/мин; температура колонки (Т) в °С; время анализа в минутах, противодавление (BPR) в барах).

| Условное<br>обозначение<br>способа | Колонка                                                      | Подвижная<br>фаза                                                                      | Градиент                                            | Расход<br>-----<br>Т колонки | Время<br>анализа<br>-----<br>BPR |
|------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| SFC-A                              | Колонка Daicel<br>Chiralcel® OD-3<br>(3 мкм, 100×4,6<br>мм)  | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH<br>(+0,3%<br>iPrNH <sub>2</sub> )                       | 40% B,<br>удерживание<br>3 мин.                     | 3,5<br>-----<br>35           | 3<br>-----<br>105                |
| SFC-B                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® OD-<br>H (5 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: MeOH                                                          | 40% B,<br>удерживание<br>7 мин.                     | 3<br>-----<br>35             | 7<br>-----<br>100                |
| SFC-C                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® OD-<br>H (5 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH                                                         | 40% B,<br>удерживание<br>7 мин.                     | 3<br>-----<br>35             | 7<br>-----<br>100                |
| SFC-D                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® AD-<br>H (5 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH<br>(+0,3%<br>iPrNH <sub>2</sub> )                       | 50% B,<br>удерживание<br>7 мин.                     | 3<br>-----<br>35             | 7<br>-----<br>100                |
| SFC-E                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® OD-<br>H (5 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: EtOH                                                          | 30% B,<br>удерживание<br>7 мин.                     | 3<br>-----<br>35             | 7<br>-----<br>100                |
| SFC-F                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® OD-<br>H (5 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH                                                         | 30% B,<br>удерживание<br>7 мин.                     | 3<br>-----<br>35             | 7<br>-----<br>100                |
| SFC-G                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® OD-<br>H (3 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH<br>(+0,3%<br>iPrNH <sub>2</sub> )                       | 30% B,<br>удерживание<br>7 мин.                     | 3<br>-----<br>35             | 7<br>-----<br>100                |
| SFC-H                              | Колонка Daicel                                               | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH                                                         | 30% B,<br>удерживание                               | 3<br>-----                   | 7<br>-----                       |
|                                    | Chiralpak® IC (5<br>мкм, 150×4,6<br>мм)                      | (+0,3%<br>iPrNH <sub>2</sub> )                                                         | 7 мин.                                              | 35                           | 100                              |
| SFC-I                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® AD-3<br>(3 мкм, 100×4,6<br>мм)  | A: CO <sub>2</sub><br>B: iPrOH<br>(+0,3%<br>iPrNH <sub>2</sub> )                       | 50% B,<br>удерживание<br>3 мин.                     | 3,5<br>-----<br>35           | 3<br>-----<br>103                |
| SFC-J                              | Колонка Daicel<br>Chiralpak® AS3<br>(3,0 мкм,<br>150×4,6 мм) | A: CO <sub>2</sub><br>B: EtOH<br>(+0,2%<br>iPrNH <sub>2</sub><br>+3% H <sub>2</sub> O) | 10% - 50% B<br>за 6 мин,<br>удерживание<br>3,5 мин. | 2,5<br>-----<br>40           | 9,5<br>-----<br>110              |

Значения температуры плавления.

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

DSC823e (обозначен как DSC).

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

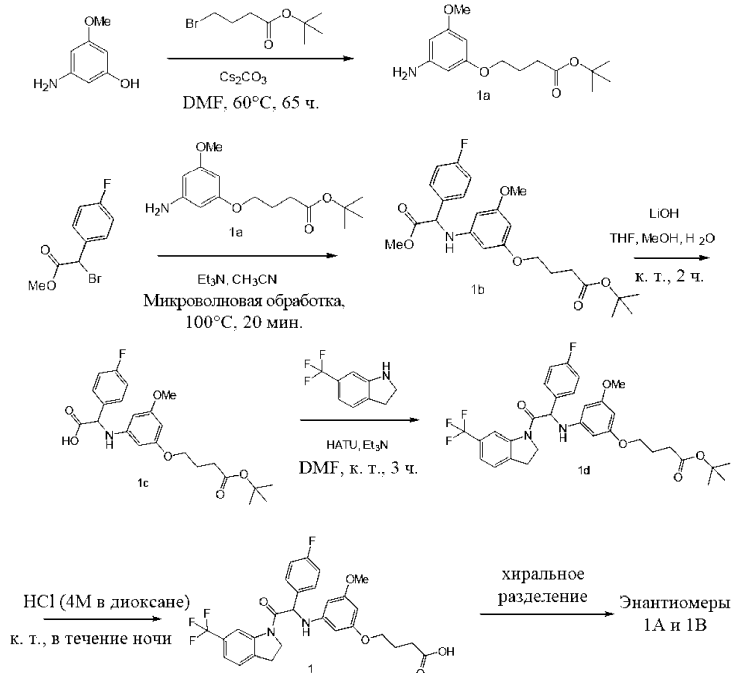
Углы оптического вращения.

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

$[\alpha] \lambda^T = (100\alpha)/(1 \times c)$ , где 1 представляет собой длину пути в дм, а c представляет собой концентрацию в г/100 мл для образца при температуре T (°C) и длине волны  $\lambda$  (в нм). Если используемая длина волны света составляет 589 нм (D-линия натрия), то вместо нее может применяться символ D. Всегда должен приводиться знак направления вращения (+ или -). При применении данного уравнения концен-

трация 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).

Пример 1. Синтез 4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокс)бутановой кислоты (соединение 1) и хиральное разделение на энантиомеры 1А и 1В



Синтез промежуточного соединения 1а.

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  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (123,6 г, 0,379 моль). Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 65 ч и обеспечивали достижение комнатной температуры. Смесь выливали в  $\text{H}_2\text{O}$  (2,5 л). Продукт экстрагировали с помощью  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 раза).

Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над  $\text{MgSO}_4$  и отфильтровывали. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и затем выпаривали совместно с толуолом. Остаток очищали с помощью нормально-фазовой HPLC (неподвижная фаза: силикагель 60А 25-40 мкм (Merck), подвижная фаза: градиент от 20%  $\text{EtOAc}$ , 80% гептана до 60%  $\text{EtOAc}$ , 40% гептана) с получением трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокс)бутаноата 1а (27 г).

Синтез промежуточного соединения 1b.

Смесь метил-2-бром-2-(4-фторфенил)ацетата [CAS 71783-54-5] (0,400 г, 1,62 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокс)бутаноата 1а (0,547 г, 1,94 ммоль) и триэтиламина (0,337 мл, 2,43 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (4 мл) нагревали в микроволновой печи при 100°C в течение 20 мин. Реакционную смесь разбавляли  $\text{EtOAc}$  и промывали 1н.  $\text{HCl}$ . Органическую фазу промывали с помощью  $\text{H}_2\text{O}$  и солевого раствора, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с использованием градиента  $\text{EtOAc}$  (от 2 до 20%) в гептане с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-метокси-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокс)бутаноата 1b (0,511 г).

Синтез промежуточного соединения 1с.

К раствору трет-бутил-4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-метокси-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокс)бутаноата 1b (0,510 г, 1,14 ммоль) в смеси растворителей THF (3 мл), MeOH (3 мл) и  $\text{H}_2\text{O}$  (3 мл) добавляли гидроксид лития (0,239 г, 5,70 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь частично концентрировали при пониженном давлении с удалением органических растворителей. Остаток подкисляли с помощью 1н.  $\text{HCl}$  и экстрагировали с помощью  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Органическую фазу высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с использованием градиента MeOH (от 0 до 10%) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (содержащем 2% уксусной кислоты) с получением 2-((3-(4-(трет-бутокс)-4-оксобутокс)-5-метоксифенил)амино)-2-(4-фторфенил)уксусной кислоты 1с (0,326 г).

Синтез промежуточного соединения 1d.

К раствору 2-((3-(4-(трет-бутокс)-4-оксобутокс)-5-метоксифенил)амино)-2-(4-фторфенил)уксусной кислоты 1с (0,326 г, 0,75 ммоль) в DMF (6 мл) добавляли HATU (0,286 г, 0,75 ммоль), триэтиламин (0,418 мл, 3,01 ммоль) и 6-(трифторметил)индолин [CAS 181513-29-1] (0,141 г, 0,75 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавляли с

помощью EtOAc и промывали 1 н. HCl. Органическую фазу промывали водным насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и соевым раствором, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с использованием градиента EtOAc (от 5 до 50%) в гептане с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 1d (0,134 г).

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

К раствору трет-бутил-4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 1d (0,134 г, 0,22 ммоль) в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 мл) добавляли 4 М раствор хлороводорода в диоксане (3 мл, 12 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растирали со смесью Et<sub>2</sub>O/гептана. Твердые вещества отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением 4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 1, 103 мг) в виде рацемической смеси.

Энантиомеры соединения 1 (1,3 г) разделяли посредством препаративной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® Diacel OD 20×250 мм, подвижная фаза: CO<sub>2</sub>, этанол). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Первый элюированный энантиомер дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии (неподвижная фаза: Grace Reveleris® с силикагелем 40 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH/HOAc, градиент от 100/0/0/0 до 0/75/24,5/0,5). Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с EtOAc, а затем с MeOH/H<sub>2</sub>O. Остаток перемешивали в H<sub>2</sub>O (15 мл) + MeOH (1,5 мл) в течение 45 мин, отфильтровывали, промывали (4х) MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) и высушивали под вакуумом при 45°C с получением энантиомера 1A (475 мг). Второй элюированный энантиомер дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии (неподвижная фаза: Grace Reveleris® с силикагелем 40 г, подвижная фаза: гептан/EtOAc/EtOH/HOAc, градиент от 100/0/0/0 до 0/75/24,5/0,5). Требуемые фракции объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с EtOAc, а затем с MeOH/H<sub>2</sub>O. Остаток перемешивали в H<sub>2</sub>O (15 мл) + MeOH (1,5 мл) в течение 75 мин, отфильтровывали, промывали (4х) MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) и высушивали под вакуумом при 45°C с получением энантиомера 1B (461 мг).

Соединение 1:

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,80-1,94 (m, 2H) 2,22-2,48 (m, 2H) 3,09-3,27 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (t, J=6,2 Гц, 2H) 3,91-4,06 (m, 1H) 4,48-4,61 (m, 1H) 5,57 (d, J=8,7 Гц, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,94 (s, 1H) 5,96 (s, 1H) 6,39 (d, J=8,3 Гц, 1H) 7,21 (t, J=8,7 Гц, 2H) 7,35-7,49 (m, 2H) 7,58 (dd, J=8.1. 5,8 Гц, 2H) 8,38 (s, 1H) 12,1 (br. s., 1H). LC/MS (способ LC-C): R<sub>t</sub> 1,94 мин, MH<sup>+</sup> 547.

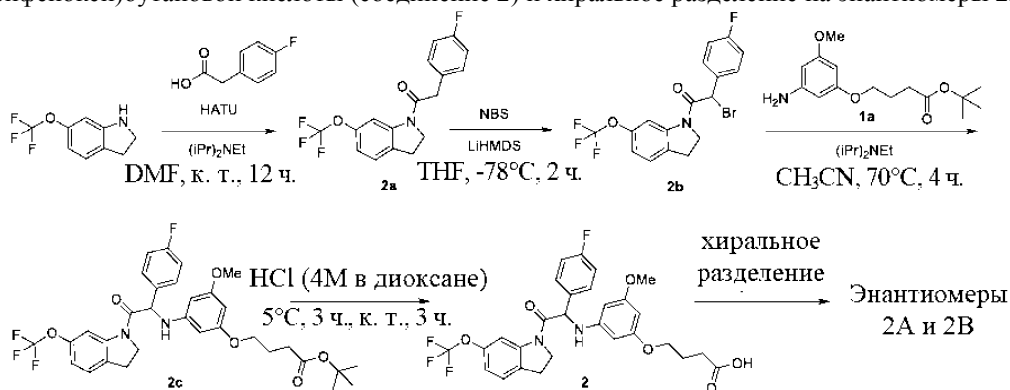
Энантиомер 1A:

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,8 Гц, 2H) 2,33 (t, J=7,4 Гц, 2H) 3,14-3,29 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (t, J=6,5 Гц, 2H) 4,00 (td, J=10,5, 7,3 Гц, 1H) 4,54 (td, J=10,4, 6,3 Гц, 1H) 5,56 (d, J=8,6 Гц, 1H) 5,76 (t, J=2,0 Гц, 1H) 5,95 (dt, J=9,1, 1,8 Гц, 2H) 6,36 (d, J=8,8 Гц, 1H) 7,20 (t, J=8,9 Гц, 2H) 7,34-7,41 (m, 1H) 7,42-7,49 (m, 1H) 7,52-7,62 (m, 2H) 8,38 (br s, 1H) 12,10 (br s, 1H) LC/MS (способ LC-D): R<sub>t</sub> 0,99 минуты, MH<sup>+</sup> 547 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -49,0° (с 0,41, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-J): R<sub>t</sub> 2,92 мин, MH<sup>+</sup> 547, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 1B:

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,33 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,12-3,29 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (t, J=6,5 Гц, 2H) 4,00 (td, J=10,4, 7,2 Гц, 1H) 4,54 (td, J=10,4, 6,3 Гц, 1H) 5,56 (d, J=8,8 Гц, 1H) 5,76 (t, J=2,1 Гц, 1H) 5,95 (dt, J=9,1, 2,0 Гц, 2H) 6,36 (d, J=8,8 Гц, 1H) 7,20 (t, J=8,2 Гц, 2H) 7,35-7,41 (m, 1H) 7,42-7,48 (m, 1H) 7,53-7,62 (m, 2H) 8,38 (br s, 1H) 12,11 (br s, 1H) LC/MS (способ LC-D): R<sub>t</sub> 1,00 минуты, MH<sup>+</sup> 547 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +49,5° (с 0,525, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-J): R<sub>t</sub> 2,81 мин, MH<sup>+</sup> 547, хиральная чистота 100%.

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



Синтез промежуточного соединения 2а.

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (2 г, 9,84 ммоль), 2-(4-фторфенил)уксусной кислоты [CAS 405-50-5] (1,67 г, 10,8 ммоль), НАТУ (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-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 2а (2,5 г).

