

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039784**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.03.14

(21) Номер заявки
201992329

(22) Дата подачи заявки
2018.03.29

(51) Int. Cl. **C07D 403/12** (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

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

(31) 17164048.5

(32) 2017.03.31

(33) EP

(43) 2020.02.29

(86) PCT/EP2018/058079

(87) WO 2018/178240 2018.10.04

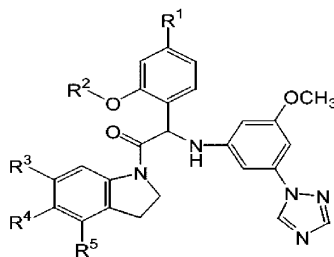
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЯНССЕН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,
ИНК. (US); КАТОЛИКЕ
УНИВЕРСИТЕЙТ ЛЕВЕН (BE)**

(56) WO-A1-2013045516
WO-A1-2014154682

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

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

(57) Настоящее изобретение относится к замещенным производным индолина формулы (I), фармацевтической композиции на их основе, а также к применению указанных соединений в качестве лекарственного препарата, более предпочтительно для применения в качестве лекарственного препарата для лечения или предупреждения вирусных инфекций денге.



(I)

039784 B1

039784

B1

Настоящее изобретение относится к замещенным производным индолина, фармацевтической композиции на их основе, а также к применению указанных соединений в качестве лекарственного препарата, более предпочтительно для применения в качестве лекарственного препарата для лечения или предупреждения 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 лихорадки 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 людей, а особенно вирусных инфекций, вызванных флавивирусами, более конкретно вирусом денге. Крайне необходимыми 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.

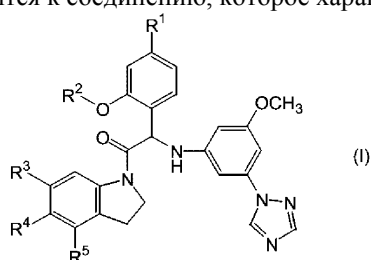
В документе WO 2010/021878 раскрыты производные 2-фенилпирролидина и индолина в качестве антагонистов Холодовых рецепторов для лечения воспалительных заболеваний и заболеваний центральной нервной системы. В документе WO 2013/045516 раскрыты производные индола и индолина для применения при лечении вирусных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

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

Краткое описание изобретения

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

Настоящее изобретение относится к соединению, которое характеризуется формулой (I),



где:

R¹ представляет собой хлор или фтор,

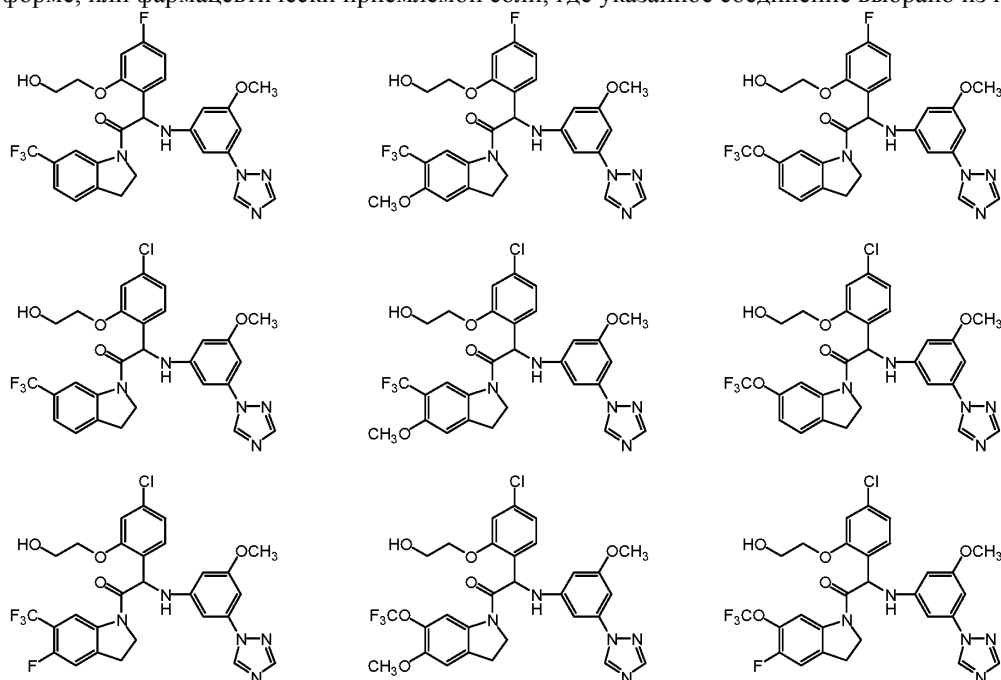
R² представляет собой -CH₂CH₂OH или C₃₋₅-алкил COOH;

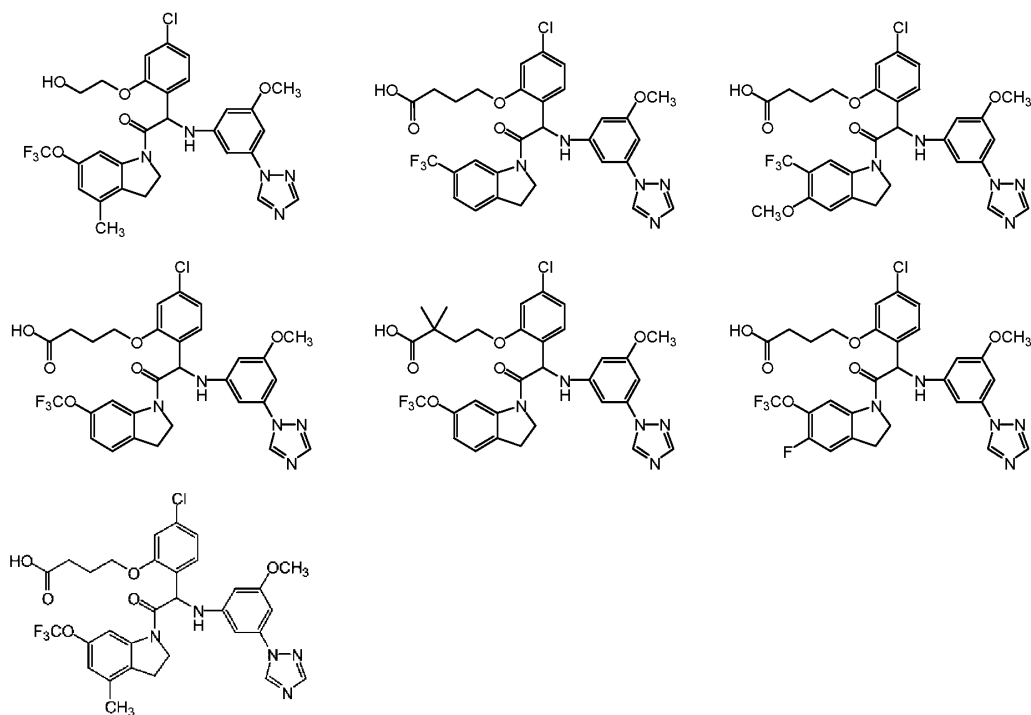
R³ представляет собой трифторметил или трифторметокси;

R⁴ представляет собой водород, фтор или метокси; и

R⁵ представляет собой водород или метил;
или его фармацевтически приемлемой соли.

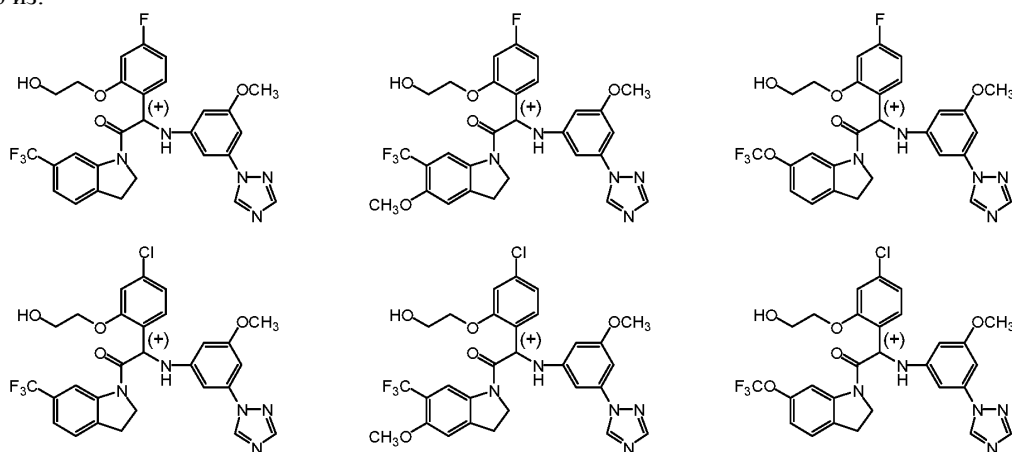
В предпочтительном варианте настоящее изобретение относится к соединению или его стереоизомерной форме, или фармацевтически приемлемой соли, где указанное соединение выбрано из группы:

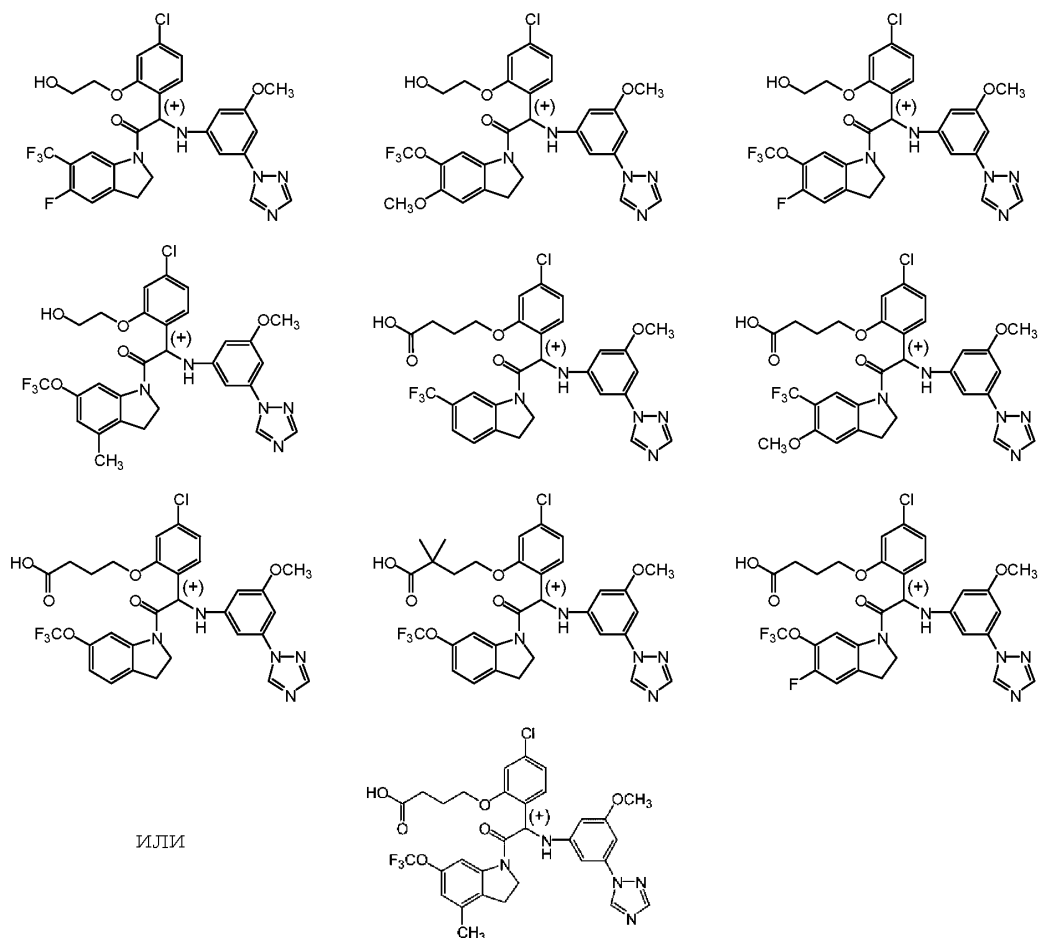




В еще одном предпочтительном варианте предложенное в настоящем изобретении соединение характеризуется (+) удельным вращением.

В еще одном предпочтительном варианте настоящее изобретение относится к соединению, которое выбрано из:





Еще одним аспектом настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая любое из указанных выше соединений вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.

В предпочтительном варианте фармацевтическая композиция содержит дополнительный активный ингредиент, который предпочтительно представляет собой противовирусное средство.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является применение любого указанного выше соединения формулы (I) в качестве лекарственного препарата.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является применение любого указанного выше соединения формулы (I) для лечения инфекции денге и для предупреждения или лечения заболевания, ассоциированного с инфекцией денге.

В предпочтительном варианте инфекция денге представляет собой инфекцию, вызванную вирусами штамма DENV-1, DENV-2, DENV-3 или DENV-4.

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.

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

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 (соединений) по настоящему изобретению. Выбор наполнителя в большой степени зависит от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние наполнителя на растворимость и стабильность и природа лекарственной формы.

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 любое 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.

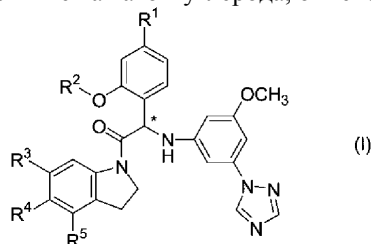
Указанная смесь может содержать все диастереомеры и/или энантиомеры с основной молекулярной структурой указанного соединения. Подразумевается, что все стереохимически изомерные формы соединений, применяемых в настоящем изобретении либо в чистом виде, либо в смеси друг с другом, включены в объем настоящего 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 формулы (I) 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 формулы (I)" может представлять собой (R)-энантиомер, (S)-энантиомер, рацемическую форму или любую возможную комбинацию двух отдельных энантиомеров в любом соотношении. Если абсолютная (R)- или (S)-конфигурация энантиомера неизвестна, 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 формулы (I), где соединения формулы (I) характеризуются (+) удельным вращением.

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

Примеры

Способы LC/MS.

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

Поток из колонки направляли в масс-спектрометр (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 гибрид этилсилоксана/диоксида кремния, "DAD" означает детектор на диодной матрице, "HSS" означает диоксид кремния повышенной прочности.

Условные обозначения 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	Скорость потока _____ Т колонки	Время анализа (мин.)
LC-A	Waters: Acquity® UPLC® – DAD– Quattro Micro™	Waters: BEH® C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7мМ/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	От 84,2% А в течение 0,49 мин. до 10,5% А за 2,18 мин., удерживание в течение 1,94 мин., обратно до 84,2% А за 0,73 мин.,	0,343 мл/мин _____ 40°C	6,2
				удерживание в течение 0,73 мин.		
LC-B	Waters: Acquity® H-Class – DAD и SQD2™	Waters: BEH® C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7мМ/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	От 84,2% А/15,8% В до 10,5% А за 2,18 мин., удерживание в течение 1,96 мин., обратно до 84,2% А/15,8% В за 0,73 мин., удерживание в течение 0,49 мин.	0,343 мл/мин _____ 40°C	6,1
LC-C	Waters: Acquity® UPLC® – DAD–SQD	Waters: BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×50 мм)	A: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	От 95% А до 5% А за 1,3 мин., удерживание в течение 0,7 мин.	0,8 мл/мин _____ 55°C	2
LC-D	Waters: Acquity® UPLC® – DAD–SQD	Waters: HSS T3 (1,8 мкм, 2,1×100 мм)	A: 10 мМ CH ₃ COONH ₄ в 95% H ₂ O+5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	От 100% А до 5% А за 2,10 мин., до 0% А за 0,90 мин., до 5% А за 0,5 мин.	0,7 мл/мин _____ 55°C	3,5

Способы SFC/MS.

Измерения в ходе SFC проводили с применением аналитической системы сверхкритической жидкостной хроматографии, укомплектованной насосом для двухкомпонентных смесей для доставки диоксида углерода (CO₂) и модификатора, автоматическим дозатором, термостатом для колонок, детектором на диодной матрице, оснащенный проточной кюветой для работы под высоким давлением, выдерживающей значения не более 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 обозначение способа	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Скорость потока	Время анализа
				Т колонки	— BPR
SFC–A	Колонка IA Daicel Chiralpak® (5 мкм, 150×4,6 мм)	A:CO ₂ B: EtOH (+0,3% iPrNH ₂)	30% B, удерживание 7 мин.,	3	7
				35	100
SFC–B	Колонка Daicel Chiralpak® AD–H (5 мкм, 150×4,6 мм)	A:CO ₂ B: EtOH (+0,3% iPrNH ₂)	30% B, удерживание 7 мин.,	3	7
				35	100
SFC–C	Колонка Daicel Chiralpak® AD–H (5 мкм, 150×4,6 мм)	A:CO ₂ B: EtOH (+0,3% iPrNH ₂)	40% B, удерживание 7 мин.,	3	7
				35	100
SFC–D	Колонка IC Daicel Chiralpak® (5 мкм, 150×4,6 мм)	A:CO ₂ B: iPrOH (+0,3% iPrNH ₂)	25% B, удерживание 7 мин.,	3	7
				35	100
SFC–E	Колонка IC Daicel Chiralpak® (5 мкм, 150×4,6 мм)	A:CO ₂ B: iPrOH (+0,3% iPrNH ₂)	30% B, удерживание 7 мин.,	3	7
				35	100
SFC–F	Колонка Daicel Chiralpak® AD–3 (3 мкм, 100×4,6 мм)	A:CO ₂ B: iPrOH (+0,3% iPrNH ₂)	30% B, удерживание 3 мин.,	3,5	3
				35	103
SFC–G	Колонка Daicel Chiralpak® AD–H (5 мкм, 150×4,6 мм)	A:CO ₂ B: EtOH	30% B, удерживание 7 мин.,	3	7
				35	100
SFC–H	Колонка Daicel	A:CO ₂	20% B,	3,5	10

	Chiralpak® AS-3 (3 мкм, 100×4,6 мм)	В: iPrOH (+0,3% iPrNH ₂)	удерживание 10 мин.,	— 35	— 103
SFC-I	Колонка Daicel Chiralpak® AS-3 (3 мкм, 100×4,6 мм)	A: CO ₂ В: EtOH (+0,3% iPrNH ₂)	10% В, удерживание 10 мин.,	3,5 — 35	10 — 103
SFC-J	Колонка Daicel Chiralcel® OD-3 колонка (3 мкм, 100×4,6 мм)	A: CO ₂ В: MeOH (+0,3% iPrNH ₂)	20% В, удерживание 6 мин.,	3,5 — 35	6 — 103
SFC-K	Колонка Daicel Chiralpak® AS3 (3,0 мкм, 150×4,6 мм)	A: CO ₂ В: EtOH (+0,2% iPrNH ₂ +3% H ₂ O)	10% – 50% В за 6 мин., удерживание 3,5 мин.	2,5 — 40	9,5 — 110

Значения температуры плавления.

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

DSC823e (обозначен как DSC).

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

Углы оптического вращения.

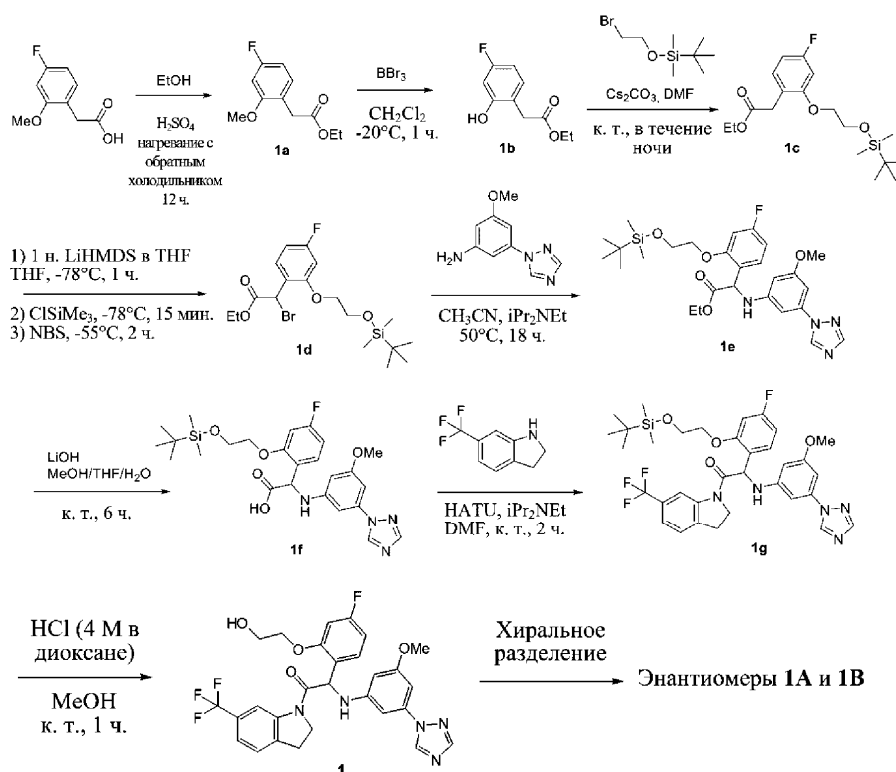
Углы оптического вращения измеряли на поляриметре Perkin-Elmer 341 с натриевой лампой и обозначали следующим образом: $[\alpha]^\circ (\lambda, c \text{ в г/100 мл, растворитель, } T \text{ в } ^\circ\text{C})$.

