



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07D 209/12; A61K 31/404; A61P 31/12 (13) B



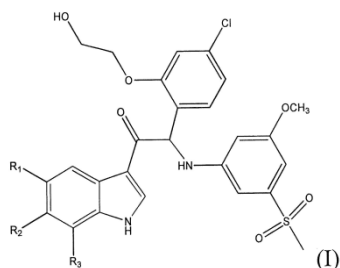
1-0033471

- (21) 1-2018-01496 (22) 15/09/2016
(86) PCT/EP2016/071845 15/09/2016 (87) WO 2017/046255 23/03/2017
(30) 15185523.6 16/09/2015 EP; 16163472.0 01/04/2016 EP
(45) 25/10/2022 415 (43) 27/08/2018 365A
(73) 1. JANSSEN PHARMACEUTICALS, INC. (US)
1125 Trenton-Harbourton Road, Titusville, NJ New Jersey 08560, United States of America
2. KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN (BE)
KU Leuven Research & Development Waaistraat 6, bus 5105, 3000 Leuven, Belgium
(72) KESTELEYN, Bart Rudolf Romanie (BE); RABOISSON, Pierre Jean-Marie Bernard (FR); BONFANTI, Jean-François (FR); JONCKERS, Tim Hugo Maria (BE); BARDIOT, Dorothee Alice Marie-Eve (BE); MARCHAND, Arnaud Didier M (FR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT 3-[2-[4-CLO-2-(2-HYDROXYETOXY)PHENYL]-2-(3-METOXY-5-METYLSULFONYL-ANILINO)AXETYL]-INDOL LÀM CHẤT ỨC CHẾ SAO CHÉP VIRUT DENGUE, ĐƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY VÀ QUY TRÌNH TỔNG HỢP NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất indol được thế một hoặc hai lần có công thức (I) dưới đây, dùng để phòng ngừa hoặc điều trị nhiễm virus Dengue. Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để sử dụng làm thuốc điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm virus Dengue.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm hoặc dạng bào chế kết hợp chứa hợp chất, chế phẩm hoặc dạng bào chế này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để phòng ngừa hoặc điều trị nhiễm virus Dengue. Sáng chế cũng đề cập đến quy trình điều chế hợp chất này.



Trong đó các biến có ý nghĩa như được nêu trong phần mô tả.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dẫn xuất indol được thể một hoặc hai lần dùng để phòng ngừa hoặc điều trị nhiễm virus Dengue. Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để sử dụng làm thuốc điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm virus Dengue. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến được phẩm hoặc dạng bào chế kết hợp chứa hợp chất, chế phẩm hoặc dạng bào chế này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để phòng ngừa hoặc điều trị nhiễm virus Dengue. Sáng chế cũng đề cập đến quy trình điều chế các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Flavivirus, được truyền qua muỗi hoặc ve bét, gây ra các bệnh nhiễm trùng đe dọa tính mạng ở người, như viêm não và sốt xuất huyết. Bốn typ huyết thanh khác biệt, nhưng có liên quan chặt chẽ với bệnh sốt Dengue do flavivirus đã được biết đến, được gọi là DENV1, -2, -3, và -4. Dengue là bệnh dịch địa phương ở hầu hết các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới, chủ yếu ở các khu vực thành thị và gần thành phố. Theo Tổ chức Y tế thế giới (World Health Organization - WHO), 2,5 tỷ người trong đó 1 tỷ trẻ em có nguy cơ nhiễm DENV (WHO, 2002). Ước tính có khoảng 50 đến 100 triệu trường hợp mắc bệnh sốt Dengue [Dengue fever - DF], nửa triệu trường hợp mắc bệnh sốt Dengue nặng (nghĩa là, sốt xuất huyết Dengue [dengue hemorrhagic fever - DHF] và hội chứng sốc Dengue [dengue shock syndrome - DSS]), và hơn 20.000 người tử vong xảy ra trên toàn thế giới mỗi năm. DHF đã trở thành nguyên nhân hàng đầu khiến trẻ em phải nhập viện và tử vong ở các vùng lan truyền bệnh. Nhìn chung, Dengue đại diện cho nguyên nhân phổ biến nhất của bệnh arbovirus. Do các đợt bùng phát rộng gần đây ở các quốc gia nằm ở khu vực Mỹ La Tinh, Đông Nam Á và Tây Thái Bình Dương (bao gồm Brazil, Puerto Rico, Venezuela, Cam-pu-chia, In-đô-nê-xi-a, Việt Nam, Thái Lan), số ca mắc sốt Dengue đã tăng đột biến trong những năm qua. Không chỉ số ca mắc sốt Dengue ngày càng

gia tăng do bệnh đang lây lan sang khu vực mới mà các đợt bùng phát có xu hướng ngày càng nghiêm trọng hơn.

Để phòng ngừa và/hoặc kiểm soát bệnh liên quan đến nhiễm virus Dengue, các phương pháp sẵn có hiện nay chỉ là diệt muỗi để kiểm soát vật truyền. Mặc dù quá trình phát triển các vaccine chống lại Dengue đang đạt được nhiều tiến bộ nhưng cũng gặp nhiều khó khăn. Các khó khăn này bao gồm sự tồn tại của một hiện tượng được gọi là tăng cường phụ thuộc vào kháng thể (antibody-dependent enhancement - ADE).

Việc phục hồi sau nhiễm trùng bởi một typ huyết thanh tạo ra tính miễn dịch suốt đời kháng lại typ huyết thanh đó nhưng chỉ tạo ra sự bảo vệ một phần và tạm thời chống lại việc lây nhiễm tiếp một trong số ba typ huyết thanh khác. Sau khi nhiễm một typ huyết thanh khác, kháng thể khác loại đã tồn tại trước đó sẽ tạo phức với typ huyết thanh virus Dengue mới nhiễm nhưng không vô hiệu hóa được mầm bệnh. Thay vào đó, virus dễ dàng đi vào các tế bào, dẫn đến sự sao chép virus không kiểm soát được và hiệu giá virus cao hơn. Trong cả hai trường hợp nhiễm bệnh nguyên phát và thứ phát, hiệu giá virus cao hơn thì có khả năng mắc bệnh sốt Dengue nặng hơn. Vì kháng thể ở mẹ có thể dễ dàng truyền cho trẻ sơ sinh bằng cách cho bú, đây có thể là một trong số các nguyên nhân làm cho trẻ em mắc bệnh sốt Dengue nặng hơn người trưởng thành.

Ở những khu vực có hai hoặc nhiều typ huyết thanh lan truyền đồng thời, còn gọi là các vùng siêu lan truyền, nguy cơ mắc bệnh sốt Dengue nặng cao hơn đáng kể do tăng nguy cơ phải chịu sự lây nhiễm thứ phát, nghiêm trọng hơn. Ngoài ra, trong hoàn cảnh siêu lan truyền, xác suất xuất hiện của các chủng độc lực cao hơn, do đó làm tăng khả năng mắc bệnh sốt xuất huyết Dengue (dengue hemorrhagic fever - DHF) hoặc hội chứng sốc Dengue.

Muỗi truyền bệnh sốt Dengue, bao gồm *Aedes aegypti* và *Aedes albopictus* (muỗi vằn), đang di chuyển về phía bắc của trái đất. Theo Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ ((US) Centers for Disease Control and Prevention (CDC)), cả hai loài muỗi này hiện đang có mặt khắp nơi ở miền Nam Texas. Sự phát tán muỗi truyền bệnh sốt Dengue về phía bắc không chỉ giới hạn ở Mỹ, mà còn có ở châu Âu.

Mới đây (tháng 12/2015), vaccin Dengue do Sanofi Pasteur sản xuất lần đầu tiên được cấp phép tại Mexico. Vaccin này còn được cấp phép ở Brazil, Philippin và El Salvador. Các quy trình xem xét theo quy định đang được tiếp tục ở các quốc gia khác, nơi bệnh sốt Dengue là ưu tiên sức khỏe cộng đồng. Tuy nhiên, vaccin này sẽ không được xem xét cải thiện do hiệu lực hạn chế, đặc biệt khi kháng lại DENV-1 và -2, hiệu quả thấp đối với các đối tượng chưa từng nhiễm flavivirus và thời gian dùng thuốc kéo dài.

Mặc dù có các nhược điểm này, vaccin này là yếu tố làm thay đổi trong việc thiết lập bệnh địa phương vì nó sẽ bảo vệ một phần lớn dân số, nhưng có khả năng không phải ở trẻ sơ sinh rất nhỏ, người chịu gánh nặng lớn nhất của bệnh sốt Dengue. Ngoài ra, lịch trình dùng thuốc và hiệu lực rất hạn chế ở các đối tượng chưa từng nhiễm flavivirus làm cho nó trở nên không phù hợp và có thể không đáng giá/hiệu quả về chi phí đối với du khách từ các vùng không lan truyền bệnh đến các vùng có lan truyền bệnh sốt Dengue. Các nhược điểm nêu trên của vaccin Dengue là lý do tại sao cần phải có vaccin kháng virus Dengue dự phòng trước khi phơi nhiễm.

Ngoài ra, hiện nay, các thuốc kháng virus đặc hiệu để điều trị hoặc phòng ngừa lây nhiễm virus sốt Dengue không có sẵn. Rõ ràng, vẫn còn có nhu cầu y tế lớn chưa được đáp ứng đối với các phương pháp điều trị để phòng ngừa hoặc điều trị nhiễm virus trên động vật, cụ thể hơn là ở người và đặc biệt là đối với nhiễm virus do Flavivirus, cụ thể hơn là virus Dengue. Các hợp chất có tiềm năng kháng virus tốt, không có hoặc ít tác dụng phụ, hoạt tính phổ rộng chống lại các typ huyết thanh virus Dengue, độc tính thấp và/hoặc có các đặc tính dược động học hoặc động học tốt là rất cần thiết.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất, dẫn xuất indol được thể một hoặc hai lần, thể hiện hoạt tính có hiệu quả cao kháng lại tất cả bốn (4) typ huyết thanh của virus Dengue. Sáng chế cũng đề xuất hợp chất theo sáng chế có profin được động học tốt và đáng ngạc nhiên là các hợp chất cụ thể này cho thấy sự độ ổn định bất đối được cải thiện.

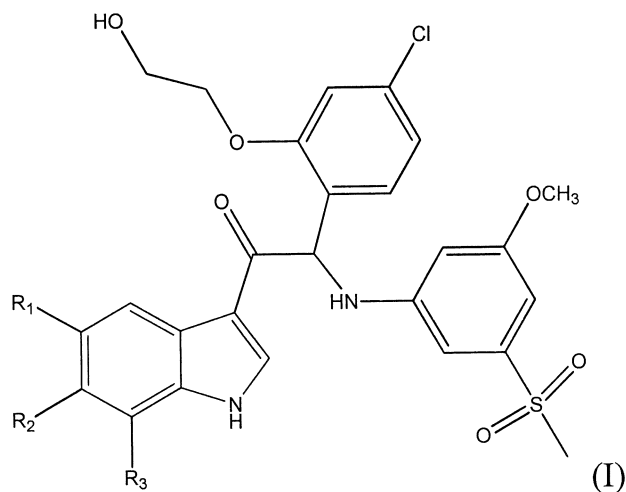
Sáng chế dựa trên phát hiện bất ngờ rằng ít nhất một trong số các vấn đề nêu trên có thể được giải quyết bằng các hợp chất theo sáng chế.

Sáng chế đề xuất hợp chất có hoạt tính kháng virus hiệu nghiệm kháng lại tất cả bốn (4) typ huyết thanh đã biết hiện nay. Ngoài ra, sáng chế cũng chứng minh rằng các hợp chất này ức chế hiệu quả sự tăng sinh của virus Dengue (Dengue virus - DENV). Do đó, các hợp chất này tạo thành một nhóm các hợp chất hiệu quả hữu dụng có thể được sử dụng trong điều trị và/hoặc phòng ngừa nhiễm virus ở động vật, động vật có vú và người, cụ thể hơn là để điều trị và/hoặc phòng ngừa nhiễm virus Dengue.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng các hợp chất này làm thuốc và để sản xuất thuốc để điều trị và/hoặc phòng ngừa nhiễm virus, cụ thể là các virus thuộc họ virus Dengue ở động vật hoặc động vật có vú, cụ thể hơn là ở người. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều chế tất cả các hợp chất này và dược phẩm chứa chúng ở lượng hiệu quả.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm virus Dengue ở người bằng cách dùng lượng có hiệu quả của một hoặc nhiều hợp chất như vậy, hoặc muối dược dụng của chúng tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều thuốc khác, như chất kháng virus khác, cho bệnh nhân cần điều trị.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



dạng đồng phân lập thể, muối dược dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó chứa nhóm indol được thế một hoặc hai lần; hợp chất này được chọn từ nhóm trong đó:

R_1 là H, R_2 là F, Cl hoặc OCH_3 và R_3 là H;

R_1 là H, R_2 là F hoặc Cl và R_3 là CH_3 ;

R_1 là CH_3 , R_2 là OCH_3 và R_3 là H;

R_1 là F, R_2 là F và R_3 là H;

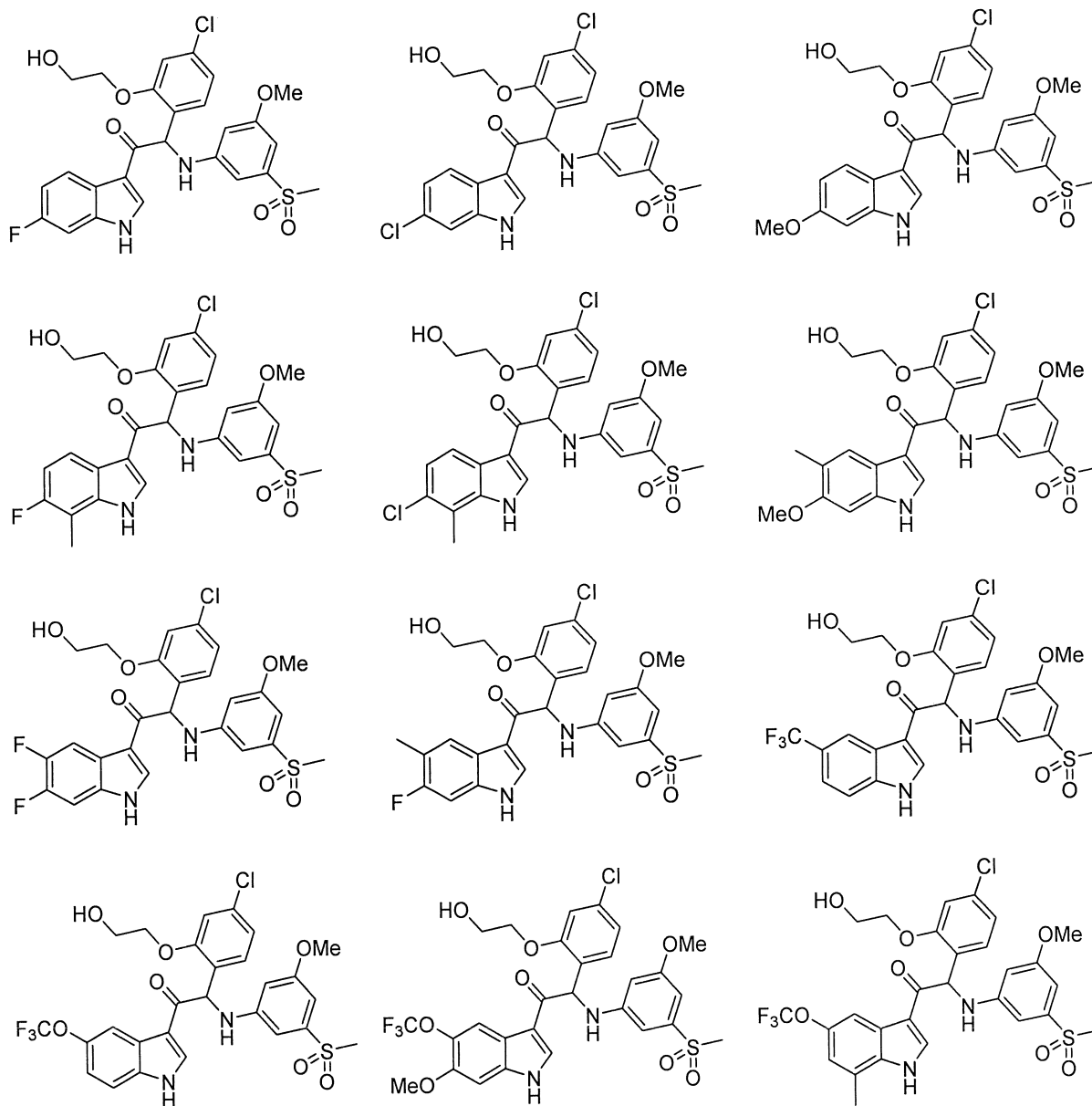
R_1 là CH_3 , R_2 là F và R_3 là H;

R_1 là CF_3 hoặc OCF_3 và R_2 là H và R_3 là H;

R_1 là OCF_3 , R_2 là OCH_3 và R_3 là H; hoặc

R_1 là OCF_3 , R_2 là H và R_3 là CH_3 .

Cụ thể, các hợp chất theo sáng chế hoặc dạng đồng phân lập thể của chúng, muối được dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó được chọn từ nhóm bao gồm:



Một phần của sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc dạng đồng phân lập thể, muối được dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

Các muối được dùng của hợp chất có công thức (I) bao gồm các muối cộng axit và muối bazơ của chúng. Các muối cộng axit thích hợp được tạo thành từ axit tạo ra muối không độc. Các muối bazơ thích hợp được tạo thành từ bazơ tạo ra muối không độc.

Các hợp chất theo sáng chế có thể còn tồn tại ở dạng không solvat và solvat. Thuật ngữ “solvat” được sử dụng ở đây để mô tả phức phân tử bao gồm hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều phân tử dung môi được dùng, ví dụ, etanol.

Thuật ngữ “chất đa hình” dùng để chỉ khả năng của hợp chất theo sáng chế tồn tại ở nhiều hơn một dạng hoặc cấu trúc tinh thể.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng ở dạng sản phẩm tinh thể hoặc vô định hình. Các hợp chất này có thể thu được ở dạng, ví dụ, nút rắn, bột, hoặc màng bằng các phương pháp như kết tủa, kết tinh, sấy thăng hoa, sấy phun, hoặc sấy bay hơi. Các hợp chất này có thể được dùng riêng hoặc kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất khác theo sáng chế hoặc kết hợp với một hoặc nhiều thuốc khác. Nhìn chung, các hợp chất này được dùng ở dạng bào chế kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dùng. Thuật ngữ “tá dược” được sử dụng ở đây để mô tả thành phần bất kỳ ngoài (các) hợp chất theo sáng chế. Việc lựa chọn tá dược phần lớn phụ thuộc vào các yếu tố như đường dùng cụ thể, ảnh hưởng của tá dược đến độ tan và độ ổn định, và bản chất của dạng liều.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc phân nhóm bất kỳ của chúng có thể được bào chế thành các dạng dược phẩm khác nhau theo mục đích sử dụng. Chế phẩm thích hợp có thể là tất cả các chế phẩm được trích dẫn thường được sử dụng để dùng thuốc toàn thân. Để điều chế dược phẩm theo sáng chế, lượng hiệu quả của hợp chất cụ thể, tùy ý ở dạng muối cộng, làm hoạt chất được kết hợp trong hỗn hợp trộn kỹ với chất mang dược dụng, mà chất mang có thể ở một loạt các dạng phụ thuộc vào dạng bào chế mong muốn để sử dụng. Các dược phẩm này được mong muốn ở dạng liều đơn nhất thích hợp, ví dụ, để dùng qua đường miệng hoặc qua trực tràng. Ví dụ, khi điều chế chế phẩm ở dạng liều dùng qua đường miệng, bất kỳ môi trường được thông thường có thể được dùng như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu và tương tự trong trường hợp chất bào chế dạng lỏng dùng qua đường miệng như hỗn dịch, sirô, cốm ngọt, nhũ tương, và dung dịch; hoặc chất mang rắn như tinh bột, đường, cao lanh, chất pha

loãng, chất bôi trơn, chất gắn kết, chất gây rã và chất tương tự trong trường hợp bột, viên tròn, viên nang, và viên nén. Vì dễ dùng nên viên nén và viên nang là dạng đơn vị liều dùng qua đường miệng thuận lợi nhất, trong đó chất mang được dạng rắn được dùng hiển nhiên. Sáng chế cũng đề cập đến các dạng bào chế rắn mà có thể được chuyển hóa, ngay trước khi sử dụng, thành dạng lỏng.

Đặc biệt thuận lợi để bào chế được phẩm ở dạng liều đơn vị được nêu ở trên để dễ dàng sử dụng và đồng nhất về liều lượng. Dạng liều đơn vị như được sử dụng ở đây dùng để chỉ các đơn vị riêng biệt về mặt vật lý thích hợp làm liều đơn nhất, mỗi đơn vị chứa lượng xác định trước của hoạt chất được tính toán để tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn kết hợp với chất mang được yêu cầu. Ví dụ về dạng liều đơn vị này là viên nén (bao gồm viên nén nhỏ hoặc viên nén bao phim), viên nang, viên tròn, gói nhỏ đựng bột, viên nhện, thuốc đạn, dung dịch tiêm hoặc hỗn dịch và dạng tương tự, và các dạng được tách rời của chúng.

Người có hiểu biết trong lĩnh vực điều trị bệnh nhiễm trùng sẽ có thể xác định lượng có hiệu quả từ kết quả điều trị được thể hiện dưới đây. Nói chung được dự định là lượng có hiệu quả dùng hằng ngày nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến 50 mg/kg thể trọng, tốt hơn nữa là từ 0,1 mg/kg đến 10 mg/kg thể trọng. Có thể là thích hợp để dùng liều yêu cầu ở dạng hai, ba, bốn hoặc nhiều phân liều tại các khoảng thời gian thích hợp trong ngày. Các phân liều này có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị, ví dụ, chứa từ 1 đến 1000 mg, và đặc biệt là 5 đến 200 mg hoạt chất trên mỗi dạng liều đơn vị.

Liều lượng chính xác và tần suất dùng phụ thuộc vào hợp chất cụ thể có công thức (I) được sử dụng, tình trạng bệnh lý cụ thể cần điều trị, mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý cần điều trị, độ tuổi, cân nặng và tình trạng thể chất chung của bệnh nhân cụ thể cũng như các loại thuốc khác mà cá nhân có thể đang sử dụng, đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan. Ngoài ra, rõ ràng là lượng có hiệu quả có thể giảm đi hoặc tăng lên phụ thuộc vào đáp ứng của đối tượng được điều trị và/hoặc phụ thuộc vào đánh giá của bác sĩ kê đơn các hợp chất theo sáng chế. Do đó, lượng có hiệu quả nằm trong khoảng nêu trên chỉ là hướng dẫn và không làm giới hạn phạm vi hoặc việc sử dụng sáng chế ở mức độ bất kỳ.

Sáng chế cũng nhằm bao gồm các chất đồng vị bất kỳ của các nguyên tử có mặt trong các hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, chất đồng vị của hydro bao gồm triti và deuteri và các chất đồng vị của cacbon bao gồm C-13 và C-14.

Các hợp chất sử dụng theo sáng chế cũng có thể tồn tại ở dạng đồng phân hóa học lập thể của chúng, xác định tất cả các hợp chất có thể có được tạo ra bởi cùng các nguyên tử được gắn kết bởi cùng trình tự liên kết những có cấu trúc không gian ba chiều khác nhau, mà không thay thế cho nhau được. Trừ khi có quy định khác, ký hiệu hóa học của các hợp chất bao gồm hỗn hợp của tất cả các dạng đồng phân lập thể về mặt hóa học có thể có, mà các hợp chất này có thể có.