Синтез промежуточного соединения 2b.

При  $-78^\circ C$  в потоке  $N_2$  1,5 М LiHMDS в THF (9,82 мл, 14,7 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 2а (2,5 г, 7,37 ммоль) в THF (40 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^\circ C$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,44 г, 8,1 ммоль) в THF (30 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^\circ C$  реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором  $NH_4Cl$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $MgSO_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением, после осаждения из  $CH_3CN$ /диизопропилового эфира, 2-бром-2-(4-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 2b (3 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 2с.

Смесь 2-бром-2-(4-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 2b (1,1 г, 2,63 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1а (0,74 г, 2,63 ммоль) и диизопропилэтиламина (0,54 мл, 3,15 ммоль) в  $CH_3CN$  (40 мл) перемешивали при  $70^\circ C$  в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли с помощью EtOAc, промывали с помощью 1н. HCl и воды. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $MgSO_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния. Остаток кристаллизовали из диизопропилового эфира/петролейного эфира с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 2с (1,25 г).

Синтез соединения 2 и хиральное разделение на энантиомеры 2А и 2В.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 2с (1,5 г, 2,42 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (15 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-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты в виде соли HCl (соединение 2, 1,4 г, 0,76 экв. HCl, 0,1 экв.  $H_2O$ ). Соединение 2 (соль HCl) нейтрализовали перед хиральным разделением с помощью обработки раствора соединения 2 (соль HCl) в EtOAc или  $CH_2Cl_2$  с помощью 1н. NaOH и выпаривания органического слоя при пониженном давлении. Энантиомеры соединения 2 (1,3 г) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 50%  $CO_2$ , 50% MeOH) и дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18 10 мкм 150×30 мм, подвижная фаза: градиент от 60%  $HCOONH_4$  0,6 г/л, pH 3,5, 40%  $CH_3CN$  до 0%  $HCOONH_4$  0,6 г/л, pH 3,5, 100%  $CH_3CN$ ). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (205 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 2А (168 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (259 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 2В (180 мг).

Соединение 2:

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,05-3,28 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (t, J=6,5 Гц, 2H) 4,01 (td, J=10,3, 7,4 Гц, 1H) 4,53 (td, J=10,2, 6,6 Гц, 1H) 5,56 (s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,96 (br d, J=10,4 Гц, 2H) 7,01 (br d, J=7,9 Гц, 1H) 7,21 (t, J=8,8 Гц, 2H) 7,33 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,57 (dd, J=8,5, 5,7 Гц, 2H) 8,04 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,80 мин,  $MH^+$  563. Температура плавления:  $136^\circ C$ .

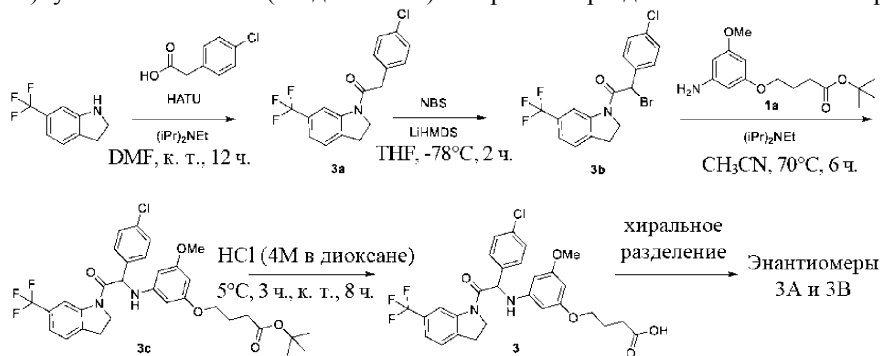
Энантиомер 2А:

$^1H$  ЯМР (500 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,86 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,33 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,05-3,26 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,84 (t, J=6,3 Гц, 2H) 3,96-4,08 (m, 1H) 4,46-4,60 (m, 1H) 5,55 (d, J=8,8 Гц, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,95 (br d, J=11,0 Гц, 2H) 6,41 (br d, J=8,5 Гц, 1H) 7,01 (br d, J=8,2 Гц, 1H) 7,21 (t, J=8,8 Гц, 2H) 7,33 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,57 (dd, J=8,2, 5,7 Гц, 2H) 8,04 (s, 1H) 12,19 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,87 мин,  $MH^+$  563 [ $\alpha$ ] $_D^{20}$ : -46,3° (с 0,27, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-B):  $R_t$  1,75 мин,  $MH^+$  563, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 2В:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,86 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,32 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,05-3,26 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,84 (t, J=6,5 Гц, 2H) 4,01 (td, J=10,3, 7,4 Гц, 1H) 4,53 (td, J=10,2, 6,0 Гц, 1H) 5,55 (d, J=8,8 Гц, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,95 (br d, J=12,0 Гц, 2H) 6,41 (d, J=8,8 Гц, 1H) 7,01 (br d, J=7,9 Гц, 1H) 7,20 (t, J=8,7 Гц, 2H) 7,33 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,57 (dd, J=8,5, 5,7 Гц, 2H) 8,04 (s, 1H) 11,49-12,49 (m, 1H) LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,87 минуты, MH<sup>+</sup> 563 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +47, 0° (с 0,27, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-B): R<sub>t</sub> 3,83 мин, MH<sup>+</sup> 563, хиральная чистота 100%.

Пример 3. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 3) и хиральное разделение на энантиомеры 3А и 3В.



Синтез промежуточного соединения 3а.

Смесь 6-(трифторметил)индолина [CAS 181513-29-1] (3 г, 16,0 ммоль), 2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 1878-66-6] (3,53 г, 20,8 ммоль), HATU (9,1 г, 24,0 ммоль) и диизопропилэтиламина (7,95 мл, 48,1 ммоль) в DMF (75 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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, солевого раствора, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, 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-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 3а (4,5 г).

Синтез промежуточного соединения 3b.

При -78°C в потоке N<sub>2</sub> 1,5 M LiHMDS в THF (17,7 мл, 26,5 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 3а (4,5 г, 13,3 ммоль) в THF (65 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин при -78°C и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (2,6 г, 14,6 ммоль) в THF (35 мл). После перемешивания в течение 2 ч при -78°C реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH<sub>4</sub>Cl. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток поглощали с помощью диизопропилового эфира. Осадок отфильтровывали и отбрасывали (остаточный сукцинимид). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 3b (5 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 3с.

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 3b (5 г, 11,9 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1а (3,3 г, 11,9 ммоль) и диизопропилэтиламина (2,47 мл, 14,3 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (120 мл) перемешивали при 70°C в течение 6 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, градиент гептан/EtOAc от 90/10 до 60/40). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 3с (1,6 г).

Синтез соединения 3 и хиральное разделение на энантиомеры 3А и 3В.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 3с (1,6 г, 2,58 ммоль) в 4 M HCl в диоксане (22 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали в CH<sub>3</sub>CN/диизопропиловом эфире. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты в виде соли HCl (1,15 г, 0,95 экв. HCl, 0,07 экв. H<sub>2</sub>O). Меньшую часть соединения 3 (соль HCl) нейтрализовали с помощью обработки раствора соединения 3 (соль HCl) в EtOAc или CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> с помощью 1н. NaOH и выпаривания органического слоя при пониженном давлении с получением соединения 3. Оставшееся количество соединения 3 (соль HCl) использовали для хирального разделения: энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chi-

ralcel® OD-H 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 50% CO<sub>2</sub>, 50% iPrOH). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (470 мг) из петroleйного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 3А (404 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (480 мг) из петroleйного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 3В (433 мг).

Соединение 3:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,8 Гц, 2H) 2,33 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,18-3,27 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (t, J=6,3 Гц, 2H) 3,97-4,09 (m, 1H) 4,46-4,59 (m, 1H) 5,57 (d, J=8,6 Гц, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,95 (br d, J=9,1 Гц, 2H) 6,40 (br d, J=8,6 Гц, 1H) 7,34-7,49 (m, 4H) 7,55 (d, J=8,6 Гц, 2H) 8,38 (s, 1H) 11,90-12,25 (m, 1H) LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,88 мин, MH<sup>+</sup> 563. Температура плавления: 192°C.

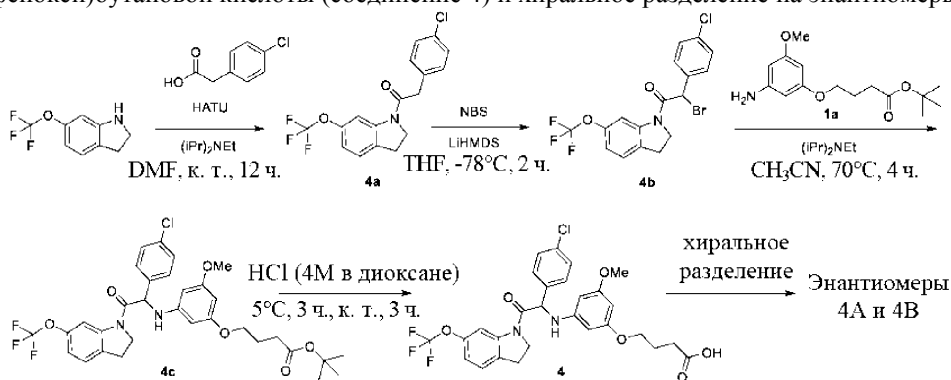
Энантиомер 3А:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (br t, J=6,6 Гц, 2H) 2,34 (br t, J=7,1 Гц, 2H) 3,15-3,31 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (br t, J=6,1 Гц, 2H) 3,97-4,09 (m, 1H) 4,48-4,60 (m, 1H) 5,59 (br d, J=8,5 Гц, 1H) 5,77 (br s, 1H) 5,95 (br d, J=11,3 Гц, 2H) 6,44 (br d, J=8,5 Гц, 1H) 7,36-7,50 (m, 4H) 7,56 (br d, J=8,2 Гц, 2H) 8,38 (s, 1H) 12,17 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,93 мин, MH<sup>+</sup> 563 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -42,4° (с 0,25, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-C): R<sub>t</sub> 2,12 мин, MH<sup>+</sup> 563, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 3В:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,7 Гц, 2H) 2,34 (br t, J=7,1 Гц, 2H) 3,15-3,31 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (br t, J=6,3 Гц, 2H) 3,97-4,10 (m, 1H) 4,49-4,61 (m, 1H) 5,59 (br d, J=8,8 Гц, 1H) 5,77 (s, 1H) 5,95 (br d, J=11,3 Гц, 2H) 6,44 (br d, J=8,5 Гц, 1H) 7,36-7,49 (m, 4H) 7,56 (br d, J=8,2 Гц, 2H) 8,38 (s, 1H) 12,17 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,93 мин, MH<sup>+</sup> 563 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +50,7° (с 0,27, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-C): R<sub>t</sub> 4,87 мин, MH<sup>+</sup> 563, хиральная чистота 100%.

Пример 4. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 4) и хиральное разделение на энантиомеры 4А и 4В



Синтез промежуточного соединения 4а.

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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, солевого раствора, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, 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 4а (3 г).

Синтез промежуточного соединения 4b.

При -78°C в потоке N<sub>2</sub> 1,5 M LiHMDS в THF (11,2 мл, 16,9 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 4а (3 г, 8,43 ммоль) в THF (50 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин при -78°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°C реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH<sub>4</sub>Cl. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 4b (3,6 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 4с.

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил) этанона 4b (3,6 г, 8,3 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1а (2,3 г, 8,3 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,7 мл, 9,94 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (80 мл) перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, гептан/EtOAc 80/20). Чис-

тые 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-метоксифенокс)бутаноата 4с (2,6 г).

Синтез соединения 4 и хиральное разделение на энантиомеры 4А и 4В.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокс) бутаноата 4с (2,4 г, 3,8 ммоль) в 4М НСl в диоксане (24 мл) перемешивали при 5°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-метоксифенокс)бутановой кислоты в виде соли НСl (соединение 4, 2 г, 0,8 экв. НСl, 0,07 экв. Н<sub>2</sub>O). Соединение 4 (2 г, соль НСl) нейтрализовали перед хиральным разделением с помощью обработки раствора соединения 4 (соль НСl) в этилацетате с помощью 1н. 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<sub>2</sub>, 50% iPrOH (+ 0,3% iPrNH<sub>2</sub>)) и дополнительно очищали с помощью препаративной ахиральной SFC (неподвижная фаза: Cyano® 6 мкм 150×21,2 мм, подвижная фаза: 80% CO<sub>2</sub>, 20% MeOH (+ 0,3% iPrNH<sub>2</sub>)). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Два энантиомера поглощали с помощью EtOAc и промывали 1н. НСl. Органические слои отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера из эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 4А (616 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера из эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 4В (715 мг).

Также возможно разделять энантиомеры, исходя из соли НСl рацемата с применением тех же условий для хирального разделения.

Соединение 4:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,07-3,28 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (t, J=6,5 Гц, 2H) 4,04 (td, J=10,5, 7,1 Гц, 1H) 4,52 (td, J=10,3, 6,5 Гц, 1H) 5,57 (s, 1H) 5,76 (t, J=2,2 Гц, 1H) 5,90-6,00 (m, 2H) 7,01 (dd, J=8,2, 1,6 Гц, 1H) 7,33 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,41-7,48 (m, 2H) 7,55 (d, J=8,5 Гц, 2H) 8,03 (s, 1H) LC/MS (способ LC-B): R<sub>t</sub> 2,70 мин, МН<sup>+</sup> 579. Температура плавления: 150°C.