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

Сокращения, использованные в экспериментальной части

(M+H) ⁺	протонированный	HCl	хлористоводородная
	молекулярный ион		кислота
водн.	водный	HPLC	высокоэффективная жидкостная хроматография
Boc	трет-бутилоксикарбонил	iPrNH ₂	изопропиламин
Boc ₂ O	ди-трет- бутилдикарбонат	iPrOH	2-пропанол
br	широкий	K ₂ CO ₃	карбонат калия
CH ₃ CN	ацетонитрил	LiAlH ₄	алюмогидрид лития
CHCl ₃	хлороформ	масса/з	отношение массы к аряду
CH ₂ Cl ₂	дихлорметан	Me	метил
CH ₃ OH	метанол	MeOH	метанол
CO ₂	диоксид углерода	MgSO ₄	сульфат магния
d	дуплет	мин.	минута (минуты)
DCM	дихлорметан	N ₂	азот
DIEA	диизопропилэтиламин	Na ₂ CO ₃	карбонат натрия
DIPE	диизопропиловый эфир	Na ₂ SO ₄	сульфат натрия
DMA	диметилацетамид	NaBH ₄	боргидрид натрия
DMAP	4-диметиламинопиридин	NaHCO ₃	бикарбонат натрия
DME	1,2-диметоксиэтан	NaOH	гидроксид натрия
DMF	диметилформамид	NH ₄ Cl	хлорид аммония
DMSO	диметилсульфоксид	q	квартет
экв.	эквивалент	к. т.	комнатная температура
		или К.	
		Т.	
Et ₂ O	диэтиловый эфир	s	синглет
Et ₃ N	триэтиламин	t	триплет
EtOAc	этилацетат	tBuOK	трет-бутоксид калия
EtOH	этанол	TEA	триэтиламин
H ₂ O	вода	TFA	трифторуксусная кислота
H ₂ SO ₄	серная кислота	THF	тетрагидрофуран
HATU	O-(7-аза-1H- бензотриазол-1-ил)- N,N,N',N'- тетраметилурония гексафторфосфат - CAS [148893-10-1]	TMSCl	триметилсилилхлорид

Пример 1. Синтез 2-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона (соединение 1) и хиральное разделение на энантиомеры 1A и 1B.



Синтез промежуточного соединения 1a.

Раствор 4-фтор-2-метоксифенилуксусной кислоты [CAS 886498-61-9] (10 г, 54,3 ммоль) в EtOH (200 мл) и H₂SO₄ (2 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 12 ч. Добавляли воду и смесь концентрировали при пониженном давлении до половины исходного объема. Добавляли лед. Повышали основность раствора с помощью K₂CO₃ и его экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-(4-фтор-2-метоксифенил)ацетата 1a (11,6 г). Соединение применяли непосредственно на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 1b.

1 М раствор трибромида бора в CH₂Cl₂ (109,3 мл, 109,3 ммоль) добавляли по каплям к раствору этил-2-(4-фтор-2-метоксифенил)ацетата 1a (11,6 г, 54,7 ммоль) в CH₂Cl₂ (300 мл) при -30°C. Реакционную смесь перемешивали при -20°C в течение 1 ч, а затем гасили с помощью CH₃OH. pH регулировали до 8 путем добавления насыщенного водного раствора NaHCO₃. Раствор экстрагировали с помощью CH₂Cl₂ и объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-(4-фтор-2-гидроксифенил)ацетата 1b (10,8 г). Соединение применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 1c.

К смеси этил-2-(4-фтор-2-гидроксифенил)ацетата 1b (10,6 г, 53,5 ммоль) и карбоната цезия (34,8 г, 106,9 ммоль) в DMF (200 мл) при 10°C добавляли (2-бромэтокси)(трет-бутил)диметилсилан [CAS 86864-60-0] (13,8 мл, 64,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли H₂O и реакционную смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, гептан/EtOAc 80/20). Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)ацетата 1c (17,7 г).

Синтез промежуточного соединения 1d.

К 1 М раствору бис(триметилсилил)амида лития в THF (28,05 мл, 28,05 ммоль), охлажденному при -78°C, добавляли раствор этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)ацетата 1c (5 г, 14,03 ммоль) в THF (30 мл). После перемешивания в течение 1 ч при -78°C добавляли хлортриметилсилан (2,85 мл, 22,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 15 мин. Добавляли N-бромсукцинимид (3 г, 16,8 ммоль) в THF (30 мл) и перемешивание продолжали при -55°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в H₂O и экстрагировали дважды с помощью EtOAc. Органические фазы объединяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-бром-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)ацетата 1d (6,57 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 1e.

Смесь этил-2-бром-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)ацетата 1d (3,1 г,

7,12 ммоль), 3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)анилина [CAS 1220630-56-7] (2,03 г, 10,7 ммоль) и диизопропилэтиламина (2,45 мл, 14,2 ммоль) в CH₃CN (60 мл) перемешивали при 50°C в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали с помощью EtOAc и промывали с помощью 0,5н HCl, воды и солевого раствора. Органическую фазу высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, градиент гептан/EtOAc от 80/20 до 60/40) с получением этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)ацетата 1e (2,5 г).

Синтез промежуточного соединения 1f.

Раствор моногидрата гидроксида лития (226 мг, 5,397 ммоль) в воде (25 мл) добавляли порциями к раствору этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)ацетата 1e (2,45 г, 4,498 ммоль) в смеси растворителей THF/CH₃OH (1/1) (50 мл) при 10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч, разбавляли водой и охлаждали до 0°C. Раствор медленно подкисляли с помощью 0,5н. HCl до pH 6 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 1f (2,05 г). Соединение применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 1g.

К раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 1f (1,58 г, 3,06 ммоль) в DMF (20 мл) добавляли НАТУ (1,74 г, 4,60 ммоль), диизопропилэтиламин (1,5 мл, 9,17 ммоль) и 6-(трифторметил)индолин [CAS 181513-29-1] (572 мг, 3,06 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали с помощью 10% раствора K₂CO₃ в воде, воды, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 1g (2,1 г). Неочищенное соединение применяли непосредственно на следующей стадии.

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

При 5°C в потоке N₂ 4 М HCl в диоксане (7,65 мл, 30,6 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил) этанона 1g (2,1 г, 3,06 ммоль) в MeOH (40 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K₂CO₃ и экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из CH₃CN/диизопропилового эфира с получением 2-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 1 (800 мг) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения 1 (720 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IA, 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 70% CO₂, 30% EtOH (+0,3% iPrNH₂)). Первый элюированный энантиомер (303 мг) кристаллизовали из Et₂O с получением энантиомера 1A (270 мг). Второй элюированный энантиомер (320 мг) кристаллизовали из Et₂O с получением энантиомера 1B (274 мг).

Соединение 1.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,15-3,30 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,85 (m, 2H) 4,06-4,17 (m, 3H) 4,45 (td, J=10,3, 6,1 Гц, 1H) 4,98 (t, J=5,4 Гц, 1H) 5,83 (d, J=8,5 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,66 (t, J=1,9 Гц, 1H) 6,76-6,82 (m, 2H) 6,84 (s, 1H) 6,98 (dd, J=11,2, 2,4 Гц, 1H) 7,37-7,42 (m, 2H) 7,44-7,49 (m, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,39 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,06 мин, MH⁺ 572.

Температура плавления: 151°C.

Энантиомер 1A.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,15-3,29 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,86 (m, 2H) 4,06-4,19 (m, 3H) 4,45 (td, J=10,2, 6,3 Гц, 1H) 4,97 (t, J=5,5 Гц, 1H) 5,83 (d, J=8,8 Гц, 1H) 6,36 (s, 1H) 6,66 (t, J=1,9 Гц, 1H) 6,76-6,82 (m, 2H) 6,84 (s, 1H) 6,98 (dd, J=11,3, 2,5 Гц, 1H) 7,37-7,42 (m, 2H) 7,46 (d, J=7,9 Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,39 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,06 мин, MH⁺ 572.

[α]_D²⁰: -44,8° (с 0,2525, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 2,59 мин, MH⁺ 572, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 163°C.

Энантиомер 1B.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,15-3,30 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,85 (m, 2H) 4,06-4,19 (m, 3H) 4,45 (td, $J=10,3, 6,1$ Гц, 1H) 4,97 (t, $J=5,5$ Гц, 1H) 5,83 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,36 (s, 1H) 6,66 (t, $J=1,9$ Гц, 1H) 6,76-6,82 (m, 2H) 6,84 (s, 1H) 6,98 (dd, $J=11,2, 2,4$ Гц, 1H) 7,36-7,43 (m, 2H) 7,46 (d, $J=7,9$ Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,39 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

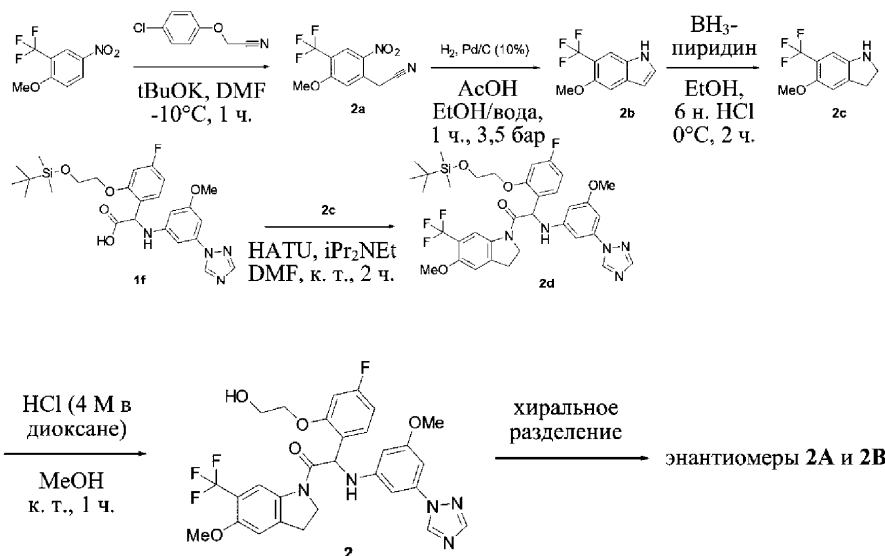
LC/MS (способ LC-A): R_t 3,06 мин, MH^+ 572.

$[\alpha]_D^{20}$: +36,2° (с 0,2567, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 3,15 мин, MH^+ 572, хиральная чистота 98,07%.

Температура плавления: 162°C.

Пример 2. Синтез 2-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтоксифенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона (соединение 2) и хиральное разделение на энантиомеры 2A и 2B.



Синтез промежуточного соединения 2a.

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 перемешиваемому раствору *t*BuOK (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 6N. 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 2a (который использовали как таковой на следующей стадии).

Синтез промежуточного соединения 2b.

Раствор 2-(5-метокси-2-нитро-4-(трифторметил)фенил)ацетонитрила 2a (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 бар 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_2Cl_2 и CH_3OH . 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 2b (15,6 г).

Синтез промежуточного соединения 2c.

При 0°C BH_3 -пиридин (23,5 мл, 232,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-метокси-6-(трифторметил)-1H-индола 2b (10 г, 46,5 ммоль) в EtOH (60 мл). Медленно добавляли 6N. HCl (140 мл) при поддержании температуры 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 выпаривали совместно с толуолом при пониженном давлении с получением 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 2c (9 г).

Синтез промежуточного соединения 2d.

К раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этоксифенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 1f (1,02 г, 1,97 ммоль) в DMF (10 мл) добавляли HATU (1,13 г, 2,96 ммоль), диизопропилэтиламин (979 мкл, 5,92 ммоль) и 5-метокси-6-(трифторметил)индолин 2c (429 мг, 1,97 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в

воде, воды, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **2d** (1,36 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии реакции.

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

При 5°C в потоке N_2 4 М HCl в диоксане (4,75 мл, 18,99 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **2d** (1,36 г, 1,9 ммоль) в MeOH (25 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C , повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc . Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из MeOH с получением 2-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона **2** (850 мг) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения **2** (800 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IA, 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 6% CH_2Cl_2 , 70% CO_2 , 24% EtOH (+0,3% $i\text{PrNH}_2$)). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (370 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром с получением энантиомера **2A** (329 мг). Второй элюированный энантиомер (400 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка (320 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром с получением энантиомера **2B** (262 мг).

Соединение **2**.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 3,15-3,30 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 3,84 (s, 3H) 4,04-4,18 (m, 3H) 4,43 (td, $J=10,4$, 6,3 Гц, 1H) 4,99 (t, $J=5,7$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (t, $J=1,9$ Гц, 1H) 6,75-6,81 (m, 2H) 6,83 (s, 1H) 6,98 (dd, $J=11,2$, 2,4 Гц, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,39 (dd, $J=8,5$, 6,9 Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,35 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,99 мин, MH^+ 602.

Температура плавления: 192°C .

Энантиомер **2A**.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 3,16-3,28 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 3,84 (s, 3H) 4,03-4,18 (m, 3H) 4,37-4,49 (m, 1H) 4,97 (t, $J=5,6$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=8,1$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,73-6,81 (m, 2H) 6,83 (s, 1H) 6,97 (dd, $J=11,1$, 2,0 Гц, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,39 (t, $J=7,6$ Гц, 1H) 8,15 (s, 1H) 8,35 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,97 мин, MH^+ 602 $[\alpha]_D^{20}$: $-45,0^\circ$ (с 0,2425, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 4,14 мин, MH^+ 602, хиральная чистота 100%.

Энантиомер **2B**.

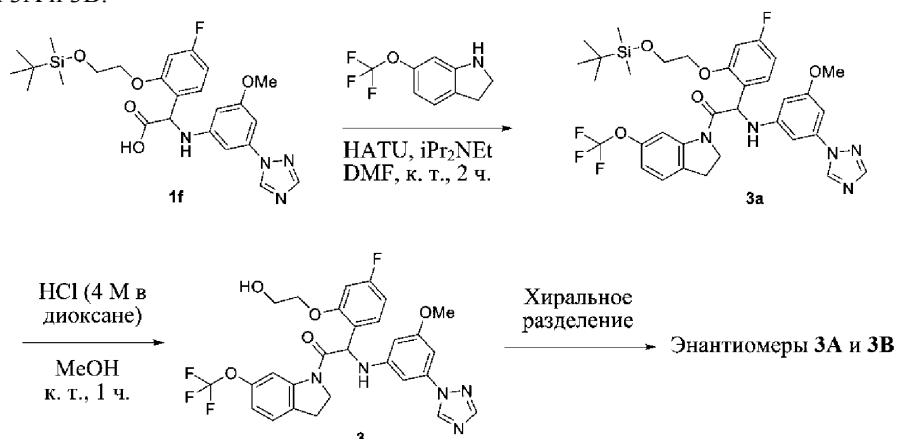
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 3,16-3,28 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 3,84 (s, 3H) 4,02-4,20 (m, 3H) 4,42 (td, $J=10,2$, 6,3 Гц, 1H) 4,97 (t, $J=5,6$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,73-6,81 (m, 2H) 6,83 (s, 1H) 6,97 (dd, $J=11,4$, 2,3 Гц, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,36-7,43 (m, 1H) 8,15 (s, 1H) 8,35 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,97 мин, MH^+ 602.

$[\alpha]_D^{20}$: $+43,4^\circ$ (с 0,2007, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-A): R_t 5,08 мин, MH^+ 602, хиральная чистота 100%.

Пример 3. Синтез 2-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона (соединение **3**) и хиральное разделение на энантиомеры **3A** и **3B**.



Синтез промежуточного соединения 3а.

К раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 1f (1,02 г, 1,974 ммоль) в DMF (10 мл) добавляли НАТУ (1,13 г, 2,96 ммоль), диизопропилэтиламин (979 мкл, 5,92 ммоль) и 6-(трифторметокси)индолин [CAS 959235-95-1] (401 мг, 1,97 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали с помощью 10% раствора K₂CO₃ в воде, воды, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 3а (1,34 г). Неочищенное соединение применяли непосредственно на следующей стадии реакции.

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

При 5°C в потоке N₂ 4 М HCl в диоксане (4,27 мл, 17,1 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-фторфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил) этанона 3а (1,2 г, 1,71 ммоль) в MeOH (25 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K₂CO₃ и экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, градиент CH₂Cl₂/MeOH от 99,5/0,5 до 99/1). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении с получением 2-(4-фтор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 3 (550 мг) в виде рацемата. Часть данной фракции кристаллизовали из MeOH с получением соединения 3 (36 мг).

Оставшийся материал применяли для разделения энантиомеров соединения 3 посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H, 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 65% CO₂, 35% EtOH (+0,3% iPrNH₂)). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (210 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром/гептаном с получением энантиомера 3А (182 мг). Второй элюированный энантиомер (230 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, CH₂Cl₂/MeOH 99/1). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка (180 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром/гептаном с получением энантиомера 3В (137 мг).

Соединение 3.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,06-3,25 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,75-3,86 (m, 2H) 4,06-4,17 (m, 3H) 4,38-4,50 (m, 1H) 4,95 (br s, 1H) 5,81 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,75-6,81 (m, 2H) 6,83 (s, 1H) 6,94-7,04 (m, 2H) 7,33 (d, J=8,6 Гц, 1H) 7,36-7,43 (m, 1H) 8,04 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,11 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,13 мин, MH⁺ 588.

Температура плавления: 178°C.

Энантиомер 3А.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,06-3,26 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,86 (m, 2H) 4,05-4,18 (m, 3H) 4,38-4,50 (m, 1H) 4,97 (t, J=5,3 Гц, 1H) 5,82 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,74-6,86 (m, 3H) 6,94-7,04 (m, 2H) 7,34 (d, J=8,1 Гц, 1H) 7,36-7,42 (m, 1H) 8,04 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,11 мин, MH⁺ 588.

[α]_D²⁰: -38,2° (с 0,28, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 3,38 мин, MH⁺ 588, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 3В.

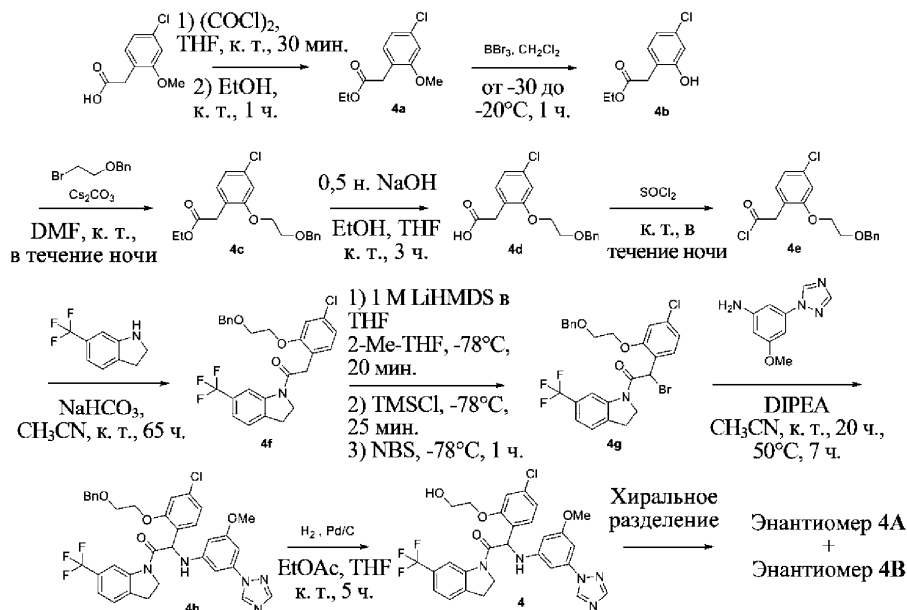
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,07-3,26 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,86 (m, 2H) 4,04-4,20 (m, 3H) 4,38-4,50 (m, 1H) 4,97 (t, J=5,6 Гц, 1H) 5,81 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,74-6,87 (m, 3H) 6,94-7,03 (m, 2H) 7,34 (d, J=8,1 Гц, 1H) 7,36-7,42 (m, 1H) 8,04 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,11 мин, MH⁺ 588.

[α]_D²⁰: +40, 9° (с 0,23, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 5,31 мин, MH⁺ 588, хиральная чистота 100%.

Пример 4. Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона (соединение 4) и хиральное разделение на энантиомеры 4А и 4В.



Синтез промежуточного соединения 4а.

