



(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



1-0035758

(51)⁷ C07D 403/12; A61K 31/41; A61P 31/14 (13) B

-
- (21) 1-2019-05962 (22) 29/03/2018
(86) PCT/EP2018/058079 29/03/2018 (87) WO2018/178240 04/10/2018
(30) 17164048.5 31/03/2017 EP
(45) 25/05/2023 422 (43) 25/05/2020 386ASC
(73) 1. JANSSEN PHARMACEUTICALS, INC. (US)
1125 Trenton-Harbourton Road, Titusville, NJ New Jersey 08560, United States of America
2. KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN (BE)
Waaistraat 6, bus 5105, 3000 Leuven, Belgium
(72) KESTELEYN, Bart Rudolf Romanie (BE); BONFANTI, Jean-François (FR);
COESEMANS, Erwin (BE); RABOISSON, Pierre Jean-Marie Bernard (FR);
MARCHAND, Arnaud Didier M (FR); BARDIOT, Dorothée Alice Marie-Eve (FR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

- (54) HỢP CHẤT INDOLIN ĐƯỢC THỂ DÙNG LÀM CHẤT ỨC CHẾ SỰ SAO CHÉP VIRUT DENGUE VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất indolin được thể và dược phẩm chứa hợp chất này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nếu là để sử dụng làm thuốc điều trị hoặc phòng bệnh nhiễm virus dengue.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất dẫn xuất indolin được thể, mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị sự nhiễm virus dengue bằng cách sử dụng hợp chất đã nêu và còn đề cập đến hợp chất đã nêu để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nếu để sử dụng làm thuốc điều trị hoặc ngăn ngừa sự nhiễm virus dengue. Sáng chế còn đề cập đến được phẩm hoặc chế phẩm bào chế kết hợp của hợp chất, được phẩm hoặc chế phẩm này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nếu để ngăn ngừa hoặc điều trị sự nhiễm virus dengue. Sáng chế còn đề cập đến quy trình điều chế hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Flavivirus, được truyền qua muỗi hoặc ve, gây bệnh truyền nhiễm đe dọa tính mạng ở người, như bệnh viêm não và sốt xuất huyết. Bốn typ huyết thanh riêng biệt mà liên quan chặt chẽ với nhau của dengue flavivirus đã được biết đến, gọi là DENV-1, DENV-2, DENV-3 và DENV-4. Dengue có tính đặc hữu ở hầu hết các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới, chủ yếu tại các khu vực đô thị và bán đô thị. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO - World Health Organization), 2,5 tỉ người, trong đó có 1 tỉ trẻ em, có nguy cơ nhiễm DENV (WHO, 2002). Hằng năm trên thế giới xảy ra xấp xỉ 50 đến 100 triệu ca sốt dengue [DF], nửa triệu ca bệnh do dengue nặng (tức là sốt xuất huyết do dengue [DHF] và hội chứng sốc do dengue [DSS]), và hơn 20.000 ca tử vong. DHF đã trở thành nguyên nhân hàng đầu gây nhập viện và tử vong ở trẻ em tại các vùng đặc hữu. Nói chung, dengue là nguyên nhân phổ biến nhất gây bệnh do arbovirus. Do các dịch bùng phát lớn gần đây tại các quốc gia thuộc khu vực Mỹ La Tinh, Đông Nam Á và Tây Thái Bình Dương (bao gồm Brazil, Puerto Rico, Venezuela, Campuchia, Indonesia, Việt Nam, Thái Lan), số ca bệnh do dengue đã tăng mạnh trong những năm qua. Không chỉ số ca bệnh do dengue gia tăng khi bệnh lan ra các khu vực mới, mà dịch bùng phát còn có xu hướng trở nên nghiêm trọng hơn.

Mặc dù đã có tiến triển trong việc phát triển vaccin chống dengue với vaccin Dengvaxia® có sẵn nhưng vẫn gặp phải nhiều khó khăn. Các khó khăn này bao gồm sự tồn tại của hiện tượng được gọi là sự tăng cường phụ thuộc vào kháng thể (ADE - antibody-dependent enhancement). Sự phục hồi sau khi nhiễm bệnh do một typ huyết

thanh tạo ra miễn dịch lâu dài kháng typ huyết thanh này nhưng chỉ tạo ra sự bảo vệ một phần và nhất thời chống lại sự nhiễm bệnh sau đó do một trong ba typ huyết thanh còn lại.

Sau khi nhiễm bệnh do một typ huyết thanh khác, kháng thể khác loại tồn tại trước đó tạo thành phức hợp với typ huyết thanh của virus dengue gây nhiễm mới nhưng không trung hoà mầm bệnh. Thay vào đó, việc virus xâm nhập vào tế bào được cho là dễ dàng, dẫn đến sự sao chép virus mất kiểm soát và hiệu giá virus cực đại cao hơn. Trong cả quá trình nhiễm bệnh nguyên phát và nhiễm bệnh thứ phát, hiệu giá virus cao hơn có liên quan đến bệnh do dengue nặng hơn. Do kháng thể của người mẹ có thể dễ dàng truyền sang trẻ sơ sinh qua việc cho bú, đây có thể là một trong những lý do khiến bệnh do dengue nặng gây ảnh hưởng đối với trẻ em nhiều hơn so với người trưởng thành.

Tại các vùng có hai hoặc nhiều hơn hai typ huyết thanh tuần hoàn đồng thời, còn được gọi là vùng siêu đặc hữu, nguy cơ mắc bệnh do dengue trầm trọng cao hơn đáng kể do gia tăng nguy cơ nhiễm bệnh thứ cấp nặng hơn. Ngoài ra, trong trường hợp siêu đặc hữu thì tăng xác suất phát sinh nhiều chủng độc hại hơn, điều này lại làm tăng xác suất của bệnh sốt xuất huyết do dengue (DHF) hoặc hội chứng sốc do dengue.

Muỗi mang dengue, bao gồm *Aedes aegypti* và *Aedes albopictus* (muỗi vằn), đang di chuyển về phía Bắc địa cầu. Theo Trung tâm Dự phòng và Kiểm soát bệnh tật (CDC - Centers for Disease Control and Prevention) Hoa Kỳ (US), cả hai loài muỗi này hiện có ở khắp nơi ở miền Nam Texas. Sự lan ra phía Bắc của muỗi mang dengue không chỉ hạn chế ở Hoa Kỳ, mà đã còn được quan sát thấy ở châu Âu.

Dengvaxia[®], vaccin dengue được sản xuất bởi Sanofi Pasteur lần đầu tiên được phê duyệt tại Mexico và đã được phê duyệt trong thời gian đó tại nhiều nước. Tuy nhiên, vaccin còn khả năng cải thiện đáng kể do hiệu lực hạn chế, đặc biệt là hiệu lực kháng DENV-1 và DENV-2, hiệu lực thấp ở đối tượng chưa từng nhiễm flavivirus và thời hạn định liều kéo dài.

Mặc dù có những hạn chế này, vaccin làm thay đổi rõ rệt các môi trường đặc hữu bởi vaccin sẽ bảo vệ một phần lớn dân số, nhưng có khả năng không bảo vệ trẻ sơ sinh rất nhỏ, là đối tượng chịu gánh nặng của dengue nhiều nhất. Ngoài ra, thời hạn định liều và hiệu lực rất hạn chế ở đối tượng chưa từng nhiễm flavivirus khiến cho không thích hợp và có khả năng là không đáng/tốn chi phí đối với khách du lịch từ khu vực không

đặc hữu đến khu vực đặc hữu với dengue. Các hạn chế được đề cập ở trên của vacxin dengue là lí do vì sao cần phải có thuốc kháng virus dengue phòng bệnh trước phơi nhiễm.

Ngoài ra, ngày nay không có sẵn dược chất kháng virus đặc hiệu để điều trị hoặc ngăn ngừa sự nhiễm virus sốt do dengue. Rõ ràng là vẫn có nhu cầu y tế lớn chưa đáp ứng được về thuốc chữa bệnh để ngăn ngừa hoặc điều trị sự nhiễm virus ở động vật, cụ thể hơn là ở người và đặc biệt là đối với sự nhiễm virus do flavivirus, cụ thể hơn là virus dengue. Rất cần có hợp chất có công hiệu kháng virus tốt, không có hoặc có tác dụng phụ thấp, hoạt tính phổ rộng kháng nhiều typ huyết thanh virus dengue, độc tố thấp và/hoặc các tính chất dược động học hoặc dược lực học tốt.

Tài liệu WO2010/021878 bộc lộ hợp chất dẫn xuất 2-phenylpyrrolidin và indolin làm chất đối kháng thụ thể menthol lạnh để điều trị bệnh viêm và bệnh trung ương. Tài liệu WO2013/045516 bộc lộ hợp chất dẫn xuất indol và indolin để sử dụng trong việc điều trị sự nhiễm virus dengue.

Sáng chế đề xuất hợp chất, hợp chất dẫn xuất indolin được thể, thể hiện hoạt tính có công hiệu cao kháng toàn bộ bốn (4) typ huyết thanh của virus Dengue.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là giải quyết ít nhất một trong số các vấn đề đã đề cập ở trên. Sáng chế được dựa trên phát hiện bất ngờ rằng ít nhất một trong số các vấn đề đã đề cập ở trên có thể được giải quyết bằng các hợp chất hiện tại theo sáng chế.

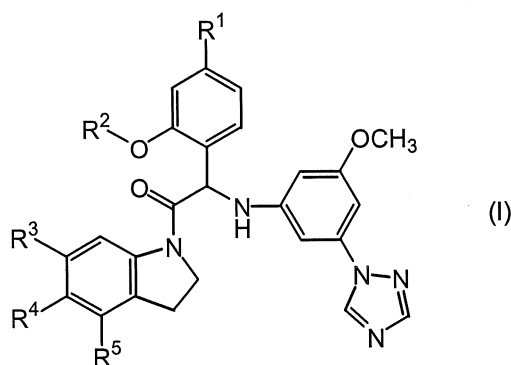
Để đạt được mục đích trên đây, sáng chế đề xuất hợp chất đã được thể hiện là có hoạt tính kháng virus công hiệu kháng toàn bộ bốn (4) typ huyết thanh hiện đã biết. Sáng chế còn chứng tỏ rằng hợp chất này ức chế sự tăng sinh của virus Dengue (DENV) một cách hiệu quả. Do đó, hợp chất này tạo thành phân lớp hữu dụng gồm các hợp chất công hiệu mà có thể được sử dụng trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự nhiễm virus ở động vật, động vật có vú và người, cụ thể hơn là để điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự nhiễm virus Dengue.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất làm thuốc và việc sử dụng hợp chất để sản xuất và làm thuốc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa sự nhiễm virus, cụ thể là nhiễm virus thuộc họ virus Dengue ở động vật hoặc động vật có vú, cụ thể hơn là ở người.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế tất cả các hợp chất này và dược phẩm chứa hợp chất này với lượng hữu hiệu.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa sự nhiễm virus dengue ở người bằng cách dùng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều hợp chất này, hoặc muối được dùng của hợp chất này kết hợp tùy ý với một hoặc nhiều thuốc khác, chẳng hạn một chất kháng virus khác, cho bệnh nhân cần dùng.

Một khía cạnh của sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), bao gồm dạng đồng phân hoá lập thể bất kỳ của hợp chất này,



trong đó:

R^1 là clo hoặc flo,

R^2 là $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, hoặc $\text{C}_3\text{-5alkylCOOH}$;

R^3 là triflometyl, hoặc triflometoxy;

R^4 là hydro, flo, hoặc metoxy; và

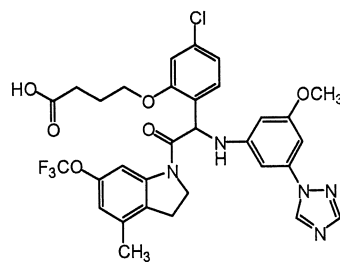
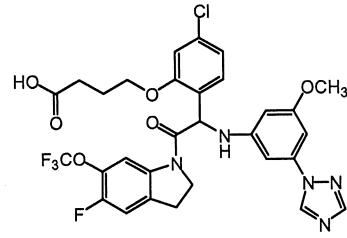
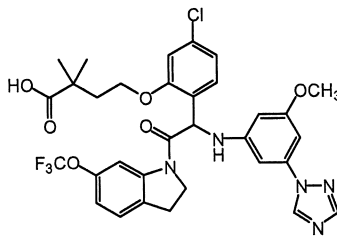
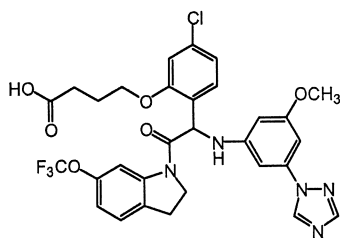
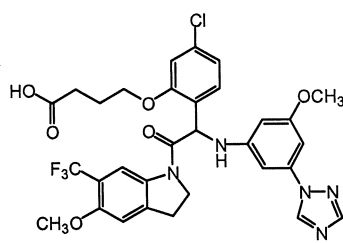
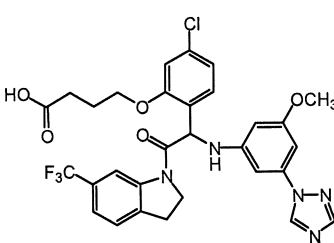
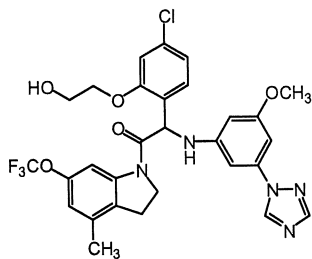
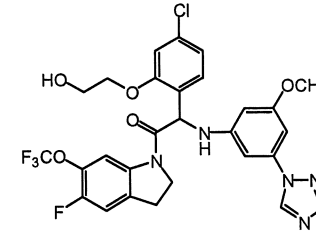
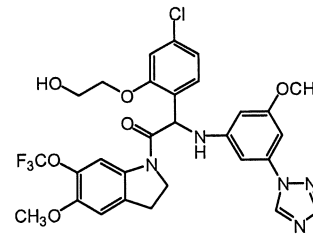
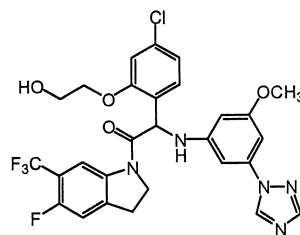
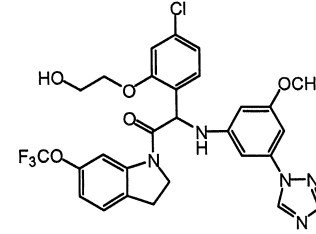
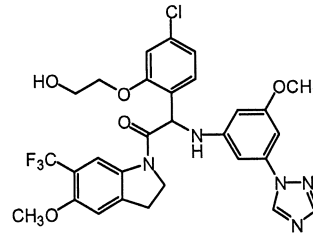
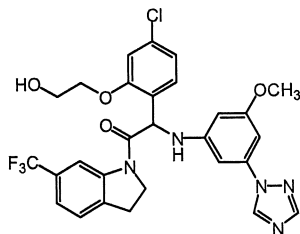
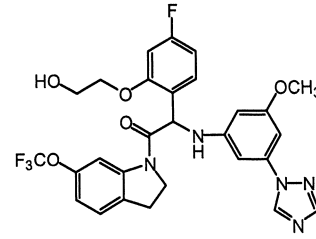
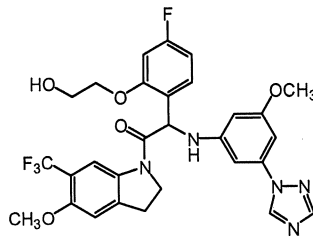
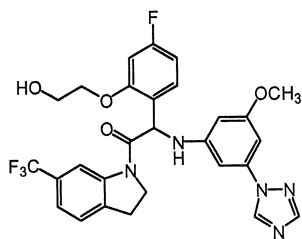
R^5 là hydro hoặc metyl;

hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của hợp chất này.

Mô tả chi tiết sáng chế

Thuật ngữ “ $\text{C}_3\text{-5alkyl}$ ” như được sử dụng ở đây chỉ gốc hydrocacbon no mạch thẳng và phân nhánh có từ 3 đến 5 nguyên tử cacbon như, ví dụ, propyl, butyl, pentyl, 1,1-dimethylpropyl, 2-methylpropyl, 2-methylbutyl và các gốc tương tự.

Hợp chất đã đề cập cụ thể ở trên được chọn từ nhóm bao gồm:



Một phần của sáng chế còn là dược phẩm chứa hợp chất được đề cập ở trên hoặc dạng đồng phân lập thể, muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của hợp chất này cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Muối được dùng của hợp chất đã nêu bao gồm muối cộng axit và muối bazơ của hợp chất này. Muối cộng axit thích hợp được tạo thành từ axit mà tạo thành muối không độc. Muối bazơ thích hợp được tạo thành từ bazơ mà tạo thành muối không độc.

Muối axit được dùng được đề cập ở trên có nghĩa là bao gồm dạng muối cộng axit không độc có hoạt tính điều trị mà hợp chất có công thức (I) có thể tạo thành. Muối cộng axit được dùng này có thể thu được một cách thuận lợi bằng cách xử lý dạng bazơ bằng axit thích hợp này. Axit thích hợp bao gồm, ví dụ, axit vô cơ như axit hydrohalic, ví dụ, axit clohydric hoặc bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric và các axit tương tự; hoặc axit hữu cơ như, ví dụ, axit axetic, axit propanoic, axit hydroxyaxetic, axit lactic, axit pyruvic, axit oxalic (tức là axit etandioic), axit malonic, axit succinic (tức là axit butan-dioic), axit maleic, axit fumaric, axit malic, axit tartaric, axit citric, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic, axit cyclamic, axit salicylic, axit p-amino-salicylic, axit pantoic và các axit tương tự.

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

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

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng ở sản phẩm kết tinh hoặc vô định hình. Hợp chất này có thể thu được, ví dụ, ở dạng bánh thuốc rắn, bột, hoặc màng bằng phương pháp như phương pháp tạo kết tủa, kết tinh, làm khô-đông lạnh, sấy phun, hoặc làm khô bằng bay hơi. Hợp chất này có thể được dùng riêng hoặc kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế khác hoặc kết hợp với một hoặc nhiều dược chất khác. Nói chung, hợp chất này sẽ được dùng ở dạng chế phẩm công thức 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 khác ngoài (các) hợp chất theo sáng chế. Lựa chọn về tá dược phụ thuộc nhiều vào các yếu tố như cơ chế dùng cụ thể, hiệu quả của tá dược đối với độ tan và độ bền, và bản chất của dạng liều.

Hợp chất theo sáng chế hoặc hoặc nhóm con bất kỳ của hợp chất này có thể được bào chế thành nhiều dạng dược phẩm khác nhau cho các mục đích dùng. Về chế phẩm thích hợp, có thể viện dẫn tất cả các chế phẩm thường được sử dụng để dùng thuốc toàn

thân. Để bào chế được phẩm theo sáng chế, lượng hữu hiệu của hợp chất cụ thể, tùy ý ở dạng muối cộng, ở dạng hoạt chất được kết hợp trong hỗn hợp trộn nhuyễn với chất mang được dụng, chất mang này có thể có rất nhiều dạng khác nhau phụ thuộc vào dạng chế phẩm bào chế mong muốn để dùng. Dược phẩm này được mong ở dạng liều đơn vị mà thích hợp, ví dụ, để dùng qua đường miệng hoặc qua trực tràng. Ví dụ, khi bào chế chế phẩm ở dạng liều qua đường miệng, có thể sử dụng dung môi được thông thường bất kỳ như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu và các dung môi tương tự trong trường hợp chế phẩm bào chế lỏng qua đường miệng như hỗn dịch, xirô, rượu thuốc ngọt, nhũ tương và dung dịch; hoặc chất mang rắn như tinh bột, đường, cao lanh, chất pha loãng, chất làm trơn, chất liên kết, chất phân rã và các chất tương tự trong trường hợp bột, viên tròn, viên nang và viên nén. Do dễ dùng, viên nén và viên nang đại diện cho dạng đơn vị liều dùng qua đường miệng có lợi nhất, trong trường hợp này chất mang được dạng rắn chắc chắn được sử dụng. Sản phẩm bào chế dạng rắn cũng được bao gồm, mà có thể được chuyển hoá, trong thời gian ngắn trước khi sử dụng, thành dạng lỏng.

Đặc biệt thuận lợi nếu bào chế được phẩm được đề cập ở trên ở dạng liều đơn vị cho dễ dùng và đồng nhất về liều. Dạng liều đơn vị như được sử dụng ở đây chỉ đơn vị gián đoạn về mặt vật lý thích hợp làm liều đơn vị, mỗi đơn vị chứa lượng định trước của hoạt chất được tính toán để tạo ra hiệu quả điều trị mong muốn liên quan đến chất mang được bắt buộc. Ví dụ về dạng liều đơn vị này là viên nén (bao gồm viên nén dạng khắc vạch hoặc dạng bao), viên nang, viên tròn, gói bột, viên nhện, viên thuốc dạng đạn, dung dịch hoặc hỗn dịch tiêm được và dạng tương tự, và dạng phức hợp tách biệt của chúng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực điều trị bệnh truyền nhiễm sẽ có thể xác định lượng hữu hiệu từ kết quả thử nghiệm được trình bày trong bản mô tả. Nói chung, dự tính được rằng lượng hằng ngày hữu hiệu nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến 50 mg/kg thể trọng, tốt hơn là từ 0,1 mg/kg đến 10 mg/kg thể trọng. Có thể thích hợp nếu sử dụng liều bắt buộc ở dạng hai, ba, bốn hoặc nhiều hơn bốn liều nhỏ vào các khoảng thời gian thích hợp trong ngày. Liều nhỏ này có thể được bào chế làm dạng liều đơn vị, ví dụ, chứa từ 1 đến 1000 mg, và cụ thể là từ 5 đến 200 mg hoạt chất trong mỗi dạng liều đơn vị.

Liều chính xác và tần suất dùng phụ thuộc vào hợp chất cụ thể theo sáng chế được sử dụng, tình trạng bệnh cụ thể được điều trị, mức độ trầm trọng của tình trạng bệnh được điều trị, độ tuổi, cân nặng và tình trạng thể chất chung của bệnh nhân cụ thể cũng

như thuốc khác mà cá nhân này có thể đang dùng, như đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ngoài ra, rõ ràng là có thể hạ thấp hoặc gia tăng lượng hữu hiệu phụ thuộc vào đáp ứng của đối tượng được điều trị và/hoặc phụ thuộc vào đánh giá của bác sỹ kê đơn hợp chất theo sáng chế. Do đó, các khoảng lượng hữu hiệu được đề cập ở trên chỉ là hướng dẫn và không được dự tính làm giới hạn phạm vi hoặc việc sử dụng sáng chế ở bất kỳ mức độ nào.

Sáng chế còn được dự tính bao gồm đồng vị bất kỳ của nguyên tử có mặt trong hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri và đồng vị của cacbon bao gồm C-13 và C-14.

Hợp chất được sử dụng theo sáng chế cũng có thể tồn tại ở dạng chất đồng phân hoá lập thể của chúng, xác định tất cả các hợp chất khả thi được tạo thành từ các nguyên tử tương tự được liên kết bởi cùng một trình tự các liên kết nhưng có các cấu trúc ba chiều khác nhau, không thể thay thế lẫn nhau. Trừ khi được đề cập hoặc được nêu theo cách khác, tên gọi của hợp chất bao gồm hỗn hợp của tất cả các dạng đồng phân hoá lập thể khả thi, mà các hợp chất đã nêu có thể có.

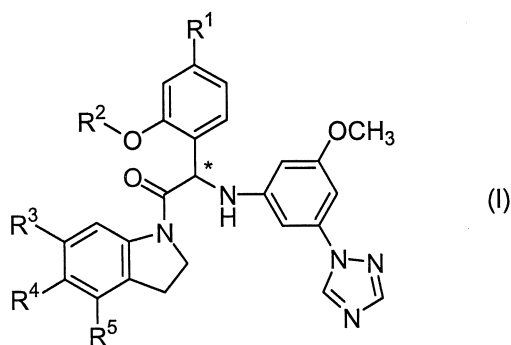
Hỗn hợp đã nêu có thể chứa tất cả các chất đồng phân không đối quang và/hoặc các chất đồng phân đối ảnh của cấu trúc phân tử cơ bản của hợp chất đã nêu. Tất cả các dạng đồng phân hoá lập thể của hợp chất được sử dụng theo sáng chế ở dạng tinh khiết hoặc hỗn hợp trộn với nhau được dự tính nằm trong phạm vi của sáng chế bao gồm hỗn hợp raxemic hoặc raxemat bất kỳ.

Dạng đồng phân lập thể tinh khiết của hợp chất và chất trung gian đã đề cập ở đây được định nghĩa là chất đồng phân gần như không lẫn dạng đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối quang khác của cùng một cấu trúc phân tử cơ bản của hợp chất hoặc chất trung gian đã nêu. Cụ thể, thuật ngữ “tinh khiết về mặt lập thể” chỉ hợp chất hoặc chất trung gian có lượng dư chất đồng phân lập thể từ ít nhất 80% (tức là tối thiểu 90% một chất đồng phân và tối đa 10% các chất đồng phân khác có thể có) lên đến lượng dư chất đồng phân lập thể là 100% (tức là 100% một chất đồng phân và không có chất đồng phân khác), cụ thể hơn là hợp chất hoặc chất trung gian có lượng dư chất đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 90% lên đến 100%, thậm chí cụ thể hơn là có lượng dư chất đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 94% lên đến 100% và cụ thể nhất là có lượng dư chất đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 97% lên 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 mặt khác là về lượng dư chất đồng phân đối ảnh, tương ứng là lượng dư chất đồng phân không đối quang của hỗn hợp đang xét đến.

Dạng đồng phân lập thể tinh khiết của hợp chất và chất trung gian được sử dụng theo sáng chế có thể thu được bằng cách áp dụng quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật. Ví dụ, các chất đồng phân đối ảnh có thể được tách khỏi nhau bằng cách kết tinh chọn lọc đối với muối đồng phân không đối quang của chúng với axit hoặc bazơ quay quang. Ví dụ về chất này là axit tartric, axit dibenzoyltartric, axit ditoluoyltartric và axit camphosulfonic. Theo một cách khác, chất đồng phân đối ảnh có thể được tách bằng các kỹ thuật sắc ký sử dụng các pha tĩnh không đối xứng. Dạng đồng phân hoá lập thể tinh khiết đã nêu cũng có thể có nguồn từ dạng đồng phân hoá lập thể tinh khiết tương ứng của nguyên liệu ban đầu thích hợp, với điều kiện là phản ứng diễn ra theo cách lập thể đặc thù. Tốt hơn là nếu mong muốn chất đồng phân lập thể cụ thể, thì hợp chất đã nêu sẽ được tổng hợp bằng phương pháp điều chế lập thể đặc thù. Các phương pháp này sẽ sử dụng một cách thuận lợi nguyên liệu ban đầu tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh.

