(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11) **1-0039098**

(51)[7] **C07D 209/08**; A61K 31/403; A61P 31/12

(13) **B**

(21) 1-2019-07086
(22) 18/05/2018
(86) PCT/EP2018/063028 18/05/2018
(87) WO 2018/215315 29/11/2018
(30) 17172237.4 22/05/2017 EP
(45) 25/03/2024 432
(43) 25/06/2020 387

(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) BONFANTI, Jean-François (FR); KESTELEYN, Bart, Rudolf, Romanie (BE); BARDIOT, Dorothée, Alice, Marie-Eve (FR); MARCHAND, Arnaud, Didier, M (FR); COESEMANS, Erwin (BE); FORTIN, Jérôme, Michel, Claude (FR); MERCEY, Guillaume, Jean, Maurice (FR); RABOISSON, Pierre, Jean-Marie, Bernard (FR).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT INDOLIN ĐƯỢC THẾ LÀM CHẤT ỨC CHẾ SAO CHÉP VIRUT GÂY SỐT DENGUE VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất indolin được thế để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để sử dụng làm thuốc điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virut gây sốt dengue. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất indolin được thế, phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị nhiễm virut gây sốt dengue bằng cách sử dụng các hợp chất này và còn đề cập đến các hợp chất này để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để sử dụng làm thuốc điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virut gây sốt dengue. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến dược phẩm hoặc chế phẩm kết hợp chứa hợp chất nêu trên, dược phẩm hoặc chế phẩm để sử dụng làm thuốc, tốt hơn nữa là để ngăn ngừa hoặc điều trị nhiễm virut gây sốt dengue. Sáng chế còn đề cập đến quy trình điều chế các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Flavivirut, được truyền qua muỗi hoặc bọ ve, gây ra các bệnh truyền nhiễm đe doạ đến tính mạng con người, như viêm não và sốt xuất huyết. Bốn týp huyết thanh khác biệt nhưng có liên quan gần gũi của flavivirut gây sốt dengue đã được biết, gọi là DENV1, 2, 3, và 4. Bệnh sốt xuất huyết là dịch địa phương ở hầu hết các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới, chủ yếu ở các khu vực thành thị và nửa thành thị. Theo Tổ chức y tế thế giới (WHO), cứ 2,5 tỷ người thì có 1 tỷ trẻ em có nguy cơ nhiễm DENV (WHO, 2002). Ước tính có khoảng từ 50 đến 100 triệu ca mắc sốt xuất huyết (DF: dengue fever), 500000 ca mắc bệnh sốt dengue nghiêm trọng (tức là sốt xuất huyết dengue (DHF: dengue hemorrhagic fever) và hội chứng sốc dengue (DSS: dengue shock syndrome)), và hơn 20000 ca tử vong xảy ra trên thế giới mỗi năm. DHF trở thành nguyên nhân hàng đầu của các ca nhập viện và tử vong ở trẻ em ở vùng dịch địa phương. Nhìn chung, sốt dengue là nguyên nhân phổ biến nhất gây bệnh virut lây truyền qua động vật chân khớp. Do các đợt bùng phát lớn gần đây tại các quốc gia nằm ở châu Mỹ La Tinh, Đông Nam Á và Tây Thái Bình Dương (bao gồm Brazil, Puerto Rico, Venezuela, Campuchia, Indonesia, Việt Nam, Thái Lan), nên số ca mắc sốt xuất huyết đã tăng lên đáng kể trong những năm qua. Không chỉ có số ca mắc sốt dengue tăng lên vì bệnh đang lan sang các khu vực mới, mà các đợt bùng phát có xu hướng nghiêm trọng hơn.

Sau khi nhiễm một kiểu huyết thanh khác, các kháng thể dị hợp hiện có tạo thành phức hợp với kiểu huyết thanh của virut gây sốt dengue mới nhiễm nhưng không vô hiệu hóa mầm bệnh. Thay vào đó, sự xâm nhập của virut vào các tế bào được cho là tạo điều kiện thuận lợi, dẫn đến sự nhân lên không được kiểm soát của virut và các hiệu giá virut đỉnh cao hơn. Trong cả nhiễm trùng tiên phát và thứ phát, các hiệu giá virut cao có liên quan đến nhiều bệnh dengue nghiêm trọng. Bởi vì các kháng thể của mẹ có thể dễ dàng truyền sang cho trẻ sơ sinh qua đường sữa mẹ, nên điều này có thể là một trong những nguyên nhân khiến cho trẻ em chịu ảnh hưởng nhiều bởi bệnh dengue nghiêm trọng hơn so với người lớn.

Tại các khu vực có hai hoặc nhiều týp huyết thanh tuần hoàn đồng thời, còn được gọi là vùng tăng dịch địa phương, nguy cơ mắc bệnh sốt dengue nghiêm trọng là cao hơn một cách đáng kể do sự lây nhiễm thứ phát, nghiêm trọng hơn có nguy cơ tăng. Hơn nữa, trong trường hợp tăng dịch địa phương, xác suất xuất hiện các chủng virut độc hơn tăng, do đó làm tăng khả năng mắc sốt xuất huyết dengue (DHF: dengue hemorrhagic fever) hoặc hội chứng sốc dengue.

Muỗi mang sốt dengue, bao gồm *Aedes aegypti và Aedes albopictus* (muỗi vằn), đang di chuyển về phía bắc trên toàn cầu. Theo Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa bệnh Hoa Kỳ (US: United States) (CDC: Centers for Disease Control and Prevention), cả hai loài muỗi này hiện có mặt khắp nơi ở Nam Texas. Sự lan rộng của muỗi mang sốt dengue ở phía Bắc không chỉ giới hạn ở Mỹ, mà còn được quan sát thấy ở châu Âu.

Dengvaxia®, vacxin dengue được bào chế bởi Sanofi Pasteur được chấp thuận lần đầu tiên ở Mexico và đã và đang được chấp thuận đồng thời ở nhiều quốc gia. Tuy nhiên, vacxin này còn cần phải cải thiện đáng kể do hiệu quả hạn chế, đặc biệt là chống lại DENV-1 và -2, hiệu quả thấp trên các đối tượng chưa từng nhiễm flavivirut và lịch sử dụng liều kéo dài.

Mặc dù có những hạn chế như trên, nhưng vacxin này là một yếu tố thay đổi cuộc chơi trong các thiết lập đặc hữu vì nó sẽ bảo vệ một bộ phận lớn dân cư, nhưng có khả năng không bảo vệ được các trẻ sơ sinh rất nhỏ - những người chịu ảnh

hưởng lớn nhất bởi bệnh dengue. Ngoài ra, lịch sử dụng liều và hiệu quả rất giới hạn trên các đối tượng chưa từng nhiễm flavivirut khiến cho vacxin này không thích hợp và có thể không đáng giá/hiệu quả về chi phí cho những du khách di chuyển từ các khu vực không đặc hữu đến các khu vực đặc hữu dengue. Những hạn chế nêu trên của các vacxin dengue là lý do cần có chất chống virut gây sốt dengue phòng ngừa trước phơi nhiễm.

Ngoài ra, hiện nay chưa có các thuốc chống virut đặc hiệu cho điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm virut sốt dengue. Rõ ràng là, vẫn còn một nhu cầu y tế chưa được đáp ứng trong trị liệu ngăn ngừa hoặc điều trị nhiễm virut ở động vật, đặc biệt hơn là ở người và đặc biệt là đối với nhiễm virut do flavivirut, đặc biệt hơn là virut gây sốt dengue. Rất cần thiết có các hợp chất có hiệu lực chống virut tốt, không có hoặc có mức độ thấp các tác dụng phụ, hoạt tính phổ rộng chống lại nhiều kiểu huyết thanh virut gây sốt dengue, độc tính thấp và/hoặc đặc tính dược động học hoặc đặc tính dược lực học tốt.

WO-2010/021878 đề xuất các dẫn xuất 2-phenylpyrolidin và indolin làm các chất đối kháng thụ thể mentol lạnh để điều trị viêm và các bệnh trung tâm. WO-2013/045516 đề xuất các dẫn xuất indol và indolin sử dụng để điều trị nhiễm virut gây sốt dengue.

Sáng chế đề xuất các hợp chất, các dẫn xuất indolin được thế thể hiện hoạt tính có hiệu lực cao chống lại tất cả bốn (4) kiểu huyết thanh của virut gây sốt dengue.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

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

Sáng chế đề xuất các hợp chất được thể hiện có hoạt tính chống virut có hiệu lực chống lại tất cả bốn (4) kiểu huyết thanh đã biết. Sáng chế còn chứng minh rằng các hợp chất này ức chế một cách có hiệu quả sự tăng sinh của virut gây sốt dengue

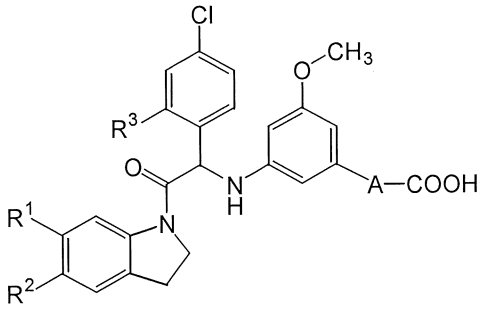
(DENV). Do đó, các hợp chất này tạo ra lớp hợp chất có hiệu lực hữu hiệu có thể được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa nhiễm virut ở động vật, động vật có vú và người, đặc biệt hơn là để điều trị và/hoặc ngăn ngừa nhiễm virut gây sốt dengue.

Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng các hợp chất nêu trên làm thuốc và việc sử dụng các hợp chất này để sản xuất thuốc điều trị và/hoặc ngăn ngừa nhiễm virut, đặc biệt với các virut thuộc họ virut gây sốt dengue ở động vật hoặc động vật có vú, đặc biệt hơn ở người. Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế tất cả các hợp chất nêu trên và các dược phẩm chứa lượng có hiệu quả của các hợp chất này.

Sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virut gây sốt dengue ở người bằng cách sử dụng lượng có hiệu quả của một hoặc nhiều hợp chất nêu trên, hoặc muối dược dụng của chúng tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều dược chất khác, như một chất chống virut khác, cho bệnh nhân cần.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), bao gồm dạng đồng phân hóa học lập thể bất kỳ của nó:



(I)

trong đó

R^1 là triflometyl, triflometoxy, hoặc clo;

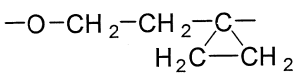
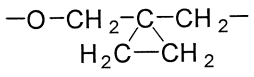
R^2 là hydro, flo, hoặc metoxy;

R^3 là hydro, hoặc metoxy;

A là $-(CH_2)_n-$ trong đó n là 3 hoặc 4;

-O-$(CH_2)_n$- trong đó n là 2 hoặc 4;

-O-$(CH_2)_n$- trong đó n là 3 và một hoặc hai CH_2 được thế bằng một hoặc hai CH_3;


hoặc


-CH_2-O-$(CH_2)_n$- trong đó n là 2; hoặc

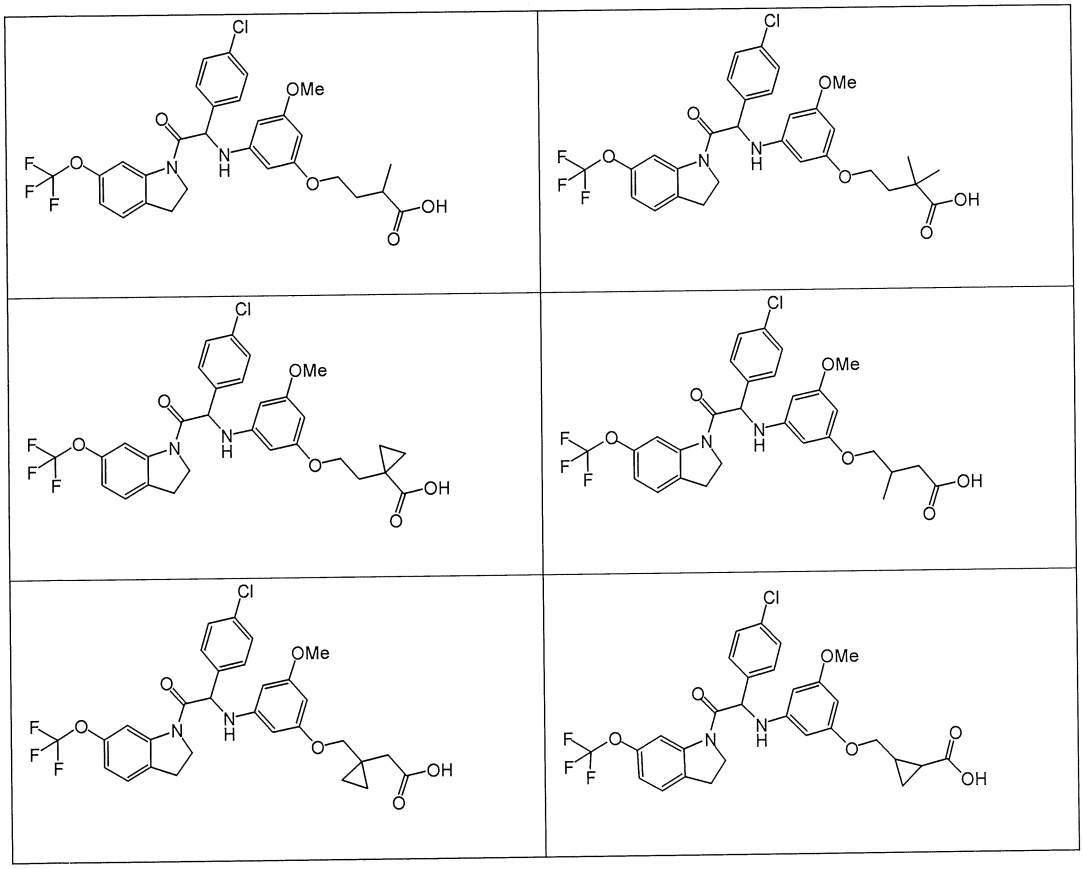
-X-Y- trong đó X là -O-, -OCH_2-, hoặc -NH-; và

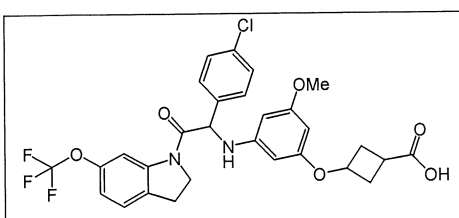
Y là C_{3-4} xycloalkyl được thế tuỳ ý bằng flo, hoặc

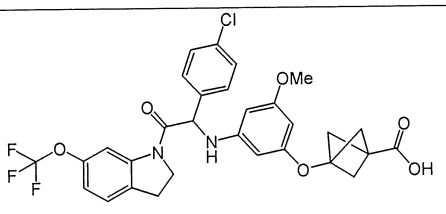
Y là bixyclo[1.1.1]pentanyl;

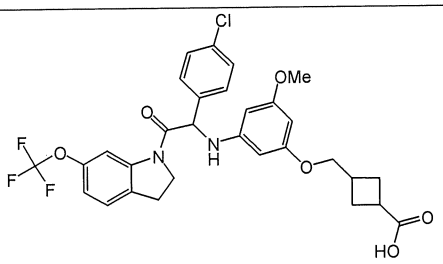
hoặc muối dược dụng, solvat hoặc dạng đa hình của hợp chất này.

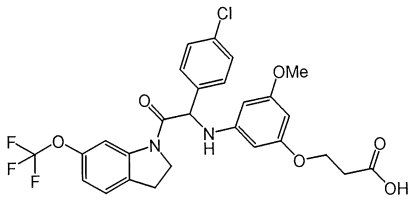
Các hợp chất được đề cập cụ thể trên đây được chọn từ nhóm bao gồm:

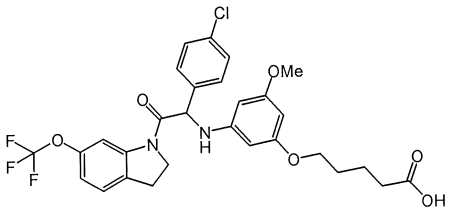


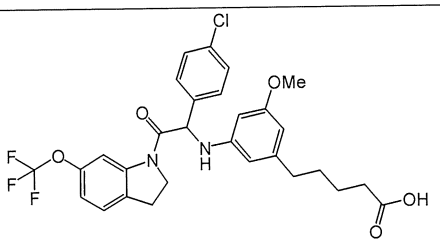


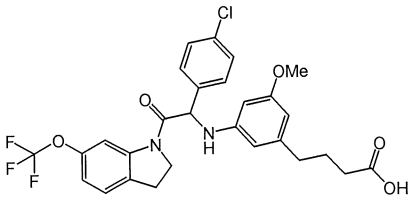


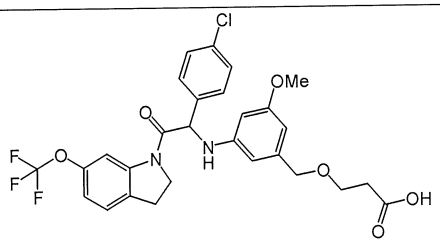


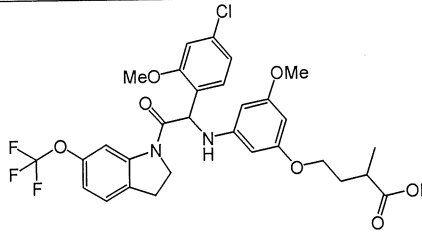


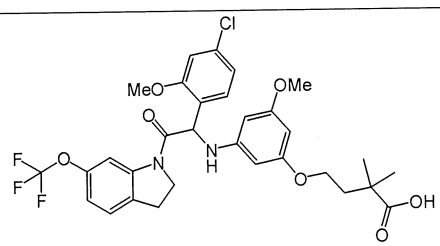


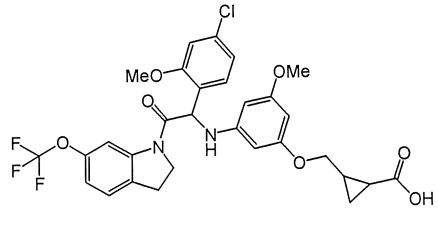


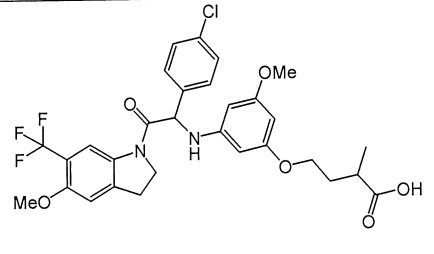


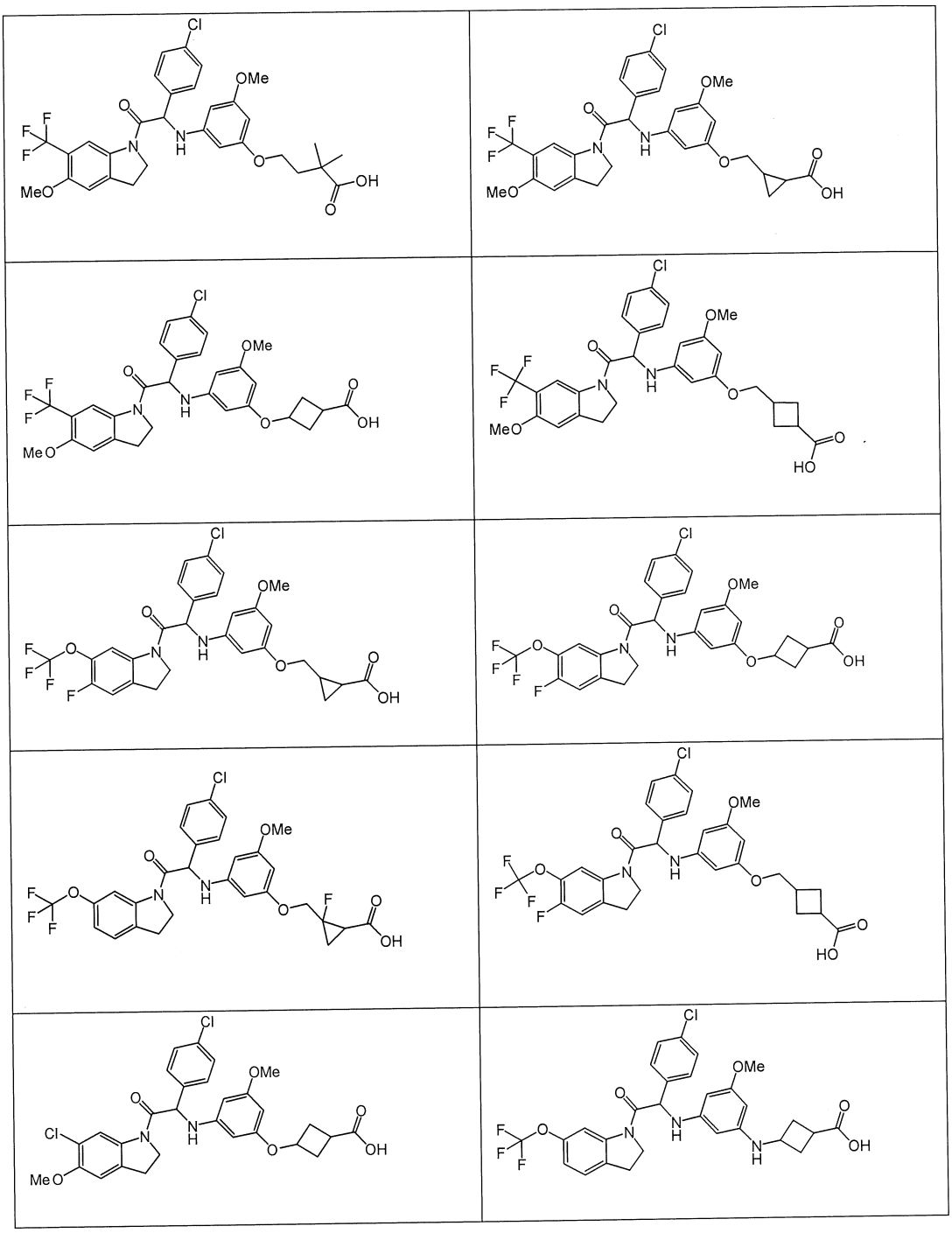






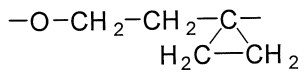
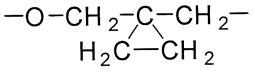






Nhóm thứ nhất của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó A là $-(CH_2)_n-$ trong đó n là 3 hoặc 4.

Nhóm thứ hai của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó A là $-O-(CH_2)_n-$ trong đó n là 2 hoặc 4.

Nhóm thứ ba của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó A là -O-$(CH_2)_n$- trong đó n là 3 và một hoặc hai CH_2 được thế bằng một hoặc hai CH_3; hoặc A là  hoặc  .

Nhóm thứ tư của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó A là -CH_2-O-$(CH_2)_n$- trong đó n là 2.

Nhóm thứ năm của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó A là -X-Y- trong đó X là -O-, -OCH_2-, hoặc -NH-; và Y là C_{3-4} xycloalkyl được thế tuỳ ý bằng flo.

Nhóm thứ sáu của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó A là -X-Y- trong đó X là -O-, -OCH_2-, hoặc -NH-; và Y là bixyclo[1.1.1]pentanyl.

Nhóm thứ bảy của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là triflometoxy, R^2 là hydro, và R^3 là hydro.

Nhóm thứ tám của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là triflometoxy, R^2 là hydro, và R^3 là metoxy.

Nhóm thứ chín của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là triflometyl, R^2 là metoxy, và R^3 là hydro.

Nhóm thứ mười của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là triflometoxy, R^2 là flo, và R^3 là hydro.

Nhóm thứ mười một của các hợp chất là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là clo, R^2 là metoxy, và R^3 là hydro.

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

Các muối dược dụng của các hợp chất nêu trên bao gồm các muối bazơ và muối cộng axit của chúng. Muối cộng axit thích hợp được tạo thành từ axit tạo muối

không độc. Muối bazơ thích hợp được tạo thành từ bazơ tạo muối không độc.

Muối axit dược dụng được đề cập trên đây có nghĩa 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 dược dụng này có thể thuận lợi thu được bằng cách xử lý dạng bazơ bằng axit thích hợp. Các axit thích hợp bao gồm, ví dụ, các axit vô cơ như axit hydrohalic, ví dụ, axit clohydric hoặc axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric và các axit tương tự; hoặc các axit hữu cơ như, ví dụ, axit axetic, axit propanoic, axit hydroxyaxetic, axit lactic, axit pyruvic, axit oxalic (nghĩa là axit etandioic), axit malonic, axit suxinic (nghĩa là axit butan-dioic), axit maleic, axit fumaric, axit malic, axit tartaric, axit xitric, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic, axit xyclamic, axit salixylic, axit p-amino-salixylic, axit pamoic và các axit tương tự.

Các hợp chất theo sáng chế có thể còn tồn tại trong dạng solvat hóa và dạng không solvat hóa. Thuật ngữ "solvat" được sử dụng ở đây để mô tả phức hợp phân tử chứa hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều phân tử dung môi dược dụng, ví dụ, etanol.

Thuật ngữ "dạng đa hình" đề cập đến khả năng của hợp chất theo sáng chế tồn tại trong nhiều hơn một dạng hoặc cấu trúc tinh thể.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng các sản phẩm kết tinh hoặc vô định hình. Chúng có thể thu được, ví dụ, ở dạng bánh rắn, bột hoặc màng bằng các phương pháp như làm kết tủa, kết tinh, khô lạnh, sấy phun hoặc làm khô theo kiểu bay hơi. Chúng có thể được sử dụng ở dạng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất khác theo sáng chế hoặc ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều thuốc khác. Thông thường, chúng sẽ được sử dụng ở dạng chế phẩm kết hợp với một hoặc nhiều tá dược dược dụng. Thuật ngữ "tá dược" được sử dụng ở đây để mô tả thành phần bất kỳ mà không phải là (các) hợp chất theo sáng chế. Việc lựa chọn tá dược phụ thuộc phần lớn vào các yếu tố như cách thức sử dụng cụ thể, tác dụng của tá dược đối với độ tan và độ ổn định, và bản chất của dạng liều.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc phân nhóm bất kỳ của chúng có thể được

bào chế thành các dạng dược phẩm khác nhau theo mục đích sử dụng. Để làm chế phẩm thích hợp, có thể kể đến tất cả các chế phẩm thường được sử dụng cho các thuốc dùng toàn thân. Để bào chế dược phẩm theo sáng chế, lượng có hiệu quả của hợp chất cụ thể, tùy ý ở dạng muối cộng, với vai trò là thành phần hoạt tính được kết hợp bằng cách trộn kỹ với chất mang dược dụng, chất mang này có thể có rất nhiều dạng khác nhau tùy thuộc vào dạng chế phẩm muốn sử dụng. Tốt hơn là các dược phẩm này ở dạng liều đơn vị thích hợp, ví dụ, để sử dụng qua đường miệng hoặc qua đường trực tràng. Ví dụ, để điều chế chế phẩm ở dạng liều dùng qua đường miệng, môi trường bất kỳ trong số các môi trường dược dụng thông thường có thể được sử dụng như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu và dạng tương tự đối với các trường hợp chế phẩm lỏng dùng qua đường miệng như huyền phù, xi rô, cồn ngọt, nhũ tương và dung dịch; hoặc các chất mang rắn như tinh bột, đường, cao lanh, chất pha loãng, chất làm trơn, chất gắn kết, chất gây rã và dạng tương tự đối với các trường hợp chế phẩm dạng bột, viên tròn, viên nang và viên nén. Do dễ sử dụng, viên nén và viên nang là các dạng đơn vị liều dùng qua đường miệng thuận lợi nhất, trong trường hợp này, các chất mang rắn dược dụng hiển nhiên được sử dụng. Cũng được bao gồm là các chế phẩm dạng rắn mà có thể được chuyển hóa, trong khoảng thời gian ngắn trước khi sử dụng, thành chế phẩm dạng lỏng.

Đặc biệt thuận lợi nếu bào chế dược phẩm nêu trên ở dạng liều đơn vị để dễ sử dụng và đồng đều về liều lượng. Dạng liều đơn vị như được sử dụng ở đây chỉ các đơn vị tách rời về mặt vật lý thích hợp làm các liều đơn nhất, mỗi đơn vị chứa lượng đã định trước của thành phần hoạt tính được tính toán để tạo ra hiệu quả điều trị bệnh mong muốn kết hợp với chất mang dược dụng cần thiết. Các ví dụ về dạng liều đơn vị này là viên nén (bao gồm viên nén có chia phần hoặc có lớp bao), viên nang, viên tròn, bột đóng gói, viên nhện (wafer), thuốc đạn, dung dịch hoặc huyền phù có thể tiêm được và dạng tương tự, và các liều chia nhỏ của chúng.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực điều trị bệnh lây nhiễm sẽ có khả năng xác định lượng có hiệu quả từ các kết quả thử nghiệm được trình bày dưới đây. Nhìn chung, dự định là lượng hằng ngày có tác dụng sẽ nằm trong khoảng từ 0,01 mg/kg đến 50 mg/kg thể trọng, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 mg/kg đến 10

mg/kg thể trọng. Có thể là thích hợp nếu sử dụng liều cần thiết ở dạng hai, ba, bốn hoặc nhiều liều chia nhỏ vào các khoảng cách thời gian thích hợp trong ngày. Các liều chia nhỏ này có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị, ví dụ, chứa từ 1 đến 1000 mg, và đặc biệt là từ 5 đến 200 mg thành phần hoạt tính trong mỗi dạng liều đơn vị.

Liều lượng và tần suất sử dụng chính xác 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 nói chung của bệnh nhân cụ thể cũng như thuốc khác mà bệnh nhân có thể đang dùng, như đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ngoài ra, hiển nhiên là lượng có hiệu quả có thể được làm giảm đi hoặc tăng lên tùy thuộc vào đáp ứng của đối tượng được điều trị và/hoặc tùy thuộc vào sự đánh giá của bác sĩ điều trị kê đơn các hợp chất theo sáng chế. Do đó, khoảng trị số về lượng có hiệu quả nêu trên chỉ là hướng dẫn và không nhằm làm giới hạn phạm vi hoặc ứng dụng của sáng chế ở bất kỳ mức độ nào.

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

Như được sử dụng ở đây, công thức hóa học bất kỳ có các liên kết chỉ thể hiện dưới dạng đường thẳng liên tục và không ở dạng liên kết liên tục hình nón cụt hoặc liên kết nét đứt hình nón cụt, hoặc được chỉ định khác có cấu hình đặc biệt (ví dụ R, S) xung quanh một hoặc nhiều nguyên tử, bao gồm từng chất đồng phân lập thể có thể, hoặc hỗn hợp của hai hoặc nhiều chất đồng phân lập thể.

Trên đây và sau đây, các thuật ngữ "hợp chất có công thức (I)" và "các chất trung gian tổng hợp có công thức (I)" có nghĩa bao gồm các chất đồng phân lập thể của nó và các dạng hỗ biến của nó.

Các thuật ngữ "các chất đồng phân lập thể", "các dạng đồng phân lập thể" hoặc "các dạng đồng phân lập thể hóa học" trên đây hoặc sau đây được sử dụng thay thế lẫn nhau.

Sáng chế bao gồm tất cả chất đồng phân lập thể của các hợp chất nêu trên theo sáng chế dưới dạng chất đồng phân lập thể tinh khiết hoặc dưới dạng hỗn hợp của hai hoặc nhiều chất đồng phân lập thể. Các chất đồng phân đối quang là các chất đồng phân lập thể là các hình ảnh qua gương không chồng khít lên nhau. Hỗn hợp tỷ lệ 1:1 của cặp chất đồng phân đối quang là raxemat hoặc hỗn hợp raxemic. Các chất đồng phân không đối quang (hoặc các chất đồng phân bất đối quang) là các chất đồng phân lập thể không phải là các chất đồng phân đối quang, nghĩa là chúng không có quan hệ về hình ảnh qua gương. Các phần tử thế trên các gốc no (một phần) dạng vòng hai giá có thể có cấu hình cis hoặc trans; ví dụ nếu hợp chất có nhóm xycloalkyl được thế hai lần, thì các phần tử thế này có thể trong cấu hình cis hoặc trans.

Thuật ngữ "các chất đồng phân lập thể" cũng bao gồm các chất đồng phân cấu dạng bất kỳ, còn được gọi là các chất đồng phân cấu dạng, mà các hợp chất có công thức (I) có thể tạo thành.

Do đó, sáng chế bao gồm các chất đồng phân đối quang, các chất đồng phân không đối quang, các raxemat, các chất đồng phân E, các chất đồng phân Z, các chất đồng phân cis, các chất đồng phân trans, các chất đồng phân cấu dạng, và hỗn hợp bất kỳ của chúng, bất cứ khi nào có thể về mặt hóa học.

Ý nghĩa của tất cả các thuật ngữ nêu trên, tức là các chất đồng phân đối quang, các chất đồng phân không đối quang, các raxemat, các chất đồng phân cis, các chất đồng phân trans và các hỗn hợp của chúng là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

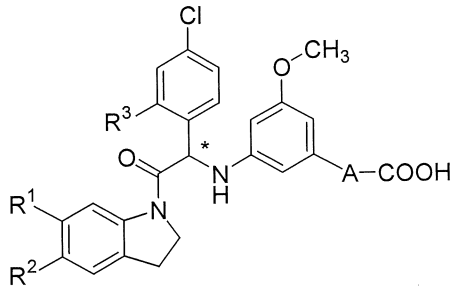
Cấu hình tuyệt đối được quy định theo hệ thống Cahn-Ingold-Prelog. Cấu hình tại nguyên tử không đối xứng được quy định là R hoặc S. Các chất đồng phân lập thể phân giải chưa biết cấu hình thuyệt đối có thể được chỉ định bằng (+) hoặc (-) tùy theo hướng chúng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực. Ví dụ, các chất đồng phân đối quang phân giải chưa biết cấu hình tuyệt đối có thể được chỉ định bằng (+) hoặc (-) tùy theo hướng chúng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực.

Khi một chất đồng phân lập thể cụ thể được xác định, điều này có nghĩa là

chất đồng phân lập thể nêu trên gần như không chứa các chất đồng phân lập thể khác, nghĩa là nó kết hợp với ít hơn 50%, tốt hơn là ít hơn 20%, tốt hơn nữa là ít hơn 10%, thậm chí tốt hơn nữa là ít hơn 5%, đặc biệt tốt hơn là ít hơn 2% và tốt nhất là ít hơn 1%, các chất đồng phân lập thể khác. Do đó, ví dụ khi hợp chất có công thức (I) được xác định là (R), điều này có nghĩa là hợp chất này gần như không chứa chất đồng phân (S); ví dụ khi hợp chất có công thức (I) là được xác định là E, điều này có nghĩa là hợp chất này gần như không chứa chất đồng phân Z; ví dụ khi hợp chất có công thức (I) là được xác định là cis, điều này có nghĩa là hợp chất này gần như không chứa chất đồng phân trans.

Một số hợp chất có công thức (I) có thể còn tồn tại dưới dạng hỗ biến của chúng. Các dạng nêu trên cho đến nay có thể tồn tại, mặc dù không được chỉ định rõ ràng trong công thức (I) nêu trên nhưng được bao gồm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Tất cả các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế đều có ít nhất một nguyên tử cacbon không đối xứng như được thể hiện trong hình dưới đây với việc nguyên tử cacbon này được đánh dấu bằng *:



(I)

Do sự có mặt của tâm không đối xứng nêu trên, "hợp chất có công thức (I)" có thể là chất đồng phân đối quang (R), chất đồng phân đối quang (S), dạng raxemic, hoặc sự kết hợp có thể bất kỳ với tỷ lệ bất kỳ của hai chất đồng phân đối quang riêng lẻ nêu trên. Khi cấu hình tuyệt đối của nguyên tử cacbon không đối xứng chưa được biết, thì ký hiệu mô tả hóa học lập thể tương đối được sử dụng: *R hoặc *S (hoặc R* và S*) để thể hiện sự tinh khiết nhưng chưa biết hóa học lập thể của tâm không đối xứng.

Khi gốc A cho phép phần tử thế có thêm nguyên tử cacbon không đối xứng, thì các hợp chất có công thức (I) có thể có nhiều hơn một nguyên tử cacbon không đối xứng. Khi hóa học lập thể tuyệt đối của nhiều hơn một nguyên tử cacbon không đối xứng chưa được xác định, thì hóa học lập thể tương đối được thể hiện bằng cách sử dụng ký hiệu mô tả hóa học lập thể tương đối *R và *S và trong đó có thể kết hợp với cis và trans khi gốc A chứa gốc dạng vòng.

Một khía cạnh của sáng chế đề cập đến nhóm thứ nhất của hợp chất có công thức (I) trong đó các hợp chất có công thức (I) có độ quay đặc trưng (-).

Một khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến nhóm thứ hai của hợp chất có công thức (I) trong đó các hợp chất có công thức (I) có độ quay đặc trưng (+).

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) có độ quay đặc trưng (+) trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất (1C), (1D), (2A), (4C), (4D), (5A), (6AB), (6BB), (7B), (8B), (9B), (10B), (11B), (12B), (13B), (14A), (15B), (17C), (17D), (18B), (19AB), (19BB), (20C), (20D), (21B), (22AB), (22BB), (23B), (24B), (25B), (27B), (28AB), (28BB), (29AB), (29BB), (30A), (31A), (32B), (33C), và (33D).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương pháp LC/MS

Tiến hành đo sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) bằng cách sử dụng bơm LC, mảng điot (DAD) hoặc máy dò UV và cột như được xác định trong các phương pháp tương ứng. Bao gồm thêm máy dò nếu cần thiết (xem bảng về các phương pháp dưới đây).

Dòng chảy từ cột được mang đến khối quang phổ kế (MS: Mass Spectrometer) được định hình bằng nguồn ion áp suất khí quyển. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có kiến thức để thiết lập việc điều chỉnh các thông số (ví dụ phạm vi quét, thời gian dừng…) để thu được các ion cho phép xác định phân tử lượng đơn đồng vị danh định của hợp chất (MW). Việc thu thập dữ liệu được tiến hành bằng phần mềm thích hợp.

Các hợp chất được mô tả bằng thời gian lưu thử nghiệm (R_t) và ion của chúng. Nếu không được xác định khác trong bảng dữ liệu, thì ion phân tử được báo cáo tương ứng với $[M+H]^+$ (phân tử proton hoá) và/hoặc $[M-H]^-$ (phân tử bị khử proton hoá). Trong trường hợp hợp chất không có khả năng ion hóa trực tiếp loại sản phẩm cộng được xác định (nghĩa là $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, v.v...). Đối với các phân tử có nhiều mẫu đồng vị (Br, Cl), giá trị được báo cáo là giá trị thu được cho khối lượng đồng vị thấp nhất. Toàn bộ kết quả thu được với những sự không chắc chắn trong thử nghiệm thường được kết hợp với phương pháp được sử dụng.

Sau đây, "SQD" nghĩa là máy dò tứ cực đơn, "MSD" là máy dò chọn lọc khối lượng, "RT" là nhiệt độ trong phòng, "BEH" là thể lai etylsiloxan/silica cầu, "DAD" là máy dò mảng diot, "HSS" là silica độ bền cao.

Các mã phương pháp LC/MS (Tốc độ dòng chảy được thể hiện theo mL/phút; nhiệt độ cột (T) theo °C; Thời gian chạy theo phút).

Mã phương pháp	Thiết bị	Cột	Pha động	Gradien	Tốc độ dòng chảy ------- Col T	Thời gian chạy (phút)
LC-A	Waters: Acquity® UPLC® - DAD-SQD	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 50 mm)	A: 10mM CH_3COONH_4 trong 95% H_2O + 5% CH_3CN B: CH_3CN	Từ 95% A đến 5% A trong 1,3 phút, được giữ trong 0,7 phút.	0,8 mL/phút ------- 55°C	2
LC-B	Waters: Acquity® UPLC® - DAD-SQD	Waters: HSS T3 (1,8 µm, 2,1 x 100 mm)	A: 10mM CH_3COONH_4 trong 95% H_2O + 5% CH_3CN B: CH_3CN	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

Mã phương pháp	Thiết bị	Cột	Pha động	Gradien	Tốc độ dòng chảy ------- Col T	Thời gian chạy (phút)
LC-C	Waters: Acquity® UPLC® - DAD-Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1 x 100 mm)	A: CH_3COONH_4 7mM 95%/ CH_3CN 5%, B: CH_3CN	84,2% A trong 0,49 phút, đến 10,5% A trong 2,18 phút, được giữ trong 1,94 phút, trở lại 84,2% A trong 0,73 phút, được giữ trong 0,73 phút.	0,343 mL/phút ------- 40°C	6,2
LC-D	Waters: Acquity® H-Class - DAD và SQD2TM	Waters BEH® C18 (1,7 µm, 2,1x100mm)	A: CH_3COONH_4 7mM 95%/ CH_3CN 5%, B: CH_3CN	84,2% A/15,8% B đến 10,5% A trong 2,18 phút, được giữ trong 1,96 phút, 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

Phương pháp SFC/MS

Tiến hành đo SFC bằng cách sử dụng hệ thống sắc ký lỏng siêu tới hạn phân tích (SFC) bao gồm bơm nhị phân phân phối cacbon dioxit (CO_2) và bộ điều chỉnh, bộ lấy mẫu tự động, lò cột, máy đo mảng diot trang bị buồng dòng chảy cao áp chịu đến 400 bar. Nếu được định hình khối quang phổ kế (MS) thì dòng chảy từ cột được mang đến (MS). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có kiến thức để thiết lập việc điều chỉnh các thông số (ví dụ phạm vi quét, thời gian dừng…) để thu được các ion cho phép xác định phân tử lượng đơn đồng vị danh định của hợp chất (MW). Việc thu thập dữ liệu được tiến hành bằng phần mềm thích hợp.

Các phương pháp SFC/MS phân tích (tốc độ dòng chảy được thể hiện theo mL/phút; nhiệt độ cột (T) theo °C; thời gian chạy theo phút, áp lực ngược (BPR: Backpressure) theo bar.

Mã phương pháp	Cột	Pha động	Gradien	Tốc độ dòng chảy --- Col T	Thời gian chạy --- BPR
SFC-A	Cột Daicel Chiralpak® OD3 (3,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH (+0,2% $iPrNH_2$)	25% B giữ trong 6 phút, đến 50% trong 1 phút giữ trong 2,5 phút	2,5 --- 40	9,5 --- 110
SFC-B	Cột Daicel Chiralpak® AD3 (3,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH (+0,2% $iPrNH_2$+3% H_2O)	10%-50% B trong 6 phút, giữ trong 3,5 phút	2,5 --- 40	9,5 --- 110
SFC-C	Cột Daicel Chiralpak® AD3 (3,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: iPrOH (+0,2% $iPrNH_2$)	10%-50% B trong 6 phút, giữ trong 3,5 phút	2,5 --- 40	9,5 --- 110
SFC-D	Cột Daicel Chiralpak® OD3 (3,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH (+0,2% $iPrNH_2$)	10%-50% B trong 6 phút, giữ trong 3,5 phút	2,5 --- 40	9,5 --- 110
SFC-E	Cột Daicel Chiralpak® AD3 (3,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH (+0,2% $iPrNH_2$)	10%-50% B trong 6 phút, giữ trong 3,5 phút	2,5 --- 40	9,5 --- 110
SFC-F	Cột Daicel Chiralcel® OJ-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	30% B giữ trong 7 phút,	3 --- 35	7 --- 100
SFC-G	Cột Daicel Chiralcel® OD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: iPrOH	40% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103
SFC-H	Cột Daicel Chiralcel® OD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	40% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103

Mã phương pháp	Cột	Pha động	Gradien	Tốc độ dòng chảy --- Col T	Thời gian chạy --- BPR
SFC-I	Cột Daicel Chiralcel® OD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH	40% B giữ từ 3 đến 6 phút,	3,5 --- 35	3 đến 6 --- 103
SFC-J	Cột Regis Whelk O1, S,S (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	40% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103
SFC-K	Cột Daicel Chiralcel® OD-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: iPrOH (+0,3% $iPrNH_2$)	35% B giữ trong 7 phút,	3 --- 35	7 --- 100
SFC-L	Cột Daicel Chiralcel® AD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH	45% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103
SFC-M	Cột Daicel Chiralcel® OD-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	40% B giữ trong 7 phút,	3 --- 35	7 --- 100
SFC-N	Cột Daicel Chiralpak® AD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH (+0,3% $iPrNH_2$)	15% B giữ trong 10 phút,	3,5 --- 35	10 --- 103
SFC-O	Cột Phenomenex Luxcellulose-2 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	25% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103
SFC-P	Cột Daicel Chiralcel® OD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	30% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103
SFC-Q	Cột Daicel Chiralcel® AD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: iPrOH (+0,3% $iPrNH_2$)	60% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103

Mã phương pháp	Cột	Pha động	Gradien	Tốc độ dòng chảy --- Col T	Thời gian chạy --- BPR
SFC-R	Cột Daicel Chiralcel® OD-3 (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH	50% B giữ từ 3 đến 6 phút,	3,5 --- 35	3 đến 6 --- 103
SFC-S	Cột Daicel Chiralcel® OD-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: EtOH (+0,3% $iPrNH_2$)	50% B giữ trong 7 phút,	3 --- 35	7 --- 100
SFC-T	Cột Regis Whelk O1, S,S (3 µm, 100 x 4,6 mm)	A: CO_2 B: MeOH	50% B giữ trong 3 phút,	3,5 --- 35	3 --- 103

Điểm nóng chảy

Các giá trị là các giá trị đỉnh hoặc khoảng nóng chảy, và thu được với những sự không chắc chắn trong thử nghiệm thường kết hợp với phương pháp phân tích này.

DSC823e (được thể hiện là DSC)

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

Độ quay quang:

Độ quay quang được đo bằng phân cực kế Perkin-Elmer 341 với đèn natri và được báo cáo như sau: $[\alpha]^{\circ}$ (λ, c g/100 ml, dung môi, T°C).

$[\alpha]_{\lambda}^{T} = (100\alpha) / (l \times c)$: Trong đó l là độ dài quãng đường theo dm và c là nồng độ theo g/100 ml cho mẫu ở nhiệt độ T (°C) và bước sóng λ (theo nm). Nếu bước sóng ánh sáng được sử dụng là 589 nm (đường D natri), thì ký hiệu D có thể được sử dụng thay thế. Ký hiệu về sự quay (+ hoặc -) phải luôn được đưa ra. Khi sử dụng công thức này, thì nồng độ và dung môi luôn được cho trong dấu ngoặc tròn

sau quay. Sự quay được báo cáo bằng cách sử dụng độ và không có đơn vị của nồng độ được đưa ra (nồng độ được coi là g/100 ml).