Раствор 2-(4-хлор-2-метоксифенил)уксусной кислоты [CAS 170737-95-8] (20 г, 101 ммоль) в сухом THF (300 мл) охлаждали при 0°C . Добавляли оксалилхлорид (18 мл, 202 ммоль) и две капли DMF. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в этаноле (300 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетата 4а (23 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 4b.

К раствору этил-2-(4-хлор-2-метоксифенил)ацетата 4а (10 г, 44 ммоль) в CH_2Cl_2 (350 мл), охлажденному при -30°C , по каплям добавляли 1 М раствор BBr_3 в CH_2Cl_2 (87,5 мл, 87,5 ммоль) при поддержании температуры ниже -20°C . Реакционную смесь перемешивали при -30°C в течение 1 ч перед гашением метанолом. Значение pH регулировали до 8 посредством добавления водного насыщенного раствора NaHCO_3 . Фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 . Органические фазы объединяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-(4-хлор-2-гидроксифенил)ацетата 4b (9,5 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 4с.

К смеси этил-2-(4-хлор-2-гидроксифенил)ацетата 4b [CAS 1261826-30-5] (2,82 г, 13,1 ммоль) и карбоната цезия (8,56 г, 26,3 ммоль) в DMF (50 мл) добавляли бензил-2-бромэтиловый эфир [CAS 1462-37-9] (2,29 г, 14,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Добавляли H_2O и реакционную смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с использованием градиента EtOAc (от 2 до 20%) в гептане с получением этил-2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)ацетата 4с (4,17 г).

Синтез промежуточного соединения 4d.

К раствору этил-2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)ацетата 4с (4,17 г, 12,0 ммоль) в смеси EtOH (80 мл) и THF (40 мл) добавляли 0,5 н. NaOH (72 мл, 36,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь частично концентрировали при пониженном давлении с удалением органических растворителей. Остаток подкисляли до pH 2-3 с помощью 1 н. HCl, и смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)уксусной кислоты 4d (3,83 г).

Синтез промежуточного соединения 4е.

Раствор 2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)уксусной кислоты 4d (7,12 г, 22,2 ммоль) в тионилхлориде (50 мл, 689 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и выпаривали совместно с толуолом с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)ацетилхлорида 4е (7,53 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 4f.

Раствор 2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил) ацетилхлорида 4е (5,29 г, 15,6 ммоль) в CH_3CN

(50 мл) добавляли по каплям в атм. N_2 к перемешиваемой смеси 6-(трифторметил)индолина [CAS 181513-2 9-1] (2,92 г, 15,6 ммоль) и бикарбоната натрия (1,44 г, 17,1 ммоль) в CH_3CN (50 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 65 ч и выливали в воду (500 мл). Продукт экстрагировали (2×) с помощью Et_2O . Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток затвердевал при отстаивании. Продукт перемешивали в диизопропиловом эфире (25 мл), отфильтровывали, промывали (3×) диизопропиловым эфиром и высушивали под вакуумом при 45°C с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 4f (6,97 г).

Синтез промежуточного соединения 4g.

Раствор 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 4f (1,5 г, 3,06 ммоль) в 2-Ме-THF (125 мл) перемешивали в потоке N_2 и охлаждали до -78°C. 1 М раствор бис(триметилсилил)амида лития в THF (6,12 мл, 6,12 ммоль) добавляли по каплям и полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 20 мин. Хлортриметилсилан (626 мкл, 4,90 ммоль) добавляли по каплям и смесь перемешивали при -78°C в течение 25 мин. Раствор N-бромсукцинимид (599 мг, 3,37 ммоль) в 2-Ме-THF (50 мл) добавляли по каплям и реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч. Водный насыщенный раствор NH_4Cl (60 мл) добавляли сразу и полученную смесь перемешивали без охлаждения до достижения температуры 0°C. Добавляли воду (20 мл) и после перемешивания в течение 30 минут слои разделяли. Органический слой высушивали над $MgSO_4$, фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с CH_3CN с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-бром-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 4g (1,16 г). Продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 4h.

К перемешиваемому раствору 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-бром-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 4g (1,74 г, 3,06 ммоль) в CH_3CN (100 мл) в атм. N_2 добавляли 3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)анилин [CAS 1220630-56-7] (874 мг, 4,59 ммоль) и диизопропилэтиламин (1,06 мл, 6,12 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч, а затем при 50°C в течение 7 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и выливали в перемешиваемую H_2O (400 мл). Продукт экстрагировали (2×) с помощью Et_2O . Объединенные органические слои высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (40 г) с применением градиента гептан/ $EtOAc$ / $EtOH$ от 100/0/0 до 40/45/15. Требуемые фракции объединяли, и растворитель выпаривали при пониженном давлении, и выпаривали совместно с толуолом. Остаток высушивали под вакуумом при 50°C с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 4h (1,43 г).

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

Раствор 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 4h (1,43 г, 2,11 ммоль) в смеси растворителей THF (15 мл) в $EtOAc$ (75 мл) гидрогенизировали в течение 5 ч при комнатной температуре при атмосферном давлении H_2 с применением Pd/C (0,5 г) в качестве катализатора. Катализатор удаляли посредством фильтрации через Dicalite®. Осадок на фильтре промывали несколько раз с помощью THF и объединенные фильтраты выпаривали при пониженном давлении. Твердый остаток перемешивали в смеси растворителей CH_2Cl_2 / $EtOAc$ / $MeOH$ 1/2/1. Осадок отфильтровывали, промывали (2×) с помощью $EtOAc$ и высушивали под вакуумом при 45°C с получением рацемического 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона (соединение 4, 600 мг).

Энантиомеры соединения 4 (700 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD, 20×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , $MeOH/iPrOH$ (50/50)+0,4% $iPrNH_2$). Фракции, содержащие продукт, объединяли и выпаривали при пониженном давлении с получением энантиомера 4A в качестве первого элюированного продукта и энантиомера 4B в качестве второго элюированного продукта. Оба энантиомера дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (4 г) с использованием градиента гептан/ $EtOAc$ / $EtOH$ от 100/0/0 до 40/45/15. Требуемые фракции объединяли и выпаривали при пониженном давлении. Остаток перемешивали в воде (3 мл) и $MeOH$ (0,75 мл). Твердые вещества отфильтровывали, промывали (3×) водой и высушивали под вакуумом при 50°C с получением энантиомера 4A (81 мг) и энантиомера 4B (132 мг).

Энантиомер 4A.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,18-3,28 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,84 (m, 2H) 4,08-4,19 (m, 3H) 4,44 (td, $J=10,2$, 6,7 Гц, 1H) 4,96 (t, $J=5,6$ Гц, 1H) 5,84 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,35 (t, $J=2,1$ Гц, 1H) 6,66 (t, $J=1,7$ Гц, 1H) 6,79-6,87 (m, 2H) 7,02 (dd, $J=8,3$, 1,9 Гц, 1H) 7,15 (d, $J=1,8$ Гц, 1H) 7,34-7,43 (m, 2H) 7,43-7,51 (m, 1H) 8,15 (s, 1H) 8,38 (br s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-C): R_t 1,16 мин, MH^+ 588.

$[\alpha]_D^{20}$: -42,9° (с 0,515, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-K): R_t 2,91 мин, MH^+ 588, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 4В.

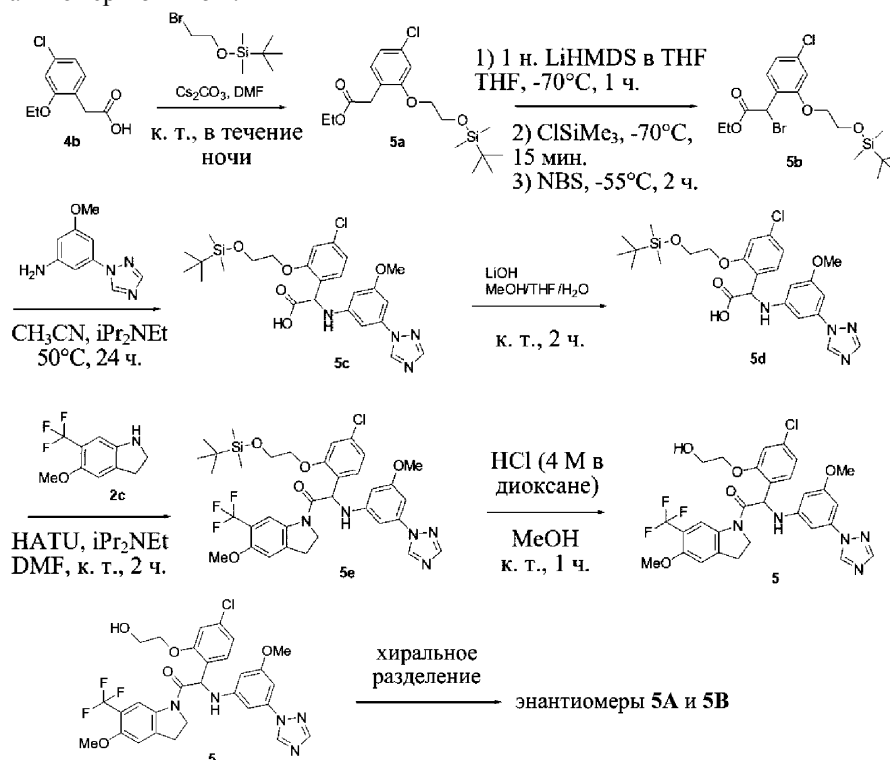
1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,15-3,28 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,84 (m, 2H) 4,07-4,22 (m, 3H) 4,44 (td, $J=10,1$, 6,6 Гц, 1H) 4,96 (t, $J=5,5$ Гц, 1H) 5,84 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,35 (t, $J=2,0$ Гц, 1H) 6,67 (t, $J=1,9$ Гц, 1H) 6,79-6,87 (m, 2H) 7,03 (dd, $J=8,1$, 2,0 Гц, 1H) 7,15 (d, $J=2,0$ Гц, 1H) 7,34-7,42 (m, 2H) 7,43-7,49 (m, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,38 (br s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-C): R_t 1,15 мин, MH^+ 588.

$[\alpha]_D^{20}$: +39,5° (с 0,595, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-K): R_t 2,78 мин, MH^+ 588, хиральная чистота 100%.

Пример 5. Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона (соединение 5) и хиральное разделение на энантиомеры 5А и 5В.



Синтез промежуточного соединения 5а.

К смеси этил-2-(4-хлор-2-гидроксифенил)ацетата 4b (5,2 г, 24,2 ммоль) и карбоната цезия (15,8 г, 48,5 ммоль) в DMF (90 мл) при 10°C добавляли (2-бромэтокси)(трет-бутил)диметилсилан [CAS 86864-60-0] (6,26 мл, 29,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли H_2O и реакционную смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, гептан/EtOAc 80/20). Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)ацетата 5а (7,8 г).

Синтез промежуточного соединения 5b.

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

Синтез промежуточного соединения 5с.

Смесь этил-2-бром-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)ацетата 5b (4,75 г, 10,5 ммоль), 3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)анилина [CAS 1220630-56-7] (3 г, 15,8 ммоль) и диизо-пропилэтиламина (3,62 мл, 21,0 ммоль) в CH_3CN (90 мл) перемешивали при 50°C в течение 24 ч.

Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток поглощали с помощью EtOAc и промывали с помощью 0,5N HCl, воды и солевого раствора. Органическую фазу высушивали

над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, градиент гептан/ЕtОAc от 80/20 до 70/30) с получением этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)ацетата 5с (3,7 г).

Синтез промежуточного соединения 5d.

Моногидрат гидроксида лития (523 мг, 12,5 ммоль) в воде (25 мл) добавляли порциями к раствору этил-2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)ацетата 5с (3,5 г, 6,24 ммоль) в THF/ CH_3OH (1/1) (50 мл) при 10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, разбавляли водой и охлаждали до 0°C. Раствор медленно подкисляли с помощью 0,5н. HCl до pH 6 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (3,1 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии.

Синтез промежуточного соединения 5е.

Смесь 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 2с (400 мг, 1,84 ммоль), 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (982 мг, 1,84 ммоль), HATU (1,05 г, 2,76 ммоль) и диизопропилэтиламина (913 мкл, 5,53 ммоль) в DMF (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали и промывали водой. Осадок поглощали с помощью EtOAc, промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5е (1,35 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии реакции.

Синтез соединения 5 и хиральное разделение на энантиомеры 5А и 5В.

При 5°C в потоке N_2 4 М HCl в диоксане (4,6 мл, 18,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5е (1,35 г, 1,84 ммоль) в MeOH (25 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали основность с помощью 10% водного раствора K_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98,5/1,5). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния при пониженном давлении. Остаток (980 мг) кристаллизовали из MeOH с получением 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона 5 (805 мг) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения 5 (771 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IA, 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 6% CH_2Cl_2 , 70% CO_2 , 24% EtOH (+0,3% iPrNH₂)). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (375 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром с получением энантиомера 5А (308 мг). Второй элюированный энантиомер (400 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99/1). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка (340 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром с получением энантиомера 5В (291 мг).

Соединение 5.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,15-3,30 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 3,85 (s, 3H) 4,06-4,20 (m, 3H) 4,41 (td, J=10,2, 6,3 Гц, 1H) 4,99 (t, J=5,5 Гц, 1H) 5,82 (d, J=8,5 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (t, J=1,9 Гц, 1H) 6,80-6,85 (m, 2H) 7,02 (dd, J=8,2, 1,9 Гц, 1H) 7,15 (d, J=2,2 Гц, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,37 (d, J=8,5 Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,34 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,13 мин, MH⁺ 618.

Температура плавления: 228°C.

Энантиомер 5А.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,16-3,28 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 3,84 (s, 3H) 4,06-4,21 (m, 3H) 4,35-4,46 (m, 1H) 4,97 (t, J=5,6 Гц, 1H) 5,81 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,77-6,86 (m, 2H) 7,02 (dd, J=8,3, 1,8 Гц, 1H) 7,14 (d, J=1,5 Гц, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,38 (d, J=8,6 Гц, 1H) 8,15 (s, 1H) 8,34 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,11 мин, MH⁺ 618.

[α]_D²⁰: -40,3° (с 0,2383, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-C): R_t 2,75 мин, MH⁺ 618, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 5В.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 3,16-3,28 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 3,84 (s, 3H) 4,06-

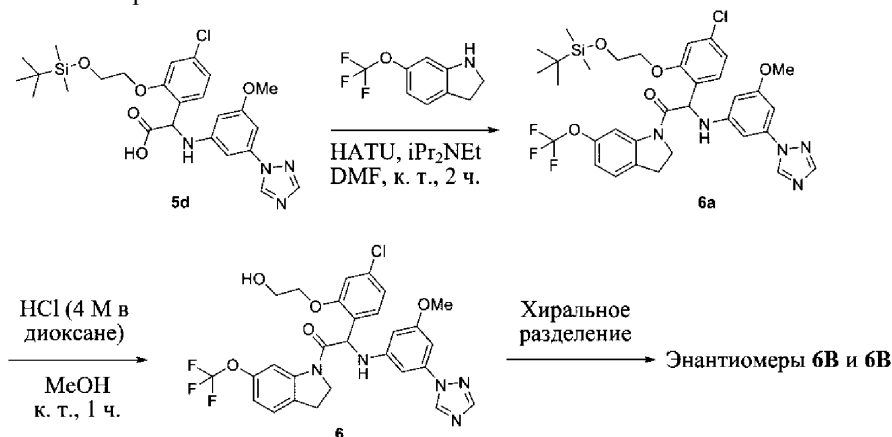
4,20 (m, 3H) 4,36-4,46 (m, 1H) 4,97 (t, J=5,6 Гц, 1H) 5,81 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,65 (s, 1H) 6,78-6,85 (m, 2H) 7,01 (dd, J=8,3, 1,8 Гц, 1H) 7,14 (d, J=1,5 Гц, 1H) 7,24 (s, 1H) 7,38 (d, J=8,1 Гц, 1H) 8,15 (s, 1H) 8,34 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,11 мин, MH^+ 618.

$[\alpha]_D^{20}$: +40, 0° (с 0,22, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-C): R_t 3,60 мин, MH^+ 618, хиральная чистота 98,47%.

Пример 6 (способ 1). Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона (соединение 6) и хиральное разделение на энантиомеры 6A и 6B.



Синтез промежуточного соединения 6a.

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (837 мг, 4,12 ммоль), 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (2,196 г, 4,12 ммоль), HATU (2,35 г, 6,18 ммоль) и диизопропилэтиламина (2 мл, 12,36 ммоль) в DMF (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Полученный смолистый материал поглощали с помощью EtOAc, промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 80 г, градиент гептан/EtOAc от 70/30 до 60/40). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 6a (1,65 г).

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

При 5°C в потоке N_2 4 М HCl в диоксане (6,5 мл, 21,6 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 6a (1,85 г, 2,58 ммоль) в MeOH (40 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Соединение кристаллизовали из CH_2Cl_2 с получением 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 6 (1,47 г) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения 6 разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IC, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 70% CO_2 , 30% iPrOH (+0,3% iPrNH₂)). Первый элюированный энантиомер (585 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, CH_2Cl_2 /MeOH 99/1) с получением после отверждения в MeOH/диизопропиловом эфире/гептане энантиомера 6A (491 мг). Вторым элюированный энантиомер (400 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, CH_2Cl_2 /MeOH 99/1) с получением после отверждения в MeOH/диизопропиловом эфире/гептане энантиомера 6B (467 мг).

Соединение 6.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,08-3,23 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,75-3,84 (m, 2H) 4,07-4,22 (m, 3H) 4,37-4,49 (m, 1H) 4,94 (br s, 1H) 5,82 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,64-6,68 (m, 1H) 6,79-6,86 (m, 2H) 6,98-7,05 (m, 2H) 7,15 (d, J=2,0 Гц, 1H) 7,34 (d, J=8,6 Гц, 1H) 7,37 (d, J=8,1 Гц, 1H) 8,04 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,11 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,27 мин, MH^+ 604.

Температура плавления: 161°C.

Энантиомер 6A.

1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,10-3,25 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,84 (m, 2H) 4,06-4,23 (m, 3H)

4,39-4,48 (m, 1H) 4,99 (br t, J=5,4 Гц, 1H) 5,83 (br d, J=8,5 Гц, 1H) 6,36 (br s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,84 (s, 1H) 6,88 (br d, J=8,5 Гц, 1H) 7,03 (br t, J=7,6 Гц, 2H) 7,16 (s, 1H) 7,36 (dd, J=11,8, 8,4 Гц, 2H) 8,04 (br s, 1H) 8,17 (s, 1H) 9,14 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,25 мин, MH^+ 604.

$[\alpha]_D^{20}$: +45,9° (с 0,29, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-D): R_t 4,20 мин, MH^+ 604, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 6B.

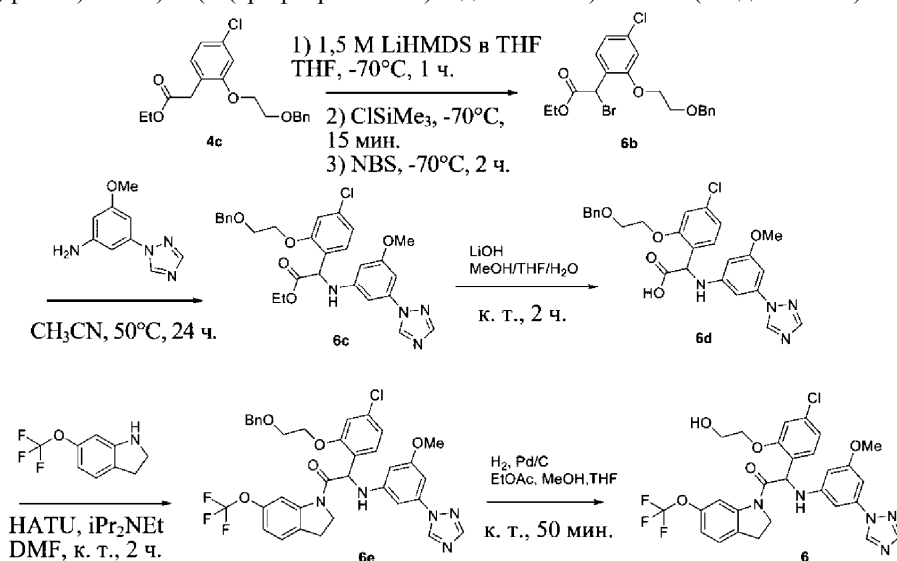
1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,09-3,25 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,74-3,83 (m, 2H) 4,06-4,21 (m, 3H) 4,43 (td, J=10,2, 6,6 Гц, 1H) 4,98 (t, J=5,4 Гц, 1H) 5,83 (d, J=8,5 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,66 (s, 1H) 6,83 (s, 1H) 6,88 (d, J=8,8 Гц, 1H) 6,99-7,06 (m, 2H) 7,15 (d, J=1,6 Гц, 1H) 7,36 (dd, J=12,6, 8,2 Гц, 2H) 8,04 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,14 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,31 мин, MH^+ 604.

