

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 941 674**

(51) Int. Cl.:

C07D 471/08 (2006.01)
C07D 487/08 (2006.01)
C07D 209/04 (2006.01)
C07D 513/08 (2006.01)
C07D 209/14 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61K 31/404 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.05.2016 E 21159479 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2022 EP 3896072**

(54) Título: **Derivados de indol mono o disustituidos como inhibidores de la replicación vírica del dengue**

(30) Prioridad:

08.05.2015 EP 15166900
31.03.2016 EP 16163342

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.05.2023

(73) Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)
1125 Trenton-Harbourton Road
Titusville, NJ 08560, US y
KATHOLIEKE UNIVERSITEIT LEUVEN (50.0%)

(72) Inventor/es:

KESTELEYN, BART RUDOLF ROMANIE;
BONFANTI, JEAN-FRANÇOIS;
JONCKERS, TIM HUGO MARIA;
RABOISSON, PIERRE, JEAN-MARIE, BERNARD;
BARDIOT, DOROTHÉE, ALICE, MARIE-EVE y
MARCHAND, ARNAUD, DIDIER, M

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 941 674 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de indol mono o disustituidos como inhibidores de la replicación vírica del dengue

- 5 La presente invención se refiere a compuestos de indol mono o disustituidos, a métodos para prevenir o tratar infecciones víricas por dengue usando dichos compuestos y también se refiere a dichos compuestos para su uso como un medicamento, más preferentemente para su uso como un medicamento para tratar o prevenir infecciones víricas por dengue. La presente invención se refiere adicionalmente a composiciones farmacéuticas o preparaciones de combinación de los compuestos, a las composiciones o preparaciones para su uso como un medicamento, más preferentemente para la prevención o tratamiento de infecciones víricas por dengue. La invención también se refiere a procesos para la preparación de los compuestos.
- 10

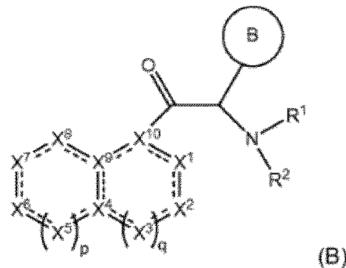
Antecedentes de la invención

- 15 Los flavivirus, que son transmitidos por mosquitos o garrapatas, provocan infecciones que amenazan la vida de seres humanos, tales como encefalitis y fiebre hemorrágica. Se conocen cuatro serotipos distintos, pero estrechamente relacionados, del flavivirus del dengue, denominados DENV-1, -2, -3 y -4. El dengue es endémico en la mayoría de las regiones tropicales o subtropicales en todo el mundo, predominantemente en áreas urbanas y semiurbanas. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), 2,5 mil millones de personas, de las que mil millones son niños, están en riesgo de infección por DENV (OMS, 2002). De 50 a 100 millones de casos estimados de dengue febril [DF], medio millón de casos de enfermedad por dengue grave (es decir, dengue hemorrágico febril [DHF] y síndrome de choque por dengue [DSS]), y más de 20 000 muertes ocurren en todo el mundo cada año. El DHF se ha vuelto una causa principal de hospitalización y muerte entre los niños en regiones endémicas. Por todo ello, el dengue representa la causa más común de muerte por enfermedad arbovírica. Debido a grandes brotes recientes en países situados en Iberoamérica, Sudeste Asiático y Pacífico Occidental (incluyendo Brasil, Puerto Rico, Venezuela, Camboya, Indonesia, Vietnam, Tailandia), el número de casos de dengue ha aumentado drásticamente en los últimos años. No es solo el número de casos de dengue, que aumenta según la enfermedad se propaga a nuevas áreas, si no que los brotes tienden a ser más graves.
- 20
- 25
- 30 Para prevenir y/o controlar la enfermedad asociada con infección vírica por dengue, los únicos métodos disponibles en el presente son estrategias de erradicación del mosquito para controlar el vector. Aunque se están haciendo avances en el desarrollo de vacunas frente al dengue, se han encontrado muchas dificultades. Estas incluyen la existencia de un fenómeno denominado potenciación dependiente de anticuerpos (ADE). La recuperación de una infección mediante un serotipo proporciona inmunidad de por vida frente a ese serotipo, pero únicamente confiere una protección parcial y transitoria frente a una infección posterior por uno de los otros tres serotipos. Después de la infección con otro serotipo, los anticuerpos heterólogos preexistentes forman complejos con el serotipo de virus del dengue de nueva infección, pero no neutralizan el patógeno. En su lugar, se cree que se facilita la entrada del virus en las células, dando como resultado una replicación incontrolada del virus y picos más altos de concentraciones víricas. Tanto en infecciones primarias como secundarias, concentraciones víricas mayores están asociadas con enfermedad por dengue más grave. Puesto que los anticuerpos maternos pueden transmitirse fácilmente a los niños por la lactancia materna, esta puede ser una de las razones por las que los niños se ven más afectados que los adultos por enfermedad grave por dengue.
- 35
- 40
- 45 En localizaciones en las que circulan simultáneamente dos o más serotipos, también denominadas regiones hiperendémicas, el riesgo de enfermedad grave por dengue es significativamente superior debido a un riesgo elevado de experimentar una infección secundaria incluso más grave. Además, en una situación de hiperendemias, se aumenta la probabilidad de aparición de cepas más virulentas, que a su vez aumenta la probabilidad de dengue hemorrágico febril (DHF) o síndrome de choque por dengue.
- 50 Los mosquitos, incluyendo *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* (mosquito tigre), se están trasladando al hemisferio norte. De acuerdo con los Centros para el Control y Prevención (CDC) de Estados Unidos (EE. UU.), ambos mosquitos están actualmente omnipresentes en el sur de Texas. La propagación hacia el norte de mosquitos que portan el dengue no está confinada a EE. UU., sino que también se ha observado en Europa.
- 55 Recientemente (diciembre de 2015), la vacuna frente al dengue producida por Sanofi Pasteur se aprobó en primer lugar en México. La vacuna también se ha aprobado en Brasil, Filipinas y El Salvador. Los procesos de revisión regulatoria están continuando en otros países en los que el dengue es una prioridad de salud pública. Sin embargo, la vacuna deja un espacio de mejora considerable debido a la eficacia limitada, especialmente frente a DENV-1 y -2, baja eficacia en sujetos no expuestos previamente al flavivirus y la prolongada pauta de dosificación.
- 60 Pese a estas limitaciones, la vacuna es un revulsivo en las zonas endémicas puesto que ofrecerá protección a gran parte de la población, pero probablemente no a bebés muy pequeños, quienes portan la carga de dengue más grande. Además, la pauta de dosificación y la eficacia muy limitada en sujetos no expuestos previamente al flavivirus la hace inadecuada y probablemente inútil/no rentable para viajeros desde áreas no endémicas a áreas endémicas de dengue.
- 65 Las limitaciones mencionadas anteriormente de las vacunas contra el dengue son la razón por la que existe una necesidad de un antivírico profiláctico contra el dengue antes de la exposición.

Además, a día de hoy, no están disponibles fármacos antivíricos específicos para el tratamiento o prevención de infección por virus del dengue febril. Claramente, todavía hay una gran necesidad médica no cubierta de productos terapéuticos para la prevención o tratamiento de infecciones víricas en animales, más en particular en seres humanos

5 y especialmente de infecciones víricas causadas por flavivirus, más en particular virus del dengue. Son altamente necesarios compuestos con buena potencia antivírica, niveles ausentes o bajos de efectos secundarios, una actividad de amplio espectro frente a múltiples serotipos del virus del dengue, una baja toxicidad y/o buenas propiedades farmacocinéticas o farmacodinámicas.

10 El documento WO 2013/045516 divulga inhibidores de fórmula (B),



en el que dichos inhibidores son útiles en el tratamiento o prevención de infecciones víricas con el virus del dengue.

15 Ahora, la presente invención proporciona compuestos, derivados de indol mono o disustituidos, que muestran una actividad muy potente frente a los cuatro (4) serotipos del virus del dengue. También, los compuestos de acuerdo con la invención poseen un buen perfil farmacocinético y sorprendentemente estos compuestos específicos muestran una estabilidad quiral mejorada.

20 Sumario de la invención

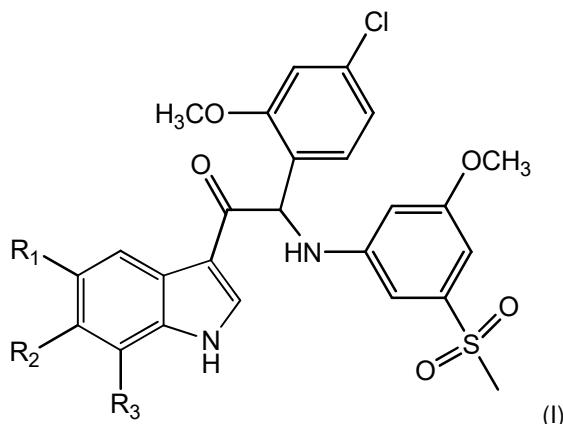
La presente invención está basada en el hallazgo inesperado de que al menos uno de los problemas mencionados anteriormente puede resolverse mediante los compuestos actuales de la invención.

25 La presente invención proporciona compuestos que han demostrado poseer una potente actividad antivírica frente a los cuatro (4) serotipos conocidos actualmente. La presente invención demuestra además que estos compuestos inhiben eficazmente la proliferación del virus del dengue (DENV). Por lo tanto, estos compuestos constituyen una clase útil de compuestos potentes que pueden usarse en el tratamiento y/o prevención de infecciones víricas en animales, 30 mamíferos y seres humanos, más específicamente para su uso en el tratamiento y/o prevención de infección con virus del dengue.

35 La presente invención se refiere además al uso de dichos compuestos como medicamentos y a su uso para la fabricación de medicamentos para tratar y/o prevenir infecciones víricas, en particular con virus que pertenecen a la familia de los virus del dengue en animales o mamíferos, más en particular en seres humanos. La presente invención también se refiere a métodos para la preparación de todos estos compuestos y a composiciones farmacéuticas que los comprenden en una cantidad eficaz.

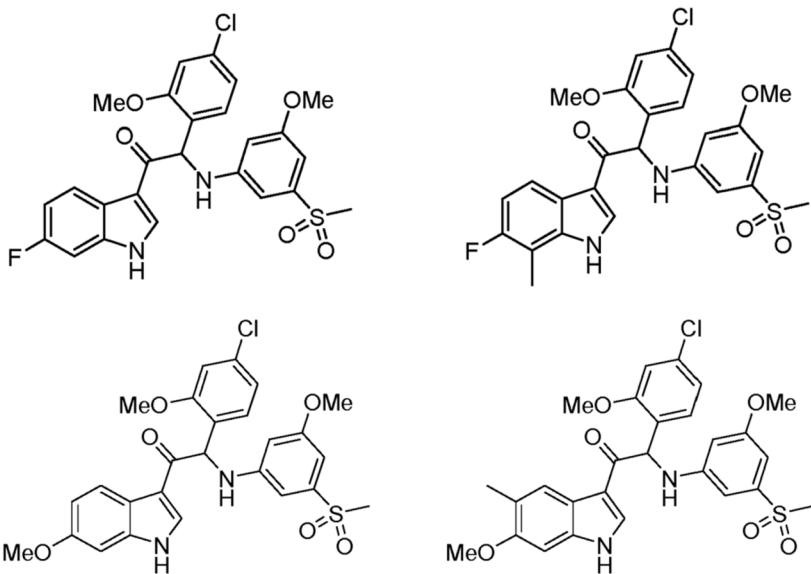
40 La presente invención también se refiere a dichos compuestos para su uso en un método de tratamiento o prevención de infecciones víricas por dengue en seres humanos mediante la administración de una cantidad eficaz de uno o más de tales compuestos, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos opcionalmente en combinación con uno o más de otros medicamentos, como otro agente antivírico o vacuna contra el dengue o ambos, a un paciente que lo necesita.

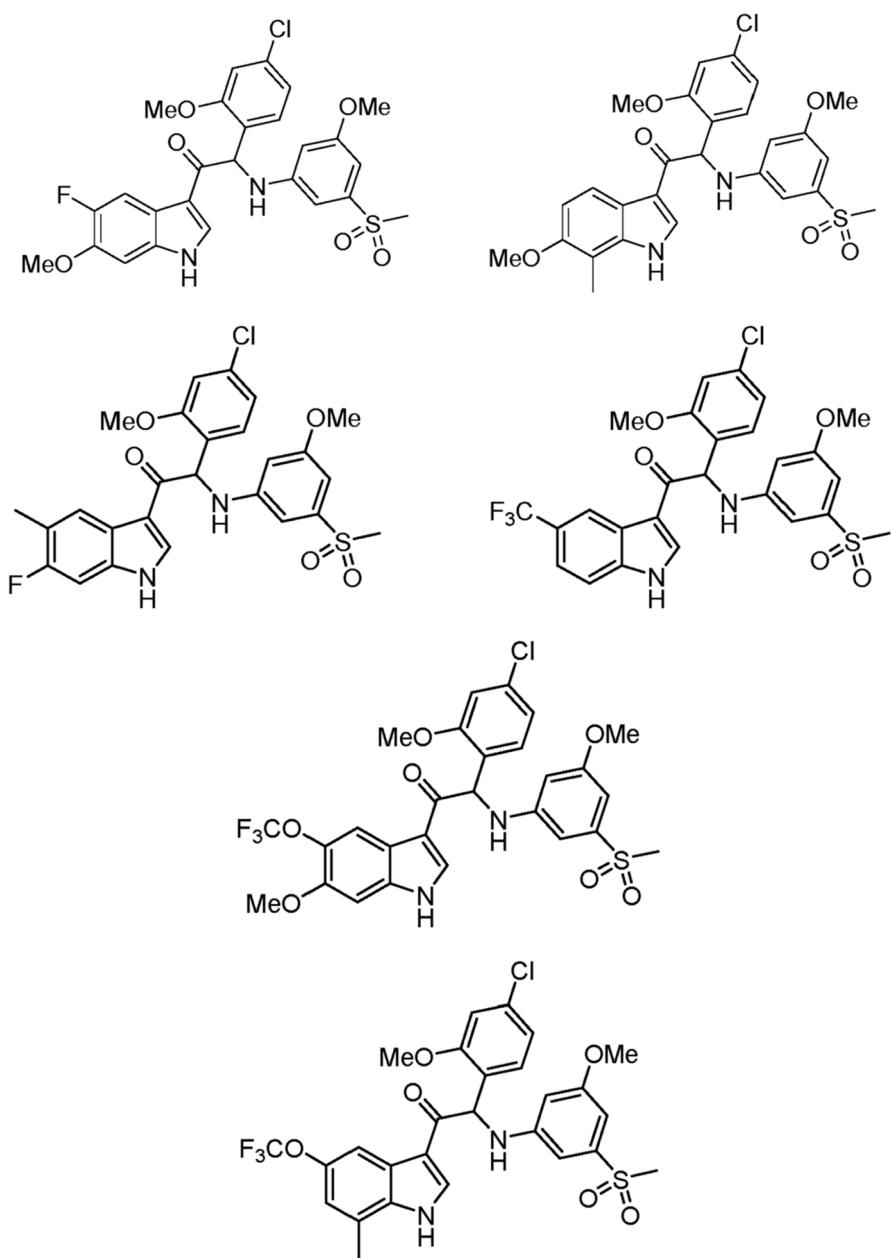
45 Un aspecto de la invención es la provisión de compuestos de fórmula (I)



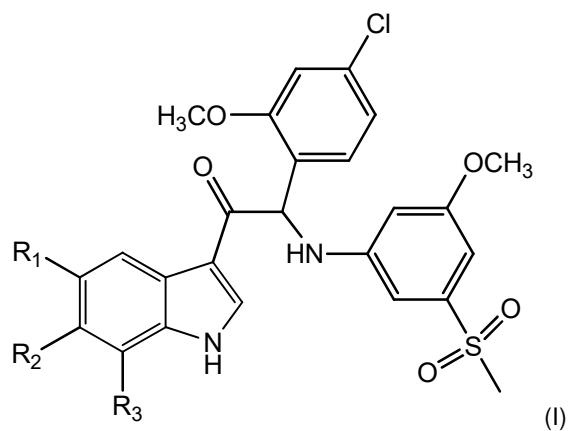
una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende un grupo indol mono o disustituido; dicho compuesto se selecciona del grupo en el que:

- 5 R₁ es H, R₂ es F y R₃ es H o CH₃,
- R₁ es H, CH₃ o F, R₂ es OCH₃ y R₃ es H,
- 10 R₁ es H, R₂ es OCH₃ y R₃ es CH₃,
- R₁ es CH₃, R₂ es F y R₃ es H,
- R₁ es CF₃, R₂ es H y R₃ es H,
- 15 R₁ es OCF₃, R₂ es OCH₃ y R₃ es H y
- R₁ es OCF₃, R₂ es H y R₃ es CH₃.
- 20 En particular, los compuestos de la invención o su forma estereoisomérica, una sal, solvato o plimorfo farmacéuticamente aceptable de los mismos se seleccionan del grupo:





Otro aspecto de la invención es el uso de un compuesto representado por la siguiente fórmula estructural (I)



una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende un grupo indol mono o disustituido; dicho compuesto se selecciona del grupo en el que:

5 R₁ es H, R₂ es F y R₃ es H o CH₃,

R₁ es H, CH₃ o F, R₂ es OCH₃ y R₃ es H y

R₁ es H, R₂ es OCH₃ y R₃ es CH₃,

10 R₁ es CH₃, R₂ es F y R₃ es H,

R₁ es CF₃, R₂ es H y R₃ es H,

15 R₁ es OCF₃, R₂ es OCH₃ y R₃ es H y

R₁ es OCF₃, R₂ es H y R₃ es CH₃

para inhibir la replicación de uno o más virus del dengue en una muestra biológica o paciente.

20 También forma parte de la presente invención una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una forma estereoisomérica, o una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

25 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen las sales de adición de ácido y de base de los mismos. Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales atóxicas. Las sales de adición de base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales atóxicas.

30 Los compuestos de la invención también pueden existir en formas solvatadas y no solvatadas. El término "solvato" se utiliza en el presente documento para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol.

El término "polimorfo" se refiere a la capacidad del compuesto de la invención de existir en más de una forma o estructura cristalina.

35 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como productos amorfos o cristalinos. Se pueden obtener, por ejemplo, como masas compactas sólidas, polvos o películas mediante métodos tales como la precipitación, cristalización, liofilización, secado por pulverización o secado por evaporación. Se pueden administrar solos o combinados con uno o más compuestos de la invención diferentes o combinados con uno o más fármacos diferentes. En general, se administrarán como una formulación asociados con uno o más excipientes 40 farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se utiliza en el presente documento para describir cualquier ingrediente que no sea el o los compuestos de la invención. La selección del excipiente depende en gran medida de factores tales como la vía particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma farmacéutica.

45 Los compuestos de la presente invención o cualquier subgrupo de los mismos se pueden formular en varias formas farmacéuticas con el fin de poder administrarlos. Como composiciones adecuadas, se pueden citar todas las composiciones empleadas normalmente para administrar fármacos por vía sistémica. Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, se combina una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal de adición, como principio activo, en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, pudiendo 50 adoptar dicho vehículo una gran variedad de formas dependiendo de la forma del preparado que se deseé para la administración. Estas composiciones farmacéuticas se encuentran deseablemente en una forma de dosificación unitaria adecuada, por ejemplo, para administración oral o rectal. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en una forma farmacéutica oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparados líquidos orales tales como 55 suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, glúcidos, caolín, diluyentes, lubricantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, pastillas, cápsulas y comprimidos. Debido a su fácil administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas farmacéuticas unitarias orales más convenientes, en cuyo caso se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. También se incluyen los preparados en forma sólida que se pueden convertir, poco antes de su uso, en formas líquidas.

60 Es especialmente conveniente formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en formas farmacéuticas unitarias debido a la uniformidad de la dosis y a que se pueden administrar fácilmente. La expresión "forma farmacéutica unitaria", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosis unitarias, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado asociada con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas farmacéuticas unitarias son comprimidos (que incluyen los comprimidos ranurados o

recubiertos), cápsulas, pastillas, sobres de polvos, obleas, supositorios, suspensiones o soluciones inyectables y similares, y múltiples segregados de los mismos.

5 Los expertos en el tratamiento de enfermedades infecciosas serán capaces de determinar la cantidad eficaz a partir de los resultados de las pruebas que se presentan posteriormente en el presente documento. En general, se considera que una cantidad diaria eficaz sería de 0,01 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de 0,1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Podría resultar adecuado administrar la dosis requerida como dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos adecuados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas farmacéuticas unitarias, por ejemplo, que contengan de 1 a 1000 mg y, en particular, de 5 a 200 mg de principio activo por forma farmacéutica unitaria.

10 La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de fórmula (I) utilizado, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso y el estado físico general del paciente particular, así como también de otra medicación que el individuo pueda estar tomando, como bien sabrán los expertos en la técnica. Además, es obvio que la cantidad eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescriba los compuestos de la presente invención. Por consiguiente, los intervalos de la cantidad eficaz que se han mencionado anteriormente son solamente orientativos y no se pretende que limiten el alcance ni el uso de la invención de ningún modo.