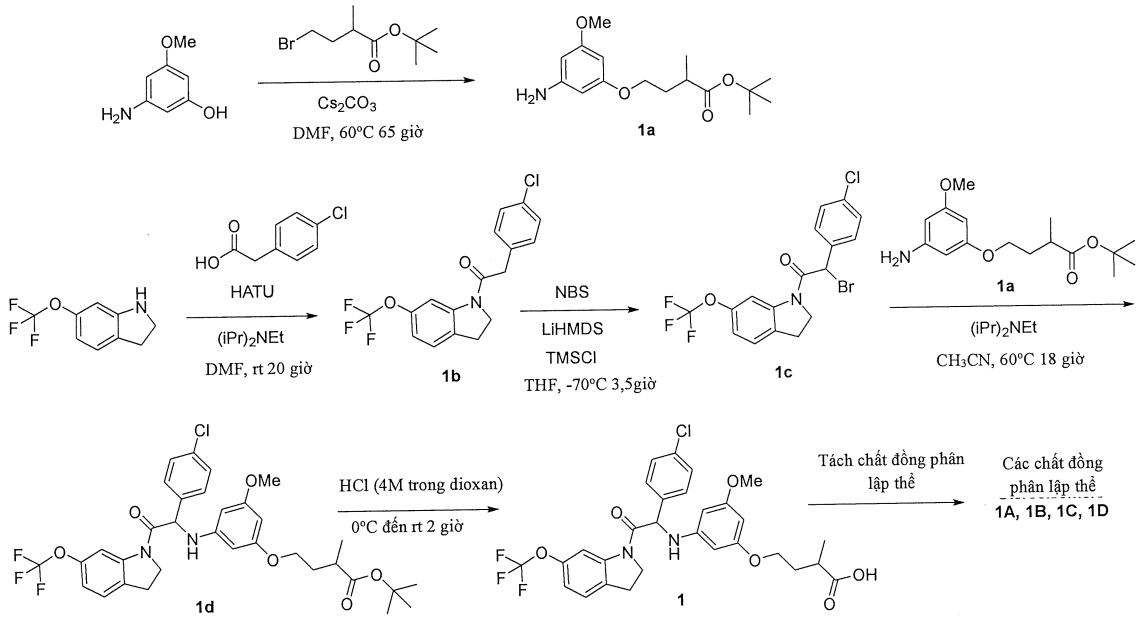
Lưu ý hoá học lập thể: Trong các ví dụ sau đây, các sự chỉ thị về hoá học lập thể *R và *S đề cập đến độ tinh khiết nhưng chưa biết hoá học lập thể của các tâm không đối xứng.

Các từ viết tắt được sử dụng trong phần thử nghiệm

$(M+H)^+$ MH^+	ion phân tử được proton hóa	$iPrNH_2$	isopropylamin
aq.	Dung dịch nước	iPrOH	2-propanol
Boc	*tert*-butyloxycarbonyl	K_2CO_3	kali carbonat
Boc_2O	di-tert-butyl dicarbonat	KNO_3	kali nitrat
br	rộng	$LiAlH_4$	lithi nhôm hydrua
CH_3CN	axetonitril	m/z	Tỷ số khối lượng với điện tích
$CHCl_3$	clorofom	Me	metyl
CH_2Cl_2	diclometan	MeOH	metanol
CH_3OH	metanol	$MgSO_4$	magie sulfat
CO_2	cacbon dioxit	min	phút
CsCO3	xesi carbonat	MTBE	metyl-tert-butylete
d	vạch đôi	N_2	nitơ
DCM	diclometan	Na_2CO_3	natri carbonat
DIEA	diisopropyletylamin	Na_2SO_4	natri sulfat
DIPE	diisopropyl ete	$NaBH_4$	natri borohydrua
DMA	dimetylaxetamit	NaCl	natri clorua
DMAP	4-dimetylaminopyridin	$NaHCO_3$	natri bicarbonat
DME	1,2-dimetoxyetan	NaOH	natri hydroxit
DMF	dimetylformamit	NH_4Cl	amoni clorua
DMSO	dimetyl sulfoxit	NH_4HCO_3	amoni bicarbonat
EDCl	1-etyl-3-(3-dimetylamino-propyl)carbodiimit	NMP	N-metylpyrrolidon

eq.	đương lượng	q	vạch bốn
Et_2O	dietyl ete	rt hoặc RT	nhiệt độ trong phòng
Et_3N	trietylamin	SEMCl	2-(trimetylsilyl)etoxymetyl clorua
EtOAc	etyl axetat	s	vạch đơn
EtOH	etanol	t	vạch ba
H_2	hydro	tBuOK	kali *tert*-butanolaat
HNO_3	axit nitric	TEA	trietylamin
H_2O	nước	TFA	axit trifloroaxetic
H_2SO_4	axit sulfuric	THF	tetrahydrofuran
HATU	O-(7-aza-1H-benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyl-uronium hexaflophosphat - CAS [148893-10-1]	2-Me-THF	2-metyltetrahydrofuran
HCl	axit clohydric	TMSCl	trimetylsilyl clorua
HPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cao	TMSCF3	triflometyltrimetylsilan

Ví dụ 1: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoic (Hợp chất **1**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **1A**, **1B**, **1C** và **1D**



Tổng hợp chất trung gian 1a:

Dung dịch đã được khuấy chứa *tert*-butyl 4-bromo-2-metylbutanoat [CAS 1210410-44-8] (1,0 g, 4,22 mmol) trong DMF (15 mL) được thêm 3-amino-5-metoxyphenol [CAS 162155-27-3] (587 mg, 4,22 mmol) và Cs_2CO_3 (2,75 g, 8,43 mmol). Phản ứng được khuấy ở 60°C trong 65 giờ, và được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được rót vào H_2O (100 mL). Sản phẩm được chiết bằng CH_2Cl_2 (2 lần). Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (50 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc từ 100/0 đến 50/50. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN, tạo ra *tert*-butyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **1a** (440 mg).

Tổng hợp chất trung gian 1b:

Hỗn hợp chứa axit 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (5 g, 24,6 mmol), 2-(4-clophenyl)axetic [CAS 1878-66-6] (4,2 g, 24,6 mmol), HATU (14,3 g, 36,9 mmol) và diisopropyletylamin (12,2 mL, 73,8 mmol) trong DMF (60 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ. Hỗn hợp này được rót chậm vào H_2O đang được khuấy (275 mL) và huyền phù tạo ra được khuấy trong 50 phút. Các chất rắn được lọc ra và được rửa (4 lần) bằng H_2O. Chất cặn rắn được cho vào toluen (125 mL), được lọc bằng bộ lọc giấy, và dịch lọc được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn rắn được khuấy trong Et_2O/heptan 2/1 (30 mL), được lọc, được rửa (3 lần) bằng Et_2O/heptan 1/1, và được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra 2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1b** (7,33 g).

Tổng hợp chất trung gian 1c:

Ở -70°C, dưới dòng N_2, LiHMDS 1M trong THF (41,2 mL, 41,2 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa 2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1b** (7,33 g, 20,6 mmol) trong 2-Me-THF (300 mL). Hỗn hợp này được khuấy trong 50 phút ở -70°C và thêm chậm trimetylsilyl clorua (4,21 mL, 33,0 mmol). Tiếp tục khuấy ở -70°C trong 35 phút và thêm từng

giọt dung dịch chứa *N*-bromosuxinimit (4,03 g, 22,7 mmol) trong THF (40 mL) và 2-Me-THF (60 mL). Sau khi khuấy trong 3,5 giờ ở -70°C, dừng phản ứng bằng dung dịch bão hoà của NH_4Cl (300 mL). Hỗn hợp này được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Nước (50 mL) và nước muối (50 mL) được thêm. Hỗn hợp này được chiết bằng diisopropyl ete (150 mL). Lớp hữu cơ được tách, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN để tạo ra 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (7,87 g).

Tổng hợp chất trung gian 1d:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (850 mg, 1,96 mmol), *tert*-butyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **1a** (620 mg, 2,10 mmol) và diisopropyletylamin (506 µL, 2,93 mmol) trong CH_3CN (30 mL) được khuấy ở 60°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng, và được rót vào nước (125 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 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 dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với dioxan để tạo ra *tert*-butyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **1d** (1,27 g).

Tổng hợp hợp chất 1 và tách thành các chất đồng phân lập thể 1A, 1B, 1C và 1D:

Dung dịch được làm lạnh (bể đá) chứa *tert*-butyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **1d** (1,27 g, 1,96 mmol) trong 4M HCl trong dioxan (9 mL) được khuấy ở 0°C trong 20 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Chất kết tủa được lọc, được rửa (3 lần) bằng dioxan và chất rắn được làm khô bằng không khí để tạo ra axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoic dưới dạng muối HCl (Hợp chất **1**, 900 mg).

4 chất đồng phân lập thể của hợp chất **1** (900 mg) được tách bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, iPrOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Các chất đồng phân lập thể trong các phân đoạn sản phẩm của hai đỉnh được rửa giải chưa được tách hoàn toàn và cần được tách thêm bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, EtOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm.

Chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) với gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc từ 100/0/0/0 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN. Sản phẩm được làm đông khô từ hỗn hợp dung môi chứa CH_3CN (2 mL) và H_2O (1,2 mL) để tạo ra chất đồng phân lập thể **1A** (63 mg).

Chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) với gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc từ 100/0/0/0 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và được làm bay hơi, và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN. Sản phẩm được làm đông khô từ hỗn hợp dung môi chứa CH_3CN (2 mL) và H_2O (1,2 mL) để tạo ra chất đồng phân lập thể **1B** (79 mg).

Chất đồng phân lập thể thứ ba được rửa giải được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pha ổn định: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 µm, 30 x 150 mm, pha động: 0,25% dung dịch NH_4HCO_3 trong nước, CH_3CN). Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và các chất bay hơi hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được trộn với EtOAc (25 mL) và 1N HCl (0,5 mL). Sau khi khuấy trong 10 phút, các lớp được tách. Lớp hữu cơ được phân lập, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN. Chất cặn được làm đông khô từ hỗn hợp dung môi chứa CH_3CN (1,5 mL) và H_2O (0,75 mL) để tạo ra chất đồng phân lập thể **1C** (62 mg).

Chất đồng phân lập thể thứ tư được rửa giải được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) với gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc từ 100/0/0/0 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN. Sản phẩm được làm đông khô từ hỗn hợp dung môi chứa CH_3CN (2 mL) và H_2O (1,2 mL) để tạo ra chất đồng phân lập thể **1D** (105 mg)

Hợp chất 1:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,10 (dd, *J*=7,0, 1,3 Hz, 3 H) 1,69 (dq, *J*=13,6, 6,7 Hz, 1 H) 1,91 - 2,01 (m, 1 H) 2,43 - 2,48 (m, 1 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,85 (br t, *J*=6,5 Hz, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,3, 7,2 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,4 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,89 - 5,98 (m, 2 H) 6,43 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,3, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,40 - 7,47 (m, 2 H) 7,51 - 7,58 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,14 phút, MH^+ 593

Chất đồng phân lập thể 1A:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,10 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H) 1,69 (dq, *J*=13,5, 6,6 Hz, 1 H) 1,91 - 2,01 (m, 1 H) 2,46 - 2,48 (m, 1 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,85 (t, *J*=6,6 Hz, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,3, 6,9 Hz, 1 H) 4,45 - 4,57 (m, 1 H) 5,55 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 - 5,96 (m, 2 H) 6,43 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,3, 1,7 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,40 - 7,46 (m, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: -37,6° (c 0,415, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 3,52 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 1B:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,09 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H) 1,69 (dq, *J*=13,6, 6,6 Hz, 1 H) 1,91 - 2,01 (m, 1 H) 2,44 - 2,48 (m, 1 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,79 - 3,90 (m, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,4, 7,2 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,55 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 - 5,97 (m, 2 H) 6,43 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=7,8 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=7,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: -65,3° (c 0,455, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 4,15 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 97,1%.

Chất đồng phân lập thể 1C:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,11 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H) 1,70 (dq, *J*=13,5, 6,5 Hz, 1 H) 1,90 - 2,03 (m, 1 H) 2,44 - 2,49 (m, 1 H) 3,07 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,86 (t, *J*=6,6 Hz, 2 H) 3,98 - 4,11 (m, 1 H) 4,46 - 4,57 (m, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,1 Hz, 1 H) 5,90 - 5,99 (m, 2 H) 6,44 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=7,9, 1,8 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=7,8 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,18 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: +35,2° (c 0,455, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 2,84 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 99,3%.

Chất đồng phân lập thể 1D:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,10 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H) 1,70 (dq, *J*=13,5, 6,6 Hz, 1 H) 1,92 - 2,02 (m, 1 H) 2,46 - 2,49 (m, 1 H) 3,09 - 3,29 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,80 - 3,92 (m, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,5, 7,0 Hz, 1 H) 4,53 (td, *J*=10,4, 6,5 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,93 - 5,97 (m, 2 H) 6,44 (d,

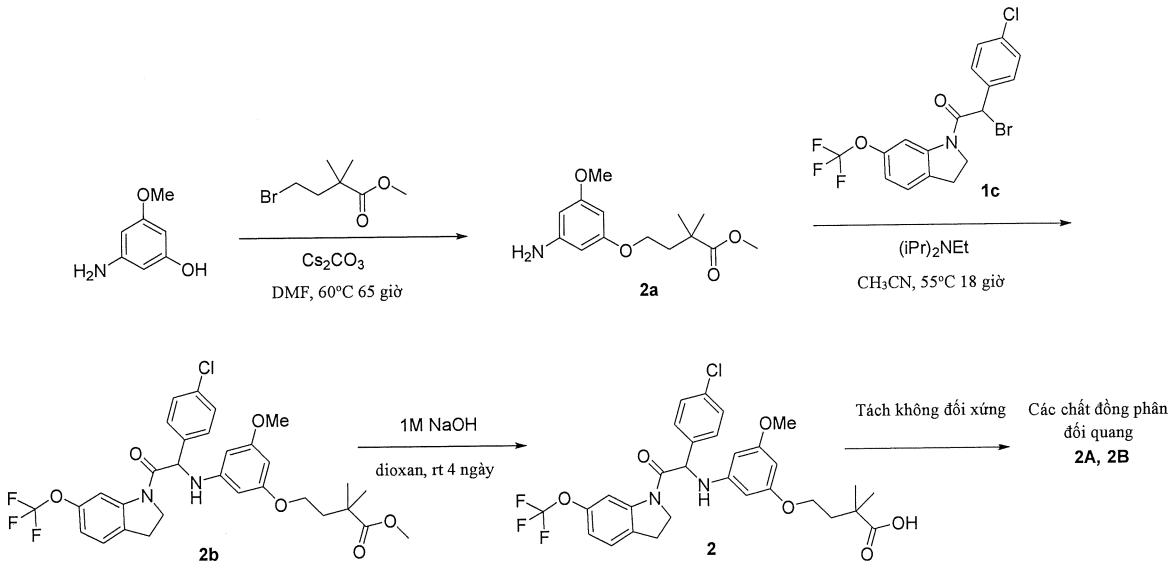
J=8,6 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,40 - 7,47 (m, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,17 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: +64,3° (c 0,42, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-A): R_t 2,65 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 98,1%.

Ví dụ 2: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoic(Hợp chất **2**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **2A và 2B**



Tổng hợp chất trung gian 2a:

Dung dịch đã được khuấy chứa metyl 4-bromo-2,2-dimetylbutanoat [CAS 4833-99-2] (2,5 g, 12 mmol) trong DMF (35 mL) được thêm 3-amino-5-metoxyphenol [CAS 162155-27-3] (1,66 g, 12 mmol) và Cs_2CO_3 (7,79 g, 23,9 mmol). Phản ứng được khuấy ở 60°C trong 65 giờ, và được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được rót vào H_2O (150 mL). Sản phẩm được chiết bằng CH_2Cl_2. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được được lọc, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica

gel (25 g) sử dụng gradien heptan/CH_2Cl_2/MeOH 100/0/0 đến 0/100/0 đến 0/99/1. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với toluen. Các chất rắn được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra metyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **2a** (440 mg).

Tổng hợp chất trung gian 2b:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (1,57 g, 3,61 mmol), metyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **2a** (970 mg, 3,63 mmol) và diisopropyletylamin (961 µL, 5,58 mmol) trong CH_3CN (25 mL) được khuấy ở 55°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng, và được rót vào nước (125 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (40 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 dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với dioxan để tạo ra metyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **2b** (2,24 g).

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

1M NaOH trong nước (9 mL, 9 mmol) được thêm vào dung dịch đang được khuấy chứa metyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **2b** (2,24 g, 3,61 mmol) trong dioxan (15 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 ngày. 1N HCl (10 mL) được thêm chậm. Sau khi khuấy trong 20 phút, sản phẩm được chiết bằng Et_2O. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn (2,9 g) được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (80 g) với gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc từ 100/0/0/0 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn mong muốn được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với diisopropyl ete. Chất cặn (1,6 g) được

tinh chế thêm bằng HPLC điều chế (Pha ổn định: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 µm, 50 x 150 mm, pha động: 0,5% dung dịch NH_4Ac trong nước + 10% CH_3CN, MeOH). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại, và các chất bay hơi hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được phân tách giữa 2-Me-THF (300 mL) và nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế thêm bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) với gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc từ 100/0/0/0 đến 0/75/24,5/0,5 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất rắn dạng bọt được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoic (Hợp chất **2**, 0,97 g) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Các chất đồng phân đối quang của hợp chất **2** (800 mg) được tách bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, EtOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm thứ nhất được rửa giải được trộn với EtOAc (15 mL), nước (5 mL) và 1N HCl (1 mL). Sau khi khuấy trong 15 phút, các lớp được tách. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với MeOH. Chất cặn được nghiền nhỏ với nước (4 mL) và MeOH (1,5 mL) trong khi làm lạnh trên bể đá. Các chất rắn được lọc, được rửa (4 lần) bằng H_2O/MeOH 4/1, và được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra chất đồng phân đối quang **2A** (292 mg). Sản phẩm thứ hai được rửa giải được trộn với EtOAc (15 mL), nước (5 mL) và 1N HCl (1 mL). Sau khi khuấy trong 30 phút, các lớp được tách. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với MeOH. Chất cặn được nghiền nhỏ với nước (4 mL) và MeOH (1,5 mL) trong khi làm lạnh trên bể đá. Các chất rắn được lọc, được rửa (4 lần) bằng H_2O/MeOH 2/1, và được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra chất đồng phân đối quang **2B** (342 mg).

Hợp chất 2:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,13 (d, *J*=2,6 Hz, 6 H) 1,87 (t, *J*=7,2 Hz, 2 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,85 (t, *J*=7,2 Hz, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,4, 7,2 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,2 Hz, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,90 - 5,96 (m, 2 H) 6,43 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,3, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,39 - 7,48 (m, 2 H) 7,50 - 7,60 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,19 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,22 phút, MH^+ 607

Chất đồng phân đối quang 2A:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,13 (d, *J*=2,6 Hz, 6 H) 1,87 (t, *J*=7,3 Hz, 2 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,85 (t, *J*=7,2 Hz, 2 H) 3,97 - 4,12 (m, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=2,1 Hz, 1 H) 5,90 - 5,96 (m, 2 H) 6,43 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,39 - 7,49 (m, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,20 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,23 phút, MH^+ 607

$[\alpha]_D^{20}$: +49,6° (c 0,56, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 6,47 phút, MH^+ 607 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 2B:

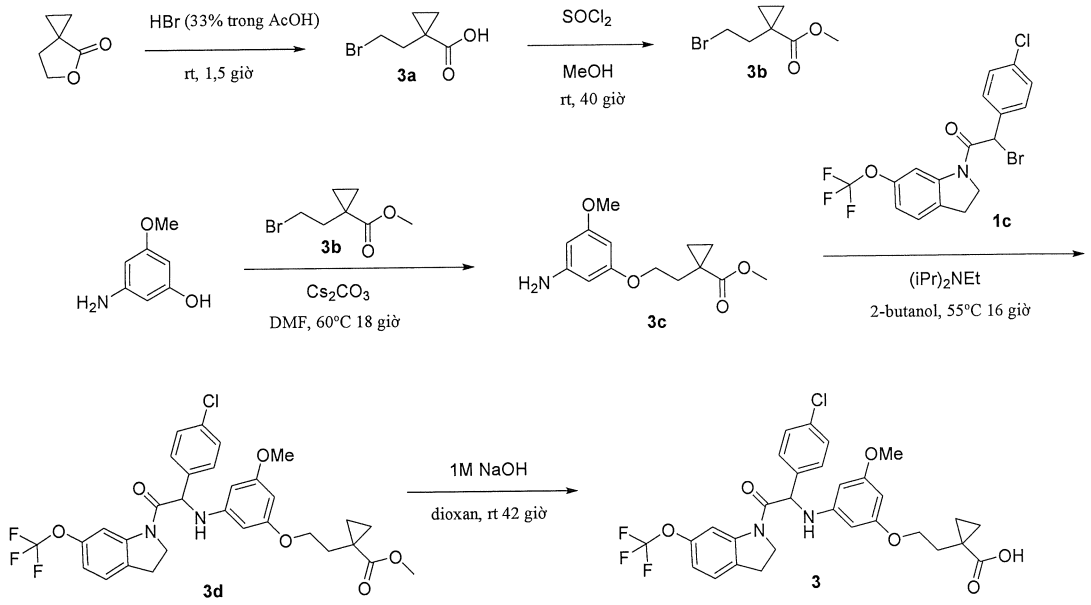
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,13 (d, *J*=2,6 Hz, 6 H) 1,87 (t, *J*=7,2 Hz, 2 H) 3,08 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,85 (t, *J*=7,2 Hz, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,3, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,90 - 5,96 (m, 2 H) 6,43 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,41 - 7,46 (m, 2 H) 7,55 (m, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,20 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,23 phút, MH^+ 607

$[\alpha]_D^{20}$: -49,2° (c 0,445, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-B): R_t 7,18 phút, MH^+ 607 độ tinh sạnh không đối xứng 98,8%.

Ví dụ 3: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoic (Hợp chất **3**)



Tổng hợp chất trung gian 3a:

5-oxaspiro[2,4]heptan-4-on (930 mg, 8,29 mmol) được trộn với dung dịch chứa 33% HBr trong AcOH (8 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, và được rót vào đá-nước (50 mL). Sau khi khuấy trong 10 phút, sản phẩm được lọc, được rửa (5 lần) bằng nước và được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra axit 1-(2-bromoetyl)xyclopropan-1-carboxylic **3a** (753 mg).

Tổng hợp chất trung gian 3b:

Dung dịch chứa axit 1-(2-bromoetyl)xyclopropan-1-carboxylic **3a** (540 mg, 2,8 mmol) trong MeOH (11 mL) được khuấy trong khí quyển N_2 trong khi làm lạnh trên bể đá. Thionyl clorua (304 µL, 4,2 mmol) được thêm từng giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 giờ. Các dung môi được làm bay

hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN để tạo ra metyl 1-(2-bromoetyl)xyclopropan-1-carboxylat **3b** (380 mg).

Tổng hợp chất trung gian 3c:

Dung dịch đã được khuấy chứa metyl 1-(2-bromoetyl)xyclopropan-1-carboxylat **3b** (380 mg, 1,84 mmol) trong DMF (10 mL) được thêm 3-amino-5-metoxyphenol [CAS 162155-27-3] (250 mg, 1,80 mmol) và Cs_2CO_3 (1,17 g, 3,59 mmol). Phản ứng được khuấy ở 60°C trong 18 giờ, và được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được rót vào H_2O (60 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với toluen. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) sử dụng gradien heptan/CH_2Cl_2/MeOH 100/0/0 đến 0/100/0 đến 0/99/1. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN để tạo ra metyl 1-(2-(3-amino-5-metoxyphenoxy) etyl)xyclopropan-1-carboxylat **3c** (220 mg).

Tổng hợp chất trung gian 3d:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (320 mg, 0,736 mmol), metyl 1-(2-(3-amino-5-metoxyphenoxy)etyl)xyclopropan-1-carboxylat **3c** (220 mg, 0,829 mmol) và diisopropyletylamin (254 µL, 1,47 mmol) trong 2-butanol (7,5 mL) được khuấy ở 55°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng, và được rót vào nước (25 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc/EtOH từ 100/0/0 đến 60/30/10. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với dioxan để tạo ra metyl 1-(2-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)etyl)xyclopropan-1-carboxylat **3d** (456 mg).

Tổng hợp hợp chất 3:

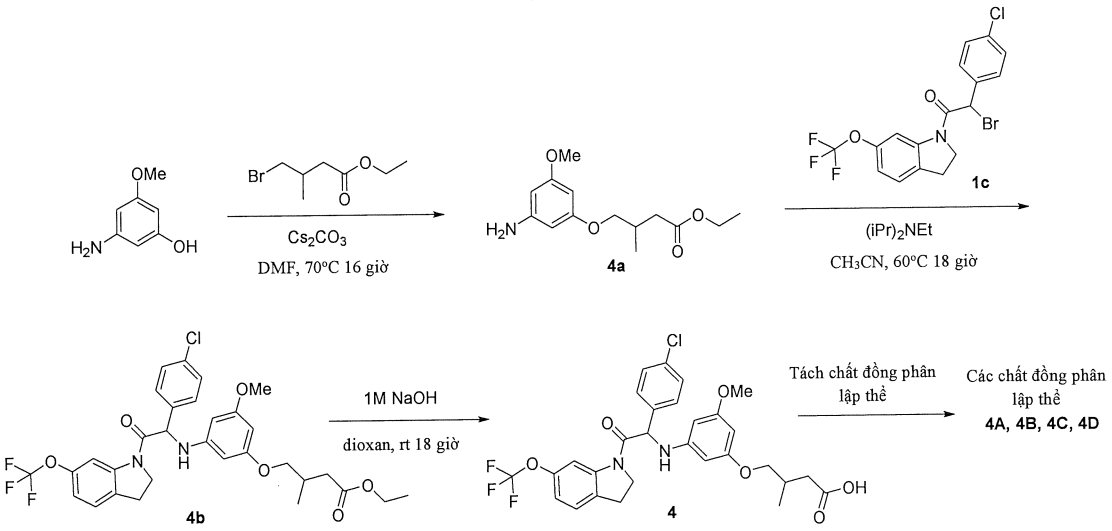
1M NaOH trong nước (1,84 mL, 1,84 mmol) được thêm vào dung dịch đang được khuấy chứa metyl 1-(2-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)etyl)xyclopropan-1-carboxylat **3d** (0,456 mg, 0,737 mmol) trong dioxan (3 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong khí quyển N_2 trong 42 giờ. Nước (15 mL) và 1N HCl (2 mL) được thêm. Sau khi khuấy trong 10 phút, sản phẩm được lọc, được rửa (3 lần) bằng nước và được làm khô trong chân không ở 45°C. Chất cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Pha ổn định: RP XBridge® Prep C18 OBD – 10 µm, 30 x 150 mm, pha động: 0,25% dung dịch NH_4HCO_3 trong nước, CH_3CN). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và các dung môi hữu cơ được làm bay hơi. Dung dịch nước còn lại được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với MeOH. Bọt tạo ra được khuấy trong H_2O/MeOH 3/1 (4 mL), được lọc ra, được rửa (3 lần) bằng H_2O/MeOH 3/1, và được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra axit 1-(2-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)etyl)xyclopropan-1-carboxylic (Hợp chất **3**, 255 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Hợp chất 3:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,73 - 0,84 (m, 2 H) 1,00 - 1,11 (m, 2 H) 1,81 - 1,91 (m, 2 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,97 (t, *J*=7,3 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,3, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,55 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 5,77 (t, *J*=2,1 Hz, 1 H) 5,90 - 5,98 (m, 2 H) 6,42 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,00 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,39 - 7,49 (m, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,19 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,19 phút, MH^+ 605

Ví dụ 4: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-3-metylbutanoic (Hợp chất **4**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **4A**, **4B**, **4C và 4D**



Tổng hợp chất trung gian 4a:

Dung dịch đã được khuấy chứa etyl 4-bromo-3-metylbutanoat [CAS 56703-10-7] (1,0 g, 4,78 mmol) trong DMF (15 mL) được thêm 3-amino-5-metoxyphenol [CAS 162155-27-3] (666 mg, 4,78 mmol) và Cs_2CO_3 (3,12 g, 9,57 mmol). Phản ứng được khuấy ở 70°C trong 16 giờ, và được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được rót vào H_2O (75 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (25 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc từ 100/0 đến 50/50. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN, tạo ra etyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-3-metylbutanoat **4a** (430 mg).

Tổng hợp chất trung gian 4b:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (430 mg, 1,15 mmol), etyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-3-metylbutanoat **4a** (430 mg, 1,61 mmol) và diisopropyletylamin (396 µL, 2,30 mmol) trong CH_3CN (15 mL) được khuấy ở 60°C trong 18 giờ trong khí quyển N_2. Hỗn hợp này được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng, và được rót vào nước (75 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước

muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (12 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc/EtOH từ 100/0/0 đến 40/45/15. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với EtOH để tạo ra etyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-3-metylbutanoat **4b** (714 mg).

Tổng hợp hợp chất 4 và tách thành các chất đồng phân lập thể 4A, 4B, 4C và 4D:

1M NaOH trong nước (2,9 mL, 2,9 mmol) được thêm vào dung dịch đang được khuấy chứa etyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-3-metylbutanoat **4b** (714 mg, 1,15 mmol) trong hỗn hợp dung môi chứa dioxan (5 mL) và EtOH (2 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. 1N HCl (3 mL) được thêm chậm. Sau khi khuấy trong 2 phút, sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được tách, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (40 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc 100/0/0/0 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được khuấy trong Et_2O (5 mL). Các chất rắn được lọc, được rửa (3 lần) bằng Et_2O, và được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-3-metylbutanoic (Hợp chất **4**, 290 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

4 chất đồng phân lập thể của hợp chất **4** (274 mg) được tách bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, iPrOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Các chất đồng phân lập thể trong các phân đoạn sản phẩm của các đỉnh thứ hai và thứ ba chưa được tách hoàn toàn và cần được tách thêm bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, EtOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. 4 chất đồng phân lập thể được hoá rắn

bằng đông khô từ hỗn hợp dung môi chứa CH_3CN và nước để tạo ra các chất đồng phân lập thể **4A** (72 mg), **4B** (35 mg), **4C** (35 mg) và **4D** (67 mg).

Hợp chất 4:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,96 (d, *J*=6,6 Hz, 3 H) 2,05 - 2,15 (m, 1 H) 2,16 - 2,28 (m, 1 H) 2,39 (dd, *J*=15,4, 5,5 Hz, 1 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,65 - 3,75 (m, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,2 Hz, 1 H) 4,43 - 4,59 (m, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,93 (t, *J*=1,8 Hz, 1 H) 5,97 (s, 1 H) 6,43 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=7,8 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,10 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,07 phút, MH^+ 593

Chất đồng phân lập thể 4A:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,96 (d, *J*=6,8 Hz, 3 H) 2,05 - 2,13 (m, 1 H) 2,22 (dq, *J*=13,1, 6,6 Hz, 1 H) 2,33 - 2,40 (m, 1 H) 3,06 - 3,21 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,65 - 3,76 (m, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,2 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,1, 6,4 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,93 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,97 (t, *J*=1,7 Hz, 1 H) 6,43 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,00 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,43 (m, *J*=8,6 Hz, 2 H) 7,55 (m, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 11,51 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,04 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: -59,6° (c 0,245, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-C): R_t 5,84 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 4B:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,96 (d, *J*=6,6 Hz, 3 H) 2,07 - 2,14 (m, 1 H) 2,22 (dq, *J*=13,2, 6,5 Hz, 1 H) 2,38 (dd, *J*=15,2, 5,5 Hz, 1 H) 3,02 - 3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,65 - 3,76 (m, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,3, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,5, 6,2 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,93 (t, *J*=1,8

Hz, 1 H) 5,97 (t, *J*=1,7 Hz, 1 H) 6,43 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,00 (dd, *J*=8,0, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,41 - 7,46 (m, 2 H) 7,55 (m, *J*=8,4 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,00 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,04 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: -47,5° (c 0,255, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-C): R_t 6,34 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 98,0%.

Chất đồng phân lập thể 4C:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,96 (d, *J*=6,6 Hz, 3 H) 2,06 - 2,14 (m, 1 H) 2,22 (dq, *J*=13,3, 6,4 Hz, 1 H) 2,37 (dd, *J*=15,3, 5,6 Hz, 1 H) 3,08 - 3,22 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,66 - 3,74 (m, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,5, 7,0 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,1 Hz, 1 H) 5,93 (t, *J*=1,7 Hz, 1 H) 5,97 (t, *J*=1,8 Hz, 1 H) 6,44 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,44 (m, *J*=8,6 Hz, 2 H) 7,55 (m, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 10,85 - 12,62 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,04 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: +47,7° (c 0,26, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-C): R_t 6,31 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 4D:

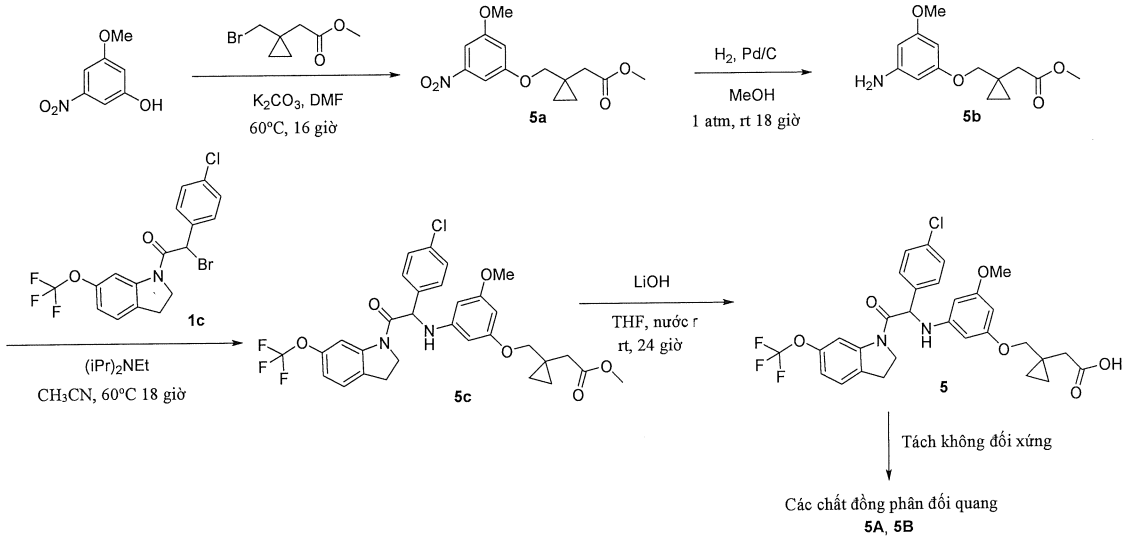
^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,96 (d, *J*=7,0 Hz, 3 H) 2,06 - 2,15 (m, 1 H) 2,17 - 2,28 (m, 1 H) 2,38 (dd, *J*=15,4, 5,5 Hz, 1 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,65 - 3,76 (m, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,4 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,93 (t, *J*=1,5 Hz, 1 H) 5,97 (t, *J*=1,5 Hz, 1 H) 6,46 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,44 (m, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,55 (m, *J*=8,4 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 11,95 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,04 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: +60,7° (c 0,285, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-C): R_t 7,58 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 5: tổng hợp axit 2-(1-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflo-metoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl)axetic (Hợp chất **5**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **5A và 5B**



Tổng hợp chất trung gian 5a:

Metyl 2-(1-(bromometyl)xyclopropyl)axetat [855473-50-6] (306 mg, 1,478 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (250 mg, 1,478 mmol) và K_2CO_3 (306 mg, 2,217 mmol) trong DMF (2,5 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 60°C trong 16 giờ. Phản ứng được làm mát đến 0°C, và được pha loãng bằng nước và đá. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 2-(1-((3-metoxy-5-nitrophenoxy) metyl)xyclopropyl) axetat **5a**. Hiệu suất được coi như định lượng. Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 5b:

Dung dịch chứa metyl 2-(1-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)xyclopropyl) axetat **5a** (520 mg, 1,761 mmol) trong MeOH (8 mL), chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (300 mg, 0,282 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng EtOAc. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi để tạo ra metyl 2-(1-((3-amino-5-metoxyphenoxy) metyl)xyclopropyl)axetat **5b** (390 mg), được sử dụng mà không cần tinh chế thêm trong bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 5c:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (250 mg, 0,575 mmol), metyl 2-(1-((3-amino-5-metoxy-phenoxy)metyl)xyclopropyl)axetat **5b** (184 mg, 0,575 mmol) và diisopropyletylamin (200 µL, 1,15 mmol) trong CH_3CN (7,5 mL) được khuấy ở 60°C trong 18 giờ. Dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm. Đá/nước được thêm và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (30 µm, 24 g, heptan/EtOAc 75/25). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được kết tinh từ CH_3CN/diisopropyl ete và được làm khô để tạo ra metyl 2-(1-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflo-metoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl)axetat **5c** (206 mg).

Tổng hợp hợp chất 5 và tách thành các chất đồng phân đối quang 5A và 5B:

LiOH monohydrat (63 mg, 1,502 mmol) trong nước (1,63 mL) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa metyl 2-(1-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl)axetat **5c** (186 mg, 0,3 mmol) trong THF (3,7 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. 3N HCl được thêm để axit hoá hỗn hợp phản ứng, và dung dịch nước được chiết bằng

EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được kết tinh từ CH_3CN/diisopropyl ete và được làm khô để tạo ra axit 2-(1-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl) xyclopropyl)axetic (Hợp chất **5**, 115 mg).

Việc tách các chất đồng phân đối quang của hợp chất **5** (71 mg) được tiến hành bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel AD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, EtOH + 0,4% $iPrNH_2$). Đối với cả hai chất đồng phân đối quang, các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Các chất cặn được phân tách giữa nước và Et_2O. Các hỗn hợp này được axit hoá đến độ pH=1-2 bằng cách thêm 1N HCl và các lớp được tách. Lớp nước lại được chiết bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Các chất cặn được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra chất đồng phân đối quang **5A** (22 mg) và chất đồng phân đối quang **5B** (23 mg) dưới dạng các bột màu trắng nhờ.

Hợp chất 5:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,49 – 0,55 (m, 4 H) 2,33 (s, 2 H) 2,99 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,73 (s, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,40, 7,25 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,25, 6,31 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=9,14 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 6,45 (d, *J*=9,14 Hz, 1 H) 7,02 (br d, *J*=9,14 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 3 H) 8,03 (s, 1 H) 12,01 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,18 phút, MH^+ 605

MP = 111°C

Chất đồng phân đối quang 5A:

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,46 - 0,58 (m, 4 H) 2,33 (s, 2 H) 3,04 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,72 (s, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=9,1 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 (t, *J*=1,6 Hz, 1 H) 5,94 - 5,97 (m, 1 H) 6,45 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz,

1 H) 7,33 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,51 - 7,59 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: +37,0° (c 0,135, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-E): R_t 5,84 phút, MH^+ 605 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 5B:

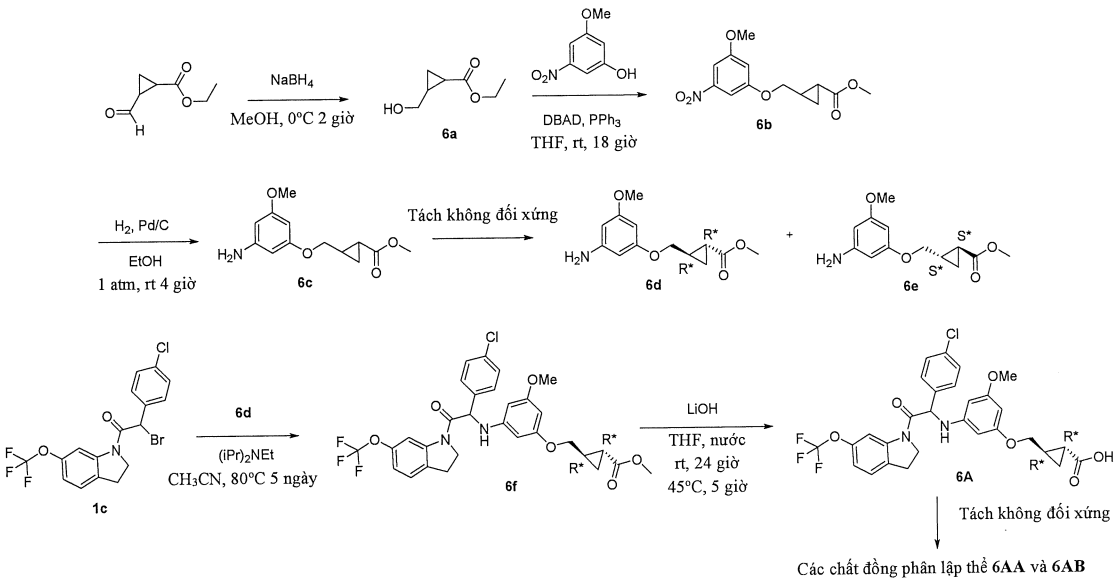
^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,46 - 0,57 (m, 4 H) 2,33 (s, 2 H) 3,05 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,72 (s, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,4 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 (t, *J*=1,8 Hz, 1 H) 5,94 - 5,97 (m, 1 H) 6,45 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,50 - 7,61 (m, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,11 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,15 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: -48,8° (c 0,16, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-E): R_t 6,53 phút, MH^+ 605 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 6A: tổng hợp axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **6A**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **6AA** và **6AB**



Tổng hợp chất trung gian 6a:

Dung dịch chứa etyl 2-formylxyclopropancarboxylat [20417-61-2] (9 mL, 67,996 mmol) trong MeOH (200 mL) được thêm từng phần $NaBH_4$ (5,15 g, 133,993 mmol) ở 0°C và hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. CH_2Cl_2 và nước được thêm. Các lớp được tách; lớp nước được chiết bằng CH_2Cl_2 và các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 2-(hydroxymetyl)xyclopropancarboxylat **6a** (9,15 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 6b:

Di-*tert*-butyl azodicarboxylat (4,8 g, 20,809 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (3,2 g, 18,917 mmol), etyl 2-(hydroxymetyl)xyclopropancarboxylat **6a** (3 g, 20,809 mmol), và PPh_3 (5,46 g, 20,809 mmol) trong THF (150 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong N_2 trong 18 giờ. Dung dịch được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn thô được tinh chế bằng LC điều chế (SiOH không đều 20-45 µm, 220 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 2-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)xyclopropancarboxylat **6b** (1,4 g).

Tổng hợp chất trung gian 6c và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 6d và 6e:

Dung dịch chứa metyl 2-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl) xyclopropancarboxylat **6b** (1,3 g, 4,402 mmol) trong EtOH (65 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (750 mg, 0,704 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng EtOAc. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi. Chất cặn thô được tinh chế bằng LC điều chế (SiOH không đều 20-45 µm, 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được làm bay hơi đến khô để tạo ra metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy) metyl)xyclopropancarboxylat **6c** (780 mg). Các chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 80% CO_2, 20% EtOH) để tạo ra chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **6d** (*trans R*,R**, 344 mg, $[\alpha]_D^{20}$: -78,6° (c 0,257, DMF)) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **6e** (*trans S*,S**, 371 mg, $[\alpha]_D^{20}$: +74,5° (c 0,251, DMF)).

Tổng hợp chất trung gian 6f:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (376 mg, 0,864 mmol), (1*R**,2*R**)-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropancarboxylatmetoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl)a xetat **6d** (344 mg, 1,297 mmol) và diisopropyletylamin (298 µL, 1,729 mmol) trong CH_3CN (12 mL) được khuấy ở 80°C trong 5 ngày. Dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm. Đá/nước được thêm và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (25-30 µm, 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra (1*R**,2*R**)-metyl 2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **6f** (500 mg).

Tổng hợp hợp chất 6A và tách không đối xứng thành các chất đồng phân lập thể 6AA và 6AB:

LiOH monohydrat (169 mg, 4,039 mmol) trong nước (10 mL) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa (1*R**,2*R**)-metyl 2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclo-propancarboxylat **6f** (500 mg, 0,808 mmol) trong THF (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ và ở 45°C trong 5 giờ. 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch, và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (20-45 µm, 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropancarboxylic (Hợp chất **6A**, 780 mg). Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 55% CO_2, 45% iPrOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải **6AA** (123 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải **6AB** (125 mg).

Chất đồng phân lập thể 6AA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,75 - 0,96 (m, 1 H) 1,00 – 1,07 (m, 1 H) 1,44 - 1,57 (m, 1 H) 1,57 - 1,70 (m, 1 H) 3,09 - 3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,69 (br dd, *J*=10,25, 7,72 Hz, 1 H) 3,80 - 3,95 (m, 1 H) 4,00 – 4,09 (m, 1 H) 4,39 - 4,65 (m, 1 H) 5,57 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 5,97 (s, 1 H) 6,46 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,02 (br d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (br d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 12,02 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: -78,0° (c 0,282, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-G): R_t 1,08 phút, MH^+ 591 độ tinh sạnh không đối xứng 99,82%.

Chất đồng phân lập thể 6AB:

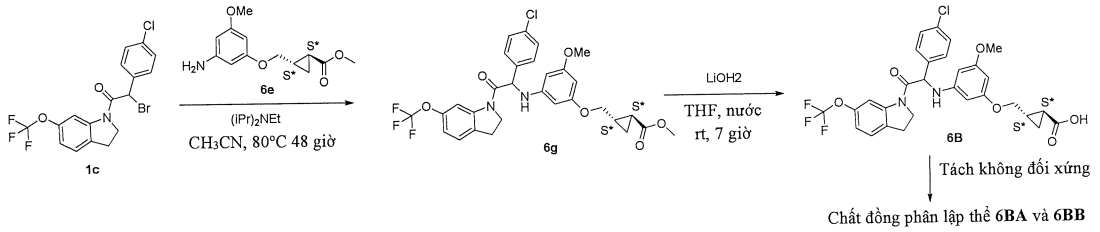
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,79 - 0,90 (m, 1 H) 1,00 – 1,08 (m, 1 H) 1,43 - 1,57 (m, 1 H) 1,57 - 1,72 (m, 1 H) 2,95 - 3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,63 - 3,78 (m, 1 H) 3,78 - 3,98 (m, 1 H) 4,00 – 4,09 (m, 1 H) 4,29 - 4,65 (m, 1 H) 5,57 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,76 (br s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 5,96 (s, 1H) 6,46 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,57 Hz, 1 H) 7,34 (br d, *J*=7,88 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=7,88 Hz, 2 H) 7,55 (br d, *J*=7,88 Hz, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 11,88 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: +12,9° (c 0,272, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-G): R_t 1,87 phút, MH^+ 591 độ tinh sạnh không đối xứng 99,55%.

Ví dụ 6B: tổng hợp axit ((1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **6B**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **6BA** và **6BB**



Tổng hợp chất trung gian 6g:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (405 mg, 0,932 mmol), (1*S**,2*S**)-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropancarboxylatmetoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl)a xetat **6e** (371 mg, 1,398 mmol) và diisopropyletylamin (321 µL, 1,864 mmol) trong

CH_3CN (12 mL) được khuấy ở 80°C trong 48 giờ. Dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm. Đá/nước được thêm và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (25-30 µm, 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra (1*S**,2*S**)-metyl 2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **6g** (580 mg).

Tổng hợp hợp chất 6B và tách không đối xứng thành các chất đồng phân lập thể 6BA và 6BB:

LiOH monohydrat (203 mg, 4,846 mmol) trong nước (10 mL) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa (1*S**,2*S**)-metyl 2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl) xyclopropancarboxylat **6g** (600 mg, 0,969 mmol) trong THF (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 7 giờ. 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch, và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (20-45 µm, 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl) xyclopropancarboxylic (Hợp chất **6B**, 348 mg). Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 55% CO_2, 45% iPrOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải **6BA** (109 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải **6BB** (102 mg).