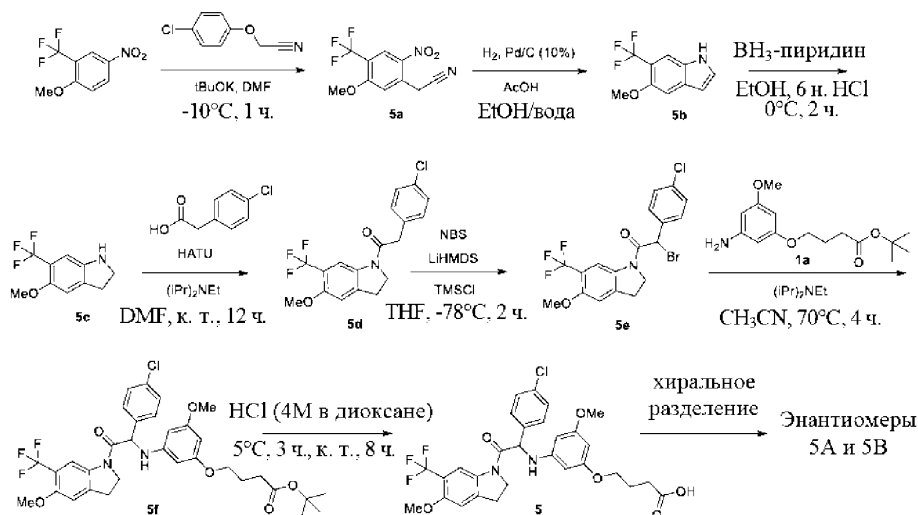
Энантиомер 4А:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,7 Гц, 2H) 2,34 (br t, J=7,3 Гц, 2H) 3,08-3,27 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (br t, J=6,3 Гц, 2H) 3,99-4,11 (m, 1H) 4,47-4,57 (m, 1H) 5,57 (br s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,95 (br d, J=10,1 Гц, 2H) 6,45 (br s, 1H) 7,01 (br d, J=7,6 Гц, 1H) 7,34 (br d, J=7,9 Гц, 1H) 7,44 (br d, J=8,5 Гц, 2H) 7,55 (br d, J=8,2 Гц, 2H) 8,04 (br s, 1H) 12,12 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,95 мин, МН<sup>+</sup> 579 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -48,5° (с 0,27, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-A): R<sub>t</sub> 1,13 мин, МН<sup>+</sup> 579, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 4В:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (br t, J=6,8 Гц, 2H) 2,34 (br t, J=7,3 Гц, 2H) 3,09-3,27 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,85 (br t, J=6,1 Гц, 2H) 3,99-4,10 (m, 1H) 4,46-4,59 (m, 1H) 5,57 (s, 1H) 5,76 (br s, 1H) 5,95 (br d, J=10,1 Гц, 2H) 6,45 (br s, 1H) 7,01 (br d, J=7,9 Гц, 1H) 7,34 (br d, J=7,9 Гц, 1H) 7,44 (br d, J=8,2 Гц, 2H) 7,55 (br d, J=8,2 Гц, 2H) 8,04 (br s, 1H) 12,12 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,94 мин, МН<sup>+</sup> 579 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +42, 9° (с 0,28, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-A): R<sub>t</sub> 2,13 мин, МН<sup>+</sup> 579, хиральная чистота 100%.

Пример 5. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокс)бутановой кислоты (соединение 5) и хиральное разделение на энантиомеры 5А и 5В.



Синтез промежуточного соединения 5a.

Смесь 1-метокси-4-нитро-2-(трифторметил)бензола [CAS 654-76-2] (24,5 г, 110,8 ммоль) и 4-хлорфеноксиацетонитрила [CAS 3598-13-8] (20,4 г, 121,9 ммоль) в DMF (100 мл) добавляли по каплям на протяжении 30 мин к перемешанному раствору tBuOK (27,35 г, 243,7 ммоль) в DMF (100 мл) при -10°C. После добавления пурпурный раствор поддерживали при -10°C в течение 1 ч. Добавляли 500 мл ледяной воды и 500 мл бн. HCl и осадок отфильтровывали, промывали водой и высушивали при пониженном давлении с получением 40,4 г 2-(5-метокси-2-нитро-4-(трифторметил)фенил)ацетонитрила 5a (который использовали как таковой на следующей стадии).

Синтез промежуточного соединения 5b.

Раствор 2-(5-метокси-2-нитро-4-(трифторметил)фенил)ацетонитрила 5a (26 г, 99,9 ммоль) в этаноле/воде (9/1) (500 мл) и AcOH (5,2 мл) гидрогенизировали в течение 1 ч под давлением 3,5 бара с 10% Pd/C (15,3 г) в качестве катализатора. Реакционную смесь фильтровали через подушку из Celite® и осадок на фильтре промывали с помощью смеси растворителей CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> и CH<sub>3</sub>OH. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток фильтровали через стеклянный фильтр, загруженный силикагелем 60-200 мкм с применением гептана/EtOAc 80/20 в качестве элюента. Фракции, содержащие ожидаемое соединение, объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 5-метокси-6-(трифторметил)-1H-индола 5b (15,6 г).

Синтез промежуточного соединения 5c.

При 0°C BN<sub>3</sub>-пиридин (23,5 мл, 232,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-метокси-6-(трифторметил)-1H-индола 5b (10 г, 46,5 ммоль) в EtOH (60 мл). Медленно добавляли бн. HCl (140 мл) при поддержании температуры реакции ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Добавляли воду (200 мл) и повышали основность смеси до pH 8-9 с помощью концентрированного водного раствора NaOH (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Осадок отфильтровывали, промывали водой (дважды) и совместно выпаривали при пониженном давлении с толуолом с получением 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 5c (9 г).

Синтез промежуточного соединения 5d.

Смесь 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 5c (2 г, 9,21 ммоль), 2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 1878-66-6] (1,73 г, 10,1 ммоль), HATU (5,25 г, 13,8 ммоль) и диизопропилэтиламина (4,6 мл, 27,6 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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, солевого раствора, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, 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-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5d (3 г).

Синтез промежуточного соединения 5e.

При -78°C в потоке N<sub>2</sub> 1 M LiHMDS в THF (17,3 мл, 17,3 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5d (3,2 г, 8,65 ммоль) в THF (45 мл). Добавляли по каплям TMSCl (1,32 мл, 10,4 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин при -78°C и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,85 г, 10,4 ммоль) в THF (30 мл). После перемешивания в течение 2 ч при -78°C реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH<sub>4</sub>Cl. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5e (3,1 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии. Синтез промежуточного соединения 5f Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5e (3,5 г, 7,8 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1a (2,2 г, 7,8 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,6 мл, 9,4 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (80 мл) перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1n. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 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-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 5f (2,1 г).

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

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 5f (3,1 г, 4,77 ммоль) в 4 M HCl в диоксане (42,2 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты в виде соли HCl (соединение 5, 2 г). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IA 5 мкм 250×20 мм, подвижная фаза: 50% CO<sub>2</sub>, 50% iPrOH (+ 0,3% iPrNH<sub>2</sub> + 10% CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)). Фракции продукта

объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Два энантиомера поглощали с помощью EtOAc и промывали 1н. HCl. Органические слои отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (847 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 5A (772 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (840 мг) из эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 5B (724 мг).

Соединение 5:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,14-3,35 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,80-3,89 (m, 5H) 3,94-4,04 (m, 1H) 4,51 (td,  $J=10,2, 6,3$  Гц, 1H) 5,55 (s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,95 (br d,  $J=11,7$  Гц, 2H) 7,23 (s, 1H) 7,43 (d,  $J=8,2$  Гц, 2H) 7,55 (d,  $J=8,2$  Гц, 2H) 8,34 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,86 минуты,  $\text{MH}^+$  593. Температура плавления:  $130^\circ\text{C}$ .

Энантиомер 5A:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,12-3,31 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,81-3,89 (m, 5H) 3,94-4,05 (m, 1H) 4,45-4,56 (m, 1H) 5,55 (br s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,95 (br d,  $J=11,0$  Гц, 2H) 6,40 (br s, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,44 (d,  $J=8,2$  Гц, 2H) 7,56 (d,  $J=8,5$  Гц, 2H) 8,34 (s, 1H) 12,14 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,85 минуты,  $\text{MH}^+$  593  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-43,2^\circ$  (с 0,25, DMF).

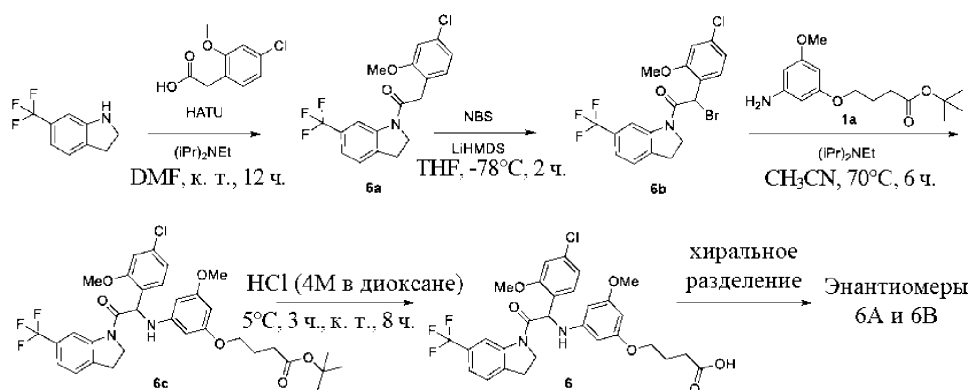
Хиральная SFC (способ SFC-D):  $R_t$  2,16 мин,  $\text{MH}^+$  593, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 5B:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,13-3,33 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,79-3,88 (m, 5H) 3,94-4,03 (m, 1H) 4,51 (td,  $J=10,3, 6,1$  Гц, 1H) 5,54 (br s, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,95 (br d,  $J=11,3$  Гц, 2H) 6,40 (br s, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,43 (d,  $J=8,2$  Гц, 2H) 7,55 (d,  $J=8,5$  Гц, 2H) 8,34 (s, 1H) 12,14 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,85 мин,  $\text{MH}^+$  593  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+41,4^\circ$  (с 0,28, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-D):  $R_t$  3,75 мин,  $\text{MH}^+$  593, хиральная чистота 99,37%.

Пример 6. Синтез 4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)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-(трифторметил)индолина [CAS 181513-29-1] (2 г, 10,7 ммоль), 2-(4-хлор-2-метоксифенил)уксусной кислоты [CAS 170737-95-8] (2,36 г, 11,8 ммоль), HATU (6,1 г, 16 ммоль) и диизопропилэтиламина (5,3 мл, 32 ммоль) в DMF (50 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  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , солевого раствора, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , 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-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 6a (3,9 г).

Синтез промежуточного соединения 6b.

При  $-78^\circ\text{C}$  в потоке  $\text{N}_2$  1 M LiHMDS в THF (13,5 мл, 13,5 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 6a (2,5 г, 6,76 ммоль) в THF (40 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^\circ\text{C}$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,32 г, 7,44 ммоль) в THF (20 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^\circ\text{C}$  реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 6b (3 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 6c.

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 6b (3 г, 6,69 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1a (1,88 г, 6,69 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,4 мл, 8 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (100 мл) перемешивали при  $70^\circ\text{C}$  в течение 6 ч. Смесь концентрировали

при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 6с (1,6 г).

Синтез соединения 6 и хиральное разделение на энантиомеры 6А и 6В.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 6с (1,53 г, 2,36 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (20 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали в  $\text{CH}_3\text{CN}$ /диизопропиловом эфире. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 6) в виде соли HCl (1,35 г, 0,67 экв. HCl, 0,28 экв.  $\text{H}_2\text{O}$ ). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 65%  $\text{CO}_2$ , 35% EtOH). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Первый элюированный энантиомер дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18 10 мкм 150×30 мм, подвижная фаза: градиент от 55% муравьиной кислоты, 0,1%, 45%  $\text{CH}_3\text{CN}$  до 0% муравьиной кислоты, 0,1%, 100%  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Чистые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Затем обеспечивали затвердевание остатка (417 мг) из петroleйного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 6А (370 мг). Второй элюированный энантиомер дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18 10 мкм 150×30 мм, подвижная фаза: градиент от 55% муравьиной кислоты, 0,1%, 45%  $\text{CH}_3\text{CN}$  до 0% муравьиной кислоты, 0,1%, 100%  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Чистые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Затем обеспечивали затвердевание остатка (400 мг) из петroleйного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 6В (363 мг).

Соединение 6:

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (br t,  $J=6,6$  Гц, 2H) 2,33 (br t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,18-3,32 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,80-3,87 (m, 2H) 3,90 (s, 3H) 3,96-4,07 (m, 1H) 4,31-4,45 (m, 1H) 5,61 (s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,87 (br d,  $J=7,6$  Гц, 2H) 7,02 (br d,  $J=8,1$  Гц, 1H) 7,14 (s, 1H) 7,32 (d,  $J=8,1$  Гц, 1H) 7,35-7,41 (m, 1H) 7,43-7,50 (m, 1H) 8,37 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,90 мин,  $\text{MH}^+$  593. Температура плавления: 130°C.

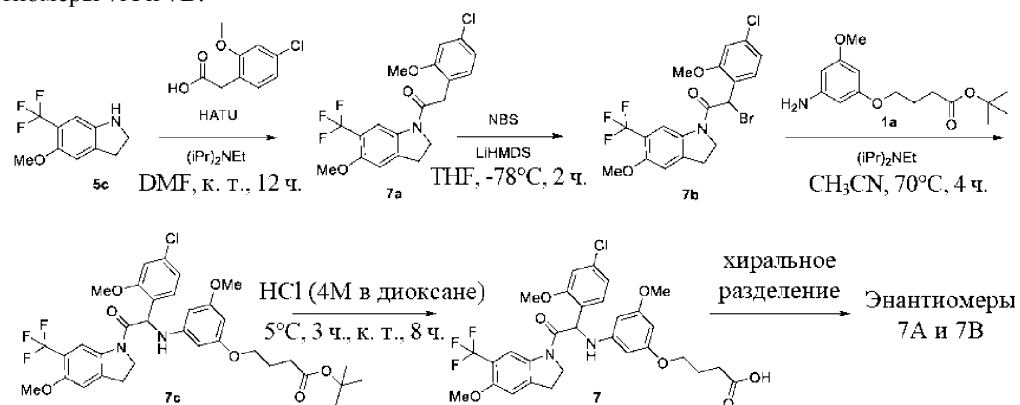
Энантиомер 6А:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,33 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,24 (br dd,  $J=18,6$ , 11,7 Гц, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,80-3,87 (m, 2H) 3,90 (s, 3H) 3,97-4,06 (m, 1H) 4,33-4,43 (m, 1H) 5,61 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,87 (br d,  $J=10,4$  Гц, 2H) 6,43 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,03 (dd,  $J=8,2$ , 1,9 Гц, 1H) 7,15 (d,  $J=1,6$  Гц, 1H) 7,32 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 7,39 (d,  $J=7,9$  Гц, 1H) 7,46 (d,  $J=7,9$  Гц, 1H) 8,37 (s, 1H) 12,16 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,99 мин,  $\text{MH}^+$  593  $[\alpha]_D^{20}$ : -28, 6° (с 0,29, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-E):  $R_t$  2,17 мин,  $\text{MH}^+$  593, хиральная чистота 100%. Температура плавления: 178°C.