Hỗn hợp này có thể chứa tất cả các chất đồng phân không đối quang và/hoặc chất đồng phân đối ảnh có cấu trúc phân tử cơ bản của hợp chất này. Tất cả các dạng đồng phân lập thể về mặt hóa học của các hợp chất được sử dụng theo sáng chế ở dạng tinh khiết hoặc kết hợp với nhau được dự tính nằm trong phạm vi sáng chế bao gồm hỗn hợp racemic hoặc racemat bất kỳ.

Các dạng đồng phân lập thể tinh khiết của các hợp chất và hợp chất trung gian nêu ở đây được xác định là các chất đồng phân gần như không chứa dạng đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối quang khác có cùng cấu trúc phân tử cơ bản của hợp chất hoặc hợp chất trung gian này. Cụ thể, thuật ngữ 'tinh khiết về mặt đồng phân lập thể' liên quan đến hợp chất hoặc hợp chất trung gian có lượng dư đồng phân lập thể bằng ít nhất là 80% (nghĩa là tối thiểu 90% một chất đồng phân và tối đa 10% các chất đồng phân có thể có khác) lên đến lượng dư đồng phân lập thể bằng 100% (nghĩa là, 100% một chất đồng phân và không có các chất đồng phân khác), cụ thể hơn, hợp chất hoặc hợp chất trung gian có lượng dư đồng phân lập thể bằng 90% đến 100%, cụ thể hơn nữa là có lượng dư đồng phân lập thể bằng 94% đến 100% và cụ thể nhất là có lượng dư đồng phân lập thể bằng 97% đến 100%. Các thuật ngữ 'tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh' và 'tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang' cần được hiểu theo cách tương tự, nhưng có quan tâm đến lượng dư đồng phân đối ảnh, tương ứng là lượng dư đồng phân không đối quang của hỗn hợp đang nói đến.

Các dạng đồng phân lập thể tinh khiết của hợp chất và hợp chất trung gian được sử dụng theo sáng chế này có thể thu được bằng cách áp dụng các quy trình đã biết trong tình trạng kỹ thuật. Chẳng hạn, chất đồng phân đối ảnh có thể được tách ra

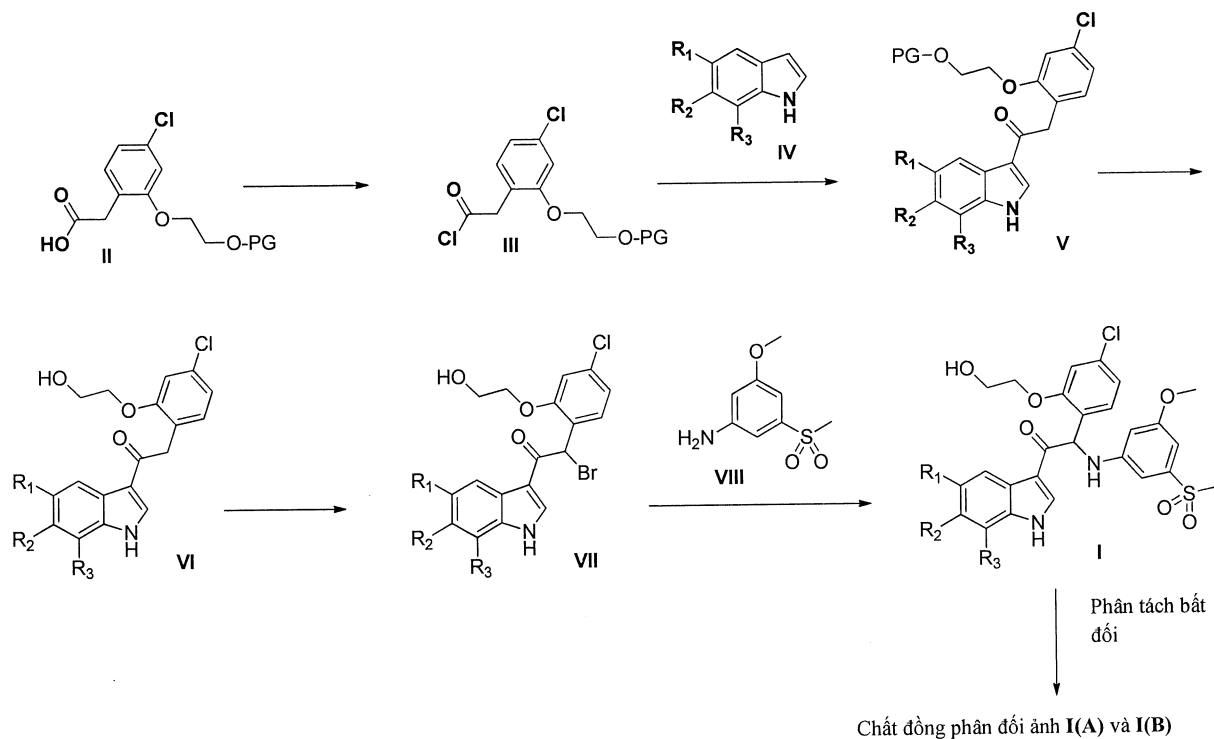
khỏi nhau bằng cách kết tinh chọn lọc các muối đồng phân không đối quang của chúng với các axit hoặc bazơ có hoạt tính tùy ý. Ví dụ về chúng là axit tartaric, axit dibenzoyltartaric, axit ditoluoyltartaric và axit camphosulfonic. Theo cách khác, chất đồng phân đối ảnh có thể được tách bằng kỹ thuật sắc ký bằng cách sử dụng pha tĩnh bất đối. Các dạng đồng phân tinh khiết về mặt hóa học lập thể này cũng có thể có nguồn gốc từ các dạng đồng phân tinh khiết về mặt hóa học lập thể tương ứng của các chất ban đầu thích hợp, với điều kiện là phản ứng xuất hiện đặc thù lập thể. Tốt hơn là, nếu chất đồng phân lập thể cụ thể là mong muốn, thì hợp chất này sẽ được tổng hợp bằng các phương pháp điều chế đặc thù lập thể. Thuận lợi là, các phương pháp này sẽ dùng các chất ban đầu tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phương pháp tổng hợp chung

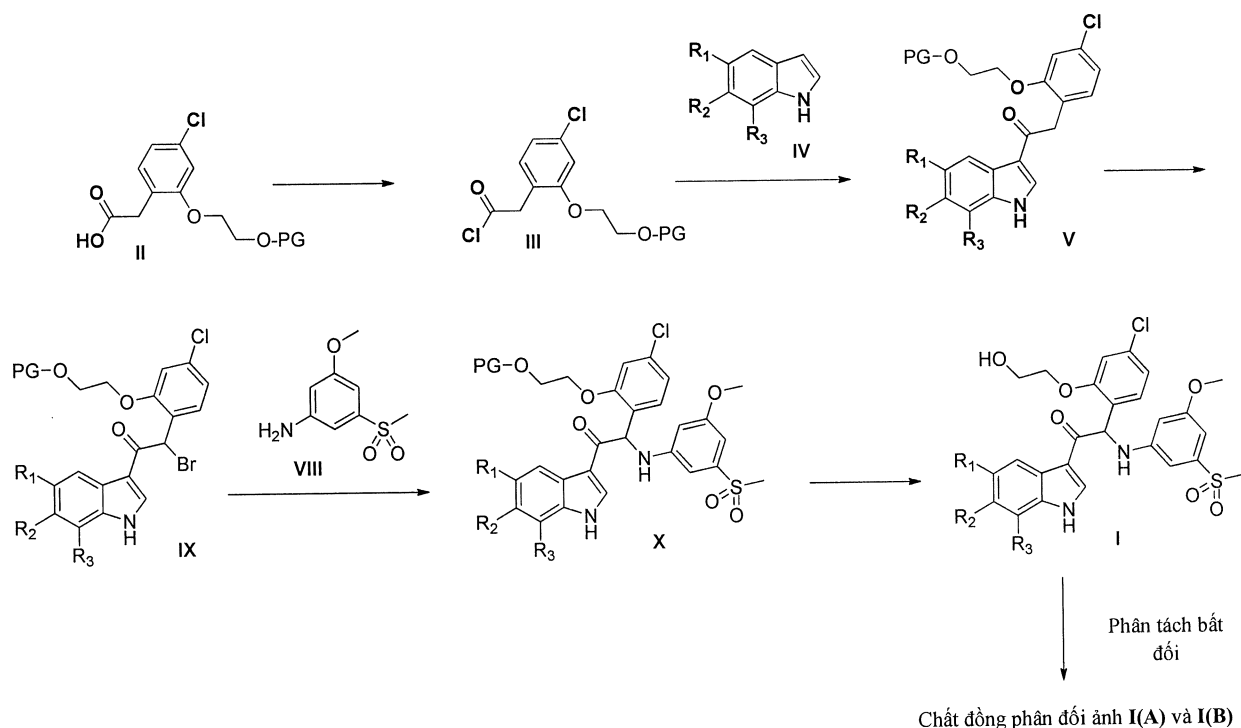
Việc tổng hợp các hợp chất có công thức chung **I** có thể được thực hiện như nêu trong Sơ đồ 1. Dẫn xuất axit 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)axetic có công thức chung **II**, chứa nhóm PG bảo vệ O của chức hydroxyl (PG có thể là, ví dụ, nhóm bảo vệ O-benzyl), có thể được chuyển hóa thành dẫn xuất axit clorua tương ứng có công thức chung **III** bằng chất phản ứng clo hóa ví dụ như oxalyl clorua hoặc thionyl clorua. Phản ứng Friedel-Crafts của axit clorua có công thức chung **III** với indol được thể có công thức chung **IV** có thể được thực hiện bằng cách sử dụng chất phản ứng axit Lewis ví dụ như Et_2AlCl trong dung môi thích hợp ví dụ như CH_2Cl_2 , và trong điều kiện phản ứng thích hợp mà thường là cần làm lạnh, để tạo ra indol được 3-axyl hóa có công thức chung **V**. Việc loại bỏ nhóm bảo vệ PG ra khỏi các hợp chất có công thức chung **V** có thể được thực hiện bằng, ví dụ, tách hydro bằng cách khử (PG = benzyl) trong dung môi thích hợp ví dụ như EtOAc, để tạo ra các hợp chất có công thức chung **VI**. Việc đưa gốc anilin ở vị trí alpha vào gốc cacbonyl của các hợp chất có công thức chung **VI** có thể được thực hiện bằng trình tự phản ứng bao gồm, ví dụ brom hóa **VI** bằng chất phản ứng ví dụ như phenyltrimetylamonitribromua trong dung môi thích hợp ví dụ như THF, để tạo ra các hợp chất có công thức chung **VII**, và phản ứng tiếp theo của các hợp chất có công thức chung **VII** với 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin (**VIII**) trong dung môi thích hợp ví dụ như CH_3CN , và tùy ý sử dụng bazơ ví dụ như TEA hoặc DIPEA, để tạo ra các hợp chất có công thức chung **I**

ở dạng hỗn hợp racemic. Phân tách bất đối các hợp chất có công thức chung **I** có thể được thực hiện bằng, ví dụ, sắc ký bất đối xứng để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **A** và **B** có công thức chung **I**.



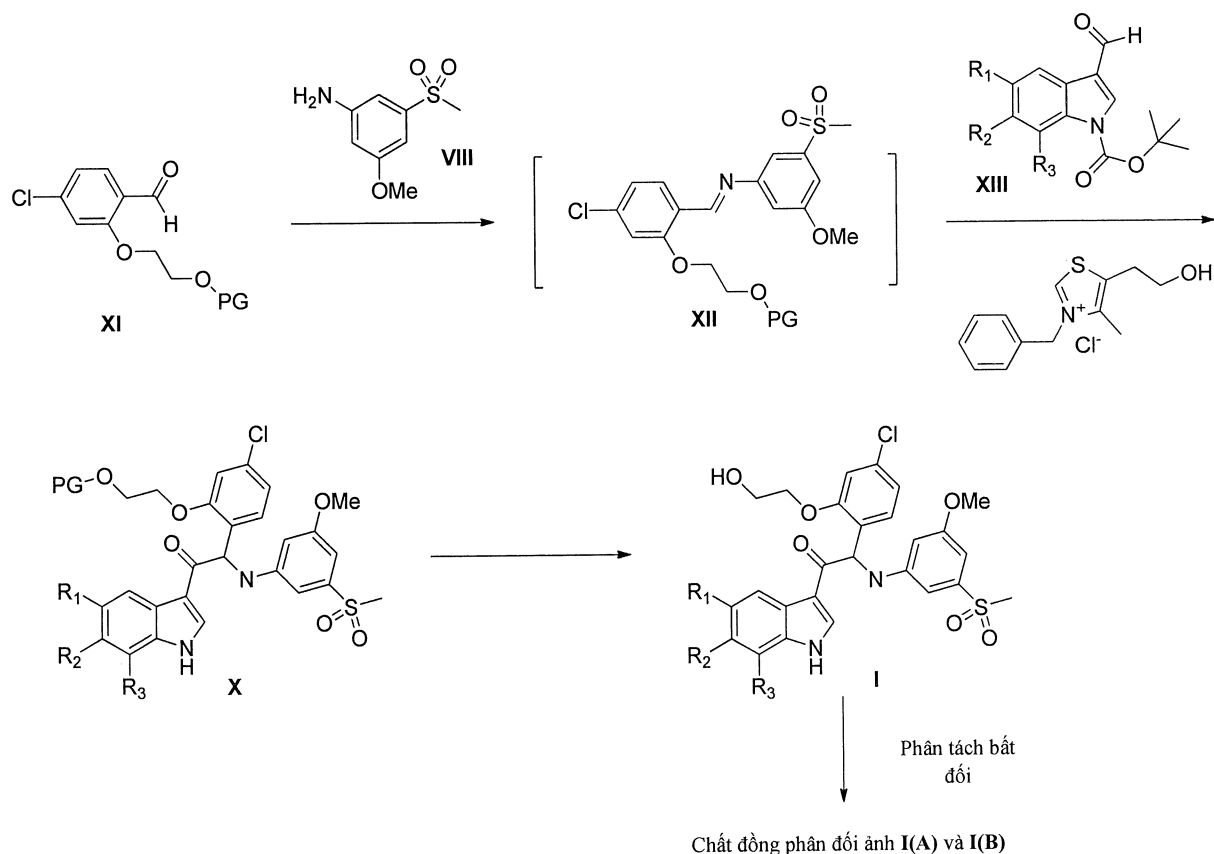
Sơ đồ 1

Theo cách khác, việc chuyển hóa chất trung gian có công thức chung **V** thành các hợp chất có công thức chung **I** cũng có thể được thực hiện bằng trình tự phản ứng nêu trong Sơ đồ 2: phản ứng brom hóa ở vị trí alpha của chức cacbonyl của hợp chất trung gian có công thức chung **V** bằng chất phản ứng brom hóa thích hợp như, ví dụ, phenyltrimethylamoni tribromua trong dung môi thích hợp ví dụ như THF, tạo ra các hợp chất có công thức chung **IX**. Phản ứng tiếp theo của các hợp chất có công thức chung **IX** với 3-methoxy-5-(methylsulfonyl)anilin (**VIII**) trong dung môi thích hợp ví dụ như CH_3CN , và tùy ý sử dụng bazơ ví dụ như TEA hoặc DIPEA, tạo ra các hợp chất có công thức chung **X**. Sau khi loại bỏ nhóm bảo vệ O (protecting group - PG) ra khỏi các hợp chất có công thức chung **X** bằng ví dụ tách hydro bằng cách khử (PG = benzyl) trong dung môi thích hợp ví dụ như EtOAc hoặc MeOH, các hợp chất có công thức chung **I** được tạo ra ở dạng hỗn hợp racemic. Phân tách bất đối các hợp chất có công thức chung **I** có thể được thực hiện bằng, ví dụ, phương pháp sắc ký bất đối xứng để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **A** và **B** có công thức chung **I**.



Sơ đồ 2

Theo phương án tiếp cận thứ ba, tổng hợp các hợp chất có công thức chung **I** có thể được thực hiện bằng trình tự phản ứng nêu trong Sơ đồ 3. Phương pháp tiếp cận này sử dụng phản ứng ba thành phần một bước là bước phản ứng chính để tạo ra khung ở tâm của các hợp chất có công thức chung **I**: ngưng tụ 2-(2-(benzyloxy)-etoxy)-4-clobenzaldehyt (**XI**) với 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin (**VIII**) trong dung môi thích hợp như, ví dụ, EtOH tạo ra imin trung gian **XII**, khi bổ sung indol-carboxaldehyt được *N*-Boc bảo vệ được thể có công thức chung **XIII**, và trong sự có mặt của chất xúc tác Umpolung như ví dụ 3-benzyl-5-(2-hydroxyetyl)-4-methylthiazol-3-ium, tạo ra các hợp chất có công thức chung **X**. Sau khi loại bỏ nhóm bảo vệ O (protecting group - PG) ra khỏi các hợp chất có công thức chung **X** bằng ví dụ tách hydro bằng cách khử (PG = benzyl) trong dung môi thích hợp ví dụ như EtOAc hoặc MeOH, các hợp chất có công thức chung **I** được tạo ra ở dạng hỗn hợp raxemic. Phân tách bất đối các hợp chất có công thức chung **I** có thể được thực hiện bằng, ví dụ, sắc ký bất đối xứng để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **A** và **B** có công thức chung **I**.



Sơ đồ 3

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương pháp LC/MS

Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (High Performance Liquid Chromatography - HPLC) được thực hiện bằng cách sử dụng bơm LC, đầu dò mảng điốt (diode-array detector - DAD) hoặc đầu dò UV và cột như được quy định trong các phương pháp tương ứng. Nếu cần, còn bao gồm các đầu dò bổ sung (xem bảng các phương pháp dưới đây).

Dòng chảy từ cột được đưa vào khối phổ kế (Mass Spectrometer - MS) mà được cấu tạo có nguồn ion áp suất khí quyển. Điều này nằm trong phạm vi kiến thức của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan để thiết lập các thông số điều chỉnh (ví dụ, khoảng quét, thời gian dừng...) để thu được các ion cho phép nhận diện phân tử lượng (molecular weight - MW) đồng vị đơn không đáng kể của hợp chất. Tiến hành thu thập số liệu bằng phần mềm thích hợp.

Các hợp chất được mô tả bằng thời gian lưu thử nghiệm của chúng (R_t) và ion. Nếu không chỉ rõ sự khác biệt trong bảng số liệu, ion phân tử được báo cáo tương ứng với $[M+H]^+$ (phân tử được proton hóa) và/hoặc $[M-H]^-$ (phân tử được khử proton). Trong trường hợp hợp chất này không ion hóa trực tiếp loại sản phẩm cộng được quy định (nghĩa là, $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, v.v.). Đối với các phân tử có nhiều mẫu đồng vị (Br, Cl), giá trị được báo cáo là giá trị thu được đối với khối lượng đồng vị thấp nhất. Tất cả các kết quả thu được đều có độ đảm bảo đo thực nghiệm thường liên quan đến phương pháp được sử dụng.

Dưới đây, “SQD” nghĩa là đầu dò tứ cực đơn (Single Quadrupole Detector), “MSD” Đầu dò chọn lọc khối (Mass Selective Detector), “RT” nhiệt độ trong phòng, thể lai “BEH” etylsiloxan/silic oxit có cầu nối, “DAD” Đầu dò mảng diot (Diode Array Detector), “HSS” Silic oxit độ bền cao (High Strength Silica).

Mã phương pháp LC/MS (Dòng chảy tính theo mL/phút; nhiệt độ cột (T) tính theo °C; Thời gian chạy tính bằng phút)

Mã phương pháp	Công cụ	Cột	Pha động	Gradient	Dòng chảy ----- Cột T	Thời gian chạy (phút)
LC-A	Waters: Acquity® UPLC® -DAD- SQD	Waters: BEH C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 10mM CH ₃ COONH ₄ trong 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Từ 95% A đến 5% A trong 1,3 phút, giữ trong 0,7 phút	0,8 mL/phút ----- 55°C	2
LC-B	Waters: Acquity® UPLC® -DAD- SQD	Waters: HSS T3 (1,8µm, 2,1x100mm)	A: 10mM CH ₃ COONH ₄ trong 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Từ 100% A đến 5% A trong 2,10 phút, đến 0% A trong 0,90 phút, đến 5% A trong 0,5 phút	0,7 mL/phút ----- 55°C	3,5
LC-C	Waters: Acquity® UPLC® - DAD- Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7µm, 2,1x100mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7mM/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	84,2% A trong 0,49 phút, đến 10,5% A trong 2,18 phút, giữ trong 1,94 phút, trở lại 84,2% A trong 0,73 phút, giữ trong 0,73 phút	0,343 mL/phút ----- 40°C	6,2
LC-D	Đầu dò Waters: Acquity® UPLC® - DAD- Acquity® TQ	Waters: BEH C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ , pH 10 B: CH ₃ CN	80% A đến 40% A trong 3,4 phút, đến 10% A trong 0,6 phút, giữ trong 1 phút	0,5 mL/phút ----- 40°C	5
LC-E	Đầu dò Waters: Acquity® UPLC® - DAD- Acquity® TQ	Waters: BEH C18 (1,7µm, 2,1x50mm)	A: 10 mM CH ₃ COONH ₄ , pH 10 B: CH ₃ CN	50% A đến 10% A trong 3,5 phút, giữ trong 1,5 phút	0,5 mL/phút ----- 40°C	5

Phương pháp SFC/MS

Phương pháp đo SFC được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống sắc ký lỏng siêu tới hạn (Supercritical fluid chromatography - SFC) phân tích bao gồm bơm nhí phân để phân phối cacbon dioxit (CO₂) và bộ điều chỉnh, dụng cụ lấy mẫu tự động, lò cột, đầu dò mảng điốt được trang bị tế bào dòng chảy áp suất cao lên đến 400 bar. Nếu được tạo cấu trúc với khối phổ kế (MS) thì dòng chảy từ cột được đưa đến (MS). Trong phạm vi kiến thức của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực liên quan để thiết lập các thông số điều chỉnh (ví dụ, khoảng quét, thời gian dừng...) để thu được các ion cho phép nhận diện phân tử lượng (molecular weight - MW) đồng vị đơn không đáng kể của hợp chất. Tiến hành thu thập số liệu bằng phần mềm thích hợp.

Phương pháp SFC/MS phân tích (Dòng chảy tính theo mL/phút; nhiệt độ cột (T) tính theo °C; Thời gian chạy tính bằng phút, Áp suất ngược (BPR) tính theo đơn vị bar.

Mã phương pháp	Cột	Pha động	Gradient	Dòng ----- Cột T	Thời gian chạy ----- BPR
SFC-A	Cột Daicel Chiralpak® IC (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A:CO ₂ B: MeOH (+0,3% iPrNH ₂)	40% B giữ trong 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-B	Daicel Chiralcel® OD-3 cột (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A:CO ₂ B: EtOH (+0,3% iPrNH ₂)	30% B giữ trong 7 phút,	3,5 ----- 35	6 ----- 103
SFC-C	Cột Daicel Chiralpak® AS3 (3 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH +0,2% iPrNH ₂ +3% H ₂ O	10%-50% B trong 6 phút, giữ trong 3,5 phút	2,5 ----- 40	9,5 ----- 110
SFC-D	Cột Daicel Chiralpak® AS-H (5 µm, 250 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH +0,2% iPrNH ₂	35% B giữ trong 4 phút, đến 50% trong 1 phút, giữ trong 2 phút	5 ----- 40	7 ----- 110

Mã phương pháp	Cột	Pha động	Gradient	Dòng ----- Cột T	Thời gian chạy ----- BPR
SFC-E	Cột Daicel Chiralpak® IC (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A:CO ₂ B: MeOH	25% B giữ trong 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 100
SFC-F	Cột Daicel Chiralpak® IA (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A:CO ₂ B: iPrOH +0,3% iPrNH ₂	30% B giữ trong 7 phút,	3 ----- - 35	7 ----- -- 100

Nhiệt độ nóng chảy

Các giá trị nhiệt độ là giá trị đỉnh hoặc khoảng nhiệt độ nóng chảy, và thu được đều có độ không đảm bảo đo thực nghiệm mà thường được kết hợp với phương pháp phân tích này.