Chất đồng phân lập thể 6BA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,73 - 0,98 (m, 1 H) 0,98 - 1,08 (m, 1 H) 1,49 - 1,58 (m, 1 H) 1,58 - 1,71 (m, 1 H) 3,00 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (dd, *J*=10,40, 7,57 Hz, 1 H) 3,84 (dd, *J*=10,56, 6,15 Hz, 1 H) 4,00 - 4,08 (m, 1 H)

4,50 - 4,57 (m, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 5,96 (s, 1H) 6,46 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,25 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=7,88 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,26 (br s, 1H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,82 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: -12,5° (c 0,28, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-G): R_t 1,10 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 6BB:

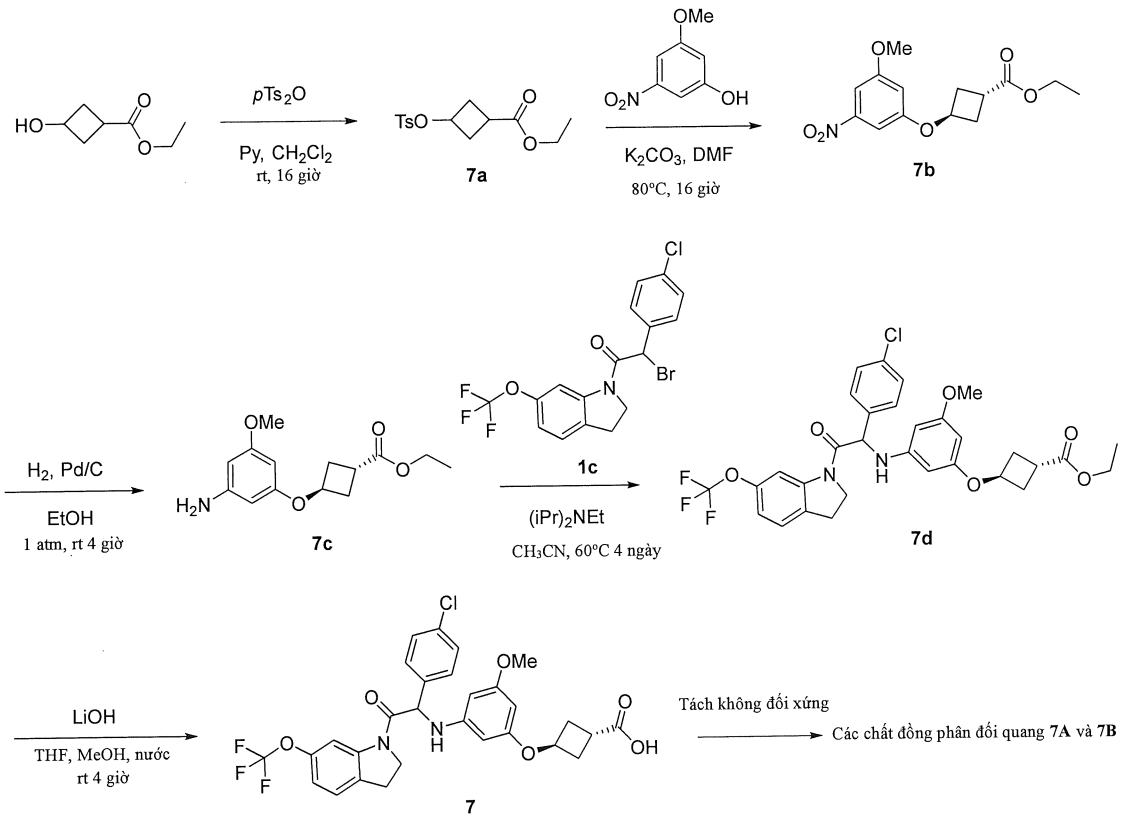
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,78 - 0,95 (m, 1 H) 1,00 -1,08 (m, 1H) 1,48 - 1,59 (m, 1 H) 1,59 - 1,68 (m, 1 H) 2,91 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (br dd, *J*=10,40, 7,57 Hz, 1 H) 3,84 (dd, *J*=10,56, 6,15 Hz, 1 H) 4,00- 4,09 (m, 1 H) 4,30 - 4,58 (m, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H), 5,96 (s, 1H) 6,45 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,88 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,11 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,81 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: +81,4° (c 0,28, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-G): R_t 1,87 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,02%.

Ví dụ 7: tổng hợp axit (1*r*,3*r*)-3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **7**) và tách thành các chất đồng phân đối quang **7A** và **7B**



Tổng hợp chất trung gian 7a:

Trong dòng chảy N_2, dung dịch chứa etyl 3-hydroxyxyclobutancarboxylat [17205-02-6] (1 g, 6,936 mmol) trong CH_2Cl_2 (30 mL) được thêm pyridin (0,838 mL) và tosyl anhydrit (2,49 g, 7,63 mmol). Hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cô đặc trong chân không, được tạo huyền phù trong dietyl ete (200 mL) và được rửa bằng 0,5M axit clohydric (60 mL x 2 lần), dung dịch bão hoà của natri hydro carbonat (60 mL x 2 lần), nước (60 mL) và nước muối (50 mL). Dung dịch được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 3-(tosyloxy)xyclobutancarboxylat **7a** (2,0 g).

Tổng hợp chất trung gian 7b:

Etyl 3-(tosyloxy)xyclobutancarboxylat **7a** (1,94 g, 6,504 mmol) được thêm từng giọt vào hỗn hợp chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (1,0 g, 5,912 mmol) và K_2CO_3 (981 mg, 7,095 mmol) trong DMF (10 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và được chiết

bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc 95/5 đến 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra (1*r*,3*r*)-etyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenoxy)xyclobutancarboxylat **7b** (1,1 g).

Tổng hợp chất trung gian 7c:

Dung dịch chứa (1*r*,3*r*)-etyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenoxy) xyclobutancarboxylat **7b** (1,1 g, 3,725 mmol) trong EtOH (20 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (396 mg, 0,373 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng MeOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra (1*r*,3*r*)-etyl 3-(3-amino-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylat **7c** (920 mg). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 7d:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (1,072 g, 2,467 mmol), (1*r*,3*r*)-etyl 3-(3-amino-5-metoxy-phenoxy)xyclobutancarboxylat **7c** (720 mg, 2,714 mmol) và diisopropyletylamin (850 µL, 4,934 mmol) trong CH_3CN (32 mL) được khuấy ở 60°C trong 4 ngày. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl và nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không để tạo ra (1*r*,3*r*)-etyl 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylat **7d** (1,6 g), được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp hợp chất 7 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 7A và 7B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (325 mg, 7,75 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa (1*r*,3*r*)-etyl 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylat **7d** (1,6 g, 2,585 mmol) trong THF/nước/MeOH (1/1/1) (30 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (15-40 µm, 80 g, CH_2Cl_2/MeOH 100/0 đến 98/2). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra axit (1*r*,3*r*)-3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **7**, 1,16 g). Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 55% CO_2, 45% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **7A** (358 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **7B** (388 mg).

Hợp chất 7:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,19 - 2,30 (m, 2 H) 2,57 (qd, *J*=6,8, 3,6 Hz, 2 H) 2,95 - 3,05 (m, 1 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 4,03 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,53 (td, *J*=10,4, 6,3 Hz, 1 H) 4,68 (quin, *J*=6,7 Hz, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,62 (s, 1 H) 5,85 (s, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 6,53 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,45 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,34 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 591

Chất đồng phân đối quang 7A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,20 - 2,28 (m, 2 H) 2,53 - 2,60 (m, 2 H) 2,95 - 3,04 (m, 1 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,60 (s, 3 H) 4,03 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,3 Hz, 1 H) 4,67 (t, *J*=6,8 Hz, 1 H) 5,53 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,61 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,84 (s, 1 H) 5,91 (s, 1 H) 6,52 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,01 (dd,

J=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,24 - 12,40 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,96 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: -41,6° (c 0,298, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-H): R_t 1,25 phút, MH^+ 591, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 7B:

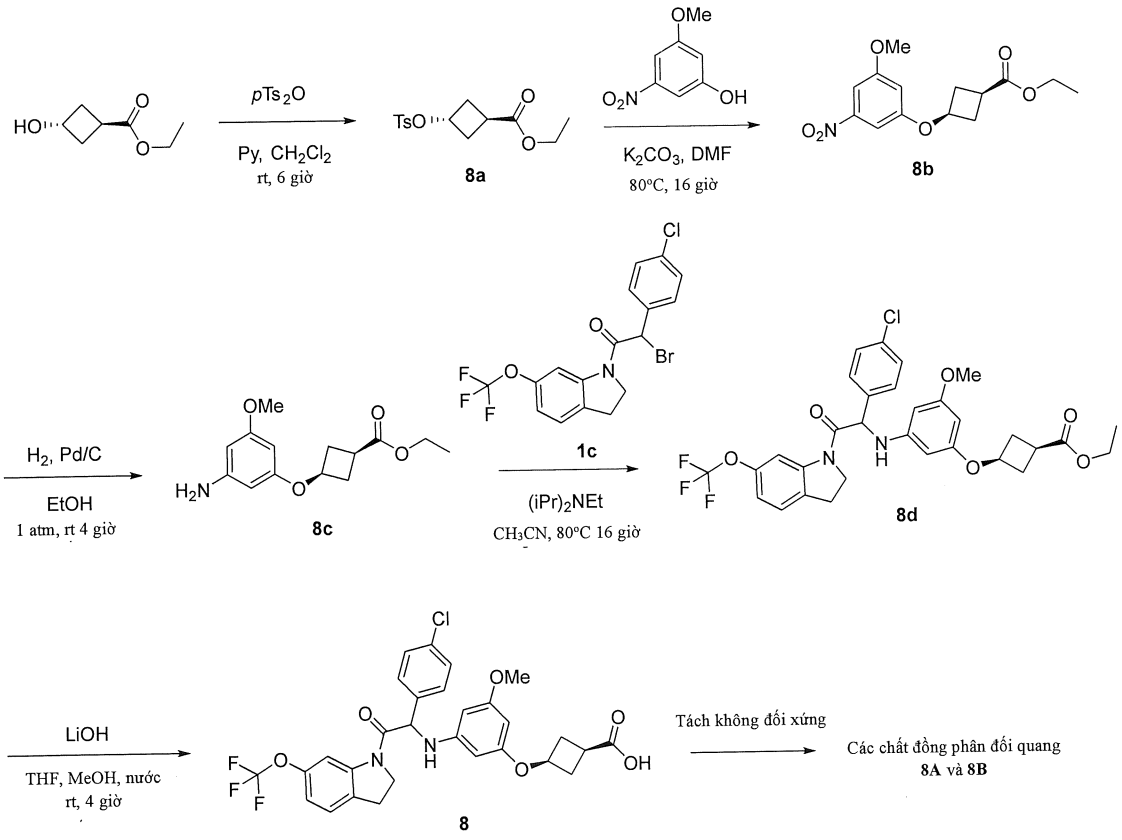
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,19 - 2,28 (m, 2 H) 2,57 (qd, *J*=6,8, 3,9 Hz, 2 H) 2,95 - 3,04 (m, 1 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,60 (s, 3 H) 4,03 (td, *J*=10,5, 7,1 Hz, 1 H) 4,53 (td, *J*=10,4, 6,3 Hz, 1 H) 4,67 (quin, *J*=6,7 Hz, 1 H) 5,53 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,61 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,84 (s, 1 H) 5,91 (s, 1 H) 6,52 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,0, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,32 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: +43,7° (c 0,332, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-H): R_t 2,05 phút, MH^+ 591, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 8: tổng hợp axit (1*s*,3*s*)-3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **8**) và tách thành các chất đồng phân đối quang **8A và 8B**



Tổng hợp chất trung gian 8a:

Trong dòng chảy N_2, dung dịch chứa (1*r*,3*r*)-etyl 3-hydroxyxyclobutancarboxylat [160351-88-2] (1,86 g, 12,901 mmol) trong CH_2Cl_2 (50 mL) được thêm pyridin (1,56 mL) và tosyl anhydrit (4,63 g, 14,192 mmol). Hỗn hợp này được khuấy trong 6 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cô đặc trong chân không, được tạo huyền phù trong dietyl ete (200 mL) và được rửa bằng 0,5M axit clohydric (60 mL x 2 lần), dung dịch bão hoà của natri hydro carbonat (60 mL x 2 lần), nước (60 mL) và nước muối (50 mL), và sau đó được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra (1*r*,3*r*)-etyl 3-(tosyloxy)xyclobutancarboxylat **8a** (3,97 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 8b:

(1*r*,3*r*)-etyl 3-(tosyloxy)xyclobutancarboxylat **8a** (3,85 g, 12,904 mmol) được thêm từng giọt vào hỗn hợp chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (1,98 g, 11,73 mmol) và K_2CO_3 (1,95 g, 14,07 mmol) trong DMF (20 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 120 g, heptan/EtOAc 95/5 đến 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra (1*s*,3*s*)-etyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenoxy)xyclobutancarboxylat **8b** (2,04 g).

Tổng hợp chất trung gian 8c:

Dung dịch chứa (1*s*,3*s*)-etyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenoxy) xyclobutancarboxylat **8b** (2,04 g, 6,908 mmol) trong EtOH (50 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (735 mg, 0,691 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng EtOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra (1*s*,3*s*)-etyl 3-(3-amino-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylat **8c** (1,8 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 8d:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (1,5 g, 3,462 mmol), (1*s*,3*s*)-etyl 3-(3-amino-5-metoxyphenoxy) xyclobutancarboxylat **8c** (870 mg, 3,462 mmol) và diisopropyletylamin (1,19 mL, 6,924 mmol) trong CH_3CN (30 mL) được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl và nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Hợp chất được kết tinh từ CH_3CN/Et_2O để tạo ra chất trung gian **8** (phân đoạn 1, 820 mg). Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra một mẻ khác của chất trung gian thô **8** (phân đoạn 2, 1 g).

Phản ứng được thực hiện 2 lần bắt đầu từ 692 mg (1,592 mmol) của **1c** (sử dụng cùng điều kiện phản ứng như được mô tả trên đây). Sản phẩm phản ứng được kết tinh từ Et_2O để tạo ra chất trung gian **8** (phân đoạn 3, 400 mg). Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra một mẻ khác của chất trung gian **8** (phân đoạn 4, 600 mg). Các phân đoạn 2 và 4 được gộp lại và được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc 90/10 đến 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra phân đoạn 5 (250 mg). Các phân đoạn 1, 3 và 5 được gộp lại và được làm khô để tạo ra (1*s*,3*s*)-etyl 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylat **8d** (1,53 g).

Tổng hợp hợp chất 8 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 8A và 8B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (318 mg, 7,58 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa (1*s*,3*s*)-etyl 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylat **8d** (1,53 g, 2,529 mmol) trong THF/nước/MeOH (1/1/1) (30 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (15-40 µm, 40 g, CH_2Cl_2/MeOH 100/0 đến 98,5/1,5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra axit (1*s*,3*s*)-3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylic (Hợp chất **8**, 1,26 g). Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 55% CO_2, 45% EtOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ ete/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **8A** (442 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **8B** (433 mg).

Hợp chất 8:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,03 - 2,13 (m, 2 H) 2,57 - 2,66 (m, 2 H) 2,66 - 2,76 (m, 1 H) 3,08 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 4,04 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,44 - 4,58 (m, 2 H) 5,54 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,66 (s, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 6,49 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,02 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,45 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,27 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,90 phút, MH^+ 591

Chất đồng phân đối quang 8A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,01 - 2,14 (m, 2 H) 2,55 - 2,72 (m, 3 H) 3,08 - 3,24 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 4,04 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,41 - 4,57 (m, 2 H) 5,54 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,66 (s, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,48 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,90 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: -47,1° (c 0,274, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 1,18 phút, MH^+ 591, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 8B:

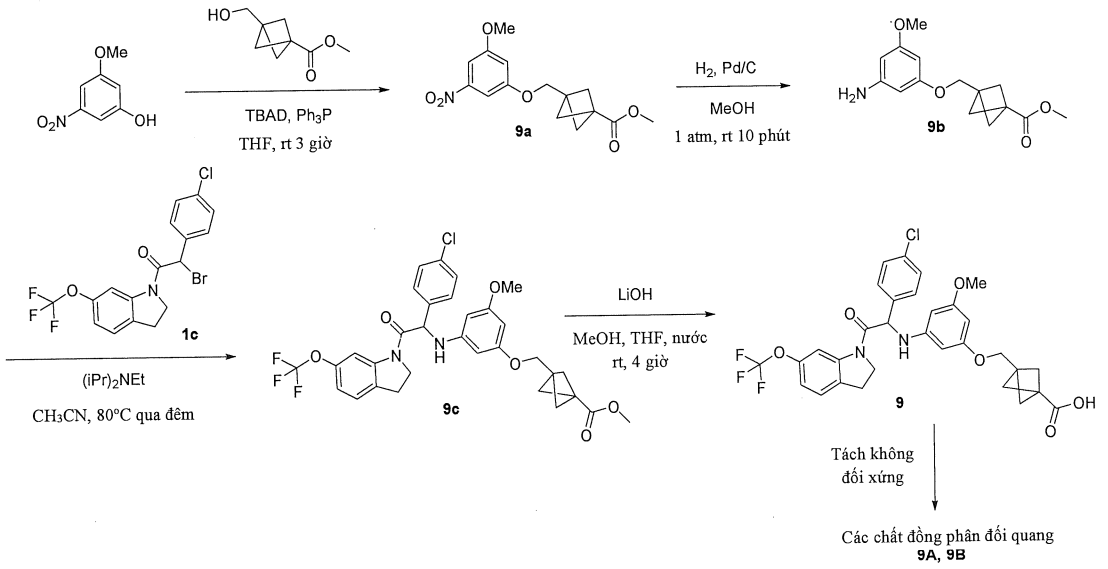
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,02 - 2,13 (m, 2 H) 2,55 - 2,70 (m, 3 H) 3,06 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 4,04 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,39 - 4,57 (m, 2 H) 5,54 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,66 (s, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,48 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,91 phút, MH^+ 591

$[\alpha]_D^{20}$: +40,0° (c 0,25, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 2,16 phút, MH^+ 591, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 9: tổng hợp axit 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylic(Hợp chất **9**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **9A** và **9B**



Tổng hợp chất trung gian 9a:

3-Metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (1,1 g, 6,4 mmol), di-*tert*-butyl azodicarboxylat (TBAD, 1,65 g, 7,04 mmol) và triphenylphosphin (2,35 g, 8,96 mmol) được hoà tan trong THF khô (25 mL) ở nhiệt độ trong phòng trong khí quyển N_2. Dung dịch chứa metyl 3-(hydroxylmetyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylat [180464-87-3] (1,0 g, 6,4 mmol) trong THF khô (5 mL) được thêm từng giọt (toả nhiệt). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm và dầu màu vàng còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (100 g) sử dụng gradien EtOAc:EtOH(3:1)/heptan từ 0/100 đến 50/50. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được nghiền nhỏ với lượng nhỏ Et_2O. Chất rắn được lọc ra và được rửa bằng lượng nhỏ Et_2O và được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra metyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylat **9a** (1,06 g).

Tổng hợp chất trung gian 9b:

Dung dịch chứa metyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl) bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylat **9a** (1,06 g, 3,44 mmol) trong MeOH (150 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (366 mg, 0,34 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn trong khí quyển N_2 và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng MeOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi để tạo ra metyl 3-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylat **9b** (961 mg) dưới dạng dầu màu đen được sử dụng mà không cần tinh chế thêm trong bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 9c:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (1,16 g, 2,67 mmol), metyl 3-((3-amino-5-metoxyphenoxy) metyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylat **9b** (961 mg, 3,47 mmol) và diisopropyletylamin (689 µL, 4,0 mmol) trong CH_3CN (50 mL) được khuấy ở 80°C qua đêm. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm và chất cặn được hoà tan trong CH_2Cl_2. Dung dịch hữu cơ được rửa bằng 1N HCl và nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (100 g) sử dụng gradien EtOAc:EtOH(3:1)/heptan từ 0/100 đến 50/50. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tạo huyền phù trong lượng nhỏ heptan/EtOAc 10/1 và chất rắn được lọc ra và được rửa bằng lượng nhỏ heptan. Các chất rắn được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra metyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl) bixyclo[1.1.1]pentan -1-carboxylat **9c** (1,21 g) dưới dạng bột màu trắng.

Tổng hợp hợp chất 9 và tách thành các chất đồng phân đối quang 9A và 9B:

LiOH (92 mg, 3,84 mmol) được thêm vào dung dịch chứa metyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)

metyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylat **9c** (1,21 g, 1,92 mmol) trong hỗn hợp dung môi chứa MeOH (20 mL), THF (40 mL) và nước (20 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. 1N HCl (1 mL) được thêm và các chất bay hơi hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Hỗn hợp nước còn lại được pha loãng bằng nước, được axit hoá bằng 1N HCl đến độ pH=2, và được chiết 2 lần bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra axit 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflo-metoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)bixyclo[1.1.1]pentan-1-carboxylic (Hợp chất **9**, 1,06 g) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Các chất đồng phân đối quang của hợp chất **9** (994 mg) được tách bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralcel® Diacel OD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, EtOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Sản phẩm thứ nhất được rửa giải được phân tách giữa EtOAc và nước. 1N HCl được thêm và các lớp được tách. Lớp nước lại được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra chất đồng phân đối quang **9A** (353 mg). Sản phẩm thứ hai được rửa giải được phân tách giữa EtOAc và nước. 1N HCl được thêm và các lớp được tách. Lớp nước lại được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm khô trong chân không ở 50°C để tạo ra chất đồng phân đối quang **9B** (193 mg).

Hợp chất 9:

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,92 (s, 6 H) 3,06 - 3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,87 (s, 2 H) 4,06 (td, *J*=10,3, 7,1 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,58 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 - 5,97 (m, 2 H) 6,46 (d, *J*=9,1 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,41 - 7,47 (m, 2 H) 7,51 - 7,58 (m, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,37 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,09 phút, MH^+ 617

Chất đồng phân đối quang 9A:

^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,92 (s, 6 H) 3,07 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,87 (s, 2 H) 3,98 - 4,11 (m, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,2, 6,4 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 - 5,96 (m, 2 H) 6,46 (d, *J*=9,1 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,50 - 7,59 (m, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,37 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 1,91 phút, MH^+ 617

$[\alpha]_D^{20}$: -43,6° (c 0,5, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-D): R_t 5,26 phút, MH^+ 617 độ tinh sạnh không đối xứng 98,6%.

Chất đồng phân đối quang 9B:

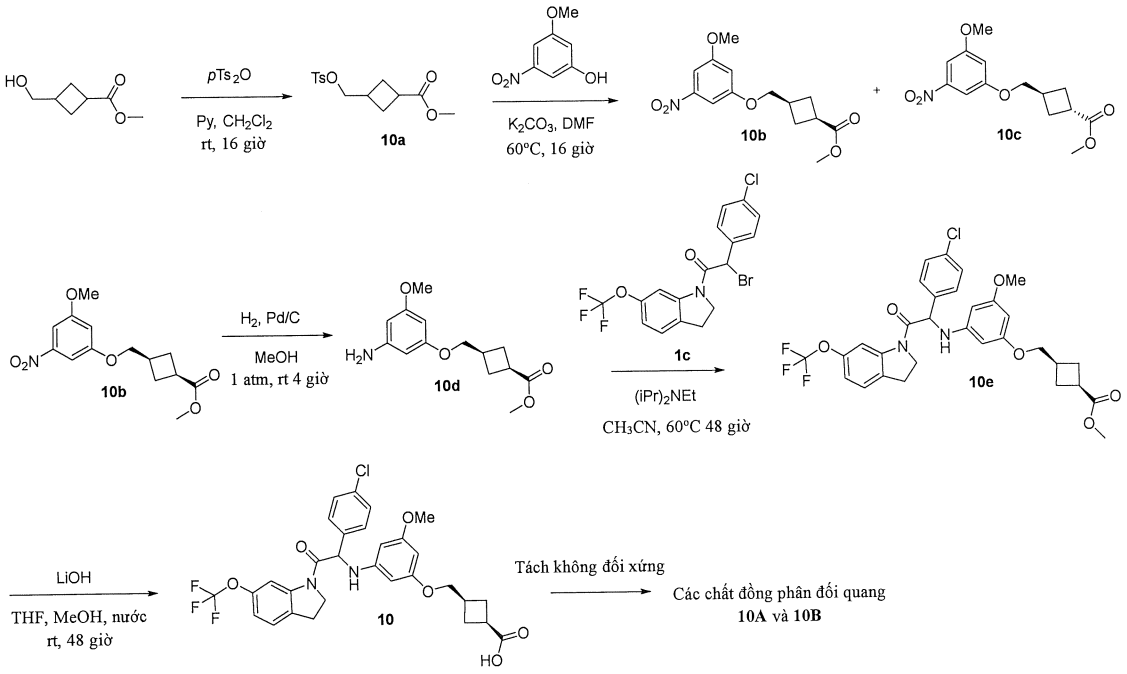
^{1}H NMR (360 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,93 (s, 6 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,88 (s, 2 H) 4,00 - 4,11 (m, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,6 Hz, 1 H) 5,58 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,76 (t, *J*=1,8 Hz, 1 H) 5,92 - 5,98 (m, 2 H) 6,47 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,4 Hz, 2 H) 7,51 - 7,60 (m, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 12,38 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 1,91 phút, MH^+ 617

$[\alpha]_D^{20}$: +42,2° (c 0,41, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-D): R_t 6,47 phút, MH^+ 617 độ tinh sạnh không đối xứng 99,5%.

Ví dụ 10: tổng hợp axit (1*s*,3*s*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflo-metoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobutencarboxylic (Hợp chất **10**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **10A và 10B**



Tổng hợp chất trung gian 10a:

Trong dòng chảy N_2, dung dịch chứa metyl 3-(hydroxymetyl) xyclobutancarboxylat [89941-55-9] (1,4 g, 9,71 mmol) trong CH_2Cl_2 (20 mL) được thêm pyridin (1,17 mL) và tosyl anhydrit (3,49 g, 10,682 mmol). Hỗn hợp này được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cô đặc trong chân không, được tạo huyền phù trong dietyl ete (200 mL) và được rửa bằng 0,5M axit clohydric (50 mL x 2 lần), dung dịch bão hoà của natri hydro carbonat (50 mL x 2 lần), và nước muối (50 mL). Hỗn hợp này được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 3-((tosyloxy)metyl)xyclobutancarboxylat **10a** (2,15 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp các chất trung gian 10b và 10c:

3-((tosyloxy)metyl)xyclobutancarboxylat **10a** (2,15 g, 7,206 mmol) được thêm từng giọt vào hỗn hợp chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (1,22 g, 7,206 mmol) và K_2CO_3 (1,5 g, 10,809 mmol) trong DMF (14 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 60°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và được

chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô. Các chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpack® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 55% CO_2, 45% MeOH) để tạo ra (1*s*,3*s*)-metyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **10b** (541 mg) và (1*r*,3*r*)-metyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **10c** (428 mg).

Tổng hợp chất trung gian 10d:

Dung dịch chứa (1*s*,3*s*)-metyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl) xyclobuten-carboxylat **10b** (530 mg, 1,795 mmol) trong MeOH (10 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (191 mg, 0,179 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng MeOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra (1*s*,3*s*)-metyl 3-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **10d** (480 mg). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 10e:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (580 mg, 1,334 mmol), (1*s*,3*s*)-metyl 3-((3-amino-5-metoxyphenoxy) metyl)xyclobutancarboxylat **10d** (460 mg, 1,734 mmol) và diisopropyletylamin (460 µL, 2,667 mmol) trong CH_3CN (10 mL) được khuấy ở 60°C trong 48 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl và nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không để tạo ra, sau khi kết tinh từ Et_2O/diisopropyl ete, (1*s*,3*s*)-metyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobuten-carboxylat **10e** (625 mg).

Tổng hợp hợp chất 10 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 10A và 10B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (127 mg, 3,029 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa (1*s*,3*s*)-metyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **10e** (625 mg, 1,01 mmol) trong THF/nước/MeOH (1/1/1) (15 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 48 giờ. Hỗn hợp này được làm mát đến 0°C và được pha loãng bằng nước. 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được kết tinh từ Et_2O/diisopropyl ete để tạo ra axit (1*s*,3*s*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **10**, 440 mg). Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Whelk® O1 (S,S) 5 µm 250 x 21,1 mm, pha động: 58% CO_2, 42% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete/ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **10A** (116 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **10B** (119 mg).

Hợp chất 10:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,87 - 1,99 (m, 2 H) 2,18 - 2,30 (m, 2 H) 2,53 - 2,61 (m, 1 H) 2,97 (quin, *J*=8,9 Hz, 1 H) 3,08 - 3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,78 (br d, *J*=6,3 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,2 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,72 - 5,78 (m, 1 H) 5,94 (s, 2 H) 6,45 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 6,95 - 7,06 (m, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,08 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,94 phút, MH^+ 605

MP = 128°C

Chất đồng phân đối quang 10A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,84 - 1,97 (m, 2 H) 2,15 - 2,30 (m, 2 H) 2,53 - 2,61 (m, 1 H) 2,94 (quin, *J*=8,9 Hz, 1 H) 3,07 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,77 (br d, *J*=6,3 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 6,9 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,1 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,93 (s, 2 H) 6,44 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,0, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: -44,0 (c 0,314, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-J): R_t 1,63 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 10B:

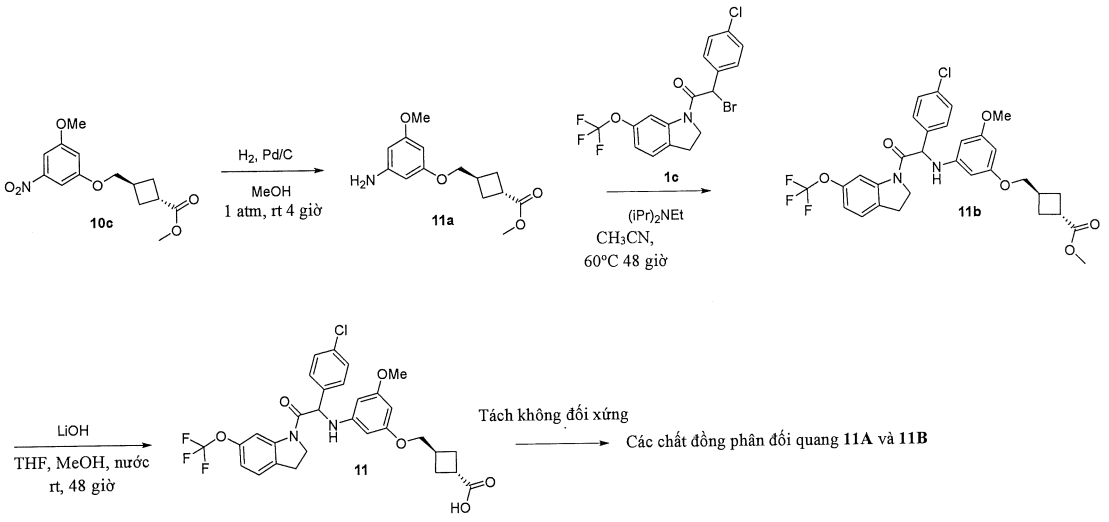
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,85 - 1,97 (m, 2 H) 2,17 - 2,28 (m, 2 H) 2,53 - 2,58 (m, 1 H) 2,94 (quint, *J*=8,8 Hz, 1 H) 3,07 - 3,24 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,72 - 3,82 (m, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,4, 6,9 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,72 - 5,77 (m, 1 H) 5,93 (s, 2 H) 6,44 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,0, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: +45,5° (c 0,308, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-J): R_t 2,14 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 99,57%.

Ví dụ 11: tổng hợp axit (1*r*,3*r*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **11**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **11A và 11B**



Tổng hợp chất trung gian 11a:

Dung dịch chứa (1*r*,3*r*)-metyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl) xyclobuten-carboxylat **10c** (410 mg, 1,388 mmol) trong MeOH (10 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (148 mg, 0,139 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng MeOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra (1*r*,3*r*)-metyl 3-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **11a** (370 mg). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 11b:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (460 mg, 1,058 mmol), (1*r*,3*r*)-metyl 3-((3-amino-5-metoxyphenoxy) metyl)xyclobutancarboxylat **11a** (365 mg, 1,376 mmol) và diisopropyletylamin (365 µL, 2,117 mmol) trong CH_3CN (8 mL) được khuấy ở 60°C trong 48 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl và nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không để tạo ra, sau khi kết tinh từ Et_2O/diisopropyl ete, (1*r*,3*r*)-metyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **11b** (515 mg).

Tổng hợp hợp chất 11 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 11A và 11B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (105 mg, 2,496 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa ((1*r*,3*r*)-metyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclobutancarboxylat **11b** (515 mg, 0,832 mmol) trong THF/nước/MeOH (1/1/1) (15 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 48 giờ. Hỗn hợp này được làm mát đến 0°C và được pha loãng bằng nước. 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 24 g, CH_2Cl_2/CH_3OH từ 100/0 đến 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra axit (1*r*,3*r*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy) metyl)xyclobutancarboxylic (Hợp chất **11**, 460 mg). Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Whelk® O1 (S,S) 5 µm 250 x 21,1 mm, pha động: 58% CO_2, 42% MeOH) để tạo ra, sau khi kết tinh từ ete/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **11A** (121 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **11B** (120 mg).

Hợp chất 11:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,92 - 2,04 (m, 2 H) 2,21 - 2,31 (m, 2 H) 2,57 - 2,62 (m, 1 H) 3,04 - 3,26 (m, 3 H) 3,63 (s, 3 H) 3,88 (br d, *J*=6,9 Hz, 2 H) 4,00 - 4,11 (m, 1 H) 4,47 - 4,58 (m, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (s, 1 H) 5,96 (br d, *J*=9,7 Hz, 2 H) 6,45 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,02 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,45 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,95 phút, MH^+ 605

Chất đồng phân đối quang 11A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,94 - 2,03 (m, 2 H) 2,21 - 2,31 (m, 2 H) 2,55 - 2,62 (m, 1 H) 3,04 - 3,25 (m, 3 H) 3,62 (s, 3 H) 3,87 (d, *J*=7,3 Hz, 2 H) 4,04 (td, *J*=10,4, 6,9 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,3 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,45 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,12 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: -43,3° (c 0,319, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-J): R_t 1,73 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 11B:

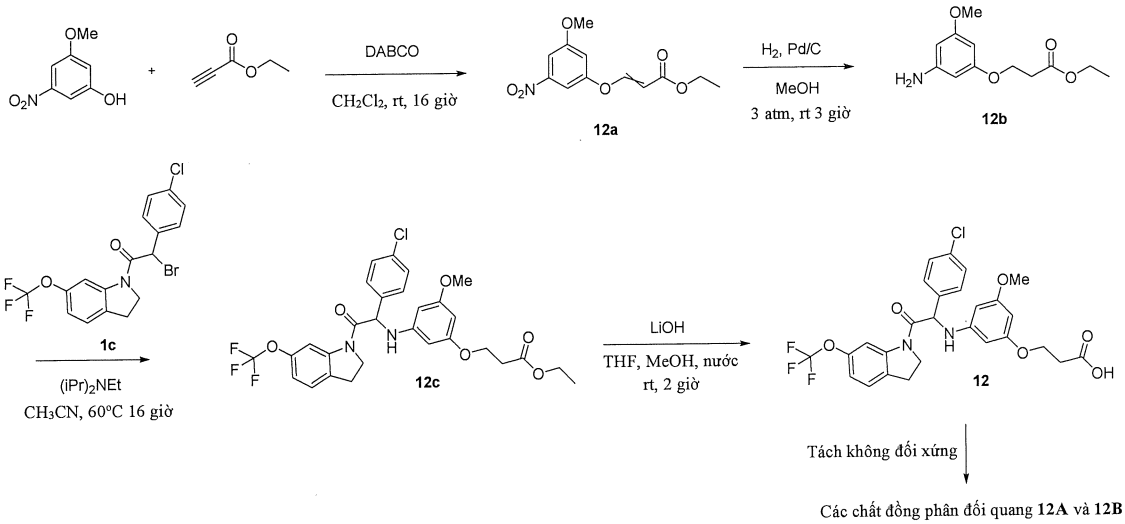
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,92 - 2,02 (m, 2 H) 2,21 - 2,32 (m, 2 H) 2,55 - 2,62 (m, 1 H) 3,04 - 3,25 (m, 3 H) 3,62 (s, 3 H) 3,87 (d, *J*=6,9 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,3, 7,1 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (t , *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,45 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,16 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: +45,5° (c 0,323, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-J): R_t 2,36 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 99,61%.

Ví dụ 12: tổng hợp axit 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)propanoic (Hợp chất **12**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **12A** và **12B**



Tổng hợp chất trung gian 12a:

1,4-diazabixyclo[2,2,2]octane (66 mg, 0,591 mmol) được thêm vào dung dịch chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (2,0 g, 11,825 mmol), etylaxetylencarboxylat (1,2 mL, 11,825 mmol) trong CH_2Cl_2 (20 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp này được rót vào nước và các lớp được gạn. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenoxy)acrylat **12a** (3,22 g, hỗn hợp E/Z).

Tổng hợp chất trung gian 12b:

Hỗn hợp chứa etyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenoxy)acrylat **12a** (3,2 g, 11,97 mmol) và Pd/C (10%) (2,5 g, 2,395 mmol) trong CH_3OH (100 mL) được hydro hoá dưới áp suất 3 bar trong 3 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua tấm Celite®. Bánh lọc được rửa bằng CH_3OH và các dịch lọc gộp lại được cô đặc dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra etyl 3-(3-amino-5-metoxyphenoxy)propanoat **12b** (1,8 g).

Tổng hợp chất trung gian 12c:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (1,0 g, 2,301 mmol), etyl 3-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-propanoat **12b**

(716 mg, 2,991 mmol) và diisopropyletylamin (793 µL, 4,602 mmol) trong CH_3CN (29 mL) được khuấy ở 60°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm và được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl và nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra axit 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)propanoic **12c** (660 mg).

Tổng hợp hợp chất 12 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 12A và 12B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (79 mg, 1,889 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa axit 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)propanoic **12c** (560 mg, 0,944 mmol) trong THF/nước/MeOH (1/1/1) (15 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp này được làm mát đến 0°C và được pha loãng bằng nước. 3N HCl được thêm để axit hoá dung dịch. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký đảo pha (Pha ổn định: YMC-DispoPack AT ODS-25: 120 g, pha động: Gradien từ 75% NH_4HCO_3 0,2%, 25% CH_3CN đến 35% NH_4HCO_3 0,2%, 65% CH_3CN). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra axit 3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)propanoic (Hợp chất **12**, 126 mg). Hai chất đồng phân đối quang được tách trên mẻ 70 mg bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 65% CO_2, 35% iPrOH (+0,3% $iPrNH_2$) để tạo ra, sau khi đông khô trong hỗn hợp chứa CH_3CN (2 mL)/nước (8 mL), chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **12A** (30 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **12B** (35 mg).

Hợp chất 12:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,56 (t, *J*=6,1 Hz, 2 H) 3,04 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,95 - 4,11 (m, 3 H) 4,43 - 4,61 (m, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,94 (br d, *J*=7,1 Hz, 2 H) 6,46 (d, *J*=9,1 Hz, 1 H) 7,00 (br d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,1 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,84 phút, MH^+ 565

Chất đồng phân đối quang 12A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,62 (br t, *J*=6,0 Hz, 2 H) 3,09 - 3,24 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 4,00 - 4,10 (m, 3 H) 4,47 - 4,57 (m, 1 H) 5,58 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,95 (br d, *J*=6,6 Hz, 2 H) 6,49 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,02 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,04 - 12,63 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,83 phút, MH^+ 565

$[\alpha]_D^{20}$: -47,3° (c 0,275, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-K): R_t 2,50 phút, MH^+ 565, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 12B:

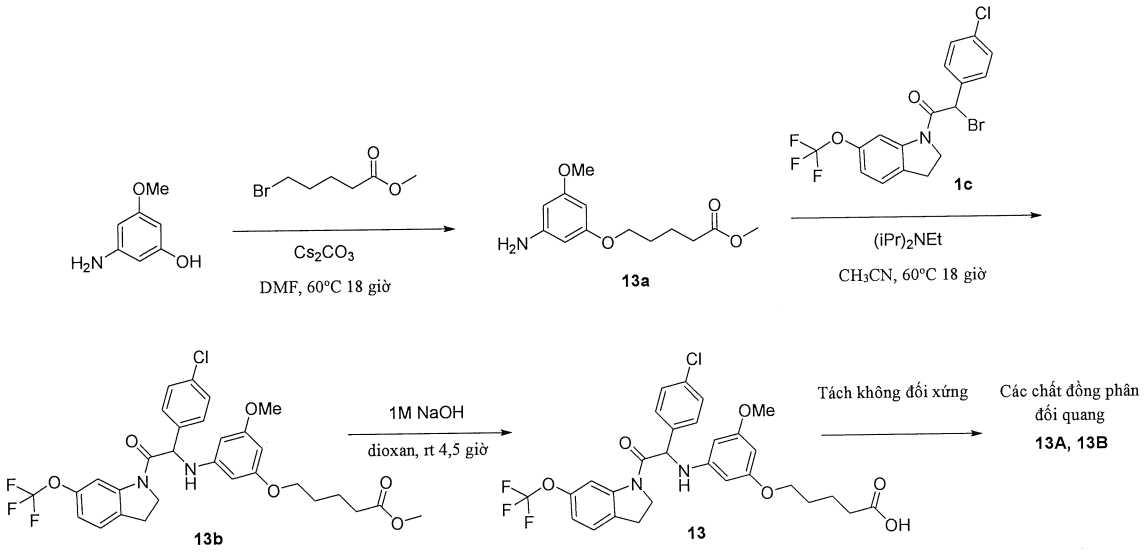
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,58 - 2,67 (m, 2 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,99 - 4,12 (m, 3 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,1 Hz, 1 H) 5,58 (s, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,95 (br d, *J*=6,6 Hz, 2 H) 6,50 (br s, 1 H) 7,02 (br d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,35 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,83 phút, MH^+ 565

$[\alpha]_D^{20}$: +41,8° (c 0,297, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-K): R_t 4,34 phút, MH^+ 565, độ tinh sạnh không đối xứng 99,1%.

Ví dụ 13: tổng hợp axit 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)pentanoic (Hợp chất **13**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **13A** và **13B**



Tổng hợp chất trung gian 13a:

Dung dịch đã được khuấy chứa metyl 5-bromo-valerat [CAS 5454-83-1] (1,06 mL, 7,19 mmol) trong DMF (25 mL) được thêm 3-amino-5-metoxyphenol [CAS 162155-27-3] (1,0 g, 7,19 mmol) và Cs_2CO_3 (4,68 g, 14,4 mmol). Phản ứng được khuấy ở 60°C trong 18 giờ, và được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được rót vào H_2O (125 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng CH_2Cl_2. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (25 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc từ 100/0 đến 50/50. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN. Sản phẩm được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra metyl 5-(3-amino-5-metoxyphenoxy)pentanoat **13a** (200 mg).

Tổng hợp chất trung gian 13b:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (340 mg, 0,78 mmol), metyl 5-(3-amino-5-metoxyphenoxy)pentanoat **13a**

(198 mg, 0,78 mmol) và diisopropyletylamin (270 µL, 1,56 mmol) trong CH_3CN (30 mL) được khuấy ở 60°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được để cho đạt đến nhiệt độ trong phòng, và được rót vào nước (150 mL). Sản phẩm được chiết (2 lần) bằng Et_2O. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (40 g) sử dụng gradien heptan/EtOAc/EtOH từ 100/0/0 đến 40/45/15. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với dioxan để tạo ra metyl 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)pentanoat **13b** (475 mg).

Tổng hợp hợp chất 13 và tách thành các chất đồng phân đối quang 13A và 13B:

1M NaOH trong nước (1,96 mL, 1,96 mmol) được thêm vào dung dịch đang được khuấy chứa metyl 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)pentanoat **13b** (475 mg, 0,78 mmol) trong dioxan (5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (20 mL) 1N HCl (2,1 mL). Sau khi khuấy trong 10 phút, sản phẩm được chiết bằng 2-Me-THF. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (40 g) với gradien heptan/EtOAc/EtOH/HOAc từ 100/0/0/0 đến 40/45/14,7/0,3. Các phân đoạn sản phẩm được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm đến còn lại thể tích ~7,5 mL, cho kết tủa sản phẩm phản ứng. Các chất rắn được lọc, được rửa (3 lần) bằng EtOAc/heptan 1/3 và được làm khô trong chân không ở 45°C để tạo ra axit 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)pentanoic (Hợp chất **13**, 139 mg) dưới dạng hỗn hợp raxemic.

Các chất đồng phân đối quang của hợp chất **13** (112 mg) được tách bằng SFC không đối xứng điều chế (Pha ổn định: Chiralpak® Diacel OD 20 x 250 mm, pha động: CO_2, EtOH + 0,4% $iPrNH_2$). Các phân đoạn chứa sản phẩm thứ nhất được rửa giải được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời với CH_3CN. Chất cặn được làm đông khô từ hỗn hợp dung môi chứa

CH_3CN (1,5 mL) và nước (1 mL) để tạo ra chất đồng phân đối quang **13A** (39 mg). Các phân đoạn chứa sản phẩm thứ hai được rửa giải được gộp lại, được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi bằng CH_3CN. Chất cặn được làm đông khô từ CH_3CN (1,75 mL) và nước (1,25 mL) để tạo ra chất đồng phân đối quang **13B** (33 mg).

Hợp chất 13

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,55 - 1,69 (m, 4 H) 2,25 (t, *J*=7,0 Hz, 2 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,83 (t, *J*=5,9 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,2 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,4 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,91 - 5,97 (m, 2 H) 6,42 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,3, 1,7 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,38 - 7,48 (m, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,01 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-A): R_t 1,13 phút, MH^+ 593

Chất đồng phân đối quang 13A:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,55 - 1,69 (m, 4 H) 2,24 (t, *J*=7,0 Hz, 2 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,83 (t, *J*=5,9 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,5, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,4 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,1 Hz, 1 H) 5,92 - 5,96 (m, 2 H) 6,42 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,39 - 7,48 (m, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,02 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,08 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: -48,6° (c 0,43, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-D): R_t 5,27 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 13B:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,55 - 1,69 (m, 4 H) 2,24 (t, *J*=7,2 Hz, 2 H) 3,04 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,83 (t, *J*=5,9 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,2

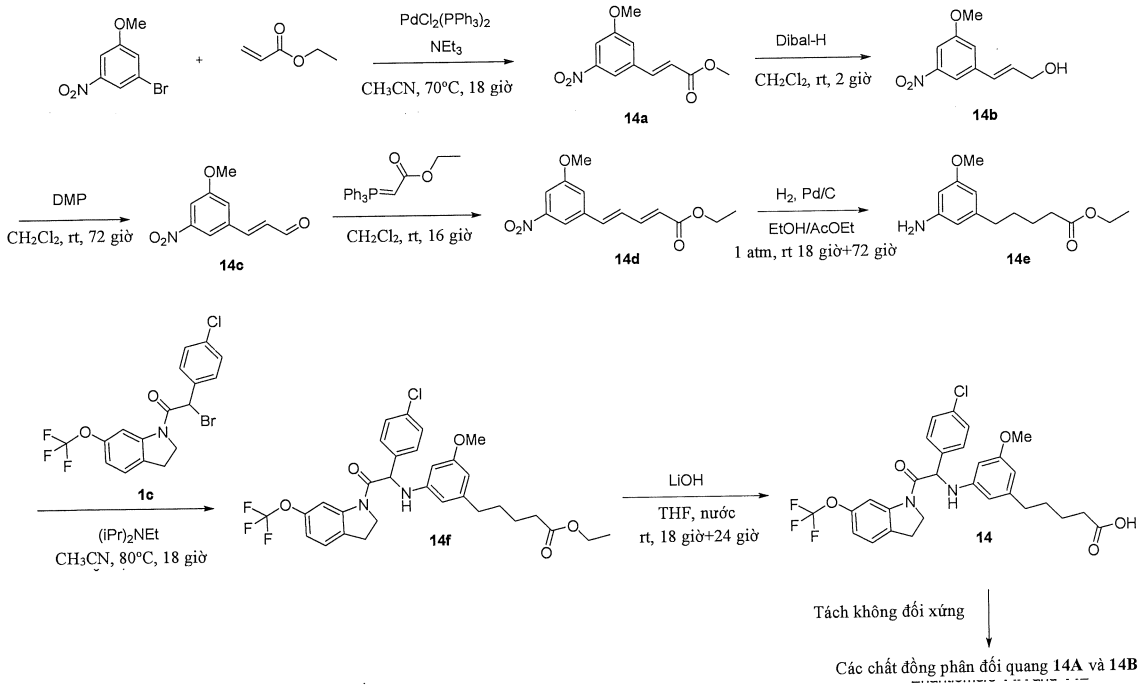
Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,2 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,75 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,92 - 5,96 (m, 2 H) 6,42 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,1, 1,5 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,42 - 7,46 (m, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,6 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,00 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-B): R_t 2,08 phút, MH^+ 593

$[\alpha]_D^{20}$: +48,3° (c 0,42, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-D): R_t 6,94 phút, MH^+ 593 độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 14: tổng hợp axit 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflo-metoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)pentanoic (Hợp chất **14**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **14A** và **14B**



Tổng hợp chất trung gian 14a:

Trong ống được bịt kín trong khí quyển N_2, $PdCl_2(PPh_3)_2$ (1,5 g, 2,2 mmol) được thêm vào dung dịch đã khử khí chứa 1-bromo-3-metoxy-5-nitrobenzen [CAS 16618-67-0] (5,0 g, 22 mmol), metyl acrylat (6,0 mL, 67 mmol) trong CH_3CN (45

ml) và trietylamin (12 mL). Phản ứng được khuấy ở 70°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 120 g, gradien heptan/EtOAc từ 90/10 đến 75/25) để tạo ra *(E)*-metyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenyl)acrylat **14a** (2,0 g).