Энантиомер 6В:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,33 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,24 (br dd,  $J=18,8$ , 11,5 Гц, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,83 (q,  $J=6,2$  Гц, 2H) 3,90 (s, 3H) 3,96-4,08 (m, 1H) 4,32-4,43 (m, 1H) 5,61 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,87 (br d,  $J=10,1$  Гц, 2H) 6,43 (br d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,03 (dd,  $J=8,2$ , 1,6 Гц, 1H) 7,15 (d,  $J=1,6$  Гц, 1H) 7,32 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 7,39 (d,  $J=7,6$  Гц, 1H) 7,46 (d,  $J=7,9$  Гц, 1H) 8,37 (s, 1H) 12,16 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,00 мин,  $\text{MH}^+$  593  $[\alpha]_D^{20}$ : +32,1° (с 0,28, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-E):  $R_t$  4,04 мин,  $\text{MH}^+$  593, хиральная чистота 100%.

Пример 7. Синтез 4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 7) и хиральное разделение на энантиомеры 7А и 7В.



Синтез промежуточного соединения 7a.

Смесь 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 5с (1,5 г, 6,9 ммоль), 2-(4-хлор-2-метоксифенил) уксусной кислоты [CAS 170737-95-8] (1,4 г, 6,9 ммоль), НАТУ (3,94 г, 10,4 ммоль) и диизопропилэтиламина (3,4 мл, 20,7 ммоль) в DMF (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Добавляли лед/воду и осадок отфильтровывали. Остаток поглощали с помощью  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Органический раствор промывали с помощью 10% водного раствора  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , солевого раствора, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из диизопропилового эфира с получением 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил) этанола 7a (2,48 г).

Синтез промежуточного соединения 7b.

При  $-78^\circ\text{C}$  в потоке  $\text{N}_2$  1 М LiHMDS в THF (16,5 мл, 16,5 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанола 7a (3,3 г, 8,25 ммоль) в THF (45 мл). Добавляли по каплям TMSCl (1,26 мл, 9,91 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^\circ\text{C}$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,76 г, 9,91 ммоль) в THF (30 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^\circ\text{C}$  реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанола 7b (3,5 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 7с.

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанола 7b (3,5 г, 7,31 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1a (2 г, 7,31 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,5 мл, 8,8 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (80 мл) перемешивали при  $70^\circ\text{C}$  в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 7с (2,2 г).

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

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси) бутаноата 7с (2,1 г, 3,1 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (27,4 мл) перемешивали при  $5^\circ\text{C}$  в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали в  $\text{CH}_3\text{CN}$ /диизопропиловом эфире. Осадок отфильтровывали и высушивали с получением 4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 7) в виде соли HCl (1,5 г, 0,74 экв. HCl, 0,29 экв.  $\text{H}_2\text{O}$ ). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 55%  $\text{CO}_2$ , 45% iPrOH). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (671 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 7A (606 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (647 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 6B (580 мг).

Соединение 7:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,7$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,17-3,30 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,79-3,87 (m, 5H) 3,90 (s, 3H) 3,93-4,02 (m, 1H) 4,29-4,40 (m, 1H) 5,59 (s, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,87 (br d,  $J=10,7$  Гц, 2H) 7,02 (dd,  $J=8,2$ , 1,6 Гц, 1H) 7,14 (d,  $J=1,3$  Гц, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,32 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 8,32 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,89 мин,  $\text{MH}^+$  623. Температура плавления:  $160^\circ\text{C}$ .

Энантиомер 7A:

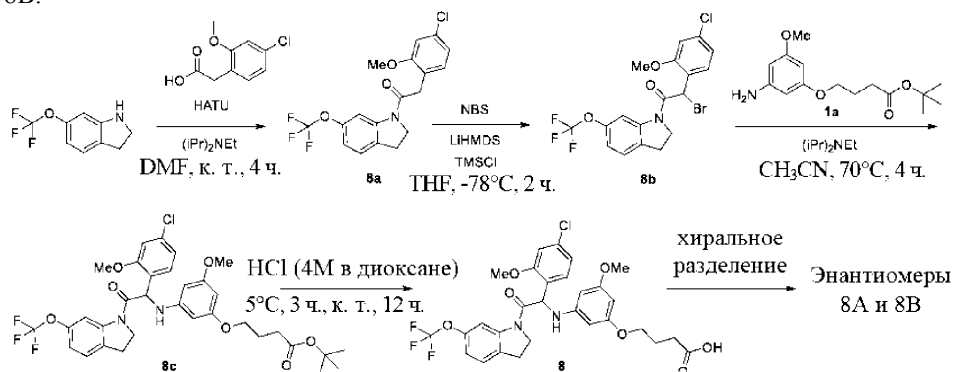
$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (br t,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (br t,  $J=7,1$  Гц, 2H) 3,18-3,28 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,79-3,87 (m, 5H) 3,91 (s, 3H) 3,94-4,05 (m, 1H) 4,31-4,42 (m, 1H) 5,59 (br d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 5,76 (br s, 1H) 5,87 (br d,  $J=10,4$  Гц, 2H) 6,40 (br d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,02 (br d,  $J=7,9$  Гц, 1H) 7,14 (s, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,33 (br d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 8,33 (s, 1H) 12,18 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,87 мин,  $\text{MH}^+$  623  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-23,9^\circ$  (с 0,28, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-C):  $R_t$  1,76 мин,  $\text{MH}^+$  623, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 7B:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,5$  Гц, 2H) 2,34 (br t,  $J=7,1$  Гц, 2H) 3,18-3,28 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,80-3,87 (m, 5H) 3,91 (s, 3H) 3,94-4,02 (m, 1H) 4,28-4,41 (m, 1H) 5,59 (br d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 5,75 (br s, 1H) 5,87 (br d,  $J=10,4$  Гц, 2H) 6,40 (br d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,02 (br d,  $J=7,9$  Гц, 1H) 7,14 (s, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,33 (br d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 8,33 (s, 1H) 12,17 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,87 мин,  $\text{MH}^+$  623  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+28,5^\circ$  (с 0,26, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-C):  $R_t$  3,52 мин,  $\text{MH}^+$  623, хиральная чистота 100%.

Пример 8. Синтез 4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)

этил)амино)-5-метоксифенокс)бутановой кислоты (соединение 8) и хиральное разделение на энантиомеры 8А и 8В.



Синтез промежуточного соединения 8а.

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (2,5 г, 12,3 ммоль), 2-(4-хлор-2-метоксифенил)уксусной кислоты [CAS 170737-95-8] (2,47 г, 12,3 ммоль), HATU (7 г, 18,5 ммоль) и диизопропилэтиламина (6,1 мл, 36,9 ммоль) в DMF (40 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Добавляли воду и EtOAc. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 85/15). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением, после кристаллизации из  $\text{CH}_3\text{CN}$ /гептана, 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8а (4,3 г).

Синтез промежуточного соединения 8b.

При  $-78^\circ\text{C}$  в потоке  $\text{N}_2$  1 M LiHMDS в THF (19,7 мл, 19,7 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8а (3,8 г, 9,8 ммоль) в THF (50 мл). Добавляли по каплям TMSCl (1,5 мл, 11,8 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^\circ\text{C}$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,9 г, 10,8 ммоль) в THF (35 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^\circ\text{C}$  реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8b (4,5 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 8с.

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-метоксифенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8b (4,5 г, 9,68 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокс)бутаноата 1а (2,7 г, 9,68 ммоль) и диизопропилэтиламина (2 мл, 11,6 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (100 мл) перемешивали при  $70^\circ\text{C}$  в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток 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  $\text{CH}_3\text{CN}$ , трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокс)бутаноата 8с (2,3 г).

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

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокс)бутаноата 8с (2,3 г, 3,46 ммоль) в 4 M HCl в диоксане (30 мл) перемешивали при  $5^\circ\text{C}$  в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали диизопропиловым эфиром и высушивали с получением 4-(3-((1-(4-хлор-2-метоксифенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокс)бутановой кислоты (соединение 8) в виде соли HCl (1,79 г, 0,86 экв. HCl, 0,22 экв.  $\text{H}_2\text{O}$ ). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 65%  $\text{CO}_2$ , 35% iPrOH). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (726 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 8А (612 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (712 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 8В (643 мг).

Соединение 8:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,34 (br t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,08-3,26 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,83(q,  $J=6,5$  Гц, 2H) 3,90 (s, 3H) 3,98-4,09 (m, 1H) 4,31-4,42 (m, 1H) 5,60 (s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,87 (br d,  $J=9,5$  Гц, 2H) 6,98-7,05 (m, 2H) 7,14 (d,  $J=1,9$  Гц, 1H) 7,31 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 7,34 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 8,02 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,04 мин,  $\text{MH}^+$  609. Температура плавления:  $139^\circ\text{C}$ .

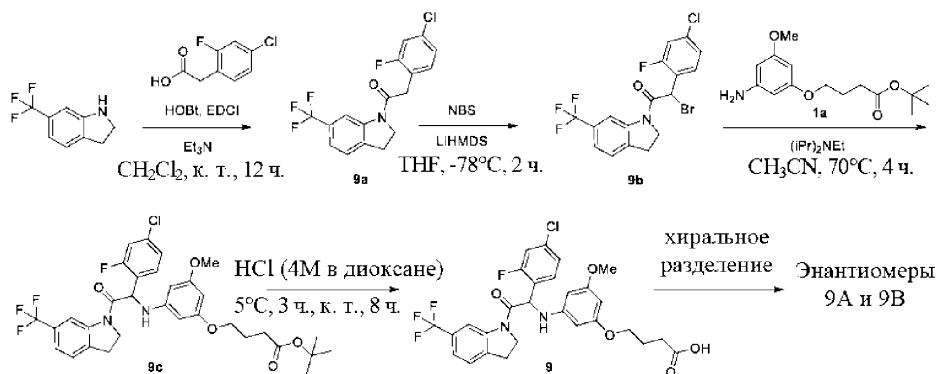
Энантиомер 8А:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,33 (t,  $J=7,4$  Гц, 2H) 3,09-3,25 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,78-3,87 (m, 2H) 3,90 (s, 3H) 3,98-4,07 (m, 1H) 4,32-4,42 (m, 1H) 5,59 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,86 (s, 1H) 5,88 (s, 1H) 6,45 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 6,97-7,06 (m, 2H) 7,14 (d,  $J=1,3$  Гц, 1H) 7,31 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,34 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 8,02 (s, 1H) 12,14 (br s, 1H) LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,03 мин,  $\text{MH}^+$  609  $[\alpha]_D^{20}$ : -39,3° (с 0,28, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-F):  $R_t$  2,32 мин,  $\text{MH}^+$  609, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 8В:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,09-3,25 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,79-3,88 (m, 2H) 3,90 (s, 3H) 4,02 (td,  $J=10,2, 6,9$  Гц, 1H) 4,33-4,41 (m, 1H) 5,60 (s, 1H) 5,76 (s, 1H) 5,86 (s, 1H) 5,88 (s, 1H) 6,45 (br s, 1H) 6,99-7,05 (m, 2H) 7,14 (d,  $J=1,6$  Гц, 1H) 7,31 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,34 (d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 8,02 (s, 1H) 12,12 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,03 мин,  $\text{MH}^+$  609  $[\alpha]_D^{20}$ : +34,5° (с 0,29, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-F):  $R_t$  3,51 мин,  $\text{MH}^+$  609, хиральная чистота 100%.

Пример 9. Синтез 4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 9) и хиральное разделение на энантиомеры 9А и 9В.



Синтез промежуточного соединения 9а.

Смесь 2-(4-хлор-2-фторфенил)уксусной кислоты [CAS 194240-75-0] (2,52 г, 13,4 ммоль), 6-(трифторметил)индолина [CAS 181513-29-1] (2,5 г, 13,4 ммоль), гидроксизенотриазола (2,7 г, 20,04 ммоль), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (3,84 г, 20,04 ммоль) и триметиламина (3,71 мл, 26,7 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Добавляли воду и слои разделяли. Органический слой промывали водой, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением, после кристаллизации из  $\text{CH}_3\text{CN}$ /диизопропилового эфира, 2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 9а (3,9 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 9b.

При  $-78^\circ\text{C}$  в потоке  $\text{N}_2$  1 М LiHMDS в THF (13,98 мл, 13,98 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 9а (2,5 г, 6,99 ммоль) в THF (20 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^\circ\text{C}$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,37 г, 7,69 ммоль) в THF (15 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^\circ\text{C}$  реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 9b (2,8 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 9с.

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 9b (2,8 г, 6,41 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1а (1,8 г, 6,41 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,33 мл, 7,7 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (90 мл) перемешивали при  $70^\circ\text{C}$  в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении.

Остаток очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением, после кристаллизации из  $\text{CH}_3\text{CN}$ /диизопропилового эфира, трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 9с (1,75 г).

Синтез соединения 9 и хиральное разделение на энантиомеры 9А и 9В.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси) бутаноата 9с (1,75 г, 2,75 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (24,3 мл) перемешивали при  $5^\circ\text{C}$  в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из  $\text{CH}_3\text{CN}$ /диизопропилового эфира с получением 4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутано-

вой кислоты (соединение 9) в виде соли HCl (1,4 г, 0,8 экв. HCl, 0,78 экв. H<sub>2</sub>O). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 70% CO<sub>2</sub>, 30% iPrOH). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (618 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 9A (505 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (548 мг) из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 9B (495 мг).