$[\alpha]_D^{20}$: -46,3° (с 0,3, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-D): R_t 5,30 мин, MH^+ 604, хиральная чистота 100%.

Пример 6 (способ 2). Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтоксифенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона (соединение 6).



Синтез промежуточного соединения 6b.

К 1,5 М раствору бис(триметилсилил)амида лития в THF (23 мл, 34,4 ммоль), охлажденному при -70°C, в потоке N_2 добавляли раствор этил-2-(4-хлор-2-гидроксифенил)ацетата 4с (6 г, 17,2 ммоль) в THF (35 мл). Через 1 ч при -70°C добавляли хлортриметилсилан (3,5 мл, 27,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -70°C в течение 15 мин. Добавляли N-бромсукцинимид (3,7 г, 20,6 ммоль) в THF (35 мл) и перемешивание продолжали при -70°C в течение 2 ч. Реакционную смесь выливали в H_2O и экстрагировали с помощью EtOAc. Органические фазы объединяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением этил-2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)-2-бромацетата 6b (8,2 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 6с.

Смесь 2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)-2-бромацетата 6b (6,5 г, 15,2 ммоль), 3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)анилина [CAS 1220630-56-7] (4,6 г, 24,1 ммоль) и диизопропилэтиламина (5,3 мл, 30,4 ммоль) в CH_3CN (130 мл) перемешивали при 50°C в течение 24 ч. Растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли с помощью EtOAc. Раствор фильтровали для удаления твердых частиц (остаточный анилин). Органический слой концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, градиент гептан/EtOAc от 80/20 до 70/30). Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением этил-2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)ацетата 6с (4,8 г).

Синтез промежуточного соединения 6d.

При 10°C моногидрат гидроксида лития (500 мг, 11,9 ммоль) добавляли к раствору этил-2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)ацетата 6с (3,2 г, 5,96 ммоль) в MeOH/THF/воде (1/1/1) (50 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли ледяной водой и охлаждали до 0°C. Полученную смесь подкисляли до pH 6-7 с помощью 0,5н. HCl и экстрагировали с помощью EtOAc. Органические слои объединяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этоксифенил)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной

кислоты 6d (2,75 г). Соединение применяли на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.

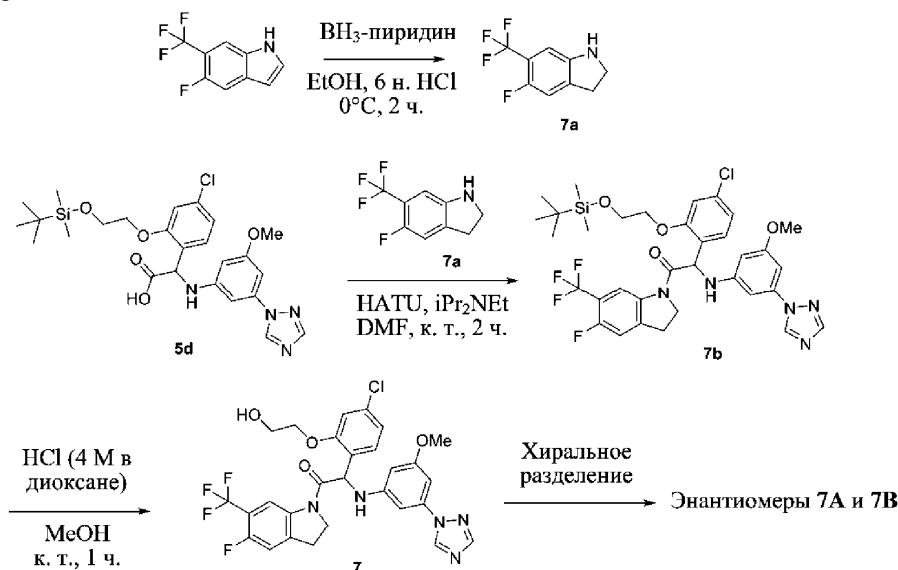
Синтез промежуточного соединения 6е.

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (1,2 г, 5,89 ммоль), 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 6d (2,5 г, 4,91 ммоль), HATU (2,29 г, 6,01 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,99 мл, 12,0 ммоль) в DMF (18 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали и промывали водой. Осадок поглощали с помощью EtOAc, промывали с помощью 10% раствора K₂CO₃ в воде, воды, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 220 г, гептан/EtOAc 50/50). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 6е (2,5 г).

Синтез соединения 6.

Смесь 2-(2-(2-(бензилокси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 6е (2 г, 2,88 ммоль) в EtOAc/MeOH/THF (1/1/1) (100 мл) гидрогенизировали в течение 50 мин при атмосферном давлении H₂ с Pd/C (10%) (3,07 г, 2,88 ммоль) в качестве катализатора. Реакционную смесь разбавляли с помощью MeOH и фильтровали через подушку из Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток (1,42 г) объединяли с другой партией (общее количество: 1,65 г) и очищали посредством ахиральной SFC (неподвижная фаза: NH₂, 5 мкм, 150×30 мм, подвижная фаза: 70% CO₂, 30% iPrOH (+0,3% iPrNH₂)). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 6 (1,36 г) в виде рацемата.

Пример 7. Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)этанона (соединение 7) и хиральное разделение на энантиомеры 7A и 7B.



Синтез промежуточного соединения 7a.

При 0°C BH₃-пиридин (10,45 мл, 103,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-фтор-6-(трифторметил)-1H-индола [CAS 1493800-10-4] (7 г, 34,5 ммоль) в EtOH (45 мл). Медленно добавляли бн. HCl (105 мл) при поддержании температуры ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Добавляли воду (210 мл) и повышали основность смеси до pH 8-9 с помощью концентрированного водного раствора NaOH (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Добавляли EtOAc. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток выпаривали совместно с толуолом при пониженном давлении. Неочищенное вещество очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20-45 мкм, 120 г, CH₂Cl₂/MeOH 98,5/1,5). Чистые фракции объединяли и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 5-фтор-6-(трифторметил)индолина 7a (3,5 г).

Синтез промежуточного соединения 7b.

Смесь 5-фтор-6-(трифторметил)индолина 7a (385 мг, 1,88 ммоль), 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (1 г, 1,88 ммоль), HATU (1,07 г, 2,814 ммоль) и диизопропилэтиламина (930 мкл, 5,63 ммоль) в DMF (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Полученный смолистый материал поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали с помощью

10% раствора K_2CO_3 в воде, воды, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)этанона **7b** (1,4 г).

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

При 5°C в потоке N_2 4 М HCl в диоксане (4,9 мл, 19,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)этанона **7b** (1,4 г, 1,94 ммоль) в MeOH (25 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, CH_2Cl_2 /MeOH 98/2). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)этанона **7** (737 мг) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения **7** разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 60% CO_2 , 40% EtOH (+0,3% $iPrNH_2$)). Первый элюированный энантиомер (325 мг) кристаллизовали из диизопропилового эфира/петролейного эфира с получением энантиомера **7A** (244 мг). Второй элюированный энантиомер (310 мг) кристаллизовали из диизопропилового эфира/петролейного эфира с получением энантиомера **7B** (220 мг).

Соединение **7**.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,19-3,30 (m, 2H) 3,63-3,87 (m, 5H) 4,05-4,24 (m, 3H) 4,40-4,49 (m, 1H) 4,97 (br s, 1H) 5,83 (br d, $J=6,9$ Гц, 1H) 6,35 (br s, 1H) 6,67 (br s, 1H) 6,80-6,89 (m, 2H) 7,03 (br d, $J=7,3$ Гц, 1H) 7,15 (br s, 1H) 7,37 (br d, $J=7,6$ Гц, 1H) 7,47 (br d, $J=9,5$ Гц, 1H) 8,16 (br s, 1H) 8,39 (br d, $J=4,4$ Гц, 1H) 9,14 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,14 мин, MH^+ 606.

Температура плавления: 140°C.

Энантиомер **7A**.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,20-3,30 (m, 2H) 3,69-3,86 (m, 5H) 4,06-4,23 (m, 3H) 4,40-4,50 (m, 1H) 4,98 (br t, $J=5,2$ Гц, 1H) 5,83 (br d, $J=8,8$ Гц, 1H) 6,35 (br s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,82-6,89 (m, 2H) 7,03 (br d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,16 (s, 1H) 7,37 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,47 (br d, $J=10,1$ Гц, 1H) 8,17 (s, 1H) 8,39 (br d, $J=6,3$ Гц, 1H) 9,14 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,27 мин, MH^+ 606.

$[\alpha]_D^{20}$: -44,3° (с 0,282, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 2,89 мин, MH^+ 606, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 166°C.

Энантиомер **7B**.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,18-3,30 (m, 2H) 3,69-3,86 (m, 5H) 4,07-4,22 (m, 3H) 4,40-4,50 (m, 1H) 4,97 (br t, $J=5,2$ Гц, 1H) 5,83 (br d, $J=8,8$ Гц, 1H) 6,35 (br s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,81-6,89 (m, 2H) 7,03 (br d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,16 (s, 1H) 7,37 (br d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,47 (br d, $J=10,1$ Гц, 1H) 8,17 (s, 1H) 8,39 (br d, $J=6,3$ Гц, 1H) 9,14 (s, 1H).

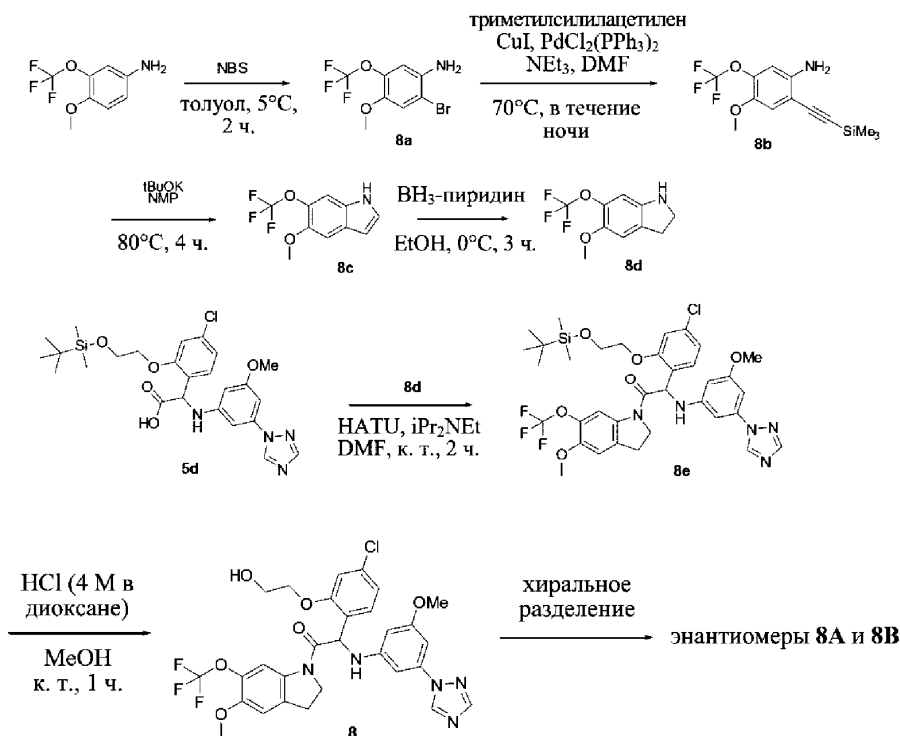
LC/MS (способ LC-A): R_t 3,27 мин, MH^+ 606.

$[\alpha]_D^{20}$: +35,6° (с 0,281, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 4,92 мин, MH^+ 606, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 100°C.

Пример 8. Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона (соединение **8**) и хиральное разделение на энантиомеры **8A** и **8B**.



Синтез промежуточного соединения 8a.

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 разбавляли водой и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные экстракты высушивали над MgSO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Очистку проводили 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 8a (2,5 г).

Синтез промежуточного соединения 8b.

Раствор 2-бром-4-метокси-5-(трифторметокси)анилина 8a (2,72 г, 9,51 ммоль) в DMF (30 мл) дегазировали с помощью N_2 в течение 15 мин. Добавляли дихлорбис(трифенилфосфин)палладий(II) (667 мг, 0,95 ммоль), йодид меди(I) (362 мг, 1,90 ммоль), триэтиламин (3,96 мл, 28,53 ммоль) и триметилсилил-ацетилен (3,95 мл, 28,5 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 70°C в течение 12 ч в потоке N_2 . После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью H_2O и экстрагировали с помощью EtOAc. Органические фазы объединяли, высушивали над MgSO_4 , 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 8b (1,4 г).

Синтез промежуточного соединения 8c.

К раствору 4-метокси-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина 8b (1,2 г, 3,96 ммоль) в NMP (11 мл) в потоке N_2 одной порцией добавляли tBuOK (1,33 г, 11,9 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 4 ч, 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_2O , высушивали над MgSO_4 , 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 8c (490 мг).

Синтез промежуточного соединения 8d.

При 0°C BH_3 -пиридин (10,5 мл, 103,8 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-метокси-6-(трифторметокси)-1H-индола 8c (8 г, 34,6 ммоль) в EtOH (45 мл). Добавляли по каплям бн. HCl (6 мл) при поддержании температуры 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 (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Добавляли толуол и раствор концентрировали при пониженном давлении с получением 5-метокси-6-(трифторметокси)индолина 8d (7,5 г).

Синтез промежуточного соединения 8е.

Смесь 5-метокси-6-(трифторметокси)индолина 8d (437 мг, 1,88 ммоль), 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (1 г, 1,88 ммоль), НАТУ (1,07 г, 2,81 ммоль) и диизопропилэтиламина (930 мкл, 5,63 ммоль) в DMF (10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Полученный смолистый материал поглощали с помощью EtOAc. Органический раствор промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, воды, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8е (1,5 г). Соединение применяли как таковое на следующей стадии реакции.

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

При 5°C в потоке N_2 4 М HCl в диоксане (4,9 мл, 19,4 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8е (1,4 г, 1,94 ммоль) в MeOH (25 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, CH_2Cl_2 /MeOH/ NH_4OH 98,4/1,5/0,1). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением, после кристаллизации из CH_2Cl_2 , 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(5-метокси-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 8 (850 мг) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения 8 разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® IC, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 60% CO_2 , 40% iPrOH). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (410 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром с получением энантиомера 8А (314 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (388 мг) путем растирания с диизопропиловым эфиром с получением энантиомера 8В (300 мг).

Соединение 8.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,07-3,27 (m, 2H) 3,70-3,85 (m, 8H) 4,07-4,19 (m, 3H) 4,35-4,45 (m, 1H) 4,97 (t, $J=5,6$ Гц, 1H) 5,80 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,63-6,67 (m, 1H) 6,80-6,87 (m, 2H) 7,02 (dd, $J=8,1, 2,0$ Гц, 1H) 7,14 (d, $J=2,0$ Гц, 1H) 7,20 (s, 1H) 7,37 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 8,06 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,12 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,20 мин, MH^+ 634.

Температура плавления: 181°C.

Энантиомер 8А.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,09-3,26 (m, 2H) 3,70-3,85 (m, 8H) 4,08-4,20 (m, 3H) 4,40 (td, $J=10,3, 6,5$ Гц, 1H) 4,99 (br t, $J=5,4$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,66 (s, 1H) 6,83 (s, 1H) 6,86 (d, $J=8,8$ Гц, 1H) 7,03 (dd, $J=8,2, 1,3$ Гц, 1H) 7,15 (d, $J=1,6$ Гц, 1H) 7,21 (s, 1H) 7,38 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 8,07 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,09 мин, MH^+ 634.

$[\alpha]_D^{20}$: +39,3° (с 0,3, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 3,39 мин, MH^+ 634, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 8В.

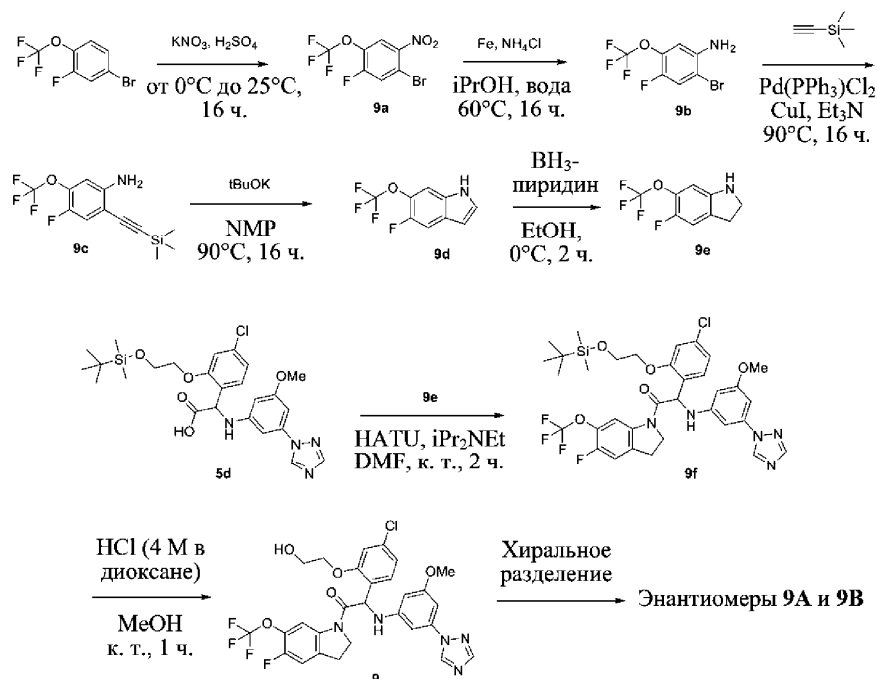
1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,09-3,27 (m, 2H) 3,70-3,85 (m, 8H) 4,06-4,19 (m, 3H) 4,40 (td, $J=10,2, 6,6$ Гц, 1H) 4,99 (br t, $J=5,2$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,66 (s, 1H) 6,83 (s, 1H) 6,86 (d, $J=8,8$ Гц, 1H) 7,03 (dd, $J=8,2, 1,6$ Гц, 1H) 7,15 (d, $J=1,6$ Гц, 1H) 7,21 (s, 1H) 7,38 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 8,07 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,07 мин, MH^+ 634.

$[\alpha]_D^{20}$: -44,4° (с 0,295, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-E): R_t 5,69 мин, MH^+ 634, хиральная чистота 100%.

Пример 9. Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)этанона (соединение 9) и хиральное разделение на энантиомеры 9А и 9В.



Синтез промежуточного соединения 9a.

Раствор 4-бром-2-фтор-1-(трифторметокси)бензола [CAS 105529-58-6] (98,7 г, 381,1 ммоль) в концентрированной H_2SO_4 (98%, 200 мл) охлаждали до 0°C с помощью ледяной бани. Добавляли порциями KNO_3 (43,0 г, 425,3 ммоль). После добавления ледяную баню удаляли и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Реакционную смесь выливали в ледяную воду (2 л) при перемешивании. Смесь экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 (3×500 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2×500 мл), соевым раствором (500 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 1-бром-5-фтор-2-нитро-4-(трифторметокси)бензола 9a (117,2 г), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 9b.

К перемешиваемой суспензии 1-бром-5-фтор-2-нитро-4-(трифторметокси) бензола 9a (70,0 г, 230 ммоль) и NH_4Cl (123,2 г, 2,30 моль) в $i\text{PrOH}$ (1 л) и воде (330 мл) добавляли восстановительный порошок железа (64,3 г, 1,15 моль) в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc (1 л) и фильтровали через Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток разделяли между EtOAc (1 л) и водой (800 мл). Слои разделяли и органическую фазу промывали соевым раствором (1 л), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством перегонки при пониженном давлении (масляный насос, т. кип. $60\text{--}64^\circ\text{C}$). Получали 2-бром-4-фтор-5-(трифторметокси)анилин 9b (47,3 г) в виде желтого масла.

Синтез промежуточного соединения 9c.

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

Синтез промежуточного соединения 9d.

Смесь 4-фтор-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина 9c (16,1 г, 55,3 ммоль) и $t\text{BuOK}$ (18,6 г, 165,8 ммоль) в NMP (220,00 мл) нагревали при 90°C в течение 16 ч в атмосфере N_2 . После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь выливали в ледяную воду (1 л) и экстрагировали с помощью MTBE (3×300 мл). Объединенные органические фазы промывали водой (2×200 мл) соевым раствором (300 мл), высушивали над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (ISCO®, колонка для флэш-хроматографии на силикагеле SepaFlash® 120 г, элюент: градиент от 0 до 5% EtOAc в петролейном эфире при 85 мл/мин) с получением продукта, представляющего собой 5-фтор-6-(трифторметокси)-1H-

индол 9d, (11 г) в виде темно-зеленого масла. Остаток объединяли с другой фракцией (общее количество=17,2 г) и дополнительно очищали посредством перегонки при пониженном давлении (масляный насос, т. кип. 60–64°C) с получением 5-фтор-6-(трифторметокси)-1H-индола 9d (14,7 г, чистота 95%) в виде бесцветного масла.