Tổng hợp chất trung gian 14b:

Trong N_2 ở 0°C, diisobutyl aluminumhydrit (1M trong CH_2Cl_2) (20 mL, 20 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa *(E)*-metyl 3-(3-metoxy-5-nitrophenyl)acrylat **14a** (2,4 g, 10,12 mmol) trong CH_2Cl_2 (65 ml). Phản ứng được làm ấm chậm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 2 giờ. Hỗn hợp này được dừng bằng HCl (3N) và được chiết bằng CH_2Cl_2. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra *(E)*-3-(3-metoxy-5-nitrophenyl)prop-2-en-1-ol **14b** (2,1 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 14c:

Trong N_2 ở 0°C, Dess-Martin Periodinan (24 mL, 11,04 mmol) được thêm chậm vào dung dịch chứa *(E)*-3-(3-metoxy-5-nitrophenyl)prop-2-en-1-ol **14b** (2,1 g, 10,04 mmol) trong CH_2Cl_2 (64 mL) và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ. Nước được thêm và hỗn hợp này được lọc. Dịch lọc được chiết bằng CH_2Cl_2, được làm khô bằng $MgSO_4$ và được làm bay hơi đến khô để tạo ra *(E)*-3-(3-metoxy-5-nitrophenyl)acrylaldehyt **14c** (2,5 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 14d:

Trong N_2, (carbetoxymetylene)triphenylphosphoran (5,0 g, 14,48 mmol) được thêm một phần vào hỗn hợp chứa *(E)*-3-(3-metoxy-5-nitrophenyl)acrylaldehyt **14c** (2,5 g, 9,65 mmol, độ tinh khiết 80%) trong CH_2Cl_2 (62 mL) và được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 80 g, gradien heptan/EtOAc từ 85/15 đến 60/30) để tạo ra (2*E*,4*E*)-etyl 5-(3-metoxy-5-

nitrophenyl)penta-2,4-dienoat **14d** (2,1 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 14e:

Hỗn hợp chứa (2*E*,4*E*)-etyl 5-(3-metoxy-5-nitrophenyl)penta-2,4-dienoat **14d** (1,9 g, 6,85 mmol) trong EtOH (40 mL) và EtOAc (6,7 mL) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 trong 18 giờ với Pd/C (10%) (0,73 g, 0,69 mmol) làm chất xúc tác. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua tấm Celite®. Celite® được rửa bằng EtOAc và các dịch lọc gộp lại được cô đặc trong chân không. Chất cặn lại được hydro hoá trong EtOH (40 mL) và EtOAc (6,7 mL) dưới áp suất khí quyển H_2 trong 72 giờ với Pd/C (10%) (0,73 g, 0,69 mmol) làm chất xúc tác. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua tấm Celite®. Celite® được rửa bằng EtOAc và các dịch lọc gộp lại được cô đặc trong chân không để tạo ra etyl 5-(3-amino-5-metoxyphenyl)pentanoat **14e** (1,4 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 14f:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (1,6 g, 3,71 mmol), etyl 5-(3-amino-5-metoxyphenyl)pentanoat **14e** (1,4 g, 5,57 mmol) và diisopropyletylamin (1,3 mL, 7,43 mmol) trong CH_3CN (19 mL) được khuấy ở 80°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được hấp thụ bằng EtOAc, và được rửa bằng 0,5 N HCl (2 lần) và nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 40 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25) để tạo ra etyl 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)pentanoat **14f** (1,8 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp hợp chất 14 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 14A và 14B:

Dung dịch chứa LiOH monohydrat (0,62 g, 15 mmol) trong nước (16 mL) được thêm vào dung dịch chứa etyl 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)pentanoat **14f** (1,8 g, 2,98 mmol) trong THF (36 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. LiOH monohydrat (0,62 g, 15 mmol) được bổ sung thêm và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Dung dịch được axit hoá bằng HCl (3N) và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 40 g, CH_2Cl_2/MeOH 100/0 đến 98/2) để tạo ra axit 5-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)pentanoic (Hợp chất **14**, 920 mg). Các chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 55% CO_2, 45% EtOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ pentan/Et_2O, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **14A** (248 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **14B** (263 mg).

Hợp chất 14:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,47 (br s, 4 H) 2,15 – 2,22 (m, 2 H) 2,34 – 2,43 (m, 2 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,92 - 4,14 (m, 1 H) 4,40 - 4,64 (m, 1 H) 5,56 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 6,00 (s, 1 H) 6,13 (br s, 1 H) 6,20 (s, 1 H) 6,37 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,88 Hz, 1 H) 7,33 (br d, *J*=7,88 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 7,56 (br d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 12,01 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,18 phút, MH^+ 577

Chất đồng phân đối quang 14A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,40 - 1,61 (m, 4 H) 2,14 - 2,24 (m, 2 H) 2,33 - 2,42 (m, 2 H) 3,06 - 3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,92 - 4,18 (m, 1 H) 4,40 - 4,59 (m, 1 H) 5,40 - 5,69 (m, 1 H) 6,00 (s, 1 H) 6,13 (s, 1 H) 6,20 (s, 1 H) 6,30 - 6,47 (m, 1 H) 6,91 - 7,12 (m, 1 H) 7,28 - 7,38 (m, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,95 - 8,29 (m, 1 H) 11,99 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,21 phút, MH^+ 577

$[\alpha]_D^{20}$: +55,8° (c 0,312, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-L): R_t 1,32 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 14B:

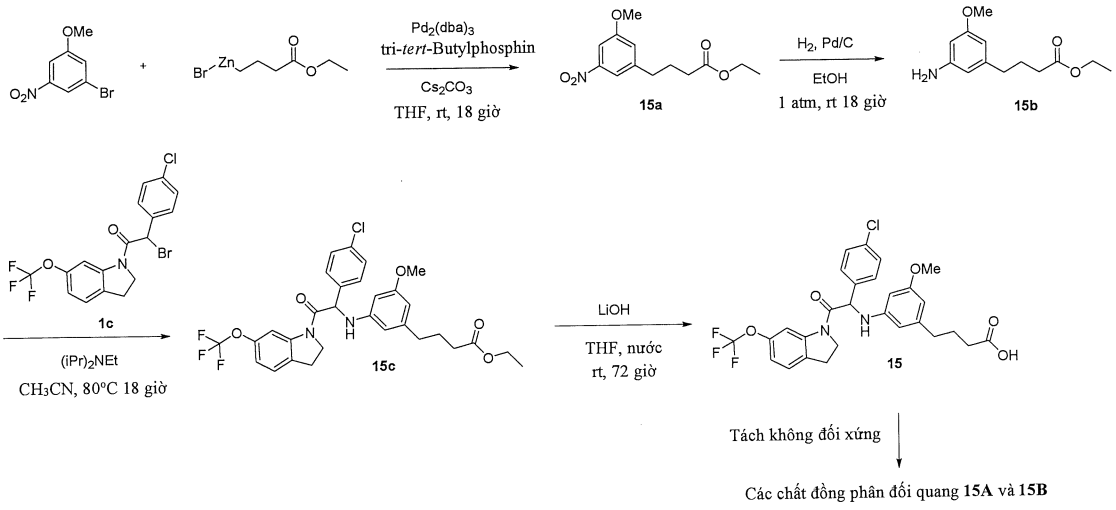
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,40 – 1,53 (m, 4 H) 2,15 – 2,25 (m, 2 H) 2,32 – 2,44 (m, 2 H) 3,00 - 3,27 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,95 - 4,18 (m, 1 H) 4,44 - 4,79 (m, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 6,00 (s, 1 H) 6,13 (s, 1 H) 6,20 (s, 1 H) 6,37 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,02 (br d, *J*=7,25 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,04 (s, 1 H) 12,00 (m, 1 H)

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

$[\alpha]_D^{20}$: -53,7° (c 0,326, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-L): R_t 1,74 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 15: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)butanoic (Hợp chất **15**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **15A** và **15B**



Tổng hợp chất trung gian 15a:

4-etoxy-4-oxobutylzinc bromua (5,2 mL, 2,6 mmol) và $Pd_2(dba)_3$ (0,20 g, 0,22 mmol) được thêm vào dung dịch đã khử khí chứa 1-bromo-3-metoxy-5-nitrobenzen [CAS 16618-67-0] (0,5 g, 2,2 mmol), tri-*tert*-butylphosphin (87 mg, 0,43 mmol) và Cs_2CO_3 (1,4 g, 4,3 mmol) trong THF (8,8 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ trong khí quyển N_2. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 80 g, heptan/EtOAc từ 95/5 đến 80/20) để tạo ra etyl 4-(3-metoxy-5-nitrophenyl)butanoat **15a** (370 mg).

Tổng hợp chất trung gian 15b:

Hỗn hợp chứa etyl 4-(3-metoxy-5-nitrophenyl)butanoat **15a** (0,37 g, 1,38 mmol) trong EtOH (8,1 mL) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 trong 18 giờ với Pd/C (10%) (0,15 g, 0,14 mmol) làm chất xúc tác. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua tấm Celite®. Celite® được rửa bằng EtOAc và dịch lọc được cô đặc trong chân không để tạo ra etyl 4-(3-amino-5-metoxyphenyl)butanoat **15b** (350 mg). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 15c:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (0,43 g, 0,98 mmol), etyl 4-(3-amino-5-metoxyphenyl)butanoat **15b** (0,35 g, 1,48 mmol) và diisopropyletylamin (0,34 mL, 2,0 mmol) trong CH_3CN (5,1 mL) được khuấy ở 80°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được hấp thụ bằng EtOAc, và được rửa bằng 0,5 N HCl (2 lần) và nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 40 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25) để tạo ra etyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)butanoat **15c** (340 mg).

Tổng hợp hợp chất 15 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 15A và 15B:

Trong N_2, dung dịch chứa LiOH monohydrat (0,12 g, 2,9 mmol) trong nước (3,1 mL) được thêm vào dung dịch chứa etyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)butanoat **15c** (0,34 g, 0,58 mmol) trong THF (7 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ. Dung dịch được axit hoá bằng HCl (3N) và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 24 g, CH_2Cl_2/MeOH từ 100/0 đến 98/2) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ Et_2O, axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)butanoic (Hợp chất **15**, 285 mg). Các chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 65% CO_2, 35% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ Et_2O, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **15A** (75 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **15B** (85 mg).

Hợp chất 15:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,66 - 1,86 (m, 2 H) 2,11 - 2,26 (m, 2 H) 2,32 – 2,44 (m, 2 H) 3,03 - 3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 4,04 (td, *J*=10,32, 7,09 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,32, 6,15 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 6,00 (s, 1 H) 6,14 (s, 1 H) 6,21 (s, 1 H) 6,38 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,20, 1,26 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 7,38 - 7,50 (m, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,01 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,96 phút, MH^+ 563

Chất đồng phân đối quang 15A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,56 - 1,87 (m, 2 H) 2,11 – 2,21 (m, 2 H) 2,35 - 2,42 (m, 2 H) 3,02 - 3,22 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,97 - 4,18 (m, 1 H) 4,39 - 4,61 (m, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,99 (s, 1 H) 6,13 (s, 1 H) 6,20 (s, 1 H) 6,37 (br d, *J*=9,09 Hz, 1 H) 7,00 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 11,99 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 563

$[\alpha]_D^{20}$: -59,0° (c 0,293, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-M): R_t 2,19 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,31%.

Chất đồng phân đối quang 15B:

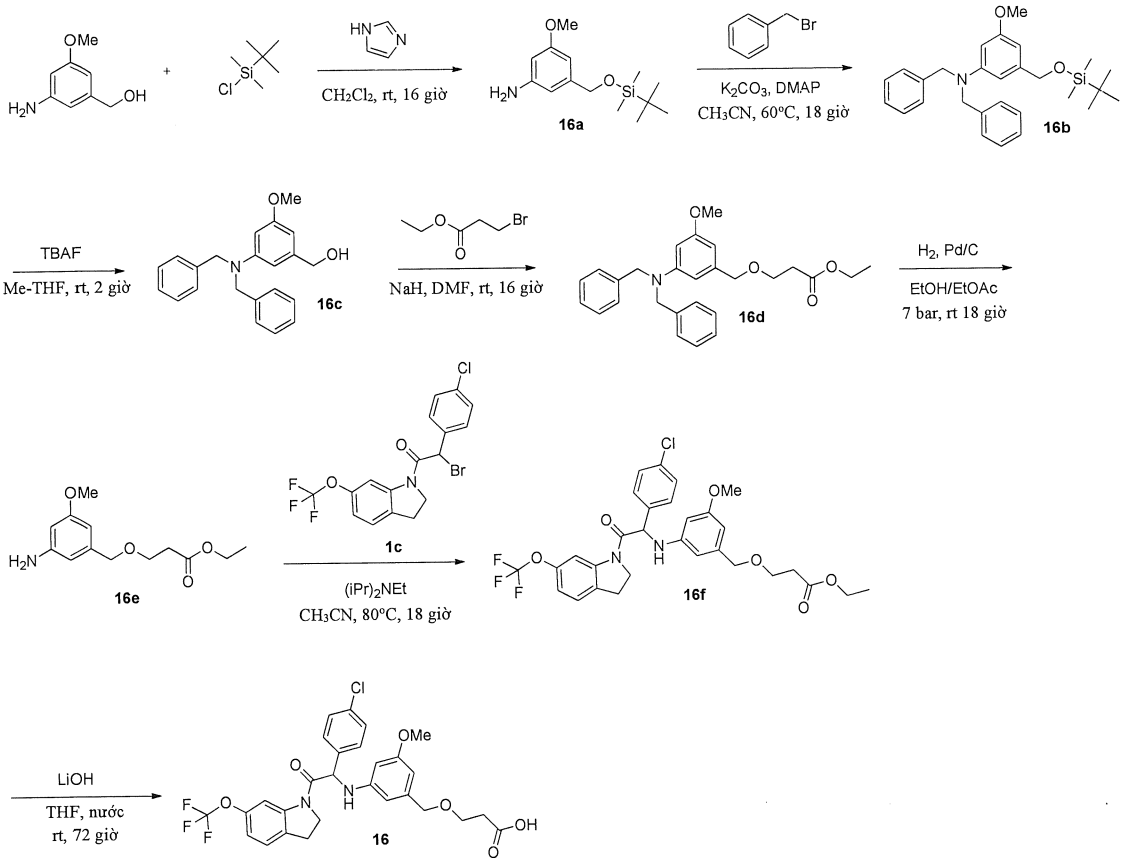
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,60 - 1,86 (m, 2 H) 2,10 – 2,21 (m, 2 H) 2,35 - 2,42 (m, 2 H) 3,02 - 3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,82 - 4,26 (m, 1 H) 4,36 - 4,71 (m, 1 H) 5,56 (d, *J*=9,09 Hz, 1 H) 5,99 (s, 1 H) 6,13 (s, 1 H) 6,20 (s, 1 H) 6,37 (d, *J*=9,09 Hz, 1 H) 7,00 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 11,97 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 563

$[\alpha]_D^{20}$: +48,0° (c 0,225, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-M): R_t 3,73 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,61%.

Ví dụ 16: tổng hợp axit 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxybenzyl)oxy)propanoic (Hợp chất **16**)



Tổng hợp chất trung gian 16a:

Tert-butyldimetylsilyl clorua (6,1 g, 40,48 mmol) được thêm vào dung dịch chứa (3-amino-5-metoxyphenyl)metanol [1261566-52-2] (3,1 g, 20,24 mmol) và imidazol (4,13 g, 60,71 mmol) trong CH_2Cl_2 (130 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ, được dừng bằng nước và được chiết bằng CH_2Cl_2. Lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước và nước muối, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được làm bay hơi đến khô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 120 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 65/35). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra 3-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-5-metoxyanilin **16a** (3,4 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 16b:

Hỗn hợp chứa benzyl bromua (3,8 mL, 31,8 mmol), 3-(((*tert*-butyldimetylsilyl) oxy)-metyl)-5-metoxyanilin **16a** (3,4 g, 12,71 mmol), K_2CO_3 (5,27 g, 38,14 mmol) và DMAP (155 mg, 1,27 mmol) trong CH_3CN (66 mL) được khuấy ở 60°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được lọc và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 120 g, heptan/EtOAc từ 100/0 đến 90/10). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra *N*,*N*-dibenzyl-3-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-5-metoxyanilin **16b** (6 g).

Tổng hợp chất trung gian 16c:

TBAF (1M trong THF) (15,3 mL, 15,3 mmol) được thêm vào dung dịch chứa *N*,*N*-dibenzyl-3-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-5-metoxyanilin **16b** (5,69 g, 12,71 mmol) trong Me-THF (64 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng EtOAc, được rửa 3 lần bằng nước muối và với dung dịch nước bão hoà chứa $NaHCO_3$, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 120 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra (3-(dibenzylamino)-5-metoxyphenyl)metanol **16 c** (4,1 g).

Tổng hợp chất trung gian 16d:

Etyl 3-bromopropionat (0,126 mL, 0,99 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa (3-(dibenzylamino)-5-metoxyphenyl)metanol **16c** (300 mg, 0,90 mmol), NaH (phân tán 60% trong dầu khoáng) (40 mg, 0,99 mmol) trong DMF (7,0 ml). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Sau khi pha loãng bằng EtOAc, vật liệu thô được rửa bằng nước muối (5 lần). Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$ và được làm bay hơi đến khô. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 24 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra etyl 3-((3-(dibenzylamino)-5-metoxybenzyl)oxy)propanoat **16d** (97 mg).

Tổng hợp chất trung gian 16e:

Hỗn hợp chứa etyl 3-((3-(dibenzylamino)-5-metoxybenzyl)oxy)propanoat **16d** (97 mg, 0,22 mmol) trong EtOH (1,3 mL) và EtOAc (0,66 mL) được hydro hoá dưới áp suất 7 bar H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ với Pd/C (10%) (24 mg, 0,022 mmol) làm chất xúc tác. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua tấm Celite®. Celite® được rửa bằng EtOAc và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 3-((3-amino-5-metoxybenzyl)oxy)-propanoat **16e** (52 mg).

Tổng hợp chất trung gian 16f:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **1c** (74 mg, 0,17 mmol), etyl 3-((3-amino-5-metoxybenzyl)oxy)-propanoat **16e** (52 mg, 0,21 mmol) và diisopropyletylamin (59 µL, 0,34 mmol) trong CH_3CN (0,89 mL) được khuấy ở 80°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 12 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra etyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxybenzyl)oxy)propanoat **16f** (48 mg).

Tổng hợp hợp chất 16:

Dung dịch chứa LiOH monohydrat (33 mg, 0,79 mmol) trong nước (0,43 mL) được thêm vào dung dịch chứa etyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxybenzyl)oxy)propanoat **16f** (48 mg, 0,079 mmol) trong THF (0,97 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ. Dung dịch được axit hoá bằng HCl (3N) và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 12 g, CH_2Cl_2/MeOH 100/0 đến 98/2). Việc tinh chế thứ hai được tiến hành bằng sắc ký đảo pha (Pha ổn định: YMC-actus Triart-C18 10 µm 30 x 150 mm, pha động: Gradien từ 65% NH_4HCO_3 0,2% , 35% CH_3CN đến 25% NH_4HCO_3 0,2% , 75% CH_3CN). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra, sau khi đông khô trong CH_3CN/nước, axit 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-

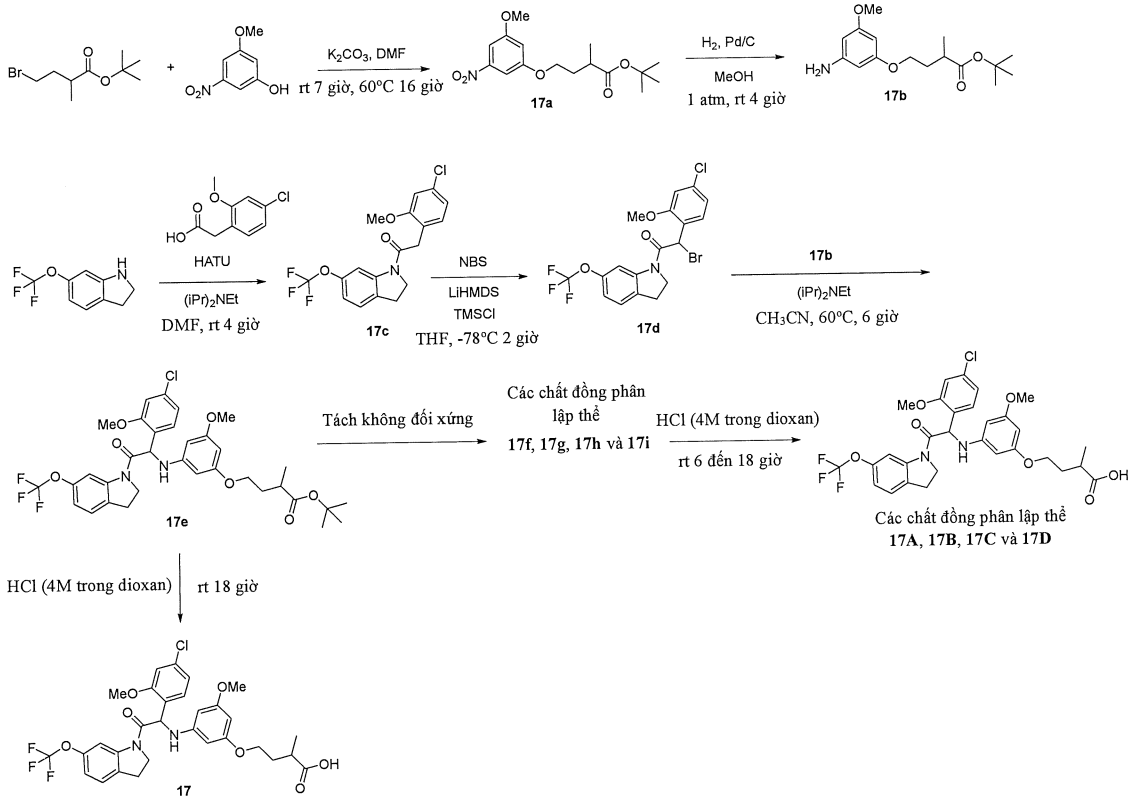
(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxybenzyl)oxy)propanoic (Hợp chất **16**, 5 mg).

Hợp chất 16:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,34 - 2,42 (m, 2 H) 3,03 - 3,23 (m, 2 H) 3,49 - 3,59 (m, 2 H) 3,63 (s, 3 H) 3,97 - 4,21 (m, 2 H) 4,27 (s, 2 H) 4,49 - 4,57 (m, 1 H) 5,58 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 6,11 (s, 1 H) 6,21 (s, 1 H) 6,33 (s, 1 H) 6,48 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 7,00 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,84 phút, MH^+ 579

Ví dụ 17: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoic (Hợp chất **17**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **17A, 17B, 17C** và **17D**.



Tổng hợp chất trung gian 17a:

Tert-butyl 4-bromo-2-metylbutanoat [CAS 1210410-44-8 (3,9 g, 16,446 mmol) được thêm từng giọt vào hỗn hợp chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (2,78 g, 16,446 mmol) và K_2CO_3 (3,409 g, 24,669 mmol) trong DMF (25 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 7 giờ và ở 60°C trong 16 giờ. Sau khi làm mát xuống 0°C, hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và đá và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi đến khô. Chất cặn thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (20-45 µm, 80 g, pha động: heptan/EtOAc 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 4-(3-metoxy-5-nitrophenoxy)-2-metylbutanoat **17a** (2,59 g).

Tổng hợp chất trung gian 17b:

Hỗn hợp chứa *tert*-butyl 4-(3-metoxy-5-nitrophenoxy)-2-metylbutanoat **17a** (2,9 g, 8,913 mmol) trong MeOH (50 mL) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 trong 4 giờ với Pd/C (10%) (1,52 g, 1,426 mmol) làm chất xúc tác. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua tấm Celite®. Celite® được rửa bằng EtOAc và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm. Hỗn hợp này được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (20-45 µm, 40 g, pha động: heptan/EtOAc 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được làm bay hơi đến khô để tạo ra *tert*-butyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **17b** (2,29 g).

Tổng hợp chất trung gian 17c:

Hỗn hợp chứa 6-(triflometoxy)indolin [CAS 959235-95-1] (2,5 g, 12,3 mmol), axit 2-(4-clo-2-metoxyphenyl)axetic [CAS 170737-95-8] (2,47 g, 12,3 mmol), HATU (7 g, 18,5 mmol) và diisopropyletylamin (6,1 mL, 36,9 mmol) trong DMF (40 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Nước và EtOAc được thêm. Lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra, sau

khi kết tinh từ CH_3CN/heptan, 2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **17c** (4,3 g).

Tổng hợp chất trung gian 17d:

Ở -78°C, dưới dòng chảy N_2, LiHMDS 1M trong THF (19,7 mL, 19,7 mmol) được thêm từng giọt vào hỗn hợp chứa 2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **17c** (3,8 g, 9,8 mmol) trong THF (50 mL). TMSCl (1,5 mL, 11,8 mmol) được thêm từng giọt. Hỗn hợp này được khuấy trong 15 phút ở -78°C và dung dịch chứa *N*-bromosuxinimit (1,9 g, 10,8 mmol) trong THF (35 mL) được thêm từng giọt. Sau khi khuấy trong 2 giờ ở -78°C, dừng phản ứng bằng dung dịch bão hoà của NH_4Cl. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra 2-bromo-2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **17d** (4,5 g). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp chất trung gian 17e và tách thành các chất đồng phân lập thể 17f, 17g, 17h và 17i:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etanon **17d** (2 g, 4,304 mmol), *tert*-butyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **17b** (763 mg, 2,583 mmol) và diisopropyletylamin (1,5 mL, 8,608 mmol) trong CH_3CN (70 mL) được khuấy ở 60°C trong 6 giờ. Hỗn hợp này được làm mát đến 0°C, được pha loãng bằng nước và đá, và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (25-30 µm, 40 g, heptan/EtOAc 80/20). Việc tinh chế thứ hai được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (25-30 µm, 40 g, heptan/EtOAc 85/15). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra *tert*-butyl 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **17e** (787 mg). Các chất đồng phân lập thể được

tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 83% CO_2, 17% EtOH) để tạo ra hỗn hợp chứa **17f** và **17g** (348 mg), và **17h** (164 mg) và **17i** (184 mg) tinh khiết. **17f** và **17g** được tách thêm bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 88% CO_2, 12% EtOH) để tạo ra **17f** (145 mg) và **17g** (140 mg).

Tổng hợp hợp chất 17:

Hỗn hợp chứa *tert*-butyl 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoat **17e** (180 mg, 0,265 mmol) trong HCl (4M trong dioxan) (3 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. 5 mL trietylamin được thêm và dung dịch được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 12 g, CH_2Cl_2/ MeOH từ 99/1 đến 96/4). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô (m = 115 mg). Chất cặn được hoá rắn trong pentan/diisopropyl ete và vài giọt CH_3CN để tạo ra axit 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoic (Hợp chất **17**, 75 mg).

Tổng hợp Chất đồng phân lập thể 17A:

Hỗn hợp chứa **17f** (145 mg, 0,214 mmol) trong HCl (4M trong dioxan) (5 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. 5 mL Et_3N được thêm và dung dịch được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 12 g, CH_2Cl_2/ MeOH từ 99,5/0,5 đến 95/5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô (m = 93 mg). Chất cặn được hoá rắn từ pentan/diisopropyl ete và vài giọt CH_3CN để tạo ra chất đồng phân lập thể **17A** (64 mg).

Tổng hợp Chất đồng phân lập thể 17B:

Hỗn hợp chứa **17g** (135 mg, 0,199 mmol) trong HCl (4M trong dioxan) (5 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc

dưới áp suất giảm. 5 mL Et_3N được thêm và dung dịch được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 12 g, CH_2Cl_2/ MeOH từ 99,5/0,5 đến 95/5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô (m = 65 mg). Chất cặn được hoá rắn từ pentan/diisopropyl ete và vài giọt CH_3CN để tạo ra chất đồng phân lập thể **17B** (38 mg).

Tổng hợp Chất đồng phân lập thể 17C:

Hỗn hợp chứa **17h** (162 mg, 0,239 mmol) trong HCl (4M trong dioxan) (5 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. 5 mL Et_3N được thêm và dung dịch được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 12 g, CH_2Cl_2/ MeOH từ 99,5/0,5 đến 95/5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô (m = 85 mg). Chất cặn được hoá rắn từ pentan/diisopropyl ete và vài giọt CH_3CN để tạo ra chất đồng phân lập thể **17C** (68 mg).

Tổng hợp Chất đồng phân lập thể 17D:

Hỗn hợp chứa **17i** (179 mg, 0,264 mmol) trong HCl (4M trong dioxan) (5 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. 5 mL Et_3N được thêm và dung dịch được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 24 g, CH_2Cl_2/ MeOH từ 99,5/0,5 đến 95/5). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô (m = 98 mg). Chất cặn được hoá rắn từ pentan/diisopropyl ete và vài giọt CH_3CN để tạo ra chất đồng phân lập thể **17D** (54 mg).

Hợp chất 17:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,11 (br d, J=6,62 Hz, 3 H) 1,54 - 1,82 (m, 1 H) 1,82 - 2,07 (m, 1 H) 3,10 - 3,22 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,77 - 3,87 (m, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 3,96 - 4,18 (m, 1 H) 4,30 – 4,43 (m, 1 H) 5,60 (br d, J=8,20 Hz, 1

H) 5,76 (br s, 1 H) 5,87 (s 1 H) 5,88 (s, 1H) 6,46 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 6,98 – 7,6 (m, 2 H) 7,15 (br s, 1 H) 7,28 – 7,44 (m, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,20 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,16 phút, MH^+ 623

Chất đồng phân lập thể 17A:

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,10 (br d, *J*=7,07 Hz, 3 H) 1,59 - 1,82 (m, 1 H) 1,82 - 2,04 (m, 1 H) 3,04 - 3,24 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,71 - 3,87 (m, 2 H) 3,90 (s, 3 H) 3,96 - 4,21 (m, 1 H) 4,32 - 4,56 (m, 1 H) 5,59 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,85 (s, 1 H) 5,87 (s, 1H) 6,44 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 6,98 – 7,05 (m, 2 H) 7,14 (s, 1 H) 7,22 - 7,53 (m, 2 H) 8,02 (br s, 1 H) 12,19 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 3,07 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: -18,4° (c 0,305, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-N): R_t 4,75 phút, MH^+ 623, độ tinh sạnh không đối xứng 99,3%.

Chất đồng phân lập thể 17B:

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,09 (br d, *J*=6,57 Hz, 3 H) 1,64 - 1,83 (m, 1 H) 1,83 - 2,09 (m, 1 H) 3,00 - 3,23 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 - 3,86 (m, 2 H) 3,90 (m, 3 H) 3,96 - 4,21 (m, 1 H) 4,26 - 4,56 (m, 1 H) 5,59 (br d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 5,75 (br s, 1 H) 5,86 (s, 1H) 5,87 (s, 1 H) 6,44 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 6,97 – 7,06 (m, 2 H) 7,14 (s, 1 H) 7,26 – 7,34 (m, 2 H) 8,02 (br s, 1 H) 12,20 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 3,03 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: -51,0° (c 0,298, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-N): R_t 5,90 phút, MH^+ 623, độ tinh sạnh không đối xứng 97,94%.

Chất đồng phân lập thể 17C:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,09 (d, J=6,57 Hz, 3 H) 1,61 - 1,84 (m, 1 H) 1,88 – 2,02 (m, 1 H) 3,07 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,76 - 3,88 (m, 2 H) 3,90 (s, 3 H) 3,97 - 4,18 (m, 1 H) 4,27 - 4,45 (m, 1 H) 5,59 (br d, J=8,59 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,86 (br s, 1 H) 5,87 (br s, 1 H) 6,39 - 6,49 (m, 1 H) 6,97 - 7,02 (m, 1 H) 7,02 - 7,05 (m, 1 H) 7,14 (d, J=2,02 Hz, 1 H) 7,29 - 7,32 (m, 1 H) 7,32 - 7,37 (m, 1 H) 8,02 (s, 1 H) 12,19 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,16 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: +41,6° (c 0,257, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-N): R_t 6,86 phút, MH^+ 623, độ tinh sạnh không đối xứng 98,89%.

Chất đồng phân lập thể 17D:

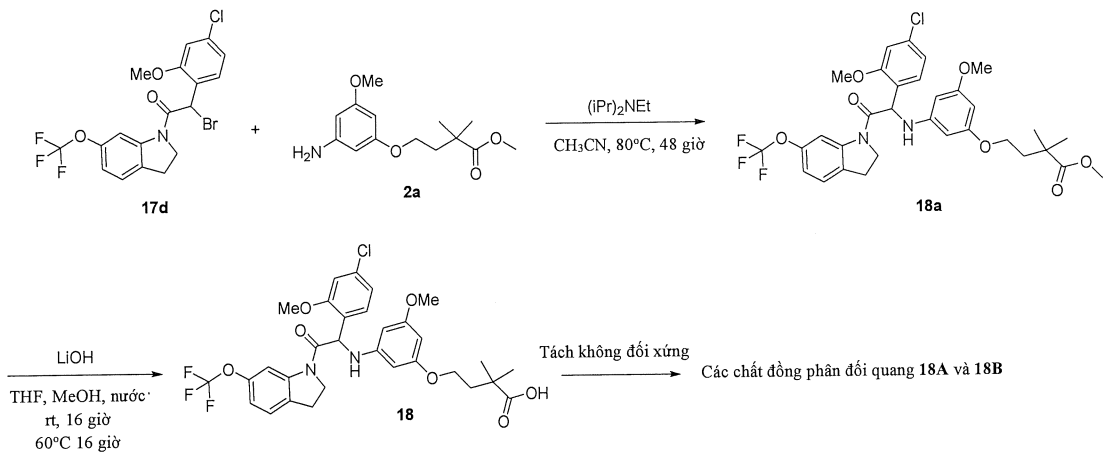
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,11 (d, J=6,94 Hz, 3 H) 1,70 (dq, J=13,44, 6,55 Hz, 1 H) 1,97 (dq, J=13,64, 6,80 Hz, 1 H) 3,09 -3,26 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,85 (br t, J=6,31 Hz, 2 H) 3,91 (s, 3 H) 3,97 - 4,09 (m, 1 H) 4,31 - 4,47 (m, 1 H) 5,60 (br d, J=8,51 Hz, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,86 (br s, 1 H) 5,88 (br s, 1 H) 6,45 (br d, J=8,51 Hz, 1 H) 7,00 - 7,08 (m, 2 H) 7,15 (d, J=1,26 Hz, 1 H) 7,32 (d, J=8,20 Hz, 1 H) 7,34 (br d, J=8,20 Hz, 1 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,18 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,15 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: +15,8° (c 0,297, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-N): R_t 8,14 phút, MH^+ 623, độ tinh sạnh không đối xứng 98,6%.

Ví dụ 18: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetyl-butanoic (Hợp chất **18**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **18A** và **18B**.



Tổng hợp chất trung gian 18a:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etanon **17d** (800 mg, 1,291 mmol), metyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **2a** (518 mg, 1,937 mmol) và diisopropyletylamin (445 µL, 2,583 mmol) trong CH_3CN (6 mL) được khuấy ở 80°C trong 48 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc đến khô. Chất cặn được hấp thụ bằng EtOAc, được rửa bằng 1N HCl (2 lần), và bằng nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không để tạo ra metyl 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **18a** (950 mg). Hợp chất được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp hợp chất 18 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 18A và 18B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (184 mg, 4,38 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa metyl 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflo-metoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **18a** (950 mg, 1,459 mmol) trong THF/MeOH/nước (1/1/1) (30 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ, và sau đó ở 60°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp nước được axit hóa chậm đến độ pH=5-6 bằng 3N HCl và được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp

lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 40 g, CH_2Cl_2/CH_3OH, từ 100/0 đến 99/1). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô (m = 350 mg). Một phần nhỏ chất cặn được kết tinh từ Et_2O/diisopropyl ete. Chất kết tủa được lọc ra và được làm khô để tạo ra axit 4-(3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoic (Hợp chất **18**, 25 mg). Lượng còn lại (290 mg) được sử dụng để tách không đối xứng. Các chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 75% CO_2, 25% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **18A** (68 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **18B** (70 mg).

Hợp chất 18:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,14 (d, *J*=2,2 Hz, 6 H) 1,87 (t, *J*=7,1 Hz, 2 H) 3,09 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,80 - 3,88 (m, 2 H) 3,90 (s, 3 H) 3,98 - 4,07 (m, 1 H) 4,33 - 4,42 (m, 1 H) 5,60 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,85 (s, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 6,44 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 6,98 - 7,06 (m, 2 H) 7,15 (d, *J*=1,6 Hz, 1 H) 7,33 (dd, *J*=11,7, 8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,23 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,40 phút, MH^+ 637

MP = 138°C

Chất đồng phân đối quang 18A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,14 (d, *J*=2,2 Hz, 6 H) 1,87 (br t, *J*=7,1 Hz, 2 H) 3,09 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,81 - 3,87 (m, 2 H) 3,90 (s, 3 H) 3,98 - 4,07 (m, 1 H) 4,33 - 4,42 (m, 1 H) 5,59 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,84 (s, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 6,44 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 6,98 - 7,06 (m, 2 H) 7,14 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,33 (dd, *J*=10,7, 8,5 Hz, 2 H) 8,02 (s, 1 H) 11,94 - 12,35 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,40 phút, MH^+ 637

$[\alpha]_D^{20}$: -30,2° (c 0,315, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-O): R_t 1,31 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 18B:

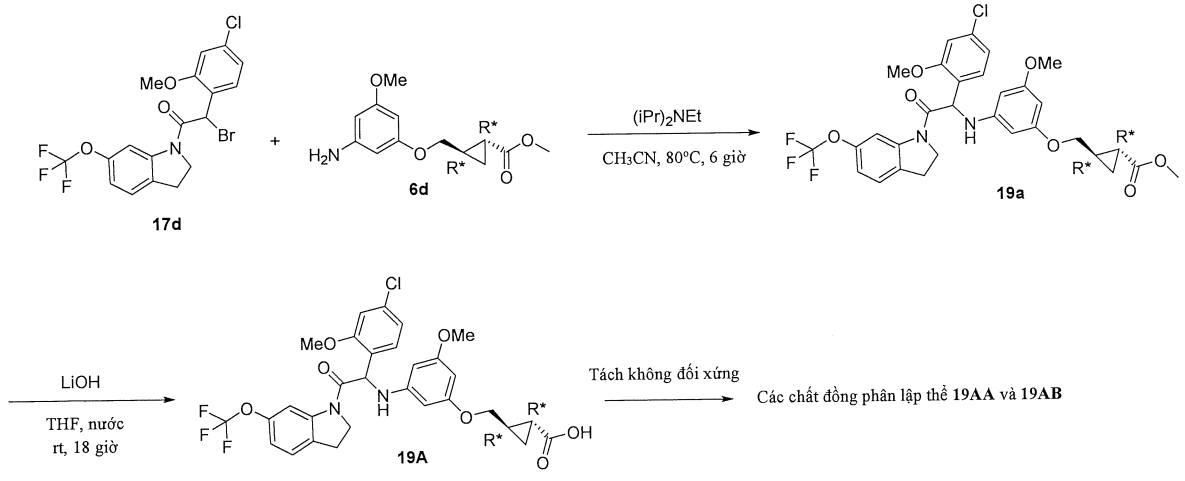
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,13 (d, *J*=2,5 Hz, 6 H) 1,87 (t, *J*=7,3 Hz, 2 H) 3,10 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,80 - 3,87 (m, 2 H) 3,90 (s, 3 H) 4,02 (td, *J*=10,2, 7,1 Hz, 1 H) 4,33 - 4,41 (m, 1 H) 5,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,73 - 5,76 (m, 1 H) 5,84 (s, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 6,44 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 6,97 - 7,08 (m, 2 H) 7,14 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,33 (dd, *J*=11,2, 8,4 Hz, 2 H) 8,02 (s, 1 H) 11,92 - 12,44 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,40 phút, MH^+ 637

$[\alpha]_D^{20}$: +28,0° (c 0,354, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-O): R_t 1,60 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,45%.

Ví dụ 19A: tổng hợp axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **19A**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **19AA** và **19AB**.



Tổng hợp chất trung gian 19a:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etanon **17d** (0,37 g, 0,796 mmol), (1*R**,2*R**)-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropancarboxylatmetoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl) axetat **6d** (0,317 g, 1,194 mmol) và diisopropyletylamin (0,274 mL, 1,593 mmol) trong CH_3CN (10 mL) được khuấy ở 80°C trong 6 giờ. Phản ứng được làm mát đến 0°C và được pha loãng bằng nước và đá. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi đến khô. Hợp chất được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (25-30 µm, 24 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm để tạo ra (1*R**,2*R**)-metyl 2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **19a** (306 mg).

Tổng hợp hợp chất 19A và tách thành các chất đồng phân lập thể 19AA và 19AB:

Dung dịch chứa LiOH monohydrat (77 mg, 1,826 mmol) trong nước (5 mL) được thêm vào dung dịch chứa (1*R**,2*R**)-metyl 2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **19a** (237 mg, 0,365 mmol) trong THF (5 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ và được cô đặc trong chân không. Hợp chất được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (20-45 µm, 24 g, CH_2Cl_2/MeOH từ 99,5/0,5 đến 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl) xyclopropancarboxylic (Hợp chất **19A**, 170 mg). Các chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 65% CO_2, 35% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ CH_3CN/diisopropyl ete/heptan, chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải **19AA** (67 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải **19AB** (59 mg).

Chất đồng phân lập thể 19AA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,85 -0,95 (m, 1 H) 0,99 - 1,08 (m, 1 H) 1,55 (dt, *J*=8,12, 4,30 Hz, 1 H) 1,57 – 1,67 (m, 1 H) 3,10 – 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,64 - 3,73 (m, 1 H) 3,83 (br dd, *J*=10,40, 6,31 Hz, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 3,98 - 4,08 (m, 1 H) 4,29 - 4,44 (m, 1 H) 5,60 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,87 (s, 2 H) 6,45 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 6,96 - 7,07 (m, 2 H) 7,14 (d, *J*=1,26 Hz, 1 H) 7,31 (d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,32 - 7,38 (m, 1 H) 8,02 (br s, 1 H) 12,23 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,84 phút, MH^+ 621

$[\alpha]_D^{20}$: -65,6° (c 0,25, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 1,44 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 19AB:

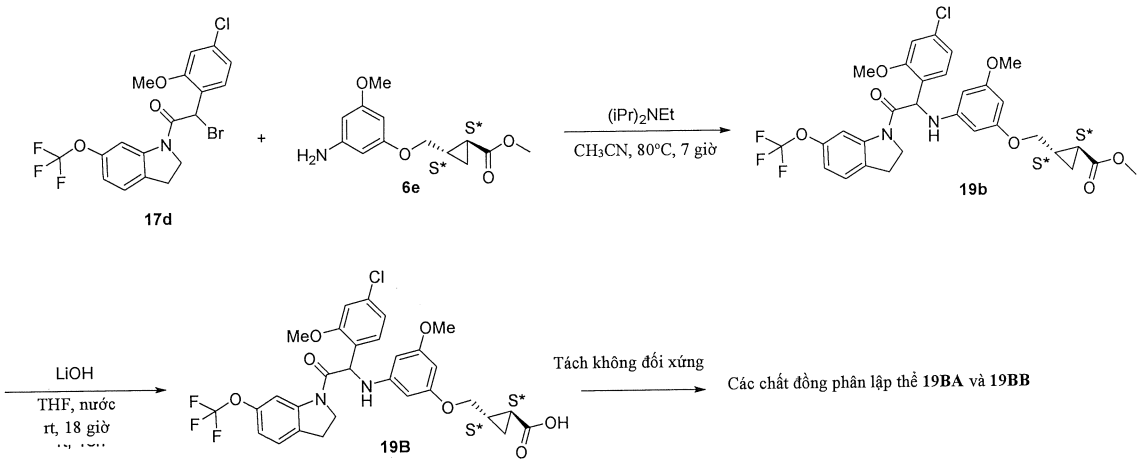
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,87 - 0,95 (m, 1 H) 0,99 - 1,07 (m, 1 H) 1,50 - 1,57 (m, 1 H) 1,59 - 1,70 (m, 1 H) 3,09 - 3,24 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,63 - 3,72 (m, 1 H) 3,85 (br dd, *J*=10,40, 6,31 Hz, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 3,99 - 4,09 (m, 1 H) 4,30 - 4,44 (m, 1 H) 5,60 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,87 (s, 2 H) 6,45 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,00 - 7,09 (m, 2 H) 7,14 (d, *J*=1,26 Hz, 1 H) 7,30 (d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,34 (br d, *J*=8,20 Hz, 1 H) 8,02 (br s, 1 H) 12,26 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,85 phút, MH^+ 621

$[\alpha]_D^{20}$: +37,1° (c 0,28, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 2,20 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,84%.

Ví dụ 19B: tổng hợp axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **19B**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **19BA** và **19BB**.



Tổng hợp chất trung gian 19b:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clo-2-metoxyphenyl)-1-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etanon **17d** (0,39 g, 0,839 mmol), (1*S**,2*S**)-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)xyclopropancarboxylatmetoxyphenoxy)metyl)xyclopropyl)a xetat **6e** (0,334 g, 1,259 mmol) và diisopropyletylamin (0,289 mL, 1,679 mmol) trong CH_3CN (10 mL) được khuấy ở 80°C trong 7 giờ. Phản ứng được làm mát đến 0°C và được pha loãng bằng nước và đá. Hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi đến khô. Hợp chất được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (25-30 µm, 24 g, heptan/EtOAc 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm để tạo ra (1*S**,2*S**)-metyl 2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **19b** (308 mg).

Tổng hợp hợp chất 19B và tách thành các chất đồng phân lập thể 19BA và 19BB:

Dung dịch chứa LiOH monohydrat (98 mg, 2,334 mmol) trong nước (5 mL) được thêm vào dung dịch chứa (1*S**,2*S**)-metyl 2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **19b** (303 mg, 0,467 mmol) trong THF (5 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ và sau đó được cô đặc trong chân không. Hợp chất được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (20-45 µm, 24 g,

CH_2Cl_2/MeOH từ 100/0 đến 98/2). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clo-2-metoxyphenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **19B**, 250 mg). Các chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 65% CO_2, 35% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ CH_3CN/diisopropyl ete/heptan, chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải **19BA** (97 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải **19BB** (103 mg).