Tất cả các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế đều có ít nhất một nguyên tử cacbon không đối xứng được biểu thị trong hình vẽ dưới đây bằng nguyên tử cacbon được đánh dấu *:



Do sự có mặt của nguyên tử cacbon không đối xứng đã nêu, “hợp chất có công thức (I)” có thể là chất đồng phân đối ảnh dạng (R), chất đồng phân đối ảnh dạng (S), dạng racemic, hoặc tổ hợp khả thi bất kỳ của hai chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ theo tỷ lệ bất kỳ. Khi chưa biết được cấu hình (R) hoặc (S) tuyệt đối của chất đồng phân đối ảnh, thì chất đồng phân đối ảnh này cũng có thể được nhận biết bằng cách chỉ ra xem chất đồng phân đối ảnh này là quay phải (dextrorotatory) (+) hay quay trái (levorotatory) (-) sau khi đo độ quay quang riêng của chất đồng phân đối ảnh cụ thể đã

nêu.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến nhóm thứ nhất của hợp chất có công thức (I) trong đó hợp chất có công thức (I) có độ quay riêng (+).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến nhóm thứ hai gồm hợp chất có công thức (I) trong đó hợp chất có công thức (I) có độ quay riêng (-).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các phương pháp LC/MS

Phép đo sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) được thực hiện bằng cách sử dụng bơm LC, mảng điốt (DAD) hoặc máy dò UV và cột như được xác định theo các phương pháp tương ứng. Nếu cần thiết, có thể bao gồm thêm máy dò (xem bảng về các phương pháp dưới đây).

Dòng chảy từ cột được đưa vào máy quang phổ khối (MS) được cấu hình với nguồn ion trong áp suất môi trường. Điều này nằm trong phạm vi hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật để thiết lập các thông số điều chỉnh (ví dụ, khoảng quét, thời gian chờ...) để thu được ion cho phép nhận biết phân tử khối (MW) đơn đồng vị theo danh pháp của hợp chất. Việc thu thập dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm thích hợp.

Hợp chất được mô tả bằng thời gian lưu giữ thử nghiệm (R_t) và ion. Nếu được quy định khác trong bảng số liệu, ion phân tử báo cáo tương ứng với $[M+H]^+$ (phân tử được proton hoá) và/hoặc $[M-H]^-$ (phân tử được khử proton). Trong trường hợp hợp chất không ion hoá được một cách trực tiếp, thì xác định loại sản phẩm cộng (tức là $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, v.v.). Đối với phân tử có nhiều kiểu đồng vị (Br, Cl), giá trị báo cáo là giá trị thu được cho khối lượng đồng vị thấp nhất. Tất cả các kết quả thu được với độ bất định do thử nghiệm mà thường liên quan đến phương pháp được sử dụng.

Sau đây, “SQD” có nghĩa là bộ dò tứ cực đơn (Single Quadrupole Detector), “MSD” là bộ dò chọn lọc khối (Mass Selective Detector), “RT” là nhiệt độ phòng, “BEH” là chất lai etylsiloxan/silic oxit có cầu, “DAD” là bộ dò mảng điốt (Diode Array Detector), “HSS” là silic oxit có độ bền cao.

Mã phương pháp LC/MS (Dòng chảy được biểu diễn theo đơn vị mL/phút; nhiệt độ cột (T) theo °C; Thời gian chạy theo phút).

Mã phương pháp	Thiết bị	Cột	Pha động	Gradient	Dòng chảy ----- Cột T	Thời gian chạy (phút)
LC-A	Waters: Acquity® UPLC® - DAD- Quattro Micro™	Waters: BEH® C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7 mM/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	84,2% A trong 0,49 phút, đến 10,5% A trong 2,18 phút, được giữ trong 1,94 phút, quay trở lại 84,2% A trong 0,73 phút, được giữ trong 0,73 phút.	0,343 mL/phút ----- 40°C	6,2
LC-B	Waters: Acquity® H- Class - DAD và SQD2TM	Waters: BEH® C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7 mM/5% CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	84,2% A/15,8% B đến 10,5% A trong 2,18 phút, được giữ trong 1,96 phút, quay trở lại 84,2% A/15,8% B trong 0,73 phút, được giữ trong 0,49 phút.	0,343 mL/phút ----- 40°C	6,1
LC-C	Waters: Acquity® UPLC® -DAD- SQD	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 50 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 10 mM trong 95% H ₂ O + 5% CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Từ 95% A đến 5% A trong 1,3 phút, được giữ trong 0,7 phút.	0,8 mL/phút ----- 55°C	2
LC-D	Waters: Acquity® UPLC® -DAD- SQD	Waters: HSS T3 (1,8 µm, 2,1 x 100 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 10 mM 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

Các phương pháp SFC/MS

Phép đo SFC được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống sắc ký lỏng siêu tới hạn phân tích (SFC) được cấu tạo bởi bơm đôi để phân phối cacbon dioxide (CO₂) và bộ điều biến, bộ tự lấy mẫu, lò dạng cột, bộ dò mảng điốt được bố trí buồng dòng chảy cao áp (high-pressure flow cell) để đứng trong điều kiện lên đến 40 MPa (400 bar). Nếu được cấu hình với máy quang phổ khối (MS) thì dòng chảy từ cột được đưa đến (MS). Điều này nằm trong phạm vi hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật để thiết lập các thông số điều chỉnh (ví dụ, khoảng quét, thời gian chờ...) để thu được ion cho phép nhận biết phân tử khối (MW) đơn đồng vị theo danh pháp của hợp chất. Việc thu thập dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm thích hợp.

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

Mã phương pháp	Cột	Pha động	Gradient	Dòng chảy	Thời gian chạy
				----- Cột T	----- BPR
SFC-A	Cột Daicel Chiralpak® IA (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	30% B giữ 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 10 MPa (100 bar)
SFC-B	Cột Daicel Chiralpak® AD-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	30% B giữ 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 10 MPa (100 bar)
SFC-C	Cột Daicel Chiralpak® AD-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	40% B giữ 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 10 MPa (100 bar)
SFC-D	Cột Daicel Chiralpak® IC (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: iPrOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	25% B giữ 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 10 MPa (100 bar)
SFC-E	Cột Daicel Chiralpak® IC (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: iPrOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	30% B giữ 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 10 MPa (100 bar)
SFC-F	Cột Daicel Chiralpak® AD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: iPrOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	30% B giữ 3 phút,	3,5 ----- 35	3 ----- 10,3 MPa (103 bar)
SFC-G	Cột Daicel Chiralpak® AD-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH	30% B giữ 7 phút,	3 ----- 35	7 ----- 10 MPa (100 bar)
SFC-H	Cột Daicel Chiralpak® AS-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: iPrOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	20% B giữ 10 phút,	3,5 ----- 35	10 ----- 10,3 MPa (103 bar)
SFC-I	Cột Daicel Chiralpak® AS-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	10% B giữ 10 phút,	3,5 ----- 35	10 ----- 10,3 MPa (103 bar)
SFC-J	Cột Daicel Chiralcel® OD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: MeOH (+ 0,3% iPrNH ₂)	B 20% giữ 6 phút,	3,5 ----- 35	6 ----- 10,3 MPa (103 bar)
SFC-K	Cột Daicel Chiralpak® AS3 (3,0 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 3,5 phút	2,5 ----- 40	9,5 ----- 11 MPa (110 bar)

Nhiệt độ nóng chảy

Giá trị là giá trị cực đại hoặc khoảng nóng chảy, và thu được với độ bất định do thử nghiệm mà thường liên quan đến phương pháp phân tích này.

DSC823e (được biểu thị là DSC)

Với một số hợp chất, nhiệt độ nóng chảy được xác định bằng DSC823e (Mettler-Toledo). Nhiệt độ nóng chảy được đo với gradien nhiệt độ là 10°C/phút. Nhiệt độ cao nhất là 300°C.

Độ quay quang:

Độ quay quang được đo trên thiết bị phân cực kế Perkin-Elmer 341 có đèn natri và được báo cáo như sau: $[\alpha]^\circ (\lambda, c \text{ g/100 mL, dung môi, } T^\circ\text{C})$.

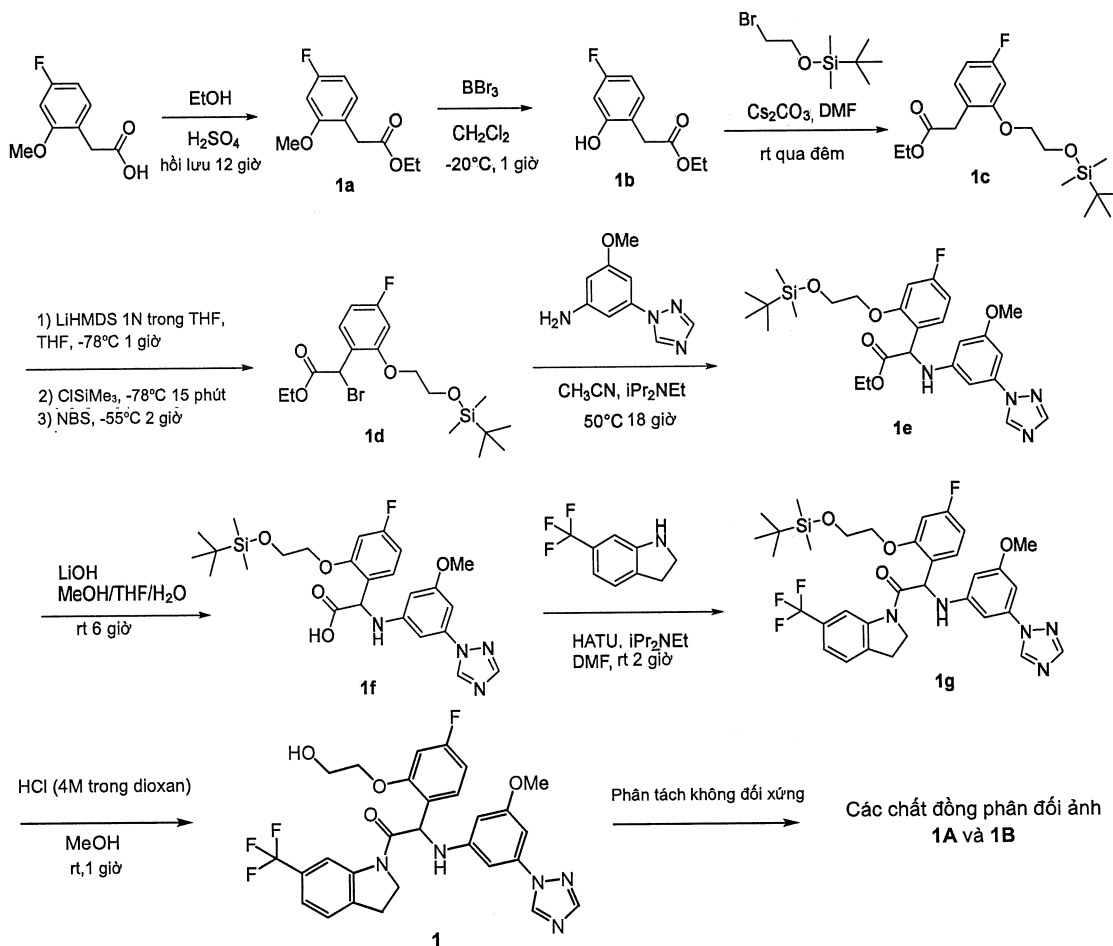
$[\alpha]_\lambda^T = (100\alpha) / (l \times c)$: trong đó l là độ dài quang trình theo dm và c là nồng độ theo g/100 mL cho một mẫu ở nhiệt độ T (°C) và bước sóng λ (theo nm). Nếu bước sóng của ánh sáng được sử dụng là 589 nm (vạch D của natri), thì thay vào đó có thể sử dụng ký hiệu D. Dấu của độ quay (+ hoặc -) luôn cần được cho trước. Khi sử dụng công thức này, nồng độ và dung môi luôn được cung cấp ở dạng trong ngoặc đơn sau khi quay. Độ quay được báo cáo bằng cách sử dụng độ và không đơn vị nồng độ nào được đưa ra (được giả định là g/100 mL).

Các từ ngữ viết tắt được sử dụng trong phần thử nghiệm

(M+H) ⁺	ion phân tử được proton hoá	HCl	axit clohydric
aq.	dạng nước	HPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cao
Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl	iPrNH ₂	isopropylamin
Boc ₂ O	di- <i>tert</i> -butyl dicacbonat	iPrOH	2-propanol
br	rộng	K ₂ CO ₃	kali cacbonat
CH ₃ CN	axetonitril	LiAlH ₄	lithi nhôm hydrua
CHCl ₃	clorofom	m/z	tỷ lệ khối lượng:điện tích
CH ₂ Cl ₂	diclometan	Me	metyl
CH ₃ OH	metanol	MeOH	metanol
CO ₂	cacbon dioxit	MgSO ₄	magie sulfat
d	vạch đôi	min	phút
DCM	diclometan	N ₂	nitơ
DIEA	diisopropyletylamin	Na ₂ CO ₃	natri cacbonat
DIPE	ete diisopropyl	Na ₂ SO ₄	natri sulfat
DMA	dimetylxetamit	NaBH ₄	natri borohydrua
DMAP	4-dimetylamino pyridin	NaHCO ₃	natri bicacbonat
DME	1,2-dimetoxyetan	NaOH	natri hydroxit
DMF	dimetylformamit	NH ₄ Cl	amoni clorua
DMSO	dimetyl sulfoxit	q	vạch bốn
eq.	đương lượng	rt hoặc RT	nhiệt độ phòng
Et ₂ O	ete dietyl	s	vạch đơn
Et ₃ N	trietylamin	t	vạch ba
EtOAc	etyl axetat	tBuOK	kali <i>tert</i> -butanolaat
EtOH	etanol	TEA	trietylamin
H ₂ O	nước	TFA	axit trifloaxetic

H ₂ SO ₄	axit sulfuric	THF	tetrahydrofuran
HATU	O-(7-aza-1H-benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyl-uron hexaflophosphat - CAS [148893-10-1]	TMSCl	trimetylsilyl clorua

Ví dụ 1: Tổng hợp 2-(4-flo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 1) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 1A và Chất đồng phân đối ảnh 1B.



Tổng hợp chất trung gian 1a:

Dung dịch của axit 4-flo-2-metoxypheylaxetic [CAS 886498-61-9] (10 g, 54,3 mmol) trong EtOH (200 mL) và H₂SO₄ (2 mL) được gia nhiệt trong điều kiện hồi lưu trong 12 giờ. Nước được thêm vào và hỗn hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm xuống còn một nửa thể tích ban đầu. Đá lạnh được thêm vào. Dung dịch được bazơ hoá bằng K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Lóp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được etyl 2-(4-flo-2-metoxypheyl)axetat 1a (11,6 g). Hợp chất được sử dụng trực tiếp tại bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 1b:

Dung dịch 1M của bo tribromua trong CH_2Cl_2 (109,3 mL, 109,3 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của etyl 2-(4-flo-2-metoxyphe-nyl)axetat 1a (11,6 g, 54,7 mmol) trong CH_2Cl_2 (300 mL) ở -30°C . Phản ứng được khuấy ở -20°C trong 1 giờ, và sau đó được dập bằng CH_3OH . Độ pH được điều chỉnh đến 8 bằng cách thêm dung dịch nước NaHCO_3 bão hoà. Dung dịch được chiết tách bằng CH_2Cl_2 và các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được etyl 2-(4-flo-2-hydroxyphe-nyl)axetat 1b (10,8 g). Hợp chất được sử dụng trực tiếp tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 1c:

(2-Brometoxi)(tert-butyl)dimetylsilan [CAS 86864-60-0] (13,8 mL, 64,2 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm etyl 2-(4-flo-2-hydroxyphe-nyl)axetat 1b (10,6 g, 53,5 mmol) và xesi cacbonat (34,8 g, 106,9 mmol) trong DMF (200 mL) ở 10°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. H_2O được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μM , 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được etyl 2-(2-(2-((tert-butyl)dimetylsilyl)oxy)etoxi)-4-flophenyl)axetat 1c (17,7 g).

Tổng hợp chất trung gian 1d:

Dung dịch của etyl 2-(2-(2-((tert-butyl)dimetylsilyl)oxy)etoxi)-4-flophenyl)axetat 1c (5 g, 14,03 mmol) trong THF (30 mL) được thêm vào dung dịch lithi bis(trimetylsilyl)amit 1M trong THF (28,05 mL, 28,05 mmol), được làm lạnh ở -78°C . Sau khi khuấy trong 1 giờ ở -78°C , clotrimetylsilan (2,85 mL, 22,4 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78°C trong 15 phút. N-Bromsuxinimit (3 g, 16,8 mmol) trong THF (30 mL) được thêm vào và tiếp tục khuấy ở -55°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đổ vào H_2O và được chiết tách hai lần bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được etyl 2-brom-2-(2-(2-((tert-butyl)dimetylsilyl)oxy)etoxi)-4-flophenyl)axetat 1d (6,57 g) được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 1e:

Hỗn hợp gồm ethyl 2-brom-2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)axetat 1d (3,1 g, 7,12 mmol), 3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilin [CAS 1220630-56-7] (2,03 g, 10,7 mmol) và diisopropyletylamin (2,45 mL, 14,2 mmol) trong CH₃CN (60 mL) được khuấy ở 50°C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hấp thụ bằng EtOAc và được rửa bằng HCl 0,5N, nước và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 120 g, gradien heptan/EtOAc từ 80/20 đến 60/40) để thu được ethyl 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetat 1e (2,5 g).

Tổng hợp chất trung gian 1f:

Dung dịch của lithi hydroxit monohydrat (226 mg, 5,397 mmol) trong nước (25 mL) được thêm từng phần vào dung dịch của ethyl 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetat 1e (2,45 g, 4,498 mmol) trong hỗn hợp dung môi THF/CH₃OH (1/1) (50 mL) ở 10°C. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ, được pha loãng bằng nước và được làm lạnh xuống 0°C. Dung dịch được axit hoá chậm bằng HCl 0,5N đến độ pH = 6, và được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được axit 2-(2-(2-((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 1f (2,05 g). Hợp chất được sử dụng trực tiếp tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 1g:

HATU (1,74 g, 4,60 mmol), diisopropyletylamin (1,5 mL, 9,17 mmol) và 6-(triflometyl)indolin [CAS 181513-29-1] (572 mg, 3,06 mmol) được thêm vào dung dịch của axit 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 1f (1,58 g, 3,06 mmol) trong DMF (20 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch 10% của K₂CO₃ trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu

được 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 1g (2,1 g). Hợp chất thô được sử dụng trực tiếp tại bước tiếp theo.

Tổng hợp Hợp chất 1 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 1A và Chất đồng phân đối ảnh 1B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (7,65 mL, 30,6 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 1g (2,1 g, 3,06 mmol) trong MeOH (40 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được kết tinh từ CH₃CN/ete diisopropyl để thu được 2-(4-flo-2-(2-hydroxyethoxy)phenyl)-2-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 1 (800 mg) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 1 (720 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® IA 5 µm 250 x 20 mm, Pha động: 70% CO₂, 30% EtOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (303 mg) được kết tinh từ Et₂O để thu được Chất đồng phân đối ảnh 1A (270 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (320 mg) được kết tinh từ Et₂O để thu được Chất đồng phân đối ảnh 1B (274 mg).

Hợp chất 1:

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

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,06 phút, MH⁺ 572

Nhiệt độ nóng chảy: 151°C

Chất đồng phân đối ảnh 1A:

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,15 - 3,29 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,74 - 3,86 (m, 2 H) 4,06 - 4,19 (m, 3 H) 4,45 (td, $J=10,2, 6,3$ Hz, 1 H) 4,97 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H) 5,83 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 6,36 (s, 1 H) 6,66 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,76 - 6,82 (m, 2 H) 6,84 (s, 1 H) 6,98 (dd, $J=11,3, 2,5$ Hz, 1 H) 7,37 - 7,42 (m, 2 H) 7,46 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 8,39 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,06 phút, MH^+ 572

$[\alpha]_D^{20}$: $-44,8^\circ$ (c 0,2525, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 2,59 phút, MH^+ 572, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 163°C

Chất đồng phân đối ảnh 1B:

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

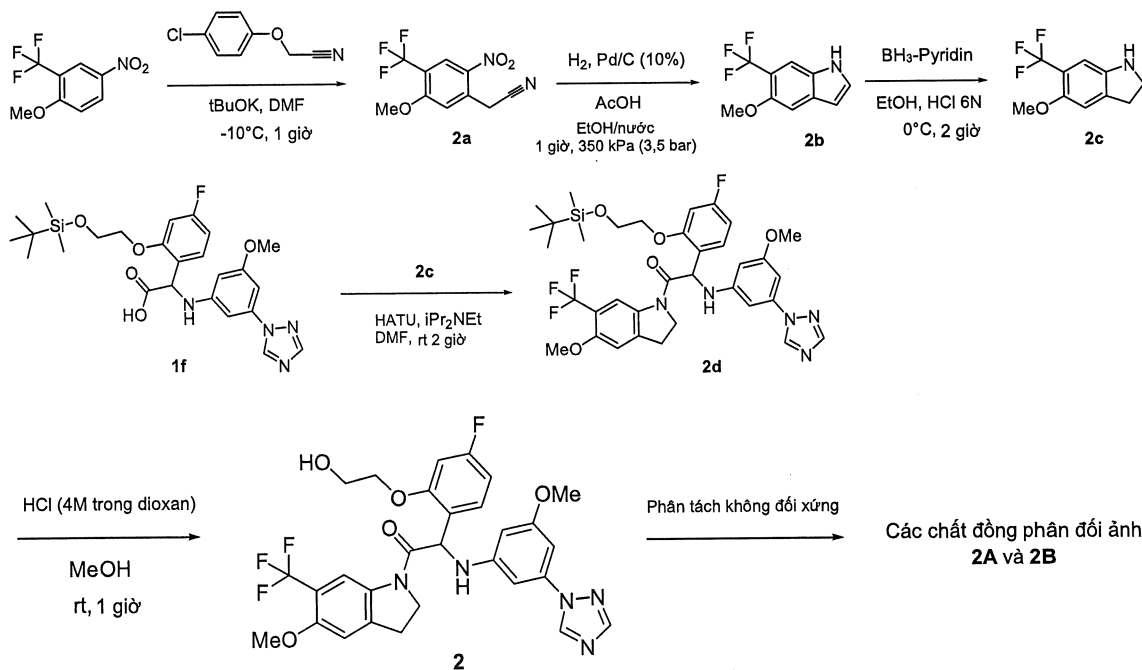
LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,06 phút, MH^+ 572

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 3,15 phút, MH^+ 572, độ tinh khiết không đối xứng 98,07%.

Nhiệt độ nóng chảy: 162°C

Ví dụ 2: Tổng hợp 2-(4- flo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 2) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 2A và Chất đồng phân đối ảnh 2B.



Tổng hợp chất trung gian 2a:

Hỗn hợp gồm 1-methoxy-4-nitro-2-(triflometyl)benzen [CAS 654-76-2] (24,5 g, 110,8 mmol) và 4-clophenoxyaxetonitril [CAS 3598-13-8] (20,4 g, 121,9 mmol) trong DMF (100 mL) được thêm nhỏ giọt trong 30 phút vào dung dịch khuấy của $t\text{BuOK}$ (27,35 g, 243,7 mmol) trong DMF (100 mL) ở -10°C . Sau khi thêm, dung dịch màu tím được duy trì ở -10°C trong 1 giờ. 500 mL đá lạnh-nước và 500 mL HCl 6N được thêm vào và phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được làm khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 40,4 g 2-(5-methoxy-2-nitro-4-(triflometyl)phenyl)axetonitril 2a (được sử dụng như vậy tại bước tiếp theo).

Tổng hợp chất trung gian 2b:

Dung dịch của 2-(5-methoxy-2-nitro-4-(triflometyl)phenyl)axetonitril 2a (26 g, 99,9 mmol) trong etanol/nước (9/1) (500 mL) và AcOH (5,2 mL) được hydro hoá trong 1 giờ ở áp suất 350 kPa (3,5 Bar) bằng Pd/C 10% (15,3 g) làm chất xúc tác. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm celite® và phần bánh lọc được rửa bằng hỗn hợp dung môi gồm CH_2Cl_2 và CH_3OH . Phần lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được lọc qua dụng cụ lọc thủy tinh được nạp silic oxit 60-200 μm bằng cách sử dụng heptan/ EtOAc 80/20 làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 5-methoxy-6-(triflometyl)-1H-indol 2b (15,6 g).

Tổng hợp chất trung gian 2c:

Ở 0°C, BH₃-Pyridin (23,5 mL, 232,4 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 5-metoxi-6-(triflometyl)-1H-indol 2b (10 g, 46,5 mmol) trong EtOH (60 mL). HCl 6N (140 mL) được thêm chậm trong khi duy trì nhiệt độ thấp hơn 10°C. Hỗn hợp được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Nước (200 mL) được thêm vào và hỗn hợp này được bazơ hoá đến độ pH = 8-9 bằng dung dịch nước NaOH đặc (nhiệt độ của phản ứng được giữ thấp hơn 20°C). Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước (hai lần) và được làm bay hơi đồng thời trong điều kiện áp suất giảm bằng toluen để thu được 5-metoxi-6-(triflometyl)indolin 2c (9 g).

Tổng hợp chất trung gian 2d:

HATU (1,13 g, 2,96 mmol), diisopropyletylamin (979 µL, 5,92 mmol) và 5-metoxi-6-(triflometyl)indolin 2c (429 mg, 1,97 mmol) được thêm vào dung dịch của axit 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 1f (1,02 g, 1,97 mmol) trong DMF (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch 10% của K₂CO₃ trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxi-6-triflometyl)indolin-1-yl)etanon 2d (1,36 g). Hợp chất được sử dụng như vậy tại bước phản ứng tiếp theo.

Tổng hợp Hợp chất 2 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 2A và Chất đồng phân đối ảnh 2B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (4,75 mL, 18,99 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxi-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 2d (1,36 g, 1,9 mmol) trong MeOH (25 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được kết tinh từ MeOH để thu được 2-(4-flo-2-(2-hydroxy

etoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 2 (850 mg) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 2 (800 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® IA 5 μ m 250 x 20 mm, Pha động: 6% CH₂Cl₂, 70% CO₂, 24% EtOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (370 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 2A (329 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (400 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 24 g, CH₂Cl₂/MeOH 99/1). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn (320 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 2B (262 mg).