Соединение 9:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,34 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,18-3,34 (m, 2H) 3,63 (s, 3H) 3,80-3,90 (m, 2H) 4,02-4,14 (m, 1H) 4,40-4,49 (m, 1H) 5,72 (s, 1H) 5,80 (s, 1H) 5,94 (br d, J=10,1 Гц, 2H) 7,33 (dd, J=8,5, 1,6 Гц, 1H) 7,39-7,43 (m, 1H) 7,43-7,50 (m, 3H) 8,36 (s, 1H) LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,99 мин, MH<sup>+</sup> 581. Температура плавления: 110°C.

Энантиомер 9A:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,7 Гц, 2H) 2,33 (br t, J=7,1 Гц, 2H) 3,22-3,28 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,80-3,90 (m, 2H) 4,03-4,13 (m, 1H) 4,39-4,48 (m, 1H) 5,72 (br d, J=8,8 Гц, 1H) 5,80 (s, 1H) 5,93 (br d, J=10,7 Гц, 2H) 6,60 (br d, J=8,8 Гц, 1H) 7,33 (br d, J=7,9 Гц, 1H) 7,39-7,43 (m, 1H) 7,43-7,51 (m, 3H) 8,36 (s, 1H) 12,19 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,98 мин, MH<sup>+</sup> 581 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -30,0° (с 0,29, DMF).

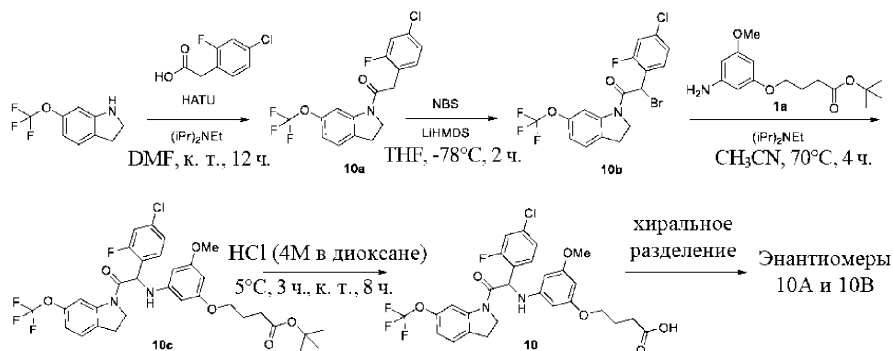
Хиральная SFC (способ SFC-G): R<sub>t</sub> 1,97 мин, MH<sup>+</sup> 581, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 9B:

<sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 1,87 (quin, J=6,9 Гц, 2H) 2,33 (t, J=7,3 Гц, 2H) 3,21-3,28 (m, 2H) 3,63 (s, 3H) 3,80-3,91 (m, 2H) 4,02-4,12 (m, 1H) 4,40-4,49 (m, 1H) 5,72 (d, J=9,1 Гц, 1H) 5,80 (s, 1H) 5,94 (br d, J=11,0 Гц, 2H) 6,60 (br d, J=8,8 Гц, 1H) 7,33 (dd, J=8,2, 1,6 Гц, 1H) 7,38-7,43 (m, 1H) 7,43-7,50 (m, 3H) 8,36 (s, 1H) 11,04-12,93 (m, 1H). LC/MS (способ LC-A): R<sub>t</sub> 2,98 мин, MH<sup>+</sup> 581 [α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +27,9° (с 0,28, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-G): R<sub>t</sub> 3,19 мин, MH<sup>+</sup> 581, хиральная чистота 99,35%.

Пример 10. Синтез 4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 10) и хиральное разделение на энантиомеры 10A и 10B.



Синтез промежуточного соединения 10a.

HATU (7,02 г, 18,46 ммоль) добавляли к смеси 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (2,5 г, 12,3 ммоль), 2-(4-хлор-2-фторфенил)уксусной кислоты [CAS 194240-75-0] (2,32 г, 12,3 ммоль) и диизопропилэтиламина (6,1 мл, 36,9 ммоль) в DMF (100 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь разбавляли с помощью воды, осадок отфильтровывали и промывали водой. Остаток поглощали в EtOAc и органический раствор промывали с помощью 10% водного раствора K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, солевого раствора, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаточный продукт кристаллизовали из диизопропилового эфира с получением 2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10a (4 г).

Синтез промежуточного соединения 10b.

При -78°C в потоке N<sub>2</sub> 1 M LiHMDS в THF (21,4 мл, 21,4 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10a (4 г, 10,7 ммоль) в THF (60 мл). Смесь перемешивали в течение 15 мин при -78°C и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (2,1 г, 11,8 ммоль) в THF (40 мл). После перемешивания в течение 2 ч при -78°C реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH<sub>4</sub>Cl. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10b (4,8 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 10c.

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10b (3 г, 6,63 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1a (1,86 г, 6,63 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,37 мл, 7,95 ммоль) в CH<sub>3</sub>CN (60 мл) перемешивали при 70°C в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1n. HCl и водой. Органическую фазу

отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток 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 трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата 10с (835 мг).

Синтез соединения 10 и хиральное разделение на энантиомеры 10А и 10В.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата 10с (835 г, 1,28 ммоль) в 4 М  $\text{HCl}$  в диоксане (11,3 мл) перемешивали при  $5^\circ\text{C}$  в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка из диизопропилового эфира с получением 4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение 10) (620 мг). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IC 5 мкм 250×30 мм, подвижная фаза: 70%  $\text{CO}_2$ , 30%  $i\text{PrOH}$  (+ 0,3%  $i\text{PrNH}_2$ ). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Первый элюированный энантиомер (249 мг) поглощали с помощью EtOAc и промывали 1н.  $\text{HCl}$ . Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 10А (183 мг). Второй элюированный энантиомер (274 мг) поглощали с помощью EtOAc и промывали 1н.  $\text{HCl}$ . Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка из петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 10В (186 мг).

Соединение 10:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,33 (br t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,09-3,24 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,81-3,89 (m, 2H) 4,05-4,13 (m, 1H) 4,38-4,47 (m, 1H) 5,70 (br d,  $J=9,1$  Гц, 1H) 5,79 (s, 1H) 5,93 (br d,  $J=9,8$  Гц, 2H) 6,62 (br d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 7,03 (br d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 7,31-7,37 (m, 2H) 7,41-7,50 (m, 2H) 8,02 (s, 1H) 12,15 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,07 мин,  $\text{MH}^+$  597.

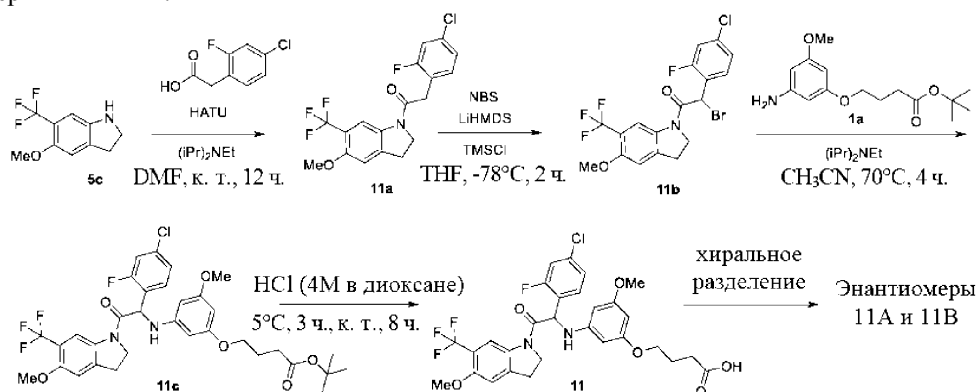
Энантиомер 10А:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,12-3,22 (m, 2H) 3,62 (s, 3H) 3,79-3,90 (m, 2H) 4,04-4,13 (m, 1H) 4,38-4,48 (m, 1H) 5,70 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 5,79 (s, 1H) 5,93 (br d,  $J=9,8$  Гц, 2H) 6,62 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 7,03 (br d,  $J=9,5$  Гц, 1H) 7,30-7,38 (m, 2H) 7,41-7,51 (m, 2H) 8,02 (s, 1H) 12,10 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,04 мин,  $\text{MH}^+$  597  $[\alpha]_D^{20}$ : +23,1° (с 0,26, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-H):  $R_t$  3,22 мин,  $\text{MH}^+$  597, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 10В:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (br t,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (br t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,12-3,25 (m, 2H) 3,63 (s, 3H) 3,80-3,90 (m, 2H) 4,05-4,14 (m, 1H) 4,38-4,49 (m, 1H) 5,71 (br d,  $J=9,1$  Гц, 1H) 5,80 (br s, 1H) 5,94 (br d,  $J=9,5$  Гц, 2H) 6,62 (br d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 7,03 (br d,  $J=7,9$  Гц, 1H) 7,30-7,38 (m, 2H) 7,41-7,52 (m, 2H) 8,02 (br s, 1H) 12,12 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  3,04 мин,  $\text{MH}^+$  597  $[\alpha]_D^{20}$ : -23,0° (с 0,3, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-H):  $R_t$  4,05 мин,  $\text{MH}^+$  597, хиральная чистота 100%.

Пример 11. Синтез 4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение 11) и хиральное разделение на энантиомеры 11А и 11В.



Синтез промежуточного соединения 11а.

HATU (5,25 г, 13,81 ммоль) добавляли к смеси 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 5с (2 г, 9,21 ммоль), 2-(4-хлор-2-фторфенил)уксусной кислоты [CAS 194240-75-0] (1,74 г, 9,21 ммоль) и диизопропиламина (4,57 мл, 27,6 ммоль) в DMF (50 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь разбавляли льдом/водой. Осадок отфильтровывали и промывали водой. Остаток поглощали с помощью  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и органический раствор промывали с помощью 10% водного раствора  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , солевого раствора, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при

пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из диизопропилового эфира с получением 2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 11a (3,4 г).

Синтез промежуточного соединения 11b.

При  $-78^{\circ}\text{C}$  в потоке  $\text{N}_2$  1 M LiHMDS в THF (17,5 мл, 17,5 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 11a (3,4 г, 8,77 ммоль) в THF (45 мл). Добавляли по каплям TMSCl (1,34 мл, 10,5 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^{\circ}\text{C}$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (1,87 г, 10,52 ммоль) в THF (30 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^{\circ}\text{C}$  реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 11b (4 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 11c.

Смесь 2-бром-2-(4-хлор-2-фторфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 11b (4 г, 8,57 ммоль), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифенокси)бутаноата 1a (2,4 г, 8,57 ммоль) и диизопропиламина (1,77 мл, 10,3 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (100 мл) перемешивали при  $70^{\circ}\text{C}$  в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1n. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Соединение дополнительно очищали с помощью ахиральной SFC (неподвижная фаза: 2-этилпиридин, 5 мкм 150x30 мм, подвижная фаза: 85%  $\text{CO}_2$ , 15% MeOH). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 11c (2,6 г).

Синтез соединения 11 и хиральное разделение на энантиомеры 11A и 11B.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутаноата 11c (2,2 г, 3,3 ммоль) в 4 M HCl в диоксане (29,2 мл) перемешивали при  $5^{\circ}\text{C}$  в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из  $\text{CH}_3\text{CN}$ /диизопропилового эфира с получением 4-(3-((1-(4-хлор-2-фторфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 11) в виде соли HCl (800 мг, 0,85 экв. HCl, 0,36 экв.  $\text{H}_2\text{O}$ ). Данную фракцию объединяли с другой партией (общее количество: 1,8 г) для хирального разделения. Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H 5 мкм 250x30 мм, подвижная фаза: 55%  $\text{CO}_2$ , 45% iPrOH). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (788 мг) из петroleйного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 11A (693 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (771 мг) из петroleйного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 11B (695 мг).  $R_t$

Соединение 11:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,87 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (br t,  $J=7,4$  Гц, 2H) 3,18-3,31 (m, 2H) 3,63 (s, 3H) 3,85 (s, 5H) 3,98-4,09 (m, 1H) 4,37-4,48 (m, 1H) 5,69 (s, 1H) 5,79 (s, 1H) 5,93 (br d,  $J=11,0$  Гц, 2H) 7,26 (s, 1H) 7,32 (br d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 7,44-7,52 (m, 2H) 8,32 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,90 мин,  $\text{MH}^+$  611. Температура плавления:  $121^{\circ}\text{C}$ .

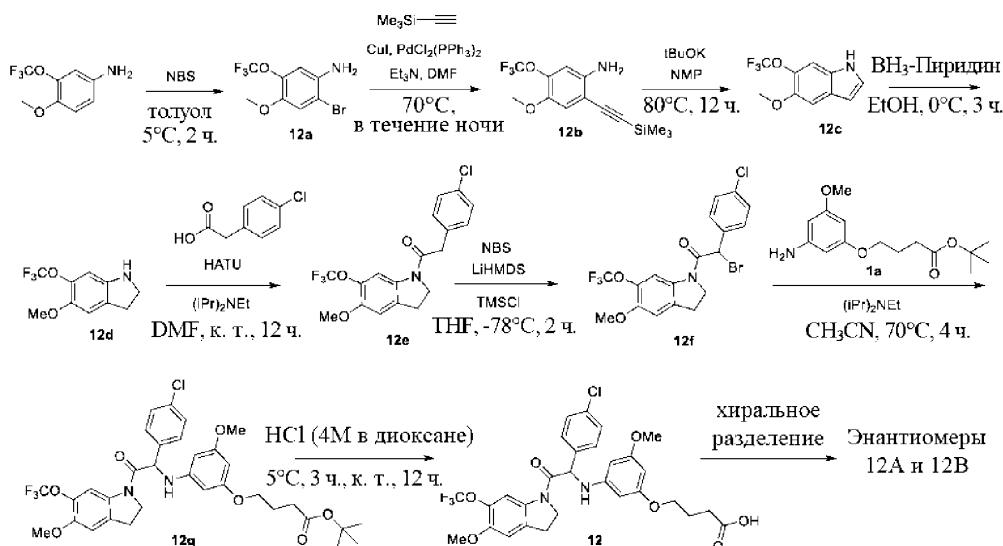
Энантиомер 11A:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,88 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,18-3,29 (m, 2H) 3,63 (s, 3H) 3,86 (s, 5H) 3,99-4,07 (m, 1H) 4,38-4,47 (m, 1H) 5,69 (br s, 1H) 5,79 (s, 1H) 5,93 (br d,  $J=10,7$  Гц, 2H) 6,55 (br s, 1H) 7,25 (s, 1H) 7,32 (dd,  $J=8,5$ , 1,3 Гц, 1H) 7,43-7,51 (m, 2H) 8,33 (s, 1H) 12,13 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,90 мин,  $\text{MH}^+$  611  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-23,9^{\circ}$  (с 0,26, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-C):  $R_t$  1,70 мин,  $\text{MH}^+$  611, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 11B:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,88 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,34 (br t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,18-3,31 (m, 2H) 3,63 (s, 3H) 3,85 (s, 5H) 3,99-4,07 (m, 1H) 4,37-4,47 (m, 1H) 5,69 (br s, 1H) 5,79 (s, 1H) 5,93 (br d,  $J=11,0$  Гц, 2H) 6,56 (br s, 1H) 7,25 (s, 1H) 7,32 (br d,  $J=8,2$  Гц, 1H) 7,43-7,50 (m, 2H) 8,33 (s, 1H) 12,13 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,89 минуты,  $\text{MH}^+$  611.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+24,0^{\circ}$  (с 0,25, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-C):  $R_t$  2,96 мин,  $\text{MH}^+$  611, хиральная чистота 100%.