Chất đồng phân lập thể 19BA:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,85 - 0,95 (m, 1 H) 0,95 - 1,09 (m, 1 H) 1,54 (dt, *J*=8,34, 4,42 Hz, 1 H) 1,55 - 1,66 (m, 1 H) 3,09 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,66 (dd, *J*=10,36, 7,33 Hz, 1 H) 3,85 (dd, *J*=10,61, 6,06 Hz, 1 H) 3,89 (s, 3 H) 3,96 - 4,12 (m, 1 H) 4,26 - 4,43 (m, 1 H) 5,59 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,87 (s, 1 H) 5,88 (s, 1H) 6,44 (d, *J*=9,09 Hz, 1 H) 6,93 - 7,06 (m, 2 H) 7,14 (d, *J*=2,02 Hz, 1 H) 7,30 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 8,02 (s, 1 H) 12,20 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,84 phút, MH^+ 621

$[\alpha]_D^{20}$: -47,6° (c 0,271, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 1,48 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 19BB:

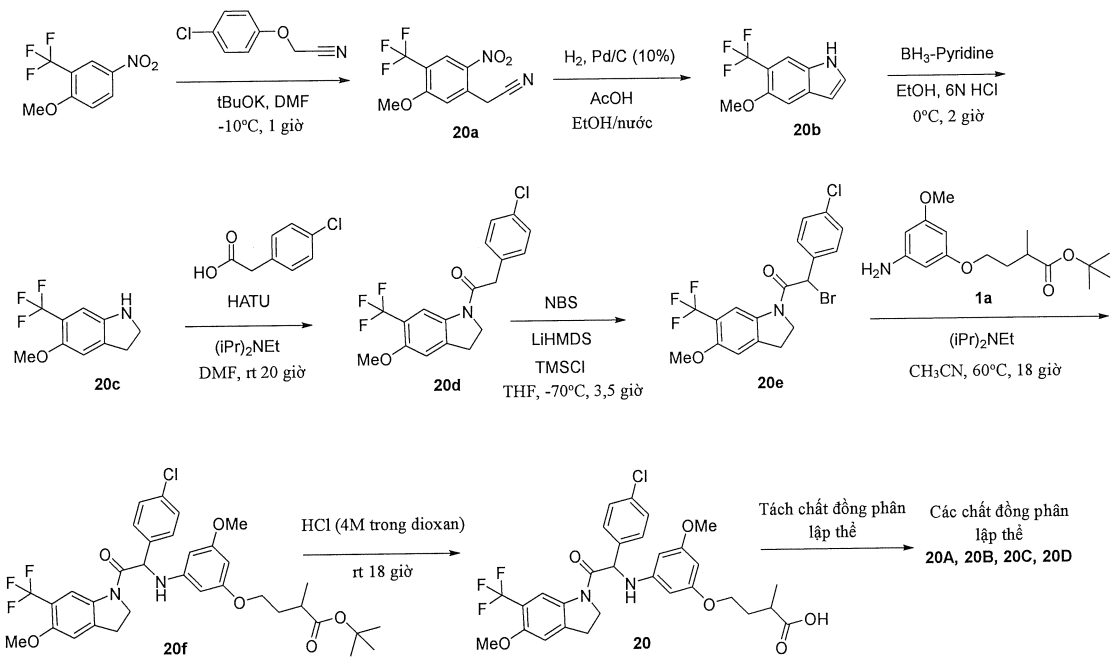
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,85 - 0,97 (m, 1 H) 0,98 - 1,07 (m, 1 H) 1,51 - 1,58 (m, 1 H) 1,55 -1,67 (m, 1 H) 3,07 - 3,25 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,65 - 3,74 (m, 1 H) 3,83 (br dd, *J*=10,36, 5,81 Hz, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 3,97 - 4,14 (m, 1 H) 4,30 - 4,42 (m, 1 H) 5,60 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,76 (s, 1 H) 5,87 (s, 2 H) 6,44 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 6,98 - 7,07 (m, 2 H) 7,14 (d, *J*=1,52 Hz, 1 H) 7,30 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 7,33 (br d, *J*=8,08 Hz, 1 H) 8,02 (s, 1 H) 12,24 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,84 phút, MH^+ 621

$[\alpha]_D^{20}$: +56,8° (c 0,264, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 2,12 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,59%.

Ví dụ 20: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflo-metyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2-metylbutanoic (Hợp chất **20**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **20A**, **20B**, **20C** và **20D**



Tổng hợp chất trung gian 20a:

Hỗn hợp chứa 1-metoxy-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 từng giọt trong 30 phút vào dung dịch đã khuấy chứa tBuOK (27,35 g, 243,7 mmol) trong DMF (100 mL) ở -10°C. Sau khi thêm, dung dịch mày tím này được giữ ở -10°C trong 1 giờ. 500 mL đá-nước và 500 mL

6N HCl được thêm và chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng nước và được làm khô dưới áp suất giảm để tạo ra 40,4 g 2-(5-metoxy-2-nitro-4-(triflometyl)-phenyl)axetonitril **20a** (được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo).

Tổng hợp chất trung gian 20b:

Dung dịch chứa 2-(5-metoxy-2-nitro-4-(triflometyl)phenyl)axetonitril **20a** (26 g, 99,9 mmol) trong etanol/nước (9/1) (500 mL) và AcOH (5,2 mL) được hydro hoá trong 1 giờ dưới áp suất 3,5 bar với 10% Pd/C (15,3 g) làm chất xúc tác. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm Celite® và bánh lọc được rửa bằng hỗn hợp dung môi chứa CH_2Cl_2 và CH_3OH. Các dịch lọc gộp lại được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được lọc qua bộ lọc thủy tinh nạp bằng silica 60-200 µm 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 đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 5-metoxy-6-(triflometyl)-1*H*-indol **20b** (15,6 g).

Tổng hợp chất trung gian 20c:

Ở 0°C, BH_3-Pyridin (23,5 mL, 232,4 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa 5-metoxy-6-(triflometyl)-1*H*-indol **20b** (10 g, 46,5 mmol) trong EtOH (60 mL). 6N HCl (140 mL) được thêm chậm trong khi giữ nhiệt độ dưới 10°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Nước (200 mL) được thêm và hỗn hợp này được bazơ hóa đến độ pH=8-9 bằng dung dịch nước đậm đặc của NaOH (nhiệt độ phản ứng được giữ ở dưới 20°C). Chất kết tủa được lọc, được rửa bằng nước (2 lần) và được làm bay hơi đồng thời dưới áp suất giảm với toluen để tạo ra 5-metoxy-6-(triflometyl)indolin **20c** (9 g).

Tổng hợp hợp chất 20 và tách thành các chất đồng phân lập thể 20A, 20B, 20C và 20D:

Hợp chất **20** (330 mg) thu được theo các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **1** bắt đầu từ từ chất trung gian **20c**. 4 chất đồng phân lập thể **20A** (50 mg), **20B** (18 mg), **20C** (68 mg) và **20D** (32 mg) thu được, theo trình tự rửa giải này, bằng hai lần tách SFC không đối xứng tiếp theo: (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5

µm 250 x 30 mm , pha động: 40% CO_2, 60% iPrOH) và (Pha ổn định: Chiralcel® OJ-H 5 µm 250 x 20mm, pha động: 60% CO_2, 40% MeOH) ; sau đó tinh chế riêng rẽ với sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 12 g, CH_2Cl_2/MeOH từ 99,5/0,5 đến 90/10) và hóa rắn sau đó từ CH_3CN/diisopropyl ete/heptan.

Chất đồng phân lập thể 20A:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,10 (d, *J*=7,07 Hz, 3 H) 1,60 – 1,72 (m, 1 H) 1,90 – 2,01 (m, 1 H) 3,20 – 3,32 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,79 - 3,90 (m, 5 H) 3,93 - 4,09 (m, 1 H) 4,42 – 4,53 (m, 1 H) 5,53 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,93 (br s, 1 H) 5,95 (br s, 1 H) 6,38 (br d, *J*=9,09 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (br d, *J*=8,08 Hz, 2 H) 7,55 (br d, *J*=8,08 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,16 (br s 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 607

$[\alpha]_D^{20}$: -40,9° (c 0,257, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-Q): R_t 1,07 phút, MH^+ 607, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 20B:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,09 (d, *J*=6,94 Hz, 3 H) 1,69 (dq, *J*=13,52, 6,53 Hz, 1 H) 1,88 - 2,11 (m, 1 H) 3,08 - 3,28 (m, 2 H) 3,53 - 3,66 (m, 3 H) 3,79 - 3,90 (m, 5 H) 3,92 - 4,11 (m, 1 H) 3,92 - 4,11 (m, 1 H) 4,32 - 4,67 (m, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 5,95 (s, 1H) 6,30 - 6,45 (m, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,05 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 607

$[\alpha]_D^{20}$: -50,0° (c 0,266, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-Q): R_t 1,07 phút, MH^+ 607, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 20C:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,09 (br d, J=6,94 Hz, 3 H) 1,52 - 1,83 (m, 1 H) 1,86 - 2,06 (m, 1 H) 3,07 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,73 - 3,91 (m, 5 H) 3,94 - 4,04 (m, 1 H) 4,37 - 4,58 (m, 1 H) 5,54 (br d, J=8,51 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 5,95 (s, 1H) 6,39 (br d, J=8,51 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (br d, J=8,20 Hz, 2 H) 7,55 (br d, J=8,20 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,13 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,95 phút, MH^+ 607

$[\alpha]_D^{20}$: +26,0° (c 0,288, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-Q): R_t 1,56 phút, MH^+ 607, độ tinh sạnh không đối xứng 99,68%.

Chất đồng phân lập thể 20D:

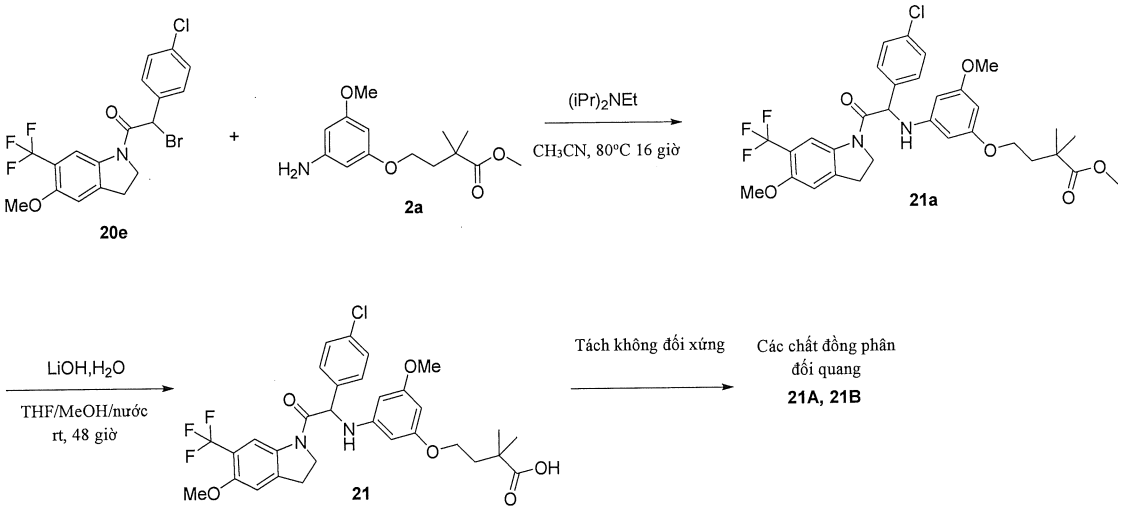
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,09 (d, J=7,07 Hz, 3 H) 1,60 - 1,75 (m, 1 H) 1,85 – 1,99 (m, 1 H) 3,11 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,77 - 3,91 (m, 5 H) 3,93 - 4,05 (m, 1 H) 4,44 - 4,56 (m, 1 H) 5,54 (br d, J=8,59 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,93 (br s, 1 H) 5,95 (br s, 1 H) 6,38 (br d, J=8,59 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, J=8,59 Hz, 2 H) 7,55 (br d, J=8,08 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,22 (br s, 1 H) (1H thiếu CH CO_2H trong DMSO)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,96 phút, MH^+ 607

$[\alpha]_D^{20}$: +57,4° (c 0,27, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-Q): R_t 2,19 phút, MH^+ 607, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 21: tổng hợp axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflo-metyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoic (Hợp chất **21**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **21A** và **21B**



Tổng hợp chất trung gian 21a:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)etanon **20e** (904 mg, 2,014 mmol), metyl 4-(3-amino-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **2a** (700 mg, 2,619 mmol) và diisopropyletylamin (694 µL, 4,029 mmol) trong CH_3CN (10 mL) được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi để tạo ra metyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **21a** (1,58 g), được sử dụng như vậy cho bước tiếp theo.

Tổng hợp hợp chất 21 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 21A và 21B:

Ở 0°C, LiOH monohydrat (254 mg, 6,046 mmol) được thêm vào dung dịch chứa metyl 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoat **21a** (1,28 g, 2,015 mmol) trong THF/MeOH/nước (15 mL). Hỗn hợp này được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 48 giờ. Hỗn hợp này được làm mát đến 0°C và nước được thêm. Hỗn hợp này được axit hoá đến độ pH=4-5 bằng 3N HCl và được chiết

bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 40 g, CH_2Cl_2/CH_3OH: từ 100/0 đến 98/2). Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được gộp lại và được làm bay hơi đến khô. Việc tinh chế thứ hai được tiến hành bằng sắc ký đảo pha (Pha ổn định: YMC-actus Triart-C18 10 µm 30 x 150 mm, pha động: Gradien từ 70% dung dịch nước NH_4HCO_3 0,2%, 30% CH_3CN đến 0% dung dịch nước NH_4HCO_3 0,2%, 100% CH_3CN). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc trong chân không để tạo ra axit 4-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)-2,2-dimetylbutanoic (Hợp chất **21**, 455 mg). Các chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 55% CO_2, 45% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **21A** (106 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **21B** (103 mg).

Hợp chất 21:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,13 (d, *J*=3,8 Hz, 6 H) 1,87 (t, *J*=7,3 Hz, 2 H) 3,14 - 3,30 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (m, 5 H) 3,98 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,3, 6,1 Hz, 1 H) 5,52 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,73 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 6,39 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,23 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,19 phút, MH^+ 621

Chất đồng phân đối quang 21A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,08 - 1,15 (m, 6 H) 1,85 (t, *J*=7,3 Hz, 2 H) 3,13 - 3,30 (m, 2 H) 3,55 - 3,65 (m, 3 H) 3,80 - 3,89 (m, 5 H) 3,98 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,4, 6,3 Hz, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,73 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 6,38 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,21 phút, MH^+ 621

$[\alpha]_D^{20}$: -41,7° (c 0,254, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-H): R_t 1,23 phút, MH^+ 621, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 21B:

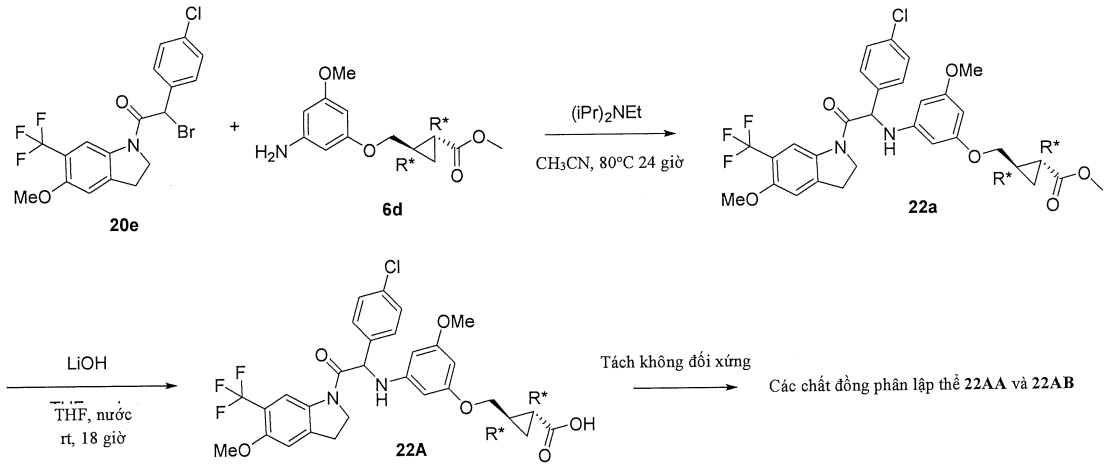
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,08 - 1,16 (m, 6 H) 1,86 (t, *J*=7,1 Hz, 2 H) 3,15 - 3,29 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,80 - 3,90 (m, 5 H) 3,98 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,4, 6,3 Hz, 1 H) 5,53 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,70 - 5,75 (m, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 6,38 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,56 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,21 phút, MH^+ 621

$[\alpha]_D^{20}$: +44,0° (c 0,275, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-H): R_t 2,38 phút, MH^+ 621, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 22A: tổng hợp axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **22A**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **22AA** và **22AB**



Tổng hợp hợp chất 22A và tách thành các chất đồng phân lập thể 22AA và 22AB:

Hợp chất **22A** (284 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **20e** sử dụng các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **6A**. Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 50% CO_2, 50% EtOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ pentan/diisopropyl ete, các chất đồng phân lập thể thứ nhất được phân giải **22AA** (79 mg) và các chất đồng phân lập thể thứ hai được phân giải **22AB** (74 mg).

Các chất đồng phân lập thể 22AA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,85 – 0,93 (m, 1 H) 1,00 - 1,08 (m, 1 H) 1,54 (dt, *J*=8,12, 4,30 Hz, 1 H) 1,60 -1,68 (m, 1 H) 3,12 - 3,26 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (dd, *J*=10,40, 7,57 Hz, 1 H) 3,79 - 3,90 (m, 4 H) 3,93 - 4,05 (m, 1 H) 4,50 (td, *J*=10,40, 6,31 Hz, 1 H) 5,55 (d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,39 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,23 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,80 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: -75,0° (c 0,3, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-R): R_t 0,86 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Các chất đồng phân lập thể 22AB:

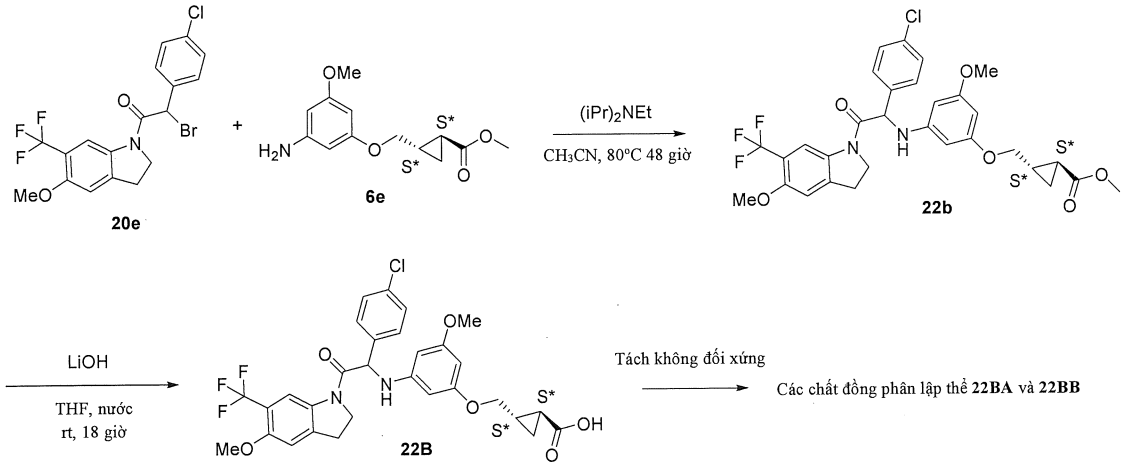
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,88 (br t, *J*=9,30 Hz, 1 H) 1,02 (dt, *J*=8,43, 4,45 Hz, 1 H) 1,47 - 1,58 (m, 1 H) 1,59 - 1,68 (m, 1 H) 3,13 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,64 - 3,72 (m, 1 H) 3,84 (s, 4 H) 3,92 - 4,06 (m, 1 H) 4,50 (td, *J*=10,32, 6,15 Hz, 1 H) 5,55 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,39 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,08 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,69 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: +10,0° (c 0,281, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-R): R_t 1,84 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 22B: tổng hợp axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl)indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **22B**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **22BA** và **22BB**



Tổng hợp hợp chất 22B và tách thành các chất đồng phân lập thể 22BA và 22BB:

Hợp chất **22B** (257 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **20e** sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **6B**. Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 50% CO_2, 50% EtOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ pentan/diisopropyl ete, các chất đồng phân lập thể thứ nhất được phân giải **22BA** (49 mg) và các chất đồng phân lập thể thứ hai được phân giải **22BB** (61 mg).

Các chất đồng phân lập thể 22BA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,83 - 1,00 (m, 1 H) 0,98 - 1,09 (m, 1 H) 1,54 (dt, J=8,35, 4,33 Hz, 1 H) 1,58 - 1,70 (m, 1 H) 3,13 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (dd, J=10,09, 7,57 Hz, 1 H) 3,78 - 3,89 (m, 4 H) 3,95 - 4,05 (m, 1 H) 4,50 (td, J=10,25, 6,31 Hz, 1 H) 5,55 (d, J=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,95 (br s, 1 H)

5,96 (br s, 1 H) 6,39 (br d, J=8,83 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, J=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, J=8,51 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,24 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,68 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: -9,3° (c 0,291, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-S): R_t 1,48 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Các chất đồng phân lập thể 22BB:

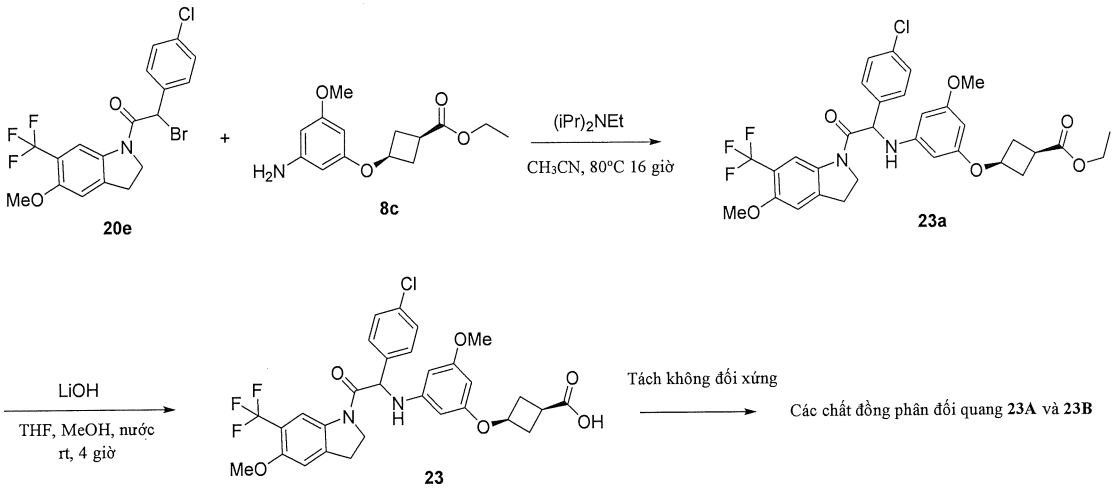
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,82 - 0,95 (m, 1 H) 1,04 - 1,06 (m, 1 H) 1,55 (dt, *J*=8,28, 4,22 Hz, 1 H) 1,58 - 1,68 (m, 1 H) 3,13 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (dd, *J*=10,40, 7,25 Hz, 1 H) 3,81 - 3,88 (m, 4 H) 3,95 - 4,02 (m, 1 H) 4,46 - 4,55 (m, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,39 (d, *J*=9,14 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,20 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,80 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: +80,0° (c 0,275, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-S): R_t 3,12 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 99,55%.

Ví dụ 23: tổng hợp axit (1s,3s)-3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **23**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **23A** và **23B**



Tổng hợp hợp chất 23 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 23A và 23B:

Hợp chất **23A** (280 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **20e** sử dụng các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **8**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 45% CO_2, 55% EtOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **23A** (60 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **23B** (71 mg).

Hợp chất 23:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,02 - 2,15 (m, 2 H) 2,58 - 2,65 (m, 2 H) 2,66 - 2,75 (m, 1 H) 3,14 - 3,29 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,98 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,42 - 4,57 (m, 2 H) 5,51 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,65 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,42 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 12,11 - 12,40 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,76 phút, MH^+ 605

Chất đồng phân đối quang 23A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,02 - 2,15 (m, 2 H) 2,57 - 2,65 (m, 2 H) 2,66 - 2,75 (m, 1 H) 3,14 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,98 (td,

J=10,3, 7,1 Hz, 1 H) 4,42 - 4,56 (m, 2 H) 5,51 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,65 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,42 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 12,02 - 12,49 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,75 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: -38,1° (c 0,307, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-R): R_t 0,84 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 23B:

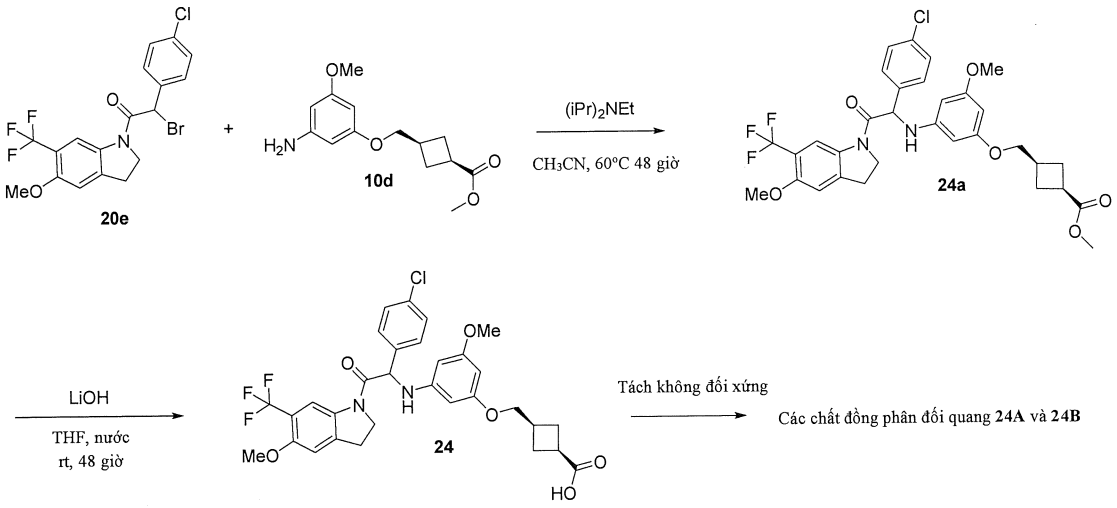
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,02 - 2,15 (m, 2H) 2,56 - 2,75 (m, 3 H) 3,14 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,93 - 4,04 (m, 1 H) 4,43 - 4,57 (m, 2 H) 5,51 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,65 (s, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,42 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (br d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 12,07 - 12,47 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,76 phút, MH^+ 605

$[\alpha]_D^{20}$: +36,9° (c 0,309, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-R): R_t 1,86 phút, MH^+ 605, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 24: tổng hợp axit (1*s*,3*s*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclobutancarboxylic (Hợp chất **24**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **24A** và **24B**



Tổng hợp hợp chất 24 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 24A và 24B:

Hợp chất **24** (550 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **20e** sử dụng các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **10**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Whelk® O1 (S,S) 5 µm 250 x 21,1 mm, pha động: 50% CO_2, 50% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ Et_2O, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **24A** (190 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **24B** (177 mg).

Hợp chất 24:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,93 (br q, *J*=9,77 Hz, 2 H) 2,11 - 2,32 (m, 2 H) 2,53 - 2,60 (m, 1 H) 2,97 (quin, *J*=8,91 Hz, 1 H) 3,16 - 3,30 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,74 - 3,82 (m, 2 H) 3,85 (s, 3 H) 3,96 - 4,06 (m, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,25, 5,99 Hz, 1 H) 5,55 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,94 (br s, 2 H) 6,39 (d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,34 (s, 1 H) 12,07 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,91 phút, MH^+ 619

Chất đồng phân đối quang 24A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,87 - 2,02 (m, 2 H) 2,15 - 2,30 (m, 2 H) 2,52 - 2,59 (m, 1 H) 2,95 (qt J = 8,83 Hz, 1 H) 3,07 - 3,29 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,77 (br d, *J*=6,31 Hz, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 3,95 – 4,07 (m, 1 H) 4,42 – 4,56 (m, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,74 (t, *J*=2,05 Hz, 1 H) 5,81 - 6,01 (m, 2 H) 6,38 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,11 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,89 phút, MH^+ 619

$[\alpha]_D^{20}$: -41,5° (c 0,224, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-T): R_t 1,81 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 24B:

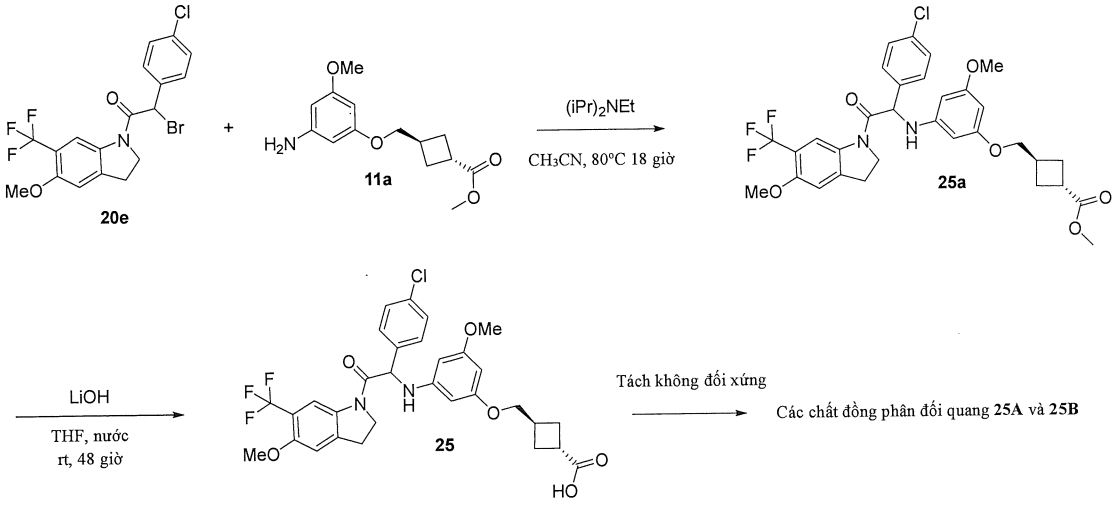
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,91 (q, *J*=9,35 Hz, 2 H) 2,17 - 2,26 (m, 2 H) 2,53 - 2,61 (m, 1 H) 2,94 (quin, *J*=8,91 Hz, 1 H) 3,13 - 3,27 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,72 - 3,79 (m, 2 H) 3,84 (s, 3 H) 3,90 - 4,06 (m, 1 H) 4,50 (td, *J*=10,32, 6,46 Hz, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,72 - 5,75 (m, 1 H) 5,91 - 5,95 (m, 2 H) 6,38 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,20 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,07 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,89 phút, MH^+ 619

$[\alpha]_D^{20}$: +36,6° (c 0,232, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-T): R_t 2,26 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 98,71%.

Ví dụ 25: tổng hợp axit (1*r*,3*r*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-metoxy-6-(triflometyl) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclobutancarboxylic (Hợp chất **25**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **25A** và **25B**



Tổng hợp hợp chất 25 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 25A và 25B:

Hợp chất **25** (310 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **20e** sử dụng các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **11**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Whelk® O1 (S,S) 5 µm 250 x 21,1 mm, pha động: 50% CO_2, 50% MeOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ Et_2O/pentan, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **25A** (94 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **25B** (105 mg).

Hợp chất 25:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,80 - 2,04 (m, 2 H) 2,22 - 2,31 (m, 2 H) 2,56 - 2,64 (m, 1 H) 3,09 (br qt, *J*=7,33 Hz, 1 H) 3,14 - 3,28 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,87 (d, *J*=6,57 Hz, 2 H) 3,93 - 4,06 (m, 1 H) 4,45 - 4,56 (m, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,77 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,38 (d, *J*=9,09 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1H) 7,43 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H) 12,10 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,87 phút, MH^+ 619

Chất đồng phân đối quang 25A:

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,91 - 2,03 (m, 2 H) 2,18 - 2,29 (m, 2 H) 2,55 - 2,62 (m, 1 H) 3,01 - 3,11 (m, 1 H) 3,14 - 3,28 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,86 (d, *J*=7,07 Hz, 2 H) 3,93 - 4,05 (m, 1 H) 4,42 – 4,58 (m, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,77 (s, 1 H) 5,92 - 5,95 (m, 1 H) 5,95 - 5,98 (m, 1 H) 6,38 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,08 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,08 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,90 phút, MH^+ 619

$[\alpha]_D^{20}$: -41,1° (c 0,28, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-T): R_t 1,91 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 25B:

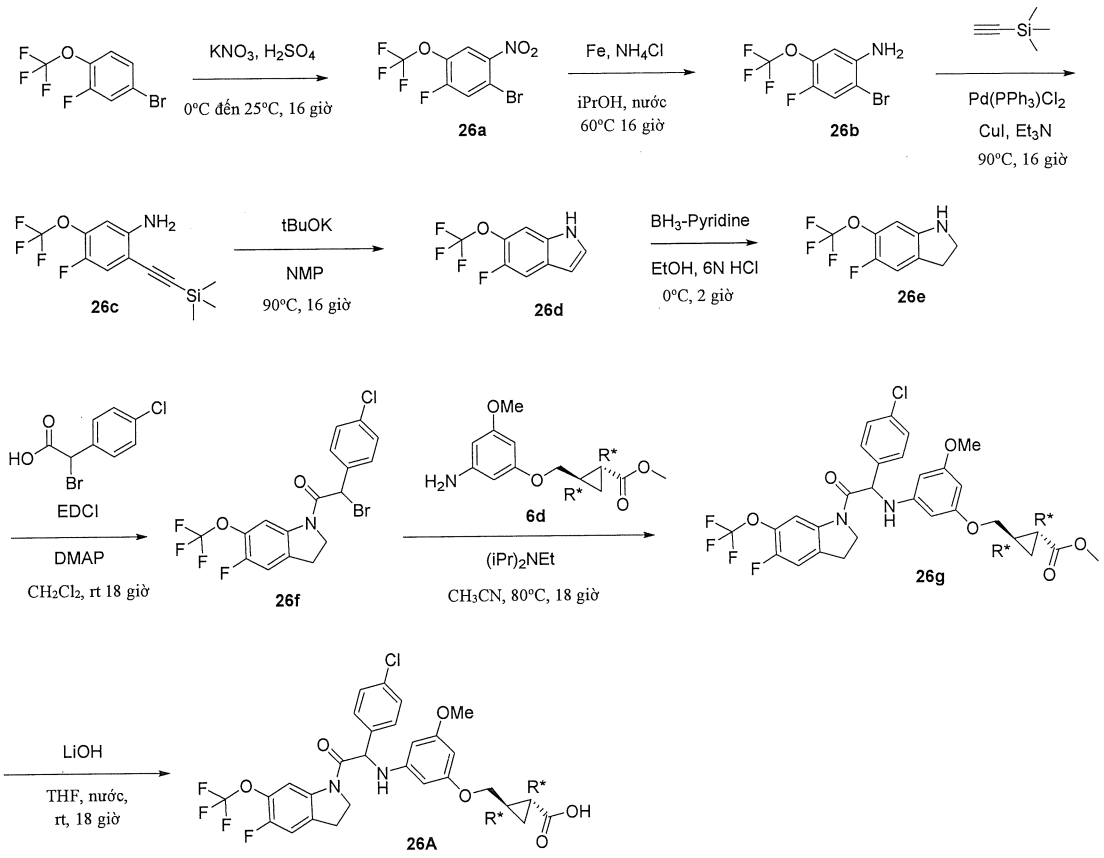
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,90 - 2,04 (m, 2 H) 2,19 - 2,29 (m, 2 H) 2,55 - 2,60 (m, 1 H) 3,00 - 3,30 (m, 3 H) 3,62 (s, 3 H) 3,84 (s, 3 H) 3,86 (br d, *J*=7,07 Hz, 2 H) 3,94 - 4,04 (m, 1 H) 4,45 - 4,55 (m, 1 H) 5,54 (d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 5,77 (s, 1 H) 5,88 - 5,95 (m, 1 H) 5,95 - 5,98 (m, 1 H) 6,38 (br d, *J*=8,59 Hz, 1 H) 7,23 (s, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,59 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,08 Hz, 2 H) 8,33 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,90 phút, MH^+ 619

$[\alpha]_D^{20}$: +40,6° (c 0,32, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-T): R_t 2,48 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 98,68%.

Ví dụ 26A: tổng hợp axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-flo-6-(triflometoxy) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **26A**)



Tổng hợp chất trung gian 26a:

Dung dịch chứa 4-bromo-2-flo-1-(triflometoxy)benzen [CAS 105529-58-6] (98,7 g, 381,1 mmol) trong H_2SO_4 đậm đặc (98%, 200 mL), được làm mát đến 0°C bằng bể đá. KNO_3 (43,0 g, 425,3 mmol) được thêm theo từng phần. Sau khi thêm, bể đá được loại bỏ và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào đá-nước (2 L) trong khi khuấy. Hỗn hợp này được chiết bằng CH_2Cl_2 (500 mL x 3 lần). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng dung dịch nước $NaHCO_3$ bão hòa (500 mL x 2 lần), nước muối (500 mL), được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 1-bromo-5-flo-2-nitro-4-(triflometoxy)benzen **26a** (117,2 g), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 26b:

Huyền phù đã khuấy chứa 1-bromo-5-flo-2-nitro-4-(triflometoxy)benzen **26a** (70,0 g, 230 mmol) và NH_4Cl (123,2 g, 2,30 mol) trong iPrOH (1 L) và nước (330 mL) được thêm bột sắt khử (64,3 g, 1,15 mol) trong khí quyển 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®. Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được phân tách giữa EtOAc (1 L) và nước (800 mL). Các lớp được tách và pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (1 L), được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng chưng cất dưới áp suất giảm (bơm dầu, b.p. 60~64°C). 2-bromo-4-flo-5-(triflometoxy)anilin **26b** (47,3 g) thu được dưới dạng dầu màu vàng.

Tổng hợp chất trung gian 26c:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-4-flo-5-(triflometoxy)anilin **26b** (18,4 g, 67,2 mmol) và etynyl(trimetyl)silan (19,9 g, 202,4 mmol, 28,00 mL) trong Et_3N (300 mL) được thêm CuI (1,28 g, 6,72 mmol) và $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (2,40 g, 3,42 mmol). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt trong khí quyển N_2 ở 90°C trong 16 giờ. Sau khi làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp này được pha loãng bằng MTBE (300 mL) và được lọc qua Celite®. Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (ISCO®, 220 g cột nhanh SepaFlash® Silica, chất rửa giải: gradien từ 0 đến 5% EtOAc trong ete dầu hoả @100mL/phút). 4-flo-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin **26c** (16,1 g, độ tinh khiết 90%) thu được dưới dạng dầu màu nâu.

Tổng hợp chất trung gian 26d:

Hỗn hợp chứa 4-flo-5-(triflometoxy)-2-((trimetylsilyl)etynyl)anilin **26c** (16,1 g, 55,3 mmol) và tBuOK (18,6 g, 165,8 mmol) trong NMP (220,00 mL) được gia nhiệt ở 90°C trong 16 giờ trong khí quyển N_2. Sau khi làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được rót vào đá-nước (1 L) và được chiết bằng MTBE (300 mL x 3 lần). Các pha hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước (200 mL x 2 lần), nước muối (300 mL), được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp

suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (ISCO®, 120 g cột nhanh SepaFlash® Silica, chất rửa giải: gradien từ 0 đến 5% EtOAc trong ete dầu hoả, tốc độ chảy = 85 mL/phút) để tạo ra sản phẩm 5-flo-6-(triflometoxy)-1*H*-indol **26d** (11 g) dưới dạng dầu màu xanh lá cây đậm. Chất cặn được gom với một phân đoạn khác (tổng lượng = 17,2 g) và được tinh chế thêm bằng chưng cất dưới áp suất giảm (bơm dầu, b.p. 60~64°C) để tạo ra 5-flo-6-(triflometoxy)-1*H*-indol **26d** (14,7 g, độ tinh khiết 95%) dưới dạng dầu không màu.

Tổng hợp chất trung gian 26e:

Ở 0°C, BH_3-Pyridin (1,2 mL, 11 mmol) được thêm chậm vào dung dịch chứa 5-flo-6-(triflometoxy)-1*H*-indol **26d** (500 mg, 2,3 mmol) trong EtOH (3,2 mL). 6N HCl (7,6 mL) được thêm chậm trong khi giữ nhiệt độ dưới 10°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. Nước (100 mL) được thêm và hỗn hợp này được bazơ hóa đến độ pH=14 bằng NaOH đậm đặc (nhiệt độ được giữ ở dưới 20°C). CH_2Cl_2 được thêm. Lớp hữu cơ được tách, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra 5-flo-6-(triflometoxy)indolin **26e** (550 mg). Hợp chất được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 26f:

Hỗn hợp chứa axit 2-bromo-2-(4-clophenyl)axetic [CAS 3381-73-5] (0,61 g, 2,4 mmol), 5-flo-6-(triflometoxy)indolin **26e** (0,55 g , 2,2 mmol, độ tinh khiết 89%) và DMAP (0,027 g, 0,22 mmol) trong CH_2Cl_2 (14 mL) được thêm EDCI (0,51 g, 2,7 mmol). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng 10% dung dịch K_2CO_3 trong nước. Các lớp được gạn. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(5-flo-6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etanon **26f** (1,1 g, dầu màu tím). Hợp chất được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp hợp chất 26A:

Hợp chất **26A** (135 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **26f** sử dụng các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **6A**.

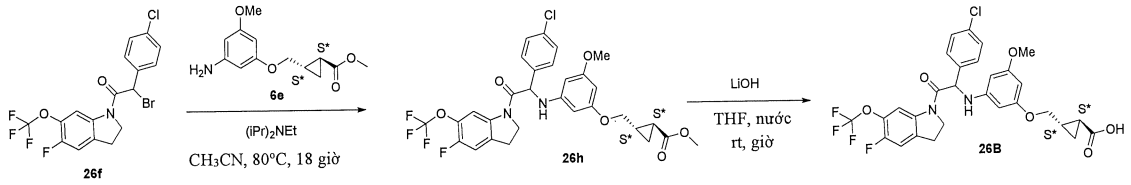
Hợp chất 26A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,87 - 0,94 (m, 1 H) 1,01 - 1,07 (m, 1 H) 1,55 (dq, *J*=8,55, 4,40 Hz, 1 H) 1,60 - 1,68 (m, 1 H) 3,12 - 3,30 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (dd, *J*=10,40, 7,57 Hz, 1 H) 3,85 (dd, *J*=10,40, 6,31 Hz, 1 H) 4,01 - 4,08 (m, 1 H) 4,48 - 4,55 (m, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H) 5,94 (br s, 1 H) 5,95 (br s, 1 H) 6,46 (br d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 7,40 - 7,48 (m, 3 H) 7,54 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,94 Hz, 1 H) 12,22 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,97 phút, MH^+ 609

MP = 120°C

Ví dụ 26B: tổng hợp axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-flo-6-(triflometoxy) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylic (Hợp chất **26B**)



Tổng hợp hợp chất 26B:

Hợp chất **26B** (150 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **26f** sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **6B**.

Hợp chất 26B:

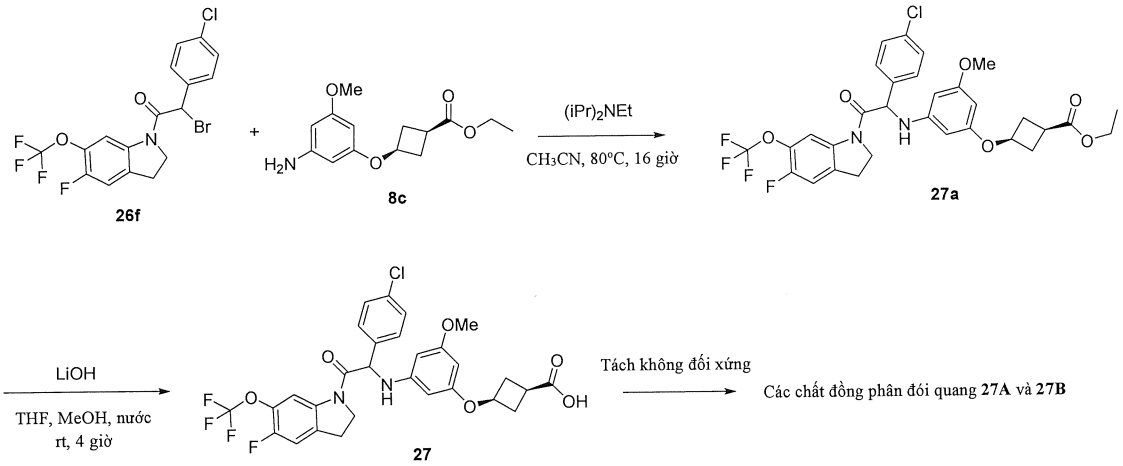
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 0,86 – 0,94 (m, 1 H) 1,04 (dq, *J*=8,20, 4,31 Hz, 1 H) 1,55 (dq, *J*=8,43, 4,33 Hz, 1 H) 1,58 - 1,67 (m, 1 H) 3,12 - 3,30 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,68 (dd, *J*=10,40, 7,57 Hz, 1 H) 3,85 (dd, *J*=10,25, 6,15 Hz, 1 H) 4,04 (q, *J*=8,72 Hz, 1 H) 4,47 - 4,55 (m, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,83 Hz, 1 H) 5,75 (s, 1 H)

5,94 (br s, 1 H) 5,95 (br s, 1 H) 6,46 (br d, *J*=8,51 Hz, 1 H) 7,40 - 7,48 (m, 3 H) 7,54 (d, *J*=8,51 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,94 Hz, 1 H) 12,21 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,97 phút, MH^+ 609

MP = 126°C

Ví dụ 27: tổng hợp axit ((1*s*,3*s*)-3-(3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-flo-6-(triflometoxy) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobuten-carboxylic (Hợp chất **27**) và tách thành các chất đồng phân đối quang **27A** và **27B**



Tổng hợp hợp chất 27 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 27A và 27B:

Hợp chất **27** (175 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **26f** sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **8**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 55% CO_2, 45% EtOH) để tạo ra, sau khi hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **27A** (33 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **27B** (35 mg).