15 20 También se pretende que la presente divulgación incluya cualquiera de los isótopos de los átomos presentes en los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio y los isótopos de carbono incluyen C-13 y C-14.

25 30 Los presentes compuestos usados en la presente invención también pueden existir en sus formas estereoquímicamente isoméricas, que definen todos los posibles compuestos constituidos de los mismos átomos enlazados mediante la misma secuencia de enlaces pero que tienen estructuras tridimensionales diferentes, que no son intercambiables. A menos que se mencione o indique lo contrario, la designación química de compuestos engloba la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas posibles que dichos compuestos puedan poseer.

35 40 Dicha mezcla puede contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Se pretende que todas las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos usados en la presente invención, tanto en forma pura como en mezcla con las otras, estén abarcadas dentro del alcance de la presente invención, incluyendo cualquiera de las mezclas racémicas o racematos.

45 50 55 Las formas estereoisoméricas puras de los compuestos y los intermedios que se mencionan en el presente documento se definen como isómeros sustancialmente exentos de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o intermedios. En particular, la expresión "estereoisoméricamente puro" se refiere a compuestos o intermedios que tienen un exceso estereoisomérico de al menos un 80 % (es decir, un mínimo de un 90 % de un isómero y un máximo de un 10 % de los otros isómeros posibles) y hasta un exceso estereoisomérico de un 100 % (es decir, un 100 % de un isómero y nada de los demás), más concretamente, compuestos o intermedios que tienen un exceso estereoisomérico desde un 90 % hasta un 100 %, aún más concretamente que tienen un exceso estereoisomérico desde un 94 % hasta un 100 % y, aún más concretamente, que tienen un exceso estereoisomérico desde un 97 % hasta un 100 %. Las expresiones "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" se deben interpretar de un modo similar, pero haciendo referencia al exceso enantiomérico y el exceso diastereomérico de la mezcla en cuestión, respectivamente.

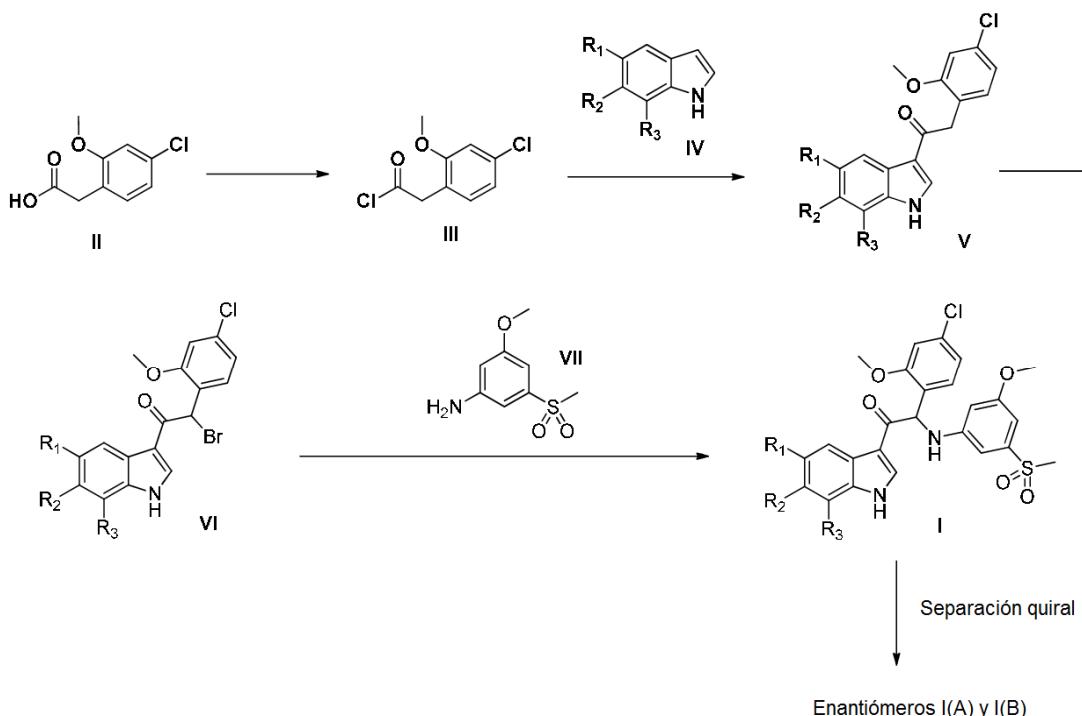
60 65 Pueden obtenerse formas estereoisoméricas puras de compuestos e intermedios usados en esta invención mediante la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los enantiómeros se pueden separar unos de otros mediante la cristalización selectiva de sus sales diastereoméricas con ácidos o bases ópticamente activos. Ejemplos de los mismos son ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido ditoluoiltartárico y ácido alcanforsulfónico. Como alternativa, los enantiómeros se pueden separar mediante técnicas cromatográficas utilizando fases estacionarias quirales. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden obtenerse a partir de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida adecuados, siempre que la reacción tenga lugar de manera estereoespecífica. Preferentemente, si se desea obtener un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizará mediante métodos de preparación estereoespecíficos. En estos métodos, se emplearán convenientemente materiales de partida enantioméricamente puros.

Enfoques sintéticos generales

70 La síntesis de compuestos de fórmula general I puede realizarse como se indica en el esquema 1. Puede convertirse ácido 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acético (II) en el cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo (III) correspondiente con un reactivo de cloración como, por ejemplo, cloruro de tionilo. La reacción de Friedel-Crafts del cloruro de ácido III con un indol sustituido de fórmula general IV puede realizarse usando un reactivo de ácido de Lewis como, por ejemplo, Et₂AlCl o TiCl₄, en un disolvente adecuado como, por ejemplo, CH₂Cl₂ o 1,2-dicloroetano, y en condiciones de reacción adecuadas que implican típicamente (pero no exclusivamente) refrigeración, para proporcionar el indol 3-aciulado de

5

fórmula general **V**. La introducción de un resto de anilina en posición alfa con respecto al resto carbonilo de los compuestos de fórmula **V** puede conseguirse mediante una secuencia de reacción que implica, por ejemplo, bromación de **V** con un reactivo como, por ejemplo, tribromuro de feniltrimetilamonio en un disolvente adecuado como, por ejemplo, THF, para proporcionar los compuestos de fórmula general **VI**, y reacción posterior de los compuestos de fórmula general **VI** con 3-metoxi-5-(metsulfonil)anilina (**VII**) en un disolvente adecuado como, por ejemplo, CH₃CN, y usando típicamente una base como, por ejemplo, TEA o DIPEA, para proporcionar los compuestos de fórmula general **I** como mezclas racémicas. La separación quiral de los compuestos de la fórmula general **I** puede realizarse mediante, por ejemplo, cromatografía quiral para proporcionar los enantiómeros **A** y **B** de fórmula general **I**.

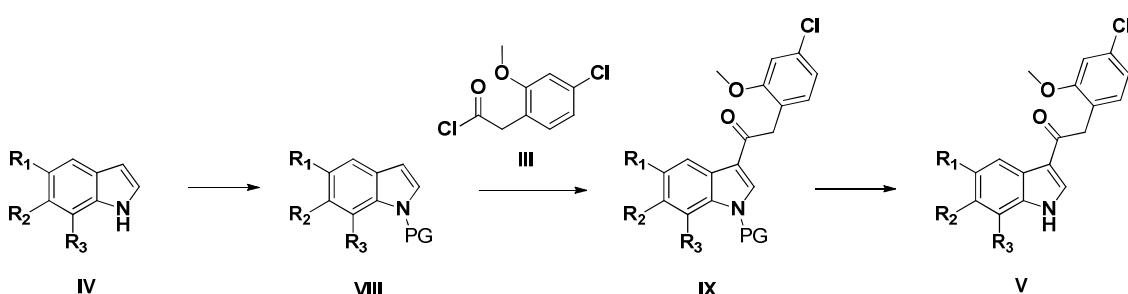


10

Esquema 1

15 En algunos casos, la síntesis del intermedio de fórmula general **V** mediante el enfoque de síntesis de Friedel-Crafts, se beneficia de la presencia de un grupo protector (PG) en el indol-N durante la etapa de reacción de Friedel-Crafts, como se indica en el esquema 2. A este fin, el indol sustituido de fórmula general **IV** puede convertirse en primer lugar en un intermedio N-protectido de fórmula general **VIII**, tal como, por ejemplo, un intermedio N-tosilado de fórmula general **VIII** (PG = Ts), usando un reactivo como, por ejemplo, cloruro de tosilo, en presencia de una base como, por ejemplo, hidruro de sodio. La reacción de Friedel-Crafts del indol sustituido de fórmula general **IV** con cloruro de ácido 20 **III** puede realizarse usando un reactivo de ácido de Lewis como, por ejemplo, Et₂AlCl o TiCl₄ en un disolvente adecuado como, por ejemplo, CH₂Cl₂ o 1,2-dicloroetano, y en condiciones de reacción adecuadas que implican típicamente (pero no exclusivamente) refrigeración, para proporcionar el indol 3-aciulado N-protectido de fórmula general **IX**. La retirada del grupo N protector de indol PG del intermedio de fórmula general **IX** puede conseguirse con un reactivo como, por ejemplo, LiOH (para PG = Ts) en una mezcla de disolventes como, por ejemplo, THF/agua y a una temperatura de reacción adecuada, para proporcionar el indol 3-aciulado de fórmula general **V**.

25

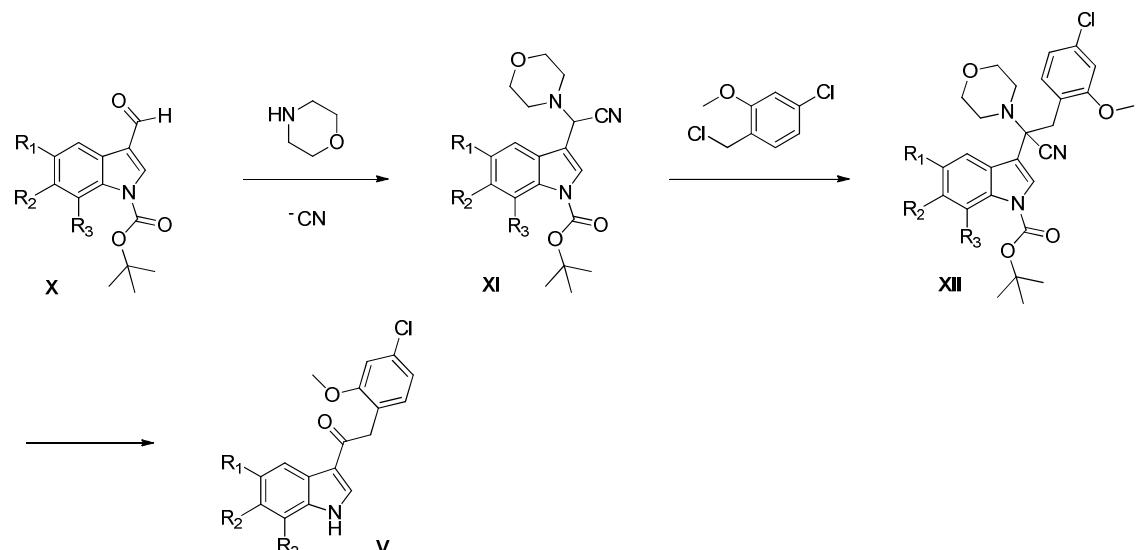


30

Como un enfoque alternativo, el intermedio de fórmula general **V** también puede prepararse como se indica en el

esquema 3: El indol-3-carbaldehído sustituido protegido con *N*-Boc de fórmula general **X** puede convertirse en el tipo de intermedio Strecker correspondiente de fórmula general **XI** mediante reacción con morfolina en presencia de reactivos como, por ejemplo, cianuro de sodio y bisulfito de potasio y en un disolvente adecuado como, por ejemplo, una mezcla de agua y un disolvente orgánico miscible en agua como, por ejemplo, dioxano. La alquilación del compuesto de fórmula general **XI** con cloruro de 4-cloro-2-metoxi-bencilo puede conseguirse en presencia de una base como, por ejemplo, hexametildisilazano de potasio y en un disolvente adecuado como, por ejemplo, DMF para proporcionar el compuesto de fórmula general **XII**. Someter el compuesto de fórmula general **XII** a una condición hidrolítica ácida acuosa como, por ejemplo, mediante tratamiento con una solución acuosa de ácido clorhídrico a temperatura elevada, proporciona el intermedio de fórmula general **V**.

10



Esquema 3

15 **Ejemplos**

Métodos de LC-MS

La medición por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) se llevó a cabo utilizando una bomba de LC, 20 un haz de diodos (DAD) o un detector de UV y una columna, según se especifique en los métodos respectivos. Cuando fue necesario, se incluyeron detectores adicionales (véase la tabla de los métodos que se presenta más adelante).

El flujo procedente de la columna se introdujo en un espectrómetro de masas (MS), que estaba configurado con una 25 fuente de iones a presión atmosférica. Un experto en la técnica será capaz de fijar los parámetros ajustables (p. ej., intervalo de barrido, tiempo de permanencia, etc.) para obtener iones que permitan identificar el peso molecular monoisotópico nominal del compuesto (PM). La adquisición de datos se llevó a cabo con el programa informático adecuado.

30 Los compuestos se describen según sus iones y tiempos de retención experimentales (T_R). Si no se especifica de otro modo en la tabla de datos, el ion molecular descrito corresponde a $[M+H]^+$ (molécula protonada) y/o $[M-H]^-$ (molécula desprotonada). En el caso de que el compuesto no se pueda ionizar directamente, se especifica el tipo de aducto (es decir, $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, etc.). Para moléculas con patrones isotópicos múltiples (Br, Cl), el valor indicado es el obtenido para la masa de isótopo más baja. Todos los resultados se obtuvieron con las incertidumbres experimentales 35 que se asocian habitualmente con el método utilizado.

35 En lo sucesivo en el presente documento, "SQD" significa detector de cuadrupolo único, "MSD" detector selectivo de masas, "TA" temperatura ambiente, "BEH" híbrido con puente de etilsiloxano/sílice, "DAD" detector de haz de diodos, "HSS" sílice de alta resistencia.

40 Códigos del método de LCMS (flujo expresado en ml/min; temperatura de la columna (T) en °C; tiempo de análisis en minutos)

Código del método	Instrumento	Columna	Fase móvil	Gradiente	Flujo T col.	Tiempo de análisis (min)
LC-A	Waters: Acquity® UPLC® -DAD-SQD	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1x50 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 10 mM en 95 % de H ₂ O + 5 % de CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Desde un 95 % de A hasta un 5 % de A en 1,3 min, se mantiene durante 0,7 min	0,8 ml/min 55 °C	2
LC-B	Waters: Acquity® UPLC® -DAD-SQD	Waters: HSS T3 (1,8 µm, 2,1x100 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 10 mM en 95 % de H ₂ O + 5 % de CH ₃ CN B: CH ₃ CN	Desde un 100 % A hasta un 5 % de A en 2,10 min, a 0 % A en 0,90 min, a 5 % A en 0,5 min	0,7 ml/min 55 °C	3,5
LC-C	Waters: Acquity® UPLC® - DAD-Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1x100 mm)	A: 95 % de CH ₃ COONH ₄ 7 mM / 5 % de CH ₃ CN, B: CH ₃ CN	84,2 % de A durante 0,49 min, a 10,5 % de A en 2,18 min, se mantiene durante 1,94 min, vuelta a 84,2 % de A en 0,73 min, se mantiene durante 0,73 min	0,343 ml/min 40 °C	6,2
LC-D	Waters: Detector Acquity® UPLC® - DAD- Acquity® TQ	Waters: BEH C18 (1,7 µm, 2,1x50 mm)	A: CH ₃ COONH ₄ 10 mM (ajustado a pH 10) B: CH ₃ CN	Desde un 50 % A hasta un 10 % de A en 3,5 min, se mantiene durante 1,5 min	0,5 ml/min 40 °C	5

Métodos de SFC-MS

- 5 La medición de SFC se realizó usando un sistema de cromatografía analítica de fluidos supercrtíticos (SFC) compuesto de una bomba binaria para liberar dióxido de carbono (CO₂) y un modificador, un tomamuestras automático, un horno de columna, un detector de haz de diodos equipado con una cubeta de flujo de alta presión que se mantiene a 400 bar. Si se configura con un espectrómetro de masas (MS), el flujo desde la columna se lleva al (MS). Un experto en la técnica será capaz de fijar los parámetros ajustables (p. ej., intervalo de barrido, tiempo de permanencia, etc.) para obtener iones que permitan identificar el peso molecular monoisotópico nominal del compuesto (PM). La adquisición de datos se llevó a cabo con el programa informático adecuado.
- 10

Métodos de SFC-MS analíticos (flujo expresado en ml/min; temperatura de la columna (T) en °C; tiempo de análisis en minutos, contrapresión (BPR) en bares.

15

Código del método	Columna	Fase móvil	Gradiente	Flujo T col.	Tiempo de análisis BPR
SFC-A	WHELK-O1 (S,S) 5 µm 250 x 4,6 mm Regis	A: CO ₂ B: MeOH	50 % de B mantenido 7 min,	3-35	7-100
SFC-B	columna Daicel Chiralpak® IC-H (5 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: MeOH	40 % de B mantenido 7 min,	3-35	7-100
SFC-C	WHELK-O1 (S,S) 5 µm 250 x 4,6 mm Regis	A: CO ₂ B: MeOH	60 % de B mantenido 9 min,	3-35	9-100
SFC-D	columna Daicel Chiralpak® IA-H (5 µm, 250 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: MeOH	50 % de B mantenido 7 min,	3-35	7-100

SFC-E	columna Daicel Chiralpak® AS3 (3,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: EtOH +0,2 % de iPrNH ₂ +3 % de H ₂ O	10 %-50 % de B en 6 min, mantenido 3,5 min	2,5-40	9,5-110
SFC-F	columna Daicel Chiralpak® AD-H (5,0 µm, 150 x 4,6 mm)	A: CO ₂ B: iPrOH +0,3 % de iPrNH ₂	30 % de B mantenido 7 min	3-35	7-100

Puntos de fusión

Los **valores son valores máximos** o intervalos de fusión, y se obtienen con incertidumbres experimentales que están comúnmente asociadas con este método analítico.

DSC823e (indicado como DSC)

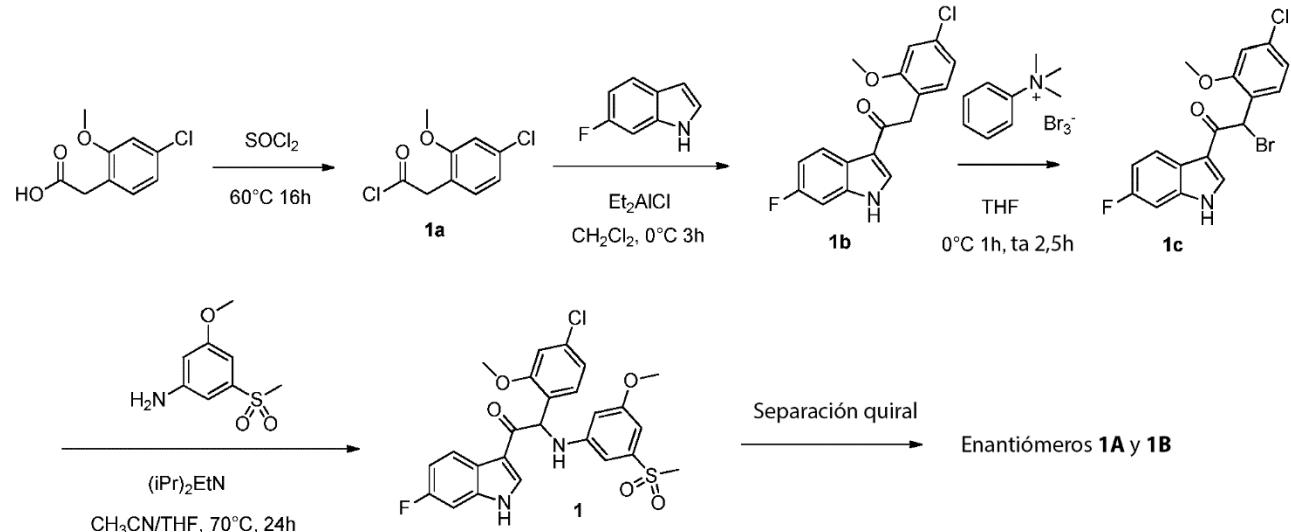
Para varios compuestos, los puntos de fusión se determinaron con un DSC823e (Mettler-Toledo). Se midieron los puntos de fusión con un gradiente de temperatura de 10 °C/minuto. La temperatura máxima fue 300 °C.

Rotaciones ópticas:

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro 341 de Perkin-Elmer con una lámpara de sodio y se presentan como se indica a continuación: $[\alpha]_D^T (\lambda, c \text{ g/100 ml, disolvente, } T \text{ }^\circ\text{C})$.