DSC823e (ký hiệu là DSC)

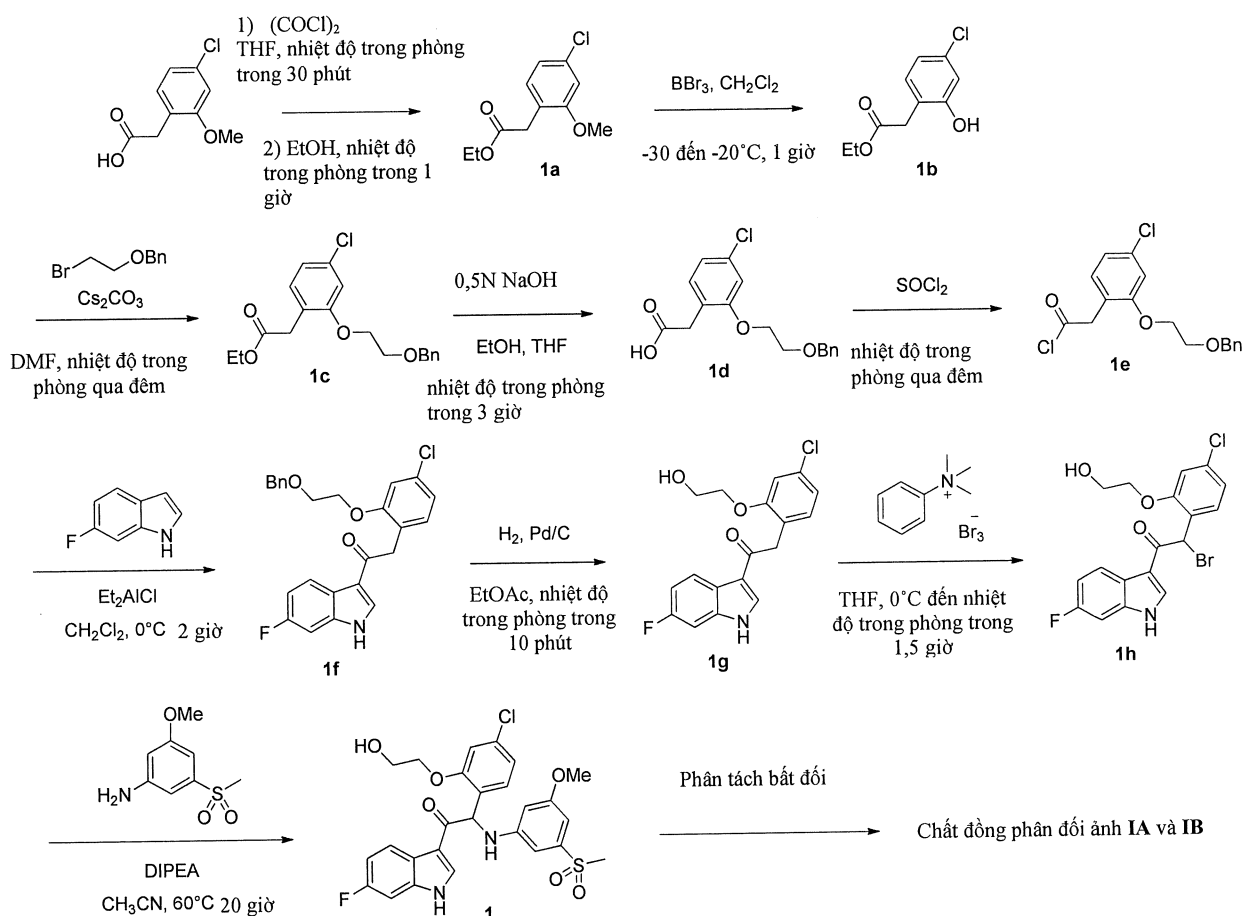
Đối với một số hợp chất, nhiệt độ nóng chảy được xác định bằng DSC823e (Mettler-Toledo). Nhiệt độ nóng chảy được đo bằng gradient nhiệt độ 10°C/phút. Nhiệt độ tối đa là 300°C.

Góc quay quang:

Góc quay quang được xác định trên phân cực kế Perkin-Elmer 341 bằng đèn natri và được báo cáo như sau đây: $[\alpha]^\circ (\lambda, c \text{ g/100ml, dung môi, } T^\circ\text{C})$.

$[\alpha]_\lambda^T = (100\alpha) / (l \times c)$: trong đó l là chiều dài quãng đường tính bằng dm và c là nồng độ tính bằng g/100 ml của mẫu ở nhiệt độ T (°C) và chiều dài bước sóng λ (tính bằng nm). Nếu chiều dài bước sóng ánh sáng được sử dụng là 589 nm (vạch natri D), thì có thể sử dụng ký hiệu D để thay thế. Ký hiệu quay (+ hoặc -) lúc nào cũng cần được nêu. Khi sử dụng phương trình này, nồng độ và dung môi luôn được đặt trong ngoặc đơn sau khi quay. Góc quay được tính bằng độ và không có đơn vị nồng độ nhất định (giả sử là g/100 ml).

Ví dụ 1: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **1**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **1A** và **1B**.



Tổng hợp chất trung gian 1a:

Dung dịch chứa axit 2-(4-clo-2-metoxyphenyl)axetic [CAS 170737-95-8] (20 g, 101 mmol) trong THF khô (300 mL) được làm lạnh ở nhiệt độ 0°C . Oxalyl clorua (18 mL, 202 mmol) và hai giọt DMF được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong etanol (300 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 2-(4-clo-2-metoxyphenyl)axetat **1a** (23 g), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 1b:

Bổ sung từng giọt dung dịch 1M BBr_3 trong CH_2Cl_2 (87,5 mL, 87,5 mmol) vào dung dịch chứa etyl 2-(4-clo-2-metoxypheyl)axetat **1a** (10 g, 44 mmol) trong CH_2Cl_2 (350 mL) được làm lạnh ở nhiệt độ -30°C , trong khi duy trì nhiệt độ này dưới -20°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -30°C trong 1 giờ trước khi làm dừng phản ứng bằng metanol. Độ pH được điều chỉnh đến 8 bằng cách bổ sung dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước. Các pha được tách. Pha nước được chiết bằng CH_2Cl_2 . Các pha hữu cơ được thu gom, làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 2-(4-clo-2-hydroxypheyl)axetat **1b** (9,5 g), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 1c:

Bổ sung benzyl 2-brometyl ete [CAS 1462-37-9] (2,29 g, 14,5 mmol) vào hỗn hợp chứa etyl 2-(4-clo-2-hydroxypheyl)axetat **1b** [CAS 1261826-30-5] (2,82 g, 13,1 mmol) và xesi cacbonat (8,56 g, 26,3 mmol) trong DMF (50 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. H_2O được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 2% đến 20%) trong heptan để tạo ra etyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat **1c** (4,17 g).

Tổng hợp chất trung gian 1d:

Bổ sung 0,5N NaOH (72 mL, 36,0 mmol) vào dung dịch chứa etyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat **1c** (4,17 g, 12,0 mmol) trong hỗn hợp chứa EtOH (80 mL) và THF (40 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô một phần dưới áp suất giảm để loại bỏ dung môi hữu cơ. Phần cặn được axit hóa đến pH=2-3 bằng HCl 1N và hỗn hợp được chiết bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm để tạo ra axit 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetic **1d** (3,83 g).

Tổng hợp chất trung gian 1e:

Dung dịch chứa axit 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetic **1d** (7,12 g, 22,2 mmol) trong thionyl clorua (50 mL, 689 mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong

phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời cùng với toluen để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (7,53 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 1f:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (22,2 mL, 22,2 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C, vào dung dịch chứa 6-flo-1*H*-indol [CAS 399-51-9] (2 g, 14,8 mmol) trong CH₂Cl₂ (100 mL). Sau khi khuấy trong 15 phút ở nhiệt độ 0°C, dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (7,53 g, 22,2 mmol) trong diclometan (75 mL) được bổ sung từng giọt trong thời gian 1 giờ, trong khi giữ nhiệt độ bên trong của hỗn hợp phản ứng dưới 4°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ. Dung dịch chứa kali natri tartrat tetrahydrat (muối Rochelle) [CAS 6100-16-9] (8,35 g, 29,6 mmol) trong nước (9 mL) được bổ sung từng giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 20 phút. THF (200 mL) và Na₂SO₄ (35 g) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua dicalite® và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng THF. Dịch lọc kết hợp được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời cùng với CH₃CN. Chất cặn rắn được khuấy trong CH₃CN (20 mL) ở nhiệt độ 40°C. Chất kết tủa được lọc, chất rắn được rửa bằng CH₃CN (3x 3 mL) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra hợp chất thô **1f** (2,48 g). Việc cô dịch lọc tạo ra sản phẩm thứ hai chứa **1f** (0,9 g). Các phần kết hợp (3,4 g) được kết tinh lại từ EtOAc. Chất kết tủa được lọc, được rửa bằng EtOAc (3 lần) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)etanon **1f** (2,21 g).

Tổng hợp chất trung gian 1g:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)etanon **1f** (2,21 g, 5,05 mmol) và 10% paladi trên cacbon (1 g) trong EtOAc (75 mL) và THF (40 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút dưới khí H₂. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua dicalite® và phần lọc được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được kết tinh từ hỗn hợp chứa THF (10 mL) và diisopropyl ete (20 mL). Chất kết tủa được lọc, được rửa bằng diisopropyl ete (3 lần) và làm khô dưới chân

không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)etanon **1g** (1,52 g).

Tổng hợp chất trung gian 1h:

Phenyltrimetylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (1,73 g, 4,59 mmol) được bổ sung từng phần vào dung dịch được làm lạnh (0°C) chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)etanon **1g** (1,52 g, 4,37 mmol) trong THF (60 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 45 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 90 phút. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng THF. Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)etanon **1h** (1,87 g) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 1 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 1A và 1B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-1*H*-indol-3-yl)etanon **1h** (1,87 g, 4,37 mmol), 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,76 g, 8,74 mmol) và diisopropyletylamin (1,51 mL, 8,74 mmol) trong CH₃CN (125 mL) được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 20 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (500 mL) và được chiết bằng Et₂O (2 lần). Các phần kết hợp hữu cơ được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄ và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Grace Reveleris® silic oxit 80 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời cùng với CH₃CN. Phần cặn được tinh chế nhờ HPLC pha đảo (Pha tĩnh: Kromasil® C18 100A 5 µm (Eka Nobel), Pha động: Gradien từ 50% amonibicacbonat trong nước (0,25%), 50% axetonitril đến 0% amonibicacbonat trong nước (0,25%), 100% axetonitril). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra Hợp chất 1 (1400 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất 1 (1400 mg) được thực hiện thông qua sự phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: (S,S) Whelk-O1, 5 µm bằng kỹ thuật tuần hoàn rửa giải, Pha động: 100% etanol). Các phân đoạn sản

phẩm được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **1A** (588 mg) làm sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **1B** (466 mg) làm sản phẩm rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh **1A** được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Grace Reveleris® silic oxit 12 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được khuấy trong H₂O (7,5 mL) + MeOH (2,5 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng hỗn hợp chứa H₂O/MeOH 3/1 (3 lần), và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **1A** (0,425 g). Chất đồng phân đối ảnh **1B** được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Grace Reveleris® silic oxit 12 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được khuấy trong H₂O (7,5 mL) + MeOH (2,5 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng hỗn hợp chứa H₂O/MeOH 3/1 (4 lần), và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **1B** (0,375 g).

Hợp chất 1:

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 - 4,09 (m, 2 H) 4,20 (t, *J*=4,3 Hz, 2 H) 5,30 (t, *J*=4,9 Hz, 1 H) 6,38 (d, *J*=7,5 Hz, 1 H) 6,58 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,91 - 7,00 (m, 2 H) 7,01 - 7,15 (m, 3 H) 7,25 (dd, *J*=9,4, 2,3 Hz, 1 H) 7,37 (d, *J*=8,3 Hz, 1 H) 8,16 (dd, *J*=8,7, 5,7 Hz, 1 H) 8,68 (s, 1 H) 12,17 (br. s., 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 3,70 phút, MH⁺ 547

Chất đồng phân đối ảnh 1A:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,05 (m, 2 H) 4,20 (t, *J*=4,6 Hz, 2 H) 5,26 (t, *J*=5,5 Hz, 1 H) 6,37 (d, *J*=7,8 Hz, 1 H) 6,58 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 6,65 (t, *J*=2,1 Hz, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 7,02 - 7,09 (m, 2 H) 7,11 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,24 (dd, *J*=9,6, 2,4 Hz, 1 H) 7,37 (d, *J*=8,3 Hz, 1 H) 8,15 (dd, *J*=8,8, 5,6 Hz, 1 H) 8,67 (s, 1 H) 12,15 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,05 phút, MH⁺ 547

[α]_D²⁰: +139,3° (c 0,435, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 3,52 phút, MH^+ 547, độ tinh khiết bất đối 99,0%.

Chất đồng phân đối ảnh 1B:

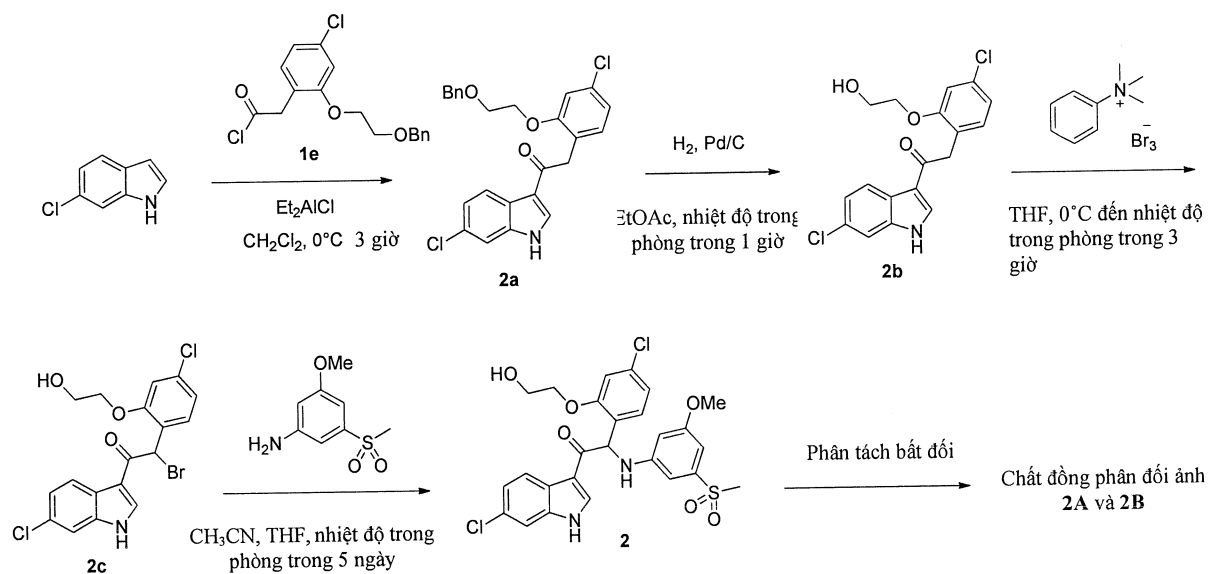
1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,05 (m, 2 H) 4,20 (t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,27 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H) 6,37 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,66 (t, $J=2,1$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 7,02 - 7,09 (m, 2 H) 7,11 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,24 (dd, $J=9,6, 2,4$ Hz, 1 H) 7,37 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 8,15 (dd, $J=8,8, 5,6$ Hz, 1 H) 8,67 (s, 1 H) 12,15 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,05 phút, MH^+ 547

$[\alpha]_D^{20}$: -145,6° (c 0,605, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,02 phút, MH^+ 547, độ tinh khiết bất đối 97,9%.

Ví dụ 2: Tổng hợp 1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **2**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **2A** và **2B**.



Tổng hợp chất trung gian 2a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (15,0 mL, 15,0 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ $0^\circ C$, vào dung dịch chứa 6-clo-1*H*-indol [CAS 17422-33-2] (1,52 g, 10,0 mmol) trong CH_2Cl_2 (35 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ $0^\circ C$, dung dịch chứa 2-(2-

(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (5,09 g, 15,0 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH₂Cl₂ (10 mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Dung dịch muối Rochelle 1M được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Chất rắn tạo thành được lọc bỏ và được phân giữa EtOAc và HCl 3N. Các pha được tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng EtOAc. Chất kết tủa được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra mẻ thứ nhất chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)etanon **2a**. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 0% đến 50%) trong heptan. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng EtOAc. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra sản phẩm thứ hai chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)etanon **2a** (lượng tổng đối với hai mẻ: 2,10 g).

Tổng hợp chất trung gian 2b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)etanon **2a** (1,98 g, 4,36 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,2 g) trong EtOAc (40 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ dưới khí H₂. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng THF và được lọc qua celite®. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng EtOAc. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra 1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)etanon **2b** (1,29 g).

Tổng hợp chất trung gian 2c:

Dung dịch chứa phenyltrimetylamonitribromua [CAS 4207-56-1] (1,47 g, 3,91 mmol) trong THF (10 mL) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C, vào dung dịch chứa 1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)etanon **2b** (1,29 g, 3,55 mmol) trong THF (25 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng THF. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)-2-(4-clo-2-(2-

hydroxyetoxy)phenyl)etanon **2c** (1,57 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 2 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 2A và 2B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)etanon **2c** (1,57 g, 3,55 mmol) và 3-metoxy-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (2,14 g, 10,7 mmol) trong CH₃CN (35 mL) và THF (10 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 ngày. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong EtOAc và được rửa bằng HCl 1N. Pha hữu cơ được rửa bằng HCl 1N và dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước, làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng EtOAc và THF. Chất rắn được lọc. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 10% đến 100%) trong CH₂Cl₂. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp với chất rắn thu được từ trước và được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng EtOAc (50%) trong CH₂Cl₂ làm dung môi rửa giải để tạo ra 1-(6-clo-1*H*-indol-3-yl)-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **2**, 0,99 g) dưới dạng hỗn hợp racemic.

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **2** (894 mg) được thực hiện thông qua phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: AS 20 µm, Pha động: 100% metanol). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **2A** (324 mg) là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **2B** (328 mg) là sản phẩm rửa giải thứ hai. Cả hai chất đồng phân đối ảnh được hóa rắn như sau đây: chất rắn được khuấy trong hỗn hợp 1/1 của nước và MeOH (10 mL) trong 1 giờ, lọc bỏ và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **2A** (253 mg) và chất đồng phân đối ảnh **2B** (252 mg) dưới dạng bột màu trắng.

Hợp chất 2:

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,83 – 4,10 (m, 2 H) 4,20 (m, 2 H) 5,31 (br. s., 1 H) 6,38 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,58 (s, 1 H) 6,66 (s,

1 H) 6,90 - 6,99 (m, 2 H) 7,02 - 7,15 (m, 2 H) 7,23 (dd, $J=8,6, 1,6$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,50 (s, 1 H) 8,15 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 12,23 (br. s., 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-E): R_t 1,37 phút, MH^+ 563

Chất đồng phân đối ảnh 2A:

1H NMR (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,86 - 4,07 (m, 2 H) 4,20 (br t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,30 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H) 6,37 (br d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,58 (s, 1 H) 6,65 (br s, 1 H) 6,90 - 6,99 (m, 2 H) 7,05 - 7,14 (m, 2 H) 7,22 (dd, $J=8,5, 1,9$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,50 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 8,15 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 12,23 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,11 phút, MH^+ 563

$[\alpha]_D^{20}$: +149,5° (c 0,43, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,15 phút, MH^+ 563, độ tinh khiết bất đối 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 122°C

Chất đồng phân đối ảnh 2B:

1H NMR (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,86 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (br t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,30 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H) 6,37 (br d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,58 (s, 1 H) 6,66 (br s, 1 H) 6,90 - 6,99 (m, 2 H) 7,05 - 7,14 (m, 2 H) 7,23 (dd, $J=8,6, 1,8$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,50 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 8,15 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 12,23 (s, 1 H)

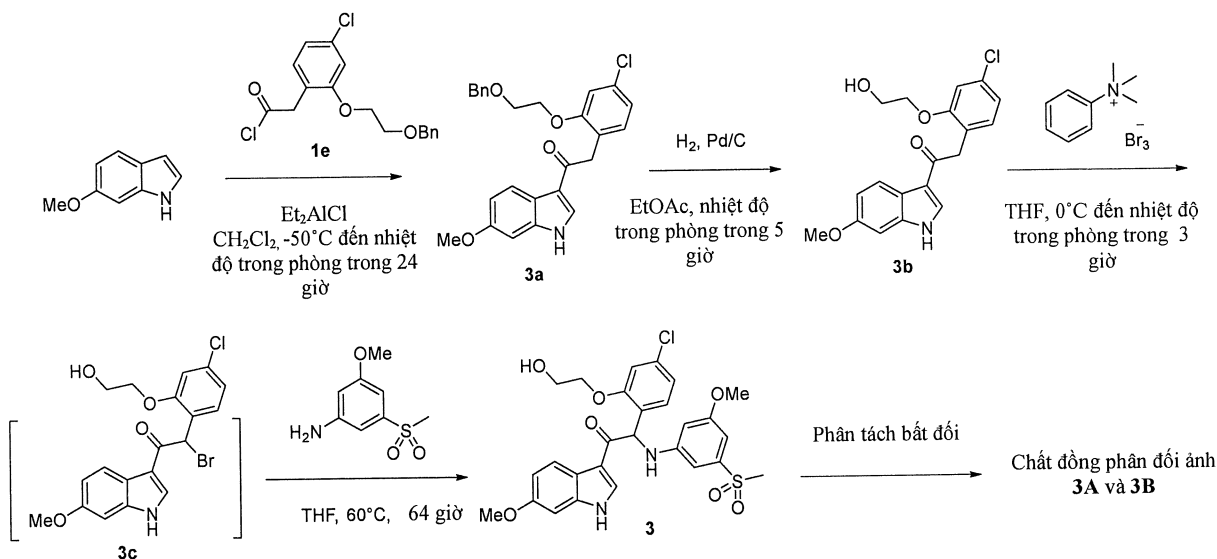
LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,11 phút, MH^+ 563

$[\alpha]_D^{20}$: -144,1° (c 0,401, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,68 phút, MH^+ 563, độ tinh khiết bất đối 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 121°C

Ví dụ 3: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-metoxy-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **3**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **3A** và **3B**.



Tổng hợp chất trung gian 3a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (17,2 mL, 17,2 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ -50°C , vào hỗn dịch chứa 6-metoxi-1*H*-indol [CAS 3189-13-7] (1,69 g, 11,5 mmol) trong CH_2Cl_2 (56 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ -50°C , dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)ethoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (5,82 g, 17,2 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH_2Cl_2 (23 mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -50°C trong 3 giờ, được cho làm ấm từ từ đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng CH_2Cl_2 và được rót vào dung dịch muối Rochelle 1M. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Các pha được tách. Pha hữu cơ được rửa bằng H_2O và nước muối, làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 20% đến 60%) trong heptan. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng EtOAc. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không, tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)ethoxy)-4-clophenyl)-1-(6-metoxi-1*H*-indol-3-yl)etanon **3a** (1,39 g).

Tổng hợp chất trung gian 3b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)ethoxy)-4-clophenyl)-1-(6-metoxi-1*H*-indol-3-yl)etanon **3a** (2,13 g, 4,79 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,2 g) trong EtOAc (125 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ dưới khí H_2 . Hỗn hợp phản ứng được lọc qua celite®. Tầm lọc được rửa bằng THF. Dịch lọc kết hợp

được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng CH_2Cl_2 . Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-metoxy-1*H*-indol-3-yl)etanon **3b** (1,38 g).