Hợp chất 27:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,01 - 2,17 (m, 2 H) 2,57 - 2,65 (m, 2 H) 2,66 - 2,77 (m, 1 H) 3,08 - 3,28 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,99 - 4,10 (m, 1 H) 4,43 -

4,57 (m, 2 H) 5,54 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,66 (s, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,49 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,45 (d, *J*=8,5 Hz, 3 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H) 12,06 - 12,47 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,88 phút, MH^+ 609

Chất đồng phân đối quang 27A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,00 - 2,12 (m, 2 H) 2,57 - 2,65 (m, 3 H) 3,11 - 3,25 (m, 2 H) 3,60 (s, 3 H) 4,04 (br d, *J*=7,3 Hz, 1 H) 4,40 - 4,48 (m, 1 H) 4,48 - 4,57 (m, 1 H) 5,53 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,65 (s, 1 H) 5,85 (s, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 6,48 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,5 Hz, 3 H) 7,54 (br d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,79 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: -40,5° (c 0,252, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 1,18 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 27B:

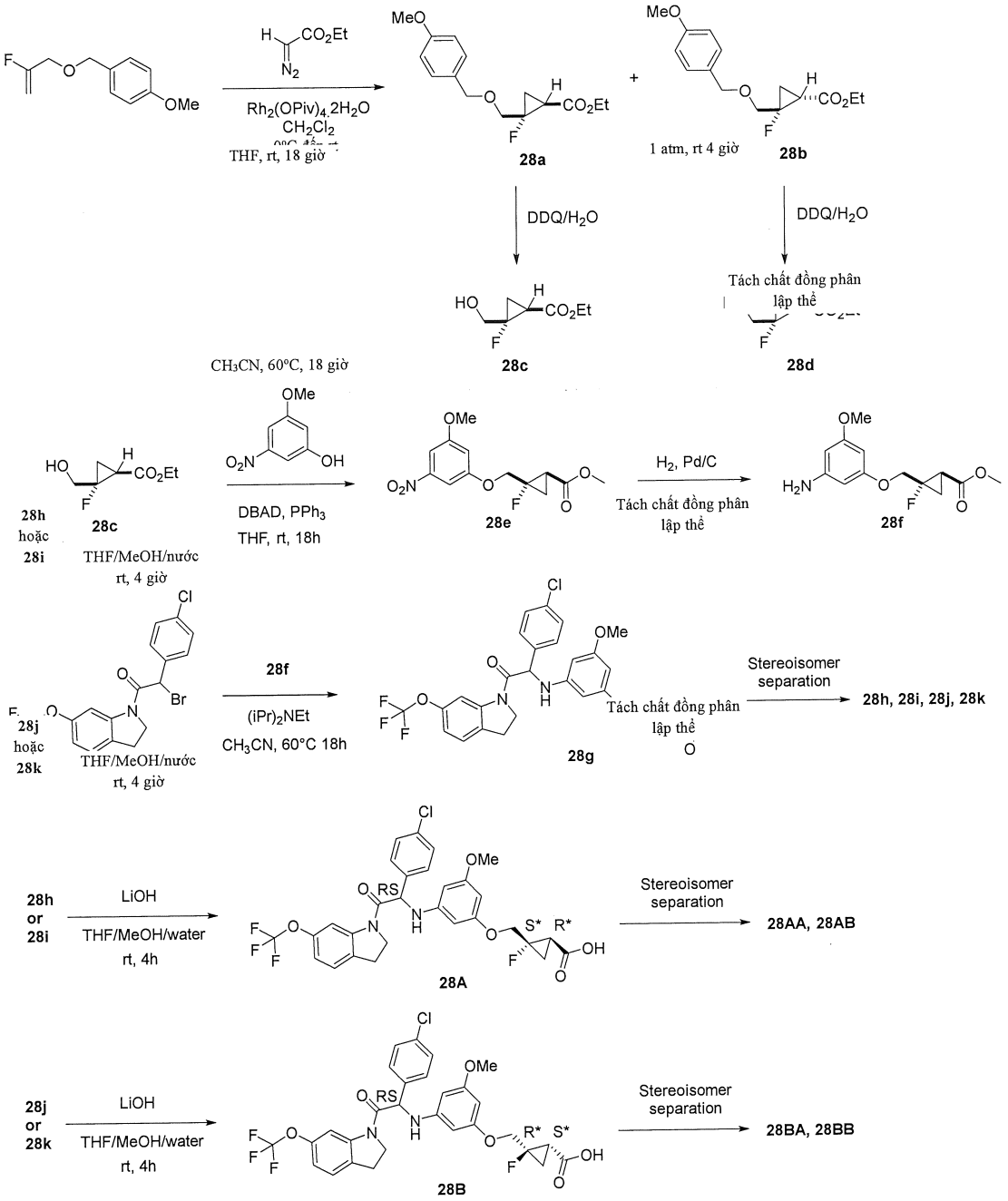
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,00 - 2,13 (m, 2 H) 2,54 - 2,67 (m, 3 H) 3,10 - 3,27 (m, 2 H) 3,60 (s, 3 H) 3,99 - 4,10 (m, 1 H) 4,40 - 4,48 (m, 1 H) 4,48 - 4,56 (m, 1 H) 5,54 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,66 (s, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 6,48 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,5 Hz, 3 H) 7,54 (br d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,79 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: +37,5° (c 0,333, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 2,56 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 28: tổng hợp axit (1*R**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylic (Hợp chất **28A**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **28AA** và **28AB** và tổng hợp axit (1*S**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylic (Hợp chất **28B**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **28BA** và **28BB**



Tổng hợp các chất trung gian 28a và 28b:

$Rh_2(OPiv)_4,2H_2O$ (2 mol%, 0,599 mmol, 387 mg) được thêm vào dung dịch chứa 1-(((2-floallyl)oxy)metyl)-4-metoxybenzen [CAS 1673563-84-2] (29,9 mmol) trong CH_2Cl_2 khan (86 mL) bình đáy tròn ba cổ được trang bị với buồng bong bóng. Sau khi làm mát dung dịch đến 0°C, dung dịch chứa diazo etylaxetat 83% có bán thương mại trong diclometan (3 đương lượng, 89,85 mmol) trong CH_2Cl_2 khan (86 mL) được thêm chậm bằng cách sử dụng bơm micro với tốc độ chảy 24 mL/h. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi hoàn thành phản ứng (được chỉ thị bằng phân tích TLC và ^{19}F NMR) và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn thô được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ/EtOAc, từ 9/1 đến 7/3) để tạo ra với hiệu suất 60% hỗn hợp chứa các chất đồng phân không đối quang (dr 53:47). Các chất đồng phân không đối quang được tách bằng sắc ký cột trên silica gel (ete dầu mỏ/EtOAc, từ 100/0 đến 80/20) để tạo ra *trans*-etyl 2-flo-2-(((4-metoxybenzyl)oxy)metyl)xyclopropancarboxylat **28a** và *cis*-etyl 2-flo-2-(((4-metoxybenzyl)oxy)metyl)xyclopropancarboxylat **28b**.

Tổng hợp chất trung gian 28c:

DDQ (1,5 đương lượng, 27,9 mmol, 6,33 g) được thêm vào dung dịch chứa *trans*-etyl 2-flo-2-(((4-metoxybenzyl)oxy)metyl)xyclopropancarboxylat **28a** (1 đương lượng, 18,6 mmol, 5,25 g) trong diclometan (340 mL) và nước (30 mL) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy trong 20 giờ. Dung dịch chứa dung dịch nước $NaHCO_3$ bão hoà được thêm và hỗn hợp này được khuấy trong 30 phút. Lớp nước được chiết 3 lần bằng CH_2Cl_2. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hoà và nước muối. Lớp hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm và chất cặn thô được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (ete dầu mỏ/EtOAc, từ 9/1 đến 6/4) để tạo ra *trans*-etyl 2-flo-2-(hydroxymetyl)-xyclopropancarboxylat **28c** (876 mg).

Tổng hợp chất trung gian 28d:

DDQ (1,5 đương lượng, 15,8 mmol, 3,6 g) được thêm vào dung dịch chứa *cis*-etyl 2-flo-2-(((4-metoxybenzyl)oxy)metyl)xyclopropancarboxylat **28b** (1 đương

lượng, 10,6 mmol, 2,98 g) trong diclometan (193 mL) và nước (17 mL) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy trong 20 giờ. Dung dịch chứa dung dịch nước $NaHCO_3$ bão hoà được thêm và hỗn hợp này được khuấy trong 30 phút. Lớp nước được chiết 3 lần bằng CH_2Cl_2. Các lớp hữu cơ gom được được rửa bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hoà và nước muối. Lớp hữu cơ được làm bay hơi dưới áp suất giảm và chất cặn thô được tinh chế bằng sắc ký trên silica gel (ete dầu mỏ/EtOAc, 9/1 đến 6/4) để tạo ra *cis*-etyl 2-flo-2-(hydroxymetyl)xyclopropan-carboxylat (876 mg).

Tổng hợp chất trung gian 28e:

Dưới dòng chảy N_2 ở 10°C, di-*tert*-butyl azodicarboxylat (948 mg, 4,118 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (633 mg, 3,743 mmol), *trans*-etyl 2-flo-2-(hydroxymetyl)xyclopropancarboxylat **28c** (607 mg, 3,743 mmol), và PPh_3 (1,08 g; 4,118 mmol) trong THF (30 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong N_2 trong 18 giờ. Dung dịch được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn thô được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (15-40 μm, 80 g, heptan/EtOAc từ 95/5 đến 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra *trans*-metyl 2-flo-2-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)xyclopropan-carboxylat **28e** (930 mg).

Tổng hợp chất trung gian 28f:

Dung dịch chứa *trans*-metyl 2-flo-2-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **28e** (810 mg, 2,586 mmol) trong EtOH (20 mL) và THF (10 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (275 mg, 0,259 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng EtOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra *trans*-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy)-metyl)-2-floxyclopropancarboxylat **28f** (710 mg), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 28g và tách thành các chất đồng phân lập thể 28h, 28i, 28j và 28k:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (927 mg, 2,133 mmol), *trans*-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy) metyl)-2-floxyclopropancarboxylat **28f** (725 mg, 2,559 mmol) và diisopropyletylamin (735 µL, 4,265 mmol) trong CH_3CN (4 mL) được khuấy ở 80°C trong 12 giờ. Dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl, nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (15-40 µm, 40 g, heptan/EtOAc từ 95/5 đến 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy) metyl)-*trans*-2-floxyclopropancarboxylat **28g** (550 mg). Bốn chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20mm, pha động: 70% CO_2, 30% EtOH) để tạo ra **28h** (118 mg), **28i** (114 mg), **28j** (158 mg) và **28k** (165 mg).

Tổng hợp hợp chất 28A và tách thành các chất đồng phân lập thể 28AA và 28AB:

LiOH monohydrat (23,3 mg, 0,556 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa chất đồng phân lập thể **28h** (118 mg, 0,185 mmol) trong THF/MeOH/nước (1/1/1) (2 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và đá, được axit hoá chậm bằng 1N HCl và được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra, sau khi kết tinh từ heptan/diispropyl ete, axit (1*R**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylic **28A** (110 mg) (trong khi phản ứng, sự raxemic hoá hoàn toàn được diễn ra trên tâm không đối xứng trung tâm).

Mẻ thứ hai của hợp chất **28A** (100 mg) thu được một cách tương tự bắt đầu từ từ chất đồng phân lập thể **28i**. Hai mẻ này được gộp lại. Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 65% CO_2, 35% EtOH) để tạo ra chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải (94 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải (80 mg).

Chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải được hoá rắn từ diisopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **28AA** (47 mg). Chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải được hoá rắn từ heptan để tạo ra chất đồng phân lập thể **28AB** (37 mg).

Tổng hợp hợp chất 28B và tách thành các chất đồng phân lập thể 28BA và 28BB:

LiOH monohydrat (31,2 mg, 0,744 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa chất đồng phân lập thể **28j** (158 mg, 0,248 mmol) trong THF/MeOH/nước (1/1/1) (2 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và đá, được axit hoá chậm bằng 1N HCl và được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra, sau khi kết tinh từ MeOH/nước, axit (1*S**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropan-carboxylic **28B** (100 mg) (trong khi phản ứng, sự raxemic hoá hoàn toàn được diễn ra trên tâm không đối xứng trung tâm).

Mẻ thứ hai của **28A** (105 mg) thu được một cách tương tự bắt đầu từ từ chất đồng phân lập thể **28k**.

Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30mm, pha động: 60% CO_2, 30% MeOH) để tạo ra chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải (88 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải (78 mg). Chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải được hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **28BA** (54 mg). Chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải được hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **28BB** (60 mg).

Chất đồng phân lập thể 28AA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,37 (dt, *J*=11,7, 7,1 Hz, 1 H) 1,62 - 1,76 (m, 1 H) 2,18 - 2,31 (m, 1 H) 3,07 - 3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,98 - 4,10 (m, 1 H) 4,15 - 4,29 (m, 1 H) 4,43 (dd, *J*=18,9, 12,0 Hz, 1 H) 4,48 - 4,57 (m, 1 H) 5,58 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (s, 1 H) 5,97 (s, 1 H) 5,99 (s, 1 H) 6,49 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H)

7,01 (br d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,71 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,83 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: -43,3° (c 0,3, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 1,98 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 28AB:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,32 - 1,42 (m, 1 H) 1,62 - 1,75 (m, 1 H) 2,24 (dt, *J*=18,5, 9,2 Hz, 1 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,99 - 4,08 (m, 1 H) 4,13 - 4,26 (m, 1 H) 4,39 - 4,57 (m, 2 H) 5,58 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (s, 1 H) 5,96 (br s, 1 H) 5,99 (br s, 1 H) 6,49 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 7,33 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (br d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,71 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,84 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: +52,5° (c 0,301, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 3,29 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 28BA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,32 - 1,42 (m, 1 H) 1,62 - 1,72 (m, 1 H) 2,18 - 2,29 (m, 1 H) 3,08 - 3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 4,04 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,15 - 4,26 (m, 1 H) 4,45 (dd, *J*=18,8, 11,8 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,5, 6,1 Hz, 1 H) 5,58 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 5,99 (s, 1 H) 6,49 (d, *J*=9,1 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,76 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,71 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: -57,1° (c 0,31, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 2,26 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 28BB:

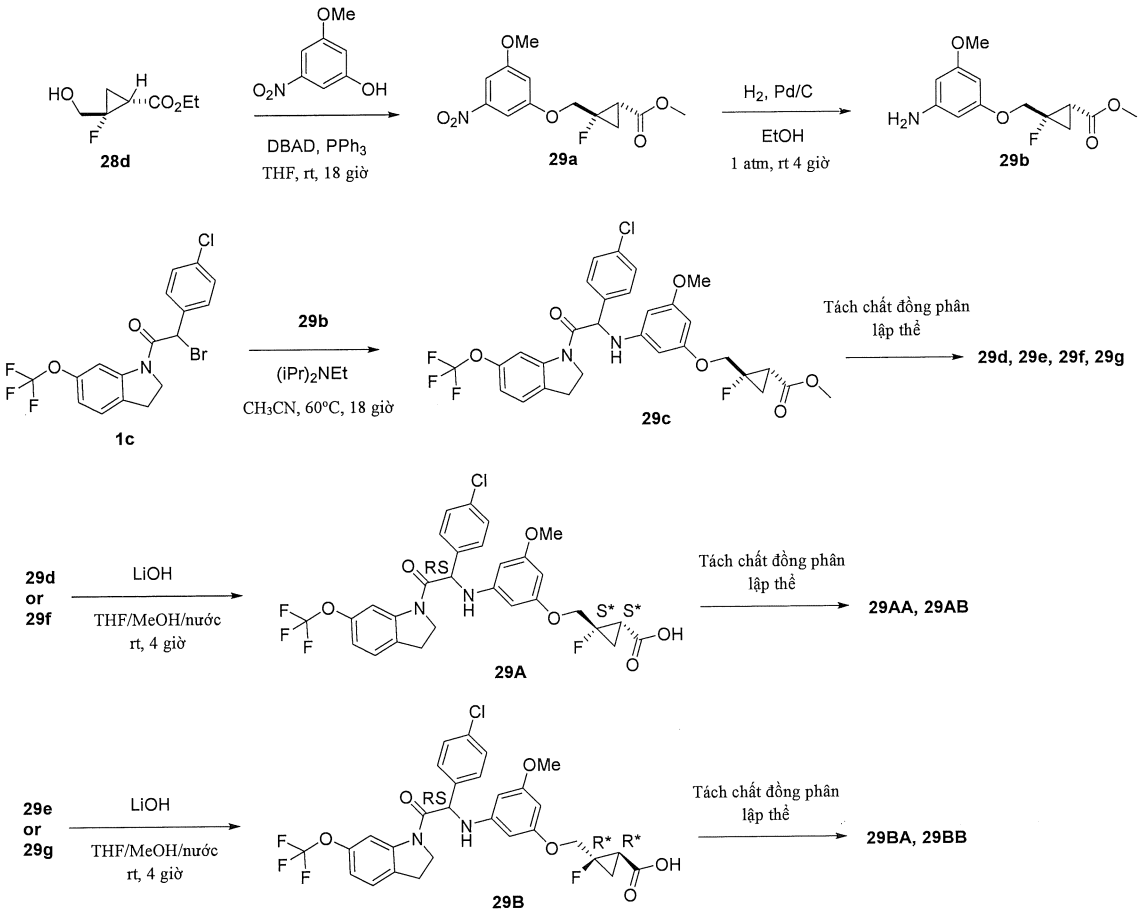
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,35 (dt, *J*=11,7, 7,1 Hz, 1 H) 1,59 - 1,71 (m, 1 H) 2,17 - 2,28 (m, 1 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 4,04 (td, *J*=10,5, 7,1 Hz, 1 H) 4,17 - 4,29 (m, 1 H) 4,43 (dd, *J*=19,5, 11,7 Hz, 1 H) 4,52 (td, *J*=10,4, 6,3 Hz, 1 H) 5,59 (d, *J*=9,1 Hz, 1 H) 5,78 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 5,99 (s, 1 H) 6,49 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,0, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,79 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,70 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: +38,1° (c 0,289, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 3,68 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Ví dụ 29: tổng hợp axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy) indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylic (Hợp chất **29A**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **29AA** và **29AB** và tổng hợp axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylic (Hợp chất **29B**) và tách thành các chất đồng phân lập thể **29BA** và **29BB**



Tổng hợp chất trung gian 29a:

Dưới dòng chảy N_2 ở 10°C, di-*tert*-butyl azodicarboxylat (750 mg, 3,256 mmol) được thêm từng phần vào dung dịch chứa 3-metoxy-5-nitrophenol [7145-49-5] (501 mg, 2,96 mmol), *cis*-etyl 2-flo-2-(hydroxymetyl)xyclopropancarboxylat **28d** (480 mg, 2,96 mmol), và PPh_3 (854 mg, 3,256 mmol) trong THF (23 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong N_2 trong 18 giờ. Dung dịch được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn thô được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (15-40 µm, 80 g, heptan/EtOAc 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra *cis*-metyl 2-flo-2-((3-metoxy-5-nitrophenoxy) metyl)xyclopropancarboxylat **29a** (660 mg).

Tổng hợp chất trung gian 29b:

Dung dịch chứa *cis*-metyl 2-flo-2-((3-metoxy-5-nitrophenoxy)metyl)-xyclopropancarboxylat **29a** (610 mg, 1,947 mmol) trong EtOH (15 mL) và THF (7,5 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (207 mg, 0,195 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng EtOH. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi để tạo ra *cis*-metyl 2-((3-amino-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropan-carboxylat **29b** (560 mg), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 29c và tách thành các chất đồng phân lập thể 29d, 29e, 29f và 29g:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (716 mg, 1,647 mmol), *cis*-metyl 2-((3-amino-5-metoxy-phenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylat **29b** (560 mg, 1,977 mmol) và diisopropyletylamin (568 µL, 3,295 mmol) trong CH_3CN (3,5 mL) được khuấy ở 80°C trong 12 giờ. Dung môi được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được hấp thụ bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng 1N HCl, nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel (15-40 µm, 40 g, heptan/EtOAc từ 95/5 đến 80/20). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-*cis*-2-floxyclopropancarboxylat **29c** (500 mg). Bốn chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 65% CO_2, 35% EtOH) để tạo ra hỗn hợp chứa **29d+29e** (250 mg), **29f** (125 mg), và **29g** (114 mg). Hỗn hợp **29d+29e** được tách thêm bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 30mm, pha động: 75% CO_2, 25% EtOH) để tạo ra **29d** (88 mg) và **29e** (66 mg).

Tổng hợp hợp chất 29A và tách thành các chất đồng phân lập thể 29AA và 29AB:

LiOH monohydrat (17,4 mg, 0,414 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa các chất đồng phân lập thể **29d** (88 mg, 0,138 mmol) trong

THF/MeOH/nước (1/1/1) (1 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và đá, được axit hoá chậm bằng 1N HCl và được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra, axit (1*S**,2*S**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropancarboxylic **29A** (80 mg) (trong khi phản ứng, sự raxemic hoá hoàn toàn được diễn ra trên tâm không đối xứng trung tâm).

Mẻ thứ hai của **29A** (90 mg) thu được một cách tương tự bắt đầu từ từ chất đồng phân lập thể **29f**. Hai mẻ này được gộp lại. Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 65% CO_2, 35% MeOH) và được tinh chế thêm bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 4 g, CH_2Cl_2/MeOH 99/1) để tạo ra chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải (43 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải (40 mg). Chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải được hoá rắn trong heptan/diisopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **29AA** (29 mg). Chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải được hoá rắn trong heptan/disiopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **29AB** (27 mg).

Tổng hợp hợp chất 29B và tách thành các chất đồng phân lập thể 29BA và 29BB:

LiOH monohydrat (13 mg, 0,311 mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch chứa chất đồng phân lập thể **29e** (66 mg, 0,104 mmol) trong THF/MeOH/nước (1/1/1) (1 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng nước và đá, được axit hoá chậm bằng 1N HCl và được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước, được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc, và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra, sau khi kết tinh từ MeOH/nước, axit (1*R**,2*R**)-2-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl) amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-2-floxyclopropan-carboxylic **29B** (60 mg) (trong khi phản ứng, sự raxemic hoá hoàn toàn được diễn ra trên tâm không đối xứng trung tâm).

Mẻ thứ hai của **29A** (100 mg) thu được một cách tương tự bắt đầu từ từ chất đồng phân lập thể **29g**. Hai mẻ này được gộp lại. Hai chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 70% CO_2, 30% MeOH) và được tinh chế thêm bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm, 4 g, CH_2Cl_2/MeOH 99/1) để tạo ra chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải (38 mg) và chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải (31 mg). Chất đồng phân lập thể thứ nhất được rửa giải được hoá rắn trong heptan/diisopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **29BA** (24 mg). Chất đồng phân lập thể thứ hai được rửa giải được hoá rắn trong heptan/diisopropyl ete để tạo ra chất đồng phân lập thể **29BB** (20 mg).

Chất đồng phân lập thể 29AA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,30 - 1,37 (m, 1 H) 1,69 (dt, *J*=19,7, 6,9 Hz, 1 H) 1,98 - 2,06 (m, 1 H) 3,08 - 3,24 (m, 2 H) 3,63 (s, 3 H) 4,01 - 4,09 (m, 1 H) 4,10 - 4,23 (m, 2 H) 4,48 - 4,57 (m, 1 H) 5,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,81 (s, 1 H) 5,99 (br d, *J*=5,7 Hz, 2 H) 6,49 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (br s, 1 H) 12,58 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,67 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: -15,7° (c 0,242, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 2,53 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 29AB:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,29 - 1,38 (m, 1 H) 1,69 (dt, *J*=19,5, 6,5 Hz, 1 H) 1,97 - 2,10 (m, 1 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,63 (s, 3 H) 4,00 - 4,10 (m, 1 H) 4,10 - 4,23 (m, 2 H) 4,52 (br d, *J*=6,0 Hz, 1 H) 5,60 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,82 (br s, 1 H) 6,00 (br d, *J*=6,6 Hz, 2 H) 6,50 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 7,34 (br d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,55 (br d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,04 (br s, 1 H) 12,58 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,67 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: +77,4° (c 0,323, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 4,47 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,20%.

Chất đồng phân lập thể 29BA:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,33 (td, *J*=9,8, 6,6 Hz, 1 H) 1,69 (dt, *J*=19,9, 6,9 Hz, 1 H) 2,03 (ddd, *J*=9,5, 7,1, 3,0 Hz, 1 H) 3,08 - 3,25 (m, 2 H) 3,63 (s, 3 H) 4,05 (td, *J*=10,3, 7,1 Hz, 1 H) 4,10 - 4,23 (m, 2 H) 4,52 (td, *J*=10,2, 6,3 Hz, 1 H) 5,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,80 - 5,84 (m, 1 H) 6,00 (br d, *J*=7,6 Hz, 2 H) 6,49 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,0, 1,4 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,58 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,67 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: -74,2° (c 0,302, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 2,37 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 29BB:

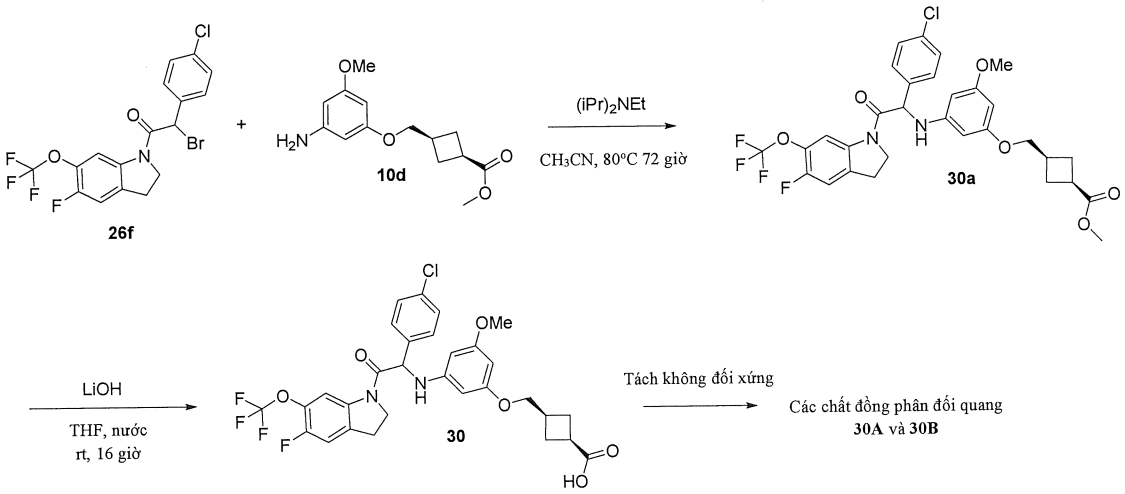
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,34 (td, *J*=9,8, 6,6 Hz, 1 H) 1,69 (dt, *J*=19,9, 6,9 Hz, 1 H) 2,02 (ddd, *J*=9,5, 7,1, 3,0 Hz, 1 H) 3,09 - 3,25 (m, 2 H) 3,63 (s, 3 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,10 - 4,22 (m, 2 H) 4,52 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,81 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,96 - 6,03 (m, 2 H) 6,49 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,55 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H) 12,58 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,70 phút, MH^+ 609

$[\alpha]_D^{20}$: +12,0° (c 0,3, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-P): R_t 3,73 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,14%.

Ví dụ 30: tổng hợp axit (1*s*,3*s*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-flo-6-(triflometoxy) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl)-xyclobutancarboxylic (Hợp chất **30**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **30A** và **30B**



Tổng hợp hợp chất 30 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 30A và 30B:

Hợp chất **30** (105 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **26f** sử dụng các quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **10**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OJ-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 70% CO_2, 30% MeOH) để tạo ra, sau khi đông khô trong CH_3CN/nước, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **30A** (43 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **30B** (47 mg).

Chất đồng phân đối quang 30A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,85 - 1,98 (m, 2 H) 2,17 - 2,28 (m, 2 H) 2,53 - 2,59 (m, 1 H) 2,96 (quin, *J*=8,9 Hz, 1 H) 3,09 - 3,23 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,72 - 3,81 (m, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,3, 7,4 Hz, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,2, 6,5 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,93 (s, 2 H) 6,45 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 3 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H) 11,24 - 13,06 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,08 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: +42,6° (c 0,298, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 2,91 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 30B:

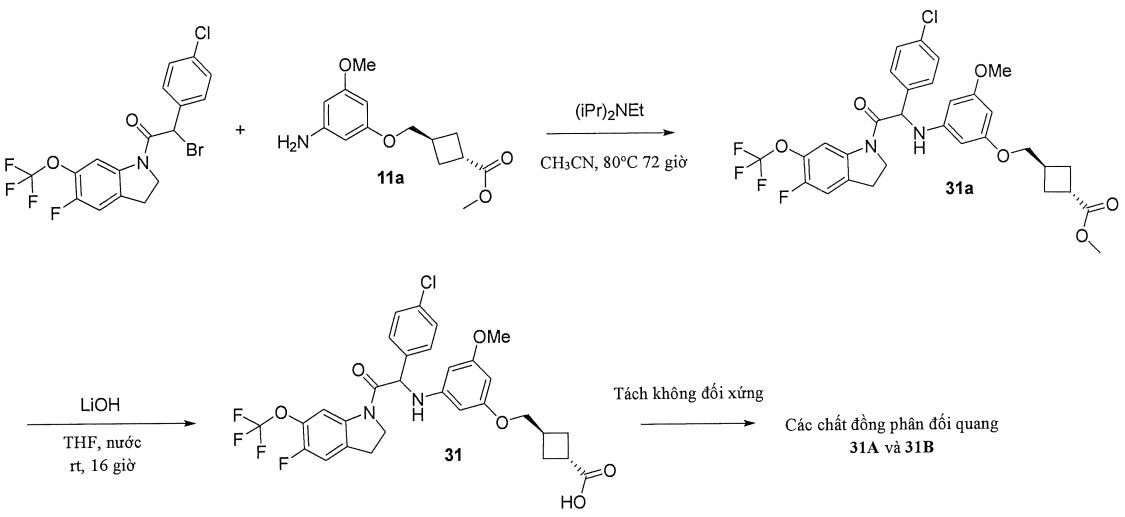
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,87 - 1,99 (m, 2 H) 2,16 - 2,29 (m, 2 H) 2,53 - 2,59 (m, 1 H) 2,96 (br t, *J*=8,8 Hz, 1 H) 3,11 - 3,23 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,77 (br d, *J*=6,0 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,56 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,74 (s, 1 H) 5,93 (s, 2 H) 6,45 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,44 (br d, *J*=8,2 Hz, 3 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H) 11,43 - 12,72 (m, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,07 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: -44,2° (c 0,217, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 4,10 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,09%.

Ví dụ 31: tổng hợp axit (1*r*,3*r*)-3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-(5-flo-6-(triflometoxy) indolin-1-yl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)metyl) xyclobutancarboxylic (Hợp chất **31**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **31A** và **31B**



Tổng hợp hợp chất 31 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 31A và 31B:

Hợp chất **31** (75 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **26f** sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **11**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OJ-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 70% CO_2, 30% MeOH) để tạo ra, sau khi đông khô trong CH_3CN/nước, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **31A** (23 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **31B** (24 mg).

Chất đồng phân đối quang 31A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,90 - 2,03 (m, 2 H) 2,20 - 2,30 (m, 2 H) 2,55 - 2,62 (m, 1 H) 3,07 (br t, *J*=7,7 Hz, 1 H) 3,12 - 3,24 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,87 (br d, *J*=6,9 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,3, 7,1 Hz, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,4, 6,6 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,96 (s, 1 H) 6,45 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 3 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,16 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,07 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: +43,1° (c 0,255, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 3,25 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 31B:

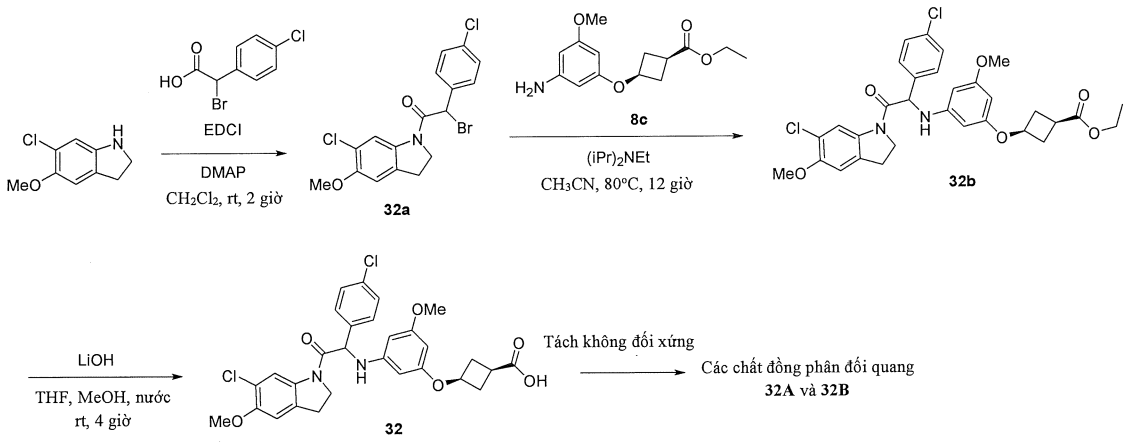
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,90 - 2,03 (m, 2 H) 2,19 - 2,31 (m, 2 H) 2,55 - 2,62 (m, 1 H) 3,01 - 3,10 (m, 1 H) 3,12 - 3,23 (m, 2 H) 3,62 (s, 3 H) 3,86 (br d, *J*=6,9 Hz, 2 H) 4,05 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,51 (td, *J*=10,3, 6,5 Hz, 1 H) 5,57 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,78 (s, 1 H) 5,94 (s, 1 H) 5,95 (s, 1 H) 6,45 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 3 H) 7,54 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,15 (br d, *J*=6,6 Hz, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 3,07 phút, MH^+ 623

$[\alpha]_D^{20}$: -43,4° (c 0,244, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-F): R_t 4,85 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,09%.

Ví dụ 32: tổng hợp axit (1*s*,3*s*)-3-(3-((2-(6-clo-5-metoxyindolin-1-yl)-1-(4-clophenyl)-2-oxoetyl)amino)-5-metoxyphenoxy)xyclobutancarboxylic (Hợp chất **32**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang **32A** và **32B**.



Tổng hợp chất trung gian 32a:

Chất trung gian **32a** (3,58 g) được tổng hợp từ 6-clo-5-metoxyindolin [CAS 1369041-89-3] sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp chất trung gian **26f**.

Tổng hợp chất trung gian 32b:

Chất trung gian **32b** (210 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **32a** sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp chất trung gian **8d**.

Tổng hợp hợp chất 32 và tách không đối xứng thành các chất đồng phân đối quang 32A và 32B:

Hợp chất **32** (165 mg) được tổng hợp từ chất trung gian **32b** sử dụng quy trình đã mô tả cho tổng hợp hợp chất **28**. Hai chất đồng phân đối quang được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 30 mm, pha động: 50% CO_2, 50% EtOH) để tạo ra, sau khi tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (15-40 µm; 4 g, CH_2Cl_2/CH_3OH 97/3) và hoá rắn từ heptan/diisopropyl ete, chất đồng phân đối quang thứ nhất được rửa giải **32A** (26 mg) và chất đồng phân đối quang thứ hai được rửa giải **32B** (31 mg).

Hợp chất 32:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,03 - 2,15 (m, 2 H) 2,57 - 2,66 (m, 2 H) 2,66 - 2,75 (m, 1 H) 3,06 - 3,23 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 3,95 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,43 - 4,52 (m, 2 H) 5,50 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,65 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,40 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,10 (s, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,11 (s, 1 H) 12,26 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,66 phút, MH^+ 569

Chất đồng phân đối quang 32A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,03 - 2,15 (m, 2 H) 2,57 - 2,66 (m, 2 H) 2,66 - 2,76 (m, 1 H) 3,04 - 3,24 (m, 2 H) 3,57 - 3,64 (m, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 3,89 - 4,00 (m, 1 H) 4,42 - 4,54 (m, 2 H) 5,50 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 5,65 (s, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,40 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,10 (s, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 7,54 (br d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,11 (s, 1 H) 12,26 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,56 phút, MH^+ 569

$[\alpha]_D^{20}$: -55,4° (c 0,332, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-R): R_t 1,73 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân đối quang 32B:

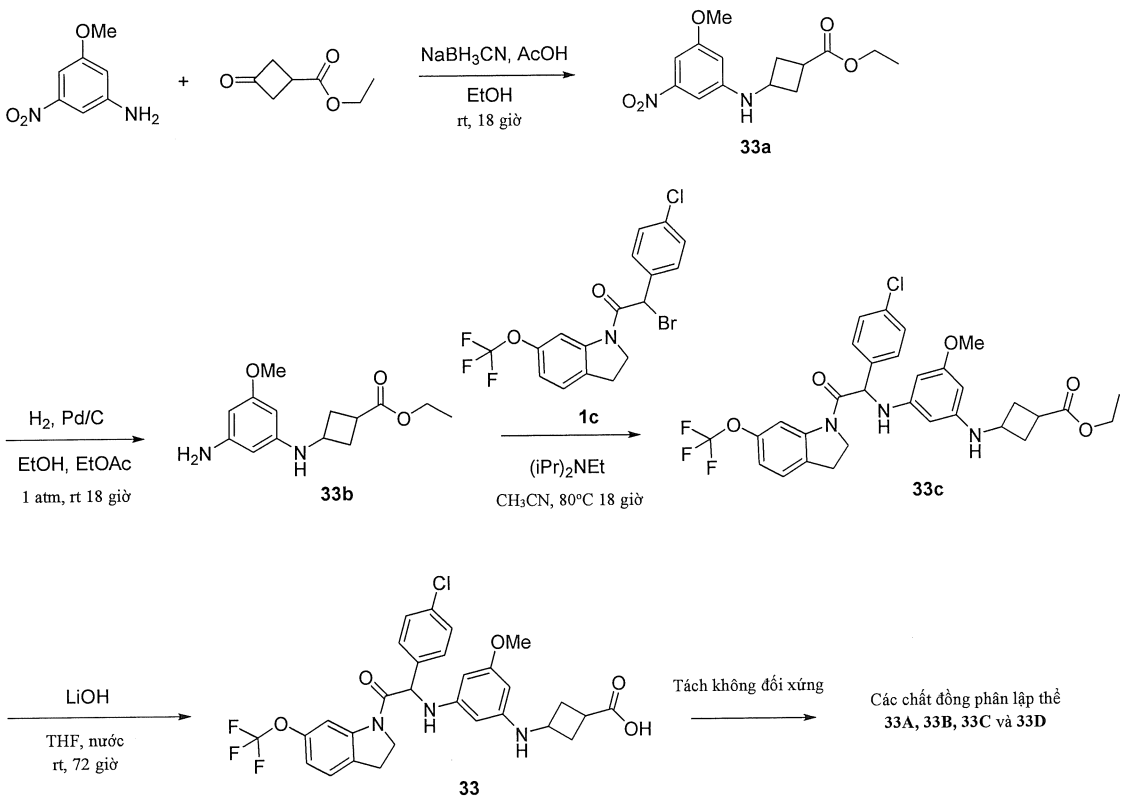
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 2,02 - 2,14 (m, 2 H) 2,58 - 2,65 (m, 2 H) 2,66 - 2,74 (m, 1 H) 3,04 - 3,24 (m, 2 H) 3,61 (s, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 3,95 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,42 - 4,53 (m, 2 H) 5,50 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,65 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 5,86 (s, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 6,40 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,10 (s, 1 H) 7,44 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,11 (s, 1 H) 12,26 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-D): R_t 2,56 phút, MH^+ 569

$[\alpha]_D^{20}$: +53,4° (c 0,35, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-R): R_t 3,16 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 99,59%.

Ví dụ 33: tổng hợp axit 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)amino)-xyclobutancarboxylic (Hợp chất **33**) và tách không đối xứng thành các chất đồng phân lập thể **33A**, **33B**, **33C** và **33D**.



Tổng hợp chất trung gian 33a:

Trong nitơ, hỗn hợp chứa 3-metoxy-5-nitroanilin [CAS 586-10-7] (0,50 g, 2,973 mmol), etyl 3-oxoxyclobutancarboxylat [CAS 87121-89-9] (1,27 g, 8,92 mmol), và axit axetic (0,34 mL, 5,947 mmol) trong EtOH khô (26 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. $NaBH_3CN$ (0,374 g, 5,947 mmol) được thêm và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Nước muối được thêm và hỗn hợp này được chiết 2 lần bằng CH_2Cl_2. Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô bằng $MgSO_4$, được lọc và được cô đặc dưới áp suất giảm. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 24 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 75/25). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenyl)amino)xyclobutan-carboxylat **33a** (820 mg). Hợp chất được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 33b:

Dung dịch chứa etyl 3-((3-metoxy-5-nitrophenyl)amino) xyclobutancarboxylat **33a** (820 mg, 2,8 mmol) trong EtOH (16 mL) và EtOAc (14 mL) chứa lượng xúc tác 10% Pd/C (300 mg, 0,28 mmol) được hydro hoá dưới áp suất khí quyển H_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Chất xúc tác được loại bỏ bằng cách lọc qua miếng Celite® ngắn và bánh lọc được rửa nhiều lần bằng EtOAc. Các dịch lọc gộp lại được làm bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra etyl 3-((3-amino-5-metoxyphenyl)amino)xyclobutancarboxylat **33b** (800 mg), được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp chất trung gian 33c:

Hỗn hợp chứa 2-bromo-2-(4-clophenyl)-1-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl) etanon **1c** (0,936 g, 2,154 mmol), etyl 3-((3-amino-5-metoxyphenyl) amino) xyclobutancarboxylat **33b** (0,74 g, 2,8 mmol) và diisopropyletylamin (0,742 mL, 4,307 mmol) trong CH_3CN (11 mL) được khuấy ở 80°C trong 18 giờ. Hỗn hợp này được cô đặc dưới áp suất giảm. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 40 g, heptan/EtOAc từ 85/15 đến 70/30). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra etyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)amino) xyclobutancarboxylat **33c** (600 mg).

Tổng hợp hợp chất 33 và tách không đối xứng thành các đồng phân lập thể 33A, 33B, 33C và 33D:

Dung dịch chứa LiOH monohydrat (0,407 g, 9,71 mmol) trong nước (5,3 mL) được thêm vào dung dịch chứa etyl 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)-indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)amino) xyclobutancarboxylat **33c** (600 mg, 0,971 mmol) trong THF (12 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ, được axit hoá bằng AcOH, được cô đặc dưới áp suất giảm, và được làm bay hơi đồng thời 2 lần với toluen. Việc tinh chế được tiến hành bằng sắc ký nhanh trên silica gel (30 µm, 24 g, CH_2Cl_2/MeOH từ 99/1 đến 96/4). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô. Việc tinh chế thứ hai được tiến hành bằng sắc ký đảo pha sắc ký (Pha ổn định:

YMC-actus Triart-C18 10 µm 30 x 150 mm, pha động: Gradien từ 65% dung dịch nước NH_4HCO_3 0,2%, 35% CH_3CN đến 25% dung dịch nước NH_4HCO_3 0,2%, 75% CH_3CN). Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi đến khô để tạo ra axit 3-((3-((1-(4-clophenyl)-2-oxo-2-(6-(triflometoxy)indolin-1-yl)etyl)amino)-5-metoxyphenyl)amino)xyclobutancarboxylic (Hợp chất **33**, 80 mg). Các chất đồng phân lập thể được tách bằng SFC không đối xứng (Pha ổn định: Chiralcel® OD-H 5 µm 250 x 20 mm, pha động: 60% CO_2, 40% EtOH) để tạo ra 4 phân đoạn được đông khô từ CH_3CN/nước để tạo ra chất đồng phân lập thể **33A** (19 mg), chất đồng phân lập thể **33B** (24 mg), chất đồng phân lập thể **33C** (19 mg) và chất đồng phân lập thể **33D** (26 mg).