$[\alpha]_D^T = (100\alpha) / (l \times c)$: donde l es la longitud de recorrido dm y c es la concentración en g/100 ml para una muestra a una temperatura T (°C) y una longitud de onda λ (en nm). Si la longitud de onda de la luz utilizada es de 589 nm (la línea D del sodio), entonces podría utilizarse el símbolo D en su lugar. El signo de rotación (+ o -) debería proporcionarse siempre. Cuando se utiliza esta ecuación, la concentración y el disolvente siempre se proporcionan entre paréntesis después de la rotación. La rotación se indica utilizando grados y no se proporcionan unidades de concentración (se asume que son g/100 ml).

Ejemplo 1: Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **1**) y separación quiral en los enantiómeros **1A** y **1B**.



Síntesis del intermedio 1a:

Se añadió ácido 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acético [CAS 170737-95-8] (5,8 g, 28,9 mmol) en pequeñas porciones a cloruro de tionilo (50 ml) y la solución resultante se agitó durante una noche a 60 °C. El disolvente se concentró a presión reducida y se coevaporó con tolueno para dar cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (6,5 g) como un residuo oleoso que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Síntesis del intermedio 1b:

Se añadió gota a gota cloruro de dietilaluminio 1 M en hexano (37,1 ml, 37,1 mmol) a 0 °C, a una solución de 6-fluoro-

5 *1H*-indol [CAS 399-51-9] (3,34 g, 24,76 mmol) en CH_2Cl_2 (100 ml). Después de 30 min a 0 °C, se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (6,3 g, 28,76 mmol) en CH_2Cl_2 (100 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Se añadió agua enfriada con hielo y el precipitado se retiró por filtración, se lavó con agua y una pequeña cantidad de CH_2Cl_2 . Los sólidos se secaron al vacío a 70 °C durante una noche para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)etanona **1b** (4,9 g).

Síntesis del intermedio 1c:

10 A 0 °C, una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (5,8 g, 15,4 mmol) en THF (65 ml) se añadió gota a gota a una mezcla de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)etanona **1b** (4,9 g, 15,4 mmol) en THF (60 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 2,5 h. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con EtOAc. Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida. El residuo se recogió con EtOAc y se lavó con agua. Un precipitado apareció en la capa orgánica y se retiró por filtración y se secó para proporcionar un primer lote de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)etanona **1c** (4,6 g). La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se cristalizó en EtOAc, el precipitado se retiró por filtración, se lavó con Et_2O y se secó al vacío para proporcionar una segunda fracción de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)etanona **1c** (1,6 g).

15 Síntesis del compuesto 1 y separación quiral de los enantiómeros 1A y 1B:

20 Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)etanona **1c** (3 g, 7,56 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (2,28 g, 11,35 mmol) y diisopropiletilamina (1,95 ml, 11,35 mmol) en CH_3CN (60 ml) y THF (30 ml) se agitó a 70 °C durante 24 h. La reacción se diluyó con EtOAc. La capa orgánica se lavó con HCl 1 N (dos veces) y agua, se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el disolvente se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (15-40 μm , 80 g, fase móvil: 99,5/0,5 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Se realizó una segunda purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (15-40 μm , 80 g, fase móvil: 99,7/0,3 de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a presión reducida para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **1**, 2 g) como una mezcla racémica.

25 Los enantiómeros del compuesto **1** se separaron mediante SFC quiral (fase estacionaria: Chiralpak® AD-H 5 μm 20 x 250 mm, fase móvil: 50 % de CO_2 , 50 % de MeOH) produciendo 740 mg del primer enantiómero eluido y 720 mg del segundo enantiómero eluido. El primer enantiómero eluido se cristalizó en $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$. El precipitado se retiró por filtración y se secó para dar el enantiómero **1A** (645 mg). El segundo enantiómero eluido se cristalizó en $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Et}_2\text{O}$.
30 El precipitado se retiró por filtración y se secó para dar el enantiómero **1B** (632 mg).

35 Compuesto 1:

40 ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,24 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 (s, 2 H) 6,91 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,7$, 1,9 Hz, 1 H) 7,02 - 7,09 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,27 (dd, $J=9,5$, 1,9 Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H) 8,14 (dd, $J=8,7$, 5,5 Hz, 1 H) 8,44 (s, 1 H) 12,10 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,08 min, MH^+ 517

45 Punto de fusión: 174 °C

Enantiómero 1A:

50 ^1H RMN (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,24 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,59 (s, 2 H) 6,91 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,8$, 2,2 Hz, 1 H) 7,02 - 7,10 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=2,2$ Hz, 1 H) 7,27 (dd, $J=9,6$, 2,2 Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 8,14 (dd, $J=8,8$, 5,7 Hz, 1 H) 8,44 (s, 1 H) 12,10 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,09 min, MH^+ 517

55 $[\alpha]_D^{20}$: +130,3° (c 0,277, DMF)

SFC quiral (método SFC-D): T_R 3,41 min, MH^+ 517, pureza quiral 100 %.

60 Punto de fusión: 220 °C

Enantiómero 1B:

65 ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,24 (d, $J=7,6$ Hz, 1 H) 6,53 - 6,65 (m, 2 H) 6,91 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,6$, 2,0 Hz, 1 H) 7,01 - 7,09 (m, 2 H) 7,12 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,27 (dd, $J=9,6$, 2,0 Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 8,14 (dd, $J=8,6$, 5,6 Hz, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 12,09 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,09 min, MH^+ 517

$[\alpha]_D^{20}$: -135,3° (c 0,283, DMF)

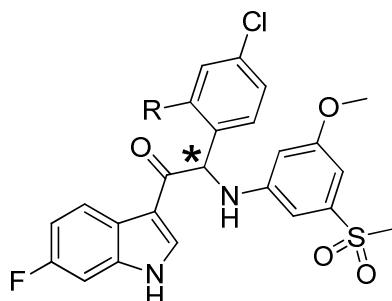
5 SFC quiral (método SFC-D): T_R 4,89 min, MH^+ 517, pureza quiral 99,35 %.

Punto de fusión: 218 °C

10 **Ejemplo 1.1:** Estabilidad quiral del enantiómero **1A** a pH 7,4

10 La estabilidad quiral del enantiómero **1A** ($R = OMe$) se evaluó por determinación del exceso enantiomérico (% ee) después de incubación durante 24 h y 48 h en una solución tamponada a pH 7,4 a 40 °C y 60 °C. Para evaluar la influencia del sustituyente metoxi del enantiómero **1A** ($R = OMe$) sobre la estabilidad frente a racemización, la estabilidad quiral del enantiómero **1'A** ($R = H$) se sometió a ensayo en las mismas condiciones. A este fin, se prepararon soluciones 5 μ M tamponadas (pH = 7,4) de **1A** y **1'A** mezclando 25 μ l de una solución 100 μ M de **1A** o **1'A** en DMSO con 475 μ l de tampón acuoso a pH 7,4. Las muestras se recogieron 24 h y 48 h después de la incubación a 40 °C y 60 °C. Las muestras analíticas se analizaron mediante SFC quiral (detección MS) y la pureza quiral se expresó como el exceso enantiomérico (% ee = % enantiómero A - % enantiómero B). Ambos enantiómeros **1A** y **1'A** tenían una pureza quiral del 100 % antes de su incubación.

20

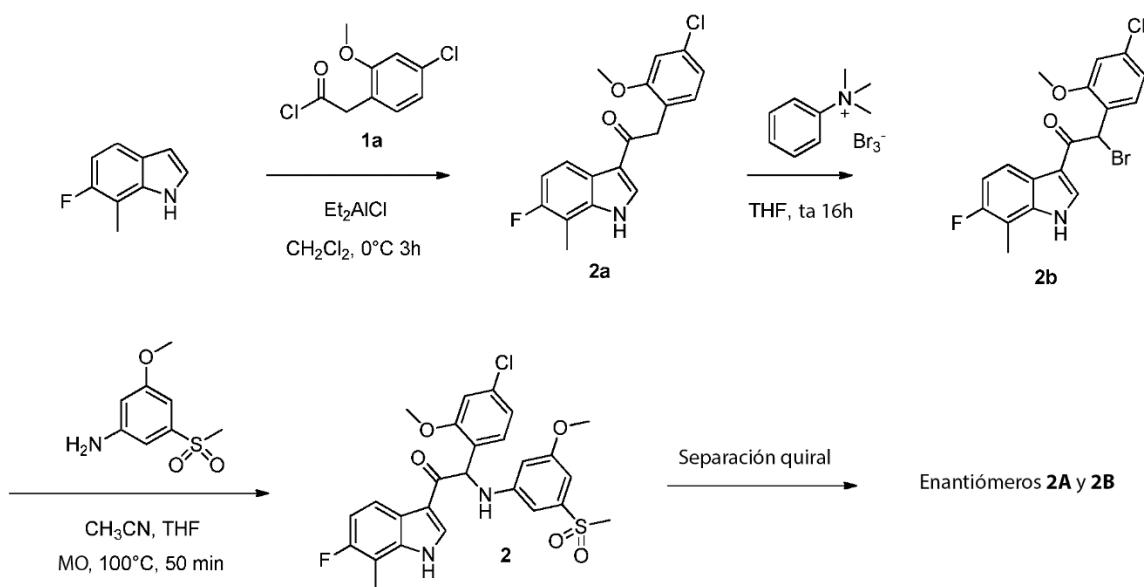


1A ($R = OMe$)
1'A ($R = H$)

Compuesto	Temperatura	% ee	
		Momentos temporales del muestreo (h)	
		24	48
1A	40 °C	100	100
	60 °C	95	88
1'A	40 °C	21	10
	60 °C	0	0

25 **Ejemplo 2:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-7-metil-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **2**) y separación quiral en los enantiómeros **2A** y **2B**.

25



Síntesis del intermedio 2a:

- 5 Se añadió gota a gota cloruro de dimetilaluminio 1 M en hexano (20 ml, 20,0 mmol) a 0 °C a una solución de 6-fluoro-7-metil-1H-indol [CAS 57817-10-4] (1,50 g, 10,1 mmol) en CH₂Cl₂ (45 ml). Después de 30 min a 0 °C, se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifénil)acetilo (3,30 g, 15,1 mmol, síntesis: véase ejemplo 1) en diclorometano (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Se añadió una solución 1 M de sal de La Rochelle (50 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los sólidos se retiraron por filtración y se repartieron entre EtOAc y HCl 1 N. Las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se trituró con EtOAc y heptano. El precipitado se retiró por filtración para dar 2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)etanona **2a** (2,00 g).
- 10 10 Se añadió gota a gota cloruro de dimetilaluminio 1 M en hexano (20 ml, 20,0 mmol) a 0 °C a una solución de 6-fluoro-7-metil-1H-indol [CAS 57817-10-4] (1,50 g, 10,1 mmol) en CH₂Cl₂ (45 ml). Después de 30 min a 0 °C, se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifénil)acetilo (3,30 g, 15,1 mmol, síntesis: véase ejemplo 1) en diclorometano (30 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Se añadió una solución 1 M de sal de La Rochelle (50 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Los sólidos se retiraron por filtración y se repartieron entre EtOAc y HCl 1 N. Las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se trituró con EtOAc y heptano. El precipitado se retiró por filtración para dar 2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)etanona **2a** (2,00 g).
- 15 15 Síntesis del intermedio 2b:

- Una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (2,49 g, 6,6 mmol) en THF (45 ml) se añadió gota a 0 °C a una solución de 2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)etanona **2a** (2,00 g, 6,0 mmol) en THF (65 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con EtOAc. Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida. El residuo se recogió con una cantidad mínima de acetonitrilo. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con acetonitrilo y se secó al vacío para dar un primer lote de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)etanona **2b** (1,51 g). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se recogió con una cantidad mínima de acetonitrilo. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con acetonitrilo y se secó al vacío para dar una segunda fracción de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)etanona **2b** (0,70 g).

Síntesis del compuesto 2 y separación quirala de los enantiómeros 2A y 2B:

- 30 Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)etanona **2b** (1,8 g, 4,36 mmol) y 3-metoxi-5-(methylsulfonyl)anilina [CAS 62606-02-4] (2,6 g, 13,0 mmol) en THF (9 ml) y CH₃CN (9 ml) se calentó a 100 °C en radiación de microondas durante 50 min. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl 1 N. Las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se recogió con una cantidad mínima de acetonitrilo. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con acetonitrilo y se secó al vacío para dar 2-(4-cloro-2-metoxifénil)-1-(6-fluoro-7-metil-1H-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(methylsulfonyl)fenil)amino)etanona (compuesto **2**, 1,7 g) como una mezcla racémica. La separación quirala de los enantiómeros del compuesto **2** (1,59 g) se realizó mediante SFC preparativa (fase estacionaria: (S,S)-Whelk-O1 5 µm 250 x 21,1 mm, fase móvil: 50 % de CO₂, 50 % de MeOH). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron a presión reducida. El primer enantiómero eluido (746 mg) se purificó adicionalmente por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 µm, 24 g, fase móvil: 99,5/0,5 de CH₂Cl₂/MeOH). Las fracciones se combinaron y se evaporaron a presión reducida (560 mg). El residuo se solidificó mediante trituración con una mezcla de Et₂O y unas pocas gotas de CH₃CN. Los sólidos se retiraron por filtración y se secaron al vacío para dar el enantiómero **2A** (473 mg). El segundo enantiómero eluido (732 mg) se purificó adicionalmente por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 µm, 24 g, fase móvil: 99,5/0,5 de CH₂Cl₂/MeOH). Las fracciones se combinaron y se evaporaron a presión reducida (550 mg). El residuo se solidificó mediante trituración con una mezcla de Et₂O y unas pocas gotas de CH₃CN. Los sólidos se retiraron por filtración y se secaron al vacío para dar el enantiómero **2B** (457 mg).

Compuesto 2:

5 ^1H RMN (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,38 (d, $J=1,5$ Hz, 3 H) 3,10 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,27 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,55 - 6,63 (m, 2 H) 6,93 (m, 1 H) 6,94 - 7,09 (m, 3 H) 7,13 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H) 7,97 (dd, $J=8,7, 5,3$ Hz, 1 H) 8,45 (s, 1 H) 12,23 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-D): T_R 1,68 min, MH^+ 531

10 Enantiómero 2A:

15 ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,37 - 2,39 (m, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,26 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,54 - 6,63 (m, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,4, 1,9$ Hz, 1 H) 7,02 (dd, $J=9,9, 9,0$ Hz, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,96 (dd, $J=8,5, 5,4$ Hz, 1 H) 8,45 (s, 1 H) 12,24 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,20 min, MH^+ 531

[α] $_D^{20}$: +104,5° (c 0,2545, DMF)

20 SFC quiral (método SFC-A): T_R 4,22 min, MH^+ 531, pureza quiral 100 %.

Enantiómero 2B:

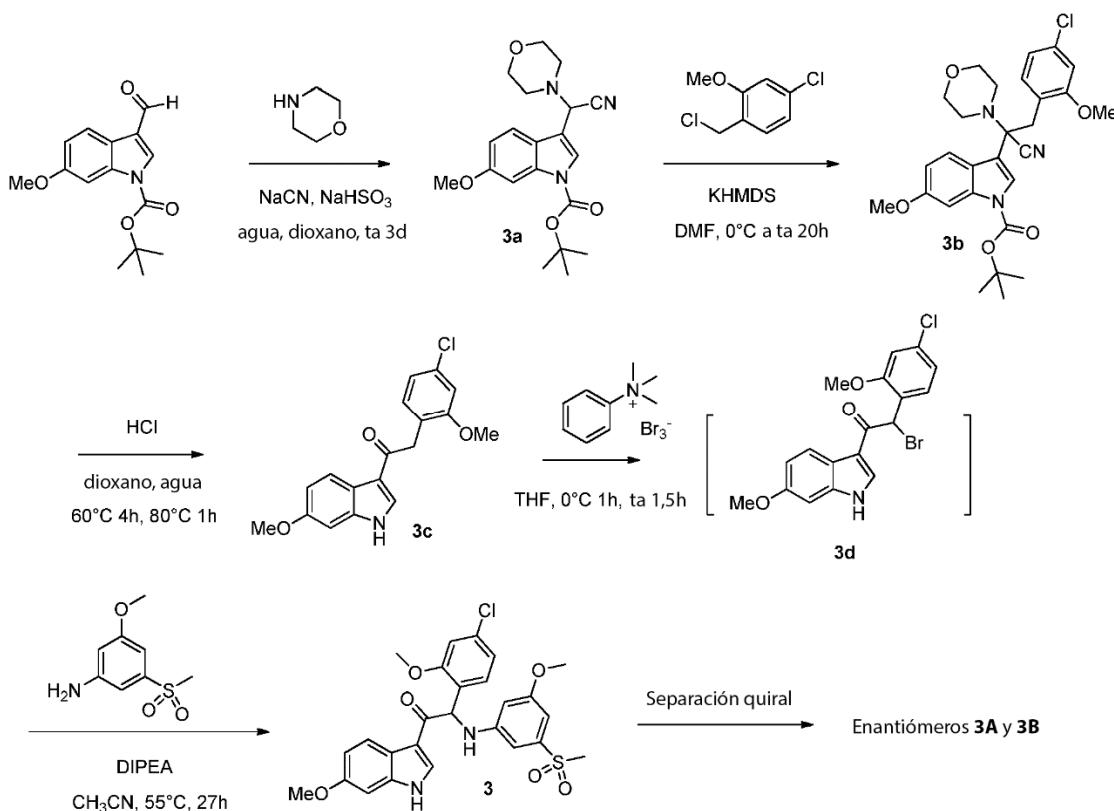
25 ^1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,36 - 2,41 (m, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,26 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,57 - 6,64 (m, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,2, 1,9$ Hz, 1 H) 6,99 - 7,04 (m, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 7,96 (dd, $J=8,7, 5,2$ Hz, 1 H) 8,45 (s, 1 H) 12,24 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,20 min, MH^+ 531

30 [α] $_D^{20}$: -104,1° (c 0,2536, DMF)

SFC quiral (método SFC-A): T_R 5,12 min, MH^+ 531, pureza quiral 99,53 %.

35 **Ejemplo 3:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto 3) y separación quiral en los enantiómeros **3A** y **3B**.



Síntesis del intermedio 3a:

Una solución de NaHSO₃ (5,7 g, 54,5 mmol) en agua (45 ml) se añadió a una solución en agitación de 3-formil-6-metoxi-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo [CAS 847448-73-1] (10 g, 36,3 mmol) en dioxano (45 ml). Después de 15 min, se añadió morfolina (4,8 ml, 54,5 mmol) y 35 min después, se añadió cianuro de sodio (NaCN) (1,96 g, 40 mmol). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 días, hasta que finalizó la reacción. El producto se retiró por filtración y se lavó con una mezcla 1/1 de dioxano/agua (3x 35 ml), y posteriormente con agua (3x 45 ml) y se secó al vacío a 60 °C. Los sólidos se agitaron en Et₂O (125 ml), se retiraron por filtración, se lavaron con Et₂O (3x) y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 3-(ciano(morfolino)metil)-6-metoxi-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo **3a** (12,3 g).

Síntesis del intermedio 3b:

Una mezcla de 3-(ciano(morfolino)metil)-6-metoxi-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo **3a** (6,0 g, 16,2 mmol) en DMF seca (80 ml) se agitó en una atmósfera de N₂ mientras se enfriaba en un baño de hielo. Se añadió gota a gota una solución de KHMDS 0,5 M en tolueno (35,5 ml, 17,8 mmol) durante 10 min. Después de agitar durante 10 min más, se añadió 4-cloro-1-(clorometil)-2-metoxibenceno [CAS 101079-84-9] (3,09 g, 16,2 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. La mezcla de reacción se vertió en agua fría (400 ml) y el producto se extrajo con Et₂O (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron, se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con xileno. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 120 g, fase móvil: heptano/EtOAc gradiente de 100/0 a 20/80). Las fracciones deseadas se combinaron, se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con dioxano para dar 3-(2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-ciano-1-morfolinoetil)-6-metoxi-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo **3b** (7,75 g).

Síntesis del intermedio 3c:

A una suspensión agitada de 3-(2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-ciano-1-morfolinoetil)-6-metoxi-1*H*-indol-1-carboxilato de *terc*-butilo **3b** (7,75 g, 14,7 mmol) en dioxano (40 ml) y agua (20 ml) se añadió una solución de HCl 6 M en isopropanol (36,8 ml, 220 mmol). La mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 4 h y posteriormente a 80 °C durante 1 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se dejó reposar durante 20 h para permitir la cristalización del producto de reacción. El producto se retiró por filtración, se lavó con una mezcla 1/1/1 de iPrOH/H₂O/dioxano (2x 15 ml) y se secó al vacío a 50 °C para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-1*H*-indol-3-il)etanona **3c** (3,67 g).