Tổng hợp Hợp chất 3 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 3A và 3B:

Dung dịch chứa phenyltrimetylamonitribromua [CAS 4207-56-1] (1,57 g, 4,18 mmol) trong THF (27 mL) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C , vào dung dịch chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-metoxy-1*H*-indol-3-yl)etanon **3b** (1,38 g, 3,83 mmol) trong THF (37 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. 3-Metoxy-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (3,85 g, 19,1 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong 64 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng HCl 1N. Các pha được tách. Pha hữu cơ được rửa bằng HCl 1N, dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước, H_2O và nước muối, làm khô bằng Na_2SO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của MeOH (từ 0% đến 10%) trong CH_2Cl_2 . Việc tinh chế sau đó bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 50% đến 95%) trong heptan theo sau bởi sự kết tủa từ EtOAc cung cấp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-metoxy-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **3**, 1,12 g), dưới dạng hỗn hợp racemic.

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **3** (1,12 g) được thực hiện thông qua phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: AS 20 μm , Pha động: 100% metanol). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **3A** là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **3B** là sản phẩm rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh **3A** được khuấy trong hỗn hợp chứa Et_2O (6 mL) và CH_3CN (0,3 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng Et_2O (5x 1,5 mL) và làm khô dưới chân không để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **3A** (392 mg) là bột. Chất đồng phân đối ảnh **3B** được khuấy trong hỗn hợp chứa Et_2O (3 mL) và CH_3CN (0,15 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng Et_2O (5x 1,0 mL) và làm khô dưới chân không để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **3B** (172 mg) có dạng bột.

Hợp chất 3:

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,76 (s, 3 H) 3,86 – 4,10 (m, 2 H) 4,19 (m, 2 H) 5,30 (t, $J=5,3$ Hz, 1 H) 6,34 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,57 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,83 (dd, $J=8,7, 2,0$ Hz, 1 H) 6,94 (m, 3 H) 7,06 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 7,10 (s, 1 H) 7,36 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 8,02 (d, $J=8,7$ Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 11,92 (br. s., 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 3,49 phút, MH^+ 559

Chất đồng phân đối ảnh 3A:

^1H NMR (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,76 (s, 3 H) 3,89 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,7$ Hz, 2 H) 5,26 - 5,33 (m, 1 H) 6,34 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H) 6,55 - 6,58 (m, 1 H) 6,63 - 6,67 (m, 1 H) 6,83 (dd, $J=8,7, 2,3$ Hz, 1 H) 6,91 - 6,97 (m, 3 H) 7,05 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H) 7,11 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 8,03 (d, $J=8,7$ Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 11,92 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 1,90 phút, MH^+ 559

$[\alpha]_D^{20}$: +139,1° (c 0,445, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,04 phút, MH^+ 559, độ tinh khiết bất đối 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 146°C

Chất đồng phân đối ảnh 3B:

^1H NMR (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,76 (s, 3 H) 3,89 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,7$ Hz, 2 H) 5,26 - 5,33 (m, 1 H) 6,35 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,55 - 6,58 (m, 1 H) 6,63 - 6,67 (m, 1 H) 6,83 (dd, $J=8,7, 2,3$ Hz, 1 H) 6,91 - 6,97 (m, 3 H) 7,05 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H) 7,11 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 8,03 (d, $J=8,7$ Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 11,92 (br s, 1 H)

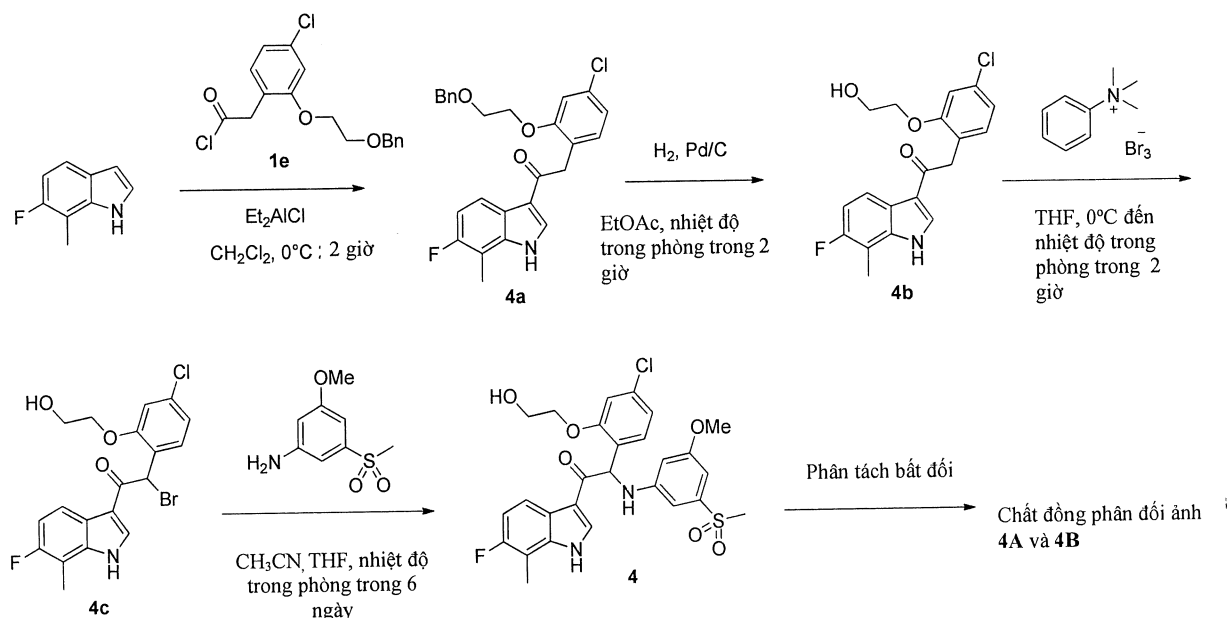
LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 1,89 phút, MH^+ 559

$[\alpha]_D^{20}$: -136,0° (c 0,455, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,47 phút, MH^+ 559, độ tinh khiết bất đối 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 149°C

Ví dụ 4: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **4**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **4A** và **4B**.



Tổng hợp chất trung gian 4a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (12,2 mL, 12,2 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C, vào hỗn dịch chứa 6-flo-7-metyl-1*H*-indol [CAS 57817-10-4] (1,20 g, 8,04 mmol) trong CH_2Cl_2 (17 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ 0°C, dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (4,09 g, 12,1 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH_2Cl_2 (17 mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ. Dung dịch muối Rochelle 1M được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy mạnh trong 2 giờ. EtOAc được bổ sung vào. Các pha được tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 5% đến 50%) trong CH_2Cl_2 . Tinh chế thêm bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (5% đến 50%) trong heptan tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **4a** (2,94 g).

Tổng hợp chất trung gian 4b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **4a** (2,69 g, 5,95 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,3 g) trong EtOAc (150 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ dưới khí H₂. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua celite®. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng EtOAc. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **4b** (1,15 g).

Tổng hợp chất trung gian 4c:

Dung dịch chứa phenyltrimetylamonitribromua [CAS 4207-56-1] (1,09 g, 2,89 mmol) trong THF (18 mL) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C, vào dung dịch chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **4b** (0,95 g, 2,63 mmol) trong THF (25 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 15 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng EtOAc. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **4c** (1,16 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 4 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 4A và 4B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **4c** (1,16 g, 2,63 mmol) và 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,59 g, 7,90 mmol) trong CH₃CN (6 mL) và THF (6 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 ngày. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng HCl 1N. Pha hữu cơ được rửa bằng HCl 1N, dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước, H₂O và nước muối, làm khô bằng MgSO₄, được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 15% đến 70%) trong CH₂Cl₂. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng CH₂Cl₂. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **4**, 1,05 g) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **4** (1,37 g) được thực hiện thông qua SFC bất đối (Pha tĩnh: Chiralpak® IA 5 μ m 250 x 20 mm, Pha động: 36,2% MeOH, 60% CO₂, 3,8% DCM). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **4A** (548 mg) là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **4B** (574 mg) là sản phẩm rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh **4A** được khuấy trong hỗn hợp chứa Et₂O (6 mL) và CH₃CN (0,25 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng Et₂O (3x 1,5 mL) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **4A** (369 mg) là bột. Chất đồng phân đối ảnh **4B** được khuấy trong hỗn hợp chứa Et₂O (6 mL) và CH₃CN (0,25 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng Et₂O (5x 1,0 mL) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **4B** (352 mg) có dạng bột.

Hợp chất 4:

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,39 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 – 4,10 (m, 2 H) 4,19 (m, 2 H) 5,32 (br. s., 1 H) 6,40 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,57 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,89 - 7,00 (m, 2 H) 7,01 - 7,09 (m, 2 H) 7,11 (d, *J*=1,8 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,3 Hz, 1 H) 7,98 (dd, *J*=8,5, 5,2 Hz, 1 H) 8,64 (s, 1 H) 12,24 (br. s., 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-E): *R*_t 1,31 phút, MH⁺ 561

Chất đồng phân đối ảnh 4A:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,38 (s, 3 H) 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,90 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (t, *J*=4,7 Hz, 2 H) 5,28 (br t, *J*=5,3 Hz, 1 H) 6,40 (d, *J*=7,8 Hz, 1 H) 6,57 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 6,65 - 6,68 (m, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 6,98 - 7,06 (m, 2 H) 7,10 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,3 Hz, 1 H) 7,98 (dd, *J*=8,7, 5,2 Hz, 1 H) 8,62 (s, 1 H) 12,21 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): *R*_t 1,10 phút, MH⁺ 561

[α]_D²⁰: +116,9° (c 0,575, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): *R*_t 3,54 phút, MH⁺ 561, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 4B:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,35 - 2,44 (m, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,90 - 4,08 (m, 2 H) 4,20 (t, $J=4,7$ Hz, 2 H) 5,29 (br s, 1 H) 6,40 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,56 - 6,60 (m, 1 H) 6,64 - 6,70 (m, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 6,98 - 7,07 (m, 2 H) 7,11 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,98 (dd, $J=8,8, 5,2$ Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 12,21 (br s, 1 H)

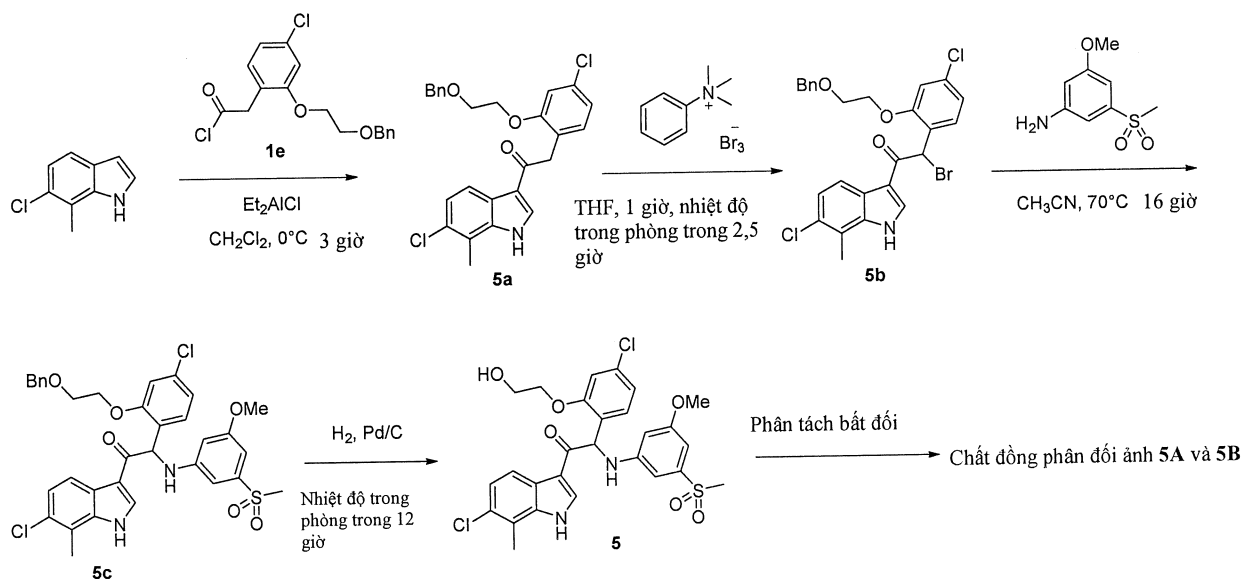
LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,04 phút, MH^+ 561

$[\alpha]_D^{20}$: $-115,4^\circ$ (c 0,455, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,09 phút, MH^+ 561, độ tinh khiết bất đối 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 173°C

Ví dụ 5: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **5**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **5A** và **5B**.



Tổng hợp chất trung gian 5a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (8,91 mL, 8,91 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C , vào dung dịch chứa 6-clo-7-metyl-1*H*-indol [CAS 57817-09-1] (0,984 g, 5,94 mmol) trong CH_2Cl_2 (40 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ 0°C , 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (2,11 g, 6,22 mmol) trong CH_2Cl_2 (40 mL) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ 0°C . Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Nước đá được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng CH_2Cl_2 .

Lớp hữu cơ được làm khô trên MgSO_4 , được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 μm , 120 g, heptan/EtOAc 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **5a** (1,08 g).

Tổng hợp chất trung gian 5b:

Dưới dòng khí N_2 ở nhiệt độ 0°C , dung dịch chứa phenyltrimethylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (0,91 g, 2,42 mmol) trong THF (40 mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **5a** (1,08 g, 2,31 mmol) trong THF (40 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, bể làm lạnh được tháo ra và tiếp tục khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2,5 giờ. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng EtOAc. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-brom-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **5b** (1,3 g).

Tổng hợp chất trung gian 5c:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-brom-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **5b** (1,3 g, 2,38 mmol) và 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,43 g, 7,13 mmol) trong CH_3CN (80 mL) được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 16 giờ. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 μm , 24 g, heptan/EtOAc 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon **5c** (1,1 g).

Tổng hợp Hợp chất 5 và phân tách bất đối các chất đồng phân đối ảnh 5A và 5B:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon **5c** (0,8 g, 1,2 mmol) trong EtOAc (40 mL) được hydro hóa dưới áp suất khí quyển của H_2 trong 12 giờ bằng Pd/C (10%) (54 mg, 0,05 mmol) làm chất xúc tác. Hỗn hợp được lọc qua tấm celite® và được rửa bằng EtOAc, và sau đó bằng $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 90/10. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm. CH_3CN được bổ sung và chất rắn tạo thành được lọc

và được làm khô để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-clo-7-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **5**) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **5** (642 mg) được tách bằng SFC bất đối (Pha tĩnh: Chiralpak® ICOD-H 5 μ m 250 x 30 mm, Pha động: 60% CO₂, 40% MeOH (+ 0,3% *i*PrNH₂)) tạo ra 301 mg chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất và 320 mg chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất được kết tinh từ CH₃CN. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 198 mg chất đồng phân đối ảnh **5A**. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai được kết tinh từ CH₃CN. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 198 mg chất đồng phân đối ảnh **5B**.

Hợp chất 5:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,91 - 4,06 (m, 2 H) 4,19 (t, *J*=4,6 Hz, 2 H) 5,31 (br s, 1 H) 6,41 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 6,58 (m, 1 H) 6,67 (br s, 1 H) 6,92 - 6,98 (m, 2 H) 7,06 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,11 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,22 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,99 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 8,64 (s, 1 H) 12,29 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): *R*_t 3,20 phút, MH⁺ 577

Chất đồng phân đối ảnh 5A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,90 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (t, *J*=4,6 Hz, 2 H) 5,31 (br s, 1 H) 6,41 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,58 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,93 - 6,96 (m, 2 H) 7,06 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 7,11 (d, *J*=2,2 Hz, 1 H) 7,22 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,99 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 8,64 (s, 1 H) 12,29 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): *R*_t 3,20 phút, MH⁺ 577

$[\alpha]_D^{20}$: -119,5° (c 0,37, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-A): *R*_t 2,30 phút, MH⁺ 577, độ tinh khiết bất đối 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 207°C

Chất đồng phân đối ảnh 5B:

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,90 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,7$ Hz, 2 H) 5,31 (br s, 1 H) 6,41 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,7$ Hz, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,92 - 6,98 (m, 2 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,11 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,23 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 7,99 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 8,64 (s, 1 H) 12,29 (br s, 1 H)

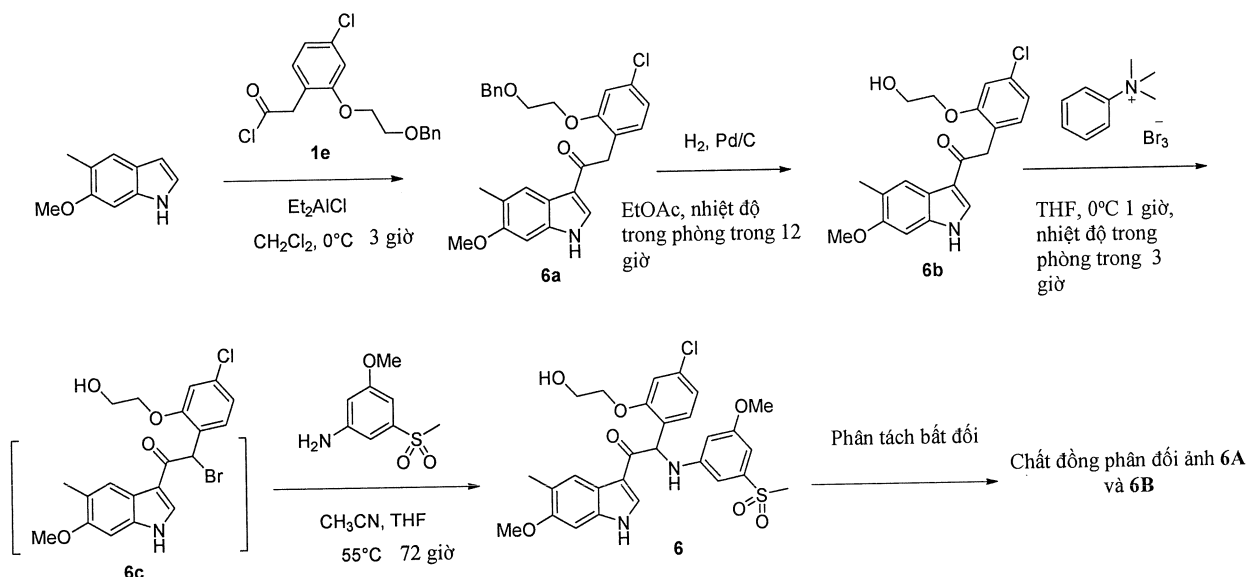
LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,20 phút, MH^+ 577

$[\alpha]_D^{20}$: +126,1° (c 0,334, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-A): R_t 2,93 phút, MH^+ 577, độ tinh khiết bất đối 99,2%.

Nhiệt độ nóng chảy: 206°C

Ví dụ 6: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(6-metoxi-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **6**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **6A** và **6B**.



Tổng hợp chất trung gian 6a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (18,6 mL, 18,6 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C , vào dung dịch chứa 6-metoxi-5-metyl-1*H*-indol [CAS 1071973-95-9] (2 g, 12,4 mmol) trong CH_2Cl_2 (30 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ 0°C , 2-(2-(2-

(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (4,41 g, 13,0 mmol) trong CH₂Cl₂ (30 mL) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ 0°C. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Nước đá được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng CH₂Cl₂. Lốp hữu cơ được làm khô bằng MgSO₄, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được hóa rắn bằng việc nghiền nhỏ bằng CH₃CN/diisopropyl ete. Chất rắn được lọc và được làm khô để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-metoxo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **6a** (2,65 g).

Tổng hợp chất trung gian 6b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-metoxo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **6a** (1,7 g, 3,66 mmol) trong EtOAc (70 mL) được hydro hóa dưới áp suất khí quyển H₂ trong 12 giờ bằng Pd/C (10%) (164 mg, 0,154 mmol) làm chất xúc tác. Hỗn hợp được lọc qua tấm celite® và được rửa bằng EtOAc. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-metoxo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **6b** (910 mg).

Tổng hợp Hợp chất 6 và phân tách bất đối các chất đồng phân đối ảnh 6A và 6B:

Dưới dòng khí N₂, ở nhiệt độ 0°C, dung dịch chứa phenyltrimetylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (1,09 g, 2,89 mmol) trong THF (20 mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-metoxo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **6b** (1,08 g, 2,89 mmol) trong THF (30 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, bể làm lạnh được tháo ra và tiếp tục khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. 3-Metoxo-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,74 g, 8,67 mmol) trong CH₃CN (20 mL) được bổ sung từng giọt và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 55°C trong 72 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng CH₂Cl₂ và được rửa bằng HCl 1N (hai lần), làm khô bằng MgSO₄, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được thực hiện bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 µm, 80 g, CH₂Cl₂/CH₃OH 98,5/1,5). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxo-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(6-metoxo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **6**, 862 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **6** (1,3 g) được tách bằng SFC bất đối (Pha tĩnh: Chiralcel® OD-H 5 μ m 250 x 30 mm, Pha động: 55% CO₂, 45% EtOH (+ 0,3% *i*PrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất được hóa rắn từ dầu mỏ ete/diisopropyl ete. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 441 mg chất đồng phân đối ảnh **6A**. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai được kết tinh từ dầu mỏ ete /diisopropyl ete. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 461 mg chất đồng phân đối ảnh **6B**.

Hợp chất 6:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) 2,21 (s, 3 H) 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 3,89 - 4,06 (m, 2 H) 4,19 (t, *J*=4,6 Hz, 2 H) 5,30 (br s, 1 H) 6,33 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,57 (t, *J*=1,7 Hz, 1 H) 6,65 (br s, 1 H) 6,89 (s, 1 H) 6,92 - 6,96 (m, 2 H) 7,01 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,10 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,90 (s, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 11,84 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,99 phút, MH⁺ 573

Chất đồng phân đối ảnh 6A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,22 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 3,90 - 4,07 (m, 2 H) 4,20 (t, *J*=4,4 Hz, 2 H) 5,30 (br s, 1 H) 6,34 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 6,57 (s, 1 H) 6,65 (br s, 1 H) 6,90 (s, 1 H) 6,93 - 6,97 (m, 2 H) 7,01 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,11 (d, *J*=1,6 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,91 (s, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 11,84 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,98 phút, MH⁺ 573

$[\alpha]_D^{20}$: +147,1° (c 0,2936, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-B): R_t 1,86 phút, MH⁺ 573, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 6B:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,22 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 3,90 - 4,07 (m, 2 H) 4,20 (br t, *J*=4,4 Hz, 2 H) 5,30 (br s, 1 H) 6,34 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 6,57 (s, 1 H) 6,65 (br s, 1 H) 6,90 (s, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 7,02

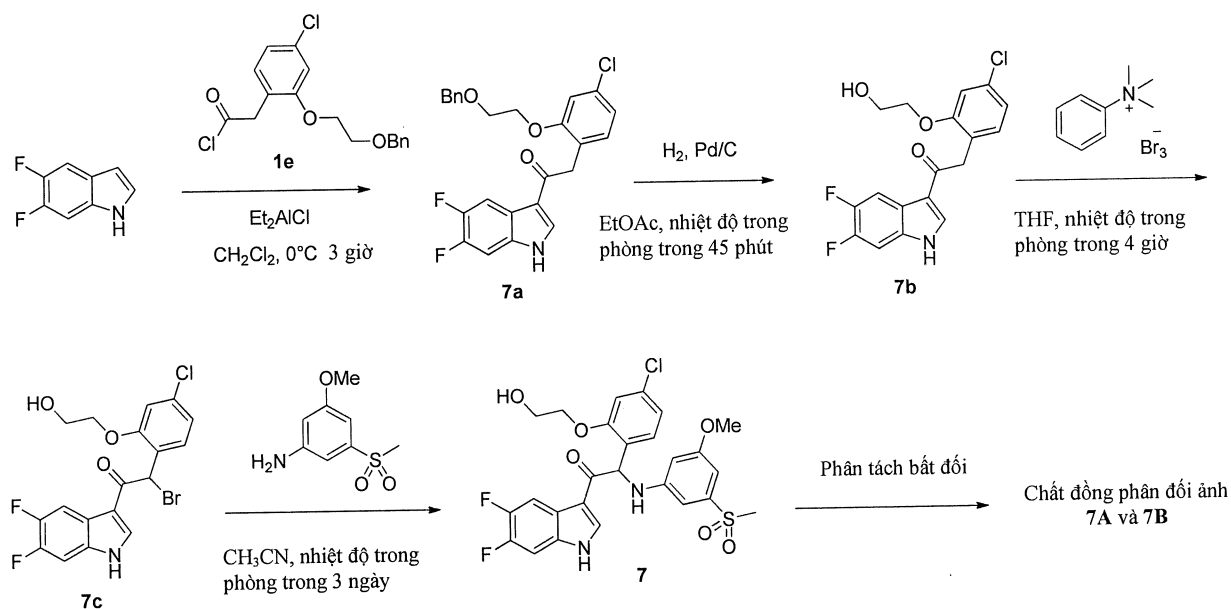
(d, $J=7,6$ Hz, 1 H) 7,11 (d, $J=1,6$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 7,91 (s, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 11,84 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,98 phút, MH^+ 573

$[\alpha]_D^{20}$: $-152,4^\circ$ (c 0,2927, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-B): R_t 3,43 phút, MH^+ 573, độ tinh khiết bất đối 100%.