Hợp chất 2:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,15 - 3,30 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 4,04 - 4,18 (m, 3 H) 4,43 (td, J=10,4, 6,3 Hz, 1 H) 4,99 (t, J=5,7 Hz, 1 H) 5,81 (d, J=8,5 Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (t, J=1,9 Hz, 1 H) 6,75 - 6,81 (m, 2 H) 6,83 (s, 1 H) 6,98 (dd, J=11,2, 2,4 Hz, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 7,39 (dd, J=8,5, 6,9 Hz, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,99 phút, MH⁺ 602

Nhiệt độ nóng chảy: 192°C

Chất đồng phân đối ảnh 2A:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,16 - 3,28 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 4,03 - 4,18 (m, 3 H) 4,37 - 4,49 (m, 1 H) 4,97 (t, J=5,6 Hz, 1 H) 5,81 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,73 - 6,81 (m, 2 H) 6,83 (s, 1 H) 6,97 (dd, J=11,1, 2,0 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,39 (t, J=7,6 Hz, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 9,12 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,97 phút, MH⁺ 602

[α]_D²⁰: -45,0° (c 0,2425, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 4,14 phút, MH⁺ 602, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 2B:

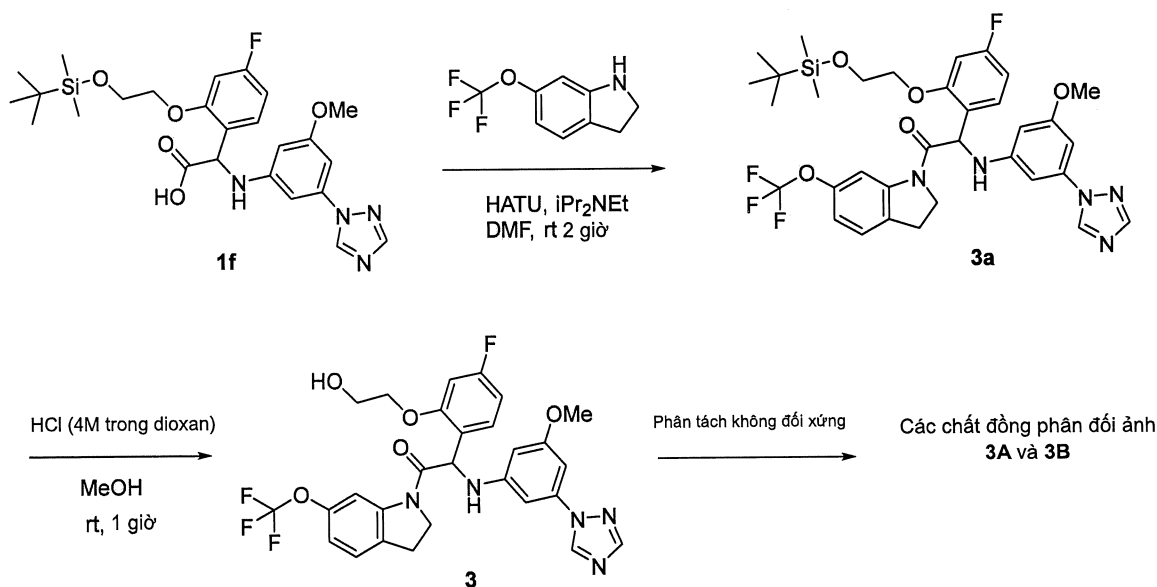
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,16 - 3,28 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 4,02 - 4,20 (m, 3 H) 4,42 (td, $J=10,2, 6,3$ Hz, 1 H) 4,97 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H) 5,81 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,73 - 6,81 (m, 2 H) 6,83 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=11,4, 2,3$ Hz,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

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,97 phút, MH^+ 602

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 5,08 phút, MH^+ 602, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 3: Tổng hợp 2-(4-flo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 3) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 3A và Chất đồng phân đối ảnh 3B.



Tổng hợp chất trung gian 3a:

HATU (1,13 g, 2,96 mmol), diisopropyletamin (979 μL , 5,92 mmol) và 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (401 mg, 1,97 mmol) được thêm vào dung dịch của axit 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-flophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 1f (1,02 g, 1,974 mmol) trong DMF (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng

được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch 10% của K_2CO_3 trong nước, nước, được làm khô qua $MgSO_4$, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 3a (1,34 g). Hợp chất thô được sử dụng trực tiếp tại bước phản ứng tiếp theo.

Tổng hợp Hợp chất 3 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 3A và Chất đồng phân đối ảnh 3B:

Trong dòng khí N_2 , ở $5^\circ C$, HCl 4M trong dioxan (4,27 mL, 17,1 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-flophenyl)-2-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 3a (1,2 g, 1,71 mmol) trong MeOH (25 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống $0^\circ C$, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K_2CO_3 và được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được tách, được làm khô qua $MgSO_4$, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 40 g, gradien $CH_2Cl_2/MeOH$ từ 99,5/0,5 đến 99/1). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(4-flo-2-(2-hydroxyethoxy)phenyl)-2-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 3 (550 mg) ở dạng raxemat. Một phần của phân đoạn này được kết tinh từ MeOH để tạo ra Hợp chất 3 (36 mg).

Nguyên liệu còn lại được sử dụng để tách chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 3 qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak[®] AD-H 5 μm 250 x 20 mm, Pha động: 65% CO_2 , 35% EtOH (+ 0,3% $iPrNH_2$)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (210 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl/heptan để thu được Chất đồng phân đối ảnh 3A (182 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (230 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 24 g, $CH_2Cl_2/MeOH$ 99/1). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn (180 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl/heptan để thu được Chất đồng phân đối ảnh 3B (137 mg).

Hợp chất 3:

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,06 - 3,25 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,75 - 3,86 (m, 2 H) 4,06 - 4,17 (m, 3 H) 4,38 - 4,50 (m, 1 H) 4,95 (br s, 1 H) 5,81 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,75 - 6,81 (m, 2 H) 6,83 (s, 1 H) 6,94 - 7,04 (m, 2 H) 7,33 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 7,36 - 7,43 (m, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,11 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,13 phút, MH^+ 588

Nhiệt độ nóng chảy: 178°C

Chất đồng phân đối ảnh 3A:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,06 - 3,26 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,86 (m, 2 H) 4,05 - 4,18 (m, 3 H) 4,38 - 4,50 (m, 1 H) 4,97 (t, $J=5,3$ Hz, 1 H) 5,82 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,74 - 6,86 (m, 3 H) 6,94 - 7,04 (m, 2 H) 7,34 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 7,36 - 7,42 (m, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,12 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,11 phút, MH^+ 588

$[\alpha]_D^{20}$: -38,2° (c 0,28, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 3,38 phút, MH^+ 588, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 3B:

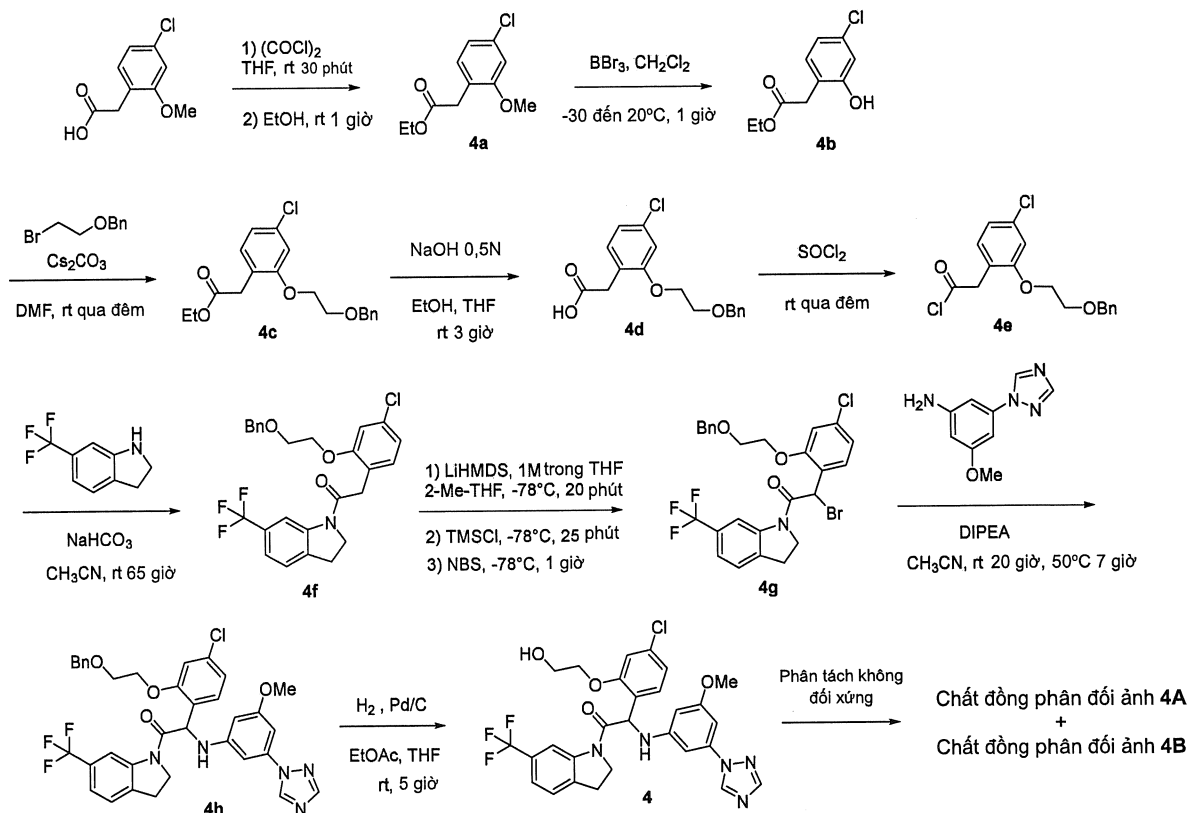
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,07 - 3,26 (m, 2H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,86 (m, 2 H) 4,04 - 4,20 (m, 3 H) 4,38 - 4,50 (m, 1 H) 4,97 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H) 5,81 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,74 - 6,87 (m, 3 H) 6,94 - 7,03 (m, 2 H) 7,34 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 7,36 - 7,42 (m, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,12 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,11 phút, MH^+ 588

$[\alpha]_D^{20}$: +40,9° (c 0,23, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 5,31 phút, MH^+ 588, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 4: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 4) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 4A và Chất đồng phân đối ảnh 4B.



Tổng hợp chất trung gian 4a:

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

Tổng hợp chất trung gian 4b:

Dung dịch BBr₃ 1M trong CH₂Cl₂ (87,5 mL, 87,5 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của etyl 2-(4-clo-2-metoxyphenyl)axetat 4a (10 g, 44 mmol) trong CH₂Cl₂ (350 mL), được làm lạnh ở -30°C, trong khi duy trì nhiệt độ thấp hơn -20°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -30°C trong 1 giờ trước khi dập bằng metanol. Độ pH được điều chỉnh đến 8 bằng cách thêm dung dịch nước bão hoà của NaHCO₃. Các pha được tách ra. Pha nước được chiết tách bằng CH₂Cl₂. Các pha hữu cơ được gộp lại, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được etyl 2-(4-

clo-2-hydroxyphenyl)axetat 4b (9,5 g), được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 4c:

Ete benzyl 2-brometyl [CAS 1462-37-9] (2,29 g, 14,5 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm etyl 2-(4-clo-2-hydroxyphenyl)axetat 4b [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 phòng trong 24 giờ. H₂O được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel sử dụng gradien của EtOAc (từ 2% đến 20%) trong heptan để thu được etyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat 4c (4,17 g).

Tổng hợp chất trung gian 4d:

NaOH 0,5N (72 mL, 36,0 mmol) được thêm vào dung dịch của etyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat 4c (4,17 g, 12,0 mmol) trong hỗn hợp gồm EtOH (80 mL) và THF (40 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô một phần trong điều kiện áp suất giảm để loại bỏ các dung môi hữu cơ. Phần cặn được axit hoá đến độ pH = 2-3 bằng HCl 1N và hỗn hợp được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được axit 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetic 4d (3,83 g).

Tổng hợp chất trung gian 4e:

Dung dịch của axit 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetic 4d (7,12 g, 22,2 mmol) trong thionyl clorua (50 mL, 689 mmol) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời bằng toluen để thu được 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua 4e (7,53 g) được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 4f:

Dung dịch của 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)axetyl clorua 4e (5,29 g, 15,6 mmol) trong CH₃CN (50 mL) được thêm nhỏ giọt trong môi trường N₂ vào hỗn hợp đang khuấy của 6-(triflometyl)indolin [CAS 181513-29-1] (2,92 g, 15,6 mmol) và

natri bicacbonat (1,44 g, 17,1 mmol) trong CH₃CN (50 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 65 giờ và được đổ vào nước (500 mL). Sản phẩm được chiết tách (2x) bằng Et₂O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn hoá rắn khi đứng yên. Sản phẩm được khuấy lên trong ete diisopropyl (25 mL), được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng ete diisopropyl, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 45°C để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 4f (6,97 g).

Tổng hợp chất trung gian 4g:

Dung dịch của 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 4f (1,5 g, 3,06 mmol) trong 2-Me-THF (125 mL) được khuấy trong dòng khí N₂ và được làm lạnh xuống -78°C. Dung dịch của lithi bis(trimetylsilyl)amit 1M trong THF (6,12 mL, 6,12 mmol) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở -78°C trong 20 phút. Clotrimetylsilan (626 µL, 4,90 mmol) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp được khuấy ở -78°C trong 25 phút. Dung dịch của N-bromsuxinimit (599 mg, 3,37 mmol) trong 2-Me-THF (50 mL) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78°C trong 1 giờ. Dung dịch nước bão hoà của NH₄Cl (60 mL) được thêm cùng một lúc, và hỗn hợp tạo thành được khuấy mà không cần làm lạnh cho đến khi nhiệt độ đạt 0°C. Nước (20 mL) được thêm vào, và sau khi khuấy trong 30 phút thì tách các lớp. Lớp hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc, được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời bằng CH₃CN để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-brom-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 4g (1,16 g). Sản phẩm được sử dụng mà không cần tinh chế thêm tại bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 4h:

3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilin [CAS 1220630-56-7] (874 mg, 4,59 mmol), và diisopropyletylamin (1,06 mL, 6,12 mmol) được thêm vào dung dịch khuấy của 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-brom-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 4g (1,74 g, 3,06 mmol) trong CH₃CN (100 mL) trong môi trường N₂ và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ và sau đó ở 50°C trong 7 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống nhiệt độ phòng và được đổ vào H₂O (400 mL) đang khuấy. Sản phẩm được chiết tách (2x) bằng Et₂O. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô qua

MgSO₄, được lọc, và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (40 g) sử dụng gradien của heptan/EtOAc/EtOH từ 100/0/0 đến 40/45/15. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và dung môi được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời bằng toluen. Phần cặn được làm khô trong điều kiện chân không ở 50°C để tạo ra 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 4h (1,43 g).

Tổng hợp Hợp chất 4 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 4A và Chất đồng phân đối ảnh 4B:

Dung dịch của 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 4h (1,43 g, 2,11 mmol) trong hỗn hợp dung môi của THF (15 mL) trong EtOAc (75 mL) được hydro hoá trong 5 giờ ở nhiệt độ phòng trong áp suất môi trường H₂ sử dụng Pd/C (0,5 g) làm chất xúc tác. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua dicalite®. Phần bánh lọc được rửa vài lần bằng THF, và các phần lọc gộp lại được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn rắn được khuấy lên trong hỗn hợp dung môi CH₂Cl₂/EtOAc/MeOH 1/2/1. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa (2x) bằng EtOAc, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 45°C để tạo ra 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon raxemic (Hợp chất 4, 600 mg).

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 4 (700 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, Pha động: CO₂, MeOH/iPrOH (50/50) + 0,4% iPrNH₂). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra Chất đồng phân đối ảnh 4A làm sản phẩm rửa giải thứ nhất và Chất đồng phân đối ảnh 4B làm sản phẩm rửa giải thứ hai. Cả hai chất đồng phân đối ảnh được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (4 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc/EtOH từ 100/0/0 đến 40/45/15. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được khuấy trong nước (3 mL) và MeOH (0,75 mL). Chất rắn được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng nước, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 50°C để tạo ra Chất đồng phân đối ảnh 4A (81 mg) và Chất đồng phân đối ảnh 4B (132 mg).

Chất đồng phân đối ảnh 4A:

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

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 1,16 phút, MH^+ 588

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-K): R_t 2,91 phút, MH^+ 588, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 4B:

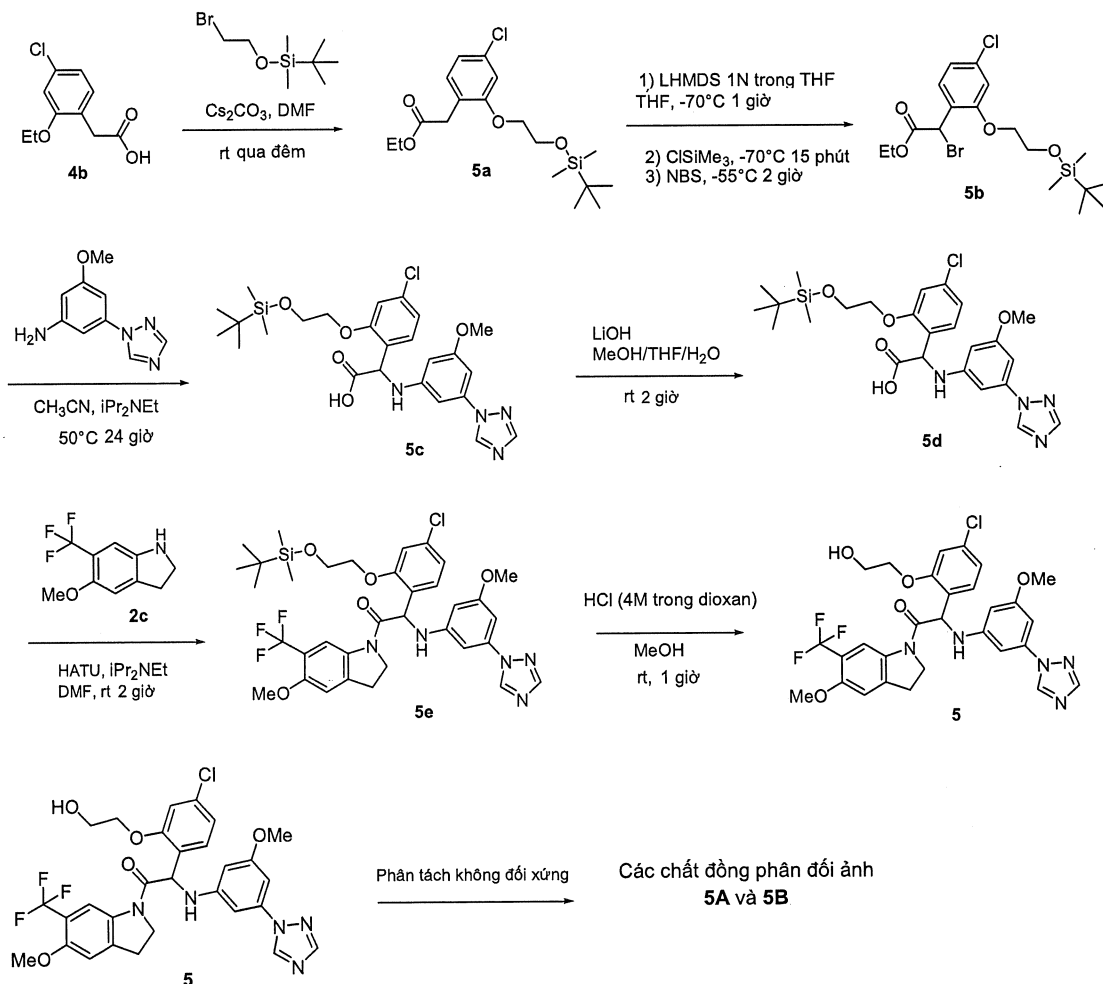
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,15 - 3,28 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,74 - 3,84 (m, 2 H) 4,07 - 4,22 (m, 3 H) 4,44 (td, $J=10,1, 6,6$ Hz, 1 H) 4,96 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H) 5,84 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (t, $J=2,0$ Hz, 1 H) 6,67 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,79 - 6,87 (m, 2 H) 7,03 (dd, $J=8,1, 2,0$ Hz, 1 H)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

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 1,15 phút, MH^+ 588

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-K): R_t 2,78 phút, MH^+ 588, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 5: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 5) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 5A và Chất đồng phân đối ảnh 5B.



Tổng hợp chất trung gian 5a:

(2-Brometoxy)(tert-butyl)dimethylsilan [CAS 86864-60-0] (6,26 mL, 29,1 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm etyl 2-(4-clo-2-hydroxyphenyl)axetat 4b (5,2 g, 24,2 mmol) và xesi cacbonat (15,8 g, 48,5 mmol) trong DMF (90 mL) ở 10°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. H_2O được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 80 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được etyl 2-(2-(2-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat 5a (7,8 g).

Tổng hợp chất trung gian 5b:

Dung dịch của etyl 2-(2-(2-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat 5a (7,8 g, 20,9 mmol) trong THF (45 mL) được thêm vào dung dịch lithi bis(trimethylsilyl)amit 1M trong THF (41,8 mL, 41,8 mmol), được làm lạnh xuống

-70°C. Sau 1 giờ ở -70°C, clotrimetylsilan (4,24 mL, 33,5 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -70°C trong 15 phút. N-Bromsuxinimit (4,46 g, 25,1 mmol) trong THF (45 mL) được thêm vào và tiếp tục khuấy ở -55°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đổ vào H₂O và được chiết tách hai lần bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được ethyl 2-brom-2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat 5b (10,1 g) được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 5c:

Hỗn hợp gồm ethyl 2-brom-2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)axetat 5b (4,75 g, 10,5 mmol), 3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilin [CAS 1220630-56-7] (3 g, 15,8 mmol) và diisopropyletylamin (3,62 mL, 21,0 mmol) trong CH₃CN (90 mL) được khuấy ở 50°C trong 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hấp thụ bằng EtOAc và được rửa bằng HCl 0,5N, nước và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 120 g, gradien heptan/EtOAc từ 80/20 đến 70/30) để thu được ethyl 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetat 5c (3,7 g).

Tổng hợp chất trung gian 5d:

Lithi hydroxit monohydrat (523 mg, 12,5 mmol) trong nước (25 mL) được thêm từng phần vào dung dịch của ethyl 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetat 5c (3,5 g, 6,24 mmol) trong THF/CH₃OH (1/1) (50 mL) ở 10°C. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, được pha loãng bằng nước và được làm lạnh xuống 0°C. Dung dịch được axit hoá chậm bằng HCl 0,5N đến độ pH = 6 và được chiết tách bằng EtOAc. Lốp hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được axit 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (3,1 g). Hợp chất được sử dụng như vậy tại bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 5e:

Hỗn hợp gồm 5-metoxi-6-(triflometyl)indolin 2c (400 mg, 1,84 mmol), axit 2-

(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (982 mg, 1,84 mmol), HATU (1,05 g, 2,76 mmol) và diisopropyletylamin (913 μ L, 5,53 mmol) trong DMF (10 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ và được rửa bằng nước. Phần kết tủa được hấp thụ bằng EtOAc, được rửa bằng dung dịch của K₂CO₃ 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 5e (1,35 g). Hợp chất được sử dụng như vậy tại bước phản ứng tiếp theo.

Tổng hợp Hợp chất 5 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 5A và Chất đồng phân đối ảnh 5B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (4,6 mL, 18,4 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)ethoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 5e (1,35 g, 1,84 mmol) trong MeOH (25 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 40 g, CH₂Cl₂/MeOH 98,5/1,5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn (980 mg) được kết tinh từ MeOH để thu được 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxo)phenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon 5 (805 mg) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 5 (771 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® IA 5 μ m 250x20 mm, Pha động: 6% CH₂Cl₂, 70% CO₂, 24% EtOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (375 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 5A (308 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (400 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 24 g, CH₂Cl₂/MeOH 99/1). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn (340 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với

ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 5B (291 mg).

Hợp chất 5:

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,15 - 3,30 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 3,85 (s, 3 H) 4,06 - 4,20 (m, 3 H) 4,41 (td, $J=10,2, 6,3$ Hz, 1 H) 4,99 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H) 5,82 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,80 - 6,85 (m, 2 H) 7,02 (dd, $J=8,2, 1,9$ Hz, 1 H) 7,15 (d, $J=2,2$ Hz, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 7,37 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,13 phút, MH^+ 618

Nhiệt độ nóng chảy: 228°C

Chất đồng phân đối ảnh 5A:

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,16 - 3,28 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 4,06 - 4,21 (m, 3 H) 4,35 - 4,46 (m, 1 H) 4,97 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H) 5,81 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,77 - 6,86 (m, 2 H) 7,02 (dd, $J=8,3, 1,8$ Hz, 1 H) 7,14 (d, $J=1,5$ Hz, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 7,38 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 9,12 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,11 phút, MH^+ 618

$[\alpha]_D^{20}$: -40,3° (c 0,2383, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-C): R_t 2,75 phút, MH^+ 618, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 5B:

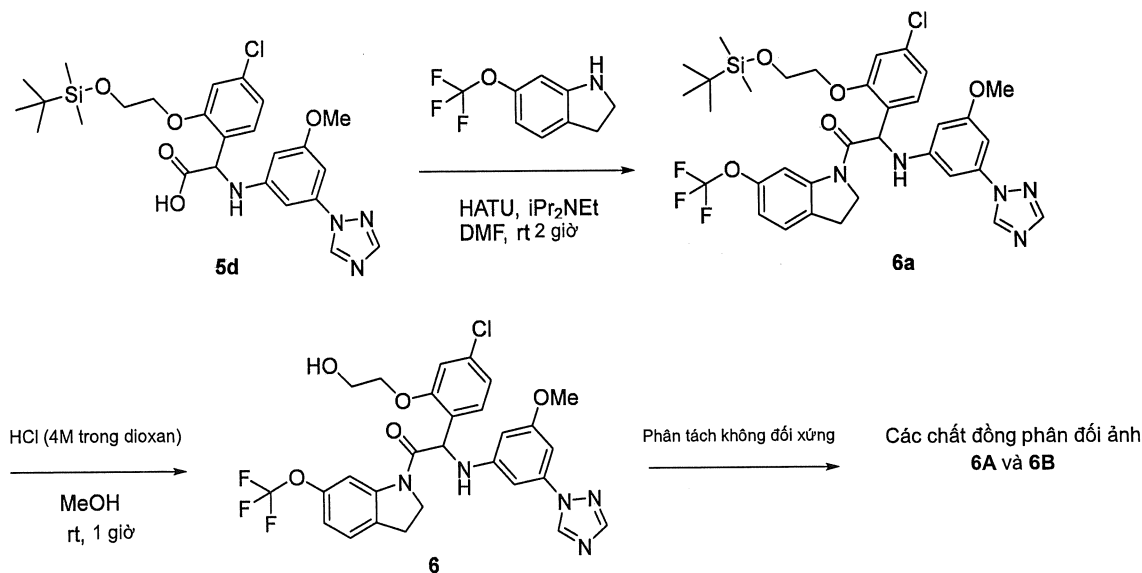
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,16 - 3,28 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 4,06 - 4,20 (m, 3 H) 4,36 - 4,46 (m, 1 H) 4,97 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H) 5,81 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,65 (s, 1 H) 6,78 - 6,85 (m, 2 H) 7,01 (dd, $J=8,3, 1,8$ Hz, 1 H) 7,14 (d, $J=1,5$ Hz, 1 H) 7,24 (s, 1 H) 7,38 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 9,12 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,11 phút, MH^+ 618

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-C): R_t 3,60 phút, MH^+ 618, độ tinh khiết không đối xứng 98,47%.

Ví dụ 6 (Phương pháp 1): Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 6) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 6A và Chất đồng phân đối ảnh 6B.



Tổng hợp chất trung gian 6a:

Hỗn hợp gồm 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (837 mg, 4,12 mmol), axit 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (2,196 g, 4,12 mmol), HATU (2,35 g, 6,18 mmol) và diisopropyletylamin (2 mL, 12,36 mmol) trong DMF (20 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Nguyên liệu dính tạo thành được hấp thụ bằng EtOAc, được rửa bằng dung dịch của K₂CO₃ 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 80 g, gradien heptan/EtOAc từ 70/30 đến 60/40). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 6a (1,65 g).

Tổng hợp Hợp chất 6 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 6A và Chất đồng phân đối ảnh 6B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (6,5 mL, 21,6 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-

((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 6a (1,85 g, 2,58 mmol) trong MeOH (40 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất được kết tinh từ CH₂Cl₂ để thu được 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxo)phenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 6 (1,47 g) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 6 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® IC 5 µm 250 x 30 mm, Pha động: 70% CO₂, 30% iPrOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (585 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 24 g, CH₂Cl₂/MeOH 99/1) để thu được, sau khi hoá rắn trong MeOH/ete diisopropyl/heptan, Chất đồng phân đối ảnh 6A (491 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (400 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 24 g, CH₂Cl₂/MeOH 99/1) để thu được, sau khi hoá rắn trong MeOH/ete diisopropyl/heptan, Chất đồng phân đối ảnh 6B (467 mg).