Síntesis del compuesto 3 y separación quiral de los enantiómeros 3A y 3B:

Una mezcla agitada de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-1*H*-indol-3-il)etanona **3c** (2 g, 6,07 mmol) en THF (80 ml) se enfrió en un baño de hielo en una atmósfera de N₂. Se añadió tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (2,39 g, 6,37 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h y posteriormente a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (3,66 g, 18,2 mmol) y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se disolvió en CH₃CN (100 ml). Se añadió diisopropiletilamina (2,09 ml, 12,1 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 55 °C durante 27 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se vertió en agua en agitación (400 ml). El producto se extrajo con 2-MeTHF (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo (8 g) se purificó por cromatografía ultrarrápida (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 120 g, fase móvil: heptano/EtOAc gradiente de 100/0 a 0/100). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo (5,4 g) se purificó por HPLC preparativa (fase estacionaria: RP XBridge® Prep C18 OBD - 10 µm, 50 x 150 mm, fase móvil: solución de NH₄HCO₃ al 0,25 % en agua, CH₃CN). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron a presión reducida y posteriormente se coevaporaron con MeOH. El residuo se cristalizó en una mezcla de EtOAc (15 ml), CH₃CN (2 ml) y MeOH (2 ml). Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron con EtOAc (3x) y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **3**, 681 mg) como una mezcla racémica.

La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **3** (0,63 g) se realizó mediante separación quiral en fase normal (fase estacionaria: AS 20 µM, fase móvil: 100 % de metanol). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron a presión reducida. El primer enantiómero eluido se purificó por cromatografía ultrarrápida (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 12 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH gradiente de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas se combinaron y se evaporaron, y se coevaporaron con EtOAc. El aceite restante se solidificó mediante agitación en H₂O (4 ml) y adición lenta de MeOH (1,6 ml). Después de agitar durante 20 minutos, el producto se retiró por filtración, se lavó (3x) con una mezcla 1/2 de MeOH/H₂O y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar el enantiómero **3A** (168 mg) como un sólido amorfo. El segundo enantiómero eluido se purificó por cromatografía ultrarrápida (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 12 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH gradiente de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas se combinaron, se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con EtOAc. La espuma restante se solidificó mediante agitación en H₂O (4 ml) y adición lenta de MeOH (2 ml). Después de agitar durante 15 minutos, el producto se retiró por filtración, se lavó (3x) con una mezcla 1/2 de MeOH/H₂O y se secó a 50 °C al vacío para proporcionar el enantiómero **3B** (146 mg) como un sólido amorfo.

Compuesto 3:

5 ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,21 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,54 - 6,64 (m, 2 H) 6,83 (dd, $J=8,7, 2,3$ Hz, 1 H) 6,91 (t, $J=1,4$ Hz, 1 H) 6,94 - 6,99 (m, 2 H) 7,04 (d, $J=7,7$ Hz, 1 H) 7,12 (d, $J=2,0$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 8,02 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 8,30 (s, 1 H) 11,84 (s, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,20 min, MH^+ 529

10 Enantiómero 3A:

15 ^1H RMN (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,22 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 6,55 - 6,61 (m, 2 H) 6,84 (dd, $J=8,8, 2,2$ Hz, 1 H) 6,91 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,94 - 7,00 (m, 2 H) 7,07 (d, $J=7,0$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 8,02 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 8,32 (d, $J=2,9$ Hz, 1 H) 11,87 (d, $J=2,6$ Hz, 1 H)

15 LC/MS (método LC-A): T_R 1,08 min, MH^+ 529

20 $[\alpha]_D^{20}$: +134,9° (c 0,545, DMF)

20 SFC quiral (método SFC-E): T_R 4,31 min, MH^+ 529, pureza quiral 100 %.

Enantiómero 3B:

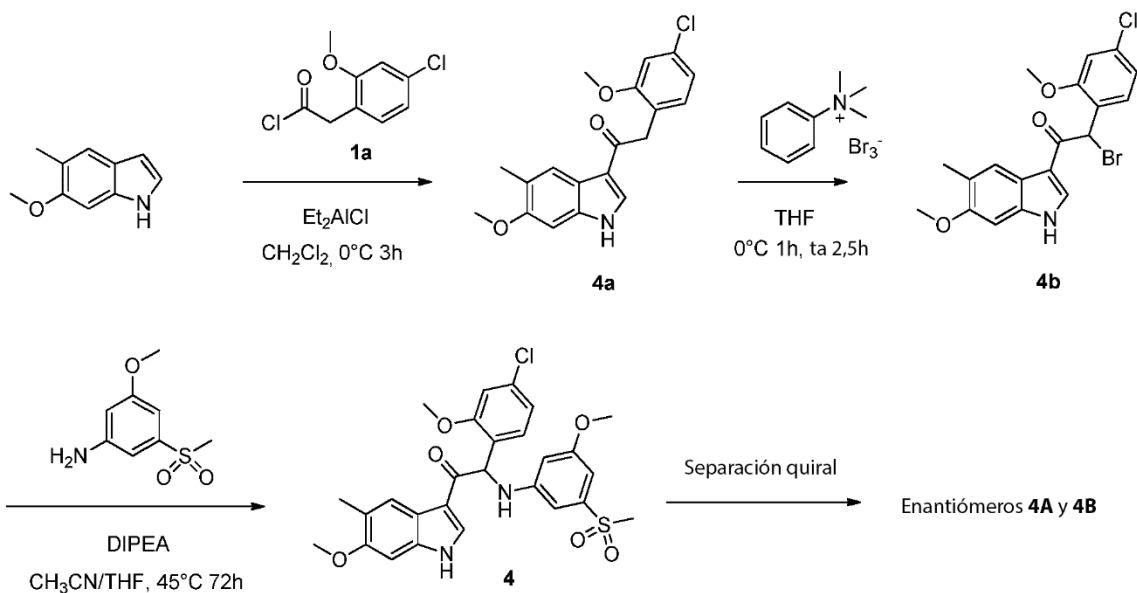
25 ^1H RMN (360 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,77 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,21 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 6,54 - 6,62 (m, 2 H) 6,83 (dd, $J=8,6, 2,4$ Hz, 1 H) 6,91 (t, $J=1,5$ Hz, 1 H) 6,94 - 6,99 (m, 2 H) 7,07 (d, $J=7,0$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=1,8$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H) 8,02 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H) 8,32 (d, $J=2,9$ Hz, 1 H) 11,87 (d a, $J=2,2$ Hz, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,08 min, MH^+ 529

30 $[\alpha]_D^{20}$: -116,7° (c 0,51, DMF)

SFC quiral (método SFC-E): T_R 4,63 min, MH^+ 529, pureza quiral 94,7 %.

35 **Ejemplo 4:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(6-metoxi-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto 4) y separación quiral en los enantiómeros 4A y 4B.



40 Síntesis del intermedio 4a:

Se añadió gota a gota cloruro de dimetilamonio 1 M en hexano (13,5 ml, 13,5 mmol) a 0 °C a una solución de 6-metoxi-5-metil-1*H*-indol [CAS 1071973-95-9] (1,45 g, 9 mmol) en CH_2Cl_2 (45 ml). Después de 30 min a 0 °C, se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (2,4 g, 10,9 mmol) en CH_2Cl_2 (45 ml) a 0 °C.

45 La reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Se añadió agua enfriada con hielo y el precipitado se retiró por filtración y se

lavó con agua. El sólido se secó al vacío para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **4a** (2,1 g).

Síntesis del intermedio 4b:

5 A 0 °C, se añadió gota a gota una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (2,4 g, 6,4 mmol) en THF (65 ml) a una mezcla de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **4a** (2,1 g, 6,1 mmol) en THF (60 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 2,5 h. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se recogió con la cantidad mínima de éter diisopropílico. El precipitado se retiró por filtración y se secó al vacío para dar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **4b** (2,36 g).

Síntesis del compuesto 4 y separación quiral de los enantiómeros 4A y 4B:

15 Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **4b** (4,0 g, 9,46 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (2,86 g, 14,2 mmol) y diisopropiletilamina (2,44 ml, 14,2 mmol) en CH₃CN/THF (1/1) (100 ml) se agitó a 45 °C durante 72 h. Los disolventes se retiraron a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc. La capa orgánica se lavó dos veces con HCl 1 N, se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El compuesto se cristalizó en CH₃CN/éter diisopropílico para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(6-metoxi-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **4**, 1,1 g) como una mezcla racémica. La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **4** se realizó mediante SFC quiral preparativa (fase estacionaria: (S,S)-Whelk-O1 5 µm 250 x 21,1 mm, fase móvil: 45 % de CO₂, 55 % de MeOH) produciendo 500 mg del primer enantiómero eluido y 531 mg del segundo enantiómero eluido. El primer enantiómero eluido se cristalizó en CH₃CN/Et₂O para proporcionar el enantiómero **4A** (401 mg). El segundo eluido se cristalizó en CH₃CN/Et₂O para proporcionar el enantiómero **4B** (396 mg).

Compuesto 4:

30 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,20 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,58 (s, 2 H) 6,88 - 6,93 (m, 2 H) 6,96 (dd, *J*=8,5, 1,9 Hz, 1 H) 7,02 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,24 (s, 1 H) 11,78 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,16 min, MH⁺ 543

35 Punto de fusión: 208 °C

Enantiómero 4A:

40 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,20 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 6,58 (d, *J*=1,6 Hz, 2 H) 6,87 - 6,93 (m, 2 H) 6,96 (dd, *J*=8,2, 1,9 Hz, 1 H) 7,02 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,89 (s, 1 H) 8,25 (s, 1 H) 11,78 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,15 min, MH⁺ 543

45 [α]_D²⁰: +141,8° (c 0,3936, DMF)

SFC quiral (método SFC-C): T_R 4,95 min, MH⁺ 543, pureza quiral 100 %.

Punto de fusión: 173 °C

50 Enantiómero 4B:

55 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,21 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,79 (s, 3 H) 4,01 (s, 3 H) 6,20 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,58 (s, 2 H) 6,88 - 6,93 (m, 2 H) 6,96 (dd, *J*=8,2, 1,9 Hz, 1 H) 7,02 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,90 (s, 1 H) 8,25 (s, 1 H) 11,79 (s a, 1 H)

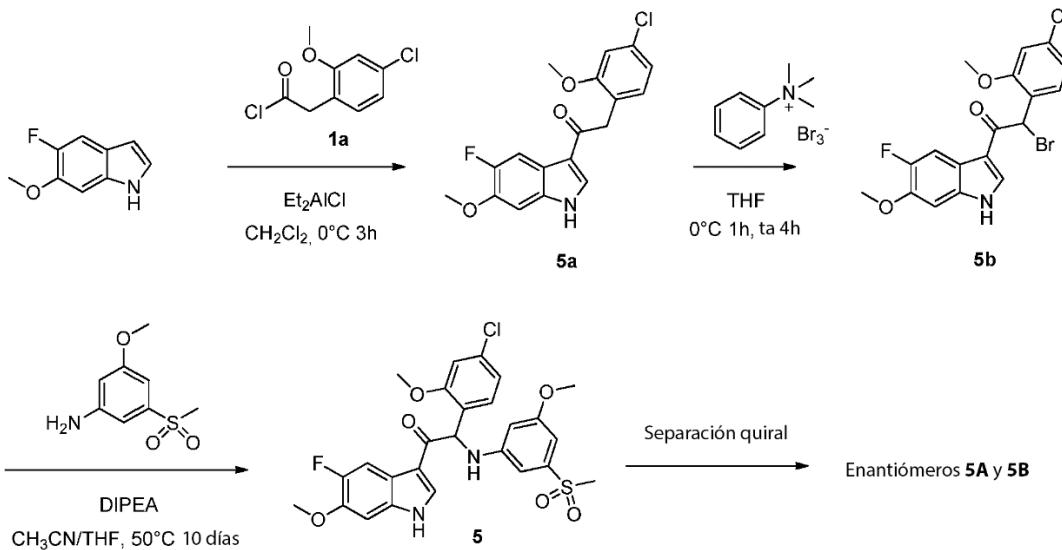
LC/MS (método LC-C): T_R 3,15 min, MH⁺ 543

60 [α]_D²⁰: -142,2° (c 0,3909, DMF)

SFC quiral (método SFC-C): T_R 6,84 min, MH⁺ 543, pureza quiral 100 %.

Punto de fusión: 174 °C

65 **Ejemplo 5:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-fluoro-6-metoxi-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **5**) y separación quiral en los enantiómeros **5A** y **5B**.



5 Síntesis del intermedio 5a:

Se añadió gota a gota cloruro de dimetilaluminio 1 M en hexano (15,7 ml, 15,7 mmol) a 0 °C a una solución de 5-fluoro-6-metoxi-1H-indol [CAS 1211595-72-0] (2 g, 12,1 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml). Después de 30 min a 0 °C, se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (3,2 g, 14,6 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 3 h. Se añadió agua enfriada con hielo y el precipitado se retiró por filtración, se lavó con agua y la cantidad mínima de CH₂Cl₂. El sólido se secó al vacío para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-fluoro-6-metoxi-1H-indol-3-il)etanona **5a** (2,82 g).

15 Síntesis del intermedio 5b:

A 0 °C, una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (3,5 g, 8,1 mmol) en THF (20 ml) se añadió gota a gota a una solución de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-fluoro-6-metoxi-1H-indol-3-il)etanona **5a** (2,82 g, 8,1 mmol) en THF (46 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 4 h. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con EtOAc. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se recogió con la cantidad mínima de EtOAc. El precipitado se retiró por filtración y se secó al vacío para dar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-fluoro-6-metoxi-1H-indol-3-il)etanona **5b** (2,5 g).

25 Síntesis del compuesto 5 y separación quiral de los enantiómeros 5A y 5B:

Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-fluoro-6-metoxi-1H-indol-3-il)etanona **5b** (2,5 g, 5,86 mmol), 3-metoxi-5-(methylsulfonyl)anilina [CAS 62606-02-4] (1,415 g, 7,03 mmol) y diisopropiletilamina (1,515 ml, 8,79 mmol) en CH₃CN (55 ml) y THF (100 ml) se agitó a 50 °C durante 10 días. Se eliminaron los disolventes a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (15-40 µm, 80 g, fase móvil: CH₂Cl₂/CH₃OH 99,25/0,75). Las fracciones puras se combinaron y se evaporaron. El compuesto se disolvió en EtOAc y se agitó con HCl 1 N durante 15 min. Apareció un precipitado y se retiró por filtración y se secó al vacío para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-fluoro-6-metoxi-1H-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(methylsulfonyl)fenil)amino)etanona (compuesto **5**, 1,3 g) como una mezcla racémica.

35 La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **5** se realizó mediante SFC quiral preparativa (fase estacionaria: Chiralpak® IC 5 µm 250 x 20 mm, fase móvil: 55 % de CO₂, 45 % de MeOH). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron. El primer enantiómero eluido se solidificó por trituración con heptano/éter diisopropílico. Los sólidos se retiraron por filtración y se secaron al vacío para proporcionar el enantiómero **5A** (502 mg) como un polvo amorfo de color blanco. El segundo enantiómero eluido se solidificó por trituración con heptano/éter diisopropílico. Los sólidos se retiraron por filtración y se secaron al vacío para proporcionar el enantiómero **5B** (490 mg) como un polvo amorfo de color blanco.

40 Compuesto 5:

45 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,21 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,58 (d, *J*=1,3 Hz, 2 H) 6,90 (s, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,2, 1,9 Hz, 1 H) 7,06 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,10 - 7,18 (m, 2 H) 7,34 (d, *J*=8,2 Hz, 1 H) 7,82 (d, *J*=12,0 Hz, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,98 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,01 min, MH^+ 547

Punto de fusión: 182 °C

5

Enantiómero 5A:

10 1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,21 (d, J =7,9 Hz, 1 H) 6,58 (d, J =1,3 Hz, 2 H) 6,90 (s, 1 H) 6,97 (dd, J =8,2, 2,0 Hz, 1 H) 7,07 (d, J =7,9 Hz, 1 H) 7,11 - 7,17 (m, 2 H) 7,34 (d, J =8,2 Hz, 1 H) 7,82 (d, J =11,7 Hz, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,98 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,00 min, MH^+ 547

15 $[\alpha]_D^{20}$: +136,4° (c 0,28, DMF)

15

SFC quiral (método SFC-B): T_R 3,43 min, MH^+ 547, pureza quiral 100 %.

Enantiómero 5B:

20 1H RMN (500 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,85 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,21 (d, J =7,9 Hz, 1 H) 6,58 (d, J =1,3 Hz, 2 H) 6,90 (s, 1 H) 6,97 (dd, J =8,2, 2,0 Hz, 1 H) 7,07 (d, J =7,9 Hz, 1 H) 7,11 - 7,19 (m, 2 H) 7,34 (d, J =8,2 Hz, 1 H) 7,82 (d, J =11,7 Hz, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,95 (s a, 1 H)

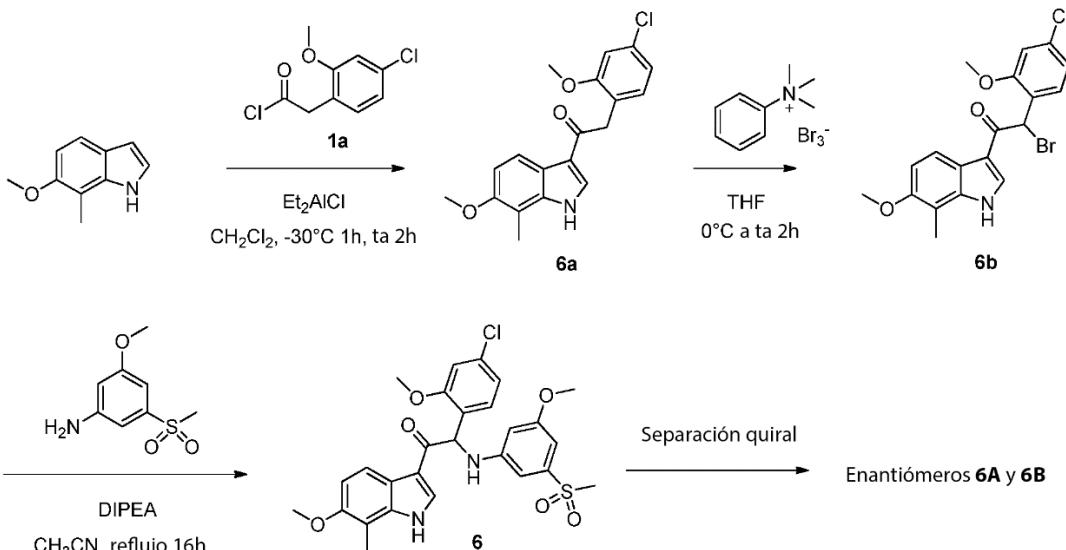
LC/MS (método LC-C): T_R 3,00 min, MH^+ 547

25

$[\alpha]_D^{20}$: -126,3° (c 0,2755, DMF)

SFC quiral (método SFC-B): T_R 4,80 min, MH^+ 547, pureza quiral 98,06 %.

30 **Ejemplo 6:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(6-metoxi-7-metil-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **6**) y separación quiral en los enantiómeros **6A** y **6B**.



35

Síntesis del intermedio 6a:

40 Se añadió gota a gota cloruro de dietilaluminio 1 M en hexano (32,8 ml, 32,8 mmol) a una solución enfriada (-30 °C) de 6-metoxi-7-metil-1*H*-indol [CAS 19500-05-1] (3,53 g, 21,9 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml). Despues de agitar durante 15 min a -30 °C, se añadió lentamente una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (6,71 g, 30,6 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml) a -30 °C. La reacción se agitó a -30 °C durante 1 h y se dejó calentar hasta temperatura ambiente mientras se agitaba durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo/sal de La Rochelle. La mezcla se filtró sobre un lecho corto de dicalite® y la torta de filtro se enjuagó varias veces con THF. Se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con THF. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, agua, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo sólido se suspendió en CH_2Cl_2 (50 ml) y los sólidos se retiraron por filtración y se lavaron con una pequeña cantidad de CH_2Cl_2 y se secaron al vacío a 50 °C para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-7-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **6a** (6,85 g) como un sólido

blanquecino.

Síntesis del intermedio 6b:

5 A 0 °C, una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (8,2 g, 21,8 mmol) en THF (150 ml) se añadió gota a gota a una solución de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-7-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **6a** (6,8 g, 19,8 mmol) en THF (250 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con THF. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se cristalizó en CH₂Cl₂. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con CH₂Cl₂ (2x) y se secó al vacío a 50 °C para dar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-7-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **6b** (5,38 g).

Síntesis del compuesto 6 y separación quiral de los enantiómeros 6A y 6B:

15 Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-7-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **6b** (1,96 g, 4,65 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (1,40 g, 6,97 mmol) y diisopropiletilamina (1,20 ml, 6,97 mmol) en CH₃CN (50 ml) se calentó durante una noche a reflujo. Se eliminaron los disolventes a presión reducida. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ y se lavó con HCl 0,5 N y agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (fase estacionaria: Biotage® SNAP Ultra 100 g, fase móvil: EtOAc:EtOH(3:1)/heptano gradiente de 0/100 a 50/50). Las fracciones se combinaron y se evaporaron a presión reducida para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(6-metoxi-7-metil-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **6**, 1,0 g) como una mezcla racémica.

20 La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **6** (1,0 g) se realizó mediante SFC quiral preparativa (fase estacionaria: Chiralcel® Diacel OD 20 x 250 mm, fase móvil: CO₂, EtOH que contenía un 0,2 % de *i*PrNH₂). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron. El primer enantiómero eluido se solidificó por trituración con una mezcla de MeOH/agua (1/1). Los sólidos se retiraron por filtración y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar el enantiómero **6A** (368 mg) como un polvo amorfo de color blanco. El segundo enantiómero eluido se solidificó por trituración con una mezcla de MeOH/agua (1/1). Los sólidos se retiraron por filtración y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar el enantiómero **6B** (303 mg) como un polvo amorfo de color blanco.