Ví dụ 7: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5,6-difluo-1H-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất 7) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 7A và 7B.



Tổng hợp chất trung gian 7a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (12,5 mL, 12,5 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C, vào dung dịch chứa 5,6-diflo-1*H*-indol [CAS 169674-01-5] (1,27 g, 8,30 mmol) trong CH₂Cl₂ (50 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ 0°C, dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (4,23 g, 12,5 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH₂Cl₂ (20 mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Dung dịch muối Rochelle 1M được bổ sung và hỗn hợp được khuấy mạnh trong 30 phút. H₂O được bổ sung vào và các pha được tách. Pha nước được chiết hai lần bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được kết hợp, được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng Et₂O. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)etanon **7a** (1,37 g).

Tổng hợp chất trung gian 7b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)etanon **7a** (1,43 g, 3,14 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,07 g) trong EtOAc (70 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 45 phút dưới khí H₂. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua celite®. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (từ 0% đến 15%) trong CH₂Cl₂ để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)etanon **7b** (0,88 g).

Tổng hợp chất trung gian 7c:

Dung dịch chứa phenyltrimetylamonitribromua [CAS 4207-56-1] (1,68 g, 4,47 mmol) trong THF (20 mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)etanon **7b** (1,49 g, 4,07 mmol) trong THF (45 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng EtOAc. Phần lọc được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)etanon **7c** (1,81 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 7 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 7A và 7B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)etanon **7c** (1,81 g, 4,07 mmol) và 3-metoxy-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (2,46 g, 12,2 mmol) trong CH₃CN (40 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 ngày. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được phân chia giữa EtOAc và HCl 1N. Các pha được tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được kết hợp, được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, được lọc và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc (50% đến 100%) trong heptan. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được nghiền bằng CH₂Cl₂. Chất rắn được lọc và làm khô dưới chân không để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5,6-diflo-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất 7, 0,97 g) dưới dạng hỗn hợp racemic.

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất 7 (914 mg) được thực hiện thông qua phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: AS 20 μ m, Pha động: 100% metanol). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **7A** (351 mg) là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **7B** (337 mg) là sản phẩm rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh **7A** được khuấy trong hỗn hợp 1/1 của MeOH và nước (10 mL). Chất rắn được lọc, được rửa bằng lượng nhỏ MeOH/nước 1/1 và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **7A** (323 mg) là chất bột màu trắng. Chất đồng phân đối ảnh **7B** được tinh chế tiếp nhờ SFC bất đối điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® Diacel AS 20 x 250 mm, Pha động: CO₂, EtOH (+ 0,4% *i*PrNH₂)). Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được khuấy trong hỗn hợp 1/1 của MeOH và nước (10 mL) trong 30 phút. Chất rắn được lọc, được rửa bằng lượng nhỏ MeOH/nước 1/2 và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **7B** (209 mg) ở dạng chất bột màu trắng.

Hợp chất 7:

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,86 - 4,07 (m, 2 H) 4,19 (m, 2 H) 5,29 (t, *J*=5,3 Hz, 1 H) 6,37 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,58 (s, 1 H)

6,65 (s, 1 H) 6,91 - 7,01 (m, 2 H) 7,05 - 7,16 (m, 2 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,50 (dd, $J=10,7, 7,0$ Hz, 1 H) 8,01 (dd, $J=11,3, 8,3$ Hz, 1 H) 8,72 (s, 1 H) 12,31 (br. s., 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-E): R_t 1,21 phút, MH^+ 565

Chất đồng phân đối ảnh 7A:

1H NMR (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 - 4,05 (m, 2 H) 4,19 (br t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,31 (br t, $J=5,4$ Hz, 1 H) 6,37 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H) 6,58 (br s, 1 H) 6,65 (br s, 1 H) 6,92 - 7,01 (m, 2 H) 7,06 - 7,16 (m, 2 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,50 (dd, $J=10,7, 6,9$ Hz, 1 H) 8,01 (dd, $J=11,1, 8,1$ Hz, 1 H) 8,72 (s, 1 H) 12,31 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 565

$[\alpha]_D^{20}$: +120,2° (c 0,499, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 3,47 phút, MH^+ 565, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 7B:

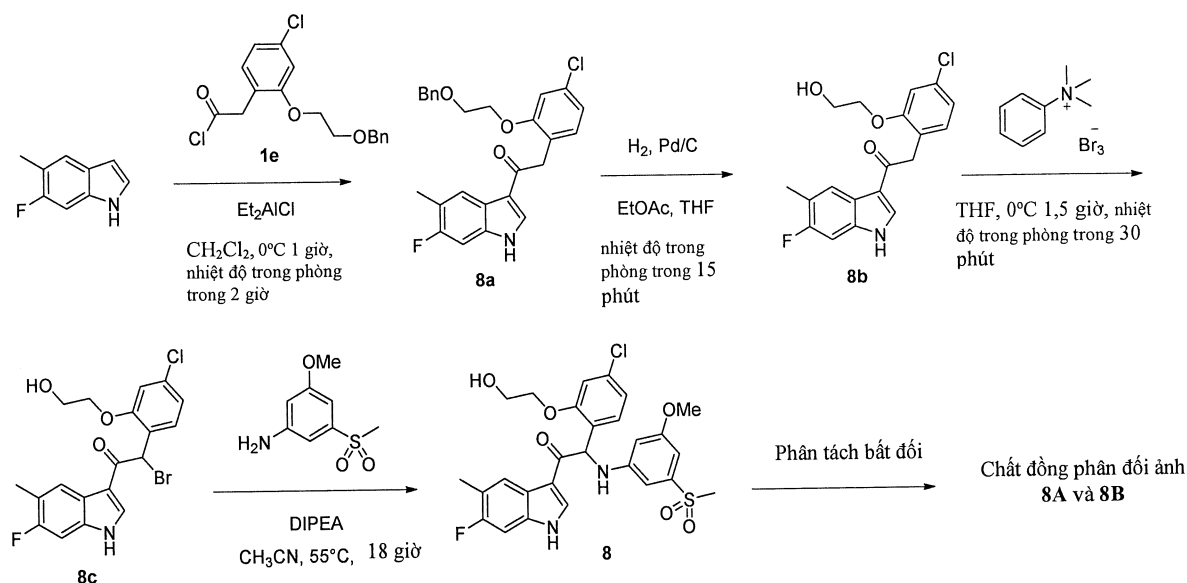
1H NMR (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,86 - 4,06 (m, 2 H) 4,19 (br t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,30 (br t, $J=5,4$ Hz, 1 H) 6,37 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H) 6,58 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,92 - 7,00 (m, 2 H) 7,06 - 7,14 (m, 2 H) 7,36 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,50 (dd, $J=10,7, 6,8$ Hz, 1 H) 8,01 (dd, $J=11,1, 8,0$ Hz, 1 H) 8,72 (s, 1 H) 12,30 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,10 phút, MH^+ 565

$[\alpha]_D^{20}$: -125,0° (c 0,414, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-D): R_t 1,60 phút, MH^+ 565, độ tinh khiết bất đối 100%.

Ví dụ 8: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1H-indol-3-yl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **8**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **8A** và **8B**.



Tổng hợp chất trung gian 8a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (17,0 mL, 17,0 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C và dưới khí N_2 , vào dung dịch chứa 6-flo-5-metyl-1H-indol [CAS 162100-95-0] (1,69 g, 11,3 mmol) trong CH_2Cl_2 (150 mL). Sau 15 phút ở nhiệt độ 0°C , dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)ethoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (5,37 g, 15,8 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH_2Cl_2 (100 mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ và ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào băng/dung dịch muối Rochelle và hỗn hợp được khuấy mạnh. Lớp này được tách ra. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 và được lọc qua tấm dicalite® ngắn. Bánh lọc được rửa vài lần bằng THF và dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được tạo hỗn dịch trong CH_3CN (20 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng lượng nhỏ CH_3CN , và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)ethoxy)-4-clophenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1H-indol-3-yl)etanon **8a** (2,39 g) ở dạng chất rắn màu trắng.

Tổng hợp chất trung gian 8b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)ethoxy)-4-clophenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1H-indol-3-yl)etanon **8a** (2,39 g, 4,71 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,5 g) trong EtOAc (135 mL) và THF (15 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút dưới khí H_2 . Hỗn hợp phản ứng được lọc qua dicalite® và bánh lọc được rửa bằng EtOAc và THF. Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được khuấy trong DIPE/THF (2/1), được lọc bỏ, được rửa bằng DIPE (3 lần) và làm khô dưới

chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **8b** (0,90 g).

Tổng hợp chất trung gian 8c:

Phenyltrimetylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (982 mg, 2,61 mmol) được bổ sung vào dung dịch được làm lạnh (0°C) chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **8b** (900 mg, 2,49 mmol) trong THF (60 mL), dưới khí N₂. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 90 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Chất kết tủa được lọc ra và được rửa bằng THF (2 lần). Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **8c** (1,1 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 8 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 8A và 8B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)etanon **8c** (1,10 g, 2,49 mmol), 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,00 g, 4,97 mmol) và diisopropyletylamin (857 µL, 4,97 mmol) trong CH₃CN (60 mL) được khuấy ở nhiệt độ 55°C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và được rót vào nước đang khuấy (250 mL). Sản phẩm được chiết bằng hỗn hợp chứa Et₂O/2-MeTHF 9/1, và bằng Et₂O. Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Grace Reveleris® silic oxit 40 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pha tĩnh: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 µm, 50 x 150 mm, Pha động: 0,25% NH₄HCO₃ dung dịch trong nước, CH₃CN). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm và chất cặn rắn được làm khô ở nhiệt độ 50°C trong chân không để tạo ra raxemic 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(6-flo-5-metyl-1*H*-indol-3-yl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất **8**, 600 mg).

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **8** (570 mg) được thực hiện thông qua phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: AS 20 µm, Pha động:

100% metanol). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **8A** là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **8B** là sản phẩm rửa giải thứ hai. Cả hai chất đồng phân đối ảnh được khuấy trong nước/MeOH 4/1 (5 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng nước/MeOH 4/1 và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **8A** (178 mg) và chất đồng phân đối ảnh **8B** (189 mg).

Hợp chất 8:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,30 (d, $J=1,3$ Hz, 3 H) 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,05 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,27 (br s, 1 H) 6,35 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,57 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,64 (t, $J=1,5$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 7,01 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 7,10 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,19 (d, $J=10,1$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 8,02 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 8,61 (s, 1 H) 12,02 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,01 phút, MH^+ 561

Chất đồng phân đối ảnh 8A:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,30 (d, $J=1,3$ Hz, 3 H) 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 - 4,06 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,26 (br t, $J=5,1$ Hz, 1 H) 6,35 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,57 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,65 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,97 (m, 2 H) 7,01 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 7,10 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 7,19 (d, $J=10,1$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 8,03 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 8,61 (s, 1 H) 12,03 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,10 phút, MH^+ 561

$[\alpha]_D^{20}$: +172,4° (c 0,485, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 3,59 phút, MH^+ 561, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 8B:

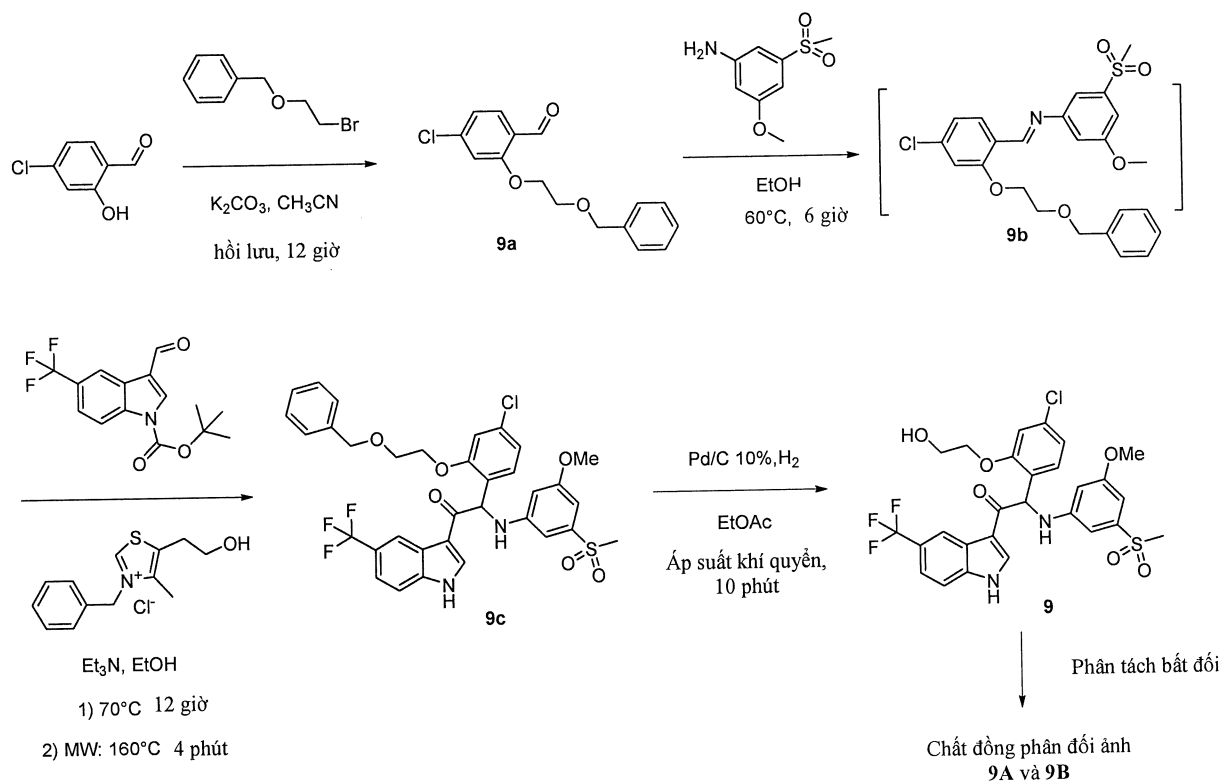
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,30 (d, $J=1,3$ Hz, 3 H) 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,05 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,27 (br s, 1 H) 6,35 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,57 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,65 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,91 - 6,97 (m, 2 H) 7,01 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,10 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,19 (d, $J=10,3$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 8,03 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 8,61 (s, 1 H) 11,94 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,10 phút, MH^+ 561

$[\alpha]_D^{20}$: $-170,6^\circ$ (c 0,425, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 4,06 phút, MH^+ 561, độ tinh khiết bất đối 98,7%.

Ví dụ 9: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(5-(triflometyl)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **9**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **9A** và **9B**.



Tổng hợp hợp chất trung gian 9a:

Hỗn hợp chứa 4-clo-2-hydroxy-benzaldehyt [CAS 2420-26-0] (7,72 g, 49,31 mmol), benzyl 2-brometyl ete [CAS 1462-37-9] (7,8 mL, 49,31 mmol) và kali cacbonat (8,2 g, 59,17 mmol) trong CH_3CN (200 mL) được gia nhiệt hồi lưu trong 12 giờ. Hỗn hợp được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được hấp thụ bằng $EtOAc$, được rửa bằng nước (hai lần), làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi để tạo ra 2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clobenzaldehyt **9a** (14,2 g).

Tổng hợp hợp chất trung gian 9b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clobenzaldehyt **9a** (2,1 g, 7,22 mmol), 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,45 g, 7,22

mmol) trong EtOH (18 mL) được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 6 giờ. Dung dịch tạo thành chứa imin **9b** được sử dụng trong bước tiếp theo.

Tổng hợp hợp chất trung gian **9c**:

Bổ sung triethylamin (1 mL, 7,22 mmol) vào dung dịch chứa 3-benzyl-5-(2-hydroxyetyl)-4-methylthiazol-3-ium clorua [CAS 4568-71-2] (1,95 g, 7,22 mmol) trong EtOH (10 mL) và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 10 phút. Dung dịch này được bổ sung vào hỗn hợp khuấy của imin **9b** (3,42 g, 7,22 mmol, dung dịch trong EtOH, xem ở trên: tổng hợp chất trung gian **9b**) và *tert*-butyl 3-formyl-5-(triflometyl)-1*H*-indol-1-carboxylat [CAS 1493799-60-2] (2,7 g, 8,67 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống đến nhiệt độ trong phòng và được chuyển vào ống kín sau đó được gia nhiệt ở nhiệt độ 160°C bằng cách sử dụng vi sóng một chế độ duy nhất (*Biotage Initiator EXP 60*) với nguồn điện vào nằm trong khoảng từ 0 đến 400 W trong 4 phút (thời gian giữ cố định). Hỗn hợp được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh sạch được thực hiện bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 µm, 120 g, dung môi rửa giải: CH₂Cl₂/CH₃OH 99,5/0,5). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn (3,48 g) được hấp thụ bằng CH₃OH và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(5-(triflometyl)-1*H*-indol-3-yl)etanon **9c** (1,23 g).

Tổng hợp Hợp chất **9** và tách bắt đôi thành các chất đồng phân đối ảnh **9A** và **9B**:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(5-(triflometyl)-1*H*-indol-3-yl)etanon **9d** (1,10 g, 1,60 mmol) trong EtOAc (20 mL) được hydro hóa trong 10 phút dưới áp suất khí quyển H₂ bằng 10% Pd/C (340 mg, 0,32 mmol) làm chất xúc tác. Phản ứng này được pha loãng bằng EtOAc và được lọc qua tấm celite®. Dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxo-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(5-(triflometyl)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **9**, 910 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **9** (1,15 g) được tách bằng SFC bất đối (Pha tĩnh: Chiralpak® IC 5 μ m 250 x 30 mm, Pha động: 75% CO₂, 25% EtOH + 0,3% iPrNH₂) tạo ra 544 mg chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất và 464 mg chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất được kết tinh từ CH₃OH và nước. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 362 mg chất đồng phân đối ảnh **9A**. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai được kết tinh từ CH₃OH và nước. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 348 mg chất đồng phân đối ảnh **9B**.

Hợp chất **9**:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 - 4,09 (m, 2 H) 4,20 (t, *J*=4,6 Hz, 2 H) 5,32 (t, *J*=5,5 Hz, 1 H) 6,42 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,59 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,94 - 6,98 (m, 2 H) 7,10 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,38 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,54 (dd, *J*=8,7, 1,7 Hz, 1 H) 7,67 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 8,50 (s, 1 H) 8,83 (s, 1 H) 12,53 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): *R*_t 3,12 phút, MH⁺ 597

Nhiệt độ nóng chảy: 228°C

Chất đồng phân đối ảnh **9A**:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,87 - 4,07 (m, 2 H) 4,20 (t, *J*=4,4 Hz, 2 H) 5,32 (br t, *J*=4,4 Hz, 1 H) 6,42 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,59 (s, 1 H) 6,66 (br s, 1 H) 6,94 - 6,99 (m, 2 H) 7,10 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,3 Hz, 1 H) 7,38 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,67 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 8,50 (s, 1 H) 8,83 (s, 1 H) 12,52 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): *R*_t 3,12 phút, MH⁺ 597

[α]_D²⁰: -154,3° (c 0,245, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-E): *R*_t 1,75 phút, MH⁺ 597, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh **9B**:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,06 (m, 2 H) 4,20 (t, *J*=4,4 Hz, 2 H) 5,32 (br t, *J*=4,7 Hz, 1 H) 6,42 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H)

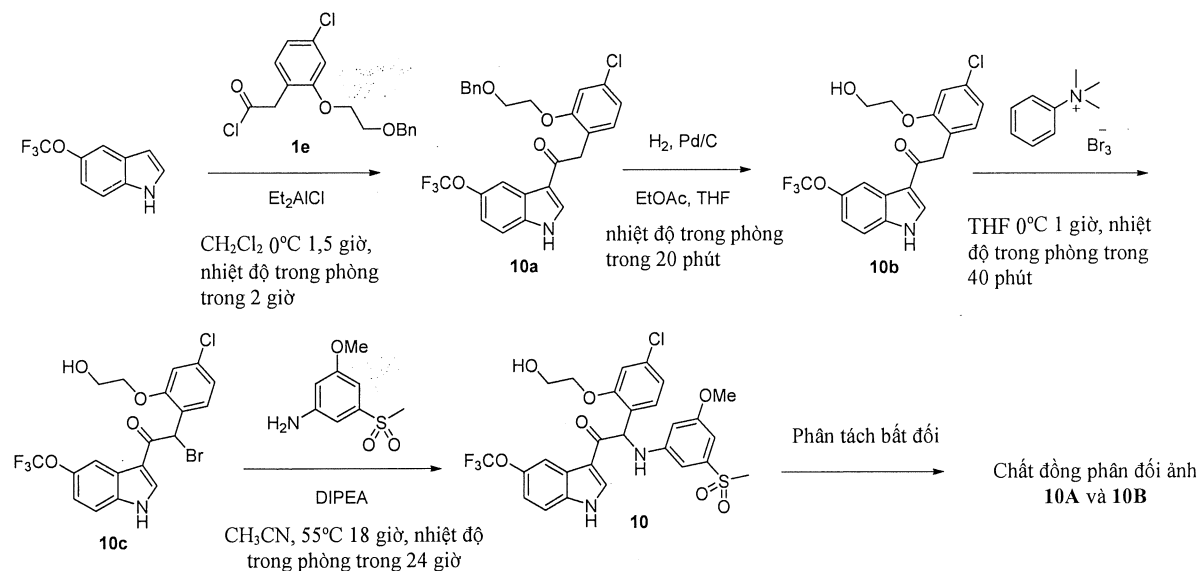
6,59 (s, 1 H) 6,66 (br s, 1 H) 6,94 - 6,98 (m, 2 H) 7,10 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=1,6$ Hz, 1 H) 7,38 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 7,54 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 7,67 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,50 (s, 1 H) 8,83 (s, 1 H) 12,50 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,12 phút, MH^+ 597

$[\alpha]_D^{20}$: +142,6° (c 0,284, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-E): R_t 2,15 phút, MH^+ 597, độ tinh khiết bất đối 100%.

Ví dụ 10: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **10**) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh **10A** và **10B**.



Tổng hợp chất trung gian 10a:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (18,2 mL, 18,2 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C và dưới khí N_2 , vào dung dịch chứa 5-(triflometoxy)-1*H*-indol [CAS 262593-63-5] (2,44 g, 12,1 mmol) trong CH_2Cl_2 (150 mL). Sau khi khuấy trong 15 phút ở nhiệt độ 0°C, dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (6,17 g, 18,2 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH_2Cl_2 (100 mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 90 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ 0°C và dung dịch chứa muối Rochelle [CAS 6100-16-9] (6,85 g, 24,3 mmol) trong nước (7 mL) được bổ sung từng giọt. Hỗn hợp được khuấy mạnh trong 30 phút

ở nhiệt độ 0°C. Bể đá lạnh được tháo ra và THF (200 mL) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng, Na₂SO₄ (25 g) được bổ sung vào. Hỗn hợp được khuấy trong 90 phút và được lọc qua dicalite®. Bánh lọc được rửa bằng THF (4x 150 mL) và dịch lọc kết hợp được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm cùng bay hơi để làm khô bằng hỗn hợp CH₃CN và toluen. Chất cặn rắn được khuấy trong hỗn hợp chứa toluen (5 mL) và CH₃CN (2,5 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng lượng nhỏ toluen/CH₃CN (2/1), và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **10a** (1,89 g). Dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn (6,8 g) được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Biotage® SNAP Ultra Silica 100 g, dung môi rửa giải: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời cùng với EtOAc. Sản phẩm được khuấy trong hỗn hợp chứa DIPE (15 mL) và EtOAc (1 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng DIPE (2 lần), và làm khô ở nhiệt độ 50°C dưới chân không để tạo ra mẻ thứ hai chứa **10a** (1,62 g).