Пример 12. Синтез 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифенокси)бутановой кислоты (соединение 12) и хиральное разделение на энантиомеры 12A и 12B.



Синтез промежуточного соединения 12а.

Раствор 4-метокси-3-(трифторметокси)анилина [CAS 647855-21-8] (3,1 г, 15,0 ммоль) в толуоле (50 мл) обрабатывали N-бромсукцинимидом (2,8 г, 15,7 ммоль) при 5°C и полученную смесь перемешивали при 5-10°C в течение 2 ч. Смесь гасили водой и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные экстракты высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Проводили очистку посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, градиент гептан/EtOAc от 95/5 до 90/10). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением 2-бром-4-метокси-5-(трифторметокси)анилина 12а (2,5 г).

Синтез промежуточного соединения 12b.

Раствор 2-бром-4-метокси-5-(трифторметокси)анилина 12а (2,72 г, 9,51 ммоль) в DMF (30 мл) дегазировали с помощью N<sub>2</sub> в течение 15 мин. Добавляли дихлорбис(трифенилфосфин)палладий (667 мг, 0,95 ммоль), йодид меди(I) (362 мг, 1,90 ммоль), триэтиламин (3,96 мл, 28,5 ммоль) и триметилсилилацетилен (3,95 мл, 28,53 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 70°C в течение 12 ч в потоке N<sub>2</sub>. После охлаждения до комнатной температуры реакцию смесь разбавляли с помощью H<sub>2</sub>O и экстрагировали с помощью EtOAc. Органические фазы объединяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 85/15). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением 4-метокси-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина 12b (1,4 г).

Синтез промежуточного соединения 12с.

К раствору 4-метокси-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина 12b (1,2 г, 3,96 ммоль) в NMP (11 мл) в потоке N<sub>2</sub> одной порцией добавляли tBuOK (1,33 г, 11,9 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 4 ч; после охлаждения до комнатной температуры смесь выливали в лед/воду и подкисляли с помощью 3н. HCl до pH 4-5. Реакционную смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органические фазы объединяли, промывали с помощью H<sub>2</sub>O, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, гептан/EtOAc 85/15). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением 5-метокси-6-(трифторметокси)-1H-индола 12с (490 мг).

Синтез промежуточного соединения 12d.

При 0°C NH<sub>3</sub>-пиридин (10,5 мл, 103,8 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-метокси-6-(трифторметокси)-1H-индола 12с (8 г, 34,6 ммоль) в EtOH (45 мл). Медленно добавляли 6 н. HCl (6 мл) при поддержании температуры реакции ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли воду (210 мл) и повышали основность смеси до pH 8-9 с помощью концентрированного раствора NaOH в воде (во время добавления температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении.

Добавляли толуол и концентрировали раствор при пониженном давлении с получением 7,5 г 5-метокси-6-(трифторметокси)индолина 12d.

Синтез промежуточного соединения 12е.

Смесь 5-метокси-6-(трифторметокси)индолина 12d (1 г, 4,29 ммоль), 2-(4-хлорфенил)уксусной кислоты [CAS 1878-66-6] (805 мг, 4,72 ммоль), HATU (2,44 г, 6,43 ммоль) и диизопропилэтиламина (2,13 мл, 12,87 ммоль) в DMF (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Добавляли лед/воду и осадок отфильтровывали. Остаток поглощали с помощью CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Органический раствор отделяли, высушивали над MgSO<sub>4</sub>, фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 12е (1,68 г).

Синтез промежуточного соединения 12f.

При  $-78^{\circ}\text{C}$  в потоке  $\text{N}_2$  1 М LiHMDS в THF (8,3 мл, 8,3 ммоль) добавляли по каплям к смеси 2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 12e (1,6 г, 4,15 ммоль) в THF (25 мл). Добавляли по каплям TMSCl (0,63 мл, 4,98 ммоль). Смесь перемешивали в течение 15 мин при  $-78^{\circ}\text{C}$  и добавляли по каплям раствор N-бромсукцинимид (0,89 г, 4,98 ммоль) в THF (15 мл). После перемешивания в течение 2 ч при  $-78^{\circ}\text{C}$  реакционную смесь гасили насыщенным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 12f (2,3 г, чистота (посредством LC): 50%). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 12g.

Смесь 2-бром-2-(4-хлорфенил)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 12f (2,3 г, 2,48 ммоль, чистота (посредством LC): 50%), трет-бутил-4-(3-амино-5-метоксифеноксид)бутаноата 1a (0,696 г, 2,48 ммоль) и диизопропилэтиламина (0,512 мл, 2,97 ммоль) в  $\text{CH}_3\text{CN}$  (25 мл) перемешивали при  $70^{\circ}\text{C}$  в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, разбавляли EtOAc и промывали 1н. HCl и водой. Органическую фазу отделяли, высушивали над  $\text{MgSO}_4$ , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении и остаток снова очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (15–40 мкм, 40 г,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Чистые фракции объединяли и выпаривали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата 12g (920 мг).

Синтез соединения 12 и хиральное разделение на энантиомеры 12A и 12B.

Раствор трет-бутил-4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутаноата 12g (920 мг, 1,38 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (15 мл) перемешивали при  $5^{\circ}\text{C}$  в течение 3 ч. и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали диизопропиловым эфиром и высушивали с получением 4-(3-((1-(4-хлорфенил)-2-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)амино)-5-метоксифеноксид)бутановой кислоты (соединение 12, 802 мг, 0,2 экв.  $\text{H}_2\text{O}$ ). Энантиомеры разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H 5 мкм 250×20 мм, подвижная фаза: 50%  $\text{CO}_2$ , 50% iPrOH). Фракции продукта объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (260 мг) из гептана/диизопропилового эфира с получением энантиомера 12A (165 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (241 мг) из гептана/диизопропилового эфира с получением энантиомера 12B (184 мг).

Соединение 12:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,86 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,33 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,08–3,28 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,81 (s, 3H) 3,84 (br t,  $J=6,5$  Гц, 2H) 3,97–4,06 (m, 1H) 4,48 (td,  $J=10,4$ , 6,3 Гц, 1H) 5,53 (s, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,94 (br d,  $J=10,1$  Гц, 2H) 7,20 (s, 1H) 7,43 (d,  $J=8,5$  Гц, 2H) 7,54 (d,  $J=8$ , 5 Гц, 2H) 8,06 (s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,89 мин,  $\text{MH}^+$  609.

Энантиомер 12A:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,86 (quin,  $J=6,8$  Гц, 2H) 2,33 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,09–3,26 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,81 (s, 3H) 3,84 (br t,  $J=6,5$  Гц, 2H) 4,02 (td,  $J=10,3$ , 7,1 Гц, 1H) 4,48 (td,  $J=10,4$ , 6,3 Гц, 1H) 5,53 (d,  $J=8,5$  Гц, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,93 (s, 1H) 5,95 (s, 1H) 6,43 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 7,20 (s, 1H) 7,43 (d,  $J=8,2$  Гц, 2H) 7,55 (d,  $J=8,5$  Гц, 2H) 8,06 (s, 1H) 12,12 (br s, 1H). LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,92 минуты,  $\text{MH}^+$  609  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-44,2^{\circ}$  (с 0,197, DMF). Хиральная SFC (способ SFC-I):  $R_t$  0,99 мин,  $\text{MH}^+$  609, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 12B:

$^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  ppm 1,86 (quin,  $J=6,9$  Гц, 2H) 2,33 (t,  $J=7,3$  Гц, 2H) 3,09–3,27 (m, 2H) 3,61 (s, 3H) 3,81 (s, 3H) 3,84 (br t,  $J=6,5$  Гц, 2H) 3,98–4,06 (m, 1H) 4,48 (td,  $J=10,5$ , 6,1 Гц, 1H) 5,53 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 5,75 (s, 1H) 5,93 (s, 1H) 5,95 (s, 1H) 6,43 (d,  $J=8,8$  Гц, 1H) 7,20 (s, 1H) 7,43 (d,  $J=8,5$  Гц, 2H) 7,54 (d,  $J=8,5$  Гц, 2H) 8,06 (s, 1H) 12,16 (br s, 1H) LC/MS (способ LC-A):  $R_t$  2,91 мин,  $\text{MH}^+$  609.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $+40,7^{\circ}$  (с 0,189, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-I):  $R_t$  1,45 мин,  $\text{MH}^+$  609, хиральная чистота 98,53%.

Таблица: соединения, полученные, как описано выше.

| Соединение | Структура | Оптическое вращение              |
|------------|-----------|----------------------------------|
| 1          |           | рацемический                     |
| 1A         |           | $[\alpha]_D^{20} = -49, 0^\circ$ |
| 1B         |           | $[\alpha]_D^{20} = +49, 5^\circ$ |
| 2          |           | рацемический                     |
| 2A         |           | $[\alpha]_D^{20} = -46, 3^\circ$ |
| 2B         |           | $[\alpha]_D^{20} = +47, 0^\circ$ |
| 3          |           | рацемический                     |
| 3A         |           | $[\alpha]_D^{20} = -42, 4^\circ$ |
| 3B         |           | $[\alpha]_D^{20} = +50, 7^\circ$ |
| 4          |           | рацемический                     |
| 4A         |           | $[\alpha]_D^{20} = -48, 5^\circ$ |
| 4B         |           | $[\alpha]_D^{20} = +42, 9^\circ$ |
| 5          |           | рацемический                     |

|    |  |                                  |
|----|--|----------------------------------|
| 5A |  | $[\alpha]_D^{20} = -43, 2^\circ$ |
| 5B |  | $[\alpha]_D^{20} = +41, 4^\circ$ |
| 6  |  | рацемический                     |
| 6A |  | $[\alpha]_D^{20} = -28, 6^\circ$ |
| 6B |  | $[\alpha]_D^{20} = +32, 1^\circ$ |
| 7  |  | рацемический                     |
| 7A |  | $[\alpha]_D^{20} = -23, 9^\circ$ |
| 7B |  | $[\alpha]_D^{20} = +28, 5^\circ$ |
| 8  |  | рацемический                     |
| 8A |  | $[\alpha]_D^{20} = -39, 3^\circ$ |
| 8B |  | $[\alpha]_D^{20} = +34, 5^\circ$ |
| 9  |  | рацемический                     |
| 9A |  | $[\alpha]_D^{20} = -30, 0^\circ$ |
| 9B |  | $[\alpha]_D^{20} = +27, 9^\circ$ |

|     |  |                                  |
|-----|--|----------------------------------|
| 10  |  | рацемический                     |
| 10A |  | $[\alpha]_D^{20} = +23, 1^\circ$ |
| 10B |  | $[\alpha]_D^{20} = -23, 0^\circ$ |
| 11  |  | рацемический                     |
| 11A |  | $[\alpha]_D^{20} = -23, 9^\circ$ |
| 11B |  | $[\alpha]_D^{20} = +24, 0^\circ$ |
| 12  |  | рацемический                     |
| 12A |  | $[\alpha]_D^{20} = -44, 2^\circ$ |
| 12B |  | $[\alpha]_D^{20} = +40, 7^\circ$ |

### Противовирусная активность соединений по настоящему изобретению

Анализ противовирусной активности в отношении DENV-2. Тестировали противовирусную активность всех соединений по настоящему изобретению в отношении штамма 16681 DENV-2, который метили усиленным зеленым флуоресцентным белком (eGFP). Среда для культивирования состоит из минимальной поддерживающей среды, дополненной с помощью 2% термически инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 0,04% гентамицина (50 мг/мл) и 2 mM L-глутамина. Клетки Vero, полученные из ECACC, суспендировали в среде для культивирования и добавляли по 25 мкл в 384-луночные планшеты (2500 клеток/луночка), которые уже содержали противовирусные соединения. Как правило, эти планшеты содержали 5-кратное серийное разбавление, состоящее из 9 стадий разбавления тестируемого соединения при 200-кратной конечной концентрации в 100% DMSO (200 нл). Кроме того, концентрацию каждого соединения тестировали в четырех параллельных анализах (диапазон конечной концентрации: 25-0,000064 мкМ или 2,5-0,000064 мкМ для наиболее активных соединений). Наконец, каждый планшет содержал лунки, которые предназначались для контролей с вирусом (содержащих клетки и вирус в отсутствие соединения), контролей с клетками (содержащих клетки в отсутствие вируса и соединения) и контролей со средой (содержащих среду в отсутствие клеток, вируса и соединений). В лунки, которые предназначались для контролей со средой, добавляли 25 мкл среды для культивирования вместо клеток Vero. После того, как клетки добавляли в планшеты, планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, что позволило клеткам равномерно распределиться в лунках. Далее планшеты инкубировали в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) до следующего дня. Затем штамм 16681 DENV-2, меченый eGFP, добавляли из расчета множественности заражения (MOI), со-

ставляющей 0,5. Таким образом, по 15 мкл суспензии с вирусом добавляли во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и в лунки, которые предназначались для контроля 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% CO<sub>2</sub>). В день проведения считывания флуоресценцию eGFP измеряли с применением автоматизированного флуоресцентного микроскопа при 488 нм (голубой лазер). Применяя внутрилабораторную систему LIMS, для каждого соединения рассчитывали кривые зависимости ингибирования от дозы и определяли полумаксимальную эффективную концентрацию (EC<sub>50</sub>). Таким образом, для каждой тестируемой концентрации рассчитывали процент ингибирования (I) с применением следующей формулы:  $I=100 \cdot (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$ ; при этом S<sub>T</sub>, S<sub>CC</sub> и S<sub>VC</sub> представляют собой количества сигнала eGFP в тестируемом соединении, лунках клеточного контрольного образца и вирусного контрольного образца соответственно. EC<sub>50</sub> 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 EC<sub>50</sub> с применением линейной интерполяции (таблица 1).