30 Enantiómero 6A:

35 ¹H RMN (360 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 3,10 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 4,02 (s, 3 H) 6,24 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,56 - 6,59 (m, 1 H) 6,59 - 6,62 (m, 1 H) 6,92 (t, *J*=1,6 Hz, 1 H) 6,93 - 6,99 (m, 2 H) 7,06 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,8 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,94 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 11,91 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,18 min, MH⁺ 543

40 [α]_D²⁰: +122,9° (c 0,48, DMF)

45 SFC quiral (método SFC-E): T_R 4,15 min MH⁺ 543, pureza quiral 100 %.

Enantiómero 6B:

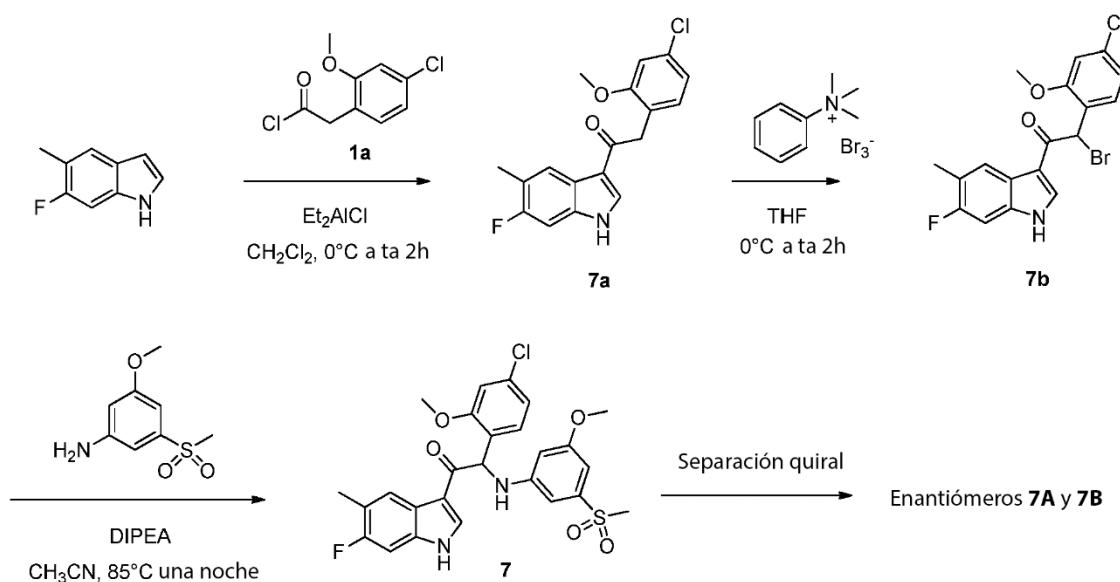
50 ¹H RMN (360 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,29 (s, 3 H) 3,10 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,80 (s, 3 H) 4,02 (s, 3 H) 6,24 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,57 - 6,59 (m, 1 H) 6,59 - 6,62 (m, 1 H) 6,92 (t, *J*=1,8 Hz, 1 H) 6,93 - 7,00 (m, 2 H) 7,06 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,8 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,94 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 8,35 (d, *J*=2,2 Hz, 1 H) 11,91 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,22 min, MH⁺ 543

55 [α]_D²⁰: -120,6° (c 0,2755, DMF)

SFC quiral (método SFC-E): T_R 4,50 min, MH⁺ 543, pureza quiral 99,35 %.

55 **Ejemplo 7:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **7**) y separación quiral en los enantiómeros **7A** y **7B**.



Síntesis del intermedio 7a:

- 5 Una solución de 6-fluoro-5-metil-1*H*-indol [CAS 162100-95-0] (1,7 g, 11,4 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de N₂. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de dietilaluminio 1 M en hexano (17,1 ml, 17,1 mmol) y la mezcla resultante se mantuvo a 0 °C durante 15 min. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (3,50 g, 16 mmol) en CH₂Cl₂ (50 ml). Se continuó agitando a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se vertió en una solución en agitación de hielo/sal de La Rochelle. Después de haberse fundido el hielo, la mezcla se filtró sobre dicalite® y la torta de filtro se lavó varias veces con THF. Los filtrados se combinaron. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo sólido se suspendió en CH₂Cl₂ (30 ml), el precipitado se retiró por filtración y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **7a** (2,76 g).
- 10
- 15

Síntesis del intermedio 7b:

- Una solución en agitación de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **7a** (2,76 g, 8,32 mmol) en THF (350 ml) se enfrió hasta 0 °C. Se añadió gota a gota una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (3,44 g, 9,15 mmol) en THF (50 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h y a temperatura ambiente durante 2 h. Los sólidos se retiraron por filtración y se lavaron con THF. Los filtrados combinados se evaporaron a presión reducida. El residuo se mezcló con EtOAc (50 ml). Los sólidos se aislaron por filtración, se lavaron con una pequeña cantidad de EtOAc y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **7b** (3,21 g) como un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Síntesis del compuesto 7 y separación quiral de los enantiómeros 7A y 7B:

- Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indol-3-il)etanona **7b** (1,6 g, 3,90 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (1,18 g, 5,84 mmol) y diisopropiletilamina (671 µl, 3,90 mmol) en CH₃CN (100 ml) se agitó durante una noche a 85 °C. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con HCl 1 N (100 ml) y agua (100 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 120 g, fase móvil: EtOAc:EtOH(3:1)/heptano gradiente de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo se precipitó en CH₂Cl₂/heptano. Los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con CH₂Cl₂/heptano (1/1). El producto en bruto se purificó por HPLC preparativa (fase estacionaria: Uptisphere® C18 ODB - 10 µm, 200 g, 5 cm, fase móvil: solución de NH₄HCO₃ al 0,25 % en agua, CH₃CN). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron a presión reducida. El residuo sólido se mezcló con EtOAc (20 ml) y los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con una pequeña cantidad de EtOAc para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-fluoro-5-metil-1*H*-indol-3-il)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)etanona (compuesto **7**, 341 mg) como una mezcla racémica. El filtrado se evaporó a presión reducida y el residuo se recogió con MeOH. Después de agitar durante 30 min, los sólidos se aislaron por filtración para proporcionar un segundo cultivo del compuesto **7** (92 mg).
- 40
- 45
- La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **7** (402 mg) se realizó mediante separación quiral en fase normal (fase estacionaria: (S,S)-Whelk-O1, fase móvil: 100 % de metanol). Las fracciones de producto se combinaron

y se evaporaron para proporcionar el enantiómero **7A** como el primer producto eluido y el enantiómero **7B** como el segundo producto eluido. El enantiómero **7A** se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 12 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo se trituró con H₂O (1,75 ml) y MeOH (0,75 ml).

- 5 Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron (2x) con H₂O/MeOH 7/3, y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar el enantiómero **7A** (48 mg). El enantiómero **7B** se purificó adicionalmente por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 12 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo se trituró con H₂O (1,75 ml) y MeOH (0,75 ml). Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron (2x) con H₂O/MeOH 7/3, y se secaron al
- 10 vacío a 50 °C para proporcionar el enantiómero **7B** (43 mg).

Compuesto 7:

15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (d, *J*=0,9 Hz, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,54 - 6,63 (m, 2 H) 6,92 (t, *J*=1,5 Hz, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,3, 1,9 Hz, 1 H) 7,01 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=1,8 Hz, 1 H) 7,22 (d, *J*=10,2 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 8,02 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 8,37 (s, 1 H) 11,97 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,19 min, MH⁺ 531

20 Enantiómero 7A:

1H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (d, *J*=1,5 Hz, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,56 - 6,60 (m, 2 H) 6,91 (t, *J*=1,7 Hz, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,3, 2,1 Hz, 1 H) 7,01 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,22 (d, *J*=10,1 Hz, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 8,02 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 8,37 (s, 1 H) 11,96 (s, 1 H)

25 LC/MS (método LC-A): T_R 1,15 min, MH⁺ 531

[α]_D²⁰: -163,2° (c 0,435, DMF)

30 SFC quiral (método SFC-E): T_R 4,26 min, MH⁺ 531, pureza quiral 100 %.

Enantiómero 7B:

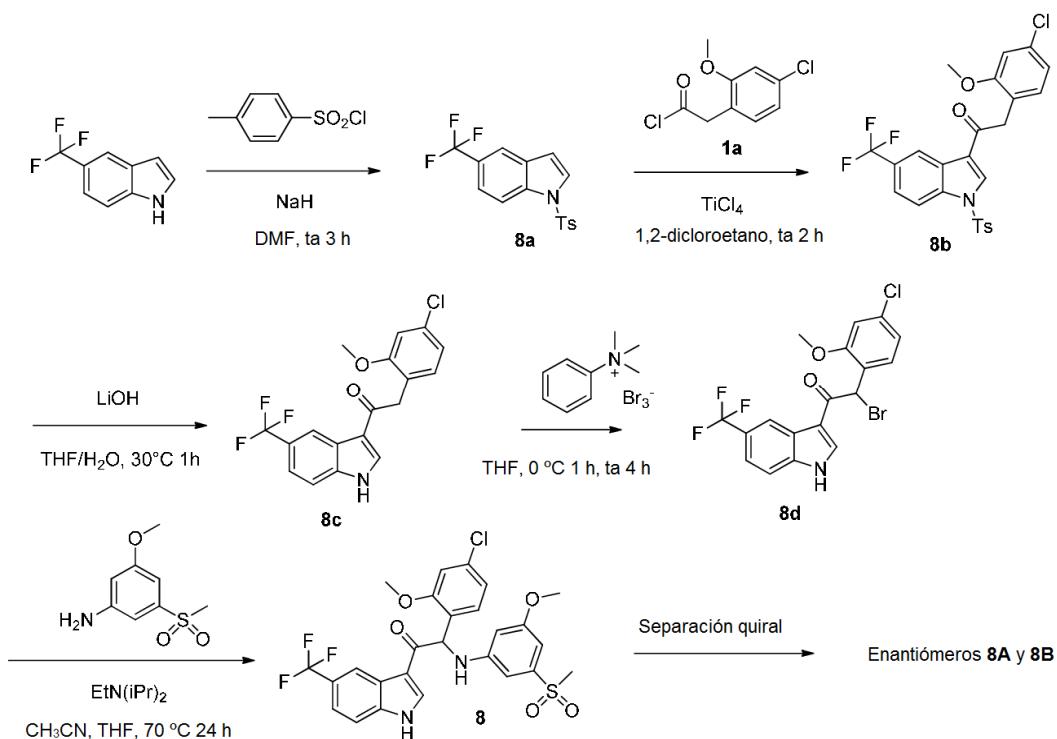
35 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,30 (d, *J*=1,5 Hz, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,57 - 6,61 (m, 2 H) 6,92 (t, *J*=1,8 Hz, 1 H) 6,97 (dd, *J*=8,1, 2,0 Hz, 1 H) 7,01 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 7,12 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,22 (d, *J*=10,0 Hz, 1 H) 7,35 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 8,02 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 8,37 (d, *J*=2,4 Hz, 1 H) 11,97 (s, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,15 min, MH⁺ 531

40 [α]_D²⁰: +166,6° (c 0,5, DMF)

SFC quiral (método SFC-E): T_R 3,78 min, MH⁺ 531, pureza quiral 100 %.

45 **Ejemplo 8:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(5-(trifluorometil)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **8**) y separación quiral en los enantiómeros **8A** y **8B**.



Síntesis del intermedio 8a:

5 A 0 °C, en un flujo de N₂, se añadió en porciones hidruro de sodio (2,48 g, 64,8 mmol) a una mezcla de 5-(trifluorometil)-1H-indol [CAS 100846-24-0] (10 g, 54,0 mmol) en DMF (150 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min. Se añadió en porciones una solución de cloruro de tosilo (11,3 g, 59,4 mmol) en DMF (50 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. A 0 °C, la mezcla se inactivó mediante la adición de agua. El precipitado se retiró por filtración y se secó durante una noche al vacío a 70 °C para dar 1-tosil-5-(trifluorometil)-1H-indol **8a** (18,4 g).

Síntesis del intermedio 8b:

15 Se añadió gota a gota cloruro de titanio (IV) (2,4 ml, 21,9 mmol), a temperatura ambiente, a una solución de 1-tosil-5-(trifluorometil)-1H-indol **8a** (3,7 g, 10,95 mmol) y cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (4,8 g, 21,9 mmol, síntesis: véase el ejemplo 1) en 1,2-dicloroetano (120 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió agua enfriada con hielo. Se extrajo la mezcla de reacción con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (15-40 µm, 80 g, fase móvil: CH₂Cl₂/MeOH 99,5/0,5). Las fracciones que contenían el compuesto **8b** se combinaron y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se recogió con CH₃CN/éter diisopropílico. El precipitado se retiró por filtración y se secó para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(1-tosil-5-(trifluorometil)-1H-indol-3-il)etanona **8b** (2,8 g).

Síntesis del intermedio 8c:

25 Se añadió hidróxido de litio (0,64 g, 15,3 mmol) a una solución de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(1-tosil-5-(trifluorometil)-1H-indol-3-il)etanona **8b** (3,2 g, 6,13 mmol) en THF (18 ml) y agua (6 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 1 h. Se añadieron agua y EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El sólido se recogió con éter diisopropílico. El precipitado se retiró por filtración y se secó para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometil)-1H-indol-3-il)etanona **8c** (2,1 g).

Síntesis del intermedio 8d:

35 A 0 °C, una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (2,1 g, 5,7 mmol) en THF (60 ml) se añadió gota a gota a una mezcla de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometil)-1H-indol-3-il)etanona **8c** (2,15 g, 5,7 mmol) en THF (60 ml). La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 4 h. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con EtOAc. Los filtrados combinados se concentraron a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se recogió con éter diisopropílico. El precipitado se retiró por filtración y se secó para dar 2-bromo-

2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometil)-1*H*-indol-3-il)etanona **8d** (2,5 g).

Síntesis del compuesto 8 y separación quiral en los enantiómeros 8A y 8B:

- 5 Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometil)-1*H*-indol-3-il)etanona 8d (1 g, 2,24 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (496 mg, 2,46 mmol) y diisopropiletilamina (0,38 ml, 2,24 mmol) en CH₃CN (50 ml) y THF (25 ml) se agitó a 70 °C durante 24 h. La solución se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en EtOAc y la solución se lavó con HCl 1 N. La capa orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El compuesto se cristalizó en éter diisopropílico/CH₃CN para dar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(5-(trifluorometil)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **8**, 310 mg) como una mezcla racémica. Los enantiómeros del compuesto **8** se separaron mediante SFC quiral preparativa (fase estacionaria: Chiralpak® AD-H 5 µm 250 x 20 mm, fase móvil: 70 % de CO₂, 30 % de *i*PrOH +0,3 % de *i*PrNH₂) para dar, después de cristalización en éter de petróleo/éter diisopropílico, 122 mg del primer enantiómero **8A** eluido y 128 mg del segundo enantiómero **8B** eluido.

15 Compuesto 8:

20 ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,10 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,29 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,56 - 6,62 (m, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,4, 2,0 Hz, 1 H) 7,09 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,9 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 7,54 (dd, *J*=8,5, 1,6 Hz, 1 H) 7,69 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 8,61 (s, 1 H) 12,45 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,19 min, MH⁺ 567

25 Punto de fusión: 168 °C

30 Enantiómero 8A:

35 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,29 (d, *J*=7,6 Hz, 1 H) 6,60 (s a, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,3, 1,8 Hz, 1 H) 7,07 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=1,5 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,54 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,69 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 8,60 (s, 1 H) 12,41 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-C): T_R 3,25 min, MH⁺ 567

35 [α]_D²⁰: -119,2° (c 0,2727, DMF)

40 SFC quiral (método SFC-F): T_R 2,64 min, MH⁺ 567, pureza quiral 100 %.

Enantiómero 8B:

45 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,29 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 6,60 (s, 2 H) 6,92 (s, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,6, 2,0 Hz, 1 H) 7,07 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 7,54 (dd, *J*=8,6, 1,5 Hz, 1 H) 7,69 (d, *J*=8,6 Hz, 1 H) 8,49 (s, 1 H) 8,60 (s, 1 H) 12,40 (s a, 1 H)

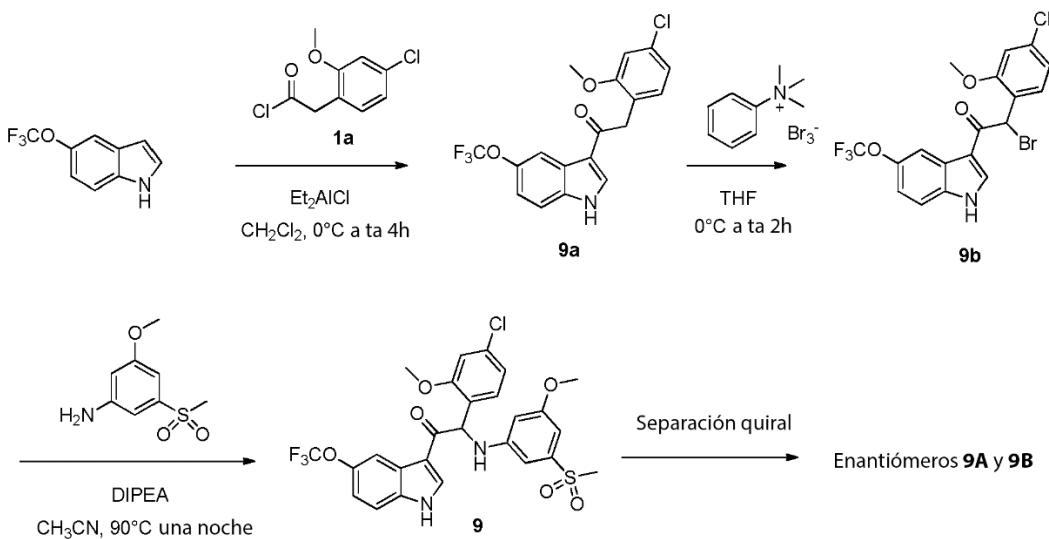
LC/MS (método LC-C): T_R 3,25 min, MH⁺ 567

45 [α]_D²⁰: +125,1° (c 0,2455, DMF)

50 SFC quiral (método SFC-F): T_R 3,44 min, MH⁺ 567, pureza quiral 100 %.

55 Por motivos ilustrativos, la síntesis del compuesto 9, que no forma parte de esta invención, se muestra a continuación como ejemplo 9.

Ejemplo 9: Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **9**) y separación quiral en los enantiómeros **9A** y **9B**.



Síntesis del intermedio 9a:

- 5 Una solución de 5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol [CAS 262593-63-5] (3 g, 14.9 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de N₂. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de dietilaluminio 1 M en hexano (22,4 ml, 22,4 mmol) y la mezcla resultante se mantuvo a 0 °C durante 15 min. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (4,57 g, 20,9 mmol) en CH₂Cl₂ (100 ml). Se continuó agitando a 0 °C durante 1 h y posteriormente la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se vertió en una solución en agitación de hielo/sal de La Rochelle. Después de haberse fundido el hielo, la mezcla se filtró sobre dicalite® y la torta de filtro se lavó varias veces con THF. Los filtrados se combinaron. Las capas se separaron y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se trituró con CH₂Cl₂ (50 ml). El precipitado resultante se retiró por filtración y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **9a** (4,39 g).
- 10 15 Una solución en agitación de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **9a** (4,39 g, 11,4 mmol) en THF (200 ml) se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución de tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (4,73 g, 12,6 mmol) en THF (100 ml). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Los sólidos se retiraron por filtración y se lavaron con THF. Los filtrados combinados se evaporaron a presión reducida. El residuo se mezcló con EtOAc (30 ml). Los sólidos se aislaron por filtración, se lavaron con una pequeña cantidad de EtOAc y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **9b** (5,0 g) como un sólido de color blanco, que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Síntesis del intermedio 9b:

- 20 Una solución en agitación de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **9a** (4,39 g, 11,4 mmol) en CH₃CN (100 ml) se agitó durante una noche a 90 °C. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con HCl 1 N (100 ml) y agua (100 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 120 g, fase móvil: EtOAc:EtOH(3:1)/heptano gradiente de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo se precipitó en EtOAc (10 ml) mientras se agitaba. Los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con una pequeña cantidad de EtOAc para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **9**, 477 mg) como una mezcla racémica. El filtrado se evaporó a presión reducida y el residuo se recogió con EtOAc (5 ml). Despues de agitar durante una noche, los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con EtOAc para proporcionar un segundo cultivo del compuesto **9** (216 mg). La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **9** (663 mg) se realizó mediante separación quiral en fase normal (fase estacionaria: AS 20 µm, fase móvil: 100 % de metanol). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron para proporcionar el enantiómero **9A** como el primer producto eluido y el enantiómero **9B** como el segundo producto eluido. El enantiómero **9A** se agitó en H₂O (2 ml) y MeOH (3 ml) a 40 °C. Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron (3x) con H₂O/MeOH 1/1 y se secaron al vacío a 45 °C para proporcionar el enantiómero **9A** (151 mg). El enantiómero **9B** se purificó adicionalmente por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 12 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas se combinaron, se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron

Síntesis del compuesto **9** y separación quiral de los enantiómeros **9A** y **9B**:

- 30 Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **9b** (2,5 g, 5,40 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (1,49 g, 7,38 mmol) y diisopropiletilamina (931 µl, 5,40 mmol) en CH₃CN (100 ml) se agitó durante una noche a 90 °C. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (100 ml), se lavó con HCl 1 N (100 ml) y agua (100 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 120 g, fase móvil: EtOAc:EtOH(3:1)/heptano gradiente de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo se precipitó en EtOAc (10 ml) mientras se agitaba. Los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con una pequeña cantidad de EtOAc para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **9**, 477 mg) como una mezcla racémica. El filtrado se evaporó a presión reducida y el residuo se recogió con EtOAc (5 ml). Despues de agitar durante una noche, los sólidos se aislaron por filtración y se lavaron con EtOAc para proporcionar un segundo cultivo del compuesto **9** (216 mg). La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **9** (663 mg) se realizó mediante separación quiral en fase normal (fase estacionaria: AS 20 µm, fase móvil: 100 % de metanol). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron para proporcionar el enantiómero **9A** como el primer producto eluido y el enantiómero **9B** como el segundo producto eluido. El enantiómero **9A** se agitó en H₂O (2 ml) y MeOH (3 ml) a 40 °C. Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron (3x) con H₂O/MeOH 1/1 y se secaron al vacío a 45 °C para proporcionar el enantiómero **9A** (151 mg). El enantiómero **9B** se purificó adicionalmente por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 12 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas se combinaron, se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron

con EtOAc. El residuo se agitó en MeOH (5 ml) y se precipitó mediante adición lenta de H₂O (4 ml). Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron (3x) con H₂O/MeOH 1/1 y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar el enantiómero **9B** (132 mg).