Tổng hợp chất trung gian 10b:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **10a** (1,62 g, 3,22 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,5 g) trong EtOAc (75 mL) và THF (10 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút dưới khí H₂. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua dicalite® và bánh lọc được rửa bằng THF. Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được kết hợp với phân đoạn khác (lượng tổng: 3 g), được khuấy trong CH₂Cl₂ (8 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng CH₂Cl₂ (5x 1 mL) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **10b** (1,64 g).

Tổng hợp chất trung gian 10c:

Phenyltrimetylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (1,56 g, 4,16 mmol) được bổ sung từng phần vào dung dịch được làm mát (0°C) chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **10b** (1,64 g, 3,96 mmol) trong THF (75 mL), dưới khí N₂. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ và ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút. Chất kết tủa được lọc và

được rửa bằng THF (2 lần). Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **10c** (1,92 g) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 10 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 10A và 10B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **10c** (1,95 g, 3,96 mmol), 3-metoxy-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,60 g, 7,92 mmol) và diisopropyletylamin (1,37 mL, 7,92 mmol) trong CH₃CN (75 mL) được khuấy ở nhiệt độ 55°C trong 18 giờ và ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và được rót vào nước đang khuấy (350 mL). Sản phẩm được chiết bằng Et₂O (2 lần). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Grace Reveleris® Silica 80 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời cùng với CH₃CN. Phần cặn được tinh chế nhờ HPLC điều chế (Pha tĩnh: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 µm, 50 x 150 mm, Pha động: 0,25% NH₄HCO₃ dung dịch trong nước, CH₃CN). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, được làm bay hơi đồng thời cùng với MeOH và được làm khô ở nhiệt độ 50°C trong chân không để tạo ra raxemic 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **10**, 700 mg). Lượng nhỏ mẫu của Hợp chất **10** (50 mg) được hóa rắn bằng cách làm bay hơi chậm khối dung dịch trong MeOH/nước bằng cách sử dụng Máy cô bằng cách quay chân không (Rotavapor). Chất rắn được lọc, được rửa bằng nước (3 lần) và được làm khô ở nhiệt độ 45°C trong chân không để tạo ra mẫu phân tích của Hợp chất **10** (46 mg).

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **10** (650 mg) được thực hiện thông qua phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: Whelk-O1 (R,R), Pha động: 20% etanol, 80% heptan). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **10A** là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **10B** là sản phẩm rửa giải thứ hai. Cả hai chất đồng phân đối ảnh

được khuấy trong hỗn hợp chứa nước (4 mL) và MeOH (1,25 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng nước/MeOH 4/1 (4x) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **10A** (115 mg) và chất đồng phân đối ảnh **10B** (140 mg).

Hợp chất 10:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 - 4,05 (m, 2 H) 4,20 (t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,27 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H) 6,38 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,65 (t, $J=2,4$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,98 (m, 2 H) 7,07 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,21 (dd, $J=8,8$, 1,8 Hz, 1 H) 7,38 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 7,56 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 8,07 (d, $J=1,1$ Hz, 1 H) 8,77 (s, 1 H) 12,37 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 613

Chất đồng phân đối ảnh 10A:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 - 4,07 (m, 2 H) 4,20 (br t, $J=4,4$ Hz, 2 H) 5,29 (br t, $J=5,4$ Hz, 1 H) 6,39 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,59 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,65 (t, $J=2,2$ Hz, 1 H) 6,91 - 7,00 (m, 2 H) 7,09 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 7,21 (dd, $J=8,7$, 1,7 Hz, 1 H) 7,38 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,57 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 8,08 (br s, 1 H) 8,77 (s, 1 H) 12,38 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 613

$[\alpha]_D^{20}$: -139,3° (c 0,425, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 3,27 phút, MH^+ 613, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 10B:

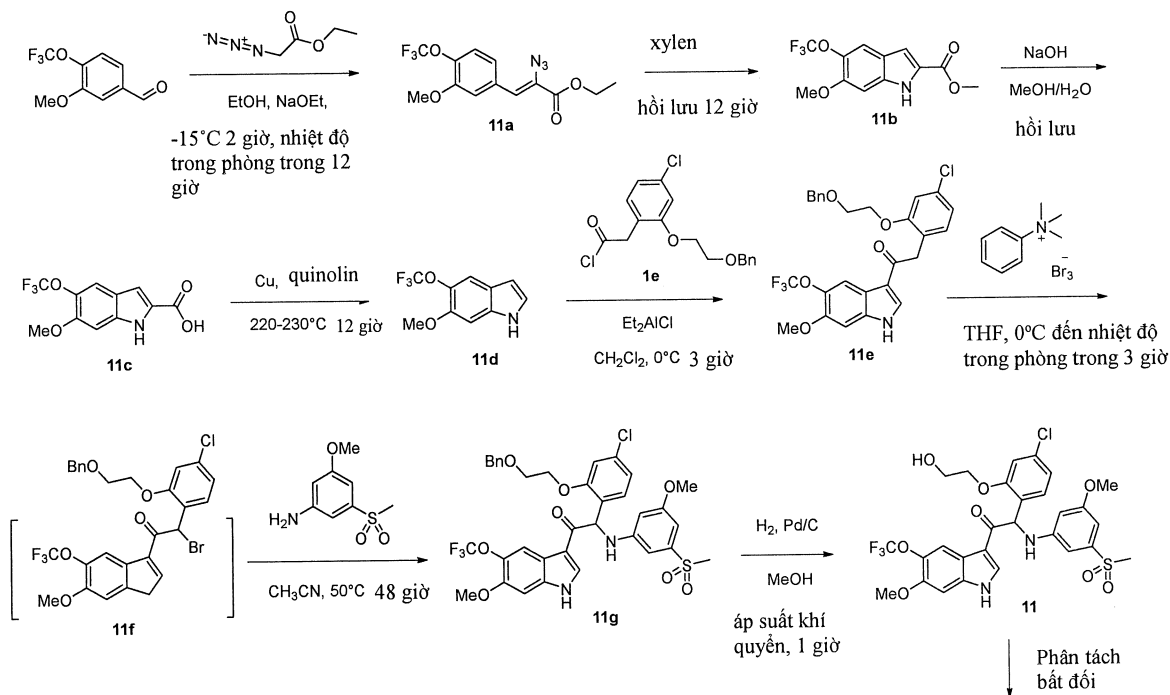
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,05 (m, 2 H) 4,20 (t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,29 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H) 6,39 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,65 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,99 (m, 2 H) 7,09 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,21 (dd, $J=8,7$, 1,9 Hz, 1 H) 7,38 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,57 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 8,07 (d, $J=0,9$ Hz, 1 H) 8,77 (s, 1 H) 12,38 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 613

$[\alpha]_D^{20}$: +141,7° (c 0,525, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 2,92 phút, MH^+ 613, độ tinh khiết bất đối 100%.

Ví dụ 11: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxi-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(6-metoxi-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)-etanon (Hợp chất **11**) và phân tách bất đối để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **11A** và **11B**



Chất đồng phân đối ảnh **11A** và **11B**

Tổng hợp chất trung gian **11a**:

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa NaOEt (0,69 mol, được điều chế từ 15,9 g Na và 700 mL EtOH) vào dung dịch được làm lạnh (-15°C) chứa 3-metoxi-4-(triflometoxy)benzaldehyt [CAS 853771-90-1] (50 g, 230 mmol) và etyl azidoacetat (89 g, 690 mmol) trong EtOH (400 mL), qua thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau khi làm lạnh trên bề đá, phản ứng này được làm ngưng bằng dung dịch NH₄Cl bão hòa (1,2 L), và được khuấy trong 10 phút. Chất kết tủa được lọc, được rửa bằng nước, được làm khô để tạo ra (Z)-etyl 2-azido-3-(3-metoxi-4-(triflometoxy)phenyl)acrylat **11a** (32 g) là chất rắn màu hơi vàng.

Tổng hợp chất trung gian **11b**:

Dung dịch chứa (Z)-ethyl 2-azido-3-(3-metoxi-4-(triflometoxi)phenyl)acrylat **11a** (3 g, 10 mmol) trong xylen (40 mL) được gia nhiệt hồi lưu qua đêm. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, dung môi được làm bay hơi để làm khô. Phần cặn được nghiền bằng hexan (50 mL) và chất kết tủa được lọc để tạo ra metyl 6-metoxi-5-(triflometoxi)-1*H*-indol-2-carboxylat **11b** (tạo ra: 1,4-1,6 g) là chất rắn màu vàng.

Tổng hợp chất trung gian **11c**:

Bổ sung NaOH (7 g, 175 mmol) vào hỗn hợp chứa metyl 6-metoxi-5-(triflometoxi)-1*H*-indol-2-carboxylat **11b** (25 g, 87 mmol) trong MeOH/H₂O (2/1, 300 mL) và hỗn hợp được gia nhiệt hồi lưu cho đến khi thu được dung dịch trong. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, hầu hết metanol được loại bỏ dưới áp suất giảm và dung dịch nước còn lại được axit hóa bằng HCl đậm đặc đến pH 3-4. Sản phẩm được chiết bằng EtOAc (2x 250 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra axit 6-metoxi-5-(triflometoxi)-1*H*-indol-2-carboxylic **11c** (22,7 g) là chất rắn màu xám.

Tổng hợp chất trung gian **11d**:

Huyền phù chứa axit 6-metoxi-5-(triflometoxi)-1*H*-indol-2-carboxylic **11c** (7,5 g, 27 mmol) và Cu (1,22 g, 0,7 đương lượng) trong quinolin (150 mL) được gia nhiệt đến nhiệt độ 220-230°C dưới khí trơ trong 12 giờ. Sau khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp được pha loãng bằng metyl *tert*-butyl ete (MTBE, 400 mL) và được rửa bằng dung dịch NaHSO₄ nước bão hòa (2x 500 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO₄, được lọc qua tấm silicagel ngắn, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 6-metoxi-5-(triflometoxi)-1*H*-indol **11d** (3,75 g) là chất rắn màu vàng.

Tổng hợp chất trung gian **11e**:

Diethyl nhôm clorua 1M trong hexan (9,7 mL, 9,7 mmol) được bổ sung từng giọt ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa 6-metoxi-5-(triflometoxi)-1*H*-indol **11d** (1,5 g, 6,5 mmol) trong CH₂Cl₂ (25 mL). Sau 30 phút ở nhiệt độ 0°C, 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxi)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (2,4 g, 7,13 mmol) trong CH₂Cl₂ (25 mL) được bổ sung từng giọt. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Phản ứng này được làm ngưng cẩn thận ở nhiệt độ 0°C bằng đá lạnh. Nước được bổ sung,

lớp này được tách ra và lớp nước được chiết bằng CH_2Cl_2 . Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được thực hiện bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 μm , 120 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-metoxy-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **11e** (2,1 g).

Tổng hợp hợp chất trung gian 11g:

Dưới dòng khí N_2 , ở nhiệt độ 0°C , dung dịch chứa phenyltrimethylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (1,06 g, 2,81 mmol) trong THF (37 mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-metoxy-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **11e** (1,5 g, 2,81 mmol) trong THF (38 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ. Bể làm lạnh được tháo ra và tiếp tục khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Dung dịch chứa 3-metoxy-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (1,69 g, 8,43 mmol) trong CH_3CN (30 mL) được bổ sung và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 48 giờ. Hỗn hợp được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được hấp thụ bằng EtOAc, được rửa bằng nước, HCl 1N (3 lần), và sau đó bằng dung dịch chứa 10% K_2CO_3 trong nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 , lọc, và dung môi được cô dưới áp suất giảm. Việc tinh sạch được thực hiện bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 μm , 80 g, dung môi rửa giải: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 99,5/0,5). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô. Phần cặn được tinh chế lần nữa bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 μm , 40 g, dung môi rửa giải: heptan/EtOAc gradien 60/40 đến 50/50). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(6-metoxy-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **11g** (1,075 g).

Tổng hợp Hợp chất 11 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 11A và 11B:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(6-metoxy-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **11g** (934 mg, 1,27 mmol) trong CH_3OH (18 mL) được hydro hóa trong 1 giờ dưới áp suất khí quyển của H_2 bằng cách sử dụng 10% Pd/C (271 mg, 0,255 mmol) làm chất xúc tác. Phản ứng này được pha loãng bằng CH_2Cl_2 và được lọc qua tấm celite®.

Dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được thực hiện bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel (15-40 μm , 24 g, dung môi rửa giải: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$:99/1). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và làm bay hơi đến khô để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(6-metoxy-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **11**, 540 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic. Chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **11** (540 mg) được tách bằng SFC bất đối (Pha tĩnh: Chiralpak® IA 5 μm 250 x 20 mm, Pha động: 70% CO_2 , 30% iPOH + 0,3% iPrNH₂) tạo ra 250 mg chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất và 260 mg chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ nhất được kết tủa từ diisopropyl ete/ Et_2O /heptan. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 209 mg chất đồng phân đối ảnh **11A**. Chất đồng phân đối ảnh rửa giải thứ hai được kết tủa từ diisopropyl ete. Chất kết tủa được lọc và được làm khô để tạo ra 172 mg chất đồng phân đối ảnh **11B**.

Hợp chất 11:

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,84 - 4,04 (m, 5 H) 4,15 - 4,23 (m, 2 H) 5,28 (br s, 1 H) 6,36 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,64 (s, 1 H) 6,93 (s, 1 H) 6,96 (dd, $J=8,2, 1,9$ Hz, 1 H) 7,06 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 7,37 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,03 (d, $J=1,3$ Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,10 phút, MH^+ 643

Nhiệt độ nóng chảy: 212°C

Chất đồng phân đối ảnh 11A:

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 3,89 - 4,05 (m, 2 H) 4,19 (br t, $J=4,4$ Hz, 2 H) 5,30 (br s, 1 H) 6,36 (d, $J=7,6$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,6$ Hz, 1 H) 6,64 (br s, 1 H) 6,93 (s, 1 H) 6,96 (dd, $J=8,4, 1,7$ Hz, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,17 (s, 1 H) 7,37 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,04 (d, $J=0,6$ Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 12,10 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,09 phút, MH^+ 643

$[\alpha]_D^{20}$: -102,3° (c 0,208, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-F): R_t 3,61 phút, M-F 625, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 11B:

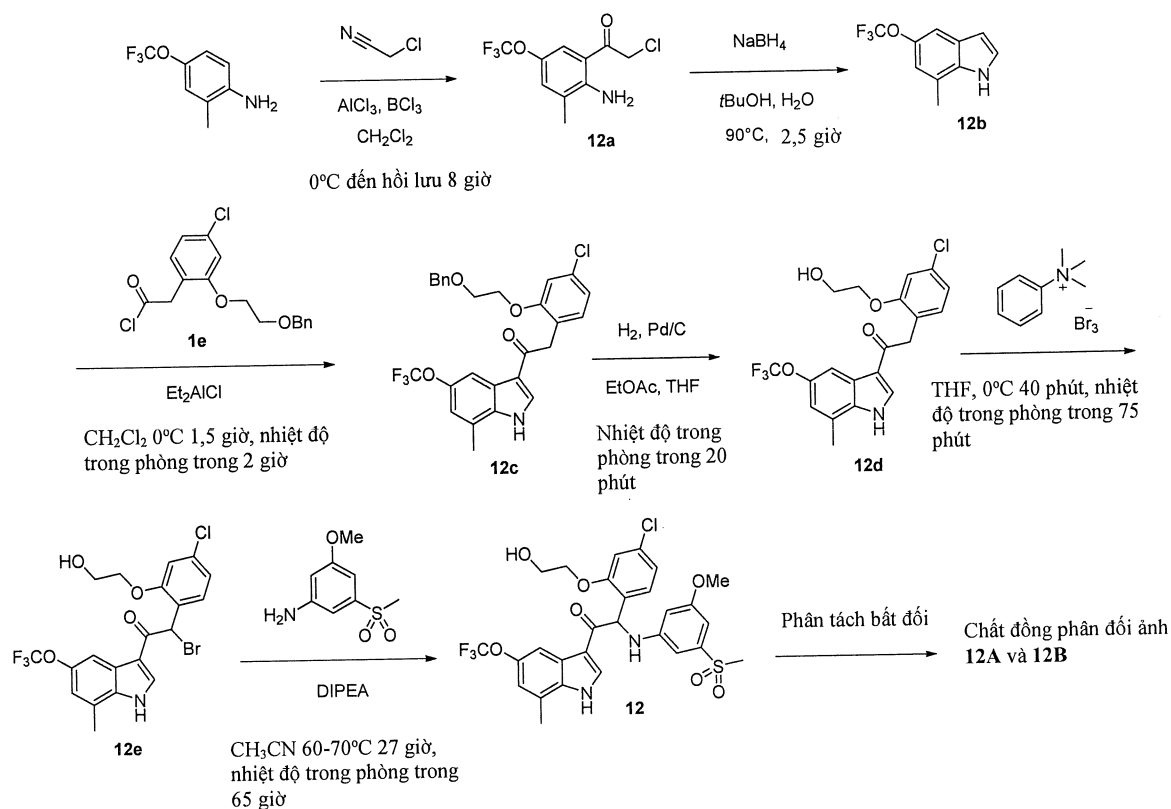
^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 3,88 - 4,04 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,30 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H) 6,36 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,7$ Hz, 1 H) 6,64 (br s, 1 H) 6,93 (s, 1 H) 6,96 (dd, $J=8,2, 1,9$ Hz, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,18 (s, 1 H) 7,37 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 8,04 (d, $J=0,9$ Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 12,10 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,09 phút, MH^+ 643

$[\alpha]_D^{20}$: +101,8° (c 0,208, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-F): R_t 4,38 phút, MH^+ 643, độ tinh khiết bất đối 98,7%.

Ví dụ 12: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất 12) và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 12A và 12B.



Tổng hợp chất trung gian 12a:

Hỗn hợp chứa bo(III) clorua 1M trong CH_2Cl_2 (25,5 mL, 25,5 mmol) và nhôm(III) clorua (3,40 g, 25,5 mmol) được pha loãng bằng CH_2Cl_2 (20 mL) và được làm mát trên bề đá lạnh dưới khí N_2 . Dung dịch chứa 2-metyl-4-(triflometoxy)anilin [CAS 86256-59-9] (4,88 g, 25,5 mmol) và cloaxetonitril (3,24 mL, 51,0 mmol) trong CH_2Cl_2 (7,5 mL) được bổ sung từng giọt. Sau khi bổ sung, bề đá lạnh được tháo ra và hỗn hợp được gia nhiệt hồi lưu trong 8 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh lần nữa đến nhiệt độ 0°C bằng cách sử dụng bề đá lạnh. HCl 2N (75 mL) được bổ sung từng giọt, gây ra sự kết tủa nặng. Huyền phù tạo thành được gia nhiệt hồi lưu trong 90 phút, và được làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Chất rắn được loại bỏ cách lọc. Bánh lọc được rửa bằng CH_2Cl_2 (4x). Dịch lọc được kết hợp và các pha được tách. Lớp hữu cơ được phân tách, được rửa bằng dung dịch NaHCO_3 nước, làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Biotage® SNAP Ultra Silica 100 g, Pha động: heptan/ CH_2Cl_2 gradien 100/0 đến 0/100). Các phân đoạn mong muốn được thu gom và cô đặc đến thể tích còn lại bằng 30 mL. Chất kết tủa được lọc, được rửa bằng heptan và CH_2Cl_2 , và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 1-(2-amino-3-metyl-5-(triflometoxy)phenyl)-2-cloetanon **12a** (1,37 g). Phần lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được khuấy trong hỗn hợp chứa heptan (20 mL) và diisopropyl ete (3 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng heptan (3 lần) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra phân đoạn thứ hai là **12a** (0,24 g).

Tổng hợp chất trung gian 12b:

Natri bohđrua (326 mg, 8,61 mmol) được bổ sung vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-amino-3-metyl-5-(triflometoxy)phenyl)-2-cloetanon **12a** (1,92 g, 7,17 mmol) trong *tert*-butanol (50 mL) và nước (5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút và ở nhiệt độ 90°C trong 2,5 giờ. Nước (50 mL) được bổ sung và sản phẩm được chiết bằng dietyl ete (2 lần). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Biotage® SNAP Ultra Silica 25 g, Pha động: heptan/ EtOAc gradien 100/0 đến 20/80). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp, được cô dưới áp suất giảm, được làm bay

hơi đồng thời cùng với heptan và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra 7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol **12b** (1,2 g).

Tổng hợp chất trung gian **12c**:

Dietyl nhôm clorua 1M trong hexan (18,2 mL, 18,2 mmol) được bổ sung từng giọt, ở nhiệt độ 0°C và dưới khí N₂, vào dung dịch chứa 7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol **12b** (2,0 g, 9,3 mmol) trong CH₂Cl₂ (150 mL). Sau khi khuấy trong 25 phút ở nhiệt độ 0°C, dung dịch chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua **1e** (4,72 g, 13,9 mmol, tổng hợp: xem ví dụ 1) trong CH₂Cl₂ (75 mL) được bổ sung từ từ, giữ nhiệt độ phản ứng dưới 5°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 90 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C và dung dịch chứa muối Rochelle [CAS 6100-16-9] (5,25 g, 18,6 mmol) trong nước (5,5 mL) được bổ sung từng giọt. Hỗn hợp được khuấy mạnh trong 30 phút ở nhiệt độ 0°C. Bể đá lạnh được tháo ra và THF (200 mL) được bổ sung vào. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, Na₂SO₄ (25 g) được bổ sung vào. Hỗn hợp được khuấy trong 18 giờ và được lọc qua dicalite®. Bánh lọc được rửa bằng THF (4x 150 mL) và dịch lọc kết hợp được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Dầu còn lại được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Pha tĩnh: Biotage® SNAP Ultra Silica 100 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được khuấy trong hỗn hợp chứa DIPE (25 mL) và EtOAc (2 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng DIPE (3 lần), và làm khô ở nhiệt độ 50°C trong chân không để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **12c** (2,88 g).

Tổng hợp chất trung gian **12d**:

Hỗn hợp chứa 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **12c** (2,88 g, 5,56 mmol) và 10% paladi trên cacbon (0,5 g) trong EtOAc (75 mL) và THF (10 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút dưới khí H₂. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua dicalite® và bánh lọc được rửa bằng THF. Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (pha tĩnh: Biotage® SNAP Ultra Silica 50 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn chứa sản phẩm

được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được khuấy trong DIPE (7,5 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng DIPE (2 lần), và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **12d** (780 mg).