Синтез промежуточного соединения 9e.

При 0°C NH_3 -пиридин (13,8 мл, 136,9 ммоль) добавляли по каплям к раствору 5-фтор-6-(трифторметокси)-1H-индола 9d (6 г, 27,4 ммоль) в EtOH (40 мл). Добавляли по каплям 6N. HCl (90 мл) при поддержании температуры ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Добавляли воду (100 мл) и повышали основность смеси до pH 8-9 с помощью концентрированного раствора NaOH в воде (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Смесь экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 . Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Добавляли толуол и раствор концентрировали при пониженном давлении с получением 5,52 г 5-фтор-6-(трифторметокси)индолина 9e. Соединение применяли на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 9f.

Смесь 5-фтор-6-(трифторметокси)индолина 9e (169 мг, 0,76 ммоль), 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (4 07 мг, 0,76 ммоль), HATU (4 35 мг, 1,15 ммоль) и диизопропилэтиламина (379 мкл, 2,29 ммоль) в DMF (3,9 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Полученный смолистый материал поглощали с помощью EtOAc. Органический раствор промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, гептан/EtOAc 70/30). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)этанона 9f (257 мг).

Синтез соединения 9 и хиральное разделение на энантиомеры 9A и 9B.

При 5°C в потоке N_2 4 M HCl в диоксане (873 мкл, 3,49 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил) фенил) амина) этанона 9f (257 мг, 0,35 ммоль) в MeOH (4 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K_2CO_3 и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 12 г, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98,5/1,5). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-1-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)этанона 9 (210 мг) в виде рацемата. Небольшую фракцию (17 мг) дополнительно очищали посредством хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 50% NH_4HCO_3 , 0,2%, 50% CH_3CN до 0% NH_4HCO_3 , 0,2%, 100% CH_3CN) с получением 7 мг. Обеспечивали затвердевание остатка посредством лиофилизации из смеси растворителей CH_3CN (1 мл) и воды (4 мл).

Энантиомеры соединения 9 (190 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 65% CO_2 , 35% EtOH (+0,3% iPrNH_2)). Первый элюированный энантиомер (58 мг) растворяли в CH_3CN (2 мл), добавляли воду (8 мл) и смесь лиофилизировали с получением энантиомера 9A (58 мг) в виде порошка. Второй элюированный энантиомер (59 мг) растворяли в CH_3CN (2 мл), добавляли воду (8 мл) и смесь лиофилизировали с получением энантиомера 9B (59 мг) в виде порошка.

Соединение 9.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 3,13-3,30 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,70-3,80 (m, 2H) 4,06-4,22 (m, 3H) 4,42 (td, $J=10,4$, 6,3 Гц, 1H) 4,97 (br s, 1H) 5,82 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,66 (t, $J=1,9$ Гц, 1H) 6,82 (s, 1H) 6,87 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,03 (dd, $J=8,2$, 1,9 Гц, 1H) 7,15 (d, $J=2,2$ Гц, 1H) 7,36 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,45 (d, $J=9,8$ Гц, 1H) 8,14-8,18 (m, 2H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 3,32 мин, MH^+ 622.

Энантиомер 9A.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 3,12-3,28 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,69-3,82 (m, 2H) 3,99-4,22 (m, 3H) 4,42 (td, $J=10,0$, 6,8 Гц, 1H) 4,96 (t, $J=5,3$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=9,1$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,66 (t, $J=1,8$ Гц, 1H) 6,80-6,88 (m, 2H) 7,02 (dd, $J=8,1$, 2,0 Гц, 1H) 7,15 (d, $J=2,0$ Гц, 1H) 7,36 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 7,45 (d, $J=10,1$ Гц, 1H) 8,13-8,18 (m, 2H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,17 мин, MH^+ 622.

$[\alpha]_D^{20}$: -35,1° (с 0,276, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 2,75 мин, MH^+ 622, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 9B.

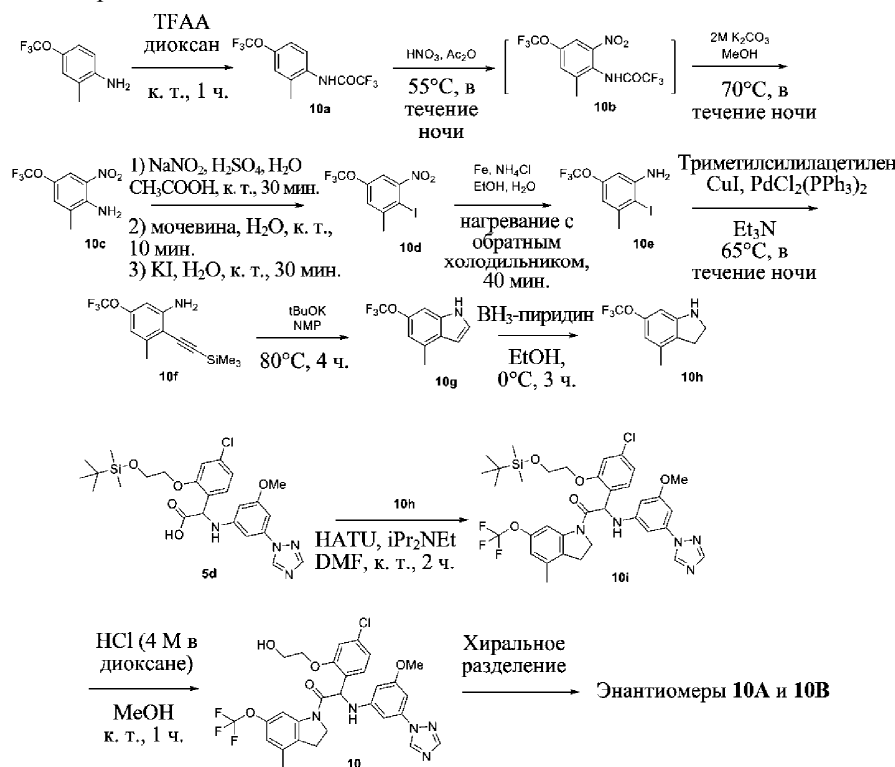
1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 3,12-3,28 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,69-3,82 (m, 2H) 3,99-4,22 (m, 3H) 4,42 (td, $J=10,0$, 6,8 Гц, 1H) 4,96 (t, $J=5,3$ Гц, 1H) 5,81 (d, $J=9,1$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,66 (t, $J=1,8$ Гц, 1H) 6,80-6,88 (m, 2H) 7,02 (dd, $J=8,1$, 2,0 Гц, 1H) 7,15 (d, $J=2,0$ Гц, 1H) 7,36 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 7,45 (d, $J=10,1$ Гц, 1H) 8,13-8,18 (m, 2H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,17 мин, MH^+ 622.

$[\alpha]_D^{20}$: +32,3° (с 0,254, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-B): R_t 3,75 мин, MH^+ 622, хиральная чистота 100%.

Пример 10. Синтез 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона (соединение 10) и хиральное разделение на энантиомеры 10A и 10B.



Синтез промежуточного соединения 10a.

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

Синтез промежуточного соединения 10с.

К уксусному ангидриду (11,4 мл, 61,1 ммоль), охлажденному при 0°C, добавляли по каплям 70% азотную кислоту (3,9 мл). Добавляли порциями 2,2, 2-трифтор-N-(2-метил-4-(трифторметокси)фенил)ацетамид 10a (5 г, 17,4 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 55°C в течение 12 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью EtOAc и промывали с помощью H_2O . Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в метаноле (46 мл). Добавляли 2 М K_2CO_3 (23 мл, 46 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 70°C в течение 4 ч. Добавляли дополнительное количество 2 М K_2CO_3 (10 мл, 20 ммоль) и реакционную смесь нагревали при 70°C в течение 12 ч. Реакционную смесь частично концентрировали при пониженном давлении с удалением метанола. Остаток экстрагировали с помощью EtOAc. Органическую фазу промывали с помощью H_2O и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 20% до 50%) в гептане с получением 3,6 г 2-метил-6-нитро-4-(трифторметокси)анилина 10с в виде желтого твердого вещества.

Синтез промежуточного соединения 10d.

К раствору 2-метил-6-нитро-4-(трифторметокси)анилина 10с (1,8 г, 7,69 ммоль) в уксусной кислоте (10,9 мл) добавляли по каплям раствор нитрита натрия (0,806 г, 11,7 ммоль) в $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$ (2 мл, 1/1). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Добавляли H_2O (22 мл) и мочевины (0,802 г, 13,4 ммоль). Через 10 мин при комнатной температуре добавляли по каплям раствор йодида калия (1,7 г, 10,2 ммоль) в H_2O (11 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Желтое твердое вещество отфильтровывали, промывали с помощью H_2O и высушивали с получением 2,4 г 2-йод-1-метил-3-нитро-5-(трифторметокси)бензола 10d.

Синтез промежуточного соединения 10e.

К раствору 2-йод-1-метил-3-нитро-5-(трифторметокси)бензола 10d (3,5 г, 10,0 ммоль) в EtOH (30 мл) добавляли раствор NH_4Cl (2,7 г, 49,9 ммоль) в H_2O (30 мл). Реакционную смесь нагревали при 50°C. Добавляли железо (2,6 г, 46,9 ммоль) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 40 мин. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь фильтровали через Celite®. Твердые вещества промывали с помощью EtOH. Фильтрат частично концентрировали при пониженном давлении с удалением EtOH. Остаток разделяли между EtOAc и насыщенным раствором NaHCO_3 в воде. Фазы разделяли. Органическую фазу промывали с помощью H_2O и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 0 до 25%) в гептане с получением 2,9 г 2-йод-3-метил-5-(трифторметокси)анилина 10e в виде желтого масла.

Синтез промежуточного соединения 10f.

Раствор 2-йод-3-метил-5-(трифторметокси)анилина 10e (2,9 г, 9,1 ммоль) в триэтиламин (23 мл) дегазировали с помощью аргона в течение 15 мин. Добавляли дихлорбис(трифенилфосфин)палладий(II) (0,327 г, 0,47 ммоль), йодид меди(I) (0,164 г, 0,86 ммоль) и триметилсилилацетилен (1,8 мл, 13,1 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 65°C в течение 12 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью H_2O и экстрагировали с помощью EtOAc (3×). Органические фазы объединяли, промывали с помощью H_2O и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 0 до 20%) в гептане с получением 2,6 г 3-метил-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина 10f в виде оранжевого масла.

Синтез промежуточного соединения 10g.

К раствору 3-метил-5-(трифторметокси)-2-((триметилсилил)этинил)анилина 10f (2,7 г, 9,3 ммоль) в NMP (27 мл) добавляли tBuOK (3,1 г, 27,8 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 4 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь разбавляли с помощью H_2O и экстрагировали с помощью EtOAc (2×). Органические фазы объединяли, промывали с помощью H_2O и солевого раствора, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле с применением градиента EtOAc (от 0 до 20%) в гептане с получением 1,7 г 4-метил-6-(трифторметокси)-1H-индола 10g в виде оранжевого масла.

Синтез промежуточного соединения 10h.

При 0°C BH_3 -пиридин (1,2 мл, 11,6 ммоль) добавляли по каплям к раствору 4-метил-6-(трифторметокси)-1H-индола 10g (0,5 г, 2,32 ммоль) в EtOH (3 мл). Медленно добавляли по каплям бн. HCl (6 мл) при поддержании температуры реакции ниже 10°C. Смесь перемешивали при 0°C в течение 3 ч. Добавляли воду (12 мл) и повышали основность смеси до pH 8-9 с помощью концентрированного раствора NaOH в воде (температуру реакции поддерживали ниже 20°C). Смесь экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Добавляли толуол и раствор концентрировали при пониженном давлении с получением 450 мг 4-метил-6-(трифторметокси)индолина 10h.

Синтез промежуточного соединения 10i.

Смесь 4-метил-6-(трифторметокси)индолина 10h (163 мг, 0,75 ммоль), 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 5d (400 мг, 0,75 ммоль), NATU (428 мг, 1,13 ммоль) и диизопропилэтиламина (372 мкл, 2,25 ммоль) в DMF (3,8 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Полученный смолистый материал поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Соединение очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 24 г, градиент гептан/EtOAc от 80/20 до 70/30). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10i (226 мг).

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

При 5°C в потоке N_2 4 M HCl в диоксане (772 мкл, 3,1 ммоль) добавляли по каплям к раствору 2-(2-(2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этокси)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)

амино)-1-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10i (226 мг, 0,31 ммоль) в MeOH (4 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 0°C, повышали ее основность с помощью 10% водного раствора K₂CO₃ и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 12 г, CH₂Cl₂/MeOH 98,5/1,5). Вторую очистку проводили посредством хроматографии с обращенной фазой (неподвижная фаза: YMC-actus Triart-C18 10 мкм, 30×150 мм, подвижная фаза: градиент от 55% NH₄HCO₃, 0,2%, 45% CH₃CN до 0% NH₄HCO₃, 0,2%, 100% CH₃CN). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(4-хлор-2-(2-гидроксиэтокси)фенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-1-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этанона 10 (78 мг) в виде рацемата. Обеспечивали затвердевание небольшой фракции посредством растирания с CH₃CN/диизопропиловым эфиром с получением соединения 10 (9 мг). Оставшееся количество применяли для разделения энантиомеров соединения 10 посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 60% CO₂, 40% iPrOH). Первый элюированный энантиомер (27 мг) растворяли в CH₃CN (2 мл), добавляли воду (8 мл) и смесь лиофилизировали с получением энантиомера 10A (25 мг) в виде порошка. Второй элюированный энантиомер (28 мг) растворяли в CH₃CN (2 мл), добавляли воду (8 мл) и смесь лиофилизировали с получением энантиомера 10B (22 мг) в виде порошка.

Соединение 10.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2,21 (s, 3H) 3,01-3,13 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,70-3,82 (m, 2H) 4,08-4,22 (m, 3H) 4,40-4,48 (m, 1H) 4,98 (t, J=5,4 Гц, 1H) 5,82 (d, J=8,5 Гц, 1H) 6,35 (br s, 1H) 6,66 (s, 1H) 6,82-6,90 (m, 3H) 7,02 (dd, J=8,4, 1,7 Гц, 1H) 7,15 (d, J=1,6 Гц, 1H) 7,36 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,89 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,26 мин, MH⁺ 618.

Энантиомер 10A.

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2,21 (s, 3H) 3,01-3,14 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,71-3,83 (m, 2H) 4,07-4,22 (m, 3H) 4,44 (td, J=10,2, 6,5 Гц, 1H) 4,98 (t, J=5,5 Гц, 1H) 5,82 (d, J=8,5 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,66 (t, J=1,9 Гц, 1H) 6,81-6,90 (m, 3H) 7,02 (dd, J=8,4, 2,1 Гц, 1H) 7,15 (d, J=1,9 Гц, 1H) 7,36 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,89 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,26 мин, MH⁺ 618.

[α]_D²⁰: -38,4° (с 0,279, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-F): R_t 1,41 мин, MH⁺ 618, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 10B.

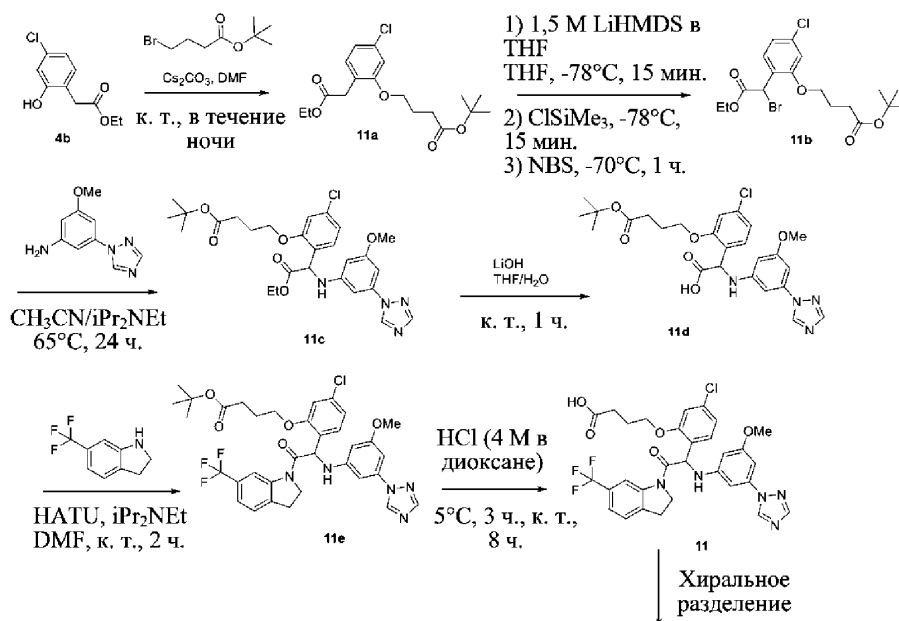
¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 2,21 (s, 3H) 3,00-3,14 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 3,71-3,82 (m, 2H) 4,06-4,23 (m, 3H) 4,44 (td, J=10,1, 6,9 Гц, 1H) 4,95-5,02 (m, 1H) 5,82 (d, J=8,5 Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,66 (t, J=1,7 Гц, 1H) 6,82-6,90 (m, 3H) 7,02 (dd, J=8,5, 1,9 Гц, 1H) 7,15 (d, J=1,9 Гц, 1H) 7,36 (d, J=8,2 Гц, 1H) 7,89 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,13 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 3,26 мин, MH⁺ 618.

[α]_D²⁰: +37,5° (с 0,299, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-F): R_t 1,82 мин, MH⁺ 618, хиральная чистота 100%.

Пример 11. Синтез 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутановой кислоты (соединение 11) и хиральное разделение на энантиомеры 11A и 11B.



Энантиомеры 11A и 11B

Синтез промежуточного соединения 11a.

К суспензии этил-2-(4-хлор-2-гидроксифенил)ацетата 4b (8,5 г, 39,6 ммоль) и Cs₂CO₃ (25,8 г, 79,2 ммоль) в DMF (130 мл) при 10°C добавляли по каплям трет-бутил-4-бромбутират [CAS 110611-91-1] (7 мл, 39,6 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь разбавляли с помощью EtOAc и воды. Слои декантировали. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, гептан/EtOAc 90/10). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(5-хлор-2-(2-этоксид-2-оксоэтил)фенокси)бутирата 11a (12,7 г).

Синтез промежуточного соединения 11b.

В колбу загружали 1,5 M LiHMDS в THF (23,5 мл, 35,3 ммоль) в потоке N₂ и раствор охлаждали до -78°C. Добавляли по каплям раствор трет-бутил-4-(5-хлор-2-(2-этоксид-2-оксоэтил)фенокси)бутирата 11a (6,3 г, 17,6 ммоль) в THF (60 мл) и смесь перемешивали при -78°C в течение 15 мин. Добавляли хлор-триметилсилан (3,6 мл, 28,3 ммоль). Через 15 мин при -78°C добавляли N-бромсукцинимид (3,77 г, 21,2 ммоль) в THF (40 мл) и смесь перемешивали при -70°C в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили водой и экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, промывали водой, высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением трет-бутил-4-(2-(1-бром-2-этоксид-2-оксоэтил)-5-хлорфенокси)бутирата 11b (7,6 г). Соединение применяли непосредственно на следующей стадии реакции без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 11c.

К раствору трет-бутил-4-(2-(1-бром-2-этоксид-2-оксоэтил)-5-хлорфенокси)бутирата 11b (7,6 г, 17,4 ммоль) в CH₃CN (140 мл) при комнатной температуре добавляли диизопропилэтиламин (4,8 мл, 27,9 ммоль) и 3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)анилин [CAS 1220630-56-7] (4 г, 20,9 ммоль). Смесь перемешивали при 65°C в течение 24 ч. Смесь разбавляли с помощью EtOAc, промывали с помощью 0,5н. HCl (дважды) и воды. Органический слой высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, градиент гептан/EtOAc от 85/15 до 70/30). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(5-хлор-2-(2-этоксид-1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксоэтил)фенокси)бутирата 11c (6,6 г).

Синтез промежуточного соединения 11d.

Смесь трет-бутил-4-(5-хлор-2-(2-этоксид-1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксоэтил)фенокси)бутирата 11c (6,6 г, 12,1 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (1,52 г, 36,3 ммоль) в THF/воде (1/1) (160 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавляли водой. Водный раствор медленно подкисляли с помощью 3н. HCl и экстрагировали с помощью EtOAc. Объединенные органические слои высушивали над MgSO₄, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением 2-(2-(4-(трет-бутоксид)-4-оксобутоксид)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 11d (6,2 г). Неочищенный продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 11e.

Смесь 6-(трифторметил)индолина [CAS 181513-29-1] (2 90 мг, 1,55 ммоль), 2-(2-(4-(трет-бутоксид)-4-оксобутоксид)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 11d (800 мг, 1,55 ммоль), HATU (880 мг, 2,32 ммоль) и диизопропилэтиламина (770 мкл, 4,64 ммоль) в DMF (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток кристаллизовали из диизопропилового эфира с получением трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутаноата 11e (500 мг).