Hợp chất 6:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,08 - 3,23 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,75 - 3,84 (m, 2 H) 4,07 - 4,22 (m, 3 H) 4,37 - 4,49 (m, 1 H) 4,94 (br s, 1 H) 5,82 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,64 - 6,68 (m, 1 H) 6,79 - 6,86 (m, 2 H) 6,98 - 7,05 (m, 2 H) 7,15 (d, J=2,0 Hz, 1 H) 7,34 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 7,37 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 8,04 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,11 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,27 phút, MH⁺ 604

Nhiệt độ nóng chảy: 161°C

Chất đồng phân đối ảnh 6A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,10 - 3,25 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,74 - 3,84 (m, 2 H) 4,06 - 4,23 (m, 3 H) 4,39 - 4,48 (m, 1 H) 4,99 (br t, J=5,4 Hz, 1 H) 5,83 (br d, J=8,5 Hz, 1 H) 6,36 (br s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,84 (s, 1 H) 6,88 (br d, J=8,5 Hz, 1 H) 7,03 (br t, J=7,6 Hz, 2 H) 7,16 (s, 1 H) 7,36 (dd, J=11,8, 8,4 Hz, 2 H) 8,04 (br s, 1 H)

8,17 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,25 phút, MH^+ 604

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-D): R_t 4,20 phút, MH^+ 604, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 6B:

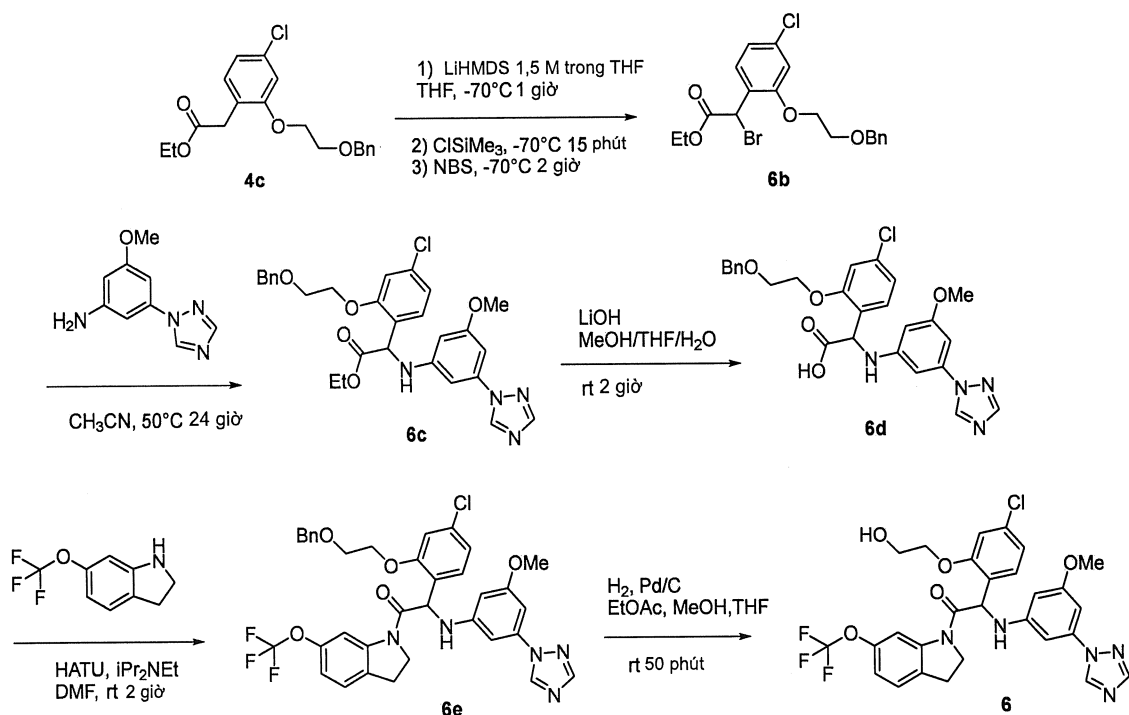
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 - 3,25 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,74 - 3,83 (m, 2 H) 4,06 - 4,21 (m, 3 H) 4,43 (td, $J=10,2, 6,6$ Hz, 1 H) 4,98 (t, $J=5,4$ Hz, 1 H) 5,83 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,83 (s, 1 H) 6,88 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 6,99 - 7,06 (m, 2 H) 7,15 (d, $J=1,6$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

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,31 phút, MH^+ 604

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-D): R_t 5,30 phút, MH^+ 604, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 6 (phương pháp 2): Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 6).



Tổng hợp chất trung gian 6b:

Dung dịch của ethyl 2-(4-clo-2-hydroxyphenyl)axetat **4c** (6 g, 17,2 mmol) trong THF (35 mL) được thêm vào dung dịch lithi bis(trimetylsilyl)amit 1,5M trong THF (23 mL, 34,4 mmol) được làm lạnh ở -70°C trong dòng khí N₂. Sau 1 giờ ở -70°C , clotrimetylsilan (3,5 mL, 27,5 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -70°C trong 15 phút. N-Bromsuxinimit (3,7 g, 20,6 mmol) trong THF (35 mL) được thêm vào và tiếp tục khuấy ở -70°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đổ vào H₂O và được chiết tách bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được ethyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-bromaxetat **6b** (8,2 g) được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 6c:

Hỗn hợp gồm 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-bromaxetat **6b** (6,5 g, 15,2 mmol), 3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilin [CAS 1220630-56-7] (4,6 g, 24,1 mmol) và diisopropyletylamin (5,3 mL, 30,4 mmol) trong CH₃CN (130 mL) được khuấy ở 50°C trong 24 giờ. Dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được pha loãng bằng EtOAc. Dung dịch được lọc để loại bỏ hạt rắn (anilin còn dư). Lọc hữu cơ được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký

nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 120 g, gradien heptan/EtOAc từ 80/20 đến 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được ethyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetat 6c (4,8 g).

Tổng hợp chất trung gian 6d:

Ở 10°C, lithi hydroxit monohydrat (500 mg, 11,9 mmol) được thêm vào dung dịch của ethyl 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetat 6c (3,2 g, 5,96 mmol) trong MeOH/THF/nước (1/1/1) (50 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước đá và được làm lạnh xuống 0°C. Hỗn hợp tạo thành được axit hoá lên đến độ pH = 6-7 bằng HCl 0,5N và được chiết tách bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được gộp lại, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được axit 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 6d (2,75 g). Hợp chất được sử dụng tại bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 6e:

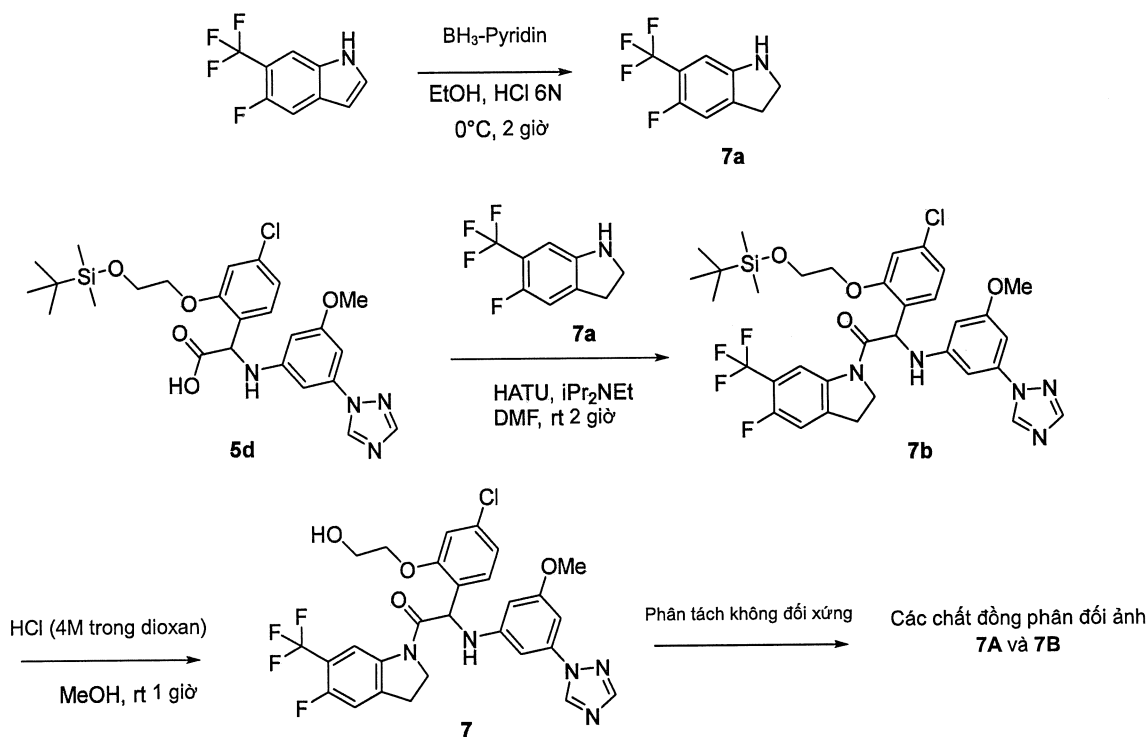
Hỗn hợp gồm 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (1,2 g, 5,89 mmol), axit 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 6d (2,5 g, 4,91 mmol), HATU (2,29 g, 6,01 mmol) và diisopropyletylamin (1,99 mL, 12,0 mmol) trong DMF (18 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ và được rửa bằng nước. Phần kết tủa được hấp thụ bằng EtOAc, được rửa bằng dung dịch của K₂CO₃ 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 220 g, heptan/EtOAc 50/50). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 6e (2,5 g).

Tổng hợp Hợp chất 6:

Hỗn hợp gồm 2-(2-(2-(benzyloxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 6e (2 g, 2,88

mmol) trong EtOAc/MeOH/THF (1/1/1) (100 mL) được hydro hoá trong 50 phút trong áp suất môi trường H₂ bằng Pd/C (10%) (3,07 g, 2,88 mmol) làm chất xúc tác. Phản ứng được pha loãng bằng MeOH và được lọc qua đệm celite®. Phần lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn (1,42 g) được gộp với một mẻ khác (tổng lượng: 1,65 g) và được tinh chế qua SFC đối xứng (pha tĩnh: NH₂ 5 µm 150 x 30 mm, pha động: 70% CO₂, 30% iPrOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 6 (1,36 g) ở dạng raxemat.

Ví dụ 7: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-flo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất 7) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 7A và Chất đồng phân đối ảnh 7B.



Tổng hợp chất trung gian 7a:

Ở 0°C, BH₃-Pyridin (10,45 mL, 103,4 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 5-flo-6-(triflometyl)-1H-indol [CAS 1493800-10-4] (7 g, 34,5 mmol) trong EtOH (45 mL). HCl 6N (105 mL) được thêm chậm trong khi duy trì nhiệt độ thấp hơn 10°C. Hỗn hợp được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Nước (210 mL) được thêm vào và hỗn hợp này được bazơ hoá đến độ pH = 8-9 bằng dung dịch nước NaOH đặc (nhiệt độ của phản ứng

được giữ thấp hơn 20°C). EtOAc được thêm vào. Lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được làm bay hơi đồng thời trong điều kiện áp suất giảm bằng toluen. Sản phẩm thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (20-45 µm, 120 g, CH₂Cl₂/MeOH 98,5/1,5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được 5-flo-6-(triflometyl)indolin 7a (3,5 g).

Tổng hợp chất trung gian 7b:

Hỗn hợp gồm 5-flo-6-(triflometyl)indolin 7a (385 mg, 1,88 mmol), axit 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (1 g, 1,88 mmol), HATU (1,07 g, 2,814 mmol) và diisopropyletylamin (930 µL, 5,63 mmol) trong DMF (10 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Nguyên liệu dính tạo thành được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch của K₂CO₃ 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5-flo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon 7b (1,4 g).

Tổng hợp Hợp chất 7 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 7A và Chất đồng phân đối ảnh 7B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (4,9 mL, 19,4 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5-flo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon 7b (1,4 g, 1,94 mmol) trong MeOH (25 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 40 g, CH₂Cl₂/MeOH 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-flo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon 7 (737 mg) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 7 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® AD-H 5 μ m 250 x 30 mm, Pha động: 60% CO₂, 40% EtOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (325 mg) được kết tinh từ ete diisopropyl/ete dầu mỏ để thu được Chất đồng phân đối ảnh 7A (244 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (310 mg) được kết tinh từ ete diisopropyl/ete dầu mỏ để thu được Chất đồng phân đối ảnh 7B (220 mg).

Hợp chất 7:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,19 – 3,30 (m, 2 H) 3,63 – 3,87 (m, 5 H) 4,05 – 4,24 (m, 3 H) 4,40 – 4,49 (m, 1 H) 4,97 (br s, 1 H) 5,83 (br d, J=6,9 Hz, 1 H) 6,35 (br s, 1 H) 6,67 (br s, 1 H) 6,80 – 6,89 (m, 2 H) 7,03 (br d, J=7,3 Hz, 1 H) 7,15 (br s, 1 H) 7,37 (br d, J=7,6 Hz, 1 H) 7,47 (br d, J=9,5 Hz, 1 H) 8,16 (br s, 1 H) 8,39 (br d, J=4,4 Hz, 1 H) 9,14 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,14 phút, MH⁺ 606

Nhiệt độ nóng chảy: 140°C

Chất đồng phân đối ảnh 7A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,20 – 3,30 (m, 2 H) 3,69 – 3,86 (m, 5 H) 4,06 – 4,23 (m, 3 H) 4,40 – 4,50 (m, 1 H) 4,98 (br t, J=5,2 Hz, 1 H) 5,83 (br d, J=8,8 Hz, 1 H) 6,35 (br s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,82 – 6,89 (m, 2 H) 7,03 (br d, J=8,2 Hz, 1 H) 7,16 (s, 1 H) 7,37 (d, J=8,2 Hz, 1 H) 7,47 (br d, J=10,1 Hz, 1 H) 8,17 (s, 1 H) 8,39 (br d, J=6,3 Hz, 1 H) 9,14 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,27 phút, MH⁺ 606

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 2,89 phút, MH⁺ 606, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 166°C

Chất đồng phân đối ảnh 7B:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,18 – 3,30 (m, 2 H) 3,69 – 3,86 (m, 5 H) 4,07 – 4,22 (m, 3 H) 4,40 – 4,50 (m, 1 H) 4,97 (br t, J=5,2 Hz, 1 H) 5,83 (br d, J=8,8 Hz, 1 H) 6,35 (br s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,81 – 6,89 (m, 2 H) 7,03 (br d, J=8,2 Hz, 1 H) 7,16

(s, 1 H) 7,37 (d, J=8,2 Hz, 1 H) 7,47 (br d, J=10,1 Hz, 1 H) 8,17 (s, 1 H) 8,39 (br d, J=6,3 Hz, 1 H) 9,14 (s, 1 H)

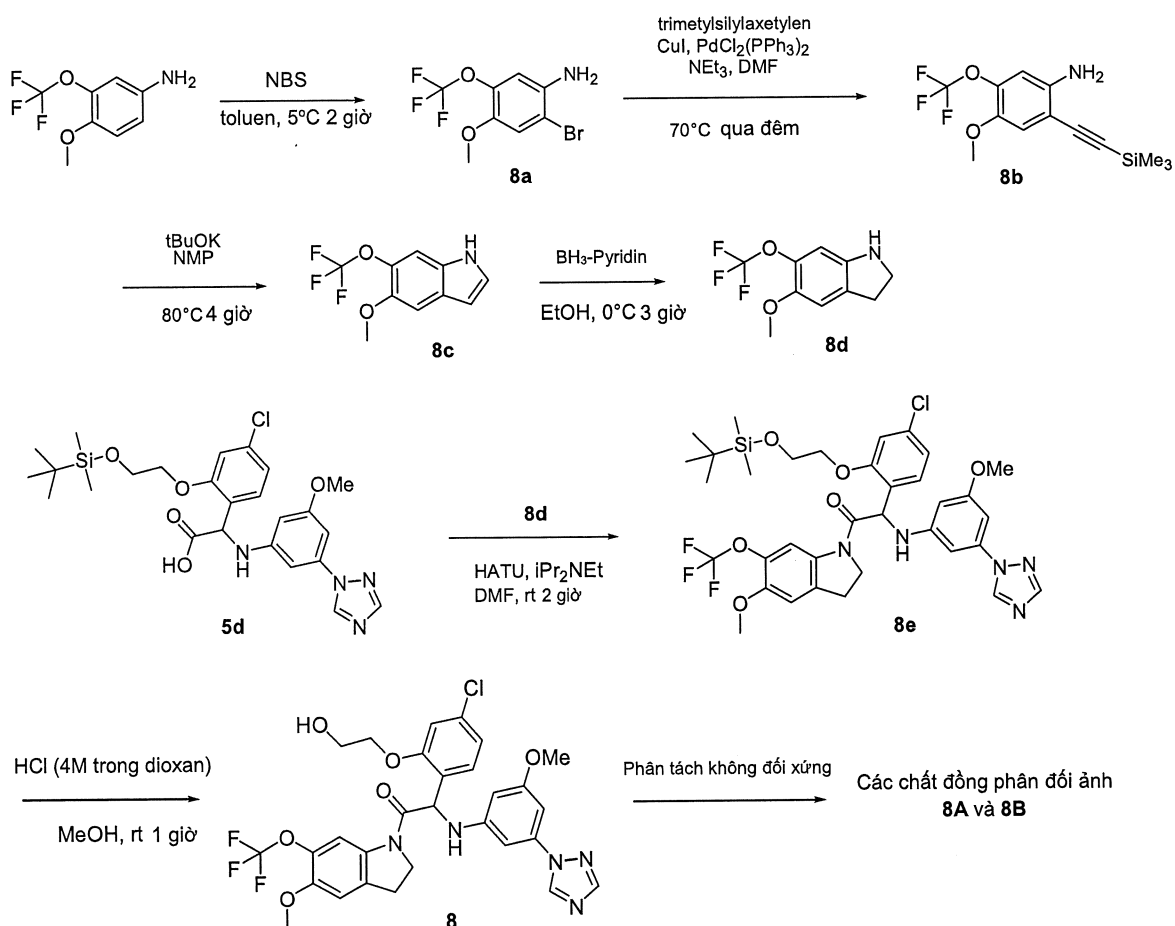
LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,27 phút, MH^+ 606

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 4,92 phút, MH^+ 606, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 100°C

Ví dụ 8: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxy-6-(triflomeoxy)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 8) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 8A và Chất đồng phân đối ảnh 8B.



Tổng hợp chất trung gian 8a:

Dung dịch của 4-metoxy-3-(triflometoxy)anilin [CAS 647855-21-8] (3,1 g, 15,0 mmol) trong toluen (50 mL) được xử lý bằng N-bromsuxinimit (2,8 g, 15,7 mmol) ở

5°C và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở 5-10°C trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước và được chiết tách bằng EtOAc. Các phần chiết gộp lại được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Việc tinh chế được thực hiện bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 24 g, gradien heptan/EtOAc từ 95/5 đến 90/10). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để thu được 2-brom-4-metoxi-5-(triflometoxy)anilin 8a (2,5 g).

Tổng hợp chất trung gian 8b:

Dung dịch của 2-brom-4-metoxi-5-(triflometoxy)anilin 8a (2,72 g, 9,51 mmol) trong DMF (30 mL) được loại bỏ khí bằng N_2 trong 15 phút. Diclo bis(triphenylphosphin)paladi(II) (667 mg, 0,95 mmol), đồng(I) iodua (362 mg, 1,90 mmol), trietylamin (3,96 mL, 28,53 mmol) và trimetylsilylaxetylen (3,95 mL, 28,5 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 70°C trong 12 giờ trong dòng khí N_2 . Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H_2O và được chiết tách bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 80 g, heptan/EtOAc 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để thu được 4-metoxi-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin 8b (1,4 g).

Tổng hợp chất trung gian 8c:

$t\text{BuOK}$ (1,33 g, 11,9 mmol) được thêm toàn bộ vào dung dịch của 4-metoxi-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin 8b (1,2 g, 3,96 mmol) trong NMP (11 mL) trong dòng khí N_2 . Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 80°C trong 4 giờ, được đổ vào đá/nước và được axit hoá bằng HCl 3N đến độ pH = 4-5. Hỗn hợp phản ứng được chiết tách bằng EtOAc. Các pha hữu cơ được gộp lại, được rửa bằng H_2O , được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 40 g, heptan/EtOAc 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để thu được 5-metoxi-6-(triflometoxy)-1H-indol 8c (490 mg).

Tổng hợp chất trung gian 8d:

Ở 0°C, BH_3 -Pyridin (10,5 mL, 103,8 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 5-metoxi-6-(triflometoxy)-1H-indol 8c (8 g, 34,6 mmol) trong EtOH (45 mL). HCl

6N (6 mL) được thêm nhỏ giọt trong khi duy trì nhiệt độ thấp hơn 10°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 3 giờ. Nước (210 mL) được thêm vào và hỗn hợp này được bazơ hoá đến độ pH = 8-9 bằng dung dịch đặc của NaOH trong nước (nhiệt độ của phản ứng được giữ thấp hơn 20°C). Hỗn hợp được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Toluene được thêm vào và dung dịch được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 5-metoxi-6-(triflometoxi)indolin 8d (7,5 g).

Tổng hợp chất trung gian 8e:

Hỗn hợp gồm 5-metoxi-6-(triflometoxi)indolin 8d (437 mg, 1,88 mmol), axit 2-(2-(2-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (1 g, 1,88 mmol), HATU (1,07 g, 2,81 mmol) và diisopropyletylamin (930 µL, 5,63 mmol) trong DMF (10 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Nguyên liệu dính tạo thành được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch của K₂CO₃ 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxi-6-(triflometoxi)indolin-1-yl)etanon 8e (1,5 g). Hợp chất được sử dụng như vậy tại bước phản ứng tiếp theo.

Tổng hợp Hợp chất 8 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 8A và Chất đồng phân đối ảnh 8B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (4,9 mL, 19,4 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxi-6-(triflometoxi)indolin-1-yl)etanon 8e (1,4 g, 1,94 mmol) trong MeOH (25 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 40 g, CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 98,4/1,5/0,1). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được, sau khi kết tinh từ CH₂Cl₂, 2-(4-

clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(5-metoxy-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 8 (850 mg) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 8 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® IC 5 μ m 250 x 30 mm, Pha động: CO₂ 60%, iPrOH 40%). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (410 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 8A (314 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (388 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 8B (300 mg).

Hợp chất 8:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,07 - 3,27 (m, 2 H) 3,70 - 3,85 (m, 8 H) 4,07 - 4,19 (m, 3 H) 4,35 - 4,45 (m, 1 H) 4,97 (t, J=5,6 Hz, 1 H) 5,80 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,63 - 6,67 (m, 1 H) 6,80 - 6,87 (m, 2 H) 7,02 (dd, J=8,1, 2,0 Hz, 1 H) 7,14 (d, J=2,0 Hz, 1 H) 7,20 (s, 1 H) 7,37 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 8,06 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,12 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,20 phút, MH⁺ 634

Nhiệt độ nóng chảy: 181°C

Chất đồng phân đối ảnh 8A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,09 - 3,26 (m, 2 H) 3,70 - 3,85 (m, 8 H) 4,08 - 4,20 (m, 3 H) 4,40 (td, J=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 4,99 (br t, J=5,4 Hz, 1 H) 5,81 (d, J=8,5 Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,83 (s, 1 H) 6,86 (d, J=8,8 Hz, 1 H) 7,03 (dd, J=8,2, 1,3 Hz, 1 H) 7,15 (d, J=1,6 Hz, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,38 (d, J=8,2 Hz, 1 H) 8,07 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,09 phút, MH⁺ 634

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-E): R_t 3,39 phút, MH⁺ 634, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 8B:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,09 - 3,27 (m, 2 H) 3,70 - 3,85 (m, 8 H) 4,06 - 4,19 (m, 3 H) 4,40 (td, J=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 4,99 (br t, J=5,2 Hz, 1 H) 5,81 (d,

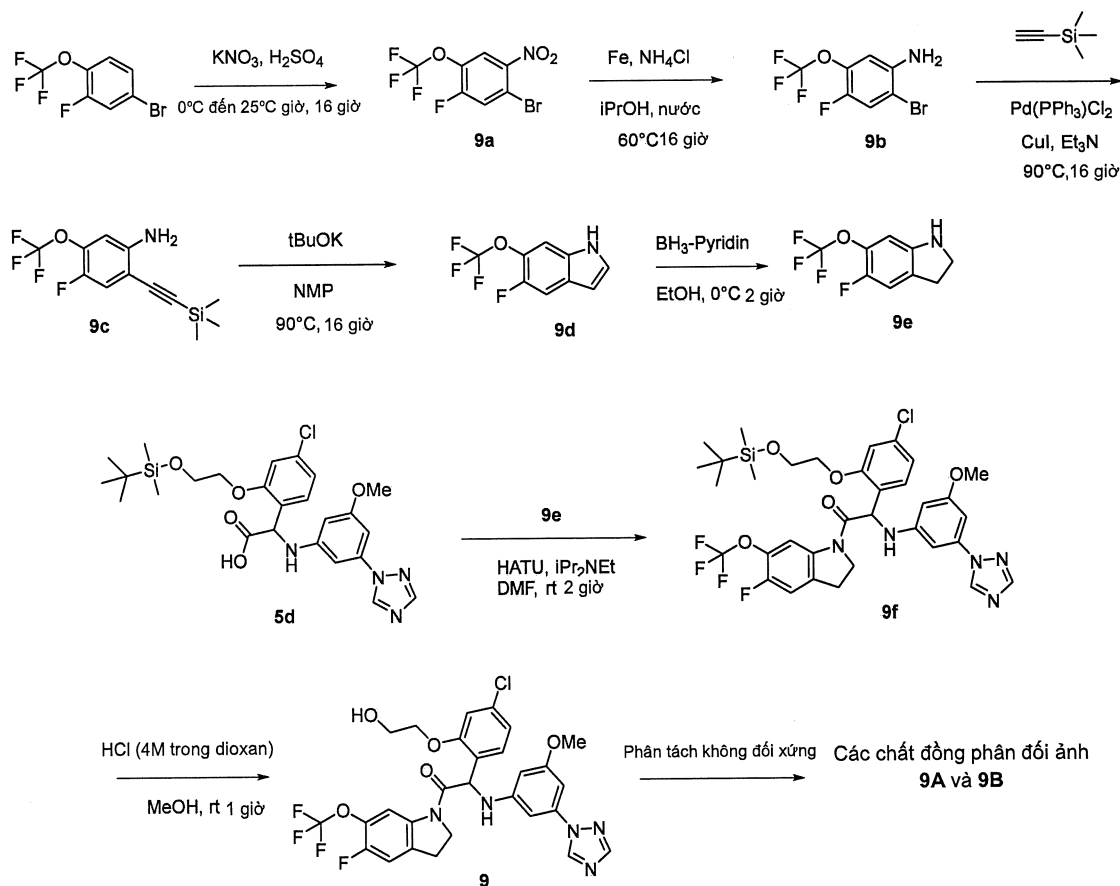
$J=8,5$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,83 (s, 1 H) 6,86 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 7,03 (dd, $J=8,2$, 1,6 Hz, 1 H) 7,15 (d, $J=1,6$ Hz, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,38 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 8,07 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,07 phút, MH^+ 634

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-E): R_t 5,69 phút, MH^+ 634, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 9: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-flo-6-(triflo metoxy)indolin-1-yl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon (Hợp chất 9) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 9A và Chất đồng phân đối ảnh 9B.