5 Compuesto 9:

10 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,26 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,57 - 6,62 (m, 2 H) 6,91 (t, *J*=1,9 Hz, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,4, 2,0 Hz, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,22 (dd, *J*=8,6, 2,2 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 8,06 (d, *J*=0,9 Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 12,28 (s a, 1 H)

10 LC/MS (método LC-A): T_R 1,31 min, MH⁺ 583

Enantiómero 9A:

15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,26 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,55 - 6,62 (m, 2 H) 6,91 (t, *J*=1,5 Hz, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,4, 2,0 Hz, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,21 (dd, *J*=8,8, 1,8 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 8,07 (d, *J*=0,9 Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 12,29 (s a, 1 H)

20 LC/MS (método LC-A): T_R 1,20 min, MH⁺ 583

20 [α]_D²⁰: +130,3° (c 0,555, DMF)

25 SFC quiral (método SFC-E): T_R 3,10 min, MH⁺ 583, pureza quiral 100 %.

25 Enantiómero 9B:

30 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,73 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,26 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 6,56 - 6,62 (m, 2 H) 6,92 (t, *J*=2,0 Hz, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,1, 2,0 Hz, 1 H) 7,07 (d, *J*=7,9 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,22 (dd, *J*=8,8, 1,8 Hz, 1 H) 7,36 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 7,59 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H) 8,07 (d, *J*=0,9 Hz, 1 H) 8,55 (s, 1 H) 12,30 (s a, 1 H)

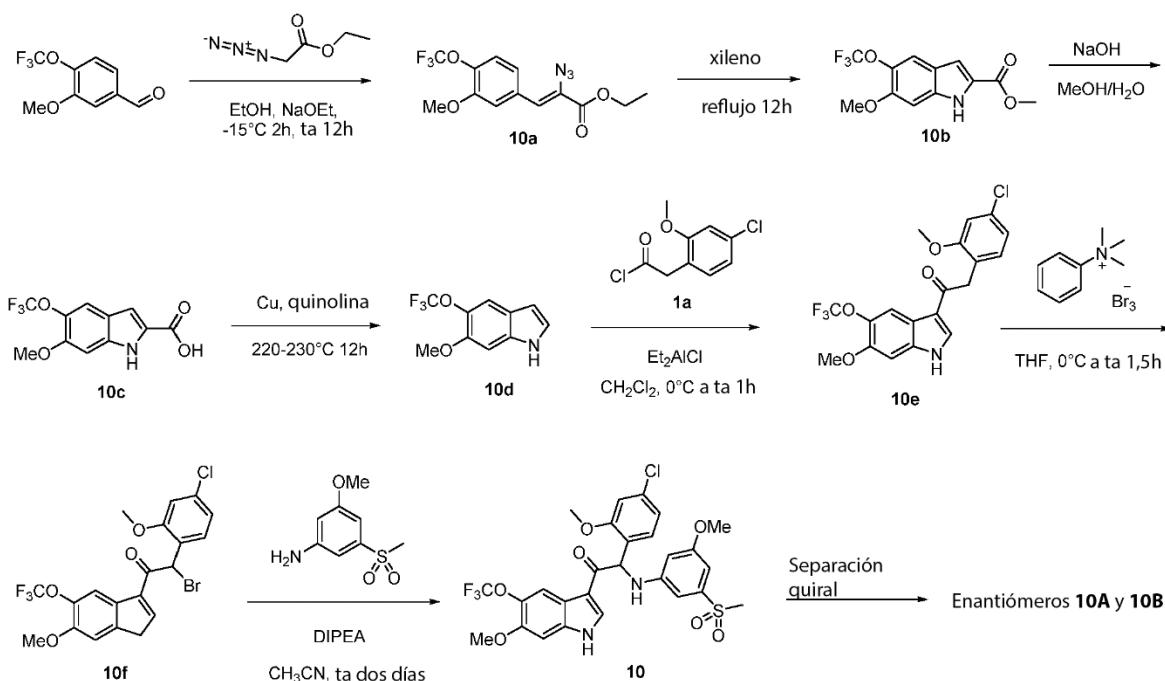
30 LC/MS (método LC-A): T_R 1,20 min, MH⁺ 583

30 [α]_D²⁰: -133,2° (c 0,5, DMF)

35 SFC quiral (método SFC-E): T_R 3,50 min, MH⁺ 583, pureza quiral 100 %.

Ejemplo 10: Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **10**) y separación quiral en los enantiómeros **10A** y **10B**.

40



Síntesis del intermedio 10a:

A una solución enfriada (-15 °C) de 3-metoxi-4-(trifluorometoxi)benzaldehído [CAS 853771-90-1] (50 g, 230 mmol) y azidoacetato de etilo (89 g, 690 mmol) en EtOH (400 ml) se añadió gota a gota, durante un periodo de 2 h, una solución de NaOEt (0,69 mol, preparada a partir de 15,9 g de Na y 700 ml de EtOH). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después de enfriar en un baño de hielo, la reacción se interrumpió con una solución saturada de NH₄Cl (1,2 l) y se agitó durante 10 min. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con agua y se agitó para dar 2-azido-3-(3-metoxi-4-(trifluorometoxi)fenil)acrilato de (Z)-etilo **10a** (32 g) como un sólido amarillento.

Síntesis del intermedio 10b:

Una solución de 2-azido-3-(3-metoxi-4-(trifluorometoxi)fenil)acrilato de (Z)-etilo **10a** (3 g, 10 mmol) en xileno (40 ml) se calentó a refluro durante una noche. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, el disolvente se evaporó a sequedad. El residuo se trituró con hexano (50 ml) y el precipitado se retiró por filtración para proporcionar 6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-2-carboxilato de metilo **10b** (rendimiento: 1,4-1,6 g) como un sólido de color amarillo.

Síntesis del intermedio 10c:

A una mezcla de 6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-2-carboxilato de metilo **10b** (25 g, 87 mmol) en MeOH/H₂O (2/1, 300 ml) se añadió NaOH (7 g, 175 mmol) y la mezcla se calentó a refluro hasta que se obtuvo una solución transparente. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mayoría del metanol se retiró a presión reducida y la solución acuosa restante se acidificó con HCl conc. a pH 3-4. El producto se extrajo con EtOAc (2x 250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron y se evaporaron a presión reducida para dar ácido 6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-2-carboxílico **10c** (22,7 g) como un sólido de color gris.

Síntesis del intermedio 10d:

Una suspensión de ácido 6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-2-carboxílico **10c** (7,5 g, 27 mmol) y Cu (1,22 g, 0,7 equiv.) en quinolina (150 ml) se calentó hasta 220-230 °C en una atmósfera inerte durante 12 h. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con éter metil *terc*-butílico (MTBE, 400 ml) y se lavó con una solución acuosa saturada de NaHSO₄ (2x 500 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró a través de un lecho corto de gel de sílice y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna para proporcionar 6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol **10d** (3,75 g) como un sólido de color amarillo.

Síntesis del intermedio 10e:

Una solución de 6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol **10d** (1,61 g, 6,96 mmol) en CH₂Cl₂ (150 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de N₂. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de dietilaluminio 1 M en hexano (10,4 ml, 10,4 mmol) y la mezcla resultante se mantuvo a 0 °C durante 30 min. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (2,28 g, 10,4 mmol) en CH₂Cl₂ (75 ml). Se continuó agitando a 0 °C durante 1 h y a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se añadió gota a gota una solución de tetrahidrato de tartrato de sodio y potasio (sal de La Rochelle, 3,93 g, 13,9 mmol) en agua (6 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C. Se añadió THF (200 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Se añadió Na₂SO₄ (25 g), la mezcla se agitó durante una noche, se filtró sobre dicalite® y la torta de filtro se lavó varias veces con THF (4x 150 ml). Los filtrados se combinaron y se evaporaron a presión reducida. El residuo sólido se agitó en una mezcla de éter diisopropílico (25 ml) y EtOAc (2 ml). Los sólidos se retiraron por filtración, se lavaron con DIPE (3x) y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **10e** (3,6 g).

Síntesis del intermedio 10f:

Una solución en agitación de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **10e** (3,6 g, 6,53 mmol) en THF (130 ml) se enfrió hasta 0 °C, en una atmósfera de N₂. Se añadió tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (2,58 g, 6,85 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 45 min y a temperatura ambiente durante 1,5 h. Los sólidos se retiraron por filtración y se lavaron con THF (2x). Los filtrados combinados se evaporaron a presión reducida para proporcionar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **10f** (4,16 g), que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Síntesis del compuesto 10 y separación quiral de los enantiómeros 10A y 10B:

Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **10f** (4,16 g, 6,50 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (2,62 g, 13,0 mmol) y diisopropiletilamina (2,24 ml, 13,0 mmol) en CH₃CN se agitó a temperatura ambiente durante 2 días en una atmósfera de N₂. Se añadió agua (250 ml) y el producto se extrajo con Et₂O (2x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (fase estacionaria: Grace Reveleris® sílice 100 g, fase móvil: heptano/EtOAc/EtOH gradiente de 100/0/0 a 40/45/15). Las fracciones deseadas

se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (fase estacionaria: RP XBridge® Prep C18 OBD - 10 μ m, 50 x 150 mm, fase móvil: solución de NH₄HCO₃ al 0,25 % en agua, CH₃CN). Las fracciones deseadas se combinaron y evaporaron a presión reducida. El residuo, que contenía 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(6-metoxi-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona racémica (compuesto **10**, 380 mg), se sometió a separación quiral mediante SFC preparativa (fase estacionaria: Chiralpak® Diacel AS 20 x 250 mm, fase móvil: CO₂, EtOH + 0,4 % de iPrNH₂). Las fracciones de producto se combinaron, se evaporaron a presión reducida y se coevaporaron con MeOH para proporcionar el enantiómero **10A** como el primer producto eluido y el enantiómero **10B** como el segundo producto eluido. Ambos enantiómeros se precipitaron en una mezcla de disolventes de MeOH y agua, se retiraron por filtración y se secaron a 50 °C al vacío para proporcionar el enantiómero **10A** (135 mg) y el enantiómero **10B** (144 mg).

Enantiómero **10A**:

15 ¹H RMN (360 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,55 - 6,59 (m, 2 H) 6,88 - 6,91 (m, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,1, 1,8 Hz, 1 H) 7,08 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,2 Hz, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H) 8,02 (d, *J*=1,5 Hz, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 12,05 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-A): *T_R* 1,20 min, MH⁺ 613

20 $[\alpha]_D^{20}$: +81,4° (c 0,29, DMF)

SFC quiral (método SFC-E): *T_R* 3,34 min, MH⁺ 613, pureza quiral 100 %.

Enantiómero **10B**:

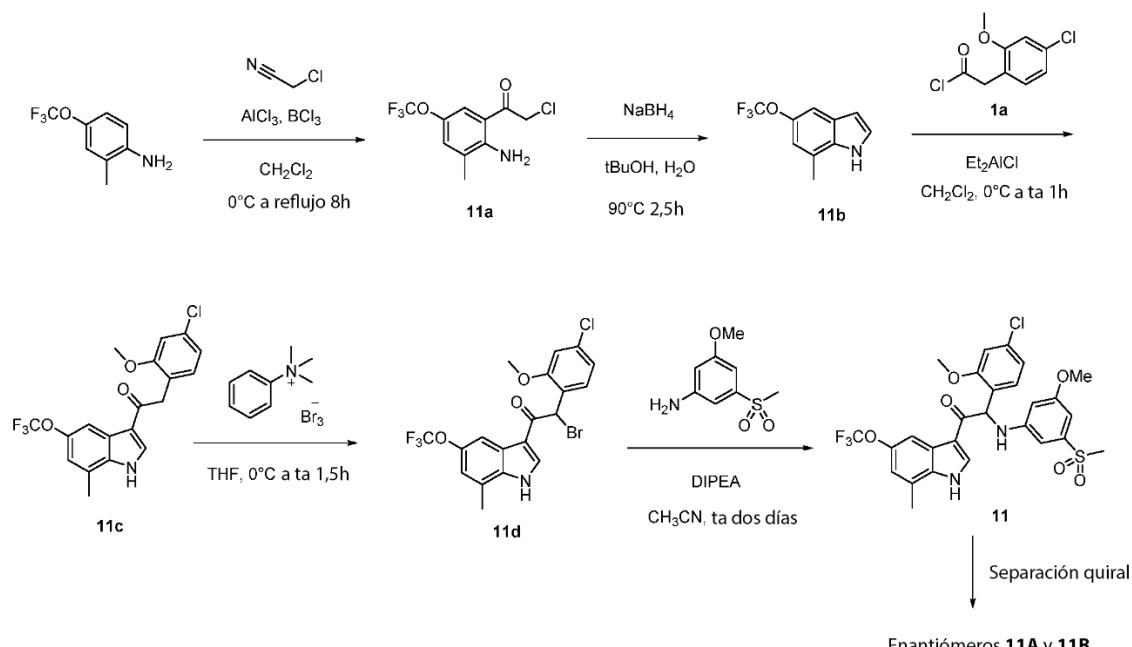
25 ¹H RMN (360 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 3,87 (s, 3 H) 3,99 (s, 3 H) 6,22 (d, *J*=7,7 Hz, 1 H) 6,55 - 6,60 (m, 2 H) 6,90 (t, *J*=1,6 Hz, 1 H) 6,98 (dd, *J*=8,2, 2,0 Hz, 1 H) 7,08 (d, *J*=7,8 Hz, 1 H) 7,13 (d, *J*=2,2 Hz, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 7,34 (d, *J*=8,4 Hz, 1 H) 8,01 (d, *J*=1,1 Hz, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 12,08 (s a, 1 H)

30 LC/MS (método LC-A): *T_R* 1,20 min, MH⁺ 613

$[\alpha]_D^{20}$: -99,6° (c 0,261, DMF)

SFC quiral (método SFC-E): *T_R* 3,69 min, MH⁺ 613, pureza quiral 100 %.

35 **Ejemplo 11:** Síntesis de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona (compuesto **11**) y separación quiral en los enantiómeros **11A** y **11B**.



Síntesis del intermedio 11a:

Una mezcla de cloruro de boro (III) 1 M en CH_2Cl_2 (25,5 ml, 25,5 mmol) y cloruro de aluminio (III) (3,40 g, 25,5 mmol) se diluyó con CH_2Cl_2 (20 ml) y se enfrió en un baño de hielo en una atmósfera de N_2 . Se añadió gota a gota una solución de 2-metil-4-(trifluorometoxi)anilina [CAS 86256-59-9] (4,88 g, 25,5 mmol) y cloroacetonitrilo (3,24 ml, 51,0 mmol) en CH_2Cl_2 (7,5 ml). Después de la adición, el baño de hielo se retiró y la mezcla se calentó a reflujo durante 8 h. La mezcla se enfrió de nuevo hasta 0 °C usando un baño de hielo. Se añadió gota a gota HCl 2 N (75 ml), provocando una precipitación pesada. La suspensión resultante se calentó a reflujo durante 90 min, y se enfrió hasta temperatura ambiente. Los sólidos se retiraron por filtración. La torta de filtro se lavó con CH_2Cl_2 (4x). Los filtrados se combinaron y las fases se separaron. La capa orgánica se aisló, se lavó con una solución acuosa de NaHCO_3 , se secó sobre MgSO_4 , se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (fase estacionaria: Biotage® SNAP Ultra sílice 100 g, fase móvil: heptano/ CH_2Cl_2 gradiente de 100/0 a 0/100). Las fracciones deseadas se combinaron y se concentraron a un volumen residual de 30 ml. El precipitado se retiró por filtración, se lavó con heptano y CH_2Cl_2 , y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar 1-(2-amino-3-metil-5-(trifluorometoxi)fenil)-2-cloroetanona **11a** (1,37 g). El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo sólido se agitó en una mezcla de heptano (20 ml) y éter diisopropílico (3 ml), se retiró por filtración, se lavó con heptano (3x) y se secó al vacío a 50 °C para proporcionar una segunda fracción de **11a** (0,24 g).

Síntesis del intermedio 11b:

Se añadió borohidruro de sodio (326 mg, 8,61 mmol) a una solución en agitación de 1-(2-amino-3-metil-5-(trifluorometoxi)fenil)-2-cloroetanona **11a** (1,92 g, 7,17 mmol) en *terc*-butanol (50 ml) y agua (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min y a 90 °C durante 2,5 h. Se añadió agua (50 ml) y el producto se extrajo con éter dietílico (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (fase estacionaria: Biotage® SNAP Ultra sílice 25 g, fase móvil: heptano/ EtOAc gradiente de 100/0 a 20/80). Las fracciones deseadas se combinaron, se concentraron a presión reducida, se coevaporaron con heptano y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol **11b** (1,2 g).

Síntesis del intermedio 11c:

Una solución agitada mecánicamente de 7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol **11b** (1,5 g, 6,97 mmol) en CH_2Cl_2 (100 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de N_2 . Se añadió gota a gota una solución de cloruro de dietilaluminio 1 M en hexano (10,5 ml, 10,5 mmol) y la mezcla resultante se mantuvo a 0 °C durante 25 min. Se añadió gota a gota una solución de cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo **1a** (2,29 g, 10,5 mmol) en CH_2Cl_2 (40 ml) mientras se mantenía la temperatura de reacción por debajo de 6 °C. Se continuó agitando a 0 °C durante 1 h y posteriormente la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se añadió gota a gota una solución de sal de La Rochelle [CAS 6100-16-9] (3,94 g, 13,9 mmol) en agua (4 ml). Después de agitar durante 1 h, la mezcla de reacción se filtró sobre dicalite® y la torta de filtro se lavó con THF (5x 100 ml). Los filtrados combinados se evaporaron a presión reducida. El residuo se solidificó después de reposar durante una noche. Los sólidos se agitaron en CH_3CN (5 ml), se retiraron por filtración, se lavaron con CH_3CN (3x 1,5 ml) y se secaron al vacío a 50 °C para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **11c** (1,9 g).

Síntesis del intermedio 11d:

Una solución agitada de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **11c** (2,13 g, 5,35 mmol) en THF (80 ml) se enfrió hasta 0 °C, en una atmósfera de N_2 . Se añadió tribromuro de feniltrimetilamonio [CAS 4207-56-1] (2,11 g, 5,62 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 40 min y a temperatura ambiente durante 2 h. Los sólidos se retiraron por filtración y se lavaron con THF (2x). Los filtrados combinados se evaporaron a presión reducida para proporcionar 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **11d** (3,45 g), que se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Síntesis del compuesto 11 y separación quiral de los enantiómeros 11A y 11B:

Una mezcla de 2-bromo-2-(4-cloro-2-metoxifenil)-1-(7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona **11d** (3,45 g, 6,87 mmol), 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina [CAS 62606-02-4] (2,76 g, 13,7 mmol) y diisopropiletilamina (2,37 ml, 13,7 mmol) en CH_3CN (60 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 días en una atmósfera de N_2 . Se añadió agua (125 ml) y el producto se extrajo con Et_2O (2x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (fase estacionaria: RP XBridge® Prep C18 OBD - 10 μm , 50 x 150 mm, fase móvil: solución de NH_4HCO_3 al 0,25 % en agua, CH_3CN). Las fracciones que contenían producto se combinaron y se evaporaron a presión reducida para proporcionar 2-(4-cloro-2-metoxifenil)-2-((3-metoxi-5-(metilsulfonil)fenil)amino)-1-(7-metil-5-(trifluorometoxi)-1*H*-indol-3-il)etanona racémica (compuesto **11**, 1,74 g). La separación quiral de los enantiómeros del compuesto **11** (1,74 g) se realizó mediante SFC preparativa (fase estacionaria: Chiralpak® Diacel AS 20 x 250 mm, fase móvil: CO_2 , EtOH + 0,4 % de iPrNH_2). Las fracciones de producto se combinaron y se evaporaron a presión reducida para proporcionar el enantiómero **11A** como el primer producto eluido y el enantiómero **11B** como el segundo producto eluido. Ambos enantiómeros se precipitaron en una mezcla de disolventes de MeOH y agua, se retiraron por filtración y se secaron a 50 °C al vacío para proporcionar el enantiómero **11A** (777 mg) y el enantiómero **11B** (712 mg).