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

Раствор трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутаноата 11e (500 мг, 0,729 ммоль) в 4 M HCl в диоксане (5 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 8 ч. Осадок отфильтровывали, промывали с помощью диоксана/диизопропилового эфира и высушивали с получением 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметил)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутановой кислоты 11 (430 мг, 0,4 H_2O (определено посредством титрования)) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения 11 разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 65% CO_2 , 35% EtOH). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (80 мг) посредством титрования с помощью петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 11A (65 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (126 мг) посредством титрования с помощью петролейного эфира/диизопропилового эфира с получением энантиомера 11B (110 мг).

Соединение 11.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,94-2,02 (m, 2H) 2,31-2,42 (m, 2H) 3,15-3,35 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,01-4,24 (m, 3H) 4,22-4,49 (m, 1H) 5,73 (s, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,82 (s, 1H) 7,02 (dd, $J=8,1, 2,0$ Гц, 1H) 7,13 (d, $J=2,0$ Гц, 1H) 7,33 (d, $J=8,0$ Гц, 1H) 7,38 (d, $J=7,6$ Гц, 1H) 7,45 (d, $J=7,6$ Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,38 (s, 1H) 9,15 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,70 мин, MH^+ 630.

Энантиомер 11A.

1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,98 (br s, 2H) 2,28-2,45 (m, 2H) 3,13-3,29 (m, 2H) 3,74 (s, 3H) 4,02-4,17 (m, 3H) 4,36-4,44 (m, 1H) 5,74 (br d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,35 (br s, 1H) 6,68 (s, 1H) 6,80-6,88 (m, 2H) 7,03 (br d, $J=7,9$ Гц, 1H) 7,14 (s, 1H) 7,33 (d, $J=7,8$ Гц, 1H) 7,37-7,40 (m, 1H) 7,46 (br d, $J=7,6$ Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,39 (s, 1H) 9,16 (s, 1H) 12,13 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,79 мин, MH^+ 630.

$[\alpha]_D^{20}$: -28,9° (с 0,26, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-G): R_t 3,31 мин, MH^+ 630, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 11B.

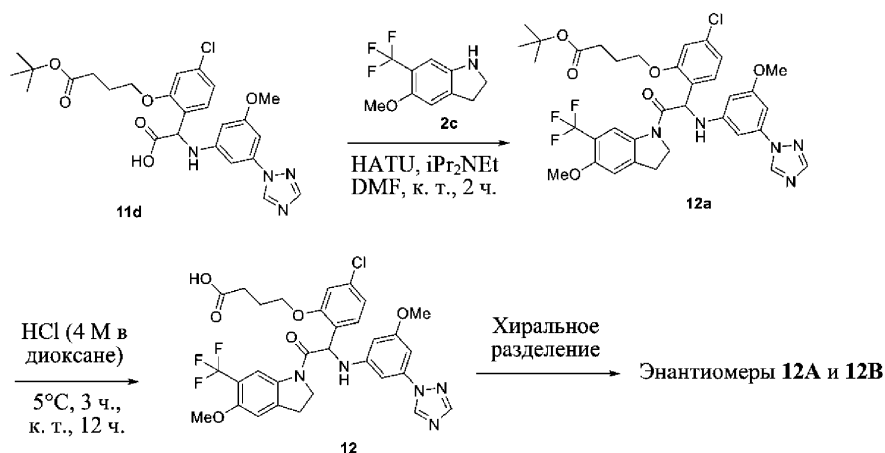
1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,91-2,04 (m, 2H) 2,28-2,46 (m, 2H) 3,16-3,30 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,02-4,18 (m, 3H) 4,35-4,44 (m, 1H) 5,73 (br d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,34 (br s, 1H) 6,68 (s, 1H) 6,80-6,87 (m, 2H) 7,02 (br d, $J=7,9$ Гц, 1H) 7,13 (s, 1H) 7,31-7,41 (m, 2H) 7,45 (br d, $J=7,9$ Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,38 (s, 1H) 9,16 (s, 1H) 12,13 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,79 мин, MH^+ 630.

$[\alpha]_D^{20}$: +23, 8° (с 0,29, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-G): R_t 4,32 мин, MH^+ 630, хиральная чистота 100%.

Пример 12. Синтез 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутановой кислоты (соединение 12) и хиральное разделение на энантиомеры 12A и 12B.



Синтез промежуточного соединения 12а.

Смесь 5-метокси-6-(трифторметил)индолина 2с (630 мг, 2,9 ммоль), 2-(2-(4-(трет-бутоксид)-4-оксобутоксид)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 11d (1,5 г, 2,9 ммоль), HATU (1,65 г, 4,35 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,45 мл, 8,7 ммоль) в DMF (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический раствор промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, гептан/EtOAc 60/40). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением, после кристаллизации из эфира/диизопропилового эфира, трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутаноата 12а (1,45 г).

Синтез соединения 12 и хиральное разделение на энантиомеры 12А и 12В.

Раствор трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутаноата 12а (1,45 г, 2,03 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (12 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали с помощью диоксана/диизопропилового эфира и высушивали с получением неочищенного соединения 12 (1,02 г). Небольшую часть (90 мг) дополнительно очищали посредством ахиральной SFC (неподвижная фаза: 2-этилпиридин, 6 мкм, 150×21,2 мм, подвижная фаза: 60% CO_2 , 40% $i\text{PrOH}$) с получением, после отверждения посредством растирания с CH_3CN /диизопропиловым эфиром, 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1Н-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(5-метокси-6-(трифторметил)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутановой кислоты 12 (70 мг) в виде рацемата. Оставшееся количество применяли для разделения энантиомеров.

Энантиомеры соединения 12 разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AS-H, 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 63% CO_2 , 37% $i\text{PrOH}$). Первый элюированный энантиомер (458 мг) перемешивали в смеси 1н. HCl и EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка путем растирания с диизопропиловым эфиром/петролевым эфиром с получением энантиомера 12А (270 мг). Второй элюированный энантиомер (405 мг) перемешивали в смеси 1н. HCl и EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Обеспечивали затвердевание остатка путем растирания с диизопропиловым эфиром/петролевым эфиром с получением энантиомера 12В (272 мг).

Соединение 12.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,95-2,04 (m, 2H) 2,31-2,45 (m, 2H) 3,15-3,28 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,84 (s, 3H) 3,98-4,17 (m, 3H) 4,33-4,41 (m, 1H) 5,70 (br d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,33 (s, 1H) 6,66 (s, 1H) 6,77-6,83 (m, 2H) 7,01 (br d, $J=8,6$ Гц, 1H) 7,12 (s, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,33 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 8,15 (s, 1H) 8,34 (s, 1H) 9,13 (s, 1H) 12,07 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,72 мин, MH^+ 660.

Энантиомер 12А.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,94-2,05 (m, 2H) 2,31-2,46 (m, 2H) 3,16-3,31 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,85 (s, 3H) 3,99-4,18 (m, 3H) 4,38 (td, $J=10,2, 6,5$ Гц, 1H) 5,71 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,82 (s, 1H) 6,83 (d, $J=9,5$ Гц, 1H) 7,02 (dd, $J=8,2, 1,6$ Гц, 1H) 7,13 (s, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,33 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,34 (s, 1H) 9,15 (s, 1H) 12,11 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,70 мин, MH^+ 660.

$[\alpha]_D^{20}$: +30,4° (с 0,257, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-H): R_t 3,71 мин, MH^+ 660, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 12В.

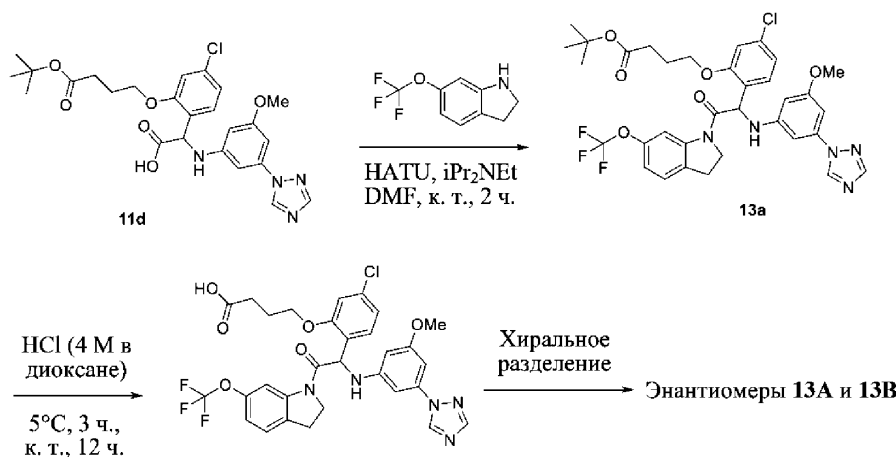
^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,91-2,08 (m, 2H) 2,32-2,44 (m, 2H) 3,16-3,31 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,85 (s, 3H) 3,99-4,17 (m, 3H) 4,38 (td, $J=10,3, 6,6$ Гц, 1H) 5,71 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,79-6,85 (m, 2H) 7,02 (d, $J=8,1$ Гц, 1H) 7,13 (s, 1H) 7,23 (s, 1H) 7,33 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 8,16 (s, 1H) 8,34 (s, 1H) 9,15 (s, 1H) 12,12 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A) : R_t 2,70 мин, MH^+ 630.

$[\alpha]_D^{20}$: -36,9° (с 0,287, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-H): R_t 5,91 мин, MH^+ 660, хиральная чистота 100%.

Пример 13. Синтез 4-(5-хлор-2-(1-(3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутановой кислоты (соединение 13) и хиральное разделение на энантиомеры 13А и 13В.



Синтез промежуточного соединения 13а.

Смесь 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (590 мг, 2,9 ммоль), 2-(2-(4-(трет-бутоксид)-4-оксобутоксид)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 11d (1,5 г, 2,9 ммоль), HATU (1,65 г, 4,35 ммоль) и диизопропилэтиламина (1,45 мл, 8,7 ммоль) в DMF (60 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический слой промывали водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 120 г, гептан/EtOAc 60/40). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением, после кристаллизации из эфира/диизопропилового эфира, трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-(3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутаноата 13а (1,05 г).

Синтез соединения 13 и хиральное разделение на энантиомеры 13А и 13В.

Раствор трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-(3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутаноата 13а (1,05 г, 1,50 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (9,5 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали с помощью диоксана/диизопропилового эфира и высушивали с получением 4-(5-хлор-2-(1-(3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)бутановой кислоты 13 (965 мг, 0,23 H_2O (определено посредством титрования)) в виде рацемата.

Энантиомеры соединения 13 разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AS-H, 5 мкм, 250×20 мм, подвижная фаза: 80% CO_2 , 20% EtOH). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (390 мг) посредством растирания с петролевым эфиром/диизопропиловым эфиром с получением энантиомера 13А (260 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (350 мг) посредством растирания с петролевым эфиром/диизопропиловым эфиром с получением энантиомера 13В (188 мг).

Соединение 13.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,94-2,03 (m, 2H) 2,33-2,41 (m, 2H) 3,10-3,24 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,04-4,26 (m, 3H) 4,39 (td, $J=10,2, 6,5$ Гц, 1H) 5,71 (s, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,81 (s, 1H) 6,99-7,07 (m, 2H) 7,13 (d, $J=1,6$ Гц, 1H) 7,27-7,39 (m, 2H) 8,04 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,15 (s, 1H) 12,08 (br s, 1H)

LC/MS (способ LC-B): R_t 2,73 мин, MH^+ 646.

Энантиомер 13А.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ ppm 1,93-2,03 (m, 2H) 2,34-2,47 (m, 2H) 3,13-3,21 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,03-4,17 (m, 3H) 4,39 (td, $J=10,1, 6,6$ Гц, 1H) 5,72 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,68 (s, 1H) 6,82 (s, 1H) 6,87 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,02 (t, $J=8,4$ Гц, 1H) 7,13 (s, 1H) 7,27-7,39 (m, 2H) 8,04 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,15 (s, 1H) 12,10 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,83 мин, MH^+ 646.

$[\alpha]_D^{20}$: +38,4° (с 0,276, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-I): R_t 4,96 мин, MH^+ 646, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 13B.

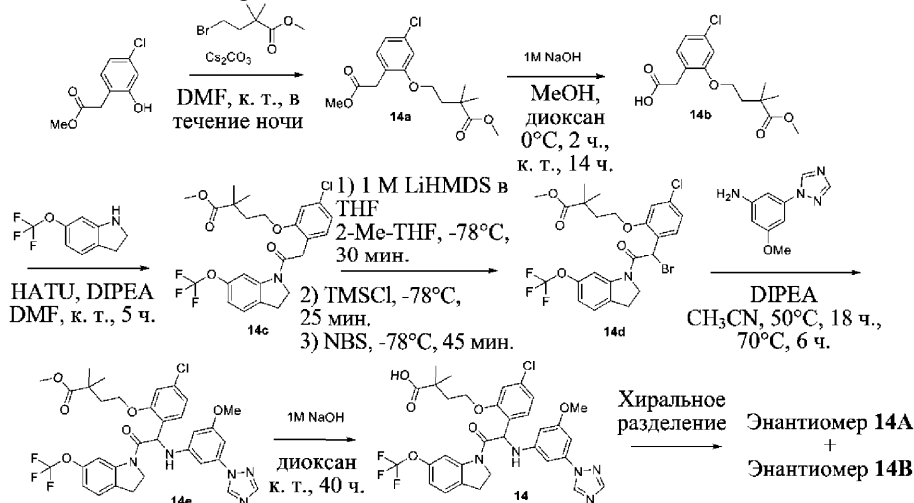
1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,91-2,02 (m, 2H) 2,33-2,41 (m, 2H) 3,10-3,24 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,04-4,17 (m, 3H) 4,39 (td, $J=10,1$, 6,6 Гц, 1H) 5,72 (d, $J=8,5$ Гц, 1H) 6,35 (s, 1H) 6,68 (s, 1H) 6,81-6,89 (m, 2H) 6,99-7,05 (m, 2H) 7,12-7,15 (m, 1H) 7,27-7,40 (m, 2H) 8,04 (s, 1H) 8,16 (s, 1H) 9,16 (s, 1H) 12,11 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,83 мин, MH^+ 646.

$[\alpha]_D^{20}$: -43,2° (с 0,273, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-I): R_t 6,56 мин, MH^+ 646, хиральная чистота 100%.

Пример 14. Синтез 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)-2,2-диметилбутановой кислоты (соединение 14) и хиральное разделение на энантиомеры 14A и 14B.



Синтез промежуточного соединения 14a.

К смеси метил-2-(4-хлор-2-гидроксифенил)ацетата [CAS 518979-09-4] (1 г, 4,99 ммоль) и карбоната цезия (3,25 г, 9,97 ммоль) в DMF (30 мл) добавляли метил-4-бром-2,2-диметилбутаноат [CAS 4833-99-2] (1,09 г, 5,23 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч, реакционную смесь выливали в перемешиваемую воду (150 мл) и продукт экстрагировали (2×) с помощью Et₂O. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Продукт кристаллизовался при отстаивании при комнатной температуре. Твердый остаток перемешивали в 5 мл диизопропилового эфира. Осадок отфильтровывали, промывали (3×) диизопропиловым эфиром и высушивали под вакуумом при 45°C с получением метил-4-(5-хлор-2-(2-метокси-2-оксоэтил)фенокси)-2,2-диметилбутаноата 14a (0,897 г).

Синтез промежуточного соединения 14b.

Раствор метил-4-(5-хлор-2-(2-метокси-2-оксоэтил)фенокси)-2,2-диметилбутаноата 14a (0,897 г, 2,73 ммоль) в смеси растворителей MeOH (10 мл) и диоксана (5 мл) охлаждали на ледяной бане. При 0°C осторожно добавляли 1 M NaOH (2,73 мл, 2,73 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч и при комнатной температуре в течение 14 ч. Реакционную смесь выливали в воду (50 мл), перемешивали в течение 15 мин и оставляли отстояться в течение 30 мин. Твердую фракцию (непрореагировавшее промежуточное соединение 14a) отфильтровывали и промывали (3×) водой. Объединенные фильтраты подкисляли посредством добавления по каплям 1н. HCl (2,8 мл) при перемешивании. Через 10 мин осадок отфильтровывали, промывали (3×) водой и высушивали под вакуумом при 45°C с получением 2-(4-хлор-2-(4-метокси-3,3-диметил-4-оксобутоксифенил)уксусной кислоты 14b (0,576 г).

Синтез промежуточного соединения 14c.

К перемешиваемому раствору 2-(4-хлор-2-(4-метокси-3,3-диметил-4-оксобутоксифенил)уксусной кислоты 14b (576 мг, 1,83 ммоль), 6-(трифторметокси)индолина [CAS 959235-95-1] (409 мг, 2,01 ммоль) и диизопропилэтиламина (907 мкл, 5,49 ммоль) в DMF (7,5 мл) в атм. N₂ добавляли HATU (1,07 г, 2,75 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Добавляли воду (30 мл) и продукт экстрагировали (2×) с помощью Et₂O.

Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (40 г) с применением градиента гептан/EtOAc от 100/0 до 0/100. Требуемые фракции объединяли, и выпаривали при пониженном давлении, и выпаривали совместно с толуолом. Остаток высушивали под вакуумом при 45°C с получением метил-4-(5-хлор-2-(2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-

ил)этил)фенокси)-2,2-диметилбутаноата 14с (790 мг) в виде порошка.

Синтез промежуточного соединения 14d.

Раствор метил-4-(5-хлор-2-(2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)-2,2-диметилбутаноата 14с (790 мг, 1,58 ммоль) в 2-Ме-THF (30 мл) перемешивали в потоке N_2 и охлаждали до $-78^\circ C$. 1 М раствор бис(триметилсилил)амида лития в THF (3,16 мл, 3,16 ммоль) добавляли по каплям и полученную смесь перемешивали при $-78^\circ C$ в течение 30 мин. Хлортриметилсилан (323 мкл, 2,53 ммоль) добавляли по каплям и смесь перемешивали при $-78^\circ C$ в течение 25 мин. Раствор N-бромсукцинимид (352 мг, 1,98 ммоль) в 2-Ме-THF (7,5 мл) и THF (2,5 мл) добавляли по каплям и реакционную смесь перемешивали при $-78^\circ C$ в течение 45 мин. Водный насыщенный раствор NH_4Cl (50 мл) медленно добавляли, и полученную смесь перемешивали без охлаждения до достижения температуры $0^\circ C$. Добавляли воду (10 мл) и после перемешивания в течение 30 мин слои разделяли. Органический слой высушивали над $MgSO_4$, фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с CH_3CN с получением метил-4-(2-(1-бром-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)-5-хлорфенокси)-2,2-диметилбутаноата 14d (915 мг). Продукт применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Синтез промежуточного соединения 14е.

К перемешиваемому раствору метил-4-(2-(1-бром-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)-5-хлорфенокси)-2,2-диметилбутаноата 14d (915 мг, 1,58 ммоль) в CH_3CN (40 мл) в атм. N_2 добавляли 3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)анилин [CAS 1220630-56-7] (301 мг, 1,58 ммоль) и диизо-пропилэтиламин (545 мкл, 3,16 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при $50^\circ C$ в течение 18 ч и $70^\circ C$ в течение 6 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и выливали в перемешиваемую H_2O (200 мл). Продукт экстрагировали (2×) с помощью Et_2O . Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (40 г) с применением градиента гептан/ $EtOAc$ / $EtOH$ от 100/0/0 до 40/45/15. Требуемые фракции объединяли, и растворитель выпаривали при пониженном давлении, и выпаривали совместно с диоксаном с получением метил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)-2,2-диметилбутаноата 14е (1,09 г). Продукт применяли на следующей стадии без очистки.

Синтез соединения 14 и хиральное разделение на энантиомеры 14А и 14В.

1 М $NaOH$ (3,95 мл, 3,95 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору метил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)-2,2-диметилбутаноата 14е (1,09 г, 1,58 ммоль) в диоксане (6,5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 ч. Добавляли воду (21 мл) и 1н. HCl (4,1 мл) и после перемешивания в течение 10 мин осадок отфильтровывали и промывали (3×) водой. Твердый остаток (0,9 г) перемешивали в CH_2Cl_2 (7,5 мл) в течение 45 мин, отфильтровывали, промывали (3×) с помощью CH_2Cl_2 и высушивали под вакуумом при $45^\circ C$ с получением рацемической 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксо-2-(6-(трифторметокси)индолин-1-ил)этил)фенокси)-2,2-диметилбутановой кислоты (соединение 14, 590 мг).