Tổng hợp chất trung gian 9a:

Dung dịch của 4-brom-2-flo-1-(triflo metoxy)benzen [CAS 105529-58-6] (98,7 g, 381,1 mmol) trong H_2SO_4 đặc (98%, 200 mL), được làm lạnh xuống $0^\circ C$ bằng bể đá. KNO_3 (43,0 g, 425,3 mmol) được thêm từng phần. Sau khi thêm, bể đá được loại bỏ và

hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đổ vào đá lạnh-nước (2 L) khi đang khuấy. Hỗn hợp được chiết tách bằng CH_2Cl_2 (3x 500 mL). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hoà (2x 500 mL), nước muối (500 mL), được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 1-brom-5-flo-2-nitro-4-(triflometoxy)benzen 9a (117,2 g), được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 9b:

Bột sắt khử (64,3 g, 1,15 mol) được thêm vào huyền phù khuấy của 1-brom-5-flo-2-nitro-4-(triflometoxy)benzen 9a (70,0 g, 230 mmol) và NH_4Cl (123,2 g, 2,30 mol) trong $i\text{PrOH}$ (1 L) và nước (330 mL) trong môi trường N_2 . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 60°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (1 L) và được lọc qua Celite®. Phần lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được phân đoạn giữa EtOAc (1 L) và nước (800 mL). Các lớp được tách ra và pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (1 L), được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách chưng cất trong điều kiện áp suất giảm (bơm dầu, nhiệt độ nóng chảy $60\sim 64^\circ\text{C}$). 2-Brom-4-flo-5-(triflometoxy)anilin 9b (47,3 g) thu được là dầu màu vàng.

Tổng hợp chất trung gian 9c:

CuI (1,28 g, 6,72 mmol) và $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (2,40 g, 3,42 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm 2-brom-4-flo-5-(triflometoxy)anilin 9b (18,4 g, 67,2 mmol), ethynyl(trimetyl)silan (19,9 g, 202,4 mmol, 28,00 mL) trong Et_3N (300 mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt trong môi trường N_2 ở 90°C trong 16 giờ. Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn hợp được pha loãng bằng MTBE (300 mL) và được lọc qua Celite®. Phần lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (ISCO®, 220 g SepaFlash® Silica Flash Column, chất rửa giải: gradien EtOAc từ 0 đến 5% trong ete dầu mỏ ở tốc độ 100 mL/phút). 4-Flo-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin 9c (16,1 g, độ tinh khiết 90%) thu được là dầu màu nâu.

Tổng hợp chất trung gian 9d:

Hỗn hợp gồm 4-flo-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin 9c (16,1 g, 55,3 mmol) và $t\text{BuOK}$ (18,6 g, 165,8 mmol) trong NMP (220,00 mL) được gia nhiệt ở 90°C trong 16 giờ trong môi trường N_2 . Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn

hợp phản ứng được đổ vào đá lạnh-nước (1 L) và được chiết tách bằng MTBE (3x 300 mL). Các pha hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước (2x 200 mL), nước muối (300 mL), được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (ISCO®, 120 g SepaFlash® Silica Flash Column, chất rửa giải: gradien EtOAc từ 0 đến 5% trong ete dầu mỏ ở tốc độ 85 mL/phút) để thu được sản phẩm 5-flo-6-(triflometoxy)-1H-indol 9d (11 g) là dầu màu xanh lục đậm. Phần cặn được gộp với một phân đoạn khác (tổng lượng = 17,2 g) và được tinh chế tiếp bằng cách chưng cất trong điều kiện áp suất giảm (bơm dầu, nhiệt độ nóng chảy 60~64°C) để tạo ra 5-flo-6-(triflometoxy)-1H-indol 9d (14,7 g, độ tinh khiết 95%) là dầu không màu.

Tổng hợp chất trung gian 9e:

Ở 0°C, BH_3 -Pyridin (13,8 mL, 136,9 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 5-flo-6-(triflometoxy)-1H-indol 9d (6 g, 27,4 mmol) trong EtOH (40 mL). HCl 6N (90 mL) được thêm nhỏ giọt trong khi duy trì nhiệt độ thấp hơn 10°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Nước (100 mL) được thêm vào và hỗn hợp này được bazơ hoá đến độ pH = 8-9 bằng dung dịch đặc của NaOH trong nước (nhiệt độ của phản ứng được giữ thấp hơn 20°C). Hỗn hợp được chiết tách bằng CH_2Cl_2 . Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Toluene được thêm vào và dung dịch được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 5,52 g 5-flo-6-(triflometoxy)indolin 9e. Hợp chất được sử dụng tại bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 9f:

Hỗn hợp gồm 5-flo-6-(triflometoxy)indolin 9e (169 mg, 0,76 mmol), axit 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (407 mg, 0,76 mmol), HATU (435 mg, 1,15 mmol) và diisopropyletylamin (379 μL , 2,29 mmol) trong DMF (3,9 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Nguyên liệu dính tạo thành được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch của K_2CO_3 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 24 g, heptan/EtOAc 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi

được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon 9f (257 mg).

Tổng hợp Hợp chất 9 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 9A và Chất đồng phân đối ảnh 9B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (873 µL, 3,49 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-1-(5-flo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon 9f (257 mg, 0,35 mmol) trong MeOH (4 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 12 g, CH₂Cl₂/MeOH 98,5/1,5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-1-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)etanon 9 (210 mg) ở dạng raxemat. Một phân đoạn nhỏ (17 mg) được tinh chế tiếp qua kỹ thuật sắc ký đảo pha (Pha tĩnh: YMC-actus Triart-C18 10 µm 30 x 150 mm, Pha động: Gradient từ 50% NH₄HCO₃ 0,2%, 50% CH₃CN đến 0% NH₄HCO₃ 0,2%, 100% CH₃CN) để thu được 7 mg. Phần cặn được hoá rắn bằng cách làm khô-đông lạnh từ hỗn hợp dung môi gồm CH₃CN (1 mL) và nước (4 mL).

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 9 (190 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, Pha động: 65% CO₂, 35% EtOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (58 mg) được hoà tan trong CH₃CN (2 mL), nước (8 mL) được thêm vào và hỗn hợp được làm khô-đông lạnh để thu được Chất đồng phân đối ảnh 9A (58 mg) ở dạng bột. Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (59 mg) được hoà tan trong CH₃CN (2 mL), nước (8 mL) được thêm vào và hỗn hợp được làm khô-đông lạnh để thu được Chất đồng phân đối ảnh 9B (59 mg) ở dạng bột.

Hợp chất 9:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,13 - 3,30 (m, 2 H) 3,72 (s, 3H) 3,70 -

3,80 (m, 2 H) 4,06 - 4,22 (m, 3 H) 4,42 (td, $J=10,4$, 6,3 Hz, 1 H) 4,97 (br s, 1 H) 5,82 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,66 (t, $J=1,9$ Hz, 1 H) 6,82 (s, 1 H) 6,87 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 7,03 (dd, $J=8,2$, 1,9 Hz, 1 H) 7,15 (d, $J=2,2$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 7,45 (d, $J=9,8$ Hz, 1 H) 8,14 - 8,18 (m, 2 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 3,32 phút, MH^+ 622

Chất đồng phân đối ảnh 9A:

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

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,17 phút, MH^+ 622

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 2,75 phút, MH^+ 622, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 9B:

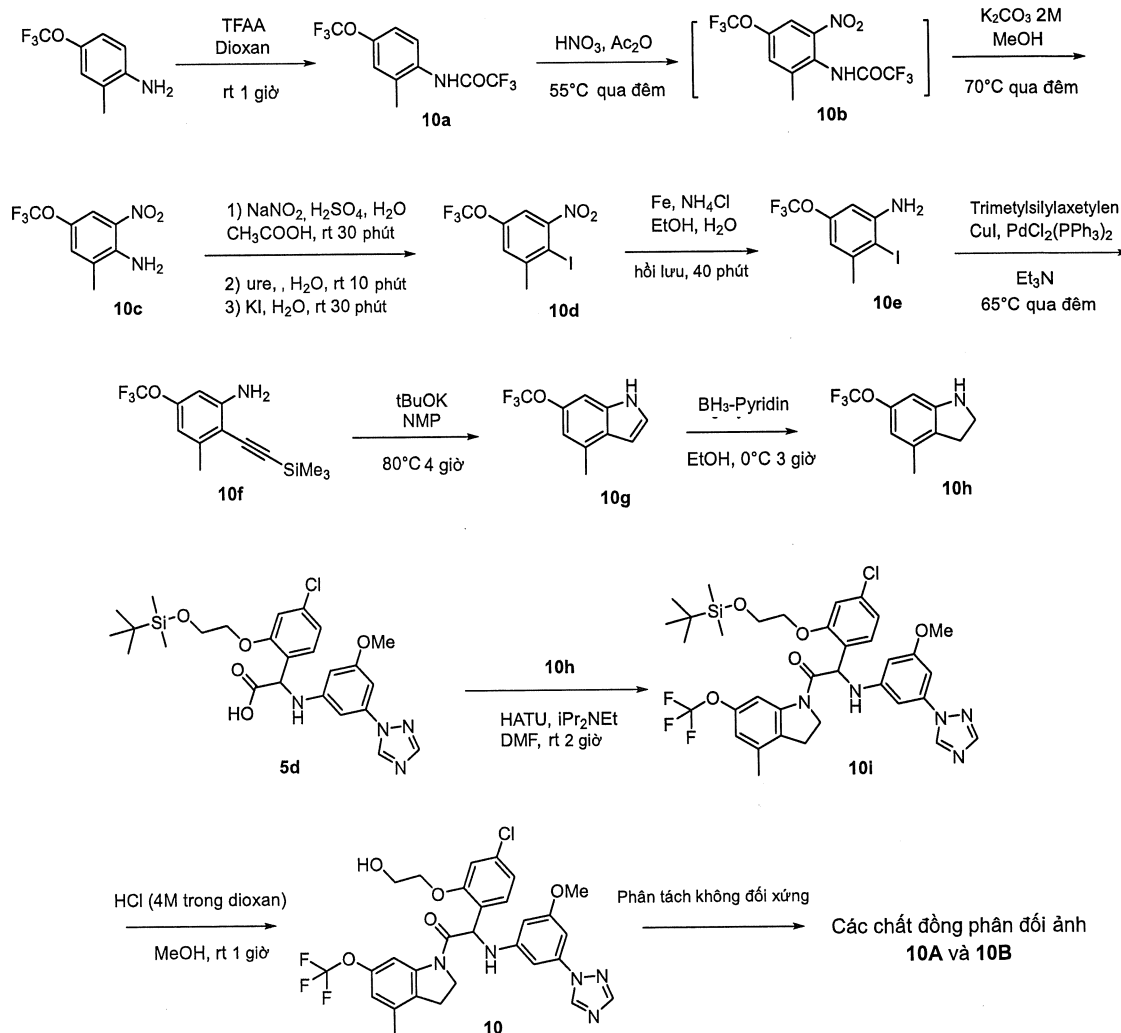
1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,12 - 3,28 (m, 2 H) 3,72 (s, 3H) 3,69 - 3,82 (m, 2 H) 3,99 - 4,22 (m, 3 H) 4,42 (td, $J=10,0$, 6,8 Hz, 1 H) 4,96 (t, $J=5,3$ Hz, 1 H) 5,81 (d, $J=9,1$ Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,66 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,80 - 6,88 (m, 2 H) 7,02 (dd, $J=8,1$, 2,0 Hz, 1 H) 7,15 (d, $J=2,0$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

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,17 phút, MH^+ 622

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 3,75 phút, MH^+ 622, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 10: Tổng hợp 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(4-metyl-6-(triflomeoxy)indolin-1-yl)etanon (Hợp chất 10) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 10A và Chất đồng phân đối ảnh 10B.



Tổng hợp chất trung gian 10a:

Trifloaxetic anhydrit (8 mL, 57,2 mmol) được thêm vào dung dịch của 2-metyl-4-(triflometoxy)anilin [CAS 86256-59-9] (10,0 g, 52,3 mmol) trong dioxan (20 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được phân đoạn giữa EtOAc và HCl 1N. Các pha được tách ra. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch bão hòa của NaHCO₃ trong nước, H₂O và nước muối, được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 14,7 g 2,2,2-triflo-N-(2-metyl-4-(triflometoxy)phenyl)axetamit 10a là bột màu trắng. Hợp chất được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 10c:

Axit nitric 70% (3,9 mL) được thêm nhỏ giọt vào axetic anhydrit (11,4 mL, 61,1 mmol), được làm lạnh ở 0°C. 2,2,2-Triflo-N-(2-metyl-4-(triflometoxy)phenyl)-axetamit

10a (5 g, 17,4 mmol) được thêm từng phần và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 55°C trong 12 giờ. Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng H₂O. Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hoà tan trong metanol (46 mL). K₂CO₃ 2M (23 mL, 46 mmol) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 70°C trong 4 giờ. K₂CO₃ 2M (10 mL, 20 mmol) được thêm tiếp vào và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 70°C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô một phần trong điều kiện áp suất giảm để loại bỏ metanol. Phần cặn được chiết tách bằng EtOAc. Pha hữu cơ được rửa bằng H₂O và nước muối, được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel sử dụng gradien của EtOAc (từ 20% đến 50%) trong heptan để thu được 3,6 g 2-metyl-6-nitro-4-(triflometoxy)anilin 10c là chất rắn màu vàng.

Tổng hợp chất trung gian 10d:

Dung dịch của natri nitrit (0,806 g, 11,7 mmol) trong H₂SO₄/H₂O (2 mL, 1/1) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-metyl-6-nitro-4-(triflometoxy)anilin 10c (1,8 g, 7,69 mmol) trong axit axetic (10,9 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. H₂O (22 mL) và ure (0,802 g, 13,4 mmol) được thêm vào. Sau 10 phút ở nhiệt độ phòng, dung dịch của kali iodua (1,7 g, 10,2 mmol) trong H₂O (11 mL) được thêm nhỏ giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Chất rắn màu vàng được lọc bỏ, được rửa bằng H₂O và được làm khô để thu được 2,4 g 2-iodo-1-metyl-3-nitro-5-(triflometoxy)benzen 10d.

Tổng hợp chất trung gian 10e:

Dung dịch của NH₄Cl (2,7 g, 49,9 mmol) trong H₂O (30 mL) được thêm vào dung dịch của 2-iodo-1-metyl-3-nitro-5-(triflometoxy)benzen 10d (3,5 g, 10,0 mmol) trong EtOH (30 mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 50°C. Sắt (2,6 g, 46,9 mmol) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt trong điều kiện hồi lưu trong 40 phút. Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được lọc qua celite®. Chất rắn được rửa bằng EtOH. Phần lọc được cô một phần trong điều kiện áp suất giảm để loại bỏ EtOH. Phần cặn được phân đoạn giữa EtOAc và dung dịch bão hoà của NaHCO₃ trong nước. Các pha được tách ra. Pha hữu cơ được rửa bằng H₂O và nước muối, được

làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel sử dụng gradien của EtOAc (từ 0% đến 25%) trong heptan để thu được 2,9 g 2-iodo-3-metyl-5-(triflometoxy)anilin 10e là dầu màu vàng.

Tổng hợp chất trung gian 10f:

Dung dịch của 2-iodo-3-metyl-5-(triflometoxy)anilin 10e (2,9 g, 9,1 mmol) trong triethylamin (23 mL) được loại bỏ khí bằng argon trong 15 phút. Diclobis(triphenylphosphin)paladi(II) (0,327 g, 0,47 mmol), đồng(I) iodua (0,164 g, 0,86 mmol) và trimetylsilylaxetylen (1,8 mL, 13,1 mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 65°C trong 12 giờ. Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H_2O và được chiết tách bằng EtOAc (3x). Các pha hữu cơ được gộp lại, được rửa bằng H_2O và nước muối, được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel sử dụng gradien của EtOAc (từ 0% đến 20%) trong heptan để thu được 2,6 g 3-metyl-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin 10f là dầu màu cam.

Tổng hợp chất trung gian 10g:

tBuOK (3,1 g, 27,8 mmol) được thêm vào dung dịch của 3-metyl-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin 10f (2,7 g, 9,3 mmol) trong NMP (27 mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 80°C trong 4 giờ. Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng H_2O và được chiết tách bằng EtOAc (2x). Các pha hữu cơ được gộp lại, được rửa bằng H_2O và nước muối, được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel sử dụng gradien của EtOAc (từ 0% đến 20%) trong heptan để thu được 1,7 g 4-metyl-6-(triflometoxy)-1H-indol 10g là dầu màu cam.

Tổng hợp chất trung gian 10h:

Ở 0°C , BH_3 -Pyridin (1,2 mL, 11,6 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 4-metyl-6-(triflometoxy)-1H-indol 10g (0,5 g, 2,32 mmol) trong EtOH (3 mL). HCl 6N (6 mL) được thêm nhỏ giọt chậm trong khi duy trì nhiệt độ của phản ứng thấp hơn 10°C . Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 3 giờ. Nước (12 mL) được thêm vào và hỗn hợp được bazơ hoá đến độ pH = 8-9 bằng dung dịch đặc của NaOH trong nước (nhiệt

độ của phản ứng được giữ thấp hơn 20°C). Hỗn hợp được chiết tách bằng EtOAc. Lóp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Toluene được thêm vào và dung dịch được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 450 mg 4-metyl-6-(triflometoxy)indolin 10h.

Tổng hợp chất trung gian 10i:

Hỗn hợp gồm 4-metyl-6-(triflometoxy)indolin 10h (163 mg, 0,75 mmol), axit 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 5d (400 mg, 0,75 mmol), HATU (428 mg, 1,13 mmol) và diisopropyletylamin (372 µL, 2,25 mmol) trong DMF (3,8 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Nguyên liệu dính tạo thành được hấp thụ bằng EtOAc. Lóp hữu cơ được rửa bằng dung dịch của K₂CO₃ 10% trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 24 g, gradien heptan/EtOAc từ 80/20 đến 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 10i (226 mg).

Tổng hợp Hợp chất 10 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 10A và Chất đồng phân đối ảnh 10B:

Trong dòng khí N₂, ở 5°C, HCl 4M trong dioxan (772 µL, 3,1 mmol) được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của 2-(2-(2-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)etoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 10i (226 mg, 0,31 mmol) trong MeOH (4 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, được bazơ hoá bằng dung dịch nước 10% của K₂CO₃ và được chiết tách bằng EtOAc. Lóp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 12 g, CH₂Cl₂/MeOH 98,5/1,5). Bước tinh chế thứ hai được thực hiện qua kỹ thuật sắc ký đảo pha (Pha tĩnh: YMC-actus Triart-C18 10 µm 30 x 150 mm, Pha động: Gradien từ 55% NH₄HCO₃ 0,2%, 45% CH₃CN đến 0% NH₄HCO₃ 0,2%, 100% CH₃CN). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều

kiện áp suất giảm để thu được 2-(4-clo-2-(2-hydroxyetoxy)phenyl)-2-((3-metoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-1-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon 10 (78 mg) ở dạng raxemat. Một phân đoạn nhỏ được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với CH₃CN/ete diisopropyl để tạo ra Hợp chất 10 (9 mg). Lượng còn lại được sử dụng để tách chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 10 qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, Pha động: 60% CO₂, 40% iPrOH). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (27 mg) được hoà tan trong CH₃CN (2 mL), nước (8 mL) được thêm vào và hỗn hợp được làm khô-đông lạnh để thu được Chất đồng phân đối ảnh 10A (25 mg) ở dạng bột. Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (28 mg) được hoà tan trong CH₃CN (2 mL), nước (8 mL) được thêm vào và hỗn hợp được làm khô-đông lạnh để thu được Chất đồng phân đối ảnh 10B (22 mg) ở dạng bột.

Hợp chất 10:

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

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,26 phút, MH⁺ 618

Chất đồng phân đối ảnh 10A:

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

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,26 phút, MH⁺ 618

[α]_D²⁰: -38,4° (c 0,279, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 1,41 phút, MH⁺ 618, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 10B:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,00 - 3,14 (m, 2 H) 3,72 (s,

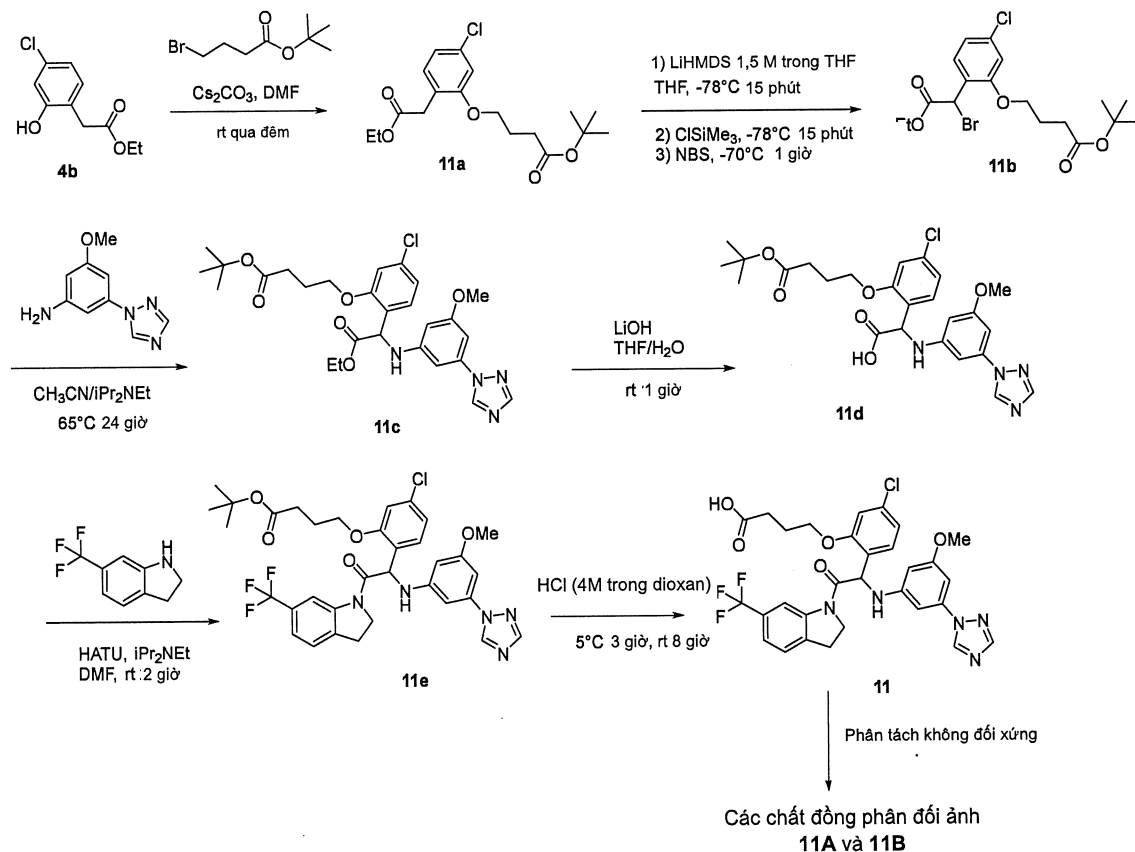
3H) 3,71 - 3,82 (m, 2 H) 4,06 - 4,23 (m, 3 H) 4,44 (td, $J=10,1, 6,9$ Hz, 1 H) 4,95 - 5,02 (m, 1 H) 5,82 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,66 (t, $J=1,7$ Hz, 1 H) 6,82 - 6,90 (m, 3 H) 7,02 (dd, $J=8,5, 1,9$ Hz, 1 H) 7,15 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,36 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 3,26 phút, MH^+ 618

$[\alpha]_D^{20}$: +37,5° (c 0,299, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 1,82 phút, MH^+ 618, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 11: Tổng hợp axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)butanoic (Hợp chất 11) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 11A và Chất đồng phân đối ảnh 11B.



Tổng hợp chất trung gian 11a:

Tert-butyl 4-brombutanoat [CAS 110611-91-1] (7 mL, 39,6 mmol) được thêm nhỏ giọt vào huyền phù của ethyl 2-(4-clo-2-hydroxyphenyl)axetat 4b (8,5 g, 39,6 mmol) và Cs_2CO_3 (25,8 g, 79,2 mmol) trong DMF (130 mL) ở $10^\circ C$. Hỗn hợp này được khuấy

ở nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc và nước. Các lớp được chất gạn. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 120 g, heptan/EtOAc 90/10). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để thu được tert-butyl 4-(5-clo-2-(2-etoxy-2-oxoethyl)phenoxy)butanoat 11a (12,7 g).

Tổng hợp chất trung gian 11b:

Bình thốt cổ được nạp vào LiHMDS 1,5 M trong THF (23,5 mL, 35,3 mmol) trong dòng khí N_2 và dung dịch được làm lạnh xuống -78°C . Dung dịch của tert-butyl 4-(5-clo-2-(2-etoxy-2-oxoethyl)phenoxy)butanoat 11a (6,3 g, 17,6 mmol) trong THF (60 mL) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp được khuấy ở -78°C trong 15 phút. Clotrimetylsilan (3,6 mL, 28,3 mmol) được thêm vào. Sau 15 phút ở -78°C , N-Bromsuxinimit (3,77 g, 21,2 mmol) trong THF (40 mL) được thêm vào và hỗn hợp được khuấy ở -70°C trong 1 giờ. Phản ứng được dập bằng nước và được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được tert-butyl 4-(2-(1-brom-2-etoxy-2-oxoethyl)-5-clophenoxy)butanoat 11b (7,6 g). Hợp chất được sử dụng trực tiếp tại bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 11c:

Diisopropyletylamin (4,8 mL, 27,9 mmol) và 3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilin [CAS 1220630-56-7] (4 g, 20,9 mmol) được thêm vào dung dịch của tert-butyl 4-(2-(1-brom-2-etoxy-2-oxoethyl)-5-clophenoxy)butanoat 11b (7,6 g, 17,4 mmol) trong CH_3CN (140 mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp này được khuấy ở 65°C trong 24 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc, được rửa bằng HCl 0,5N (hai lần) và nước. Lớp hữu cơ được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 120 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để thu được tert-butyl 4-(5-clo-2-(2-etoxy-1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxoethyl)phenoxy)butanoat 11c (6,6 g).

Tổng hợp chất trung gian 11d:

Hỗn hợp gồm tert-butyl 4-(5-clo-2-(2-etoxy-1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-

yl)phenyl)amino)-2-oxoethyl)phenoxy)butanoat 11c (6,6 g, 12,1 mmol) và lithi hydroxit monohydrat (1,52 g, 36,3 mmol) trong THF/nước (1/1) (160 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Dung dịch nước được axit hoá chậm bằng HCl 3N và được chiết tách bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được axit 2-(2-(4-(tert-butoxy)-4-oxobutoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 11d (6,2 g). Sản phẩm thô được sử dụng mà không cần tinh chế thêm tại bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 11e:

Hỗn hợp gồm 6-(triflometyl)indolin [CAS 181513-29-1] (290 mg, 1,55 mmol), axit 2-(2-(4-(tert-butoxy)-4-oxobutoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 11d (800 mg, 1,55 mmol), HATU (880 mg, 2,32 mmol) và diisopropyletylamin (770 µL, 4,64 mmol) trong DMF (30 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được kết tinh từ ete diisopropyl để thu được tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)butanoat 11e (500 mg).