Enantiómero 11A:

5 ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,50 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,28 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H) 6,56 - 6,63 (m, 2 H) 6,92 (s a, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,4, 1,9$ Hz, 1 H) 7,05 (s a, 1 H) 7,07 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=1,9$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,4$ Hz, 1 H) 7,90 (s a, 1 H) 8,53 (s, 1 H) 12,41 (s a, 1 H)

LC/MS (método LC-A): T_R 1,26 min, MH^+ 597

10 $[\alpha]_D^{20}$: +81,3° (c 0,3455, DMF)

SFC quiral (método SFC-E): T_R 2,96 min, MH^+ 597, pureza quiral 100 %.

15 Enantiómero 11B:

15 ^1H RMN (600 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,51 (s, 3 H) 3,09 (s, 3 H) 3,72 (s, 3 H) 4,00 (s, 3 H) 6,28 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 6,58 - 6,60 (m, 2 H) 6,92 (t, $J=1,8$ Hz, 1 H) 6,97 (dd, $J=8,4, 1,9$ Hz, 1 H) 7,05 (s a, 1 H) 7,06 (d, $J=7,9$ Hz, 1 H) 7,13 (d, $J=2,1$ Hz, 1 H) 7,35 (d, $J=8,2$ Hz, 1 H) 7,89 (s a, 1 H) 8,53 (s, 1 H) 12,37 (s a, 1 H)

20 LC/MS (método LC-A): T_R 1,26 min, MH^+ 597

$[\alpha]_D^{20}$: -87,4° (c 0,342, DMF)

25 SFC quiral (método SFC-E): T_R 3,44 min, MH^+ 597, pureza quiral 100 %.

Actividad antivírica de los compuestos de la invención

Ensayo antivírico de DENV-2

30 La actividad antivírica de todos los compuestos de la invención se ensayó frente a la cepa 16681 de DENV-2, que se marcó con proteína fluorescente de color verde potenciado (eGFP; tabla 1). El medio de cultivo consiste en medio esencial mínimo complementado con un 2 % de suero bovino fetal inactivado con calor, un 0,04 % de gentamicina (50 mg/ml) y 2 mM de L-glutamina. Se suspendieron células Vero, obtenidas de ECACC, en el medio de cultivo y se añadieron 25 μ l a placas de 384 pocillos (2500 células/pocillo), que ya contenían los compuestos antivíricos. 35 Típicamente, estas placas contienen diluciones en serie con un factor de 5, de 9 etapas de dilución del compuesto de ensayo a 200 veces la concentración final en DMSO al 100 % (200 nl). Además, cada concentración de compuesto se ensaya por cuadruplicado (intervalo de concentración final: 25 μ M - 0,000064 μ M o 2,5 μ M - 0,000064 μ M para los compuestos más activos). Finalmente, cada placa contiene pocillos que están asignados como controles de virus (que contienen células y virus en ausencia del compuesto), controles de células (que contienen células en ausencia 40 de virus y compuesto) y controles de medio (que contienen medio en ausencia de células, virus y compuestos). A los pocillos asignados como control de medio, se añadieron 25 μ l de medio de cultivo en lugar de células Vero. Una vez que se añadieron las células a las placas, las placas se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir que las células se distribuyeran de manera homogénea dentro de los pocillos. A continuación, las placas se incubaron (37 °C, 5 % de CO₂) hasta el día siguiente. Despues, se añadió la cepa 16681 de DENV-2, marcada con 45 eGFP, a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,5. Por lo tanto, se añadieron 15 μ l de suspensión de virus a todos los pocillos que contenían compuesto de ensayo y a los pocillos asignados como control de virus. En paralelo, se añadieron 15 μ l de medio de cultivo a controles de medio y de células. A continuación, las placas se incubaron durante 50 3 días en una estufa de incubación totalmente humidificada (37 °C, 5 % de CO₂). El día de la lectura, la fluorescencia de eGFP se midió usando un microscopio de fluorescencia automatizado a 488 nm (láser azul). Usando un sistema de LIMS propio, se calcularon las curvas de respuesta a la dosis de inhibición para cada compuesto y se determinó la concentración eficaz que produce la mitad del efecto máximo (CE₅₀). Por lo tanto, la inhibición porcentual (I) para cada concentración de ensayo se calcula usando la siguiente fórmula: I = 100*(S_T-S_c)/(S_T-S_c); S_T, S_c y S_v son las 55 cantidades de señal de eGFP en los pocillos de compuesto de ensayo, control de células y control de virus, respectivamente. El CE₅₀ representa la concentración de un compuesto en la que se inhibe la replicación del virus en un 50 %, que se mide como una reducción del 50 % de la intensidad de fluorescencia de eGFP en comparación con el control de virus. El CE₅₀ se calcula usando una interpolación lineal.

60 En paralelo, se evalúa la toxicidad de los compuestos sobre las mismas placas. Una vez que se realiza la lectura de la señal de eGFP, se añaden 40 μ l de ATPLite, un tinte de viabilidad celular, a todos los pocillos de las placas de 384 pocillos. El ATP está presente en todas las células metabólicamente activas y la concentración se reduce muy rápidamente cuando las células experimentan necrosis o apoptosis. El sistema de ensayo ATPLite se basa en la producción de luz provocada por la reacción de ATP con luciferasa y D-luciferina añadidas. Las placas se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. A continuación, las placas se midieron en un ViewLux. También se determinó la mitad de la concentración citotóxica máxima (CC₅₀), definida como la concentración requerida para reducir la señal de luminiscencia en un 50 % en comparación con la de los pocillos de control de células. Finalmente, 65 se determinó el índice de selectividad (IS) para los compuestos, que se calculó de la siguiente manera: IS = CC₅₀/CE₅₀.

Tabla 1: CE₅₀, CC₅₀ e IS para los compuestos de la invención en los ensayos antivíricos de DENV-2

N.º compuesto	CE ₅₀ (μM)	N	CC ₅₀ (μM)	N	IS	N
1	0,00052	5	5,5	4	11500	4
1A	0,00026	8	4,3	8	19700	8
1B	0,012	6	6,5	6	530	6
2	0,00060	4	5,0	4	8410	4
2A	0,00026	4	4,8	4	22000	4
2B	0,026	4	7,4	4	285	4
3	0,00058	4	>11	6	37700	4
3A	0,00025	5	7,2	5	29800	5
3B	0,0038	3	>9,7	5	2480	3
4	0,00039	4	5,9	4	14900	4
4A	0,00027	11	4,2	13	16900	11
4B	0,036	5	12	5	341	5
5	0,00062	4	5,5	4	8780	4
5A	0,00041	5	5,0	5	12900	5
5B	0,068	4	13	4	206	4
6A	0,000068	8	>25	8	>65500	8
6B	0,019	4	11	4	603	4
7	0,00047	4	3,2	3	>7040	3
7A	0,013	3	6,8	3	538	3
7B	0,00020	5	3,2	5	18500	5
8	0,00013	6	2,9	7	30400	6
8A	0,0030	3	7,4	3	2510	3
8B	0,000069	5	3,4	5	>40900	5
9	0,000074	6	3,1	8	>39100	6
9A	0,000067	9	2,9	9	>37500	9
9B	0,0038	5	6,2	6	1480	5
10A	0,00012	3	2,6	3	22600	3
10B	0,0039	3	9,8	3	2530	3
11A	0,000085	3	2,6	3	30100	3
11B	0,0041	3	9,2	3	2220	3

N = el número de experimentos independientes en los que se ensayaron los compuestos.

Ensayo de PCR cuantitativa con retrotranscriptasa tetravalente (RT-qPCR): Protocolo A.

La actividad antivírica de los compuestos de la invención se ensayó frente a la cepa TC974#666 de DENV-1 (NCPV; tabla 6), la cepa 16681 de DENV-2 (tabla 7), la cepa H87 de DENV-3 (NCPV; tabla 8) y las cepas H241 (NCPV; tabla 9A) y SG/06K2270DK1/2005 de DENV-4 (Eden; tabla 9B) en un ensayo de RT-qPCR. Por lo tanto, se infectaron células Vero con DENV-1, o -2, o -3, o -4 en presencia o ausencia de compuestos de ensayo. En el día 3 después de la infección, las células se lisaron y los lisados celulares se usaron para preparar ADNc de una diana vírica (la 3'UTR de DENV; tabla 2) y un gen de referencia celular (β -actina, tabla 2). Posteriormente, se realizó una PCR híbrida en tiempo real en un instrumento Lightcycler480. El valor de Cp generado es inversamente proporcional a la cantidad de expresión de ARN de estas dianas. La inhibición de la replicación de DENV por el compuesto de ensayo da como resultado un desplazamiento de Cp para el gen 3'UTR. Por otra parte, si un compuesto de ensayo es tóxico para las células, se observará un efecto similar en la expresión de β -actina. El método de $\Delta\Delta$ Cp comparativo se usa para calcular la CE₅₀, que se basa en la expresión génica relativa del gel diana (3'UTR) normalizada con el gen constitutivo celular (β -actina).

Tabla 2: Cebadores y sondas usadas para la RT-PCR cuantitativa en tiempo real.

Cebador/sonda	Diana	Secuencia ^{a, b}
F3utr258	DENV 3'-UTR	5'-CGGTTAGAGGAGACCCCTC-3'
R3utr425	DENV 3'-UTR	5'-GAGACAGCAGGATCTGGTC-3'
P3utr343	DENV 3'-UTR	FAM -5'-AAGGACTAG ZEN AGTTAGAGGAGACCCCC-3'- <i>IABkFQ</i>
Factin743	β-cactina	5'-GGCCAGGTCA TOACCATT-3'
Ractin876	β-cactina	5'-ATGTCACAGTCACACTTCATG-3'
Pactin773	β-cactina	HEX -5'-TTCCGGCTGC- ZEN -CCTGAGGCTCTC-3'- IABkFQ

^a Los tintes indicadores (FAM, HEX) y los elementos inactivadores.

^b Las secuencias de nucleótidos de los cebadores y de las sondas se seleccionaron de la región conservada en la región de 3'UTR del genoma del virus del dengue, en base a 300 secuencias de nucleótidos de los cuatro serotípos del dengue depositados en Genbank (Gong et al., 2013, Methods Mol Biol, Capítulo 16).

- El medio de cultivo consistía en medio esencial mínimo complementado con un 2 % de suero bovino fetal inactivado con calor, un 0,04 % de gentamicina (50 mg/ml) y 2 mM de L-glutamina. Se suspendieron células Vero, obtenidas de ECACC, en el medio de cultivo y se añadieron 75 μ l/pocillo en placas de 96 pocillos (10000 células/pocillo), que ya contenían los compuestos antivíricos. Típicamente, estas placas contienen diluciones en serie con un factor de 5, de 9 etapas de dilución, del compuesto de ensayo a 200 veces la concentración final en DMSO al 100 % (500 nL; intervalo de concentración final: 25 μ M - 0,000064 μ M o 2,5 μ M - 0,000064 μ M para los compuestos más activos). Además, cada placa contiene pocillos que están asignados como controles de virus (que contienen células y virus en ausencia de compuesto) y controles de células (que contienen células en ausencia de virus y compuesto). Una vez se añadieron las células en las placas, las placas se incubaron en una estufa de incubación totalmente humidificada (37 °C, 5 % de CO₂) hasta el día siguiente. Se diluyeron los serotipos 1, 2, 3 y 4 del virus del dengue para obtener un Cp de -22-24 en el ensayo. Por lo tanto, se añadieron 25 μ l de suspensión de virus a todas las placas que contenían compuesto de ensayo y a los pocillos asignados como control de virus. En paralelo, se añadieron 25 μ l de medio de cultivo a los controles de células. A continuación, las placas se incubaron durante 3 días en una estufa de incubación totalmente humidificada (37 °C, 5 % de CO₂). Después de 3 días, el sobrenadante se retiró de los pocillos y las células se lavaron dos veces con PBS enfriado con hielo (~100 μ l). Los sedimentos de células dentro de las placas de 96 pocillos se almacenaron a -80 °C durante al menos 1 día. A continuación, se extrajo el ARN usando el kit de lisis Cells-to-CTTM, de acuerdo con las directrices del fabricante (Life Technologies). Los lisados de células pueden almacenarse a -80 °C o usarse inmediatamente en la etapa de retrotranscripción.
- En la preparación de la etapa de retrotranscripción, se preparó la mezcla A (tabla 3A) y se distribuyeron 7,57 μ l/pocillo en una placa de 96 pocillos. Después de la adición de 5 μ l de lisados de células, se realizó una etapa de desnaturización de cinco minutos a 75 °C (tabla 3B). Después, se añadieron 7,43 μ l de mezcla B (tabla 3C) y se inició la etapa de retrotranscripción (tabla 3D) para generar ADNc.
- Finalmente, se preparó una mezcla de RT-qPCR, mezcla C (tabla 4A), y se distribuyeron 22,02 μ l/pocillo en placas LightCycler de qPCR de 96 pocillos en las que se añadieron 3 μ l de ADNc y la qPCR se realizó de acuerdo con las condiciones de la tabla 4B en un LightCycler 480.
- Usando el programa informático LightCycler y un sistema LIMS propio, se calcularon las curvas de respuesta a la dosis para cada compuesto y se determinaron la concentración eficaz que produce la mitad del efecto máximo (CE₅₀) y la mitad de la concentración citotóxica máxima (CC₅₀).

Tabla 3: síntesis de ADNc usando la mezcla A, desnaturización, la mezcla B y retrotranscripción.

A Mezcla A

Placas	8	Concentración			Vol. de reacción (μ l)	20
Muestras	828	Unida d	Reserv a	Final	1 muestra	x muestras
Milli-Q H ₂ O					7,27	6019,56
R3utr425	μ M	20		0,27	0,15	124,20
Ractin876	μ M	20		0,27	0,15	124,20
				Volumen mezcla/pocillo (μ l)	7,57	
				Lisados de célula	5,00	

B Etapa de desnaturización:

Etapa	Temp.	Tiempo
Desnaturalización	75 °C	5'
Retención	4 °C	Retención

C Mezcla B

Muestras	864	Concentración			Volumen para (μ l)	
Elemento de mezcla	Unidad	Reserva	Final	1 muestra	x muestras	
Tampón 2 Expand HIFI	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	
Inhibidor de RNasa	U/ μ l	40,00	1,00	0,50	432,0	
Expand RT	U/ μ l	50,00	0,33	0,13	112,3	
				Mezcla de volumen total (μ l)	7,43	

D Protocolo de síntesis de ADNc

Etapa	Temp.	Tiempo
Retrotransc.	42 °C	30'
Desnaturalización	99 °C	5'
Retención	4 °C	Retención

Tabla 4: Protocolo y mezcla de qPCR.

A Mezcla C

Muestras	833			Vol. de reacción (μl)	25
Elemento de mezcla	Concentración			Volumen para (μl)	
	Unidad	Reserva	Final	1 muestra	x muestras
H ₂ O calidad PCR de Roche				7,74	6447,42
Mezcla Roche 2xMM	X	2	1	12,50	10412,50
F3utr258	μM	20	0,3	0,38	316,54
R3utr425	μM	20	0,3	0,38	316,54
P3utr343	μM	20	0,1	0,13	108,29
Factin743	μM	20	0,3	0,38	316,54
Ractin876	μM	20	0,3	0,38	316,54
Pactin773	μM	20	0,1	0,13	108,29
	Volumen mezcla / tubo (μl)			22,02	
	ADNc			3,00	

B Protocolo qPCR3

Etapa	Temp.	Tiempo	Índice de rampa	
Preincub./desnat.	95 °C	10 min	4,4	
Desnaturalización	95 °C	10 s	4,4	
Hibridación	58 °C	1 min	2,2	
Alargamiento	72 °C	1 s	4,4	
Refrigeración	40 °C	10 s	1,5	40 ciclos

5 *Ensayo PCR cuantitativa con retrotranscriptasa tetravalente (RT-qPCR): Protocolo B.*

La actividad antivírica de los compuestos de la invención se ensayó frente a la cepa Djibouti de DENV-1 (D1/H/IMTSSA/98/606; tabla 6), la cepa NGC de DENV-2 (tabla 7), la cepa H87 de DENV-3 (tabla 8) y la cepa SG/06K2270DK1/2005 de DENV-4 (tabla 9B) en un ensayo de RT-qPCR. Se sembraron células Vero-B o Vero-M (5 × 10⁴) en placas de 96 pocillos. Un día después, el medio de cultivo se reemplazó por 100 μl de medio de ensayo que contenía una dilución en serie 2x, 3x o 5x del compuesto (intervalo de concentración: 50 μg/ml - 0,00038 μg/ml, 50 μg/ml - 0,0076 μg/ml y 50 μg/ml - 0,00013 μg/ml, respectivamente) y 100 μl de inóculo de virus del dengue (DENV). Despues de un periodo de incubación de 2 horas, la monocapa de células se lavó 3 veces con medio de ensayo para retirar el virus no adsorbido residual y los cultivos se incubaron adicionalmente durante 4 días (DENV-2 NGC) o 7 días (cepa D1/H/IMTSSA/98/606 Djibouti de DENV-1, prototipo de cepa H87 de DENV-3, cepa H241 de DENV-4 y cepa EDEN de DENV-4) en presencia del inhibidor. El sobrenadante se recolectó y se determinó la carga de ARN vírico mediante RT-PCR cuantitativa en tiempo real. La concentración eficaz a un 50 % (CE₅₀), que se define como la concentración de compuesto que se necesita para inhibir la replicación del ARN vírico en un 50 %, se determinó usando interpolación logarítmica. Se aisló el ARN de 100 μl (o en algunas circunstancias de 150 μl) de sobrenadante con el kit NucleoSpin 96 Virus (Filter Service, Duren, Alemania) según se describe por el fabricante. Las secuencias de los cebadores TaqMan (DENV-For, DENV-Rev; tabla 5) y las sondas TaqMan (DENV-Probe tabla 5) se seleccionaron del gen 3 no estructural (NS3) o NS5, de los flavivirus respectivos usando el programa informático Primer Express (versión 2.0; Applied Biosystems, Lennik, Bélgica). La sonda TaqMan se marcó fluorescentemente con 6-carboxifluoresceína (FAM) en el extremo 5' como el tinte indicador, y con ligando de surco menor (MGB) en el extremo 3' como el inactivador (tabla 5). Se realizó RT-PCR cuantitativa de una etapa en un volumen total de 25 μl, que contenía 13,9375 μl de H₂O, 6,25 μl de mezcla maestra (Eurogentec, Seraing, Bélgica), 0,375 μl de cebador directo, 0,375 μl de cebador inverso, 1 μl de sonda, 0,0625 μl de retrotranscriptasa (Eurogentec) y 3 μl de muestra. Se realizó RT-PCR usando el sistema de PCR en tiempo real ABI 7500 Fast (Applied Biosystems, Branchburg, Nueva Jersey, Estados Unidos) usando las siguientes condiciones: 30 min a 48 °C y 10 min a 95 °C, seguido de 40 ciclos de 15 s a 95 °C y 1 min a 60 °C. Los datos se analizaron usando el programa informático ABI PRISM 7500 SDS (versión 1.3.1; Applied Biosystems). Para la cuantificación absoluta, se generaron curvas patrón usando diluciones con un factor de dilución 10 de preparaciones molde de concentraciones conocidas.

Tabla 5: Cebadores y sondas usadas para RT-PCR cuantitativa en tiempo real.

Cebador/Sonda	Secuencia (5' → 3') ^a	Fuente ^b	Diana
DENV-For	TCGGAGCCGGAGTTACAAA (SEQ ID N.1)	DENV 2 NGC	NS3
DENV-Rev	TCTTAACGTCCGCCATGAT (SEQ ID N.2)		
DENV-sonda	FAM-ATTCCACACAATGTGGCAT-MGB (SEQ ID N.3)		

Cebador/Sonda	Secuencia (5' → 3') ^a	Fuente ^b	Diana
DenS	GGATAGACCAGAGATCCTGCTGT (SEQ ID N.4)	DENV-1, -3, -4	NS5
DenAS1-3	CATTCCATTTCTGGCGTTC (SEQ ID N.5)	DENV-1, -3	
DenAS4	CAATCCATCTTGCAGCGCTC (SEQ ID N.6)	DENV-4	
DEN_1-3 sonda	FAM-CAGCATCATTCCAGGCACAG-MGB (SEQ ID N.7)	DENV-1, -3	
DEN_4 sonda	FAM-CAACATCAATCCAGGCACAG-MGB (SEQ ID N.8)	DENV-4	

^a El tinte indicador (FAM) y el elemento inactivador (MGB/TAMRA) están indicados en negrita y en cursiva.