Энантиомеры соединения 14 (557 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® Diacel AD, 20×250 мм, подвижная фаза: CO_2 , $EtOH$ +0,4% $iPrNH_2$). Фракции, содержащие первый элюированный продукт, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с CH_3CN . Остаток кристаллизовали из Et_2O /гептана 3/1, отфильтровывали, промывали (3×) с помощью Et_2O и высушивали под вакуумом при $50^\circ C$ с получением энантиомера 14А (96 мг). Фракции, содержащие второй элюированный продукт, объединяли, выпаривали при пониженном давлении и выпаривали совместно с CH_3CN . Остаток кристаллизовали из Et_2O , отфильтровывали, промывали (3×) с помощью Et_2O и высушивали под вакуумом при $50^\circ C$ с получением энантиомера 14В (35 мг+106 мг (вторая серия)).

Соединение 14.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,11 (d, J=5, 1 Гц, 6H) 1,86-2,03 (m, 2H) 3,09-3,28 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,01-4,18 (m, 3H) 4,38 (td, J=10,2, 6,6 Гц, 1H) 5,69 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,33 (t, J=2,0 Гц, 1H) 6,67 (t, J=1,9 Гц, 1H) 6,79-6,86 (m, 2H) 6,97-7,05 (m, 2H) 7,18 (d, J=1,8 Гц, 1H) 7,31 (d, J=8,1 Гц, 1H) 7,34 (d, J=8,1 Гц, 1H) 8,03 (br s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,14 (s, 1H) 12,25 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-C): R_t 1,12 мин, MH^+ 674.

Энантиомер 14А.

1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,11 (d, J=5,1 Гц, 6H) 1,87-2,02 (m, 2H) 3,09-3,26 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,02-4,18 (m, 3H) 4,37 (td, J=10,2, 6,6 Гц, 1H) 5,69 (d, J=8,8 Гц, 1H) 6,33 (t, J=2,2 Гц, 1H) 6,67 (t, J=1,8 Гц, 1H) 6,79-6,86 (m, 2H) 6,99-7,04 (m, 2H) 7,18 (d, J=2,0 Гц, 1H) 7,31 (d, J=8,1 Гц, 1H) 7,34 (d, J=8,4 Гц, 1H) 8,03 (br s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,14 (s, 1H) 12,25 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-D): R_t 2,09 мин, MH^+ 674.

$[\alpha]_D^{20}$: $-32,8^\circ$ (с 0,528, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-K): R_t 3,63 мин, MH^+ 674, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 111°C.

Энантиомер 14B.

1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,11 (d, $J=5,1$ Гц, 6H) 1,87-2,02 (m, 2H) 3,10-3,27 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,03-4,18 (m, 3H) 4,38 (td, $J=10,2, 6,5$ Гц, 1H) 5,69 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,33 (t, $J=1,9$ Гц, 1H) 6,67 (t, $J=1,9$ Гц, 1H) 6,79-6,86 (m, 2H) 6,98-7,05 (m, 2H) 7,18 (d, $J=1,8$ Гц, 1H) 7,31 (d, $J=8,4$ Гц, 1H) 7,34 (d, $J=8,1$ Гц, 1H) 8,03 (br s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,14 (s, 1H) 12,25 (br s, 1H).

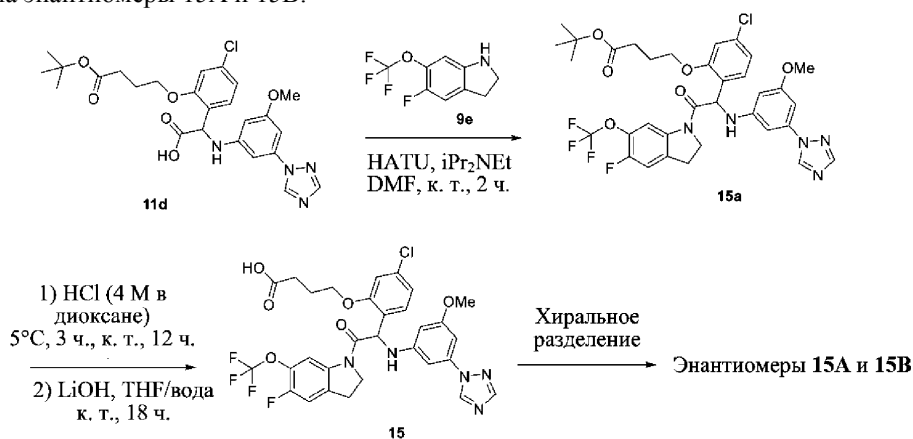
LC/MS (способ LC-D): R_t 2,08 мин, MH^+ 674.

$[\alpha]_D^{20}$: +32,8° (с 0,515, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-K): R_t 4,22 мин, MH^+ 674, хиральная чистота 100%.

Температура плавления: 177°C.

Пример 15. Синтез 4-(5-хлор-2-(2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксоэтил)фенокси)бутановой кислоты (соединение 15) и хиральное разделение на энантиомеры 15A и 15B.



Синтез промежуточного соединения 15a.

Смесь 5-фтор-6-(трифторметокси)индолина 9e (321 мг, 1,45 ммоль), 2-(2-(4-(трет-бутоксид)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 11d (750 мг, 1,45 ммоль), HATU (827 мг, 2,18 ммоль) и диизопропилэтиламина (719 мкл, 4,35 ммоль) в DMF (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический раствор промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, водой, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, $CH_2Cl_2/MeOH$ 98/2). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(5-хлор-2-(2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксоэтил)фенокси)бутаноата 15a (1,05 г).

Синтез соединения 15 и хиральное разделение на энантиомеры 15A и 15B.

Раствор трет-бутил-4-(5-хлор-2-(2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксоэтил)фенокси)бутаноата 15a (1,05 г, 1,46 ммоль) в 4 М HCl в диоксане (8 мл) перемешивали при 5°C в течение 3 ч и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали с помощью диоксана/диизопропилового эфира и высушивали. Остаток (580 мг) растворяли в THF (2,5 мл) и добавляли по каплям раствор моногидрата гидроксида лития (180 мг, 4,277 ммоль) в воде (2,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и добавляли воду и лед. pH регулировали до 6 посредством добавления 3н. HCl. Продукт экстрагировали с помощью EtOAc. Органический слой отделяли, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Небольшую фракцию остатка кристаллизовали из CH_2Cl_2 с получением 4-(5-хлор-2-(2-(5-фтор-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-оксоэтил)фенокси)бутановой кислоты 15 (24 мг) в виде рацемата. Оставшееся количество дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20-45 мкм, 24 г, градиент $CH_2Cl_2/MeOH$ от 99,5/0,5 до 90/10). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением второй фракции соединения 15 (382 мг).

Энантиомеры соединения 15 (382 мг) разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralcel® OD-H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 75% CO_2 , 25% MeOH (+0,3% $iPrNH_2$)). Обеспечивали затвердевание первого элюированного энантиомера (178 мг) посредством титрования с помощью гептана/диизопропилового эфира с получением энантиомера 15A (140 мг). Обеспечивали затвердевание второго элюированного энантиомера (187 мг) посредством титрования с помощью гептана/диизопропилового эфира с получением энантиомера 15B (136 мг).

Соединение 15.

^1H ЯМР (500 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,90-2,04 (m, 2H) 2,28-2,46 (m, 2H) 3,11-3,28 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,03-4,18 (m, 3H) 4,33-4,42 (m, 1H) 5,71 (d, $J=8,8$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,81 (s, 1H) 6,87 (br d, $J=8,8$ Гц, 1H) 7,02 (dd, $J=8,2$, 1,9 Гц, 1H) 7,12 (s, 1H) 7,31 (d, $J=8,2$ Гц, 1H) 7,43 (d, $J=9,8$ Гц, 1H) 8,12-8,20 (m, 2H) 9,16 (s, 1H) 12,12 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 2,72 мин, MH^+ 664.

Температура плавления: 188°C.

Энантиомер 15A.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,88-2,12 (m, 2H) 2,19-2,42 (m, 2H) 2,96-3,24 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 3,89-4,16 (m, 3H) 4,25-4,43 (m, 1H) 5,72 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,66 (s, 1H) 6,79-6,86 (m, 2H) 7,01 (dd, $J=8,3$, 1,8 Гц, 1H) 7,09-7,14 (m, 1H) 7,32 (d, $J=8,1$ Гц, 1H) 7,41 (d, $J=9,6$ Гц, 1H) 8,12-8,17 (m, 2H) 9,16 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 2,75 мин, MH^+ 664.

$[\alpha]_D^{20}$: -31,5° (с 0,267, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-J): R_t 2,66 мин, MH^+ 664, хиральная чистота 99,69%.

Энантиомер 15B.

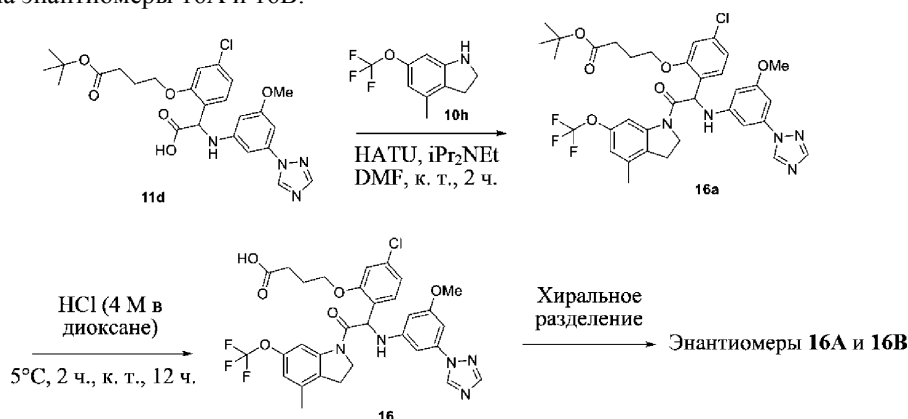
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ ppm 1,88-2,04 (m, 2H) 2,22-2,43 (m, 2H) 3,12-3,40 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 4,03-4,17 (m, 3H) 4,33-4,43 (m, 1H) 5,72 (d, $J=8,6$ Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,78-6,87 (m, 2H) 7,01 (dd, $J=8,3$, 1,8 Гц, 1H) 7,09-7,13 (m, 1H) 7,32 (d, $J=8,1$ Гц, 1H) 7,41 (d, $J=9,6$ Гц, 1H) 8,12-8,18 (m, 2H) 9,16 (s, 1H).

LC/MS (способ LC-B): R_t 2,73 мин, MH^+ 664.

$[\alpha]_D^{20}$: +28,2° (с 0,262, DMF).

Хиральная SFC (способ SFC-J): R_t 3,53 мин, MH^+ 664, хиральная чистота 98,93%.

Пример 16. Синтез 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутановой кислоты (соединение 16) и хиральное разделение на энантиомеры 16A и 16B.



Синтез промежуточного соединения 16a.

Смесь 4-метил-6-(трифторметокси)индолина 10h (336 мг, 1,55 ммоль), 2-(2-(4-(трет-бутоксид)-4-оксобутоксид)-4-хлорфенил)-2-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)уксусной кислоты 11d (800 мг, 1,55 ммоль), HATU (883 мг, 2,32 ммоль) и диизопропилэтиламина (767 мкл, 4,64 ммоль) в DMF (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь разбавляли водой. Осадок отфильтровывали, промывали водой и поглощали с помощью EtOAc. Органический раствор промывали с помощью 10% раствора K_2CO_3 в воде, водой, высушивали над MgSO_4 , фильтровали и растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (15-40 мкм, 40 г, градиент гептан/EtOAc от 90/10 до 70/30). Чистые фракции объединяли и концентрировали до сухого состояния с получением трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутаноата 16a (816 мг).

Синтез соединения 16 и хиральное разделение на энантиомеры 16A и 16B.

Раствор трет-бутил-4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутаноата 16a (816 мг, 1,14 ммоль) в 4 M HCl в диоксане (7 мл) перемешивали при 5°C в течение 2 ч и при комнатной температуре в течение 12 ч. Осадок отфильтровывали, промывали с помощью диоксана/диизопропилового эфира и высушивали. Остаток очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (20-45 мкм, 40 г, градиент $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ от 100/0 до 95/5). Чистые фракции объединяли и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением, после кристаллизации из CH_3CN /диизопропилового эфира, 4-(5-хлор-2-(1-((3-метокси-5-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)фенил)амино)-2-(4-метил-6-(трифторметокси)индолин-1-ил)-2-оксоэтил)фенокси)бутановой кислоты 16 (495 мг).

Энантиомеры соединения 16 разделяли посредством препаративной хиральной SFC (неподвижная фаза: Chiralpak® AD-H, 5 мкм, 250×30 мм, подвижная фаза: 65% CO₂, 35% iPrOH (+0,3% iPrNH₂)). Первый элюированный энантиомер (145 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (10-40 мкм, 24 г, CH₂Cl₂/MeOH 98/2). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением после отверждения путем растирания с диизопропиловым эфиром/пентаном энантиомера 16A (99 мг). Второй элюированный энантиомер (149 мг) дополнительно очищали посредством флэш-хроматографии на силикагеле (10-40 мкм, 24 г, CH₂Cl₂/MeOH 98/2). Чистые фракции объединяли и растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением после отверждения путем растирания с диизопропиловым эфиром/пентаном энантиомера 16B (95 мг).

Соединение 16.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,91-2,05 (m, 2H) 2,20 (s, 3H) 2,29-2,43 (m, 2H) 3,01-3,27 (m, 2H) 3,72 (s, 3H) 4,02-4,18 (m, 3H) 4,35-4,44 (m, 1H) 5,71 (br d, J=8,6 Гц, 1H) 6,34 (br s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,78-6,90 (m, 3H) 7,01 (br d, J=7,1 Гц, 1H) 7,12 (s, 1H) 7,31 (d, J=8,1 Гц, 1H) 7,88 (br s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,14 (s, 1H) 12,07 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,93 мин, MH⁺ 660.

Температура плавления: 214°C.

Энантиомер 16A.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,92-2,04 (m, 2H) 2,20 (s, 3H) 2,30-2,44 (m, 2H) 2,99-3,16 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,04-4,17 (m, 3H) 4,35-4,44 (m, 1H) 5,71 (br d, J=8,6 Гц, 1H) 6,34 (br s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,79-6,89 (m, 3H) 7,02 (br d, J=8,6 Гц, 1H) 7,12 (s, 1H) 7,32 (d, J=8,1 Гц, 1H) 7,89 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,14 (s, 1H) 12,09 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,94 мин, MH⁺ 660.

[α]_D²⁰: -35,4° (с 0,263, DMF).

Хиральная SFC(способ SFC-F): R_t 1,61 мин, MH⁺ 660, хиральная чистота 100%.

Энантиомер 16B.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ ppm 1,91-2,04 (m, 2H) 2,20 (s, 3H) 2,30-2,44 (m, 2H) 3,00-3,15 (m, 2H) 3,73 (s, 3H) 4,03-4,17 (m, 3H) 4,35-4,44 (m, 1H) 5,71 (d, J=8,6 Гц, 1H) 6,34 (s, 1H) 6,67 (s, 1H) 6,79-6,89 (m, 3H) 7,02 (dd, J=8,1, 1,5 Гц, 1H) 7,10-7,14 (m, 1H) 7,32 (d, J=8,59 Гц, 1H) 7,89 (s, 1H) 8,15 (s, 1H) 9,14 (s, 1H) 12,10 (br s, 1H).

LC/MS (способ LC-A): R_t 2,94 мин, MH⁺ 660.

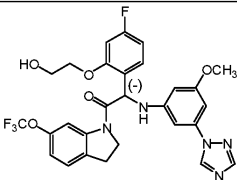
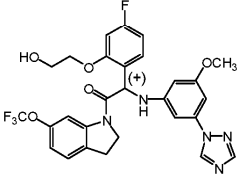
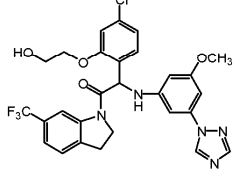
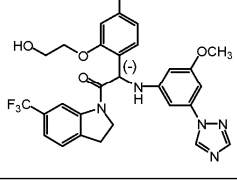
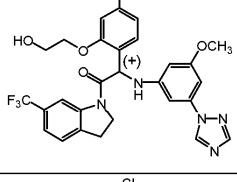
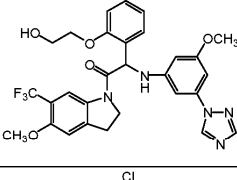
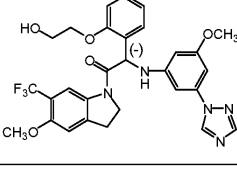
[α]_D²⁰: +34,3° (с 0,274, DMF).

Хиральная SFC(способ SFC-F): R_t 2,22 мин, MH⁺ 660, хиральная чистота 99,47%.

Таблица: соединения, полученные, как описано выше.

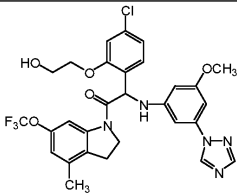
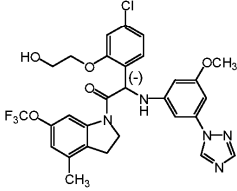
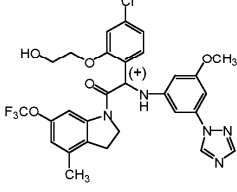
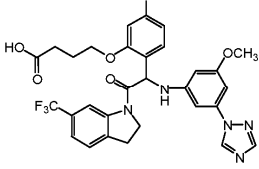
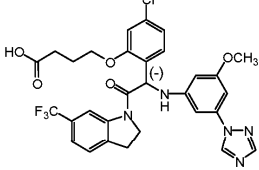
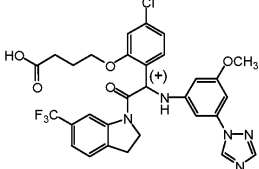
Соединение	Структура	Оптическое вращение

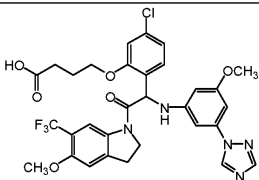
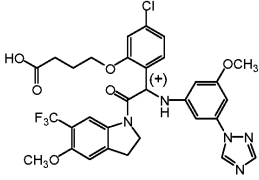
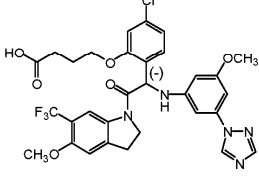
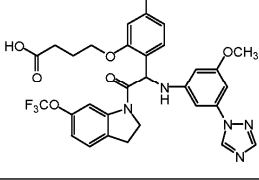
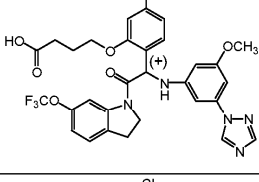
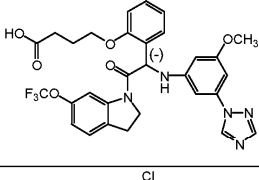
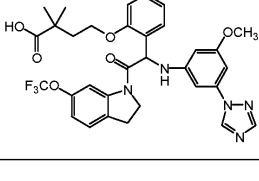
1		рацемическое
1A		$[\alpha]_D^{20} = -44,8^\circ$
1B		$[\alpha]_D^{20} = +36,2^\circ$
2		рацемическое
2A		$[\alpha]_D^{20} = -45,0^\circ$
2B		$[\alpha]_D^{20} = +43,4^\circ$
3		рацемическое

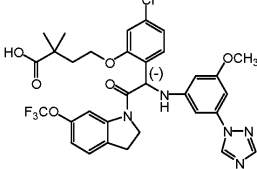
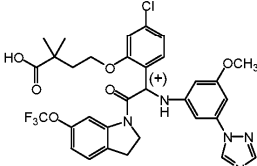
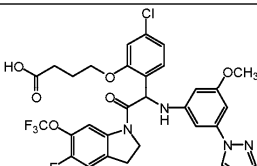
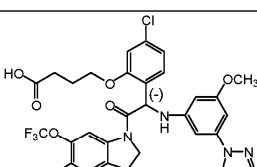
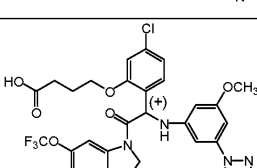
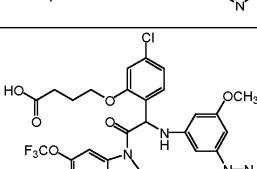
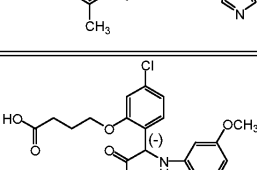
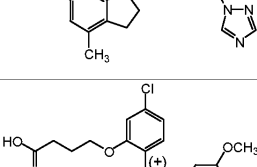
3A		$[\alpha]_D^{20} = -38,2^\circ$
3B		$[\alpha]_D^{20} = +40,9^\circ$
4		рацемическое
4A		$[\alpha]_D^{20} = -42,9^\circ$
4B		$[\alpha]_D^{20} = +39,5^\circ$
5		рацемическое
5A		$[\alpha]_D^{20} = -40,3^\circ$

5B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +40,0^{\circ}$
6		рацемическое
6A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45,9^{\circ}$
6B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -46,3^{\circ}$
7		рацемическое
7A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44,3^{\circ}$
7B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +35,6^{\circ}$

8		рацемическое
8A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +39,3^{\circ}$
8B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44,4^{\circ}$
9		рацемическое
9A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -35,1^{\circ}$
9B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +32,3^{\circ}$

10		рацемическое
10A		$[\alpha]_D^{20} = -38,4^\circ$
10B		$[\alpha]_D^{20} = +37,5^\circ$
11		рацемическое
11A		$[\alpha]_D^{20} = -28,9^\circ$
11B		$[\alpha]_D^{20} = +23,8^\circ$

12		рацемическое
12A		$[\alpha]_D^{20} = +30,4^\circ$
12B		$[\alpha]_D^{20} = -36,9^\circ$
13		рацемическое
13A		$[\alpha]_D^{20} = +38,4^\circ$
13B		$[\alpha]_D^{20} = -43,2^\circ$
14		рацемическое

14A		$[\alpha]_D^{20} = -32,8^\circ$
14B		$[\alpha]_D^{20} = +32,8^\circ$
15		рацемическое
15A		$[\alpha]_D^{20} = -31,5^\circ$
15B		$[\alpha]_D^{20} = +28,2^\circ$
16		рацемическое
16A		$[\alpha]_D^{20} = -35,4^\circ$
16B		$[\alpha]_D^{20} = +34,3^\circ$

Противовирусная активность соединений по настоящему изобретению.