Tổng hợp Hợp chất 11 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 11A và Chất đồng phân đối ảnh 11B:

Dung dịch của tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)butanoat 11e (500 mg, 0,729 mmol) trong HCl 4M trong dioxan (5 mL) được khuấy ở 5°C trong 3 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 8 giờ. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng dioxan/ete diisopropyl và được làm khô để thu được axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometyl)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)butanoic 11 (430 mg, 0,4 H₂O (được xác định bằng kỹ thuật chuẩn độ)) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 11 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, Pha động: 65% CO₂, 35% EtOH). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (80 mg) được hoá rắn bằng kỹ thuật chuẩn

độ bằng ete dầu mỏ/ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 11A (65 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (126 mg) được hoá rắn bằng kỹ thuật chuẩn độ bằng ete dầu mỏ/ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 11B (110 mg).

Hợp chất 11:

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

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,70 phút, MH^+ 630

Chất đồng phân đối ảnh 11A:

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

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,79 phút, MH^+ 630

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-G): R_t 3,31 phút, MH^+ 630, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 11B:

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

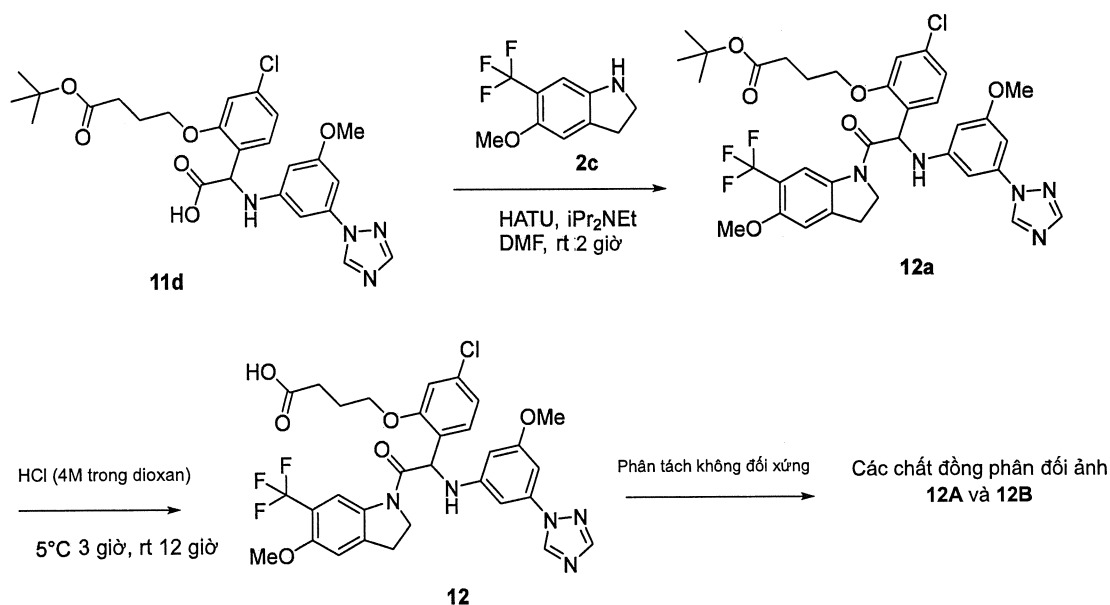
LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,79 phút, MH^+ 630

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-G): R_t 4,32 phút, MH^+ 630, độ tinh khiết

không đối xứng 100%.

Ví dụ 12: Tổng hợp axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(5-metoxi-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoic (Hợp chất 12) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 12A và Chất đồng phân đối ảnh 12B.



Tổng hợp chất trung gian 12a:

Hỗn hợp gồm 5-metoxi-6-(triflometyl)indolin 2c (630 mg, 2,9 mmol), axit 2-(2-(4-(tert-butoxy)-4-oxobutoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 11d (1,5 g, 2,9 mmol), HATU (1,65 g, 4,35 mmol) và diisopropyletylamin (1,45 mL, 8,7 mmol) trong DMF (30 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Dung dịch hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μ m, 120 g, heptan/EtOAc 60/40). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để thu được, sau khi kết tinh từ ete/ete diisopropyl, tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(5-metoxi-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoat 12a (1,45 g).

Tổng hợp Hợp chất 12 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 12A và Chất đồng phân đối ảnh 12B:

Dung dịch của tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(5-metoxo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoat 12a (1,45 g, 2,03 mmol) trong HCl 4M trong dioxan (12 mL) được khuấy ở 5°C trong 3 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng dioxan/ete diisopropyl và được làm khô để tạo ra Hợp chất thô 12 (1,02 g). Một phần nhỏ (90 mg) được tinh chế tiếp bằng SFC đối xứng (Pha tĩnh: 2-Etylpyridin 6 μ m 150 x 21,2 mm, Pha động: 60% CO₂, 40% iPrOH) để thu được, sau khi hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với CH₃CN/ete diisopropyl, axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(5-metoxo-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoic 12 (70 mg,) ở dạng raxemat. Lượng còn lại được sử dụng để tách chất đồng phân đối ảnh.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 12 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® AS-H 5 μ m 250 x 20 mm, Pha động: 63% CO₂, 37% iPrOH). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (458 mg) được khuấy trong hỗn hợp gồm HCl 1N và EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl/ete dầu mỏ để thu được Chất đồng phân đối ảnh 12A (270 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (405 mg) được khuấy trong hỗn hợp gồm HCl 1N và EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl/ete dầu mỏ để thu được Chất đồng phân đối ảnh 12B (272 mg).

Hợp chất 12:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,95 - 2,04 (m, 2 H) 2,31 - 2,45 (m, 2 H) 3,15 - 3,28 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,98 - 4,17 (m, 3 H) 4,33 - 4,41 (m, 1 H) 5,70 (br d, J=8,6 Hz, 1 H) 6,33 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,77 - 6,83 (m, 2 H) 7,01 (br d, J=8,6 Hz, 1 H) 7,12 (s, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,33 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 9,13 (s, 1 H) 12,07 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,72 phút, MH⁺ 660

Chất đồng phân đối ảnh 12A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,94 - 2,05 (m, 2 H) 2,31 - 2,46 (m, 2 H)

3,16 - 3,31 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 3,99 - 4,18 (m, 3 H) 4,38 (td, $J=10,2$, 6,5 Hz, 1 H) 5,71 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,82 (s, 1 H) 6,83 (d, $J=9,5$ Hz, 1 H) 7,02 (dd, $J=8,2$, 1,6 Hz, 1 H) 7,13 (s, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,33 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 8,34 (s, 1 H) 9,15 (s, 1 H) 12,11 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,70 phút, MH^+ 660

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-H): R_t 3,71 phút, MH^+ 660, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 12B:

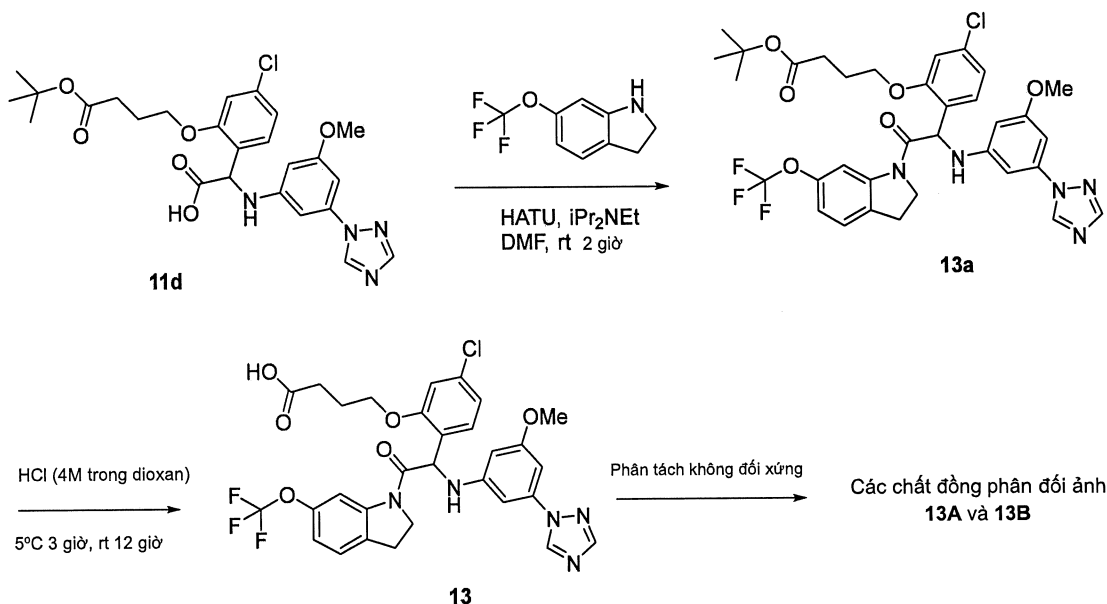
1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,91 - 2,08 (m, 2 H) 2,32 - 2,44 (m, 2 H) 3,16 - 3,31 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 3,99 - 4,17 (m, 3 H) 4,38 (td, $J=10,3$, 6,6 Hz, 1 H) 5,71 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,79 - 6,85 (m, 2 H) 7,02 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 7,13 (s, 1 H) 7,23 (s,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

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,70 phút, MH^+ 630

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-H): R_t 5,91 phút, MH^+ 660, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 13: Tổng hợp axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)butanoic (Hợp chất 13) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 13A và Chất đồng phân đối ảnh 13B.



Tổng hợp chất trung gian 13a:

Hỗn hợp gồm 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (590 mg, 2,9 mmol), axit 2-(2-(4-(tert-butoxy)-4-oxobutoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 11d (1,5 g, 2,9 mmol), HATU (1,65 g, 4,35 mmol) và diisopropyletylamin (1,45 mL, 8,7 mmol) trong DMF (60 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lốp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 120 g, heptan/EtOAc 60/40). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để thu được, sau khi kết tinh từ ete/ete diisopropyl, tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)-butanoat 13a (1,05 g).

Tổng hợp Hợp chất 13 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 13A và Chất đồng phân đối ảnh 13B:

Dung dịch của tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)butanoat 13a (1,05 g, 1,50 mmol) trong HCl 4M trong dioxan (9,5 mL) được khuấy ở 5°C trong 3 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng dioxan/ete diisopropyl và được làm khô để thu được axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-

triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)ethyl)phenoxy)
butanoic 13 (965 mg, 0,23 H₂O (được xác định bằng kỹ thuật chuẩn độ)) ở dạng raxemat.

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 13 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak[®] AD-H 5 μ m 250 x 20 mm, Pha động: 80% CO₂, 20% EtOH). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (390 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete dầu mỏ/ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 13A (260 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (350 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete dầu mỏ/ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 13B (188 mg).

Hợp chất 13:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,94 - 2,03 (m, 2 H) 2,33 - 2,41 (m, 2 H) 3,10 - 3,24 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,04 - 4,26 (m, 3 H) 4,39 (td, J=10,2, 6,5 Hz, 1 H) 5,71 (s, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,81 (s, 1 H) 6,99 - 7,07 (m, 2 H) 7,13 (d, J=1,6 Hz, 1 H) 7,27-7,39 (m, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 9,15 (s, 1 H) 12,08 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,73 phút, MH⁺ 646

Chất đồng phân đối ảnh 13A:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,93 - 2,03 (m, 2 H) 2,34 - 2,47 (m, 2 H) 3,13 - 3,21 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,03 - 4,17 (m, 3 H) 4,39 (td, J=10,1, 6,6 Hz, 1 H) 5,72 (d, J=8,5 Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,68 (s, 1 H) 6,82 (s, 1 H) 6,87 (d, J=8,2 Hz, 1 H) 7,02 (t, J=8,4 Hz, 1 H) 7,13 (s, 1 H) 7,27 - 7,39 (m, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 9,15 (s, 1 H) 12,10 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,83 phút, MH⁺ 646

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 4,96 phút, MH⁺ 646, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 13B:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,91 - 2,02 (m, 2 H) 2,33 - 2,41 (m, 2 H) 3,10 - 3,24 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,04 - 4,17 (m, 3 H) 4,39 (td, J=10,1, 6,6 Hz, 1 H) 5,72 (d, J=8,5 Hz, 1 H) 6,35 (s, 1 H) 6,68 (s, 1 H) 6,81 - 6,89 (m, 2 H) 6,99 - 7,05 (m, 2 H)

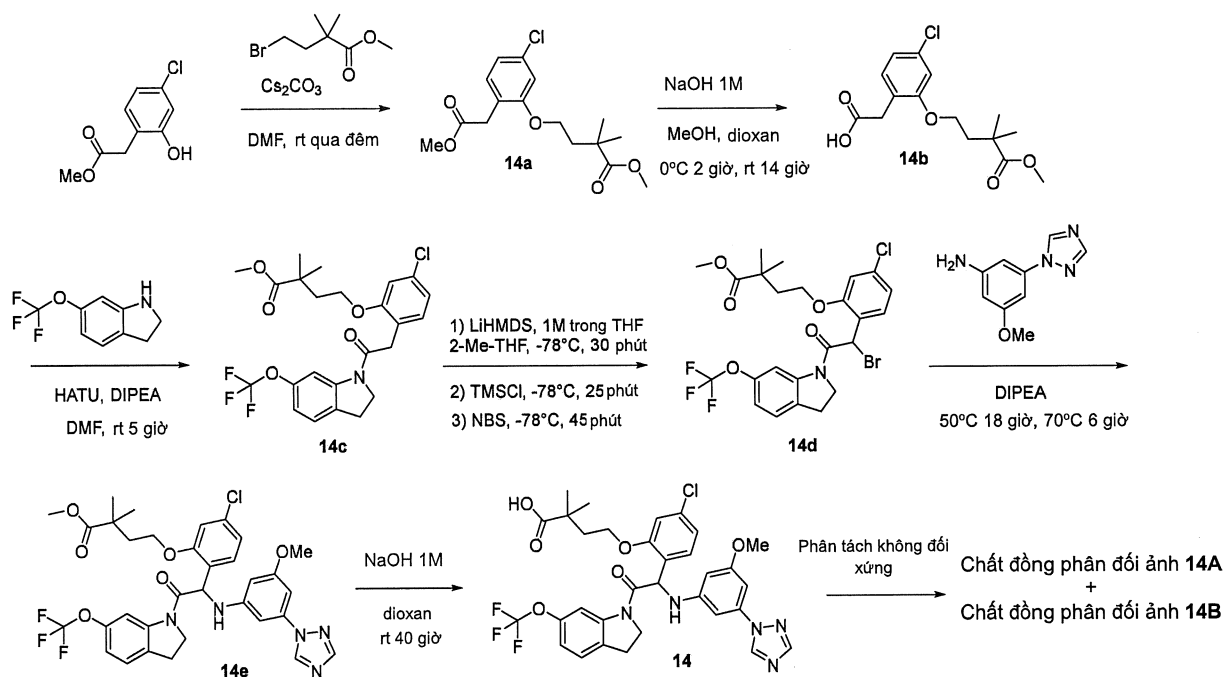
7,12 - 7,15 (m, 1 H) 7,27-7,40 (m, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 8,16 (s, 1 H) 9,16 (s, 1 H) 12,11 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,83 phút, MH^+ 646

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 6,56 phút, MH^+ 646, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Ví dụ 14: Tổng hợp axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoic (Hợp chất 14) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 14A và Chất đồng phân đối ảnh 14B.



Tổng hợp chất trung gian 14a:

Metyl 4-brom-2,2-dimetylbutanoat [CAS 4833-99-2] (1,09 g, 5,23 mmol) được thêm vào hỗn hợp gồm metyl 2-(4-clo-2-hydroxyphenyl)axetat [CAS 518979-09-4] (1 g, 4,99 mmol) và xesi cacbonat (3,25 g, 9,97 mmol) trong DMF (30 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 giờ. hỗn hợp phản ứng được đổ vào khuấy nước (150 mL) và sản phẩm được chiết tách (2x) bằng Et_2O . Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô qua $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm kết tinh khi để trong điều kiện nhiệt độ phòng.

Phần cặn rắn được khuấy lên trong 5 mL ete diisopropyl. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng ete diisopropyl, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 45°C để tạo ra metyl 4-(5-clo-2-(2-metoxo-2-oxoetyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoat 14a (0,897 g).

Tổng hợp chất trung gian 14b:

Dung dịch của metyl 4-(5-clo-2-(2-metoxo-2-oxoetyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoat 14a (0,897 g, 2,73 mmol) trong hỗn hợp dung môi của MeOH (10 mL) và dioxan (5 mL) được làm lạnh trên bề mặt đá. Ở 0°C, NaOH 1M (2,73 mL, 2,73 mmol) được thêm một cách cẩn thận. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 2 giờ, và ở nhiệt độ phòng trong 14 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đổ vào nước (50 mL), được khuấy trong 15 phút và để yên trong 30 phút. Phần đoạn rắn (chất trung gian không phản ứng 14a) được lọc bỏ, và được rửa (3x) bằng nước. Các phần lọc gộp lại được axit hoá bằng cách thêm nhỏ giọt HCl 1N (2,8 mL) khi đang khuấy. Sau 10 phút, kết tủa được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng nước, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 45°C để tạo ra axit 2-(4-clo-2-(4-metoxo-3,3-dimetyl-4-oxobutoxy)phenyl)axetic 14b (0,576 g).

Tổng hợp chất trung gian 14c:

HATU (1,07 g, 2,75 mmol) được thêm vào khuấy dung dịch của axit 2-(4-clo-2-(4-metoxo-3,3-dimetyl-4-oxobutoxy)phenyl)axetic 14b (576 mg, 1,83 mmol), 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (409 mg, 2,01 mmol) và diisopropyletylamin (907 μ L, 5,49 mmol) trong DMF (7,5 mL) trong môi trường N₂, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Nước (30 mL) được thêm vào, và sản phẩm được chiết tách (2x) bằng Et₂O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô qua MgSO₄, được lọc, và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (40 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc từ 100/0 đến 0/100. Các phần đoạn mong muốn được gộp lại và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời bằng toluen. Phần cặn được làm khô trong điều kiện chân không ở 45°C để tạo ra metyl 4-(5-clo-2-(2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoat 14c (790 mg) ở dạng bột.

Tổng hợp chất trung gian 14d:

Dung dịch của metyl 4-(5-clo-2-(2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoat

phenoxy)-2,2-dimethylbutanoat 14c (790 mg, 1,58 mmol) trong 2-Me-THF (30 mL) được khuấy trong dòng khí N₂ và được làm lạnh xuống -78°C. Dung dịch của lithi bis(trimethylsilyl)amit 1M trong THF (3,16 mL, 3,16 mmol) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở -78°C trong 30 phút. Clotrimethylsilan (323 µL, 2,53 mmol) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp được khuấy ở -78°C trong 25 phút. Dung dịch của N-bromosuccinimide (352 mg, 1,98 mmol) trong 2-Me-THF (7,5 mL) và THF (2,5 mL) được thêm nhỏ giọt và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78°C trong 45 phút. Dung dịch nước bão hòa của NH₄Cl (50 mL) được thêm chậm, và hỗn hợp tạo thành được khuấy mà không cần làm lạnh cho đến khi nhiệt độ đạt 0°C. Nước (10 mL) được thêm vào, và sau khi khuấy trong 30 phút thì tách các lớp. Lớp hữu cơ được làm khô qua MgSO₄, được lọc, được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời bằng CH₃CN để tạo ra methyl 4-(2-(1-brom-2-oxo-2-(6-(trifluoromethoxy)indolin-1-yl)ethyl)-5-clophenoxy)-2,2-dimethylbutanoat 14d (915 mg). Sản phẩm được sử dụng mà không cần tinh chế thêm tại bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 14e:

3-Methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)anilin [CAS 1220630-56-7] (301 mg, 1,58 mmol), và diisopropyletylamin (545 µL, 3,16 mmol) được thêm vào dung dịch khuấy của methyl 4-(2-(1-brom-2-oxo-2-(6-(trifluoromethoxy)indolin-1-yl)ethyl)-5-clophenoxy)-2,2-dimethylbutanoat 14d (915 mg, 1,58 mmol) trong CH₃CN (40 mL), trong môi trường N₂, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50°C trong 18 giờ và ở 70°C trong 6 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh xuống nhiệt độ phòng và được đổ vào H₂O đang khuấy (200 mL). Sản phẩm được chiết tách (2x) bằng Et₂O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô qua MgSO₄, được lọc, và được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (40 g) sử dụng gradien của heptan/EtOAc/EtOH nằm trong khoảng từ 100/0/0 đến 40/45/15. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và dung môi được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời bằng dioxan để tạo ra methyl 4-(5-clo-2-(1-((3-methoxy-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(trifluoromethoxy)indolin-1-yl)ethyl)phenoxy)-2,2-dimethylbutanoat 14e (1,09 g). Sản phẩm được sử dụng tại bước tiếp theo mà không cần tinh chế.

Tổng hợp Hợp chất 14 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 14A và Chất đồng phân đối ảnh 14B:

NaOH 1M (3,95 mL, 3,95 mmol) được thêm vào dung dịch đang khuấy của methyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflo metoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoat 14e (1,09 g, 1,58 mmol) trong dioxan (6,5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 40 giờ. Nước (21 mL) và HCl 1N (4,1 mL) được thêm vào và sau khi khuấy trong 10 phút, phần kết tủa được lọc bỏ, và được rửa (3x) bằng nước. Phần cặn rắn (0,9 g) được khuấy lên trong CH₂Cl₂ (7,5 mL) trong 45 phút, được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng CH₂Cl₂, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 45°C để tạo ra axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)phenoxy)-2,2-dimetylbutanoic racemic (Hợp chất 14, 590 mg).

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 14 (557 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak[®] Diacel AD 20 x 250 mm, Pha động: CO₂, EtOH + 0,4% iPrNH₂). Các phân đoạn chứa sản phẩm rửa giải thứ nhất được gộp lại, được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời bằng CH₃CN. Phần cặn được kết tinh từ Et₂O/heptan 3/1, được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng Et₂O, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 50°C để tạo ra Chất đồng phân đối ảnh 14A (96 mg). Các phân đoạn chứa sản phẩm rửa giải thứ hai được gộp lại, được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời bằng CH₃CN. Phần cặn được kết tinh từ Et₂O, được lọc bỏ, được rửa (3x) bằng Et₂O, và được làm khô trong điều kiện chân không ở 50°C để tạo ra Chất đồng phân đối ảnh 14B (35 mg + 106 mg (mẻ thứ hai)).

Hợp chất 14:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,11 (d, J=5,1 Hz, 6 H) 1,86 - 2,03 (m, 2 H) 3,09 - 3,28 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,01 - 4,18 (m, 3 H) 4,38 (td, J=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,69 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 6,33 (t, J=2,0 Hz, 1 H) 6,67 (t, J=1,9 Hz, 1 H) 6,79 - 6,86 (m, 2 H) 6,97 - 7,05 (m, 2 H) 7,18 (d, J=1,8 Hz, 1 H) 7,31 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 7,34 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 8,03 (br s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 12,25 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 1,12 phút, MH⁺ 674

Chất đồng phân đối ảnh 14A:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,11 (d, J=5,1 Hz, 6 H) 1,87 - 2,02 (m, 2 H) 3,09 - 3,26 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,02 - 4,18 (m, 3 H) 4,37 (td, J=10,2, 6,6 Hz, 1 H)

5,69 (d, J=8,8 Hz, 1 H) 6,33 (t, J=2,2 Hz, 1 H) 6,67 (t, J=1,8 Hz, 1 H) 6,79 - 6,86 (m, 2 H) 6,99 - 7,04 (m, 2 H) 7,18 (d, J=2,0 Hz, 1 H) 7,31 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 7,34 (d, J=8,4 Hz, 1 H) 8,03 (br s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 12,25 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,09 phút, MH^+ 674

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-K): R_t 3,63 phút, MH^+ 674, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 111°C

Chất đồng phân đối ảnh 14B:

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

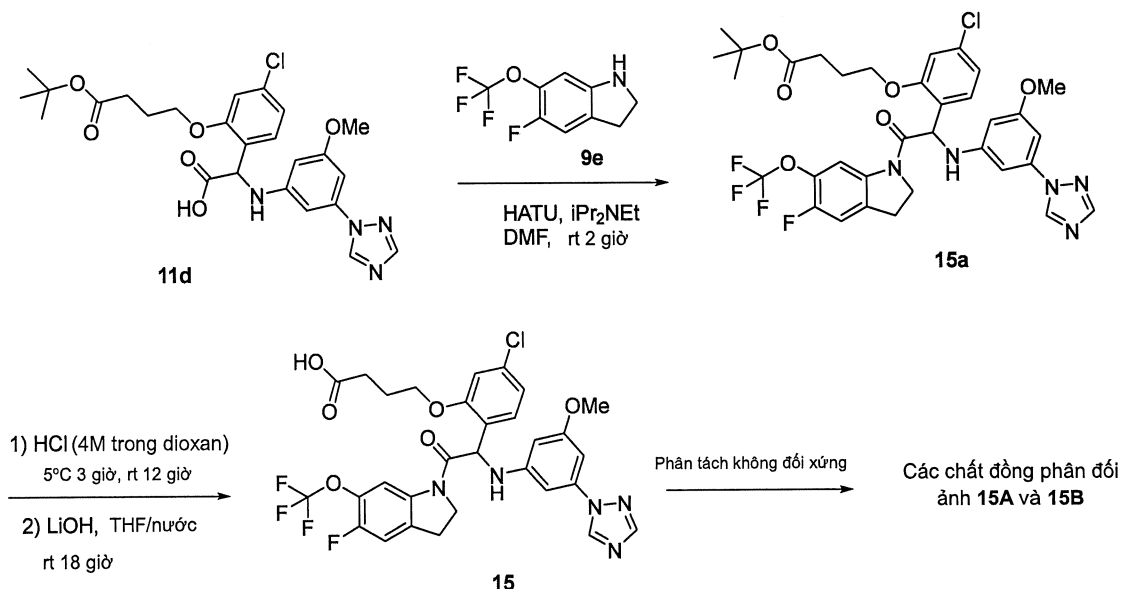
LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,08 phút, MH^+ 674

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-K): R_t 4,22 phút, MH^+ 674, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Nhiệt độ nóng chảy: 177°C

Ví dụ 15: Tổng hợp axit 4-(5-clo-2-(2-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoic (Hợp chất 15) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 15A và Chất đồng phân đối ảnh 15B.



Tổng hợp chất trung gian 15a:

Hỗn hợp gồm 5-flo-6-(triflometoxy)indolin 9e (321 mg, 1,45 mmol), axit 2-(2-(4-(tert-butoxy)-4-oxobutoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 11d (750 mg, 1,45 mmol), HATU (827 mg, 2,18 mmol) và diisopropyletylamin (719 mL, 4,35 mmol) trong DMF (30 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch 10% của K_2CO_3 trong nước, nước, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 μm , 40 g, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để thu được tert-butyl 4-(5-clo-2-(2-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxoethyl)phenoxy)butanoat 15a (1,05 g).