Tổng hợp chất trung gian 12e:

Phenyltrimetylamoni tribromua [CAS 4207-56-1] (327 mg, 0,869 mmol) được bổ sung vào dung dịch được làm lạnh (0°C) chứa 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **12d** (354 mg, 0,827 mmol) trong THF (15 mL), dưới khí N₂. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 45 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 75 phút. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng THF (2 lần). Dịch lọc kết hợp được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **12e** (419 mg) được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp Hợp chất 12 và tách bất đối thành các chất đồng phân đối ảnh 12A và 12B:

Hỗn hợp chứa 2-brom-2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(7-metyl-5-(triflometoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon **12e** (419 mg, 0,827 mmol), 3-metoxy-5-(metylsulfonyl)anilin [CAS 62606-02-4] (333 mg, 1,65 mmol) và diisopropyletylamin (285 µL, 1,65 mmol) trong CH₃CN (30 mL) được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 20 giờ. Phản ứng này được tiếp tục ở nhiệt độ 70°C trong 7 giờ, và ở nhiệt độ trong phòng trong 65 giờ. Các chất bay hơi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được kết hợp với phân đoạn khác (1,14 g) và được tinh chế bằng sắc ký nhanh (pha tĩnh: Grace Reveleris® Silica 40 g, Pha động: heptan/EtOAc/EtOH gradien 100/0/0 đến 40/45/15). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế nhờ HPLC điều chế (Pha tĩnh: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 µm, 5 0x 150 mm, Pha động: 0,25% dung dịch NH₄HCO₃ trong nước, CH₃CN). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm được kết tinh ở nhiệt độ trong phòng từ EtOH (10 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng EtOH (2 lần), và làm khô ở nhiệt độ 45°C trong chân không để tạo ra raxemic 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-

metoxy-5-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-1-(7-methyl-5-(trifluoromethoxy)-1*H*-indol-3-yl)etanon (Hợp chất **12**, hai sản phẩm: 485 mg và 169 mg).

Phân tách bất đối chất đồng phân đối ảnh của hợp chất **12** (602 mg) được thực hiện thông qua phân tách bất đối pha thông thường (Pha tĩnh: Whelk-O1 (R,R), Pha động: 30% etanol, 70% heptan). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm bay hơi để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **12A** là sản phẩm rửa giải thứ nhất và chất đồng phân đối ảnh **12B** là sản phẩm rửa giải thứ hai. Cả hai chất đồng phân đối ảnh được khuấy trong hỗn hợp chứa nước (3,5 mL) và MeOH (1,25 mL), được lọc bỏ, được rửa bằng nước/MeOH 3/1 (4x) và làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 45°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh **12A** (202 mg) và chất đồng phân đối ảnh **12B** (166 mg).

Hợp chất 12:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,51 (s, 3 H) 3,08 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,90 - 4,06 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,28 (t, $J=5,7$ Hz, 1 H) 6,41 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,66 (t, $J=2,1$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,98 (m, 2 H) 7,02 - 7,08 (m, 2 H) 7,11 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,37 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,92 (br s, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 12,38 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,18 phút, MH^+ 627

Chất đồng phân đối ảnh 12A:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,51 (br s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,88 - 4,09 (m, 2 H) 4,19 (br t, $J=4,5$ Hz, 2 H) 5,28 (br t, $J=5,4$ Hz, 1 H) 6,41 (br d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 6,58 (br s, 1 H) 6,66 (br s, 1 H) 6,91 - 6,99 (m, 2 H) 7,01 - 7,08 (m, 2 H) 7,11 (br s, 1 H) 7,37 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,91 (br s, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 12,38 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,21 phút, MH^+ 627

$[\alpha]_D^{20}$: -111,0° (c 0,51, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 3,31 phút, MH^+ 627, độ tinh khiết bất đối 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 12B:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,51 (br s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,90 - 4,06 (m, 2 H) 4,19 (t, $J=4,6$ Hz, 2 H) 5,28 (br s, 1 H) 6,41 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,66 (br t, $J=2,4$ Hz, 1 H) 6,92 - 6,99 (m, 2 H) 7,01 - 7,08 (m, 2 H) 7,11 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 7,37 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,92 (br s, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 12,38 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,21 phút, MH^+ 627

$[\alpha]_D^{20}$: +105,2° (c 0,515, DMF)

SFC bất đối (phương pháp SFC-C): R_t 2,91 phút, MH^+ 627, độ tinh khiết bất đối 98,5%.

Hoạt tính kháng virus của các hợp chất theo sáng chế

Thử nghiệm kháng virus DENV-2

Hoạt tính kháng virus của tất cả các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm kháng lại chủng DENV-2 16681 được đánh dấu bằng protein phát ra huỳnh quang màu xanh lá cây tăng cường (enhanced green fluorescent protein - eGFP). Môi trường nuôi cấy bao gồm môi trường thiết yếu tối thiểu có bổ sung 2% huyết thanh thai bê không được hoạt hóa bởi nhiệt, 0,04% gentamycin (50mg/mL) và 2mM L-glutamin. Tế bào Vero, thu được từ ECACC, được tạo hỗn dịch trong môi trường nuôi cấy và 25 μ L được bổ sung vào tấm 384 lỗ (2500 tế bào/lỗ), mà chứa sẵn hợp chất kháng virus. Thông thường, các tấm này chứa chất pha loãng liên tiếp 5 lần trong 9 bước pha loãng bằng 200 lần nồng độ cuối cùng của hợp chất thử nghiệm trong 100% DMSO (200nL). Ngoài ra, nồng độ của mỗi hợp chất được thử nghiệm bốn lần (khoảng nồng độ cuối cùng: 25 μ M – 0,000064 μ M hoặc 2,5 μ M – 0,0000064 μ M đối với hợp chất hoạt hóa nhất). Cuối cùng, mỗi tấm chứa các lỗ được chỉ định làm đối chứng virus (chứa các tế bào với sự không có mặt của virus và hợp chất), đối chứng tế bào (chứa các tế bào với sự không có mặt của virus và hợp chất) và đối chứng môi trường (chứa môi trường với sự không có mặt của tế bào, virus và hợp chất). Đối với các lỗ được chỉ định làm đối chứng môi trường, 25 μ L môi trường nuôi cấy được bổ sung thay cho tế bào Vero. Một khi các tế bào được bổ sung vào các tấm, các tấm này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng để cho phép các tế bào phân bố đều trong các lỗ. Tiếp theo, các tấm này được ủ trong tủ ủ hoàn toàn ẩm (37°C, 5%CO₂)

cho đến ngày hôm sau. Sau đó, chủng DENV-2 16681, được đánh dấu bằng eGFP, được bổ sung ở bội số lây nhiễm (multiplicity of infection - MOI) bằng 0,5. Do đó, 15 μ L huyền phù virus được bổ sung vào tất cả các lỗ chứa hợp chất thử nghiệm và vào các lỗ chỉ định làm đối chứng virus. Song song, 15 μ L môi trường nuôi cấy được bổ sung vào đối chứng môi trường và đối chứng tế bào. Tiếp theo, các tấm này được ủ trong 3 ngày trong tủ ủ hoàn toàn ẩm (37°C, 5% CO₂). Vào ngày đọc kết quả, huỳnh quang eGFP được xác định bằng cách sử dụng kính hiển vi huỳnh quang tự động ở 488 nm (laze xanh lam). Bằng cách sử dụng hệ thống LIMS nội bộ, đường cong đáp ứng liều ức chế đối với mỗi hợp chất được tính toán và nồng độ hiệu quả bằng nửa nồng độ tối đa (EC₅₀) được xác định. Do đó, phần trăm ức chế (I) đối với mỗi nồng độ thử nghiệm được tính toán bằng cách sử dụng công thức sau đây: $I = 100 * (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$; S_T, S_{CC} và S_{VC} là lượng tín hiệu eGFP trong các lỗ chứa hợp chất thử nghiệm, đối chứng tế bào và đối chứng virus, tương ứng. EC₅₀ thể hiện nồng độ của hợp chất mà sự sao chép virus được ức chế bằng 50%, như được xác định bởi sự khử 50% cường độ huỳnh quang eGFP so với đối chứng virus. EC₅₀ được tính toán bằng cách sử dụng phép nội suy tuyến tính (Bảng 1).

Song song, tính độc của các hợp chất được đánh giá trên các đĩa tương tự. Một khi tín hiệu eGFP được đọc, 40 μ L ATPlite, chất nhuộm để xác định khả năng sống của tế bào, được bổ sung vào tất cả các lỗ của tấm 384 lỗ. ATP có mặt trong tất cả các các tế bào có hoạt tính chuyển hóa và nồng độ này giảm rất nhanh khi các tế bào bị hoại tử hoặc chết tế bào theo chương trình. Hệ thử nghiệm ATPlite dựa trên sự tạo thành ánh sáng gây ra bởi phản ứng của ATP với luciferaza và D-luciferin được bổ sung vào. Các tấm này được ủ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, các tấm này được xác định trên ViewLux. Nồng độ độc tế bào bằng nửa nồng độ tối đa (CC₅₀) cũng được xác định, được định nghĩa là nồng độ được yêu cầu để làm giảm tín hiệu phát quang 50% so với tín hiệu ở các lỗ chứa đối chứng tế bào. Cuối cùng, chỉ số chọn lọc (selectivity index - SI) được xác định đối với các hợp chất, được tính toán như sau đây: $SI = CC_{50} / EC_{50}$.

Song song, tính độc của các hợp chất được đánh giá trên cùng đĩa. Một khi tín hiệu eGFP được đọc, 40 μ L ATPlite, chất nhuộm để xác định khả năng sống của tế bào, được bổ sung vào tất cả các lỗ của tấm 384 lỗ. ATP có mặt trong tất cả các tế

bào có hoạt tính chuyển hóa và nồng độ này giảm rất nhanh khi các tế bào bị hoại tử hoặc chết tế bào theo chương trình. Hệ thử nghiệm ATPLite dựa trên sự tạo thành ánh sáng gây ra bởi phản ứng của ATP với luciferaza và D-luciferin được bổ sung vào. Các tấm này được ủ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, các tấm này được xác định trên ViewLux. Nồng độ độc tế bào bằng nửa nồng độ tối đa (CC₅₀) cũng được xác định, được định nghĩa là nồng độ được yêu cầu để làm giảm tín hiệu phát quang 50% so với tín hiệu ở các lỗ chứa đối chứng tế bào. Cuối cùng, chỉ số chọn lọc (selectivity index - SI) được xác định đối với các hợp chất, được tính toán như sau đây: $SI = CC_{50}/EC_{50}$.

Bảng 1: EC₅₀, CC₅₀, và SI đối với các hợp chất theo sáng chế trong thử nghiệm kháng virus DENV-2

Hợp chất#	EC ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	SI	N
1	0,00043	4	5,1	4	11800	4
1A	0,00024	7	3,7	7	>13500	7
1B	0,0035	4	8,4	4	2420	4
2	0,00027	4	4,2	4	>10300	4
2A	0,00011	10	3,4	10	>37500	9
2B	0,0049	4	11	4	2130	4
3	0,00054	5	12	5	>31100	5
3A	0,00032	6	5,2	6	16400	6
3B	0,056	4	13	4	226	4
4	0,00042	4	3,7	4	>7400	4
4A	0,00013	9	3,0	9	>23200	9
4B	0,011	5	5,7	6	509	5
5	0,00010	11	4,3	12	>35600	11
5A	0,0084	4	5,0	4	595	4
5B	0,000066	5	3,4	5	>43900	5
6	0,00037	4	4,7	4	12700	4
6A	0,00013	5	3,8	6	>38500	5
6B	0,036	5	5,9	4	164	4
7	0,00026	5	2,8	6	>10500	5
7A	0,00022	5	2,7	4	12573	3
7B	0,0050	3	9,2	3	1850	3
8	0,00027	3	2,8	3	>9820	3
8A	0,00011	4	>2,5	4	25900	4
8B	0,0017	4	>2,4	5	>1450	4
9	0,00010	4	>2,5	4	>30100	4
9A	0,0019	4	11	4	5720	4
9B	0,000061	4	>2,4	4	>39700	4
10	0,00010	4	>2,4	4	>29600	4

Hợp chất#	EC ₅₀ (μ M)	N	CC ₅₀ (μ M)	N	SI	N
10A	0,0029	3	2,3	3	783	3
10B	0,000067	5	2,4	5	>42700	5
11	0,00020	4	>2,5	4	17200	4
11A	0,0015	4	>2,3	4	>2220	4
11B	0,000089	3	>2,3	3	>26400	3
12	0,00010	6	2,5	6	>45600	6
12A	0,0050	6	2,5	7	1030	6
12B	0,000034	9	2,5	11	>390600	9

Thử nghiệm PCR định lượng enzyme phiên mã ngược transcriptaza hóa trị bốn (RT-qPCR): Quy trình A.

Hoạt tính kháng virus của các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm kháng lại chủng DENV-1 TC974#666 (NCPV), chủng DENV-2 16681, chủng DENV-3 H87 (NCPV) và chủng DENV-4 H241 (NCPV) và EDEN (SG/06K2270DK1/2005; Số truy cập ngân hàng gen QG398256) trong thử nghiệm RT-qPCR. Do đó, tế bào Vero được lây nhiễm bằng DENV-1, hoặc -2, hoặc -3, hoặc -4 với sự có mặt hoặc không có mặt của hợp chất thử nghiệm. Ở ngày 3 sau lây nhiễm, các tế bào được phân giải và dịch thủy phân tế bào được sử dụng để chuẩn bị cADN của cả hai gen đích của virus (3'UTR của DENV; Bảng 2) và gen tham chiếu tế bào (β -actin, Bảng 2). Sau đó, PCR thời gian thực đôi được thực hiện trên công cụ Lightcycler480. Giá trị Cp sinh ra tỷ lệ nghịch với lượng biểu hiện ARN của các đích này. Sự ức chế sao chép DENV bằng kết quả thử nghiệm hợp chất trong khung dịch chuyển của Cp đối với gen 3'UTR. Mặt khác, nếu hợp chất thử nghiệm là độc đối với tế bào, tác dụng tương tự đối với sự biểu hiện β -actin sẽ được quan sát. Phương pháp $\Delta\Delta$ Cp so sánh được sử dụng để tính toán EC₅₀, dựa trên sự biểu hiện gen tương đối của gen đích (3'UTR) được bình thường hóa bằng gen giữ nhà tế bào (cellular housekeeping gene) (β -actin). Ngoài ra, các giá trị CC₅₀ được xác định dựa trên các giá trị Cp thu được đối với gen giữ nhà β -actin.

Bảng 2: Đoạn mồi và đoạn dò được sử dụng cho RT-PCR định lượng, thời gian thực.

Đoạn mồi/đoạn dò	Đích	Trình tự ^{a, b}
F3utr258	DENV 3'-UTR	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	DENV 3'-UTR	5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'
P3utr343	DENV 3'-UTR	<i>FAM</i> -5'-AAGGACTAG-ZEN-AGGTTAGAGGAGACCCCCC-3'- <i>IABkFQ</i>
Factin743	β -actin	5'-GGCCAGGTCATCACCATT-3'
Ractin876	β -actin	5'-ATGTCCACGTCACACTTCATG-3'
Pactin773	β -actin	<i>HEX</i> -5'-TTCCGCTGC-ZEN-CCTGAGGCTCTC-3'- <i>IABkFQ</i>

^a Các dấu hiệu nhuộm chỉ thị (FAM, HEX) và làm dừng (ZEN và IABkFQ) được chỉ ra bằng chữ đậm và chữ nghiêng.

^b Trình tự nucleotit của đoạn mồi và đoạn dò được chọn từ vùng bảo toàn trong vùng 3'UTR của hệ gen virus Dengue, dựa trên việc sắp hàng 300 trình tự nucleotit của bốn typ huyết thanh Dengue được nộp lưu trong ngân hàng gen (Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Chapter 16).

Môi trường nuôi cấy bao gồm môi trường thiết yếu tối thiểu có bổ sung 2% huyết thanh thai bê không được hoạt hóa bởi nhiệt, 0,04% gentamycin (50mg/mL) và 2mM L-glutamin. Tế bào Vero, thu được từ ECACC, được tạo hỗn dịch trong môi trường nuôi cấy và 75 μ L/lỗ được bổ sung vào đĩa 96 lỗ (10000 tế bào/lỗ), đã chứa hợp chất kháng virus. Thông thường, các đĩa này chứa chất pha loãng liên tiếp 5 lần trong 9 bước pha loãng bằng 200 lần nồng độ cuối cùng của hợp chất thử nghiệm trong 100% DMSO (500nL; khoảng nồng độ cuối cùng: 25 μ M - 0,000064 μ M hoặc 2,5 μ M - 0,0000064 μ M hợp chất hoạt hóa nhất). Ngoài ra, mỗi đĩa chứa các lỗ được chỉ định làm đối chứng virus (chứa các tế bào với sự không có mặt của virus và hợp chất) và đối chứng tế bào (chứa các tế bào với sự không có mặt của virus và hợp chất). Ngay khi các tế bào được bổ sung vào trong các đĩa này, các đĩa này được ủ trong tủ ủ hoàn toàn ẩm (37°C, 5%CO₂) cho đến ngày tiếp theo. Typ huyết thanh virus Dengue-1, 2, 3 và 4 được pha loãng để thu Cp bằng ~22-24 trong thử nghiệm. Do đó, 25 μ L huyền phù virus, được bổ sung vào tất cả các lỗ chứa hợp chất thử nghiệm và vào các lỗ chỉ định làm đối chứng virus. Song song, 25 μ L môi trường nuôi cấy được

bổ sung vào đối chứng tế bào. Tiếp theo, các tấm này được ủ trong 3 ngày trong tủ ủ hoàn toàn ẩm (37°C , $5\%\text{CO}_2$). Sau 3 ngày, dịch nổi được loại bỏ khỏi các lỗ và các tế bào được rửa hai lần bằng PBS đá lạnh ($\sim 100\mu\text{L}$). Các giọt tế bào trong đĩa 96 lỗ được bảo quản ở nhiệt độ -80°C trong ít nhất 1 ngày. Tiếp theo, ARN được chiết bằng cách sử dụng bộ kit phân giải Cells-to-CT™, theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Life Technologies). Dịch thủy phân tế bào có thể được bảo quản ở nhiệt độ -80°C hoặc được sử dụng ngay ở bước phiên mã ngược.

Trong việc chuẩn bị bước phiên mã ngược, hỗn hợp A (bảng 3A) được chuẩn bị và $7,57\mu\text{L}/\text{lỗ}$ được phân phối trong đĩa 96 lỗ. Sau khi bổ sung $5\mu\text{L}$ dịch thủy phân tế bào, bước biến tính trong năm phút ở nhiệt độ 75°C được thực hiện (bảng 3B). Sau đó, $7,43\mu\text{L}$ hỗn hợp B được bổ sung (bảng 3C) và bước phiên mã ngược được bắt đầu (bảng 3D) để tạo ra cADN.

Cuối cùng, hỗn hợp RT-qPCR được chuẩn bị, hỗn hợp C (bảng 4A), và $22,02\mu\text{L}/\text{lỗ}$ được phân phối trong đĩa LightCycler qPCR 96 lỗ trong đó $3\mu\text{L}$ cADN được bổ sung vào và qPCR được thực hiện theo các điều kiện trong bảng 4B trên LightCycler 480.

Bằng cách sử dụng phần mềm LightCycler và hệ thống LIMS nội bộ, đường cong đáp ứng liều đối với mỗi hợp chất được tính toán và nồng độ hiệu quả bằng nửa nồng độ tối đa (EC_{50}) và nồng độ độc tế bào bằng nửa nồng độ tối đa (CC_{50}) được xác định (các bảng 5-8).

Bảng 3: Tổng hợp cADN bằng cách sử dụng Hỗn hợp A, biến tính, Hỗn hợp B và phiên mã ngược.

Hỗn hợp A					
A	Tấm	8			
	Mẫu	828			
				Thể tích phản ứng (μL)	20
	Các mục của hỗn hợp	Nồng độ			Thể tích (μL)
		Đơn vị	Dung dịch gốc	Cuối cùng	1 mẫu
					x mẫu
	Milli-Q H_2O				7,27
	R3utr425	μM	20	0,27	0,15
	Ractin876	μM	20	0,27	0,15
					124,20
					124,20

Thể tích hỗn hợp/lỗ (μl)	7,57
<i>Dịch thủy phân tế bào</i>	<i>5,00</i>

B Bước biến tính:

Bước	Nhiệt độ	Thời gian
Biến tính	75°C	5'
Giữ	4°C	Giữ

C Hỗn hợp B

Mẫu	864				
Các mục của hỗn hợp	Nồng độ			Thể tích (μl)	
	Đơn vị	Dung dịch gốc	Cuối cùng	1 mẫu	x mẫu
đệm HIFI mở rộng 2	X	10,00	1,00	2,00	1728,0
MgCl ₂	mM	25,00	3,50	2,80	2419,2
dNTPs	mM	10,00	1,00	2,00	1728,0
Chất ức chế Rnaza	U/μl	40,00	1,00	0,50	432,0
RT mở rộng	U/μl	50,00	0,33	0,13	112,3
Tổng thể tích hỗn hợp (μl)				7,43	

D Quy trình tổng hợp cADN

Bước	Nhiệt độ	Thời gian
Phiên mã ngược	42°C	30'
Biến tính	99°C	5'
Giữ	4°C	Giữ

Bảng 4: Hỗn hợp qPCR và quy trình

A Hỗn hợp C

Mẫu	833			Thể tích phản ứng (μl)	25
Các mục của hỗn hợp	Nồng độ			Thể tích (μl)	
	Đơn vị	Dung dịch gốc	Cuối cùng	1 mẫu	x mẫu
H ₂ O PCR cấp Roche				7,74	6447,42
Hỗn hợp Roche 2xMM	X	2	1	12,50	10412,50
F3utr258	μM	20	0,3	0,38	316,54
R3utr425	μM	20	0,3	0,38	316,54
P3utr343	μM	20	0,1	0,13	108,29
Factin743	μM	20	0,3	0,38	316,54
Ractin876	μM	20	0,3	0,38	316,54
Pactin773	μM	20	0,1	0,13	108,29
Thể tích hỗn hợp/ống (μl)				22,02	
cADN				3,00	

B Quy trình qPCR3

Bước	Nhiệt độ	Thời gian	Tốc độ biến đổi	40 vòng
Trước khi ủ/biến tính	95°C	10 phút	4,4	
Biến tính	95°C	10 giây	4,4	
Gắn mồi	58°C	1 phút	2,2	
Kéo dài	72°C	1 giây	4,4	
Làm mát	40°C	10 giây	1,5	

Bảng 5: EC₅₀, CC₅₀, và SI đối với các hợp chất kháng lại typ huyết thanh 1 trong thử nghiệm RT-qPCR

Quy trình A						
RT-qPCR typ huyết thanh 1 TC974#666						
Hợp chất#	EC ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	SI	N
1A	0,0013	3	>2,5	3	>2200	3
2A	0,0016	5	>2,5	5	>1980	5
3A	0,0042	4	5,8	4	1380	4
4A	0,0017	4	>2,5	4	>2160	4
5B	0,0016	3	>2,5	3	>967	3
6A	0,0016	6	4,9	5	2830	5

Quy trình A						
RT-qPCR typ huyết thanh 1 TC974#666						
Hợp chất#	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
7A	0,00097	3	2,9	2	5380	2
8A	0,00039	3	6,5	3	17200	3
9B	0,000083	6	2,9	6	>38700	6
10B	0,000071	6	>2,4	7	>41300	6
11B	0,00012	3	>2,5	3	>26300	3
12B	0,000086	5	>2,3	5	>26700	5

N= số thí nghiệm độc lập trong đó các hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 6: EC₅₀, CC₅₀, và SI đối với các hợp chất kháng lại typ huyết thanh 2 trong thử nghiệm RT-qPCR

Quy trình A						
RT-qPCR typ huyết thanh 2 16681						
hợp chất#	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0,00024	4	4,1	4	29700	4
2A	0,00014	7	4,0	9	>29700	7
3A	0,00040	5	5,3	5	16800	5
4A	0,00016	7	3,7	8	40100	7
5B	0,000065	5	3,6	6	>52300	5
6A	0,00021	5	4,5	8	65400	5
7A	0,00021	3	3,8	4	>14800	3
8A	0,00027	3	6,1	4	89000	3
9B	0,000054	3	>2,5	4	>49900	3
10B	0,000049	3	>2,5	3	>62800	3
11B	0,000062	5	2,9	4	>46200	4
12B	0,000053	3	>2,5	4	>56600	3

N= số thí nghiệm độc lập trong đó các hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 7: EC₅₀, CC₅₀, và SI đối với các hợp chất kháng lại typ huyết thanh 3 trong thử nghiệm RT-qPCR

Quy trình A						
RT-qPCR typ huyết thanh 3 H87						
Hợp chất#	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0,0096	3	>2,5	3	>421	3
2A	0,018	5	>2,5	5	>186	5
3A	0,042	4	4,0	4	110	4
4A	0,018	4	>2,5	4	>173	4
5B	0,012	4	>2,5	3	>218	3
6A	0,017	6	3,9	4	198	4

7A	0,011	3	>2,5	3	299	3
8A	0,0042	3	4,0	3	1020	3
9B	0,0012	3	>2,2	3	1970	3
10B	0,0014	3	>2,5	3	>2220	3
11B	0,0013	3	>2,5	3	>2210	3
12B	0,0011	3	>2,2	3	2720	3

N= số thí nghiệm độc lập trong đó các hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 8: EC₅₀, CC₅₀, và SI đối với các hợp chất kháng lại typ huyết thanh 4 trong thử nghiệm RT-qPCR.