Анализ противирусной активности в отношении DENV-2. Противирусную активность всех соединений по настоящему изобретению тестировали в отношении штамма 16681 DENV-2, который метили усиленным зеленым флуоресцентным белком (eGFP). Среда для культивирования состояла из минимальной поддерживающей среды, дополненной 2% термически инактивированной 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 25 мкл в 384-луночные планшеты (2500 клеток/луночка), которые уже содержали противирусные соединения. Как правило, эти планшеты содержали 5-кратные серийные разбавления 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 2,5-0,0000064 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 были добавлены в планшеты, планшеты инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре, что позволяло клеткам равномерно распределиться в лунках. Далее планшеты инкубировали в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO₂) до следующего дня. Затем штамм 16681 DENV-2, меченый eGFP, добавляли из расчета множественности заражения (MOI), составляющей 0,5. Таким образом, 15 мкл вирусной суспензии добавляли во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и во все 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% CO₂). 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 (EC₅₀). Таким образом, для каждой тестируемой концентрации рассчитывали процент ингибирования (I) с применением следующей формулы: $I = 100 \cdot (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$; S_T, S_{CC} и S_{VC} представляют собой уровень сигнала eGFP в лунках с тестируемыми соединениями, контролями с клетками и контролями с вирусом соответственно. EC₅₀ представляет собой концентрацию соединения, при которой репликация вируса ингибируется на 50%, что измерено по 50% снижению интенсивности флуоресценции eGFP по сравнению с контролем с вирусом. Рассчитывали EC₅₀ с применением линейной интерполяции (табл. 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-люциферинном. Планшеты инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Затем планшеты измеряли на ViewLux. Также определяли полумаксимальную цитотоксическую концентрацию (CC₅₀), 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. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений по настоящему изобретению в анализе противовирусной активности в отношении DENV-2

№ соединения	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1	0,0031	4	12	4	3350	4
1A	1,00	3	7,7	3	7,8	3
1B	0,0028	4	9,8	2	3530	2
2	0,0028	4	13	4	4000	4
2A	0,27	3	12	3	43	3
2B	0,0018	3	10	3	4180	3
3	0,0019	4	8,5	4	5210	4
3A	0,52	3	11	3	22	3
3B	0,00099	3	8,7	3	11400	3
4A	1,2	4	7,8	4	6,4	4
4B	0,0010	3	11	3	16100	3
5	0,00082	3	11	3	11200	3
5A	0,042	3	11	3	275	3
5B	0,00062	3	9,2	3	14400	3
6	0,00097	3	3,3	3	3370	3
6A	0,00059	9	8,5	9	14900	9
6B	0,092	7	7,3	7	79	7
7	0,0030	3	10	3	3410	3
7A	0,43	3	11	3	26	3
7B	0,0018	3	7,6	3	4180	3
8	0,0021	3	9,5	3	4410	3
8A	0,0015	3	12	3	7360	3
8B	0,25	3	12	3	47	3
9	0,0016	4	3,9	3	2850	3
9A	0,25	3	4,2	4	17	3
9B	0,00060	3	10	3	13800	3
10	0,00035	3	10	3	26600	3
10A	0,063	3	10	3	165	3
10B	0,00025	3	11	3	51400	3
11	0,00031	3	15	3	53500	3
11A	0,045	3	11	3	246	3
11B	0,00020	3	12	3	45200	3
12	0,0022	3	13	3	5660	3
12A	0,0012	3	13	3	11000	3
12B	0,32	3	12	3	37	3
13	0,00023	3	11	3	59500	3
13A	0,00012	4	12	4	103601	4
13B	0,012	3	12	3	972	3
14	0,00041	3	10	3	24900	3
14A	0,42	3	9,1	3	22	3
14B	0,00027	4	9,4	4	35500	4
15	0,00022	3	11	3	58700	3
15A	0,0053	3	10	3	1970	3
15B	0,00013	3	11	4	94800	3
16	0,00011	3	11	3	95800	3
16A	0,014	3	11	3	800	3
16B	0,000069	5	6,2	5	>174673	5

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

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

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 (β -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 β -актина. Для расчета EC_{50} применяют сравнительный способ $\Delta\Delta C_p$, который основан на относительной генной экспрессии гена-мишени (3'UTR), нормализованной по конститутивному гену клетки (β -актину). Кроме того, определяли значения CC_{50} на основании значений C_p , полученных для конститутивного гена β -актина.

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

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

^a - элементы, представляющие собой репортерные красители (FAM, HEX) и гасители люминесценции (ZEN и IABkFQ), выделены жирным и курсивом.

^b - нуклеотидную последовательность праймеров и зондов выбирали из консервативного участка в 3'UTR-участке генома вируса денге, исходя из выравнивания 300 нуклеотидных последовательностей четырех серотипов вируса денге, депонированных в Genbank (Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Chapter 16).

Среда для культивирования состояла из минимальной поддерживающей среды, дополненной 2% термически инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 0,04% гентамицина (50 мг/мл) и 2 мМ L-глутамин. Клетки Vero, полученные из ECACC, суспендировали в среде для культивирования и добавляли по 75 мкл/лунку в 96-луночные планшеты (10000 клеток/лунка), которые уже содержали противовирусные соединения. Как правило, эти планшеты содержали 5-кратные серийные разбавления из 9 стадий разбавления тестируемого соединения при 200-кратной конечной концентрации в 100% DMSO (500 нл; конечный диапазон концентраций: 25-0,000064 мкМ или 2,5-0,000064 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% CO₂) до следующего дня. Серотипы 1, 2, 3 и 4 вируса денге разбавляли с целью получения в анализе C_p , составляющего ~22-24. Таким образом, 25 мкл вирусной суспензии добавляли во все лунки, содержащие тестируемое соединение, и во все лунки, которые предназначались для контроля с вирусом. Одновременно добавляли по 25 мкл среды для культивирования к контролям с клетками. Далее планшеты инкубировали в течение 3 дней в термостате с полностью увлажненной атмосферой (37°C, 5% CO₂). Через 3 дня надосадочную жидкость удаляли из лунок и клетки дважды промывали ледяным PBS (~100 мкл). Клеточные осадки хранили в 96-луночных планшетах при -80°C в течение по меньшей мере 1 дня. Далее экстрагировали РНК с применением набора для лизирования Cells-to-CT™ 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 готовили смесь А (табл. 3А) и распределяли ее по 7,57 мкл/лунка в 96-луночный планшет. После добавления 5 мкл клеточных лизатов осуществляли пятиминутную стадию денатурации при 75°C (табл. 3В). После этого добавляли 7,43 мкл смеси В (табл. 3С) и инициировали стадию обратной транскрипции (табл. 3Д) для получения 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

денатурация, смесь В и обратной транскрипция

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 ₂ 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 денатурации

В

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 ₂	мМ	25,00	3,50	2,80	2419,2
dNTP	мМ	10,00	1,00	2,00	1728,0
Ингибитор РНКазы	Ед./мкл	40,00	1,00	0,50	432,0
Expand RT	Ед./мкл	50,00	0,33	0,13	112,3
			Общий объем смеси (мкл)	7,43	

Протокол синтеза кДНК

D

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

Таблица 4. Смесь для qPCR и протокол

А Смесь С

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

Протокол

В qPCR3

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

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

№ соединения	Протокол А					
	RT-qPCR TC974#666 серотипа 1					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1B	0,0015	4	>2,5	4	>2290	4
2B	0,0060	5	>2,5	5	>744	5
3B	0,0024	3	>2,5	2	>1550	2
4B	0,00057	4	>2,5	4	>8060	4
5B	0,0020	4	>2,5	4	>981	4
6A	0,00064	4	>2,5	4	>10900	4
7B	0,00088	3	>2,5	3	>6750	3
8A	0,0020	3	>2,5	3	>1570	3
9B	0,00099	3	>2,5	3	>2860	3
10B	0,00036	3	>2,5	3	>8670	3
11B	0,000095	3	>2,5	3	>41800	3
12A	0,0021	3	11	3	3850	3
13A	0,00012	3	>2,5	3	>32500	3
14B	0,00022	3	2,3	3	8720	3
15B	0,00013	3	4,9	3	46500	3
16B	0,000092	3	>1,0	3	>23100	3

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

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

№ соединения	Протокол А					
	RT-qPCR 16681 серотипа 2					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1B	0,0024	3	>2,5	1	>1480	1
2B	0,0021	3	4,3	3	2070	3
3B	0,0014	3	13	3	5680	3
4B	0,00045	3	2,4	3	6270	3
5B	0,00052	3	2,8	3	6730	3
6A	0,00049	5	11	5	18700	5
7B	0,0019	3	>2,5	2	>9150	2
8A	0,00038	3	>0,99	3	3620	3
9B	0,00047	3	>2,5	2	>4250	2
10B	0,00015	3	>1,0	3	>10700	3
11B	0,000059	3	5,0	3	64900	3
12A	0,00042	3	14	3	19800	3
13A	0,000057	3	>2,5	3	>53100	3
14B	0,00016	4	2,6	3	>9320	3
15B	0,000100	3	6,3	4	>22600	3
16B	0,000055	3	>1,0	3	>44200	3

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

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

№ соединения	Протокол А					
	RT-qPCR H87 серотипа 3					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1B	0,025	3	>2,5	3	>123	3
2B	0,038	4	>2,5	4	>118	4
3B	0,023	3	>2,5	3	>136	3
4B	0,011	3	2,3	3	228	3
5B	0,015	4	>2,2	4	>116	4
6A	0,0081	4	>2,5	4	>227	4
7B	0,013	3	>2,5	3	>259	3
8A	0,015	3	>2,5	3	>203	3
9B	0,0064	4	>1,0	1	>103	1
10B	0,0059	3	>2,5	3	>414	3
11B	0,0065	3	>2,5	3	>991	3
12A	0,036	3	12	3	304	3
13A	0,0018	3	>2,5	3	>1580	3
14B	0,0055	3	>2,5	3	>644	3
15B	0,0028	3	5,8	3	3130	3
16B	0,00087	3	>1,0	3	>1780	3

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

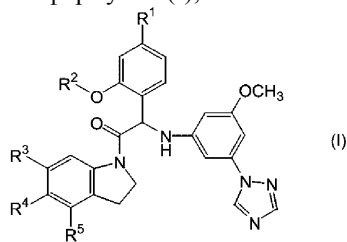
Таблица 8. EC₅₀, CC₅₀ и SI для соединений против серотипа 4 в анализах RT-qPCR

№ соединения	Протокол А					
	RT-qPCR H241 серотипа 4					
	EC ₅₀ (мкМ)	N	CC ₅₀ (мкМ)	N	SI	N
1В	0,18	3	2,2	2	10	2
2В	0,15	3	>2,5	3	>11	3
3В	0,098	3	>2,5	2	>25	2
4В	0,076	3	1,8	3	23	3
5В	0,090	3	>2,5	2	>33	2
6А	0,060	6	>2,5	4	>53	4
7В	0,12	3	1,1	3	10	3
8А	0,056	3	1,1	2	21	2
9В	0,087	3	2,5	3	27	3
10В	0,032	3	1,1	2	27	2
11В	0,020	3	3,3	3	184	3
12А	0,10	3	5,5	3	96	3
13А	0,010	3	2,6	3	251	3
14В	0,023	3	1,4	3	61	3
15В	0,015	3	2,3	3	174	3
16В	0,0053	3	1,2	2	181	2

N=количество независимых экспериментов, в которых тестировали соединения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, характеризующееся формулой (I),



где:

R¹ представляет собой хлор или фтор;

R² представляет собой -CH₂CH₂OH или C₃₋₅алкилCOOH;

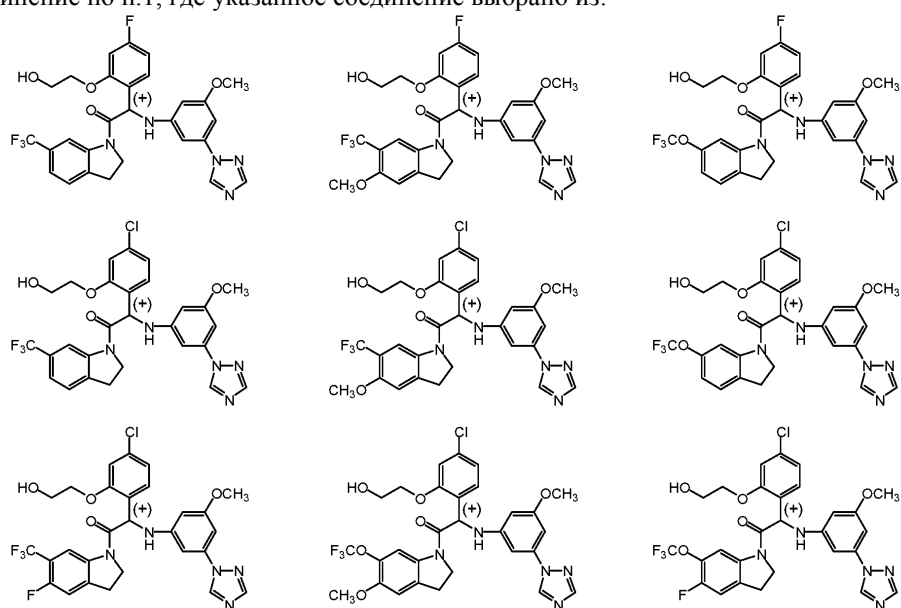
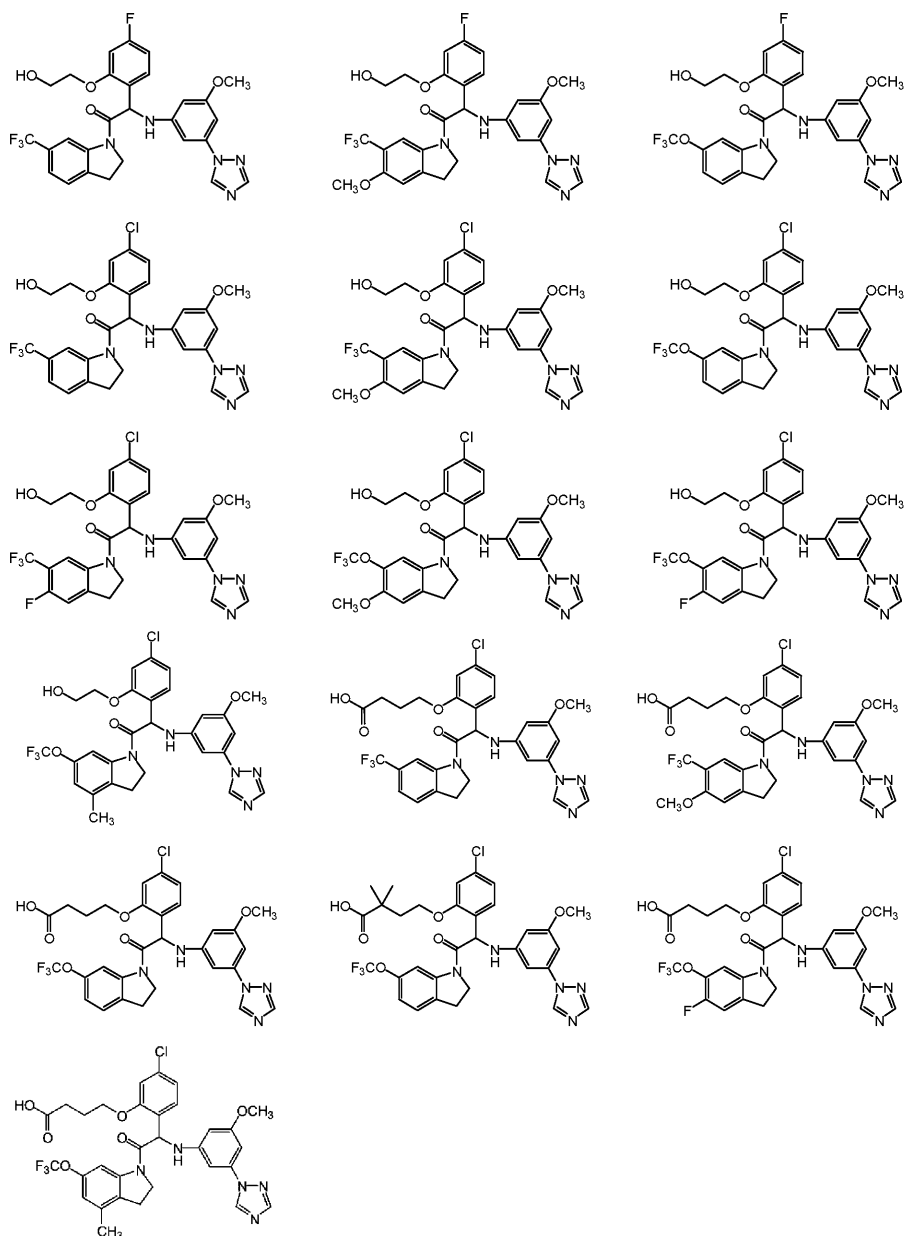
R³ представляет собой трифторметил или трифторметокси;

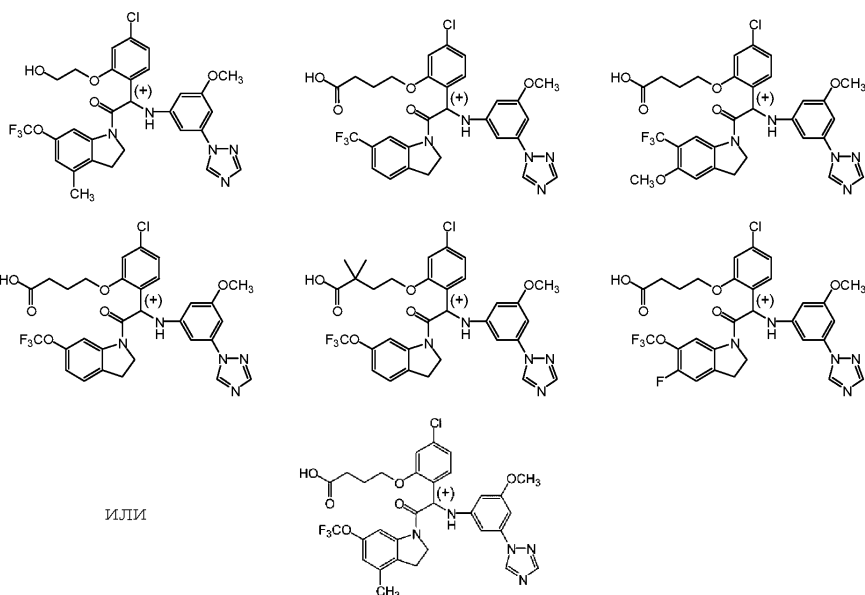
R⁴ представляет собой водород, фтор или метокси; и

R⁵ представляет собой водород или метил;

или его фармацевтически приемлемая соль.

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





5. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-4 вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми наполнителями, разбавителями или носителями.
6. Фармацевтическая композиция по п.5, которая содержит дополнительный активный ингредиент.
7. Фармацевтическая композиция по п.6, где дополнительный активный ингредиент представляет собой противовирусное средство.
8. Применение соединения формулы (I) по любому из пп.1-4 в качестве лекарственного препарата.
9. Применение соединения формулы (I) по любому из пп.1-4 для лечения инфекции денге и для предупреждения или лечения заболевания, ассоциированного с инфекцией денге.
10. Применение по п.9, где инфекция денге представляет собой инфекцию, вызванную вирусами штамма DENV-1, DENV-2, DENV-3 или DENV-4.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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