Tổng hợp Hợp chất 15 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 15A và Chất đồng phân đối ảnh 15B:

Dung dịch của tert-butyl 4-(5-clo-2-(2-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxoethyl)phenoxy)butanoat 15a (1,05 g, 1,46 mmol) trong HCl 4M trong dioxan (8 mL) được khuấy ở 5°C trong 3 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng dioxan/ete diisopropyl và được làm khô. Phần cặn (580 mg) được hoà tan trong THF (2,5 mL) và dung dịch của lithi hydroxit monohydrat (180 mg, 4,277 mmol) trong nước (2,5 mL)

được thêm nhỏ giọt. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Phản ứng được làm lạnh xuống 0°C và nước và đá được thêm vào. Độ pH được điều chỉnh đến 6 bằng cách thêm HCl 3N. Sản phẩm được chiết tách bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Một phân đoạn nhỏ của phần cặn được kết tinh từ CH₂Cl₂ để thu được axit 4-(5-clo-2-(2-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-oxoethyl)phenoxy)butanoic 15 (24 mg) ở dạng raxemat. Lượng còn lại được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (20-45 µm, 24 g, gradien CH₂Cl₂/MeOH từ 99,5/0,5 đến 90/10). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để tạo ra phân đoạn thứ hai của hợp chất 15 (382 mg).

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 15 (382 mg) được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, Pha động: 75% CO₂, 25% MeOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (178 mg) được hoá rắn bằng kỹ thuật chuẩn độ bằng heptan/ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 15A (140 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (187 mg) được hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với heptan/ete diisopropyl để thu được Chất đồng phân đối ảnh 15B (136 mg).

Hợp chất 15:

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,90 - 2,04 (m, 2 H) 2,28 - 2,46 (m, 2 H) 3,11 - 3,28 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,03 - 4,18 (m, 3 H) 4,33 - 4,42 (m, 1 H) 5,71 (d, J=8,8 Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,81 (s, 1 H) 6,87 (br d, J=8,8 Hz, 1 H) 7,02 (dd, J=8,2, 1,9 Hz, 1 H) 7,12 (s, 1 H) 7,31 (d, J=8,2 Hz, 1 H) 7,43 (d, J=9,8 Hz, 1 H) 8,12 - 8,20 (m, 2 H) 9,16 (s, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,72 phút, MH⁺ 664

Nhiệt độ nóng chảy: 188°C

Chất đồng phân đối ảnh 15A:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,88 - 2,12 (m, 2 H) 2,19 - 2,42 (m, 2 H) 2,96 - 3,24 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 3,89 - 4,16 (m, 3 H) 4,25 - 4,43 (m, 1 H) 5,72 (d, J=8,6 Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,66 (s, 1 H) 6,79 - 6,86 (m, 2 H) 7,01 (dd, J=8,3, 1,8 Hz, 1 H) 7,09 - 7,14 (m, 1 H) 7,32 (d, J=8,1 Hz, 1 H) 7,41 (d, J=9,6 Hz, 1 H) 8,12 - 8,17 (m, 2 H)

9,16 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,75 phút, MH^+ 664

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-J): R_t 2,66 phút, MH^+ 664, độ tinh khiết không đối xứng 99,69%.

Chất đồng phân đối ảnh 15B:

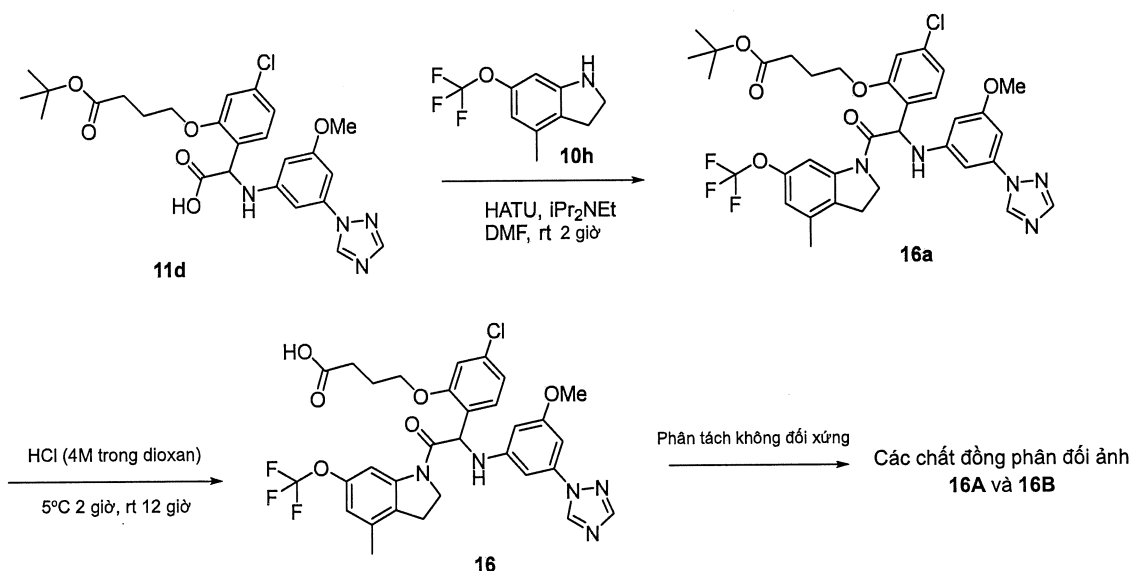
1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,88 - 2,04 (m, 2 H) 2,22 - 2,43 (m, 2 H) 3,12 - 3,40 (m, 2 H) 3,72 (s, 3H) 4,03 - 4,17 (m, 3 H) 4,33 - 4,43 (m, 1 H) 5,72 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,78 - 6,87 (m, 2 H) 7,01 (dd, $J=8,3, 1,8$ Hz, 1 H) 7,09 - 7,13 (m, 1 H) 7,32 (d, $J=8,1$ Hz,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

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,73 phút, MH^+ 664

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

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-J): R_t 3,53 phút, MH^+ 664, độ tinh khiết không đối xứng 98,93%.

Ví dụ 16: Tổng hợp axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxi-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoic (Hợp chất 16) và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 16A và Chất đồng phân đối ảnh 16B.



Tổng hợp chất trung gian 16a:

Hỗn hợp gồm 4-metyl-6-(triflometoxy)indolin 10h (336 mg, 1,55 mmol), axit 2-(2-(4-(tert-butoxy)-4-oxobutoxy)-4-clophenyl)-2-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)axetic 11d (800 mg, 1,55 mmol), HATU (883 mg, 2,32 mmol) và diisopropyletylamin (767 mL, 4,64 mmol) trong DMF (30 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng nước. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng nước và được hấp thụ bằng EtOAc. Lốp hữu cơ được rửa bằng dung dịch 10% của K₂CO₃ trong nước, nước, được làm khô qua MgSO₄, được lọc và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (15-40 µm, 40 g, gradien heptan/EtOAc từ 90/10 đến 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đến khô để thu được tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoat 16a (816 mg).

Tổng hợp Hợp chất 16 và phân tách không đối xứng thành Chất đồng phân đối ảnh 16A và Chất đồng phân đối ảnh 16B:

Dung dịch của tert-butyl 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoat 16a (816 mg, 1,14 mmol) trong HCl 4M trong dioxan (7 mL) được khuấy ở 5°C trong 2 giờ và ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Phần kết tủa được lọc bỏ, được rửa bằng dioxan/ete diisopropyl và được làm khô. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (20-45 µm, 40 g, gradien CH₂Cl₂/MeOH từ 100/0 đến 95/5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được, sau khi kết tinh từ CH₃CN/ete diisopropyl, axit 4-(5-clo-2-(1-((3-metoxo-5-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl)amino)-2-(4-metyl-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)phenoxy)butanoic 16 (495 mg).

Chất đồng phân đối ảnh của Hợp chất 16 được tách qua SFC không đối xứng điều chế (Pha tĩnh: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, Pha động: 65% CO₂, 35% iPrOH (+ 0,3% iPrNH₂)). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ nhất (145 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (10-40 µm, 24 g, CH₂Cl₂/MeOH 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được, sau khi hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl/pentan,

Chất đồng phân đối ảnh 16A (99 mg). Chất đồng phân đối ảnh đã rửa giải thứ hai (149 mg) được tinh chế tiếp bằng kỹ thuật sắc ký nhanh trên silicagel (10-40 μm , 24 g, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được, sau khi hoá rắn bằng cách nghiền thành bột với ete diisopropyl/pentan, Chất đồng phân đối ảnh 16A (95 mg).

Hợp chất 16:

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,91 - 2,05 (m, 2 H) 2,20 (s, 3 H) 2,29 - 2,43 (m, 2 H) 3,01 - 3,27 (m, 2 H) 3,72 (s, 3 H) 4,02 - 4,18 (m, 3 H) 4,35 - 4,44 (m, 1 H) 5,71 (br d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,34 (br s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,78 - 6,90 (m, 3 H) 7,01 (br d, $J=7,1$ Hz, 1 H) 7,12 (s, 1 H) 7,31 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 7,88 (br s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 12,07 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,93 phút, MH^+ 660

Nhiệt độ nóng chảy: 214°C

Chất đồng phân đối ảnh 16A:

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,92 - 2,04 (m, 2 H) 2,20 (s, 3 H) 2,30 - 2,44 (m, 2 H) 2,99 - 3,16 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,04 - 4,17 (m, 3 H) 4,35 - 4,44 (m, 1 H) 5,71 (br d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,34 (br s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,79 - 6,89 (m, 3 H) 7,02 (br d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 7,12 (s, 1 H) 7,32 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 12,09 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,94 phút, MH^+ 660

$[\alpha]_D^{20}$: $-35,4^\circ$ (c 0,263, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 1,61 phút, MH^+ 660, độ tinh khiết không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối ảnh 16B:

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,91 - 2,04 (m, 2 H) 2,20 (s, 3 H) 2,30 - 2,44 (m, 2 H) 3,00 - 3,15 (m, 2 H) 3,73 (s, 3 H) 4,03 - 4,17 (m, 3 H) 4,35 - 4,44 (m, 1 H) 5,71 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H) 6,34 (s, 1 H) 6,67 (s, 1 H) 6,79 - 6,89 (m, 3 H) 7,02 (dd, $J=8,1, 1,5$ Hz, 1 H) 7,10 - 7,14 (m, 1 H) 7,32 (d, $J=8,59$ Hz, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,15 (s, 1 H) 9,14 (s, 1 H) 12,10 (br s, 1 H)

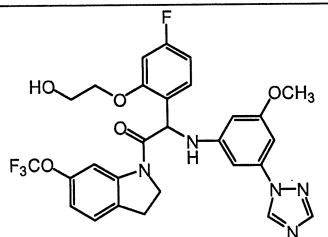
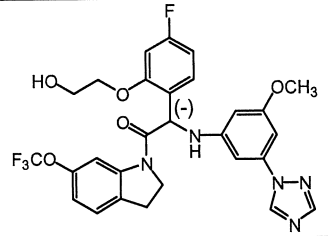
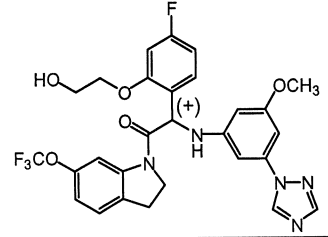
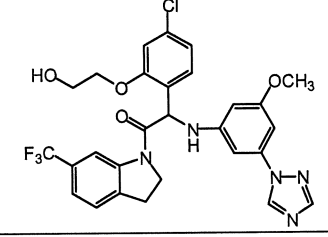
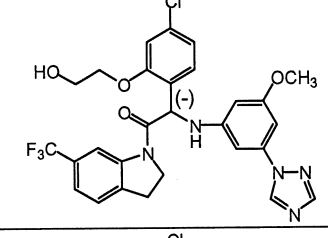
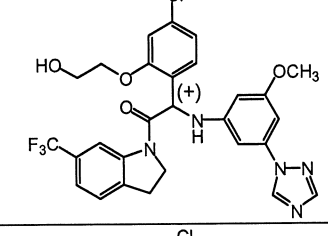
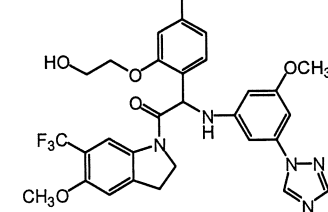
LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 2,94 phút, MH⁺ 660

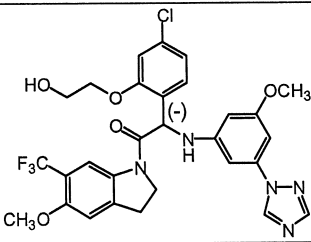
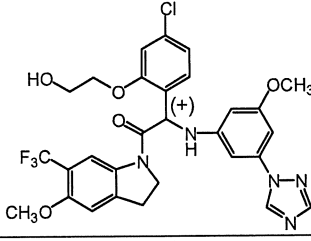
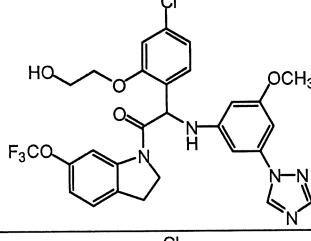
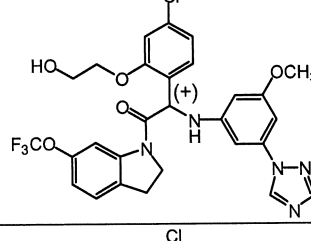
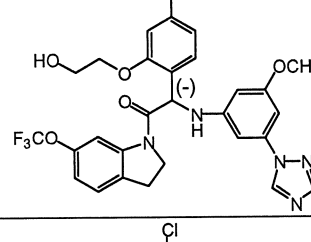
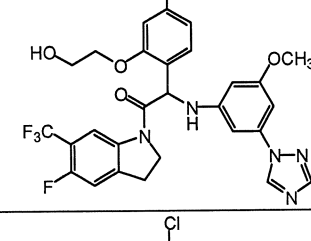
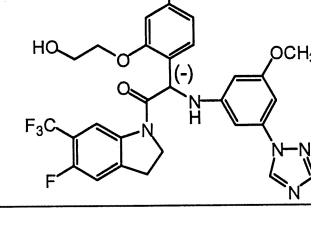
$$[\alpha]_{D^{20}}: +34,3^{\circ} (c\ 0,274, \text{DMF})$$

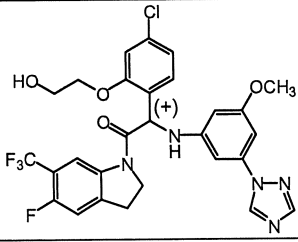
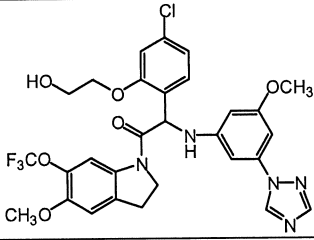
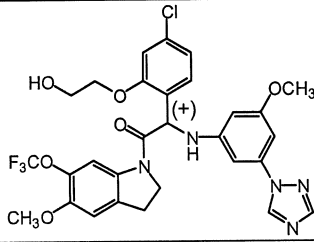
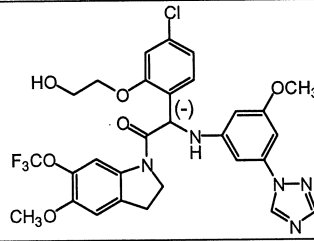
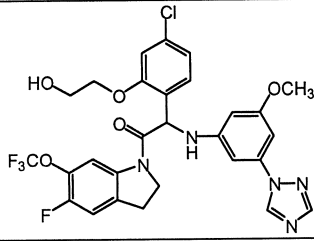
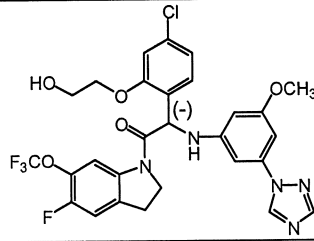
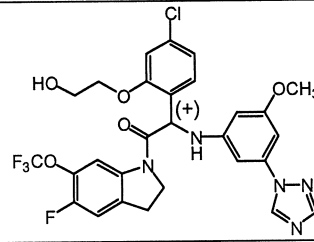
SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 2,22 phút, MH^+ 660, độ tinh khiết không đối xứng 99,47%.

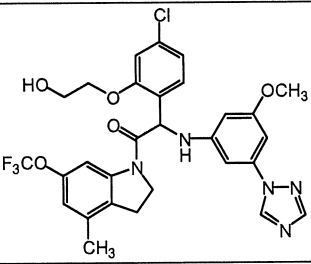
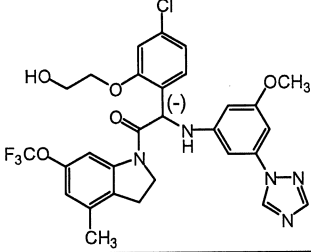
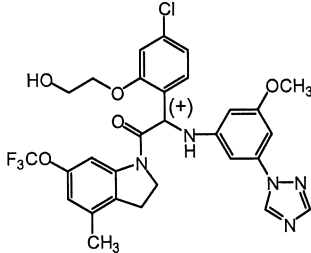
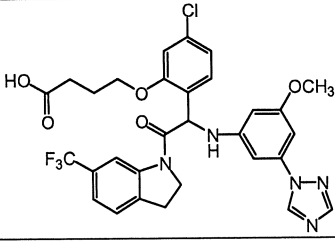
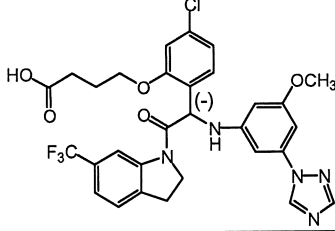
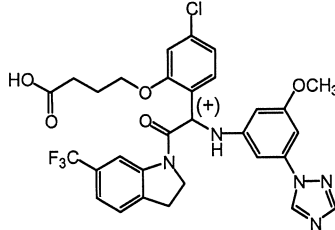
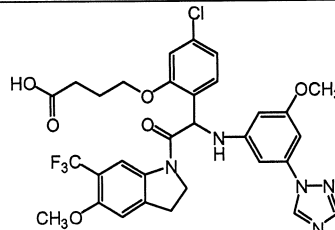
Bảng: Các hợp chất được điều chế như đã nêu

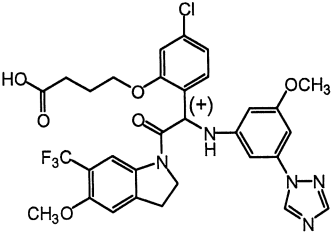
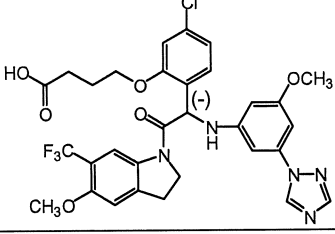
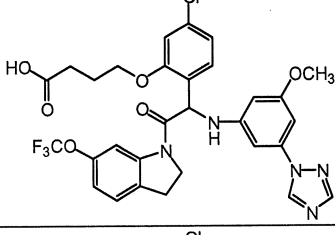
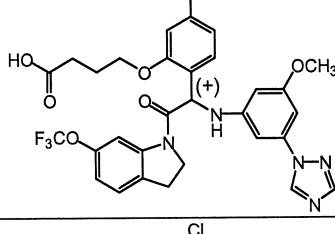
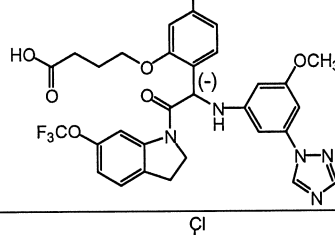
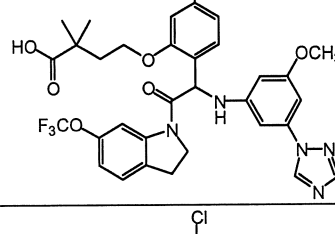
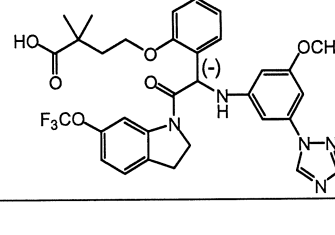
Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
1		raxemic
1A		$[\alpha]_D^{20} = -44,8^\circ$
1B		$[\alpha]_D^{20} = +36,2^\circ$
2		raxemic
2A		$[\alpha]_D^{20} = -45,0^\circ$
2B		$[\alpha]_D^{20} = +43,4^\circ$

Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
3		raxemic
3A		$[\alpha]_D^{20} = -38,2^\circ$
3B		$[\alpha]_D^{20} = +40,9^\circ$
4		raxemic
4A		$[\alpha]_D^{20} = -42,9^\circ$
4B		$[\alpha]_D^{20} = +39,5^\circ$
5		raxemic

Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
5A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -40,3^{\circ}$
5B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +40,0^{\circ}$
6		raxemic
6A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45,9^{\circ}$
6B		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -46,3^{\circ}$
7		raxemic
7A		$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44,3^{\circ}$

Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
7B		$[\alpha]_D^{20} = +35,6^\circ$
8		raxemic
8A		$[\alpha]_D^{20} = +39,3^\circ$
8B		$[\alpha]_D^{20} = -44,4^\circ$
9		raxemic
9A		$[\alpha]_D^{20} = -35,1^\circ$
9B		$[\alpha]_D^{20} = +32,3^\circ$

Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
10		raxemic
10A		$[\alpha]_D^{20} = -38,4^\circ$
10B		$[\alpha]_D^{20} = +37,5^\circ$
11		raxemic
11A		$[\alpha]_D^{20} = -28,9^\circ$
11B		$[\alpha]_D^{20} = +23,8^\circ$
12		raxemic

Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
12A		$[\alpha]_{D^{20}} = +30,4^{\circ}$
12B		$[\alpha]_{D^{20}} = -36,9^{\circ}$
13		raxemic
13A		$[\alpha]_{D^{20}} = +38,4^{\circ}$
13B		$[\alpha]_{D^{20}} = -43,2^{\circ}$
14		raxemic
14A		$[\alpha]_{D^{20}} = -32,8^{\circ}$

Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
14B		$[\alpha]_D^{20} = +32,8^\circ$
15		raxemic
15A		$[\alpha]_D^{20} = -31,5^\circ$
15B		$[\alpha]_D^{20} = +28,2^\circ$
16		raxemic
16A		$[\alpha]_D^{20} = -35,4^\circ$
16B		$[\alpha]_D^{20} = +34,3^\circ$

Hoạt tính kháng virus của 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 chủng DENV-2 16681, được đánh dấu bằng protein phát huỳnh quang xanh lục tăng cường (eGFP). Môi trường nuôi cấy bao gồm môi trường cần thiết tối thiểu được bổ sung 2% huyết thanh thai bê đã bất hoạt bằng nhiệt, gentamycin 0,04% (50 mg/mL) và L-glutamin 2 mM. Tế bào vero, thu được từ ECACC, được tạo hỗn dịch trong môi trường nuôi cấy và 25 μ L được thêm vào đĩa 384 giếng (2500 tế bào/giếng), đã chứa sẵn hợp chất kháng virus. Thông thường, các đĩa này chứa dung dịch pha loãng dần bậc 5 trong 9 bước pha loãng đối với hợp chất thử nghiệm ở nồng độ gấp 200 lần so với nồng độ cuối trong DMSO 100% (200 nL). Ngoài ra, mỗi nồng độ hợp chất được thử nghiệm bốn lần (khoảng nồng độ cuối: 25 μ M – 0,000064 μ M hoặc 2,5 μ M – 0,0000064 μ M với hầu hết các hợp chất hoạt tính). Cuối cùng, mỗi đĩa chứa giếng được chỉ định làm đối chứng virus (chứa tế bào và virus khi không có mặt hợp chất), đối chứng tế bào (chứa tế bào khi không có mặt virus và hợp chất) và đối chứng môi trường (chứa môi trường khi không có mặt tế bào, virus và hợp chất). Giếng được chỉ định làm đối chứng môi trường được thêm 25 μ L môi trường nuôi cấy thay vì tế bào Vero. Ngay khi tế bào đã được thêm vào đĩa, thì đĩa này được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng để cho tế bào phân bố đều bên trong giếng. Tiếp theo, ủ đĩa trong tủ ủ được tạo ẩm đầy đủ (37°C, CO₂ 5%) cho đến ngày hôm sau. Sau đó, chủng DENV-2 16681, được đánh dấu eGFP, được thêm theo số nhiễm (MOI) là 0,5. Do đó, 15 μ L hỗn dịch virus được thêm vào tất cả các giếng chứa hợp chất thử nghiệm và vào các giếng được chỉ định làm đối chứng virus. Song song đó, 15 μ L môi trường nuôi cấy được thêm vào môi trường và đối chứng tế bào. Tiếp theo, ủ đĩa trong 3 ngày trong tủ ủ được tạo ẩm đầy đủ (37°C, CO₂ 5%). Vào ngày đọc kết quả, đo sự phát huỳnh quang eGFP sử dụng kính hiển vi phát quang tự động ở bước sóng 488 nm (tia laser màu lam). Bằng cách sử dụng hệ thống LIMS có sẵn, tính đường đáp ứng liều ức chế cho mỗi hợp chất và xác định một nửa nồng độ hữu hiệu tối đa (EC₅₀). Do đó, độ ức chế theo phần trăm (I) với mọi nồng độ thử nghiệm được tính bằng cách sử dụng công thức sau: $I = 100 \cdot (S_T - S_{CC}) / (S_{VC} - S_{CC})$; S_T, S_{CC} và S_{VC} lần lượt là lượng tín hiệu eGFP ở giếng chứa hợp chất thử nghiệm, đối chứng tế bào và đối chứng virus. Giá trị EC₅₀ biểu diễn nồng độ của hợp chất mà ở nồng độ này sự sao chép virus bị ức chế 50%, như được đo bằng sự giảm 50% của cường độ phát huỳnh quang eGFP

so với đối chứng virut. Giá trị EC_{50} được tính bằng cách sử dụng phương pháp nội suy tuyến tính (Bảng 1).

Song song đó, độc tố của hợp chất được đánh giá trên cùng đĩa. Ngay khi đã thực hiện việc đọc kết quả cho tín hiệu eGFP, 40 μ L ATPlite, thuốc nhuộm kiểm tra khả năng sống của tế bào, được thêm vào tất cả các giếng của đĩa 384 giếng. ATP có mặt ở tất cả các tế bào hoạt hoá về mặt chuyển hoá và nồng độ giảm rất nhanh khi tế bào bị hoại tử hoặc chết theo chương trình. Hệ thống thử nghiệm ATPLite được dựa trên việc tạo ra ánh sáng do phản ứng của ATP với luxiferaza và D-luxiferin đã thêm vào. Ủ đĩa trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, đĩa được đo trên ViewLux. Một nửa nồng độ gây độc tế bào tối đa (CC_{50}) cũng được xác định, được định nghĩa là nồng độ cần thiết để làm giảm tín hiệu phát quang một lượng 50% so với tín hiệu phát quang của giếng đối chứng tế bào. Cuối cùng, chỉ số chọn lọc (SI) được xác định cho hợp chất, được tính như sau: $SI = CC_{50}/EC_{50}$.