Одновременно оценивали токсичность соединений на тех же планшетах. После считывания сигнала eGFP во все лунки 384-луночных планшетов добавляли 40 мкл ATPlite, красителя, показывающего жизнеспособность клеток. АТФ присутствует во всех метаболически активных клетках, и когда клетки подвергаются некрозу или апоптозу, его уровень очень резко снижается. Система анализа ATPlite основана на выработке света, вызванной реакцией АТФ с добавленной люциферазой и D-люциферин. Планшеты инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем планшеты измеряли на ViewLux. Также определяли полумаксимальную цитотоксическую концентрацию (CC<sub>50</sub>), что соответствует концентрации, требуемой 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. EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> и SI для соединений по настоящему изобретению в анализе противовирусной активности в отношении DENV-2

| № соединения | EC <sub>50</sub> |    | CC <sub>50</sub> |    | SI      |    |
|--------------|------------------|----|------------------|----|---------|----|
|              | (мкМ)            | N  | (мкМ)            | N  |         | N  |
| 1            | 0,0021           | 4  | >25              | 4  | >12022  | 4  |
| 1A           | 0,18             | 3  | >25              | 3  | >76     | 3  |
| 1B           | 0,00084          | 3  | 20               | 3  | 26500   | 3  |
| 2            | 0,00055          | 3  | 12               | 4  | 22200   | 3  |
| 2A           | 0,056            | 3  | 14               | 3  | 248     | 3  |
| 2B           | 0,00024          | 3  | 20               | 3  | 214720  | 3  |
| 3            | 0,00048          | 3  | 13               | 5  | 20300   | 3  |
| 3A           | 0,0039           | 6  | 11               | 7  | 3200    | 6  |
| 3B           | 0,00014          | 8  | 13               | 8  | 111100  | 8  |
| 4            | 0,00015          | 4  | 10               | 4  | >46100  | 4  |
| 4A           | 0,031            | 7  | 10               | 8  | 345     | 7  |
| 4B           | 0,00012          | 23 | 13               | 23 | 92400   | 23 |
| 5            | 0,00062          | 3  | 13               | 3  | 26000   | 3  |
| 5A           | 0,019            | 3  | 12               | 3  | 625     | 3  |
| 5B           | 0,00018          | 3  | 13               | 3  | 87500   | 3  |
| 6            | 0,00031          | 6  | 12               | 7  | 32100   | 6  |
| 6A           | 0,023            | 3  | 12               | 3  | 527     | 3  |
| 6B           | 0,00013          | 5  | 13               | 5  | >209126 | 5  |
| 7            | 0,00047          | 3  | 12               | 3  | 24500   | 3  |
| 7A           | 0,024            | 3  | 12               | 3  | 508     | 3  |
| 7B           | 0,00017          | 3  | 13               | 3  | 101083  | 3  |
| 8            | 0,00013          | 3  | 12               | 3  | 112292  | 3  |
| 8A           | 0,28             | 4  | 12               | 4  | 43      | 4  |
| 8B           | 0,000066         | 6  | 14               | 7  | >62700  | 6  |
| 9            | 0,00096          | 3  | 11               | 3  | 12700   | 3  |
| 9A           | 0,031            | 3  | 12               | 3  | 392     | 3  |
| 9B           | 0,00040          | 3  | 13               | 3  | 28400   | 3  |
| 10           | 0,00024          | 3  | 10               | 3  | 44300   | 3  |
| 10A          | 0,00019          | 3  | 13               | 3  | 79200   | 3  |
| 10B          | 0,0055           | 3  | 8,8              | 3  | 1620    | 3  |
| 11           | 0,00066          | 3  | 11               | 3  | 20600   | 3  |
| 11A          | 0,015            | 3  | 12               | 3  | 837     | 3  |
| 11B          | 0,00015          | 3  | 12               | 3  | 124345  | 3  |
| 12           | 0,00073          | 4  | 12               | 4  | 17700   | 4  |
| 12A          | 0,38             | 3  | 12               | 3  | 32      | 3  |
| 12B          | 0,00035          | 3  | 12               | 3  | 34900   | 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. В связи с этим, клетки Vero инфицировали одним из DENV-1, или -2, или -3, или -4, в присутствии или в отсутствие тестируемых соединений. В день 3 после инфицирования клетки лизировали и клеточные лизаты использовали для получения кДНК как для вируса-мишени (3'UTR DENV; табл. 2), так и эталонного гена клетки ( $\beta$ -актина, табл. 2). Затем осуществляли дуплексную ПЦР в режиме реального времени на приборе Lightcycler480. Полученное значение  $C_p$  является обратно пропорциональным количеству экспрессируемой 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  $\beta$ -актина. Для расчета  $EC_{50}$  применяют сравнительный способ ААС $_p$ , который основан на относительной генной экспрессии гена-мишени (3'UTR), нормализованной по конститутивному гену клетки ( $\beta$ -актину). Кроме того, определяли значения  $CC_{50}$  на основании значений  $C_p$ , полученных для конститутивного гена  $\beta$ -актина.

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

| Праймер/зонд | Мишень         | Последовательность <sup>a, b</sup>                                          |
|--------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| F3utr258     | DENV 3'-UTR    | 5'-CGGT TAGAGGAGACCCCTC-3'                                                  |
| R3utr425     | DENV 3'-UTR    | 5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'                                                 |
| P3utr343     | DENV 3'-UTR    | <b>FAM</b> -5'-AAGGACTAG- <b>ZEN</b> -AGGT TAGAGGAGACCCCC-3'- <b>IABkFQ</b> |
| Factin743    | $\beta$ -актин | 5'-GGCCAGGTCATCACCATT-3'                                                    |
| Ractin876    | $\beta$ -актин | 5'-ATGTCCACGTCACACTTCATG-3'                                                 |
| Pactin773    | $\beta$ -актин | <b>HEX</b> -5'-TTCCGCTGC- <b>ZEN</b> -CCTGAGGCTCTC-3'- <b>IABkFQ</b>        |

<sup>a</sup> Элементы, представляющие собой репортерные красители (FAM, HEX) и гасители люминесценции (ZEN и IABkFQ), выделены жирным и курсивом.

<sup>b</sup> 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 с помощью 2% термически инактивированной эмбриональной 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 в 96-луночные планшеты (10000 клеток/лунка), которые уже содержали противовирусные соединения. Как правило, такие планшеты содержали 5-кратные серийные разбавления из 9 стадий разбавления тестируемого соединения при 200-кратной конечной концентрации в 100% DMSO (500 нл; диапазон конечной концентрации: 25-0,000064 мкМ или 2,5-0,0000064 мкМ для наиболее активных соединений). Кроме того, каждый планшет содержал лунки, которые предназначались для контролей с вирусом (содержащих клетки и вирус в отсутствие соединения) и контролей с клетками (содержащих клетки в отсутствие вируса и соединения). После добавления в планшеты клеток планшеты инкубировали в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) до следующего дня. Серотипы 1, -2, -3 и -4 вируса денге разбавляли с целью получения в анализе  $C_p$  ~22-24. Таким образом, по 25 мкл суспензии с вирусом добавляли во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и в лунки, которые предназначались для контроля с вирусом. Одновременно в контроли с клетками добавляли по 25 мкл среды для культивирования. Далее планшеты инкубировали в течение 3 дней в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO<sub>2</sub>). 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<sup>TM</sup> согласно инструкциям производителя (Life Technologies). Клеточные лизаты можно хранить при -80°C или сразу же применять на стадии обратной транскрипции.

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

Наконец, получали смесь С (табл. 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 согласно условиям в табл. 4В.

Применяя программное обеспечение LightCycler и внутрилабораторную систему LIMS, для каждого соединения рассчитывали кривые зависимости эффекта от дозы и определяли полумаксимальную эффективную концентрацию ( $EC_{50}$ ) и полумаксимальную цитотоксическую концентрацию ( $CC_{50}$ ) (табл. 5-8).

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

|                         |                          |                   |          |          |                                |
|-------------------------|--------------------------|-------------------|----------|----------|--------------------------------|
| А                       | Планшеты                 | 8                 |          |          |                                |
|                         | Образцы                  | 828               |          |          | Об. реакционной смеси (мкл) 20 |
|                         | Элемент смеси            | Концентрация      |          |          | Объем (мкл)                    |
|                         |                          | Единица измерения | Исходная | Конечная | 1 образец х образцов           |
|                         | Milli-Q H <sub>2</sub> O |                   |          |          | 7,27 6019,56                   |
|                         | R3utr425                 | мкМ               | 20       | 0,27     | 0,15 124,20                    |
|                         | Ractin876                | мкМ               | 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 |

#### Смесь В

|   |                      |                   |          |          |                      |
|---|----------------------|-------------------|----------|----------|----------------------|
| С | 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 <sub>2</sub>    | 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 Mi (мкл) |                   |          |          | 7,43                 |

#### D Протокол синтеза кДНК

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

Таблица 4. Смесь для qPCR и протокол

|                                   |                      |          |          |                                      |               |
|-----------------------------------|----------------------|----------|----------|--------------------------------------|---------------|
| <b>А Смесь С</b>                  |                      |          |          |                                      |               |
| Образцы                           | 833                  |          |          | Об.<br>реакционной<br>смеси<br>(мкл) | 25            |
| Элемент смеси                     | Концентрация         |          |          | Объем (мкл)                          |               |
|                                   | Единица<br>измерения | Исходная | Конечная | 1 образец                            | х<br>образцов |
| H <sub>2</sub> 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<br>смеси/пробирка (мкл)     |                      |          |          | 22,02                                |               |
| кДНК                              |                      |          |          | 3,00                                 |               |

## Протокол

**В qPCR3**

| Стадия                           | Температура | Время   | Скорость<br>изменения |           |
|----------------------------------|-------------|---------|-----------------------|-----------|
| Предварительная<br>инкуб./денат. | 95°C        | 10 мин. | 4,4                   |           |
| Денатурация                      | 95°C        | 10 с    | 4,4                   | 40 циклов |
| Отжиг                            | 58°C        | 1 мин.  | 2,2                   |           |
| Элонгация                        | 72°C        | 1 с     | 4,4                   |           |
| Охлаждение                       | 40°C        | 10 с    | 1,5                   |           |

Таблица 5. EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> и SI для соединений против серотипа 1 в анализах RT-qPCR

| №<br>соединения | Протокол А                   |   |                        |   |        |   |
|-----------------|------------------------------|---|------------------------|---|--------|---|
|                 | RT-qPCR TC974#666 серотипа 1 |   |                        |   |        |   |
|                 | EC <sub>50</sub> (мкМ)       | N | CC <sub>50</sub> (мкМ) | N | SI     | N |
| 1B              | 0,00028                      | 4 | 14                     | 4 | 34200  | 4 |
| 2B              | 0,00030                      | 4 | >2,5                   | 4 | >19400 | 4 |
| 3B              | 0,00018                      | 3 | >2,5                   | 3 | >30300 | 3 |
| 4B              | 0,000048                     | 7 | >2,5                   | 7 | >85800 | 7 |
| 5B              | 0,00074                      | 4 | >2,5                   | 4 | >6700  | 4 |
| 6B              | 0,00047                      | 3 | >2,5                   | 3 | >8420  | 3 |
| 7B              | 0,00061                      | 3 | >2,5                   | 3 | >6020  | 3 |
| 8B              | 0,00015                      | 4 | >2,5                   | 4 | >30700 | 4 |
| 9B              | 0,00022                      | 4 | >2,5                   | 4 | >24000 | 4 |
| 10A             | 0,00016                      | 4 | >2,5                   | 4 | >33300 | 4 |
| 11B             | 0,00067                      | 4 | >2,5                   | 4 | >6970  | 4 |
| 12B             | 0,00068                      | 3 | >2,5                   | 3 | >6820  | 3 |

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Таблица 6. EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> и SI для соединений против серотипа 2 в анализах RT-qPCR

| №<br>соединения | Протокол А               |   |                        |   |        |   |
|-----------------|--------------------------|---|------------------------|---|--------|---|
|                 | RT-qPCR 16681 серотипа 2 |   |                        |   |        |   |
|                 | EC <sub>50</sub> (мкМ)   | N | CC <sub>50</sub> (мкМ) | N | SI     | N |
| 1B              | 0,00048                  | 4 | 18                     | 3 | 38000  | 3 |
| 2B              | 0,00028                  | 3 | 14                     | 3 | 76100  | 3 |
| 3B              | 0,00012                  | 3 | 10                     | 3 | 81700  | 3 |
| 4B              | 0,000060                 | 7 | >2,5                   | 5 | >65500 | 5 |
| 5B              | 0,00017                  | 3 | >2,5                   | 3 | >16000 | 3 |
| 6B              | 0,00015                  | 3 | >2,5                   | 3 | >23800 | 3 |
| 7B              | 0,00028                  | 4 | >2,5                   | 4 | >34500 | 4 |
| 8B              | 0,000062                 | 3 | >2,5                   | 3 | >43700 | 3 |
| 9B              | 0,00030                  | 3 | >2,5                   | 3 | >18200 | 3 |
| 10A             | 0,00020                  | 3 | >2,5                   | 3 | >24400 | 3 |
| 11B             | 0,00017                  | 3 | >2,5                   | 3 | >18300 | 3 |
| 12B             | 0,00022                  | 3 | >2,5                   | 3 | >12900 | 3 |