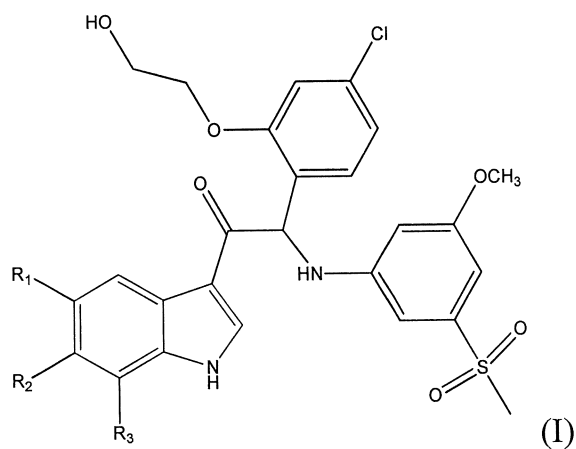
Quy trình A						
RT-qPCR typ huyết thanh 4 H241						
Hợp chất#	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	0,071	4	>2,4	3	>29	3
2A	0,074	7	2,5	6	39	6
3A	0,11	5	3,0	3	21	3
4A	0,078	8	>2,2	6	24	6
5B	0,074	6	>2,2	6	33	6
6A	0,053	7	>2,5	7	58	7
7A	0,064	4	>2,3	3	37	3
8A	0,036	4	2,6	4	93	4
9B	0,0081	3	>2,5	3	>409	3
10B	0,0069	4	>2,2	4	>331	4
11B	0,011	4	2,2	3	202	3
12B	0,0055	3	>2,1	3	514	3

Quy trình A						
RT-qPCR typ huyết thanh 4 EDEN						
Hợp chất#	EC50 (μM)	N	CC50 (μM)	N	SI	N
1A	ND		ND		ND	
2A	0,0013	5	> 2,5	5	> 2406	5
3A	0,0031	4	4,8	4	2088	4
4A	0,0014	4	> 2,5	4	> 2455	4
5B	0,0011	3	> 2,5	3	> 2989	3
6A	0,0010	5	> 2,5	4	> 2825	4
7A	0,00064	1	3,2	1	4953	1

N= số thí nghiệm độc lập trong đó các hợp chất được thử nghiệm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



dạng đồng phân lập thể, muối dược dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó; hợp chất này được chọn từ nhóm trong đó:

R_1 là H, R_2 là F, Cl hoặc OCH_3 và R_3 là H;

R_1 là H, R_2 là F hoặc Cl và R_3 là CH_3 ;

R_1 là CH_3 , R_2 là OCH_3 và R_3 là H;

R_1 là F, R_2 là F và R_3 là H;

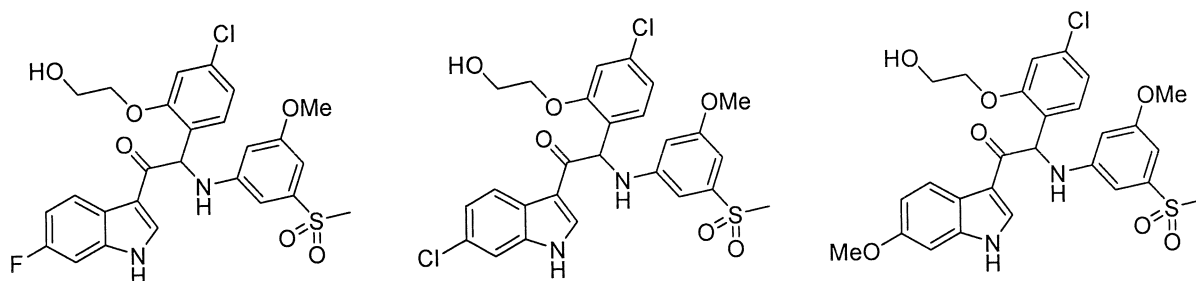
R_1 là CH_3 , R_2 là F và R_3 là H;

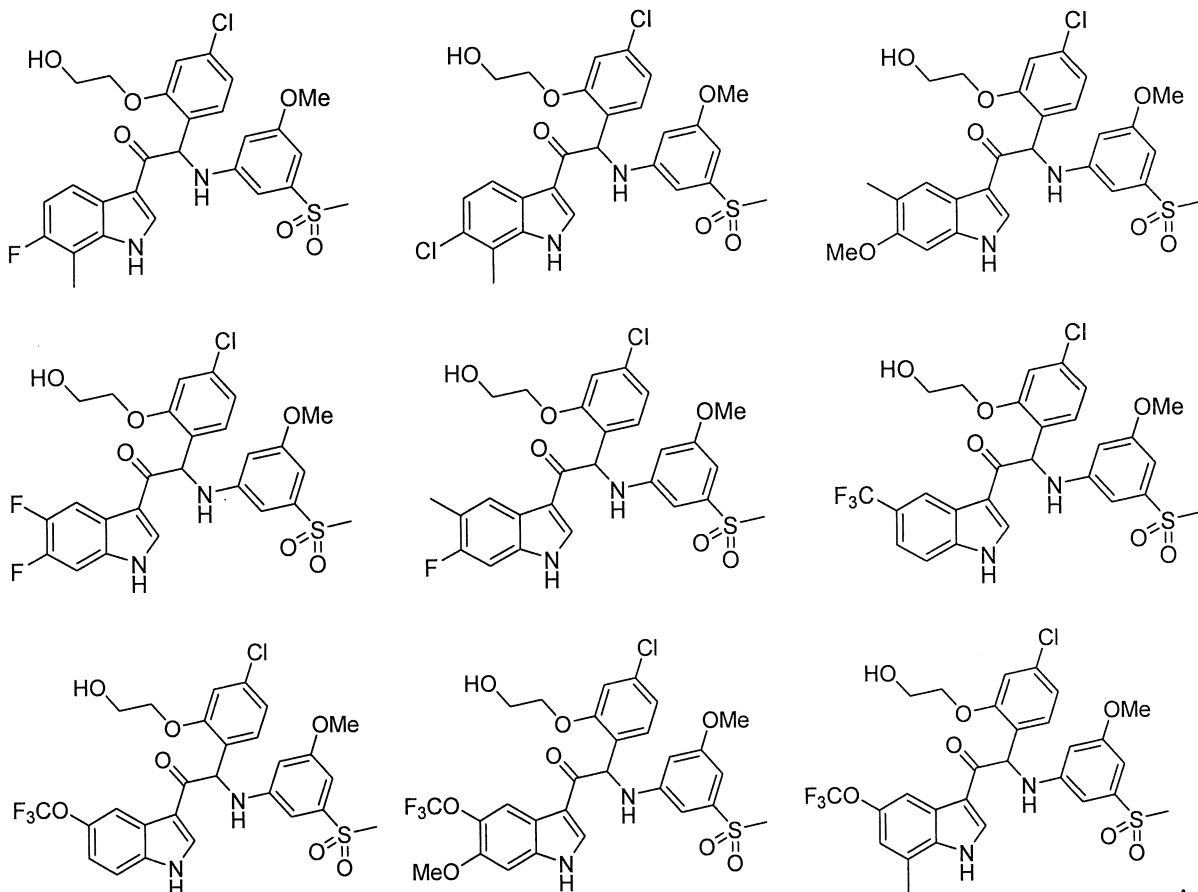
R_1 là CF_3 hoặc OCF_3 và R_2 là H và R_3 là H;

R_1 là OCF_3 , R_2 là OCH_3 và R_3 là H; hoặc

R_1 là OCF_3 , R_2 là H và R_3 là CH_3 .

2. Hợp chất hoặc dạng đồng phân lập thể của nó, muối dược dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:



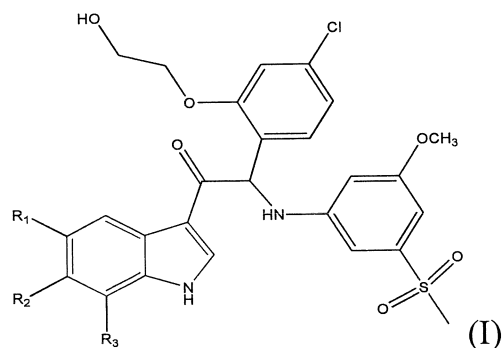


3. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc dạng đồng phân lập thể, muối được dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó theo điểm 1 hoặc 2 cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó dược phẩm này còn chứa chất trị liệu bổ sung.

5. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó chất trị liệu bổ sung là một chất chống virus khác.

6. Hợp chất được thể hiện bởi công thức cấu tạo (I) sau:



dạng đồng phân lập thể, muối được dụng, solvat hoặc chất đa hình của nó; hợp chất này được chọn từ nhóm trong đó:

R_1 là H, R_2 là F, Cl hoặc OCH_3 và R_3 là H;

R_1 là H, R_2 là F hoặc Cl và R_3 là CH_3 ;

R_1 là CH_3 , R_2 là OCH_3 và R_3 là H ;

R_1 là F , R_2 là F và R_3 là H ;

R_1 là CH_3 , R_2 là F và R_3 là H ;

R_1 là CF_3 hoặc OCF_3 và R_2 là H và R_3 là H ;

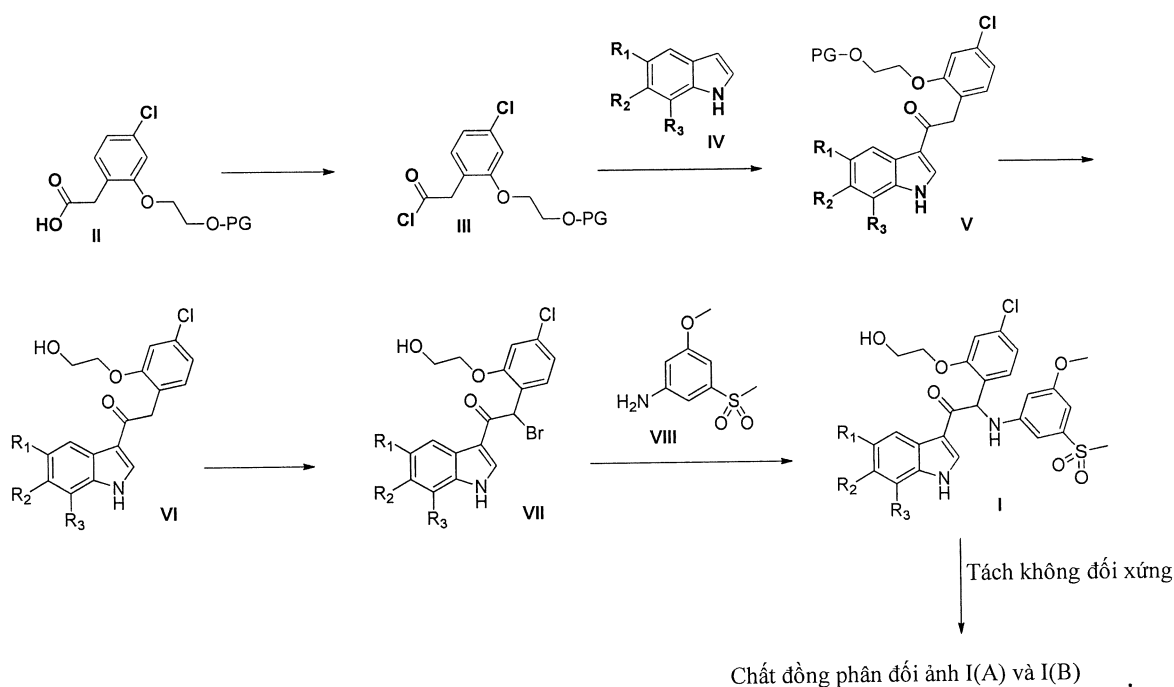
R_1 là OCF_3 , R_2 là OCH_3 và R_3 hoặc H ; hoặc

R_1 là OCF_3 , R_2 là H và R_3 là CH_3 ;

để sử dụng trong việc ức chế sự sao chép (các) virus Dengue trong mẫu sinh học hoặc ở bệnh nhân.

7. Phương pháp tổng hợp hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 hoặc 2 bao gồm các bước:

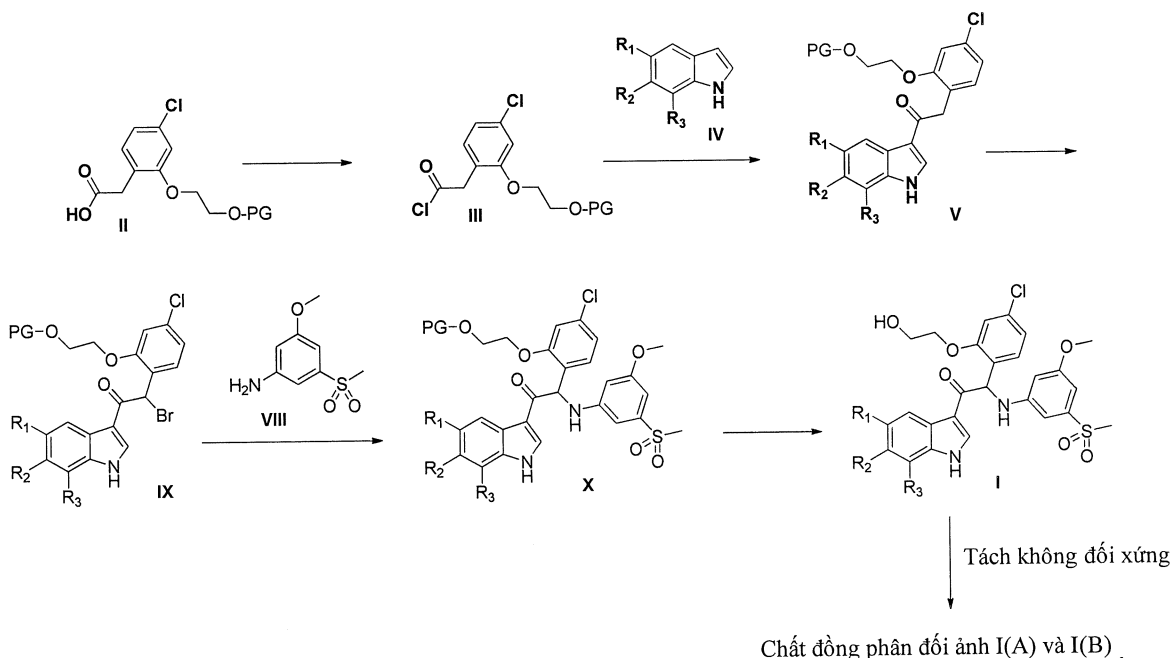
- a) chuyển hóa axit 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)axetic có công thức chung (II) thành dẫn xuất clorua của axit có công thức chung (III) với chất phản ứng khử trùng bằng clo, trong đó PG là nhóm bảo vệ;
- b) phản ứng Friedel-Crafts của clorua axit có công thức chung (III) với indol được thể có công thức chung (IV) được tiến hành bằng cách sử dụng chất phản ứng axit Lewis trong dung môi thích hợp và trong điều kiện phản ứng thích hợp thường bao gồm bước làm mát, để tạo ra indol được 3-axyl hóa có công thức chung (V), trong đó R^1 , R^2 và R^3 có cùng nghĩa như trong điểm 1;
- c) loại bỏ nhóm bảo vệ PG từ hợp chất có công thức chung (V) để tạo ra hợp chất có công thức chung (VI);
- d) brom hóa (VI) với chất phản ứng trong dung môi thích hợp để tạo ra hợp chất có công thức chung (VII);
- e) phản ứng của hợp chất có công thức chung (VII) với 3-metoxy-5-(metyl-sulfonyl)anilin (VIII) trong dung môi thích hợp và tùy ý bằng cách sử dụng bazơ để tạo ra hợp chất có công thức chung I là hỗn hợp racemic;
- f) tách không đối xứng hợp chất có công thức chung I để tạo ra các chất đồng phân đối ảnh A và B có công thức chung I:



8. Phương pháp tổng hợp hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 hoặc 2, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

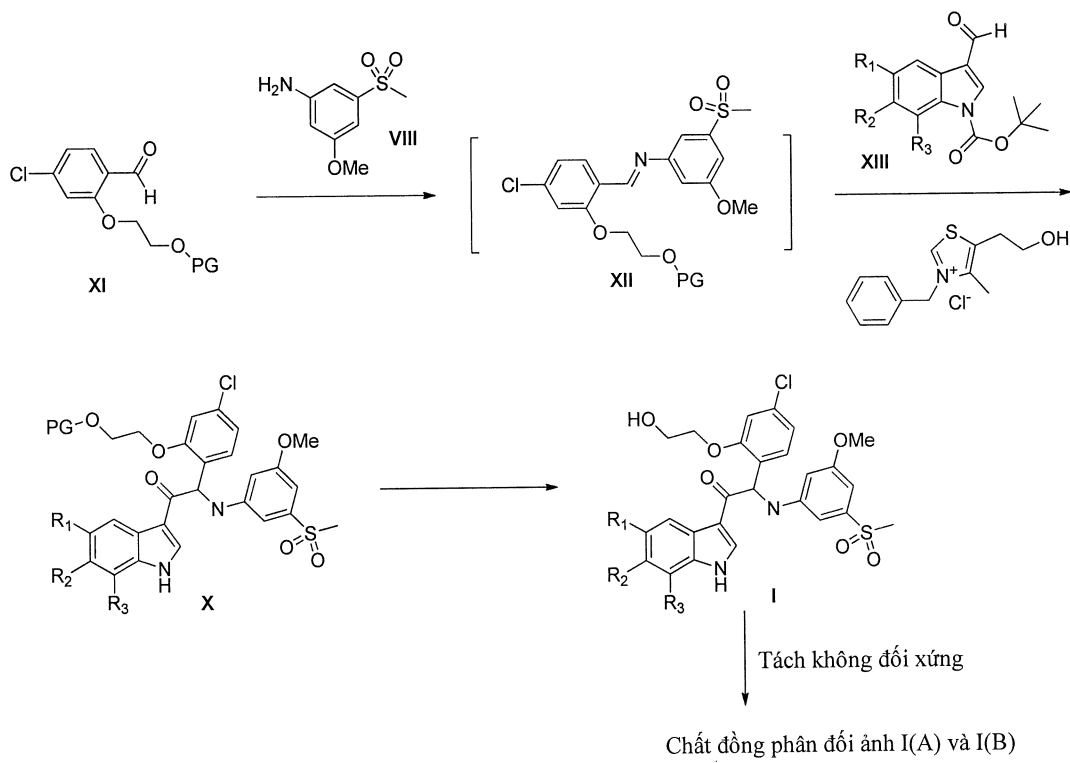
- i) chuyển hóa axit 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxi)phenyl)axetic có công thức chung (II) thành dẫn xuất clorua axit có công thức chung (III) với chất phản ứng khử trùng bằng clo;
- ii) phản ứng Friedel-Crafts của clorua axit có công thức chung (III) với indol được thể có công thức chung (IV) được tiến hành bằng cách sử dụng chất phản ứng axit Lewis trong dung môi thích hợp và trong các điều kiện phản ứng thích hợp thường bao gồm bước làm mát, để tạo ra indol được 3-axyl hóa có công thức chung (V);
- iii) brom hóa vị trí alpha của nhóm chức cacbonyl của hợp chất trung gian có công thức chung (V) với chất phản ứng brom hóa thích hợp trong dung môi thích hợp để tạo ra hợp chất có công thức chung (IX), trong đó PG là nhóm bảo vệ và R^1 , R^2 và R^3 có cùng nghĩa như trong điểm 1;
- iv) phản ứng của hợp chất có công thức chung (IX) với 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin (VIII) trong dung môi thích hợp và tùy ý bằng cách sử dụng bazơ để tạo ra hợp chất có công thức chung (X);

- v) loại bỏ nhóm bảo vệ O từ hợp chất có công thức chung (X) trong dung môi thích hợp để tạo ra hợp chất có công thức chung I dưới dạng hỗn hợp raxemic;
- vi) tách không đối xứng các hợp chất có công thức chung I để tạo ra chất có đồng phân đối ảnh A và B có công thức chung I:



9. Phương pháp tổng hợp hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 hoặc 2 bao gồm các bước:

- I) ngưng tụ 2-(2-(benzyloxy)-etoxy)-4-clobenzaldehyt (XI) với 3-metoxi-5-(metylsulfonyl)anilin (VIII) trong dung môi thích hợp để tạo ra imin trung gian (XII), trong đó PG là nhóm bảo vệ;
- II) bổ sung indol-carboxaldehyt được bảo vệ N-Boc được thể có công thức chung (XIII), với sự có mặt của chất xúc tác Umpolung tạo ra hợp chất có công thức chung (X), trong đó R¹, R² và R³ có cùng nghĩa như trong điểm 1;
- III) loại bỏ nhóm bảo vệ O (PG) từ hợp chất có công thức chung (X) trong dung môi thích hợp để tạo ra các hợp chất có công thức chung I dưới dạng hỗn hợp raxemic;
- IV) tách không đối xứng hợp chất có công thức chung I để tạo ra các chất đồng phân đối ảnh A và B có công thức chung I:



DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Pharmaceuticals, Inc
Katholieke Universiteit Leuven

<120> Hợp chất 3-[2-[4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl]-2-(3-metoxy-5-metylsulfonyl-anilino)axetyl]-indol làm chất ức chế sao chép virus Dengue, được phẩm chứa hợp chất này và quy trình tổng hợp nó

<130> TIP 334 PCT

<150> EP16163472.0

<151> 2016-04-01

<150> EP15185523.6

<151> 2015-09-16

<160> 6

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1

<211> 19

<212> ADN

<213> Virus Dengue

<220>

<221> nguồn

<222> 1..19

<223> /sinh vật="Virus Dengue"
/loại phân tử="ADN chưa được chỉ định"

<400> 1

cggttagagg agaccctc

19

<210> 2

<211> 21

<212> ADN

<213> Virus Dengue

<220>

<221> nguồn

<222> 1..21

<223> /sinh vật="Virus Dengue"
/loại phân tử="ADN chưa được chỉ định"

<400> 2

gagacagcag gatctctggt c

21

<210> 3

<211> 28

<212> ADN

<213> Virut Dengue

<220>

<221> nguồn

<222> 1..28

<223> /sinh vật="Virut Dengue"
/loại phân tử="ADN chưa được chỉ định"

<400> 3

aaggactaga ggtagagga gaccccc

28

<210> 4

<211> 18

<212> ADN

<213> Virut Dengue

<220>

<221> nguồn

<222> 1..18

<223> /sinh vật="Virut Dengue"
/loại phân tử="ADN chưa được chỉ định"

<400> 4

ggccaggtca tcaccatt

18

<210> 5

<211> 21

<212> ADN

<213> Virut Dengue

<220>

<221> nguồn

<222> 1..21

<223> /sinh vật="Virut Dengue"
/loại phân tử="ADN chưa được chỉ định"

<400> 5

atgtccacgt cacacttcat g

21

<210> 6

<211> 21

<212> ADN

<213> Virut Dengue

<220>

<221> nguồn

<222> 1..21

<223> /sinh vật="Virut Dengue"
/loại phân tử="ADN chưa được chỉ định"

<400> 6

ttccgctgcc ctgaggctct c

21