Bảng 1: Các giá trị EC₅₀, CC₅₀, và SI cho 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	0,0031	4	12	4	3350	4
1A	1,00	3	7,7	3	7,8	3
1B	0,0028	4	9,8	2	3530	2
2	0,0028	4	13	4	4000	4
2A	0,27	3	12	3	43	3
2B	0,0018	3	10	3	4180	3
3	0,0019	4	8,5	4	5210	4
3A	0,52	3	11	3	22	3
3B	0,00099	3	8,7	3	11400	3
4A	1,2	4	7,8	4	6,4	4
4B	0,0010	3	11	3	16100	3
5	0,00082	3	11	3	11200	3
5A	0,042	3	11	3	275	3
5B	0,00062	3	9,2	3	14400	3
6	0,00097	3	3,3	3	3370	3
6A	0,00059	9	8,5	9	14900	9
6B	0,092	7	7,3	7	79	7
7	0,0030	3	10	3	3410	3
7A	0,43	3	11	3	26	3
7B	0,0018	3	7,6	3	4180	3
8	0,0021	3	9,5	3	4410	3
8A	0,0015	3	12	3	7360	3
8B	0,25	3	12	3	47	3
9	0,0016	4	3,9	3	2850	3
9A	0,25	3	4,2	4	17	3
9B	0,00060	3	10	3	13800	3
10	0,00035	3	10	3	26600	3
10A	0,063	3	10	3	165	3
10B	0,00025	3	11	3	51400	3
11	0,00031	3	15	3	53500	3
11A	0,045	3	11	3	246	3
11B	0,00020	3	12	3	45200	3
12	0,0022	3	13	3	5660	3
12A	0,0012	3	13	3	11000	3
12B	0,32	3	12	3	37	3
13	0,00023	3	11	3	59500	3
13A	0,00012	4	12	4	103601	4
13B	0,012	3	12	3	972	3
14	0,00041	3	10	3	24900	3
14A	0,42	3	9,1	3	22	3
14B	0,00027	4	9,4	4	35500	4
15	0,00022	3	11	3	58700	3
15A	0,0053	3	10	3	1970	3
15B	0,00013	3	11	4	94800	3
16	0,00011	3	11	3	95800	3
16A	0,014	3	11	3	800	3
16B	0,000069	5	6,2	5	>174673	5

N= số thử nghiệm độc lập mà các hợp chất được thử nghiệm.

Thử nghiệm PCR định lượng (RT-qPCR) cho transcriptaza đảo thể tứ trị: Quy trình A.

Hoạt tính kháng virus của hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm kháng chủng DENV-1 TC974#666 (NCPV), chủng DENV-2 16681, chủng DENV-3 H87 (NCPV) và chủng DENV-4 H241 (NCPV) trong thử nghiệm RT-qPCR. Do đó, tế bào Vero được gây nhiễm bằng DENV-1, hoặc DENV-2, hoặc DENV-3, hoặc DENV-4 khi có mặt hoặc không có mặt hợp chất thử nghiệm. Vào ngày 3 sau khi gây nhiễm, tế bào được phân giải và dịch tan tế bào được sử dụng để bào chế cADN của cả đích virus (3'UTR của DENV; Bảng 2) và gen đối chiếu tế bào (β -actin, Bảng 2). Tiếp đó, PCR thời gian thực song môi (duplex real time PCR) được thực hiện trên thiết bị Lightcycler480. Giá trị C_p thu được tỷ lệ nghịch với lượng biểu hiện ARN của các đích này. Sự ức chế quá trình sao chép DENV bằng hợp chất thử nghiệm gây dịch chuyển C_p 's cho gen 3'UTR. Mặt khác, nếu hợp chất thử nghiệm gây độc cho tế bào, thì sẽ quan sát thấy hiệu quả tương tự đối với sự biểu hiện β -actin. Phương pháp $\Delta\Delta C_p$ so sánh được sử dụng để tính EC_{50} , được dựa trên sự biểu hiện gen tương đối của gen đích (3'UTR) được chuẩn hóa bằng gen giữ nhà của tế bào (β -actin). Ngoài ra, giá trị CC_{50} được xác định dựa trên giá trị C_p thu được cho gen giữ nhà β -actin.

Bảng 2: Các đoạn môi và đoạn dò được sử dụng cho RT-PCR định lượng thời gian thực.

Đoạn môi/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	FAM-5'-AAGGACTAG-ZEN-AGGTTAGAGGAGACCCCCC-3'-IABkFQ
Factin743	β -actin	5'-GGCCAGGTCATCACCATT-3'
Ractin876	β -actin	5'-ATGTCCACGTCACACTTCATG-3'
Pactin773	β -actin	HEX-5'-TTCCGCTGC-ZEN-CCTGAGGCTCTC-3'-IABkFQ

^a Các thành phần nhuộm báo cáo (FAM, HEX) và thành phần làm sạch (ZEN và IABkFQ) được ghi in đậm và in nghiêng.

^b Trình tự nucleotit của đoạn môi và đoạn dò được chọn từ vùng bảo toàn ở vùng 3'UTR của bộ gen virus dengue, dựa trên sự xếp thẳng hàng 300 trình tự nucleotit của bốn typ huyết thanh dengue trong Genbank (Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Chương 16).

Môi trường nuôi cấy bao gồm môi trường cần thiết tối thiểu được bổ sung 2% huyết thanh thai bê đã bất hoạt bằng nhiệt, gentamycin 0,04% (50 mg/mL) và Lglutamin 2 mM. Tế bào Vero, thu được từ ECACC, được tạo hỗn dịch trong môi trường nuôi cấy

và 75 μL /giếng được thêm vào đĩa 96 giếng (10.000 tế bào/giếng), đã chứa sẵn hợp chất kháng virus. Thông thường, các đĩa này chứa dung dịch pha loãng dần bậc 5 trong 9 bước pha loãng đối với hợp chất thử nghiệm ở nồng độ gấp 200 lần so với nồng độ cuối trong DMSO 100% (500 nL; khoảng nồng độ cuối: 25 μM – 0,000064 μM hoặc 2,5 μM – 0,000064 μM với hầu hết các hợp chất hoạt tính). Ngoài ra, mỗi đĩa chứa giếng được chỉ định làm đối chứng virus (chứa tế bào và virus khi không có mặt hợp chất) và đối chứng tế bào (chứa tế bào khi không có mặt virus và hợp chất). Một khi tế bào đã được thêm vào đĩa, thì ủ đĩa trong tủ ủ được tạo ẩm đầy đủ (37°C, CO₂ 5%) cho đến ngày hôm sau. Typ huyết thanh của virus Dengue-1, Dengue-2, Dengue-3 và Dengue-4 được pha loãng để thu được giá trị Cp ~22-24 trong thử nghiệm. Do đó, 25 μL hỗn dịch virus được thêm vào tất cả các giếng chứa hợp chất thử nghiệm và vào các giếng được chỉ định làm đối chứng virus. Song song đó, 25 μL môi trường nuôi cấy được thêm vào đối chứng tế bào. Tiếp theo, ủ đĩa trong 3 ngày trong tủ ủ được tạo ẩm đầy đủ (37°C, CO₂ 5%). Sau 3 ngày, dịch nổi bề mặt được loại bỏ khỏi giếng và tế bào được rửa hai lần bằng đá-PBS lạnh (~100 μL). Pelet tế bào trong đĩa 96 giếng được lưu trữ ở -80°C trong ít nhất 1 ngày. Tiếp theo, ARN được chiết tách bằng cách sử dụng kit phân giải Cells-to-CT™_i, theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Life Technologies). Dịch tan tế bào có thể được lưu trữ ở -80°C hoặc được sử dụng ngay tại bước phiên mã đảo.

Để thực hiện bước phiên mã đảo, hỗn hợp A (Bảng 3A) được tạo ra và 7,57 μL /giếng được phân vào đĩa 96 giếng. Sau khi thêm 5 μL dịch tan tế bào, thực hiện bước làm biến tính trong năm phút ở 75°C (Bảng 3B). Sau đó, 7,43 μL hỗn hợp B được thêm vào (Bảng 3C) và bước phiên mã đảo được bắt đầu (Bảng 3D) để tạo ra cADN.

Cuối cùng, hỗn hợp RT-qPCR được tạo ra, hỗn hợp C (Bảng 4A), và 22,02 μL /giếng được phân phối vào đĩa qPCR LightCycler 96 giếng, mà 3 μL cADN được thêm vào, và qPCR được thực hiện theo các điều kiện trong Bảng 4B trên thiết bị LightCycler 480.

Bằng cách sử dụng phần mềm LightCycler và hệ thống LIMS có sẵn, tính đường đáp ứng với liều với mỗi hợp chất và xác định một nửa nồng độ hữu hiệu tối đa (EC₅₀) và một nửa nồng độ gây độc tế bào tối đa (CC₅₀) (Bảng 5-Bảng 8).

Bảng 3: Tổng hợp cADN bằng cách sử dụng hỗn hợp A, làm biến tính, hỗn hợp B và phiên mã đảo.

Hỗn hợp A					
A	Đĩa	8			
	Mẫu	828			
	Mục trộn	Nồng độ			Thể tích phản ứng (μL)
		Đơn vị	Dung dịch gốc	Cuối	20
					Thể tích (μL)
					1 mẫu x mẫu
	Milli-Q H ₂ O				7,27
	R3utr425	μM	20	0,27	0,15
	Ractin876	μM	20	0,27	0,15
				Thể tích trộn/giếng (μL)	7,57
				Dịch tan tế bào	5,00

Bước làm biến tính:

Bước	Nhiệt độ	Thời gian
Quá trình làm biến tính	75°C	5'
Giữ	4°C	giữ nguyên

Hỗn hợp B

Mẫu	864				
Mục trộn	Nồng độ			Thể tích (μl)	
	Đơn vị	Dung dịch gốc	Cuối	1 mẫu	x mẫu
Mở rộng chất đệm HIFI 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
Mở rộng RT	U/μL	50,00	0,33	0,13	112,3
				Tổng thể tích trộn (μL)	7,43

Quy trình tổng hợp cADN

Bước	Nhiệt độ	Thời gian
Phiên mã đảo	42°C	30
Làm biến tính	99°C	5
Giữ	4°C	giữ nguyên

Bảng 4: Hỗn hợp và quy trình qPCR.

A Hỗn hợp C

Mẫu	833			Thể tích phản ứng (μL)	25
Mục trộn	Nồng độ			Thể tích (μL)	
	Đơn vị	Dung dịch gốc	Cuối	1 mẫu	x mẫu
H ₂ O hạng PCR grade Roche				7,74	6447,42
Roche 2xMM mix	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 trộn/ống nghiệm (μL)				22,02	
cADN				3,00	

B Quy trình qPCR3

Bước	Nhiệt độ	Thời gian	Tốc độ biến đổi	
trước ủ/làm biến tính	95°C	10 phút	4,4	
Làm biến tính	95°C	10 giây	4,4	40 vòng
ủ	58°C	1 phút	2,2	
Kéo dài	72°C	1 giây	4,4	
Làm lạnh	40°C	10 giây	1,5	

Bảng 5: Các giá trị EC₅₀, CC₅₀, và SI cho các hợp chất kháng typ huyết thanh 1 trong các thử nghiệm RT-qPCR

Hợp chất#	Quy trình A					
	RT-qPCR cho typ huyết thanh 1 TC974#666					
	EC ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	SI	N
1B	0,0015	4	>2,5	4	>2290	4
2B	0,0060	5	>2,5	5	>744	5
3B	0,0024	3	>2,5	2	>1550	2
4B	0,00057	4	>2,5	4	>8060	4
5B	0,0020	4	>2,5	4	>981	4
6A	0,00064	4	>2,5	4	>10900	4
7B	0,00088	3	>2,5	3	>6750	3
8A	0,0020	3	>2,5	3	>1570	3
9B	0,00099	3	>2,5	3	>2860	3
10B	0,00036	3	>2,5	3	>8670	3
11B	0,000095	3	>2,5	3	>41800	3
12A	0,0021	3	11	3	3850	3
13A	0,00012	3	>2,5	3	>32500	3
14B	0,00022	3	2,3	3	8720	3
15B	0,00013	3	4,9	3	46500	3
16B	0,000092	3	>1,0	3	>23100	3

N= số thử nghiệm độc lập mà các hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 6: Các giá trị EC₅₀, CC₅₀, và SI cho các hợp chất kháng typ huyết thanh 2 trong các thử nghiệm RT-qPCR

Hợp chất#	Quy trình A					
	RT-qPCR cho typ huyết thanh 2 16681					
	EC ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	SI	N
1B	0,0024	3	>2,5	1	>1480	1
2B	0,0021	3	4,3	3	2070	3
3B	0,0014	3	13	3	5680	3
4B	0,00045	3	2,4	3	6270	3
5B	0,00052	3	2,8	3	6730	3
6A	0,00049	5	11	5	18700	5
7B	0,0019	3	>2,5	2	>9150	2
8A	0,00038	3	>0,99	3	3620	3
9B	0,00047	3	>2,5	2	>4250	2
10B	0,00015	3	>1,0	3	>10700	3
11B	0,000059	3	5,0	3	64900	3
12A	0,00042	3	14	3	19800	3
13A	0,000057	3	>2,5	3	>53100	3
14B	0,00016	4	2,6	3	>9320	3
15B	0,000100	3	6,3	4	>22600	3
16B	0,000055	3	>1,0	3	>44200	3

N= số thử nghiệm độc lập mà các hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 7: Các giá trị EC₅₀, CC₅₀, và SI cho các hợp chất kháng typ huyết thanh 3 trong các thử nghiệm RT-qPCR

Hợp chất#	Quy trình A					
	RT-qPCR cho typ huyết thanh 3 H87					
	EC ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	SI	N
1B	0,025	3	>2,5	3	>123	3
2B	0,038	4	>2,5	4	>118	4
3B	0,023	3	>2,5	3	>136	3
4B	0,011	3	2,3	3	228	3
5B	0,015	4	>2,2	4	>116	4
6A	0,0081	4	>2,5	4	>227	4
7B	0,013	3	>2,5	3	>259	3
8A	0,015	3	>2,5	3	>203	3
9B	0,0064	4	>1,0	1	>103	1
10B	0,0059	3	>2,5	3	>414	3
11B	0,0065	3	>2,5	3	>991	3
12A	0,036	3	12	3	384	3
13A	0,0018	3	>2,5	3	>1580	3
14B	0,0055	3	>2,5	3	>644	3
15B	0,0028	3	5,8	3	3130	3
16B	0,00087	3	>1,0	3	>1780	3

N= số thử nghiệm độc lập mà các hợp chất được thử nghiệm.

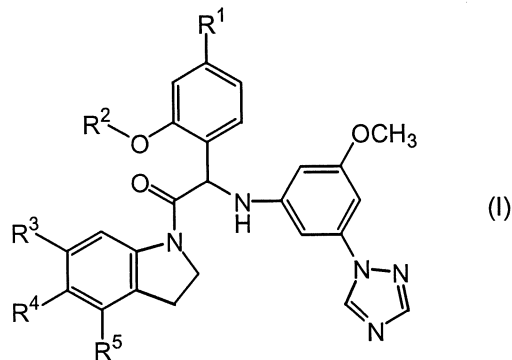
Bảng 8: Các giá trị EC₅₀, CC₅₀, và SI cho các hợp chất kháng typ huyết thanh 4 trong các thử nghiệm RT-qPCR

Hợp chất#	Quy trình A					
	RT-qPCR cho typ huyết thanh 4 H241					
	EC ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	SI	N
1B	0,18	3	2,2	2	10	2
2B	0,15	3	>2,5	3	>11	3
3B	0,098	3	>2,5	2	>25	2
4B	0,076	3	1,8	3	23	3
5B	0,090	3	>2,5	2	>33	2
6A	0,060	6	>2,5	4	>53	4
7B	0,12	3	1,1	3	10	3
8A	0,056	3	1,1	2	21	2
9B	0,087	3	2,5	3	27	3
10B	0,032	3	1,1	2	27	2
11B	0,020	3	3,3	3	184	3
12A	0,10	3	5,5	3	96	3
13A	0,010	3	2,6	3	251	3
14B	0,023	3	1,4	3	61	3
15B	0,015	3	2,3	3	174	3
16B	0,0053	3	1,2	2	181	2

N= số thử nghiệm độc lập mà các hợp chất được thử nghiệm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



trong đó:

R^1 là clo hoặc flo,

R^2 là $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, hoặc $\text{C}_{3-5}\text{alkylCOOH}$;

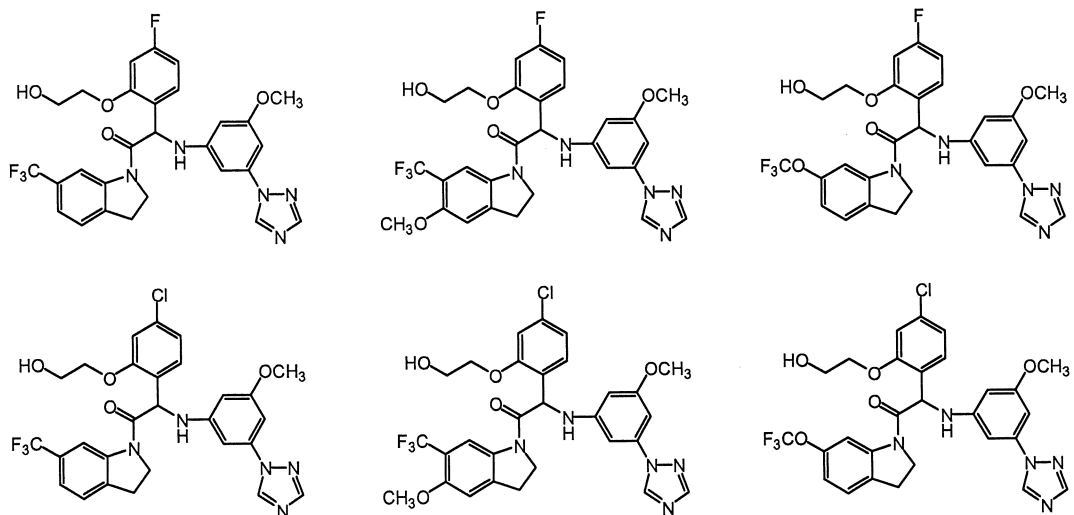
R^3 là triflometyl, hoặc triflometoxy;

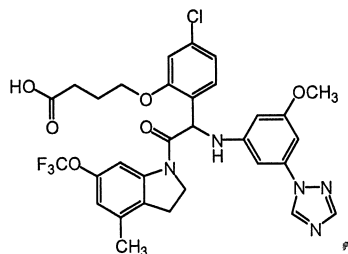
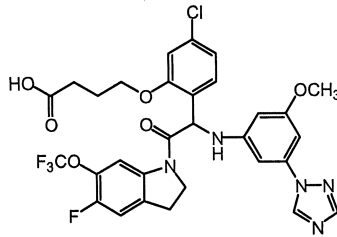
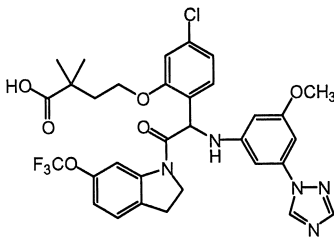
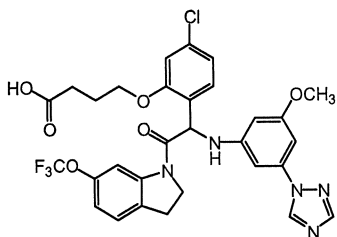
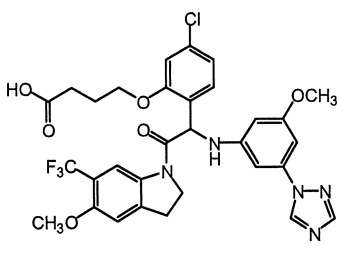
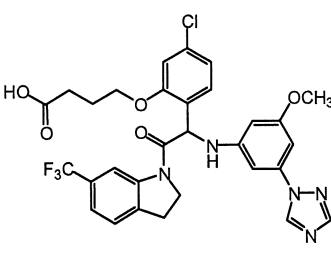
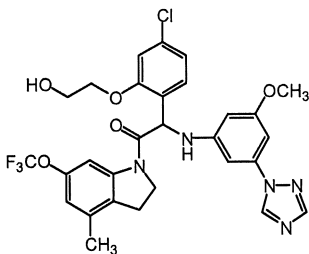
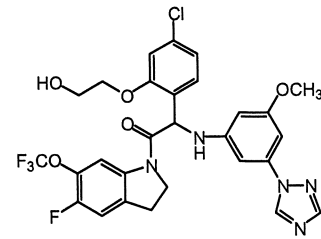
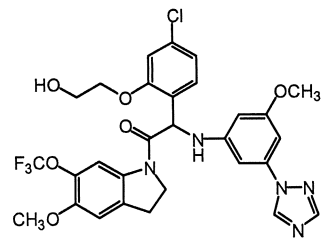
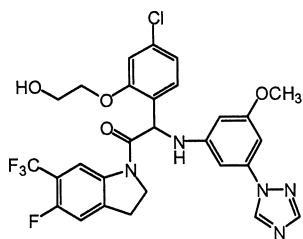
R^4 là hydro, flo, hoặc metoxy; và

R^5 là hydro hoặc metyl;

hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của hợp chất này.

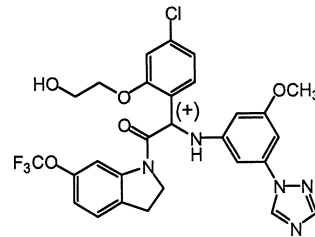
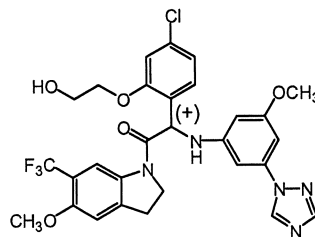
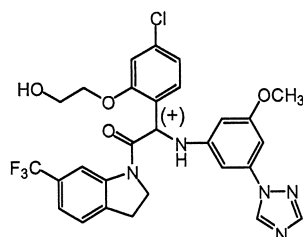
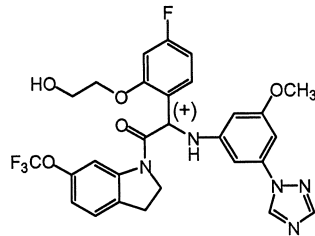
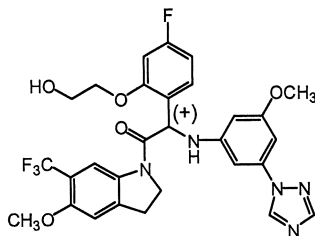
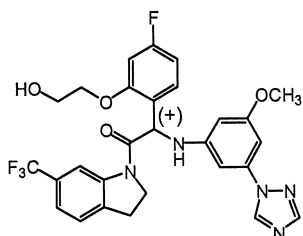
2. Hợp chất hoặc dạng đồng phân lập thể, muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của hợp chất này theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

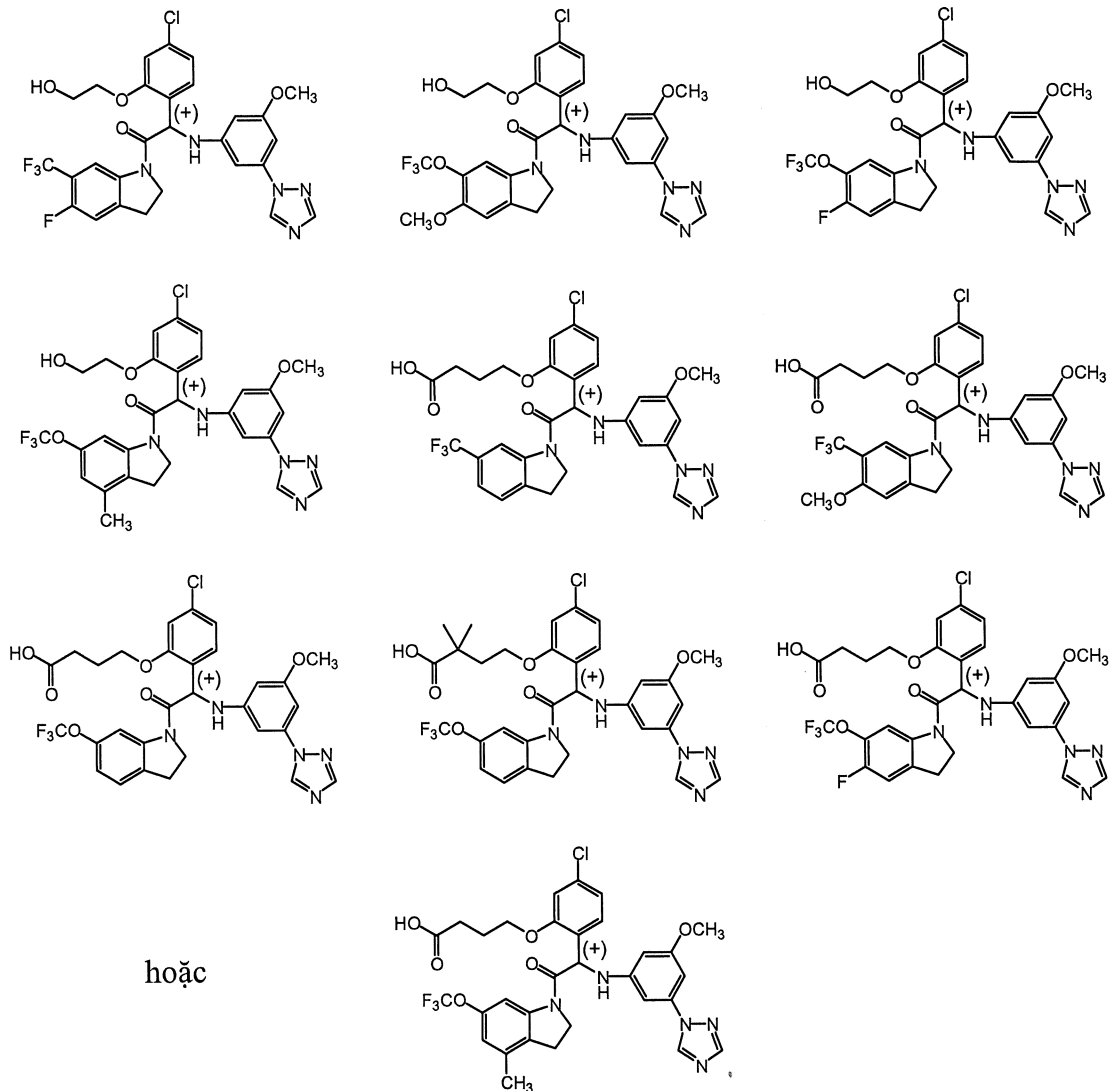




3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có độ quay riêng (+).

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:





5. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này chứa hoạt chất thứ hai hoặc hoạt chất khác.
7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó hoạt chất thứ hai hoặc hoạt chất khác là chất kháng virus.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Pharmaceuticals, Inc
Katholieke Universiteit Leuven

<120> HỢP CHẤT INDOLIN ĐƯỢC THỂ DÙNG LÀM CHẤT ỨC CHẾ SỰ SAO CHÉP VIRUT
DENGUE VÀ ĐƯỢC PHÂN CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> TIP 358

<150> EP17164048.5

<151> 2017-03-31

<160> 6

<170> BISSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 19

<212> ADN

<213> Nhóm virut Dengue

<400> 1

cggtttagagg agaccctc

19

<210> 2

<211> 21

<212> ADN

<213> Nhóm virut Dengue

<400> 2

gagacagcag gatctctggt c

21

<210> 3

<211> 28

<212> ADN

<213> Nhóm virut Dengue

<400> 3

aaggactaga ggtagagga gaccccc

28

<210> 4

<211> 18

<212> ADN

<213> Nhóm virut Dengue

<400> 4

ggccaggtca tcaccatt

18

<210> 5
<211> 21
<212> ADN
<213> Nhóm virut Dengue

<400> 5
atgtccacgt cacacttcat g

21

<210> 6
<211> 21
<212> ADN
<213> Nhóm virut Dengue

<400> 6
ttccgctgcc ctgaggctct c

21