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Таблица 7. EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> и SI для соединений против серотипа 3 в анализах RT-qPCR

| №<br>соединения | Протокол А             |   |                        |   |       |   |
|-----------------|------------------------|---|------------------------|---|-------|---|
|                 | RT-qPCR H87 серотипа 3 |   |                        |   |       |   |
|                 | EC <sub>50</sub> (мкМ) | N | CC <sub>50</sub> (мкМ) | N | SI    | N |
| 1B              | 0,0034                 | 3 | >2,5                   | 3 | >909  | 3 |
| 2B              | 0,0046                 | 3 | >2,5                   | 3 | >1200 | 3 |
| 3B              | 0,0011                 | 3 | >2,5                   | 3 | >5170 | 3 |
| 4B              | 0,00066                | 7 | >2,5                   | 6 | >5610 | 6 |
| 5B              | 0,0046                 | 3 | >2,5                   | 3 | >1050 | 3 |
| 6B              | 0,0017                 | 3 | >2,5                   | 3 | >2170 | 3 |
| 7B              | 0,0058                 | 3 | >2,5                   | 3 | >1080 | 3 |
| 8B              | 0,0010                 | 3 | >2,5                   | 3 | >2740 | 3 |
| 9B              | 0,0041                 | 3 | >2,5                   | 3 | >1360 | 3 |
| 10A             | 0,0021                 | 3 | >2,5                   | 3 | >1290 | 3 |
| 11B             | 0,0054                 | 3 | >2,5                   | 3 | >604  | 3 |
| 12B             | 0,0041                 | 3 | >2,5                   | 3 | >1240 | 3 |

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

Таблица 8. EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> и SI для соединений против серотипа 4 в анализах RT-qPCR

| №<br>соединения | Протокол А              |    |                        |   |      |   |
|-----------------|-------------------------|----|------------------------|---|------|---|
|                 | RT-qPCR H241 серотипа 4 |    |                        |   |      |   |
|                 | EC <sub>50</sub> (мкМ)  | N  | CC <sub>50</sub> (мкМ) | N | SI   | N |
| 1B              | 0,051                   | 4  | 8,3                    | 3 | 173  | 3 |
| 2B              | 0,030                   | 4  | 9,5                    | 4 | 587  | 4 |
| 3B              | 0,014                   | 3  | 1,2                    | 3 | 85   | 3 |
| 4B              | 0,011                   | 10 | 9,1                    | 9 | 682  | 9 |
| 5B              | 0,024                   | 3  | 9,6                    | 3 | 530  | 3 |
| 6B              | 0,016                   | 3  | >2,5                   | 3 | >232 | 3 |
| 7B              | 0,025                   | 3  | 9,4                    | 3 | 531  | 3 |
| 8B              | 0,012                   | 3  | 5,8                    | 3 | 334  | 3 |
| 9B              | 0,031                   | 3  | 15                     | 3 | 570  | 3 |
| 10A             | 0,010                   | 3  | 15                     | 2 | 2640 | 2 |
| 11B             | 0,022                   | 3  | 11                     | 3 | 697  | 3 |
| 12B             | 0,028                   | 3  | 10                     | 3 | 348  | 3 |

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

## Примеры из уровня техники

Соединения (56) и (170), раскрытые в документе WO-2013/045516, тестировали в аналогичном для соединений по настоящему изобретению анализе противовирусной активности в отношении DENV-2, и их сообщенная активность приведена ниже.

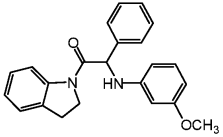
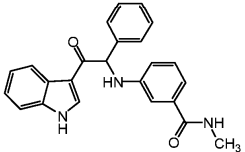
|                                                                                   |                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|
|  | соединение (56) из документа WO-2013/045516  |
|  | соединение (170) из документа WO-2013/045516 |

Таблица 9. EC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> и SI для соединений (56) и (170), раскрытых в анализе противовирусной активности в отношении DENV-2

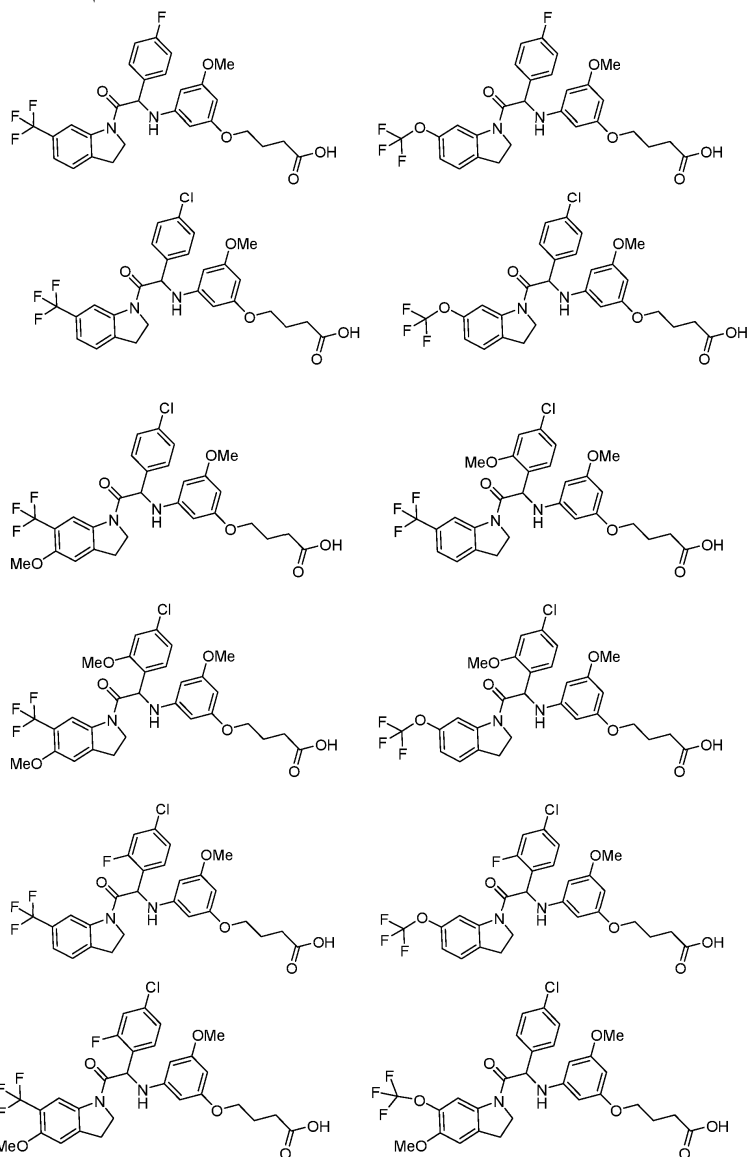
| № соединения                      | EC <sub>50</sub> (мкМ) | CC <sub>50</sub> (мкМ) | SI    |
|-----------------------------------|------------------------|------------------------|-------|
| (56) из документа WO-2013/045516  | 0,45                   | > 139                  | > 312 |
| (170) из документа WO-2013/045516 | 0,44                   | 26                     | 58    |

## Сокращения, использованные в экспериментальной части

| (M+H) <sup>+</sup>              | протонированный молекулярный ион           | iPrNH <sub>2</sub>              | изопропиламин            |
|---------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| водн.                           | водный                                     | IprOH                           | 2-пропанол               |
| Boc                             | трет-бутилоксикарбонил                     | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>  | карбонат калия           |
| Boc <sub>2</sub> O              | ди-трет-бутилдикарбонат                    | K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>  | ортофосфат калия         |
| br                              | широкий                                    | LiAlH <sub>4</sub>              | алюмогидрид лития        |
| CH <sub>3</sub> CN              | ацетонитрил                                | масса/заряд                     | отношение массы к заряду |
| CHCl <sub>3</sub>               | хлороформ                                  | Me                              | метил                    |
| CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> | дихлорметан                                | MeOH                            | метанол                  |
| CO <sub>2</sub>                 | диоксид углерода                           | MgSO <sub>4</sub>               | сульфат магния           |
| d                               | дуплет                                     | мин.                            | минута (минуты)          |
| DCM                             | дихлорметан                                | N <sub>2</sub>                  | азот                     |
| DIEA                            | диизопропилэтиламин                        | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | карбонат натрия          |
| DTPF                            | диизопропиловый эфир                       | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | сульфат натрия           |
| DMA                             | диметилацетамид                            | NaBH <sub>4</sub>               | боргидрид натрия         |
| DMAP                            | 4-диметиламинопиридин                      | NaHCO <sub>3</sub>              | бикарбонат натрия        |
| DME                             | 1,2-диметоксиэтан                          | NaNO <sub>2</sub>               | нитрит натрия            |
| DMF                             | диметилформамид                            | NaOH                            | гидроксид натрия         |
| DMSO                            | диметилсульфоксид                          | q                               | квартет                  |
| экв.                            | эквивалент                                 | rt или R <sup>t</sup>           | комнатная температура    |
| Et <sub>2</sub> O               | диэтиловый эфир                            | s                               | синглет                  |
| Et <sub>3</sub> N               | триэтиламин                                | t                               | триплет                  |
| EtOAc                           | этилацетат                                 | tBuOH                           | трет-бутанол             |
| EtOH                            | этанол                                     | TEA                             | триэтиламин              |
| H <sub>2</sub> O                | вода                                       | TFA                             | трифторуксусная кислота  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | серная кислота                             | THF                             | тетрагидрофуран          |
| HCl                             | хлористоводородная кислота                 | TMSCl                           | триметилсилилхлорид      |
| HPLC                            | высокоэффективная жидкостная хроматография |                                 |                          |

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, его стереоизмерная форма или фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбрано из группы, состоящей из



2. Фармацевтическая композиция для лечения вирусных инфекций денге, содержащая соединение по п.1 или его стереоизмерную форму или фармацевтически приемлемую соль вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

3. Применение соединения по п.1 или его стереоизмерной формы или фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге.

4. Применение фармацевтической композиции по п.2 в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге.

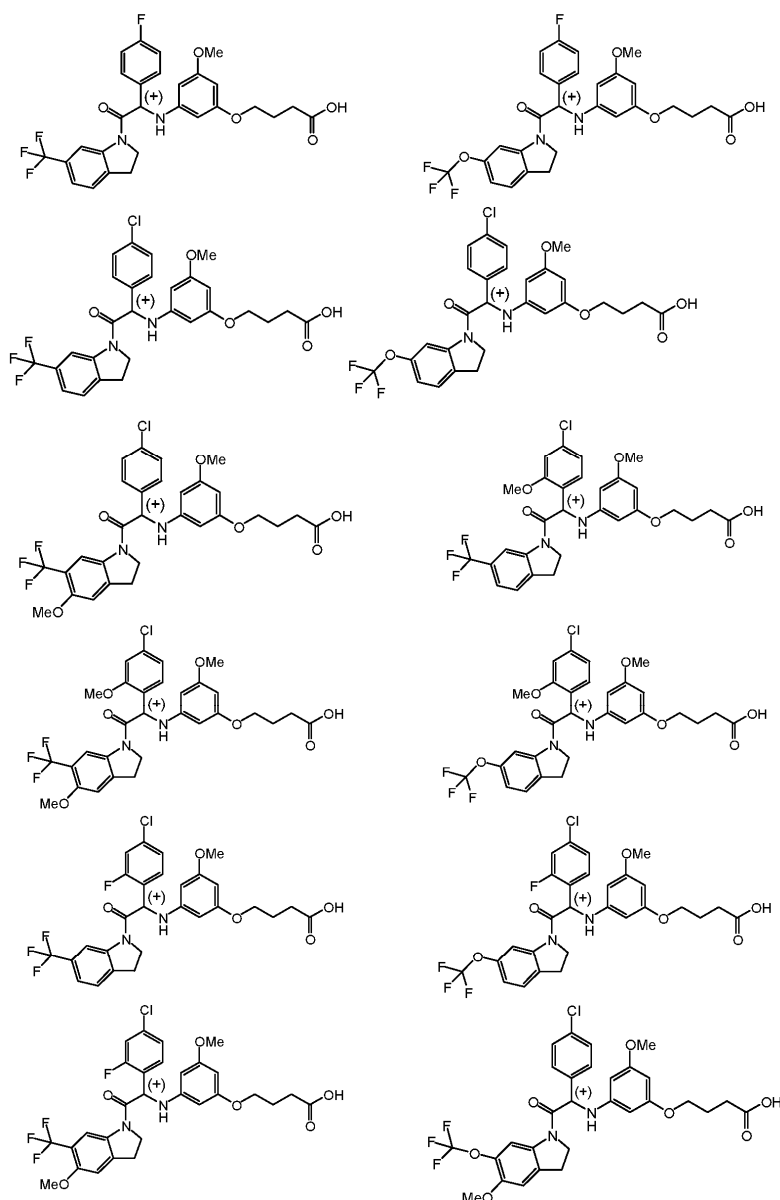
5. Применение соединения по п.1 или его стереоизмерной формы или фармацевтически приемлемой соли для лечения вирусных инфекций денге.

6. Применение фармацевтической композиции по п.2 для лечения вирусных инфекций денге.

7. Применение соединения по п.1, его стереоизмерной формы или фармацевтически приемлемой соли для ингибирования репликации вируса(-ов) денге в биологическом образце или у пациента.

8. Применение соединения по п.7, дополнительно предусматривающее совместное введение дополнительного терапевтического средства, где указанное дополнительное терапевтическое средство выбрано из противовирусного средства, или вакцины против вируса денге, или их обоих.

9. Соединение по п.1, где соединение представляет собой



или его фармацевтически приемлемую соль.

10. Фармацевтическая композиция для лечения вирусных инфекций денге, содержащая соединение по п.9 или его фармацевтически приемлемую соль вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

11. Применение соединения по п.9 или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге.

12. Применение фармацевтической композиции по п.10 в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций денге.

13. Применение соединения по п.9 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения вирусных инфекций денге.

14. Применение фармацевтической композиции по п.10 для лечения вирусных инфекций денге.

15. Применение соединения по п.9 или его фармацевтически приемлемой соли для ингибирования репликации вируса(-ов) денге в биологическом образце или у пациента.

16. Применение по п.15, дополнительно включающее совместное введение дополнительного терапевтического средства, где указанное дополнительное терапевтическое средство выбрано из противовирусного средства, или вакцины против вируса денге, или их обоих.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2