Chất đồng phân lập thể 33A:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,94 - 2,02 (m, 2 H) 2,43 (ddd, *J*=11,8, 7,7, 4,1 Hz, 2 H) 2,91 (dt, *J*=9,5, 4,7 Hz, 1 H) 3,07 - 3,21 (m, 2 H) 3,56 (s, 3 H) 3,78 - 3,88 (m, 1 H) 4,05 (td, *J*=10,4, 7,3 Hz, 1 H) 4,50 (td, *J*=10,3, 6,8 Hz, 1 H) 5,38 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 5,43 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,46 (s, 1 H) 5,60 (s, 1 H) 5,63 (d, *J*=6,3 Hz, 1 H) 6,19 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,00 (dd, *J*=8,2, 1,6 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,86 phút, MH^+ 590

$[\alpha]_D^{20}$: -26,2° (c 0,248, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 1,48 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 33B:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,82 - 1,95 (m, 2 H) 2,41 - 2,47 (m, 2 H) 2,68 (br t, *J*=8,5 Hz, 1 H) 3,08 - 3,21 (m, 2 H) 3,56 (s, 3 H) 3,62 (br dd, *J*=15,4, 8,2 Hz, 1 H) 4,06 (td, *J*=10,3, 7,1 Hz, 1 H) 4,46 - 4,56 (m, 1 H) 5,41 (s, 1 H) 5,43 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 5,50 (s, 1 H) 5,60 (s, 2 H) 6,14 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,01 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,84 phút, MH^+ 590

$[\alpha]_D^{20}$: -27,9° (c 0,248, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 2,20 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 33C:

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,93 - 2,03 (m, 2 H) 2,41-2,46 (m, 2 H) 2,82 - 2,95 (m, 1 H) 3,07 - 3,21 (m, 2 H) 3,56 (s, 3 H) 3,78 - 3,88 (m, 1 H) 4,00 - 4,11 (m, 1 H) 4,45 - 4,56 (m, 1 H) 5,37 (s, 1 H) 5,40 - 5,49 (m, 2 H) 5,58 - 5,66 (m, 2 H) 6,19 (br d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,00 (br d, *J*=6,6 Hz, 1 H) 7,32 (br d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,54 (d, *J*=8,2 Hz, 2 H) 8,02 (br s, 1 H)

LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,86 phút, MH^+ 590

$[\alpha]_D^{20}$: +26,7° (c 0,221, DMF)

SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 2,91 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

Chất đồng phân lập thể 33D:

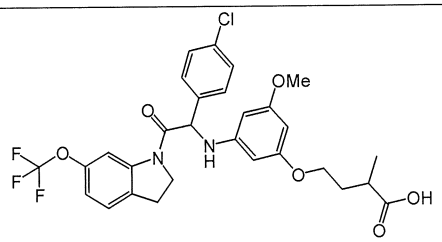
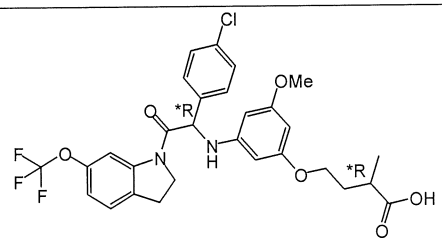
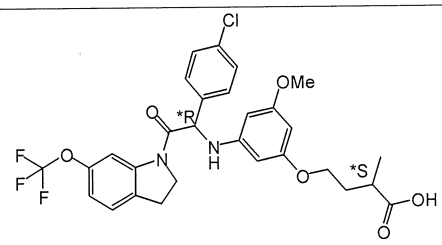
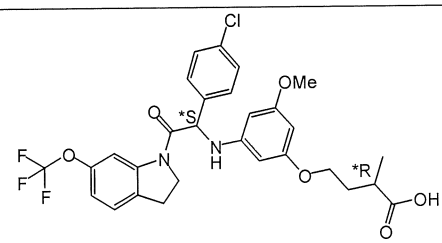
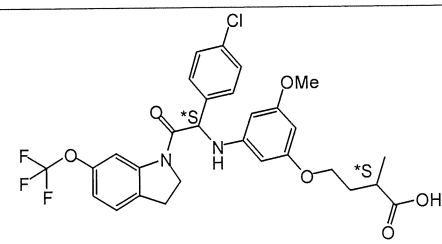
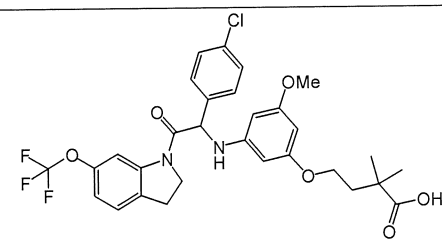
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ ppm 1,78 - 1,96 (m, 2 H) 2,40 - 2,47 (m, 2 H) 2,65 - 2,71 (m, 1H) 3,08 - 3,21 (m, 2 H) 3,56 (s, 3 H) 3,58 - 3,67 (m, 1 H) 4,06 (td, *J*=10,2, 7,3 Hz, 1 H) 4,44 - 4,56 (m, 1 H) 5,38 - 5,46 (m, 2 H) 5,50 (s, 1 H) 5,60 (s, 2 H) 6,14 (br d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 7,00 (br d, *J*=6,9 Hz, 1 H) 7,33 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,43 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 7,54 (d, *J*=8,5 Hz, 2 H) 8,03 (s, 1 H)

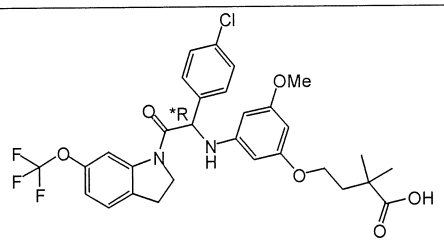
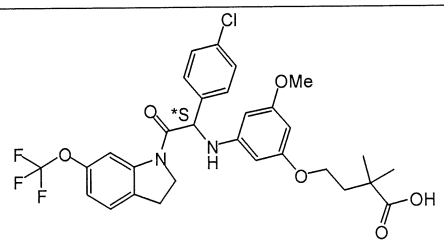
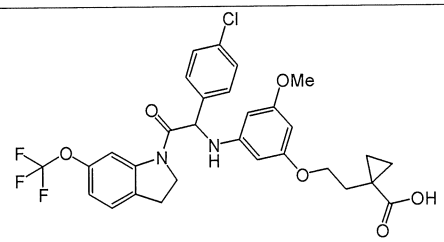
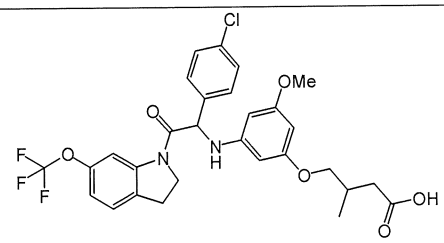
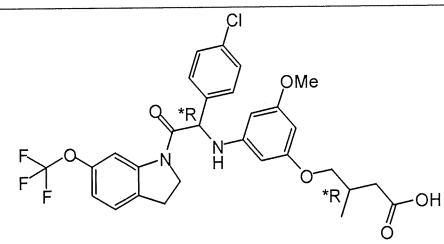
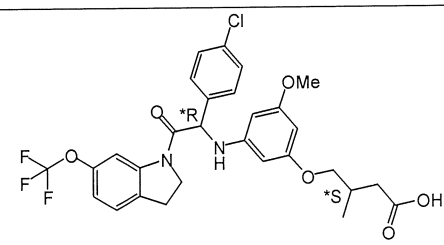
LC/MS (phương pháp LC-C): R_t 2,84 phút, MH^+ 590

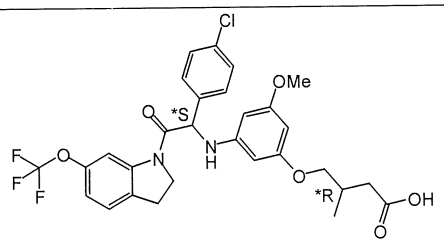
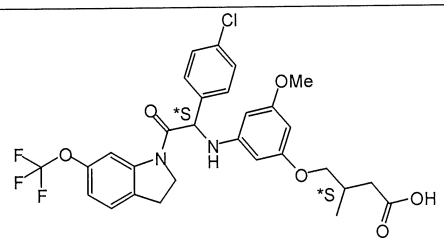
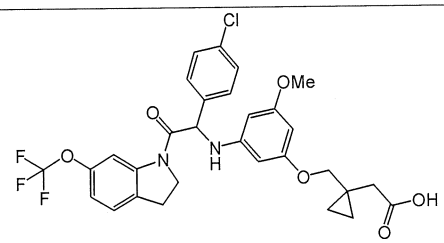
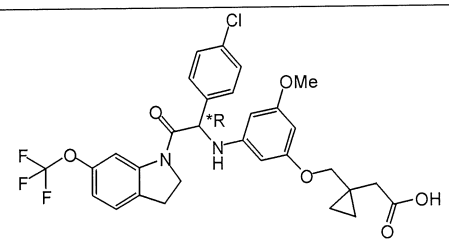
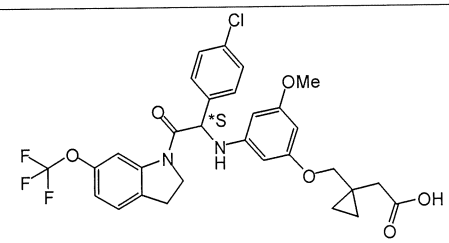
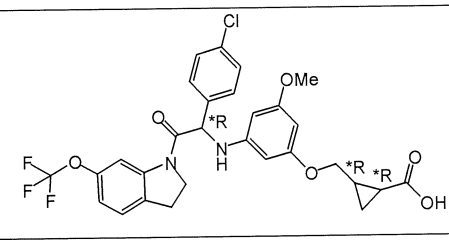
$[\alpha]_D^{20}$: +23,4° (c 0,295, DMF)

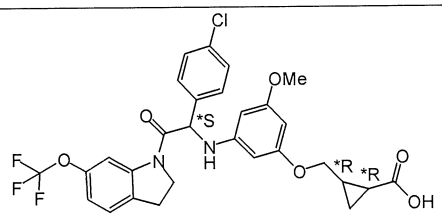
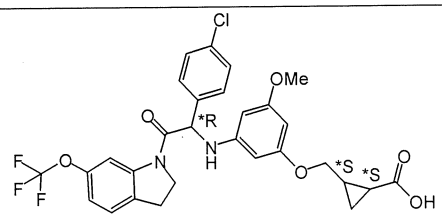
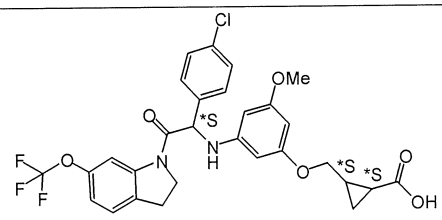
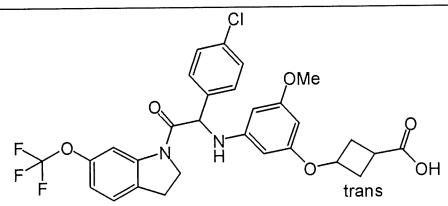
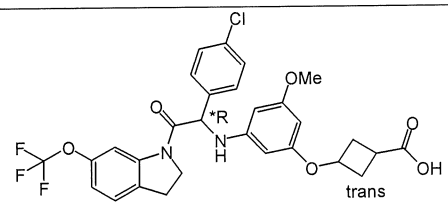
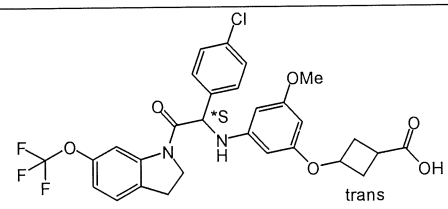
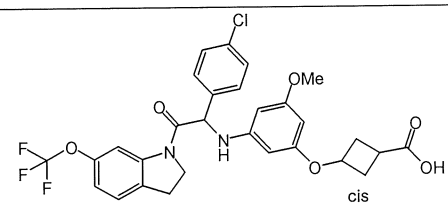
SFC không đối xứng (phương pháp SFC-I): R_t 5,35 phút, không có MH^+, độ tinh sạnh không đối xứng 100%.

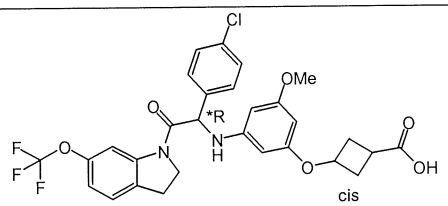
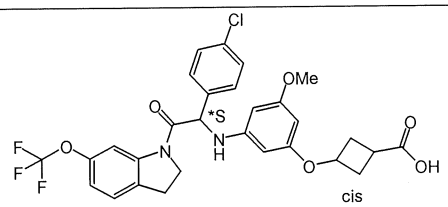
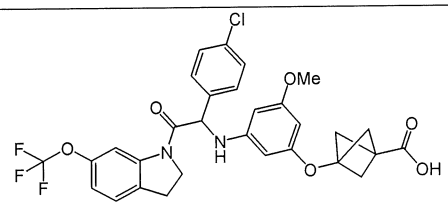
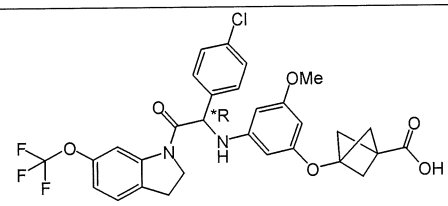
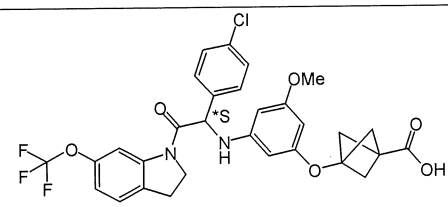
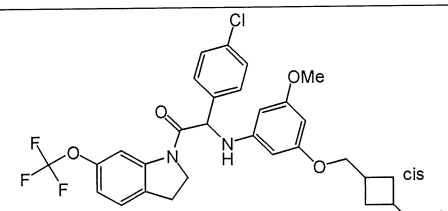
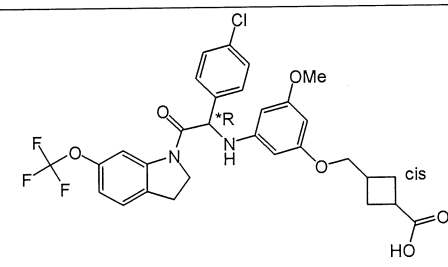
Bảng: Các hợp chất được điều chế như được mô tả trên đây

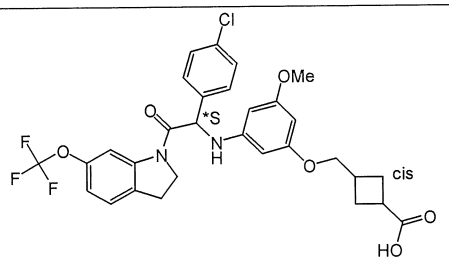
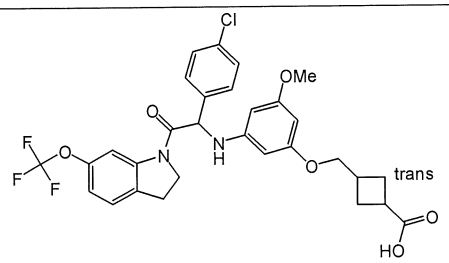
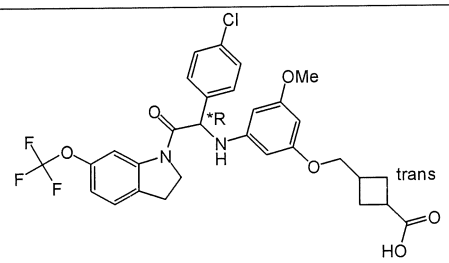
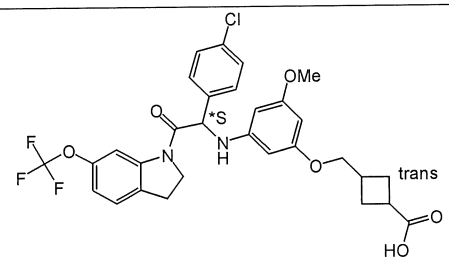
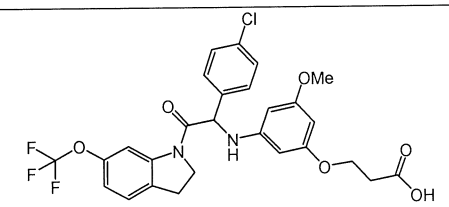
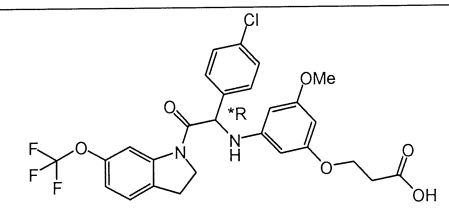
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	1		raxemic
	1A		$[\alpha]_D^{20}$ = -37,6°
	1B		$[\alpha]_D^{20}$ = -65,3°
	1C		$[\alpha]_D^{20}$ = +35,2°
	1D		$[\alpha]_D^{20}$ = +64,3°
	2		raxemic

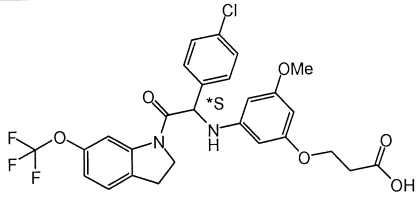
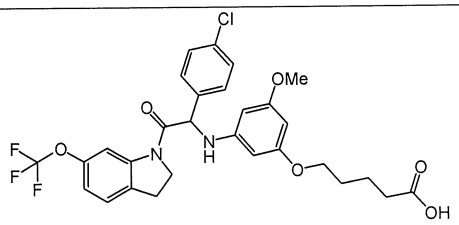
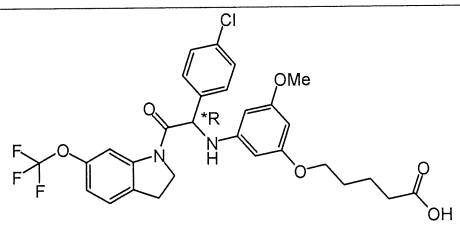
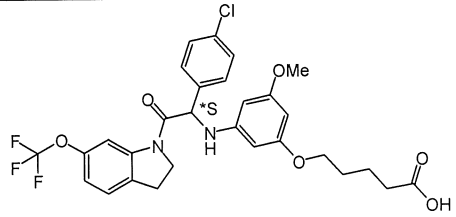
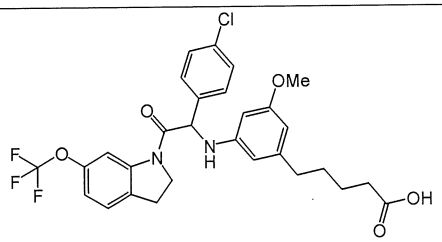
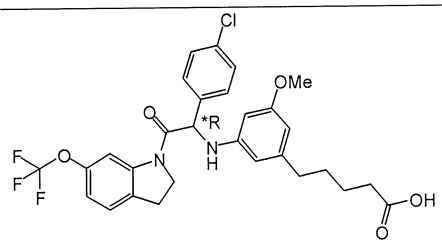
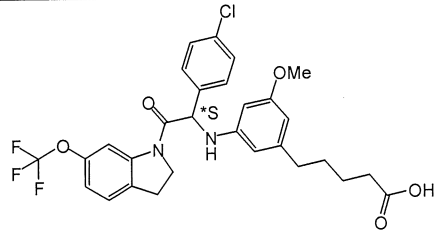
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	2A		$[\alpha]_D^{20}$ = +49,6°
	2B		$[\alpha]_D^{20}$ = -49,2°
	3		raxemic
	4		raxemic
	4A		$[\alpha]_D^{20}$ = -59,6°
	4B		$[\alpha]_D^{20}$ = -47,5°

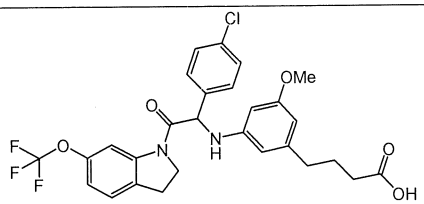
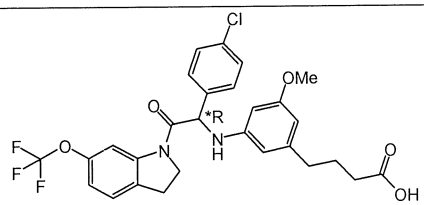
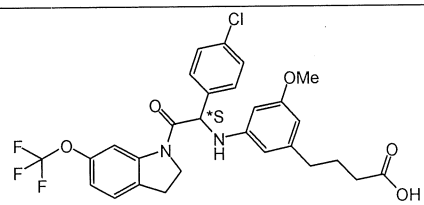
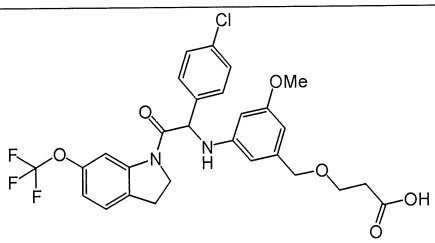
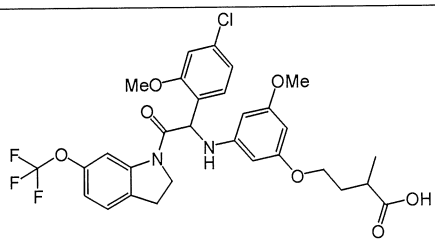
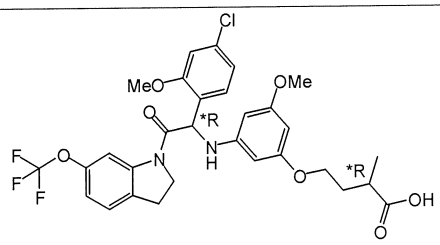
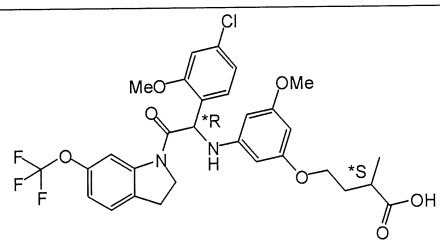
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	4C		$[\alpha]_D^{20}$ = +47,7°
	4D		$[\alpha]_D^{20}$ = +60,7°
	5		raxemic
	5A		$[\alpha]_D^{20}$ = +37,0°
	5B		$[\alpha]_D^{20}$ = -48,8°
	6AA		$[\alpha]_D^{20}$ = -78,0°

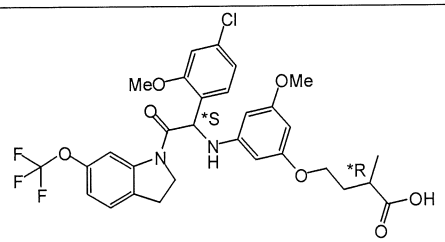
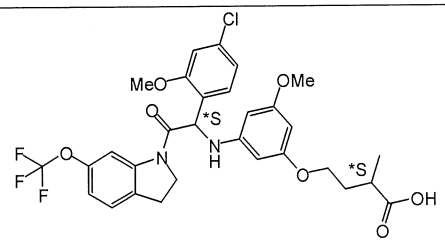
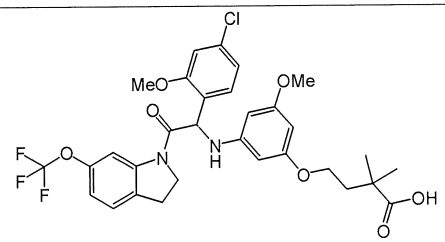
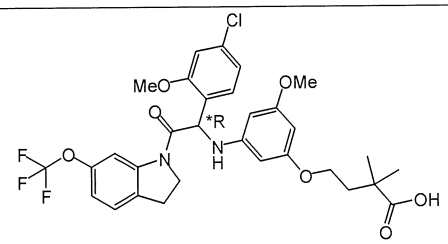
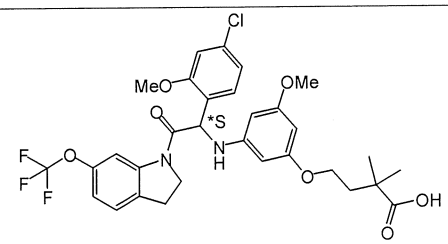
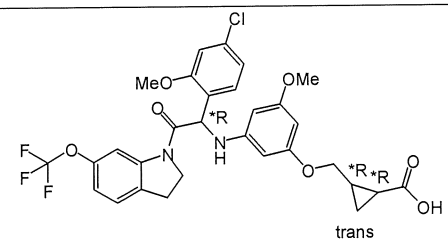
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	6AB		$[\alpha]_D^{20}$ = +12,9°
	6BA		$[\alpha]_D^{20}$ = -12,5°
	6BB		$[\alpha]_D^{20}$ = +81,4°
	7		-
	7A		$[\alpha]_D^{20}$ = -41,6°
	7B		$[\alpha]_D^{20}$ = +43,7°
	8		-

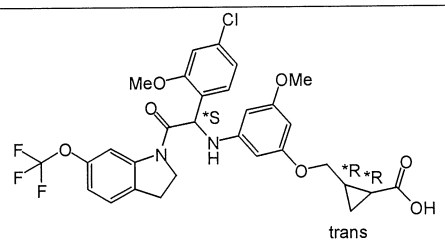
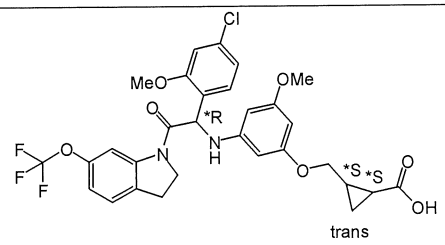
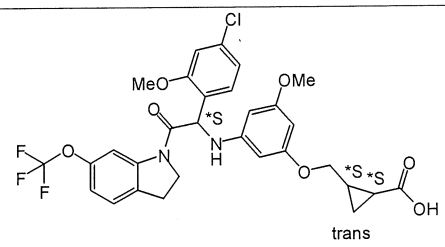
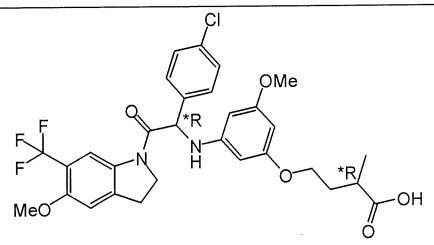
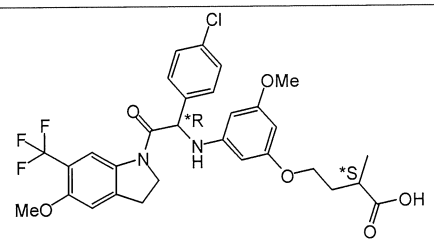
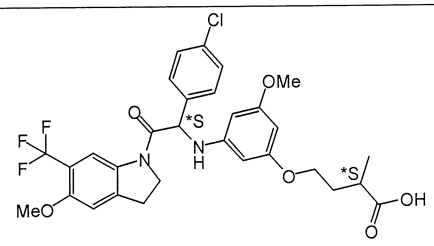
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	8A		$[\alpha]_D^{20}$ = -47,1°
	8B		$[\alpha]_D^{20}$ = +40,0°
	9		raxemic
	9A		$[\alpha]_D^{20}$ = -43,6°
	9B		$[\alpha]_D^{20}$ = +42,2°
	10		-
	10A		$[\alpha]_D^{20}$ = -44,0°

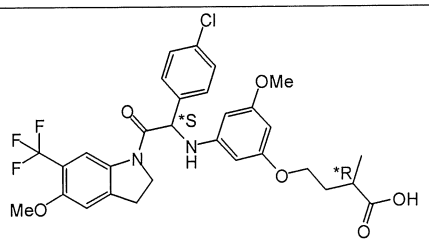
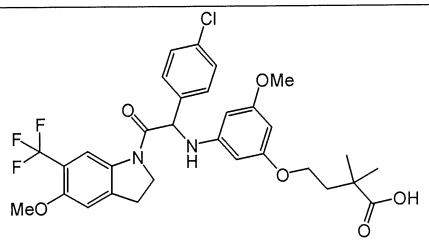
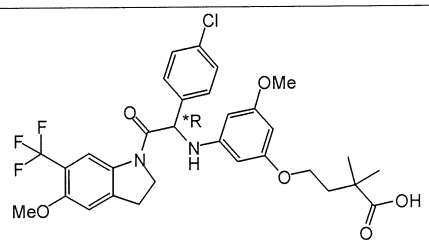
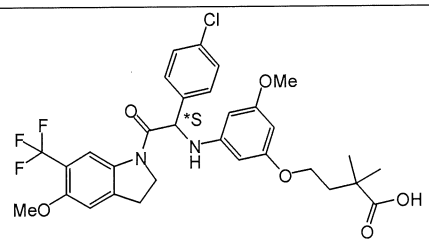
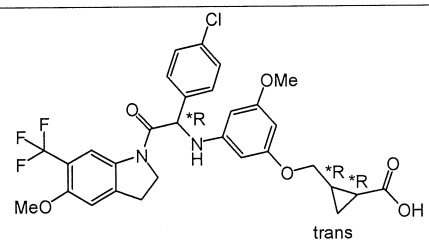
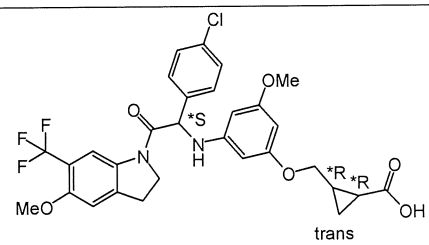
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	10B		$[\alpha]_D^{20}$ = +45,5°
	11		-
	11A		$[\alpha]_D^{20}$ = -43,3°
	11B		$[\alpha]_D^{20}$ = +45,5°
	12		raxemic
	12A		$[\alpha]_D^{20}$ = -47,3°

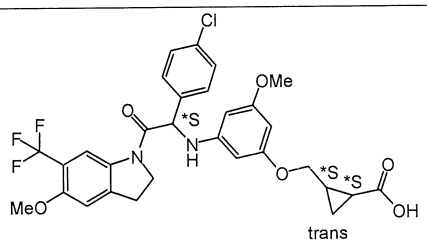
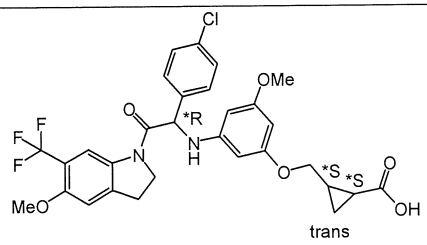
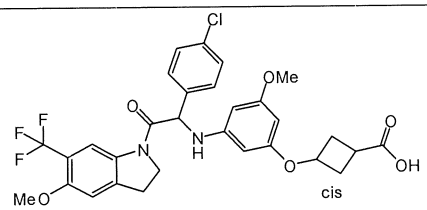
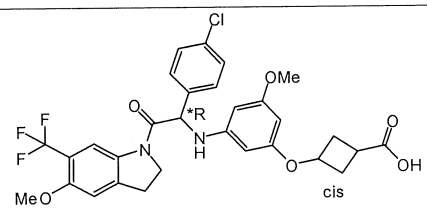
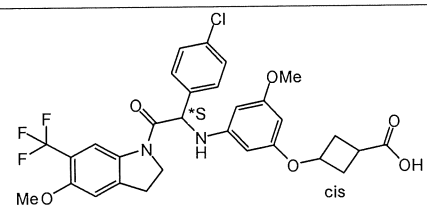
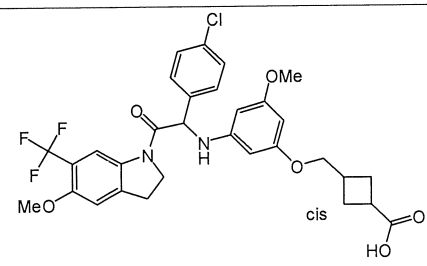
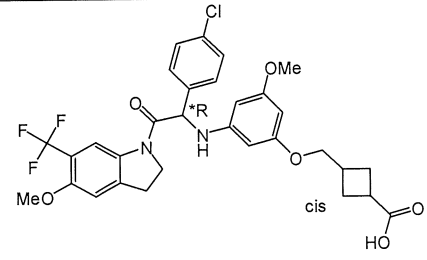
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	12B		$[\alpha]_D^{20}$ = +41,8°
	13		raxemic
	13A		$[\alpha]_D^{20}$ = -48,6°
	13B		$[\alpha]_D^{20}$ = +48,3°
	14		raxemic
	14A		$[\alpha]_D^{20}$ = +55,8°
	14B		$[\alpha]_D^{20}$ = -53,7°

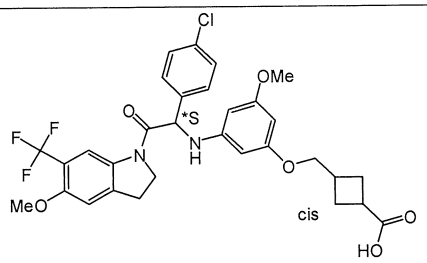
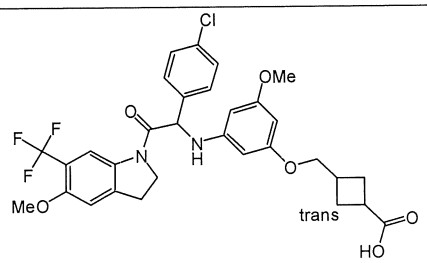
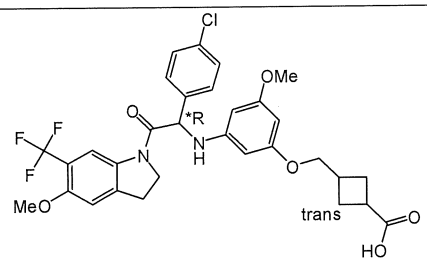
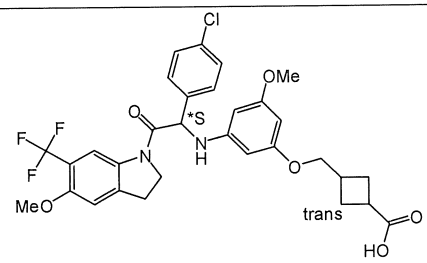
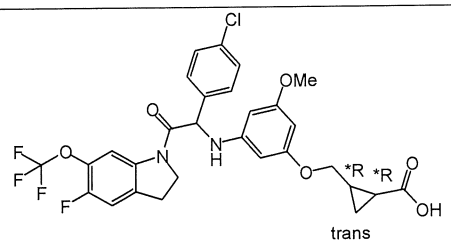
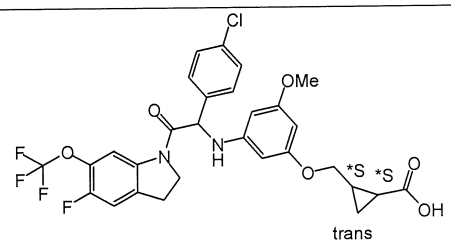
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	15		raxemic
	15A		$[\alpha]_D^{20}$ = -59,0°
	15B		$[\alpha]_D^{20}$ = +48,0°
	16		raxemic
	17		raxemic
	17A		$[\alpha]_D^{20}$ = -18,4°
	17B		$[\alpha]_D^{20}$ = -51,0°

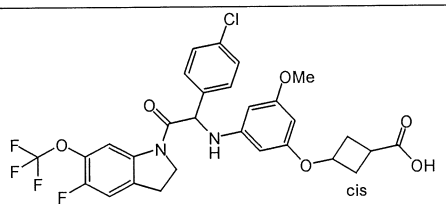
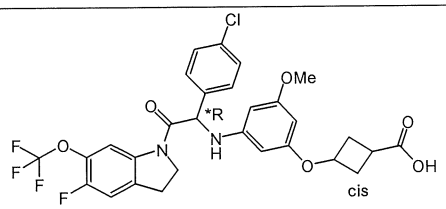
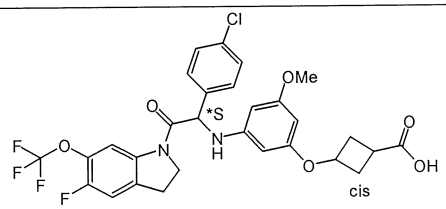
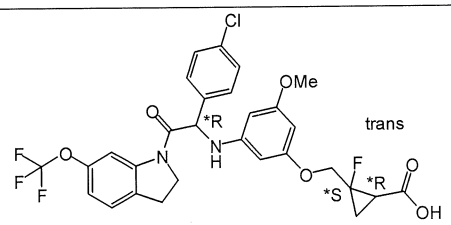
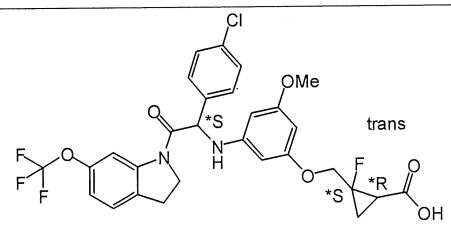
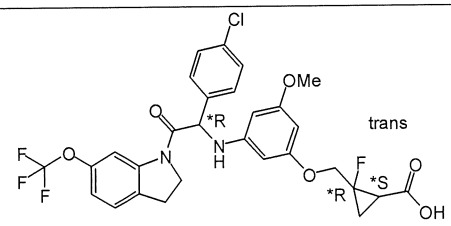
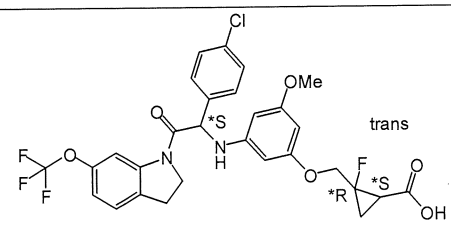
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	17C		$[\alpha]_D^{20} = +41,6°$
	17D		$[\alpha]_D^{20} = +15,8°$
	18		raxemic
	18A		$[\alpha]_D^{20} = -30,2°$
	18B		$[\alpha]_D^{20} = +28,0°$
	19AA	 trans	$[\alpha]_D^{20} = -65,6°$

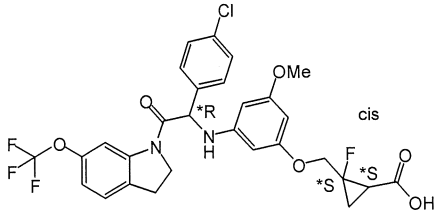
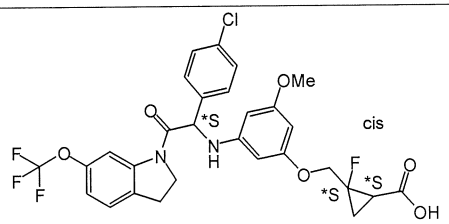
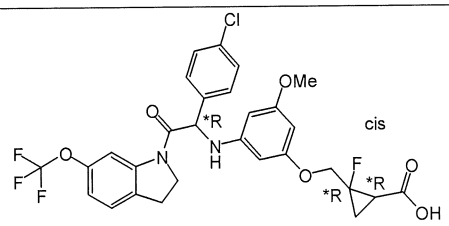
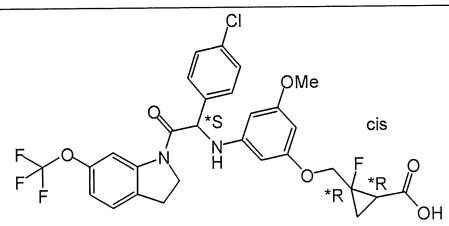
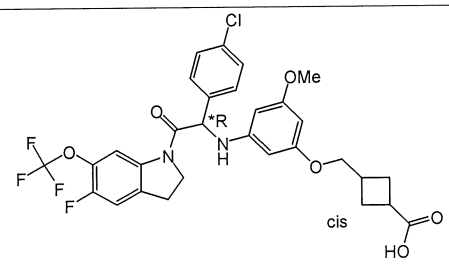
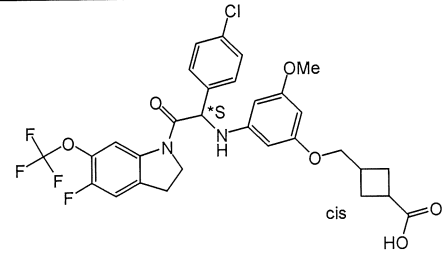
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	19AB	 trans	$[\alpha]_D^{20}$ = +37,1°
	19BA	 trans	$[\alpha]_D^{20}$ = -47,6°
	19BB	 trans	$[\alpha]_D^{20}$ = +56,8°
	20A		$[\alpha]_D^{20}$ = -40,9°
	20B		$[\alpha]_D^{20}$ = -50,0°
	20C		$[\alpha]_D^{20}$ = +26,0°

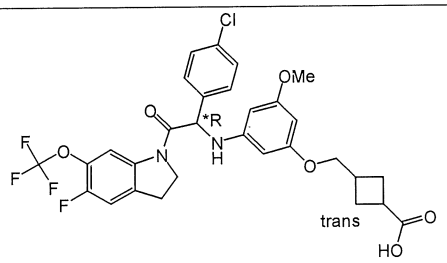
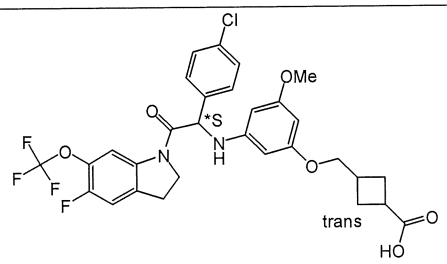
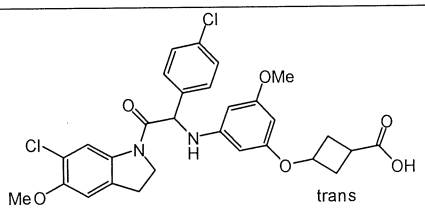
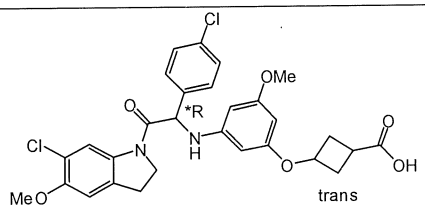
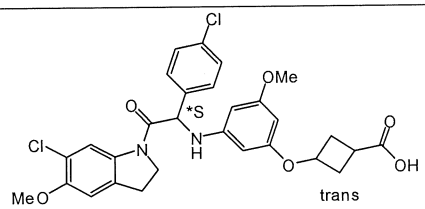
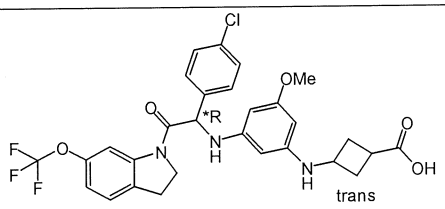
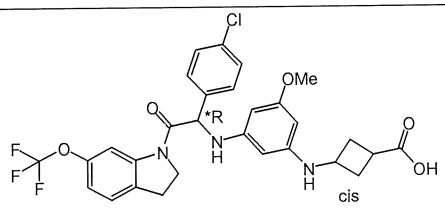
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	20D		$[\alpha]_D^{20}$ = +57,4°
	21		raxemic
	21A		$[\alpha]_D^{20}$ = -41,7°
	21B		$[\alpha]_D^{20}$ = +44,0°
	22AA		$[\alpha]_D^{20}$ = -75,0°
	22AB		$[\alpha]_D^{20}$ = +10,0°

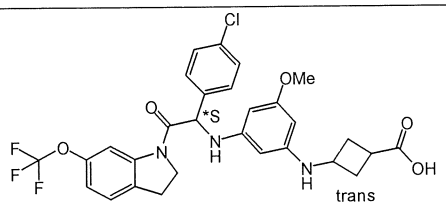
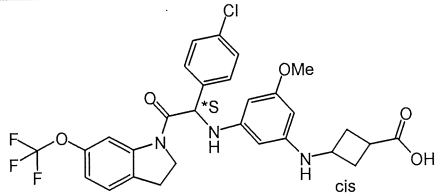
	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	22BA		$[\alpha]_D^{20}$ = -9,3°
	22BB		$[\alpha]_D^{20}$ = +80,0°
	23		-
	23A		$[\alpha]_D^{20}$ = -38,1°
	23B		$[\alpha]_D^{20}$ = +36,9°
	24		-
	24A		$[\alpha]_D^{20}$ = -41,5°

	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	24B		$[\alpha]_D^{20}$ = +36,6°
	25		-
	25A		$[\alpha]_D^{20}$ = -41,1°
	25B		$[\alpha]_D^{20}$ = +40,6°
	26A		-
	26B		-

	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	27		-
	27A		$[\alpha]_D^{20}$ = -40,5°
	27B		$[\alpha]_D^{20}$ = +37,5°
	28AA		$[\alpha]_D^{20}$ = -43,3°
	28AB		$[\alpha]_D^{20}$ = +52,5°
	28BA		$[\alpha]_D^{20}$ = -57,1°
	28BB		$[\alpha]_D^{20}$ = +38,1°

	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	29AA		$[\alpha]_D^{20}$ = -15,7°
	29AB		$[\alpha]_D^{20}$ = +77,4°
	29BA		$[\alpha]_D^{20}$ = -74,2°
	29BB		$[\alpha]_D^{20}$ = +12,0°
	30A		$[\alpha]_D^{20}$ = +42,6°
	30B		$[\alpha]_D^{20}$ = -44,2°

	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	31A		$[\alpha]_D^{20} = +43,1°$
	31B		$[\alpha]_D^{20} = -43,4°$
	32		-
	32A		$[\alpha]_D^{20} = -55,4°$
	32B		$[\alpha]_D^{20} = +53,4°$
	33A		$[\alpha]_D^{20} = -26,2°$
	33B		$[\alpha]_D^{20} = -27,9°$

	Hợp chất	Cấu trúc	Độ quay quang
	33C	 trans	$[\alpha]_D^{20} = +26,7°$
	33D	 cis	$[\alpha]_D^{20} = +23,4°$

Hoạt tính chống virut của các hợp chất nêu trên theo sáng chế

Thử nghiệm chống virut DENV-2

Hoạt tính chống virut của tất cả các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm chống lại chủng DENV-2 16681 được đánh dấu bằng protein huỳnh quang màu xanh lá cây tăng cường (eGPF : enhanced green fluorescent protein). Môi trường nuôi cấy chứa môi trường cần thiết tối thiểu được bổ sung với 2% huyết thanh bào thai bê được bất hoạt nhiệt, 0,04% gentamyxin (50 mg/mL) và 2mM L-glutamin. Các tế bào Vero, thu được từ ECACC, được tạo huyền phù trong môi trường nuôi cấy và 25 µL được thêm vào các đĩa 384 giếng (2500 tế bào/giếng), đã chứa các hợp chất chống virut. Thông thường, các đĩa này chứa dịch pha loãng nối tiếp 5 lần của 9 bước pha loãng của hợp chất thử nghiệm ở 200 lần nồng độ cuối trong 100% DMSO (200nL). Ngoài ra, mỗi nồng độ của hợp chất được thử nghiệm 4 lần (khoảng nồng độ cuối: 25µM – 0,000064µM hoặc 2,5µM – 0,0000064µM đối với hầu hết các hợp chất hoạt hóa). Cuối cùng, mỗi đĩa chứa các giếng được chỉ định làm các đối chứng virut (chứa các tế bào và virut với sự không có mặt của hợp chất), các đối chứng tế bào (chứa các tế bào với sự không có mặt của virut và hợp chất) và các đối chứng môi trường (chứa môi trường với sự không có mặt của các tế bào, virut và các hợp chất). 25 µL môi trường nuôi cấy được thêm vào các giếng được chỉ định làm đối chứng môi trường, thay thế cho các tế bào Vero. Ngay khi các tế bào này được thêm vào các đĩa, các đĩa được ủ trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng

để cho các tế bào phân phối đều trong các giếng. Tiếp theo, các đĩa được ủ trong máy ủ ẩm hoàn toàn (37°C, 5% CO_2) cho đến ngày hôm sau. Sau đó, chủng DENV-2 16681, được đánh dấu bằng eGFP, được thêm ở bội nhiễm (MOI : multiplicity of infection) bằng 0,5. Do đó, 15 µL huyền phù virut được thêm vào tất cả giếng chứa hợp chất thử nghiệm và các giếng được chỉ định làm đối chứng virut. Đồng thời, 15 µL môi trường nuôi cấy được thêm vào các đối chứng môi trường và tế bào. Tiếp theo, các đĩa được ủ trong 3 ngày trong máy ủ ẩm hoàn toàn (37°C, 5% CO_2). Vào ngày đọc, huỳnh quang eGFP được đo bằng cách sử dụng kính hiển vi huỳnh quang tự động ở 488 nm (laze màu xanh dương). Sử dụng hệ thống LIMS trong nhà, các đường cong đáp ứng liều ức chế cho mỗi hợp chất được tính và nồng độ nửa hiệu quả tối đa (EC_{50}) được xác định. Do đó, độ ức chế theo phần trăm (I) cho mỗi nồng độ thử nghiệm được tính bằng cách sử dụng công thức sau đây: $I = 100*(S_T-S_{CC})/(S_{VC}-S_{CC})$; S_T, S_{CC} và S_{VC} là lượng tín hiệu eGFP lần lượt trong giếng hợp chất thử nghiệm, giếng đối chứng tế bào và giếng đối chứng virut. EC_{50} là nồng độ của hợp chất mà sự nhân lên của virut bị ức chế 50%, như được đo bằng sự giảm đi 50% của cường độ huỳnh quang eGFP so với đối chứng virut. EC_{50} được tính bằng cách sử dụng phép nội suy tuyến tính (Bảng 1).

Đồng thời, độc tính của các hợp chất nêu trên được đánh giá trên cùng đĩa. Ngay khi đọc xong tín hiệu eGFP, 40 µL ATPlite, chủng tế bào sống, được thêm vào tất cả các giếng trong các đĩa 384 giếng. ATP có mặt trong tất cả các tế bào hoạt hóa trao đổi chất và nồng độ của nó giảm xuống rất nhanh khi các tế bào này trải qua hoại tử hoặc chết theo chương trình. Hệ thống thử nghiệm ATPLite dựa trên sự sản sinh ánh sáng gây do phản ứng của ATP với luciferaza và D-luciferin đã thêm. Các đĩa này được ủ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Tiếp theo, các đĩa được đo trên ViewLux. Nồng độ gây nửa độc tối đa (CC_{50}) cũng được xác định, được định nghĩa là nồng độ cần để làm giảm tín hiệu huỳnh quang xuống 50% khi so với tín hiệu huỳnh quang trong các giếng đối chứng tế bào. Cuối cùng, chỉ số chọn lọc (SI : the selectivity index) được xác định cho các hợp chất, được tính như sau: $SI = CC_{50}/EC_{50}$.

Bảng 1: EC_{50}, CC_{50}, và SI của các hợp chất theo sáng chế trong thử nghiệm chống virut DENV-2

Hợp chất#	EC_{50} (µM)	N	CC_{50} (µM)	N	SI	N
1	0,00050	3	11	3	24400	3
1A	0,018	3	9,6	3	523	3
1B	0,018	4	10	4	579	4
1C	0,000094	3	12	3	131193	3
1D	0,00023	3	12	3	57700	3
2	0,00062	3	12	3	19200	3
2A	0,00038	3	13	3	34500	3
2B	0,019	3	11	4	565	3
3	0,00050	3	10	3	17700	3
4	0,00014	3	10	3	73900	3
4A	0,0029	3	9,0	3	3090	3
4B	0,011	3	10	3	935	3
4C	0,00011	4	13	4	121878	4
4D	0,00017	3	13	3	81200	3
5	0,00092	3	9,7	3	11300	3
5A	0,00051	3	12	3	26300	3
5B	0,011	3	10	3	921	3
6AA	0,00074	3	8,3	3	8870	3
6AB	0,000016	6	12	7	>199223	6
6BA	0,012	3	8,7	3	703	3
6BB	0,00018	3	12	3	83800	3
7	0,00049	3	12	3	14600	3
7A	0,0091	3	10	3	1130	3
7B	0,00012	3	13	3	121027	3
8	0,000048	5	13	5	>126733	5
8A	0,00086	3	12	3	11600	3
8B	0,000023	10	14	10	>102836	10
9	0,00070	3	9,8	3	14700	3
9A	0,090	3	11	3	125	3

Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
9B	0,00039	3	12	4	32500	3
10	0,00027	3	12	3	44900	3
10A	0,0027	3	10	3	3790	3
10B	0,00011	3	11	3	109987	3
11	0,00013	4	12	4	97100	4
11A	0,0038	3	10	3	2710	3
11B	0,00011	4	11	4	118692	4
12	0,0011	3	11	3	9440	3
12A	0,038	3	10	3	267	3
12B	0,00069	3	14	3	21500	3
13	0,00025	3	12	4	38100	3
13A	0,0014	6	9,1	7	5720	6
13B	0,00013	4	12	4	88200	4
14	0,00023	3	9,6	3	50200	3
14A	0,00011	3	16	3	151558	3
14B	0,060	3	9,3	3	156	3
15	0,00042	3	8,3	3	25500	3
15A	0,049	3	8,4	3	171	3
15B	0,00045	3	12	5	24900	3
16	0,00033	4	16	5	56100	4
17	0,00018	3	13	3	100043	3
17A	0,076	3	11	3	147	3
17B	0,18	3	11	3	59	3
17C	0,00023	3	12	3	39300	3
17D	0,00012	4	14	4	>9720	4
18	0,00049	3	11	3	26100	3
18A	0,0099	3	12	4	1160	3
18B	0,00028	3	12	3	62700	3
19AA	0,010	3	11	4	1030	3
19AB	0,000012	8	12	9	>390600	8
19BA	0,016	3	11	3	707	3

Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
19BB	0,000038	5	8,8	5	>148612	5
20A	0,44	3	12	3	27	3
20B	0,18	3	12	3	69	3
20C	0,00017	3	12	3	59500	3
20D	0,00023	3	13	3	53400	3
21	0,0011	3	15	3	11000	3
21A	0,016	3	11	3	687	3
21B	0,00032	3	12	3	45200	3
22AA	0,016	4	13	4	798	4
22AB	0,000034	6	12	7	>196427	6
22BA	0,015	3	12	3	786	3
22BB	0,00046	3	14	3	27600	3
23	0,000093	4	12	4	116424	4
23A	0,034	3	11	3	321	3
23B	0,000062	7	12	8	>88755	7
24	0,00064	4	12	4	18300	4
24A	0,024	3	11	3	469	3
24B	0,00034	3	12	3	43100	3
25	0,00045	4	12	4	26800	4
25A	0,0071	3	12	3	1640	3
25B	0,00028	3	13	3	52900	3
26A	0,00010	4	14	4	>12200	4
26B	0,00094	4	12	4	10600	4
27	0,000067	4	13	4	149640	4
27A	0,00041	3	11	3	14300	3
27B	0,000022	6	13	7	>205482	6
28AA	0,33	3	11	3	34	3
28AB	0,00068	3	13	3	19000	3
28BA	0,017	3	10,0	3	574	3
28BB	0,00020	3	12	3	70600	3
29AA	0,061	3	9,2	3	151	3

Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
29AB	0,00053	3	12	3	22300	3
29BA	0,0034	3	9,8	3	2890	3
29BB	0,000069	3	12	4	124722	3
30A	0,00024	3	13	4	47400	3
30B	0,0059	3	11	3	1800	3
31A	0,00020	3	12	3	70300	3
31B	0,0026	3	12	3	4400	3
32	0,00013	3	15	3	130935	3
32A	0,063	3	13	3	205	3
32B	0,000081	5	14	5	>230623	5
33A	0,013	3	17	4	1110	3
33B	0,0079	3	14	3	1760	3
33C	0,0032	3	19	3	5930	3
33D	0,00052	3	18	3	39000	3

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

Thử nghiệm PCR định lượng transcriptaza đảo bốn giá (RT-qPCR)

Hoạt tính chống virut của các hợp chất nêu trên theo sáng chế được thử nghiệm chống lại 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, các tế bào Vero được nhiễm với DENV-1, hoặc -2, hoặc -3, hoặc -4 với sự có mặt hoặc không có mặt của các hợp chất thử nghiệm. Ở ngày thứ 3 sau gây nhiễm, các tế bào này được phân giải và các sản phẩm phân giải được sử dụng để tạo ra cADN của gen đích virut (3'UTR của DENV; Bảng 2) và gen tham chiếu tế bào (β-actin, Bảng 2). Tiếp theo, PCR thời gian thực kép được tiến hành trên thiết bị Lightcycler480. Giá trị Cp tạo ra là tỷ lệ nghịch với lượng biểu hiện RNA của các đích này. Việc ức chế sự nhân lên của DENV bở hợp chất thử nghiệm gây ra sự chuyển dịch của Cp's đối với gen 3'UTR. Mặt khác, nếu hợp chất thử nghiệm có tính độc đối với các tế bào này, thì sẽ thấy được tác động tương tự đối với sự biểu hiện của β-actin. Phương pháp ΔΔCp so sánh được sử dụng để tính EC_{50}, dựa trên sự biểu hẹn gen tương đối của gen đích (3'UTR) được chuẩn hóa với gen giữ nhà

của tế bào (β-actin). Ngoài ra, các giá trị CC50 được xác định dựa trên các giá trị C_p thu được cho gen giữ nhà β-actin.

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

Mồi/đoạn dò	Đích	Trình tự [a, b]
F3utr258	DENV 3'-UTR	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	DENV 3'-UTR	5'-GAGACAGCAGGATCTCTGGTC-3'
P3utr343	DENV 3'-UTR	***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 chỉ thị (FAM, HEX) và thành phần dập tắt (ZEN và IABkFQ) được thể hiện dưới dạng in đậm và in nghiêng.

[b] Trình tự nucleotit của các mồi và các đoạn dò được chọn từ vùng bảo toàn trong vùng 3'UTR của bộ gen virut gây sốt dengue, dựa trên việc xếp thẳng hàng 300 trình tự nucleotit của bốn kiểu huyết thanh dengue được gửi vào Genbank (Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Chapter 16).

Môi trường nuôi cấy chứa môi trường cần thiết tối thiểu được bổ sung với 2% huyết thanh bào thai bê được bất hoạt nhiệt, 0,04% gentamyxin (50 mg/mL) và 2mM L-glutamin. Các tế bào Vero, thu được từ ECACC, được tạo huyền phù trong môi trường nuôi cấy và 75 µL/giếng được thêm vào các đĩa 96 giếng (10000 tế bào/giếng), đã chứa các hợp chất chống virut. Thông thường, các đĩa này chứa dịch pha loãng nối tiếp 5 lần của 9 bước pha loãng của hợp chất thử nghiệm ở 200 lần nồng độ cuối trong 100% DMSO (500 nL; khoảng nồng độ cuối: 25µM –

0,000064µM hoặc 2,5µM – 0,0000064µM đối với hầu hết các hợp chất hoạt hóa). Ngoài ra, mỗi đĩa chứa các giếng được chỉ định làm các đối chứng virut (chứa các tế bào và virut với sự không có mặt của hợp chất) và các đối chứng tế bào (chứa các tế bào với sự không có mặt của virut và hợp chất). Ngay khi các tế bào này được thêm vào các đĩa, các đĩa được ủ trong máy ủ ẩm hoàn toàn (37°C, 5% CO_2) cho đến ngày tiếp theo. Kiểu huyết thanh virut gây sốt dengue-1, 2, 3 và 4 được pha loãng để thu được Cp bằng ~22-24 trong thử nghiệm này. Do đó, 25 µL huyền phù virut được thêm vào tất cả các giếng chứa hợp chất thử nghiệm và các giếng được chỉ định làm đối chứng virut. Đồng thời, 25 µL môi trường nuôi cấy được thêm vào các đối chứng tế bào. Tiếp theo, các đĩa được ủ trong 3 ngày trong máy ủ ẩm hoàn toàn (37°C, 5% CO_2). Sau 3 ngày, dịch nổi được loại bỏ khỏi các giếng và các tế bào này được rửa 2 lần bằng PBS đá lạnh (~100 µL). Các cặn tế bào trong các đĩa 96 giếng được bảo quản ở -80°C trong ít nhất 1 ngày. Tiếp theo, RNA được chiết bằng cách sử dụng kit phân giải Cells-to-CT™, theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Life Technologies). Các sản phẩm phân giải có thể được bảo quản ở -80°C hoặc được sử dụng ngay trong bước phiên mã ngược.

Để chuẩn bị bước phiên mã ngược, hỗn hợp A (Bảng 3A) được tạo ra và 7,57 µL/giếng được phân phối vào đĩa 96 giếng. Sau khi thêm 5 µL các sản phẩm phân giải, bước biến tính 5 phút ở 75°C được tiến hành (Bảng 3B). Sau đó, 7,43 µL hỗn hợp B được thêm (Bảng 3C) và bước phiên mã ngược 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 các đĩa 96 giếng LightCycler qPCR sau đó 3 µL cADN được thêm và qPCR được tiến hành trên LightCycler 480 theo điều kiện trong Bảng 4B.

Sử dụng phần mềm LightCycler và hệ thống LIMS trong nhà, các đường cong đáp ứng liều lượng cho mỗi hợp chất được tính và nồng độ nửa hiệu quả tối đa (EC_{50}) và nồng độ gây nửa độc tối đa (CC_{50}) được xác định (các Bảng từ 5 đến 8).

Bảng 3: Tổng hợp cADN sử dụng hỗn hợp A, sự biến tính, hỗn hợp B và phiên mã

ngược.

A Hỗn hợp A

Các đĩa	8				
Các mẫu	828			Thể tích phản ứng (µl)	20
Thành phần trong hỗn hợp	Nồng độ			Thể tích cho (µl)	
	Đơn vị	Gốc	Cuối	1 mẫu	x mẫu
Milli-Q H_2O				7,27	6019,56
R3utr425	µM	20	0,27	0,15	124,20
Ractin876	µM	20	0,27	0,15	124,20
		Thể tích hỗn hợp/giếng (µl)		7,57	
		Các sản phẩm phân giải tế bào		5,00	

B Bước biến tính:

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

C Hỗn hợp B

Các mẫu	864				
Thành phần trong hỗn hợp	Nồng độ			Thể tích cho (µl)	
	Đơn vị	Gốc	Cuối	1 mẫu	x mẫu
Dung dịch đệm HIFI mở rộng 2	X	10,00	1,00	2,00	1728,0
$MgCl_2$	mM	25,00	3,50	2,80	2419,2
dNTPs	mM	10,00	1,00	2,00	1728,0
Chất ức chế Ribonucleaza	U/µl	40,00	1,00	0,50	432,0
RT mở rộng	U/µl	50,00	0,33	0,13	112,3
		Tổng thể tích hỗn hợp (µl)		7,43	

D Quy trình tổng hợp cADN

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

Bảng 4: Quy trình và hỗn hợp qPCR.

A Hỗn hợp C

Các mẫu	833			Thể tích phản ứng (µl)
Thành phần trong hỗn hợp	Nồng độ			Thể tích cho (µl)
	Đơn vị	Gốc	Cuối	1 mẫu
H_2O PCR lớp Roche				7,74
Hỗn hợp Roche 2xMM	X	2	1	12,50
F3utr258	µM	20	0,3	0,38
R3utr425	µM	20	0,3	0,38
P3utr343	µM	20	0,1	0,13
Factin743	µM	20	0,3	0,38
Ractin876	µM	20	0,3	0,38
Pactin773	µM	20	0,1	0,13
		Thể tích hỗn hợp / Ống (µl)		22,02
		cADN		3,00

B Quy trình qPCR3

Bước	Nhiệt độ	Thời gian	Tỷ lệ dốc	
Ủ sơ bộ/biến tính	95°C	10 phút	4,4	
Biến tính	95°C	10 giây	4,4	40 chu kỳ
Gắn	58°C	1 phút	2,2	
Kéo dài	72°C	1 giây	4,4	
Làm mát	40°C	10 giây	1,5	

Bảng 5: EC_{50}, CC_{50}, và SI của các hợp chất chống lại chủng huyết thanh 1 trong thử nghiệm RT-qPCR

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 1 TC974#666					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
1C	0,00023	3	>2,5	3	>11000	3
1D	0,00027	3	>2,5	3	>11400	3
2A	0,00057	3	>2,5	3	>7920	3
4C	0,000066	4	>1,0	4	>61000	4
4D	0,00023	4	>1,0	4	>7140	4
5A	0,00058	3	>1,0	3	>1930	3
6AB	0,000022	3	>2,5	3	>133413	3
6BB	0,00013	3	>2,5	2	>24100	2
7B	0,00015	3	>2,5	3	>23200	3
8B	0,000032	3	>1,0	3	>38900	3
9B	0,00081	3	>1,0	3	>2080	3
10B	0,00027	3	>2,5	3	>18700	3
11B	0,00020	4	>2,5	4	>11800	4
12B	0,00047	3	>2,5	3	>8660	3
13B	0,00019	3	>2,5	3	>10400	3
14A	0,00026	3	>1,0	3	>6140	3
15B	0,00024	3	>1,0	2	>6280	2
17C	0,00019	3	>1,0	3	>8230	3
17D	0,00021	3	>1,0	3	>15400	3
18B	0,00055	3	>1,0	3	>2220	3
19AB	0,000021	3	>1,0	3	>56300	3
19BB	0,000091	3	>1,0	3	>13300	3

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 1 TC974#666					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
20C	0,00030	4	>1,0	4	>4540	4
20D	0,00089	4	>1,0	4	>1820	4
21B	0,0010	3	>2,5	3	>1950	3
22AB	0,000091	3	>1,0	3	>15700	3
22BB	0,0015	3	>2,5	1	>1740	1
23B	0,000092	5	>1,0	5	>18200	5
24B	0,0022	4	>1,0	4	>898	4
25B	0,0013	4	>1,0	4	>1210	4
27B	0,000013	4	>1,0	4	>114234	4
28AB	0,00041	4	>1,0	4	>4260	4
28BB	0,00011	4	>1,0	4	>29800	4
29AB	0,00023	4	>1,0	4	>5680	4
29BB	0,000048	4	>1,0	4	>30400	4
30A	0,000094	5	>1,0	5	>54900	5
31A	0,00019	3	>1,0	3	>6090	3
32B	0,00011	4	>1,0	4	>10300	4
33C	0,00097	4	>1,0	4	>3500	4
33D	0,00048	4	>1,0	4	>7130	4

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

Bảng 6: EC_{50}, CC_{50}, và SI của các hợp chất chống lại chủng huyết thanh 2 trong thử nghiệm RT-qPCR

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 2 16681					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 2 16681					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
1C	0,00018	3	>2,5	3	>15300	3
1D	0,00023	3	>2,5	3	>9200	3
2A	0,00048	3	>2,5	3	>6500	3
4C	0,000060	4	>1,0	4	>51900	4
4D	0,00013	4	>1,0	4	>15600	4
5A	0,00042	3	>1,0	3	>3220	3
6AB	0,000017	3	>2,5	3	>187753	3
6BB	0,00012	3	>2,5	3	>23700	3
7B	0,00012	3	>2,5	3	>30600	3
8B	0,000025	3	>1,0	3	>54100	3
9B	0,00050	3	>1,0	3	>2680	3
10B	0,00011	3	>2,5	3	>27400	3
11B	0,00010	3	>2,5	3	>22400	3
12B	0,00053	3	>2,5	3	>8920	3
13B	0,00012	3	>2,5	3	>23900	3
14A	0,00020	3	>1,0	3	>5890	3
15B	0,00023	4	>1,0	3	>4310	3
17C	0,00011	3	>1,0	3	>13700	3
17D	0,00010	3	>1,0	3	>24100	3
18B	0,00034	4	>1,0	3	>4590	3
19AB	0,000014	3	>1,0	3	>92300	3
19BB	0,000078	3	>1,0	3	>14100	3
20C	0,000071	4	>1,0	4	>19200	4
20D	0,00019	4	>1,0	4	>7660	4

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 2 16681					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
21B	0,00016	3	>2,5	3	>12700	3
22AB	0,000029	4	>1,0	3	>46400	3
22BB	0,00033	3	>2,5	2	>9450	2
23B	0,000034	5	>1,0	4	>51700	4
24B	0,00026	4	>1,0	4	>11300	4
25B	0,00027	4	>1,0	3	>6080	3
27B	0,000014	4	>1,0	4	>92800	4
28AB	0,00031	4	>1,0	4	>5530	4
28BB	0,00010	4	>1,0	4	>19900	4
29AB	0,00025	3	>1,0	3	>5180	3
29BB	0,000025	4	>1,0	4	>60200	4
30A	0,000076	4	>1,0	4	>65700	4
31A	0,00011	3	>1,0	3	>11600	3
32B	0,000033	4	>1,0	3	>35800	3
33C	0,0010	4	>1,0	4	>4630	4
33D	0,00066	4	>1,0	4	>6620	4

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

Bảng 7: EC_{50}, CC_{50}, và SI của các hợp chất chống lại chủng huyết thanh 3 trong thử nghiệm RT-qPCR

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 3 H87					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
1C	0,0024	4	>2,5	4	>1300	4
1D	0,0034	4	>2,5	4	>949	4

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 3 H87					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
2A	0,0061	4	>2,5	4	>390	4
4C	0,00077	4	>1,0	3	>1660	3
4D	0,0023	4	>1,0	4	>727	4
5A	0,0081	3	>1,0	3	>170	3
6AB	0,00013	3	>2,5	3	>15300	3
6BB	0,0016	3	>2,5	3	>1320	3
7B	0,0018	3	>2,5	3	>1810	3
8B	0,00016	3	>1,0	3	>7020	3
9B	0,0080	3	>1,0	3	>203	3
10B	0,0029	3	>2,5	3	>1370	3
11B	0,0018	3	>2,5	3	>1650	3
12B	0,0047	4	>2,5	4	>401	4
13B	0,0019	4	>2,5	4	>1350	4
14A	0,0028	3	>1,0	3	>584	3
15B	0,0028	3	>1,0	2	>525	2
17C	0,0036	3	>1,0	3	>401	3
17D	0,0027	3	>1,0	3	>541	3
18B	0,0043	3	>1,0	3	>281	3
19AB	0,00014	3	>1,0	3	>8790	3
19BB	0,00085	5	>1,0	5	>1910	5
20C	0,0034	4	>1,0	3	>249	3
20D	0,0089	4	>1,0	4	>178	4
21B	0,0065	3	>2,5	3	>357	3
22AB	0,00049	3	>1,0	3	>4430	3

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 3 H87					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
22BB	0,0090	3	>2,5	3	>245	3
23B	0,00033	5	>1,0	5	>6770	5
24B	0,014	5	>1,0	5	>123	5
25B	0,0063	5	>1,0	5	>190	5
27B	0,000091	4	>1,0	4	>22600	4
28AB	0,0053	3	>1,0	3	>277	3
28BB	0,0012	3	>1,0	3	>1680	3
29AB	0,0046	4	>1,0	4	>264	4
29BB	0,00039	3	>1,0	3	>3050	3
30A	0,0019	3	>1,0	3	>840	3
31A	0,0015	4	>1,0	4	>791	4
32B	0,00057	3	>1,0	3	>2870	3
33C	0,011	4	>1,0	4	>185	4
33D	0,0023	4	>1,0	4	>732	4

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

Bảng 8: EC_{50}, CC_{50}, và SI của các hợp chất chống lại chủng huyết thanh 4 trong thử nghiệm RT-qPCR

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 4 H241					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
1C	0,016	3	8,7	3	427	3
1D	0,024	3	7,3	3	280	3
2A	0,027	3	2,2	3	125	3
4C	0,015	3	>1,0	2	>73	2

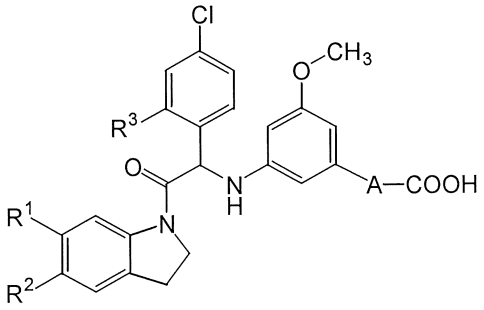
	Chủng huyết thanh RT-qPCR 4 H241					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
4D	0,026	3	3,2	3	73	3
5A	0,058	3	8,0	3	206	3
6AB	0,0029	3	>1,0	2	>425	2
6BB	0,020	3	5,4	3	205	3
7B	0,013	3	8,8	2	582	2
8B	0,0013	3	8,7	2	8240	2
9B	0,036	3	6,7	3	372	3
10B	0,022	3	>1,0	2	>57	2
11B	0,017	3	5,7	3	273	3
12B	0,039	3	9,2	2	318	2
13B	0,015	3	3,7	2	323	2
14A	0,015	3	8,9	3	510	3
15B	0,035	3	10,0	3	456	3
17C	0,016	3	1,7	2	95	2
17D	0,015	3	2,9	3	168	3
18B	0,033	3	3,0	2	148	2
19AB	0,00069	3	6,4	3	8200	3
19BB	0,0068	3	5,2	3	905	3
20C	0,020	3	>1,0	2	>60	2
20D	0,055	3	>1,0	1	>21	1
21B	0,048	3	9,0	3	115	3
22AB	0,0033	3	9,1	2	2890	2
22BB	0,071	3	8,2	3	126	3
23B	0,0027	3	6,0	2	2230	2

	Chủng huyết thanh RT-qPCR 4 H241					
Hợp chất#	EC_{50} (μM)	N	CC_{50} (μM)	N	SI	N
24B	0,066	3	7,8	3	115	3
25B	0,055	3	9,9	3	202	3
27B	0,00081	3	8,3	3	9330	3
28AB	0,069	3	9,0	3	158	3
28BB	0,018	3	>1,0	2	>58	2
29AB	0,035	3	8,0	2	118	2
29BB	0,0028	3	8,3	3	2790	3
30A	0,018	3	7,3	3	399	3
31A	0,017	4	7,3	4	445	4
32B	0,010	3	4,3	3	295	3
33C	0,34	3	4,2	3	9,8	3
33D	0,022	3	5,4	3	256	3

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

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I), bao gồm dạng đồng phân hóa học lập thể bất kỳ của hợp chất này,



(I)

trong đó

R^1 là triflometyl, triflometoxy, hoặc clo;

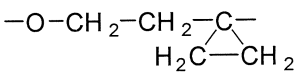
R^2 là hydro, flo, hoặc metoxy;

R^3 là hydro, hoặc metoxy;

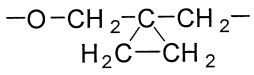
A là $-(CH_2)_n-$ trong đó n là 3 hoặc 4;

$-O-(CH_2)_n-$ trong đó n là 2 hoặc 4;

$-O-(CH_2)_n-$ trong đó n là 3 và một hoặc hai CH_2 được thế bằng một hoặc hai CH_3;



hoặc



$-CH_2-O-(CH_2)_n-$ trong đó n là 2; hoặc

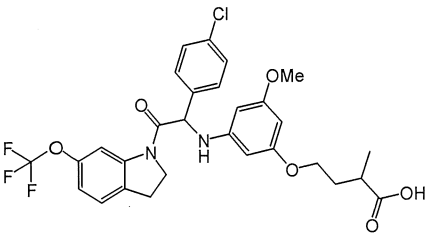
-X-Y- trong đó X là -O-, $-OCH_2-$, hoặc -NH-; và

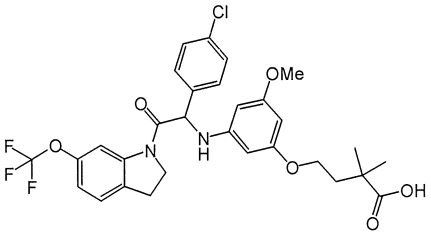
Y là C_{3-4} xycloalkyl được thế tuỳ ý bằng flo, hoặc

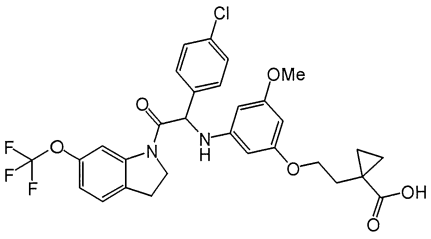
Y là bixyclo[1.1.1]pentanyl;

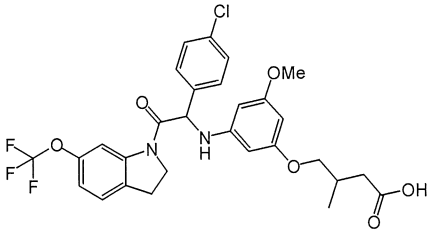
hoặc muối dược dụng, solvat hoặc dạng đa hình của hợp chất này.

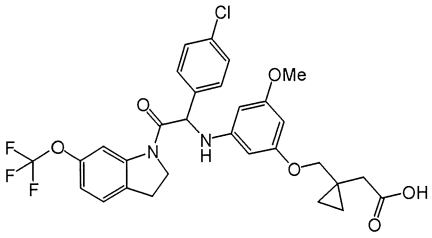
2. Hợp chất theo điểm 1 trong đó hợp chất này được chọn từ:

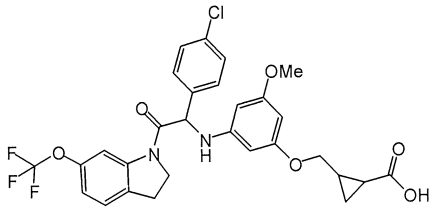


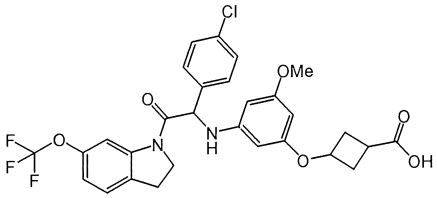


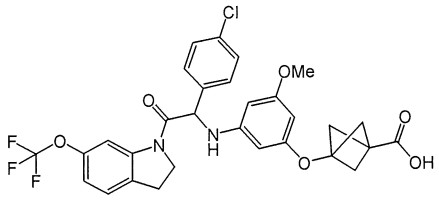


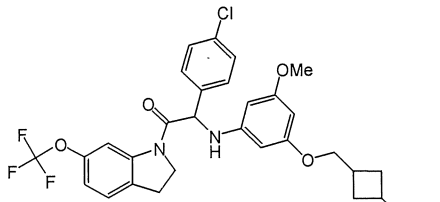


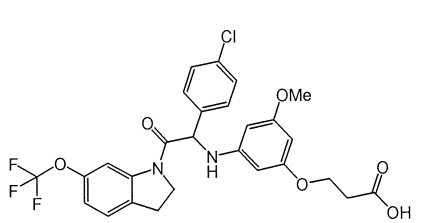


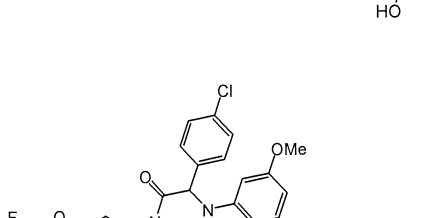


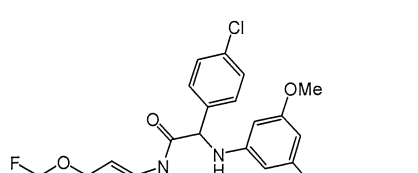


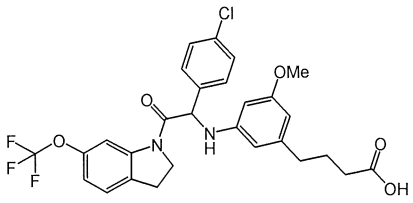


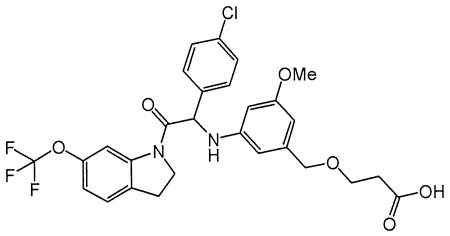


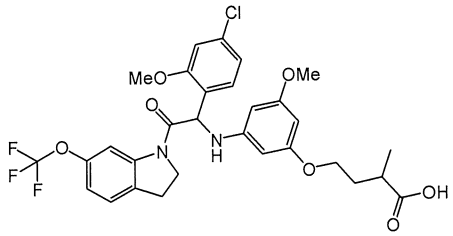


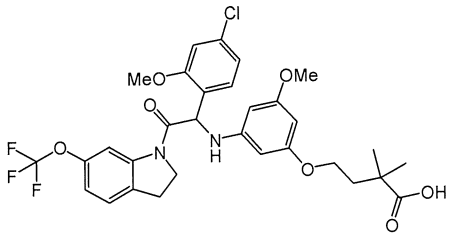


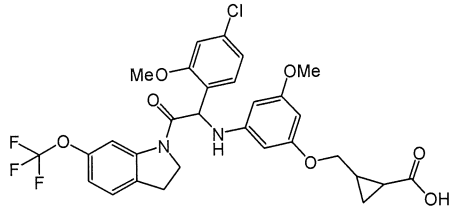


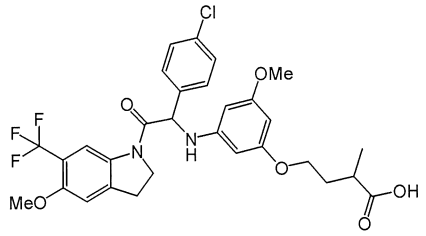


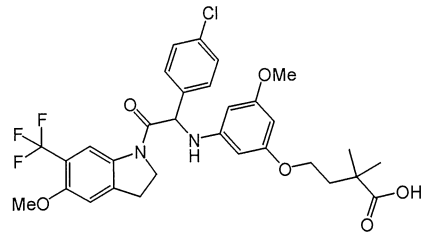


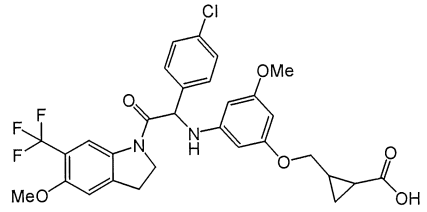


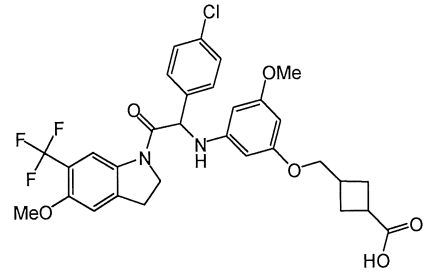


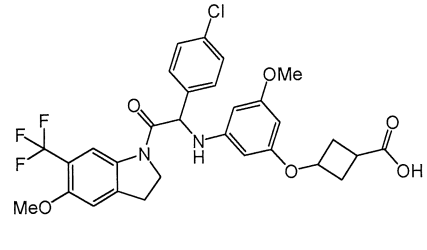


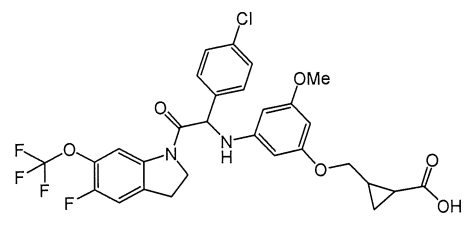


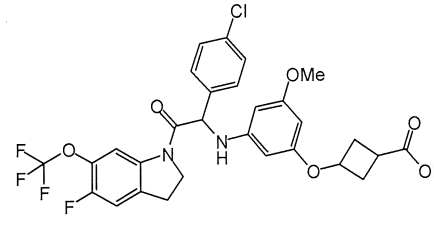


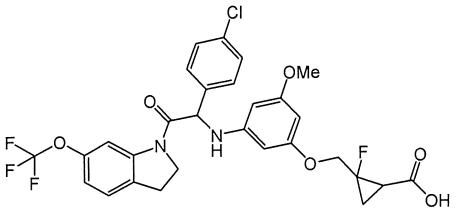
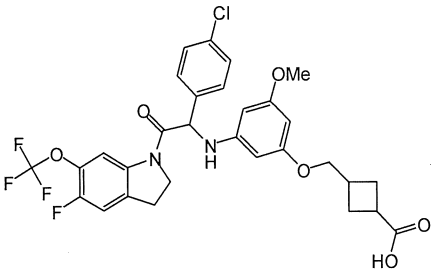
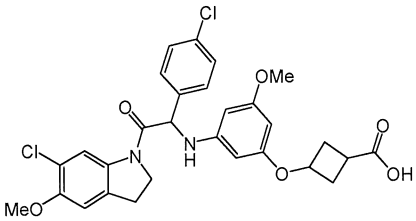
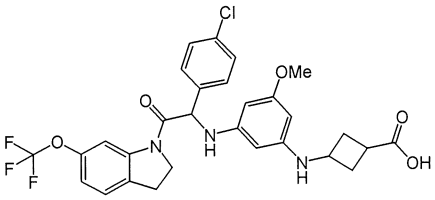






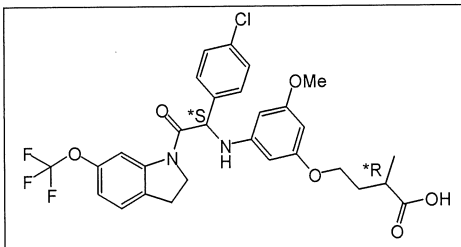
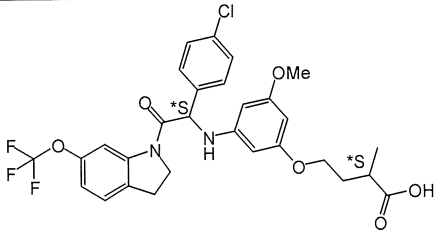
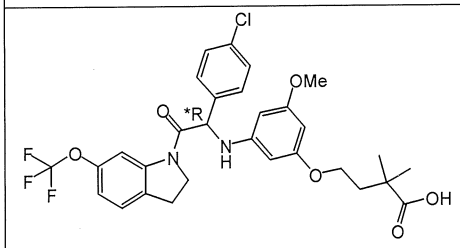
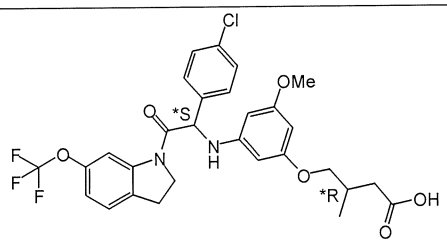
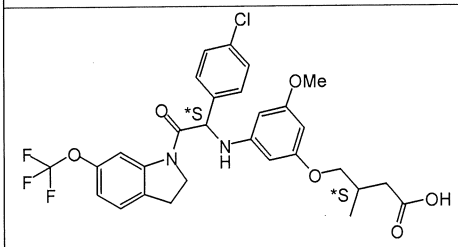
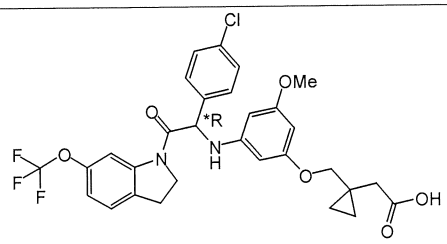


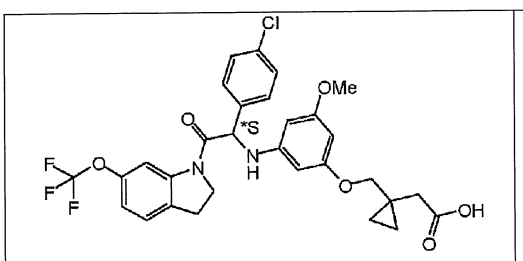


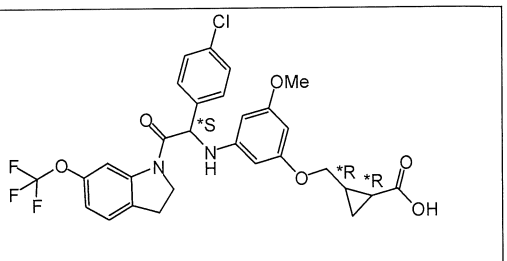





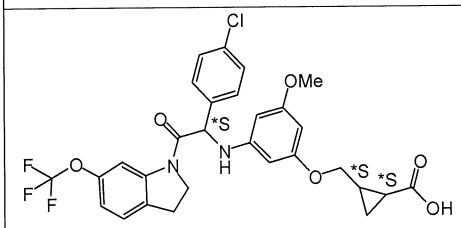
3. Hợp chất theo điểm 1 trong đó hợp chất này có độ quay đặc trưng (+) được đo ở 20°C, sử dụng bước sóng 589nm trong dung môi DMF.

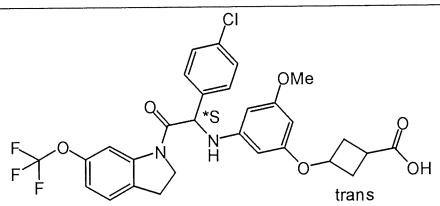
4. Hợp chất theo điểm 3 trong đó hợp chất này được chọn từ:

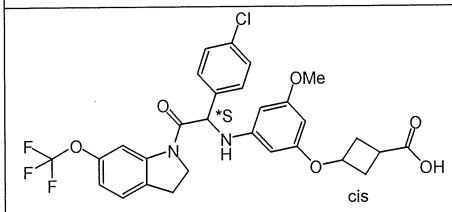
	
	
	

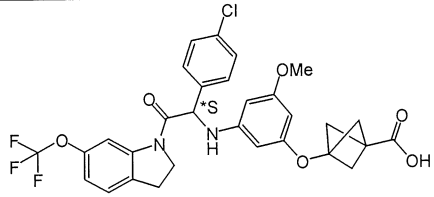


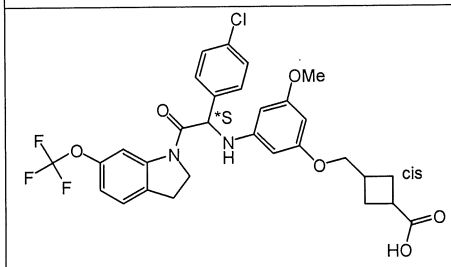


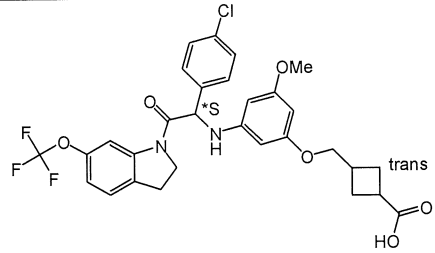


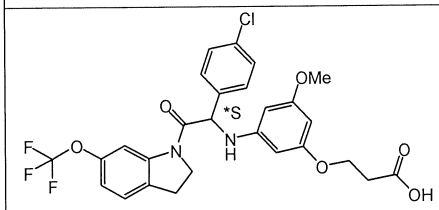

trans

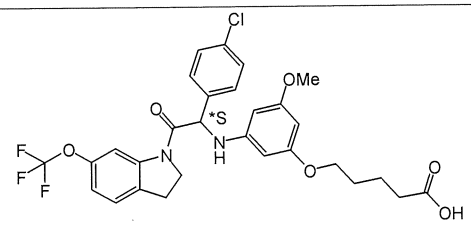

cis

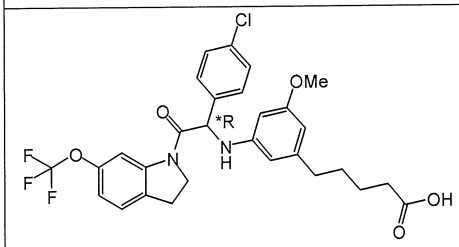


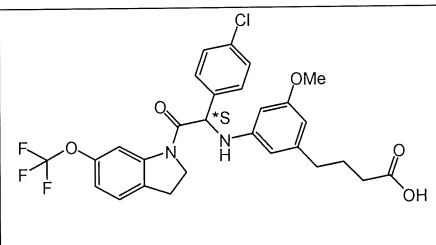

cis

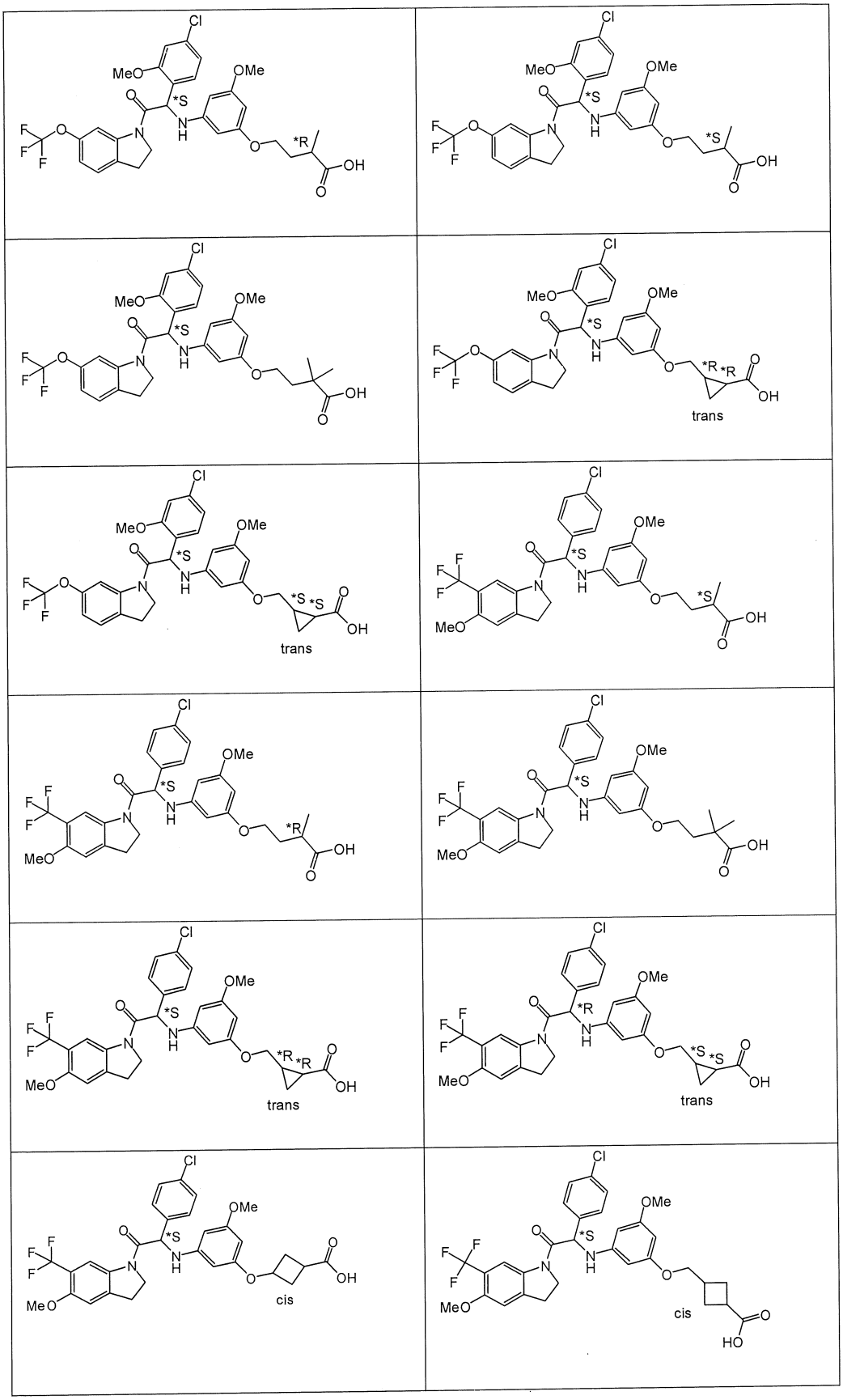

trans

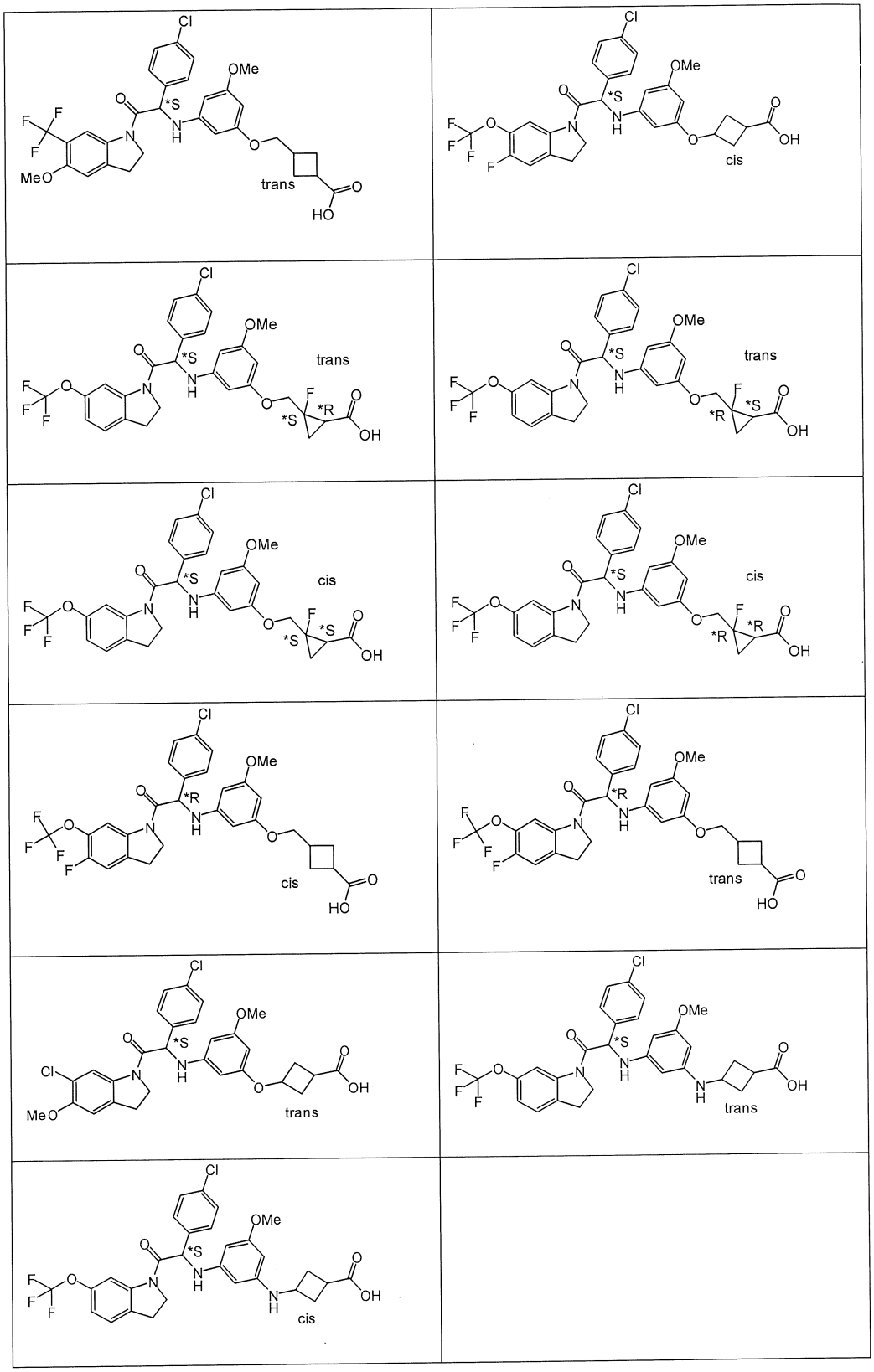










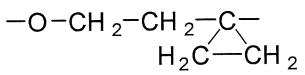
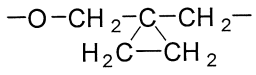


5. Hợp chất theo điểm 1 trong đó R^1 là triflometoxy, R^2 là hydro, và R^3 là hydro.

6. Hợp chất theo điểm 1 trong đó A là $-(CH_2)_n-$ trong đó n là 3 hoặc 4.

7. Hợp chất theo điểm 1 trong đó A là $-O-(CH_2)_n-$ trong đó n là 2 hoặc 4.

8. Hợp chất theo điểm 1 trong đó A là $-O-(CH_2)_n-$ trong đó n là 3 và một hoặc hai CH_2 được thế bằng một hoặc hai CH_3; hoặc A là


hoặc


9. Hợp chất theo điểm 1 trong đó A là -X-Y- trong đó X là -O-, $-OCH_2-$, hoặc -NH-; và Y là C_{3-4} xycloalkyl được thế tuỳ ý bằng flo.

10. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong các điểm từ 1 đến 9 cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó dược phẩm này chứa thành phần hoạt tính thứ hai hoặc thành phần hoạt tính thêm nữa.

12. Dược phẩm theo điểm 11 trong đó thành phần hoạt tính thứ hai hoặc thành phần hoạt tính thêm nữa là chất chống virut.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Janssen Pharmaceuticals, Inc.
Katholieke Universiteit Leuven

<120> Hợp chất indolin được thế làm chất ức chế sao chép virut gây sốt dengue và dược phẩm chứa hợp chất này

<130> TIP 373-PCT

<150> EP17172237.4
<151> 2017-05-22

<160> 14

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1
<211> 19
<212> DNA
<213> Virut dengue

<400> 1
cggttagagg agacccctc 19

<210> 2
<211> 21
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 2
gagacagcag gatctctggt c 21

<210> 3
<211> 28
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 3
aaggactaga ggttagagga gacccccc 28

<210> 4
<211> 18
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 4
ggccaggtca tcaccatt 18

<210> 5
<211> 21
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 5
atgtccacgt cacacttcat g 21

<210> 6
<211> 21
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 6
ttccgctgcc ctgaggctct c 21

<210> 7
<211> 20
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 7
tcggagccgg agtttacaaa 20

<210> 8
<211> 20
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 8
tcttaacgtc cgcccatgat 20

<210> 9
<211> 19
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 9
attccacaca atgtggcat 19

<210> 10
<211> 23
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 10
ggatagacca gagatcctgc tgt 23

<210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 11
cattccattt tctggcgttc 20

<210> 12
<211> 20
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 12
caatccatct tgcggcgctc 20

<210> 13
<211> 20
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 13
cagcatcatt ccaggcacag 20

<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> Virut dengue

<400> 14
caacatcaat ccaggcacag 20