^b La secuencia de nucleótidos y la posición de los cebadores y sondas dentro del genoma se dedujeron de la secuencia de nucleótidos de NGC de DENV 2 (n.º de acceso GenBank M29095; Irie *et al.*, 1989), cepa D1/H/IMTSSA/98/606 Djibouti del serotipo 1 del virus del dengue (número de acceso Genbank AF298808), prototípico de cepa H87 del serotipo 3 del virus del dengue (c93130), cepa H241 del serotipo 4 del virus del dengue (sin secuencias disponibles), cepa EDEN del serotipo 4 del virus del dengue (sin secuencias disponibles)

Ensayo citotóxico

Se evaluaron los posibles efectos citotóxicos de los compuestos en células Vero-B o Vero-M inactivadas no infectadas.

5 Se sembraron células a 5×10^4 células/pocillo en una placa de 96 pocillos en presencia de diluciones en serie con factor de dilución dos, tres o cinco (que varían de 50 µg/ml - 0,0038 µg/ml, 50 µg/ml - 0,0076 µg/ml y 50 µg/ml - 0,00013 µg/ml, respectivamente) de compuesto y se incubaron durante 4 a 7 días. Se descartó el medio de cultivo y se añadieron 100 µl de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio/metosulfato de fenazina (MTS/PMS; Promega, Leiden, Países Bajos) en PBS a cada pocillo. Despues de un periodo de incubación de 2 horas a 37 °C, se determinó la densidad óptica a 498 nm. Se calculó la actividad citotóxica usando la siguiente fórmula: % de viabilidad celular = 100 × (DO_{Compuesto}/DO_{CC}), donde DO_{Compuesto} y DO_{CC} corresponden a la densidad óptica a 498 nm de los cultivos celulares no infectados tratados con compuesto y a la de cultivos celulares no tratados sin infectar, respectivamente. La concentración citotóxica al 50 % (es decir, la concentración que reduce el número total de células en un 50 %; CC₅₀) se calculó usando interpolación lineal.

10

15 Tabla 6: CE₅₀, CC₅₀ e IS para los compuestos frente a serotipo 1 en los ensayos de RT-qPCR

N.º compuesto	Protocolo A						Protocolo B					
	RT-qPCR de TC974#666 de serotipo 1						RT-qPCR de Djibouti de serotipo 1					
	CE ₅₀ (µM)	N	CC ₅₀ (µM)	N	IS	N	CE ₅₀ (µM)	N	CC ₅₀ (µM)	N	IS	N
1A	0,0025	9	5,0	9	1950	9	<0,015	3	8	6	>533	3
2A	0,0024	6	5,3	6	2190	6	<0,014	2	7,3	3	>523	2
3A	0,0042	6	5,5	5	1360	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4A	0,00097	8	5,1	8	4400	8	<0,014	3	4,3	4	>306	3
5A	0,0036	6	5,2	6	1460	6	<0,014	2	9,2	2	>658	2
6A	0,0016	6	>10	6	>8160	6	<0,014	2	>92	3	>6571	2
7B	0,00040	3	2,2	2	6600	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8B	0,00045	5	1,9	6	3130	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9A	0,00011	4	1,7	5	13300	4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10A	0,00027	2	1,6	2	5670	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11A	0,00013	2	>2,5	2	>22100	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND

N = el número de experimentos independientes en los que se ensayaron los compuestos. ND: no determinado.

Tabla 7: CE₅₀, CC₅₀ e IS para los compuestos frente a serotipo 2 en los ensayos de RT-qPCR

N. ^o compuesto	Protocolo A				Protocolo B			
	RT-qPCR de 166681 de serotipo 2	CC50 (μ M)	N	IS	RT-qPCR de NGC-tipo Tonga de serotipo 2	CC50 (μ M)	N	IS
1A	0,00028	7	3,8	12	15300	8	<0,00027	4
2A	0,00024	5	4,9	6	21500	5	<0,00024	1
3A	0,00030	6	5,0	6	9970	6	ND	1
4A	0,00020	7	3,9	10	25400	6	0,00032	1
5A	0,00034	5	5,8	6	>19000	5	<0,00023	ND
6A	0,00011	7	>10	6	>142306	6	<0,00024	1
7B	0,00017	3	2,9	5	23600	3	ND	ND
8B	0,00031	4	2,2	6	23400	4	ND	ND
9A	0,000057	3	2,2	4	31700	3	ND	ND
10A	0,000057	3	1,6	3	28200	3	ND	ND
11A	0,000051	3	>2,5	3	>69000	3	ND	ND

N = el número de experimentos independientes en los que se ensayaron los compuestos. ND: no determinado.

Tabla 8: CE₅₀, CC₅₀ e IS para los compuestos frente a serotipo 3 en los ensayos de RT-qPCR

N.º compuesto	Protocolo A						Protocolo B					
	RT-qPCR de H87 de serotipo 3						RT-qPCR de H87 de serotipo 3					
	CE50 (μ M)	N	CC50 (μ M)	N	IS	N	CE50 (μ M)	N	CC50 (μ M)	N	IS	N
1A	0,023	7	3,7	5	169	5	<0,015	3	8,0	6	>533	3
2A	0,019	4	4,3	3	224	3	<0,014	1	7,3	3	>521	1
3A	0,048	4	4,1	3	67	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4A	0,015	6	3,1	4	195	4	<0,014	1	4,3	4	>307	1
5A	0,053	4	4,4	2	75	2	0,022	1	9,2	2	422	1
6A	0,019	4	6,7	3	318	3	<0,014	1	> 92	3	>6571	1
7B	0,0078	3	1,6	3	240	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8B	0,0058	4	2,1	3	609	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9A	0,0021	3	1,6	1	474	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10A	0,0037	3	1,0	3	280	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11A	0,0012	3	>2,5	3	>2630	3	ND	ND	ND	ND	ND	ND

N = el número de experimentos independientes en los que se ensayaron los compuestos. ND: no determinado.

Tabla 9: CE₅₀, CC₅₀ e IS para los compuestos frente a serotipo 4 en los ensayos de RT-qPCR

N.º compuesto	Protocolo A					
	RT-qPCR de H241 de serotipo 4					
	CE50 (μ M)	N	CC50 (μ M)	N	IS	N
1A	0,093	10	3,0	9	30	9
2A	0,083	6	3,7	6	42	6
3A	0,11	6	3,8	4	37	4
4A	0,053	11	2,5	11	54	11
5A	0,10	6	4,0	6	39	6
6A	0,095	7	7,7	5	69	5
7B	0,044	5	2,2	5	53	5
8B	0,015	5	1,7	3	122	3
9A	0,012	5	1,5	5	121	5
10A	0,011	3	1,6	2	127	2
11A	0,011	3	3,1	3	>250	3

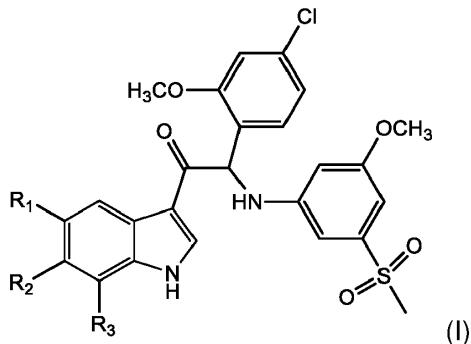
N = el número de experimentos independientes en los que se ensayaron los compuestos.

N.º compuesto	Protocolo A					
	RT-qPCR de EDEN de serotipo 4					
	CE50 (μ M)	N	CC50 (μ M)	N	IS	N
1A	0,0024	5	4,6	5	1927	5
2A	0,0013	2	5,0	2	3913	2
3A	0,0030	2	5,4	2	1802	2
4A	0,00055	2	> 2,5	1	> 4520	1
5A	0,0029	2	5,5	2	1878	2
6A	0,00042	2	> 10	2	> 24085	2

N = el número de experimentos independientes en los que se ensayaron los compuestos.

REIVINDICACIONES

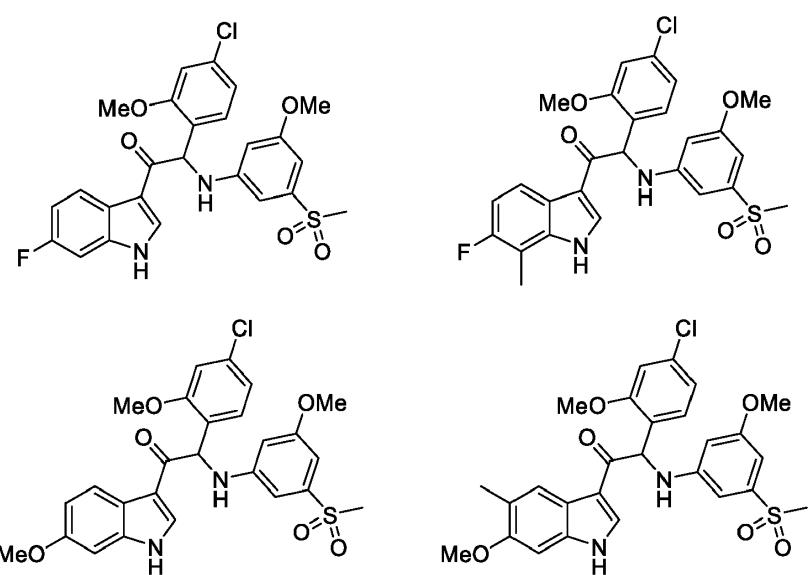
1. Un compuesto de fórmula (I)

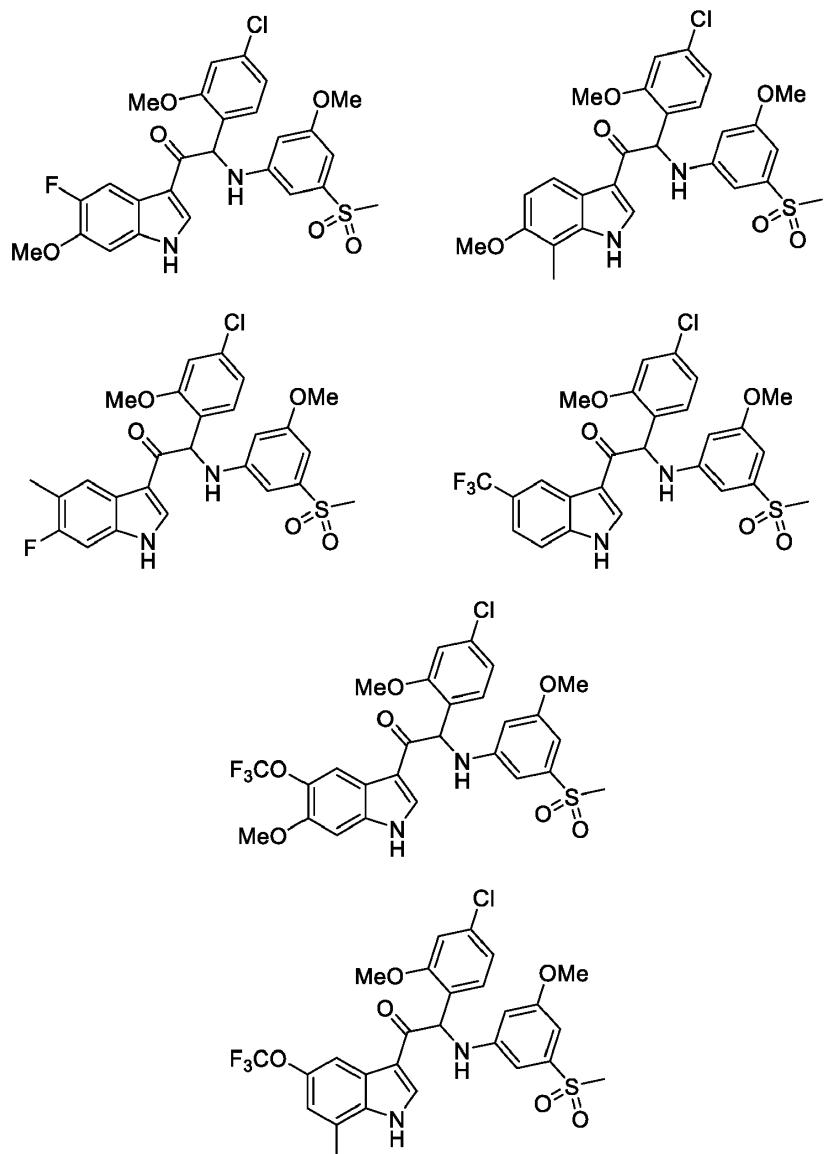


una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo; dicho compuesto se selecciona del grupo en el que:

10 R₁ es H, R₂ es F y R₃ es H o CH₃,R₁ es H, CH₃ o F, R₂ es OCH₃ y R₃ es H yR₁ es H, R₂ es OCH₃ y R₃ es CH₃,15 R₁ es CH₃, R₂ es F y R₃ es H,R₁ es CF₃, R₂ es H y R₃ es H,20 R₁ es OCF₃, R₂ es OCH₃ y R₃ es H yR₁ es OCF₃, R₂ es H y R₃ es CH₃.

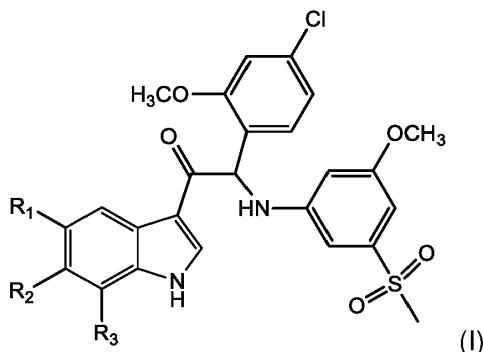
25 2. El compuesto o su forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona del grupo:





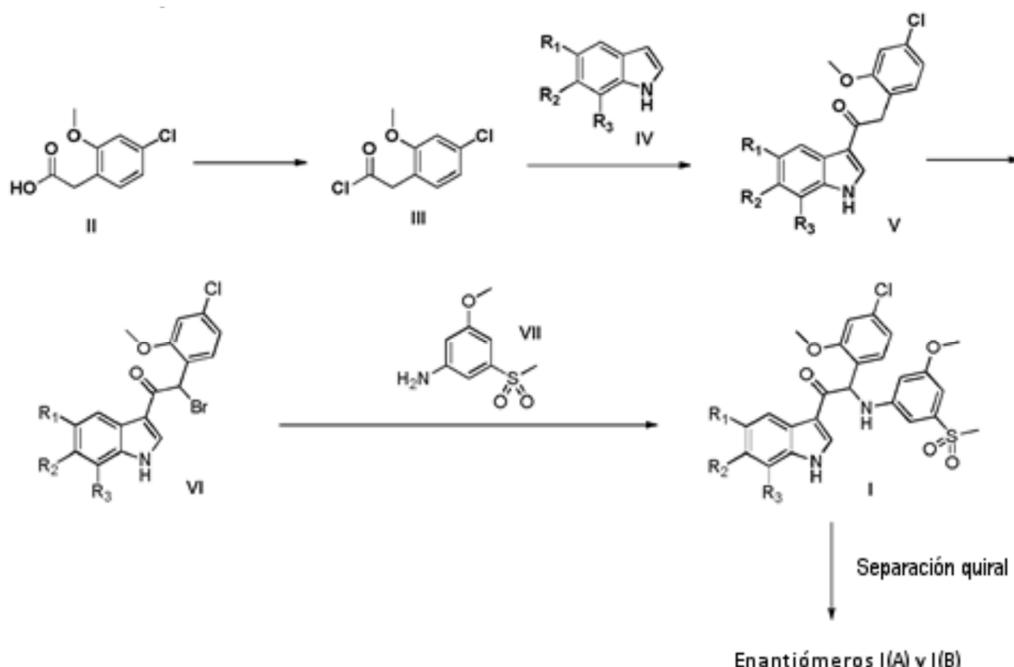
5

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, junto con uno o más excipientes, diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.
- 10 4. Un compuesto de fórmula (I) o una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 para su uso como medicamento.
- 15 5. Un compuesto de fórmula (I) o una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3 para su uso en el tratamiento del dengue.
- 20 6. Un compuesto representado por la siguiente fórmula estructural (I)



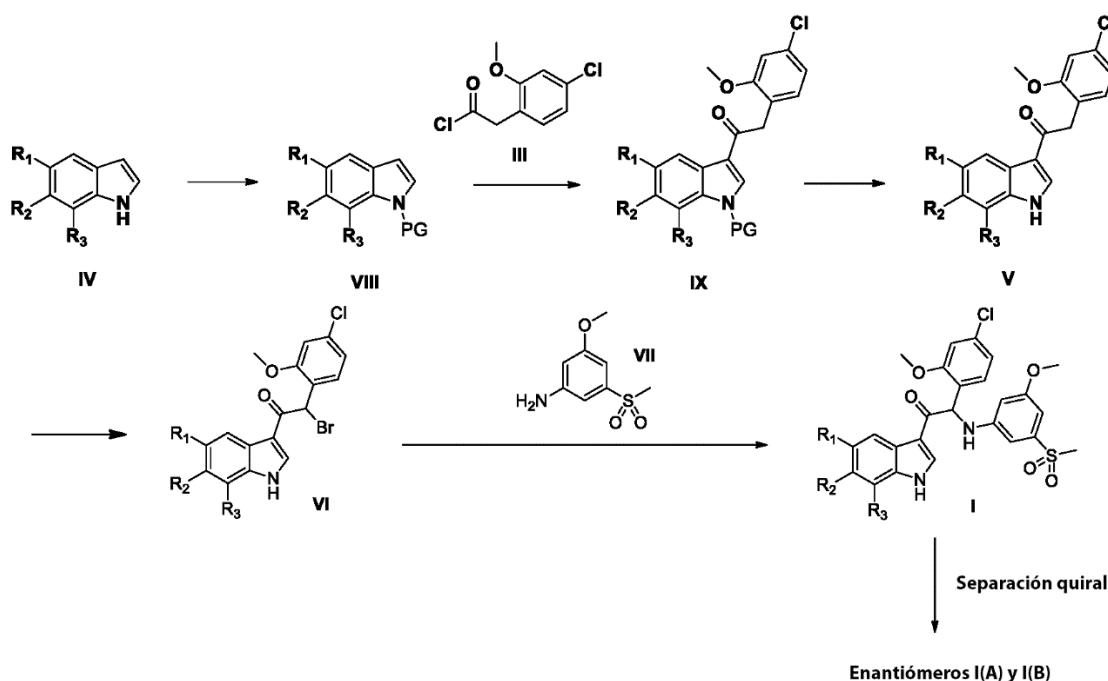
una forma estereoisomérica, una sal, solvato o polimorfo farmacéuticamente aceptable del mismo; dicho compuesto se selecciona del grupo en el que:

- 5 R₁ es H, R₂ es F y R₃ es H o CH₃,
R₁ es H, CH₃ o F, R₂ es OCH₃ y R₃ es H y
- 10 R₁ es H, R₂ es OCH₃ y R₃ es CH₃,
R₁ es CH₃, R₂ es F y R₃ es H,
- 15 R₁ es CF₃, R₂ es H y R₃ es H,
R₁ es OCF₃, R₂ es OCH₃ y R₃ es H y
- 20 R₁ es OCF₃, R₂ es H y R₃ es CH₃
para su uso en la inhibición de la replicación de uno o más virus del dengue en una muestra biológica o paciente.
7. E compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende además coadministrar un agente terapéutico adicional.
- 25 8. El compuesto para el uso de la reivindicación 7, en el que dicho agente terapéutico adicional se selecciona de un agente antivírico o vacuna contra el dengue, o ambos.
9. Un método para la síntesis del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende las etapas de:
- 30 a) convertir ácido 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acético (II) en el correspondiente cloruro de 2-(4-cloro-2-metoxifenil)acetilo (III) con un reactivo de cloración;
- 35 b) reacción de Friedel-Crafts del indol sustituido de fórmula general (IV) con un cloruro de ácido (III) realizada usando un reactivo de ácido de Lewis en un disolvente en condiciones de reacción adecuadas, para proporcionar el indol 3-acilado de fórmula general (V), en el que R₁, R₂ y R₃ tienen el mismo significado que en la reivindicación 1;
- 40 c) bromación de (V) con un reactivo en un disolvente adecuado, para proporcionar compuestos de fórmula general (VI);
- d) reacción de los compuestos de fórmula general (VI) con 3-metoxi-5-(metilsulfonil)anilina (VII) en un disolvente adecuado y utilizando una base para proporcionar los compuestos de fórmula general I como mezclas racémicas;
- 45 e) separación quiral de los compuestos de fórmula general I para proporcionar los enantiómeros A y B de fórmula general I.



10. Un método para la síntesis del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende las etapas de:

- 5 i) conversión del indol sustituido de fórmula general (IV) en un intermedio N-protectorado de fórmula general (VIII) usando un reactivo, en presencia de una base, en el que R¹, R² y R³ tienen el mismo significado que en la reivindicación 1 y PG es un grupo protector;
 - 10 ii) reacción de Friedel-Crafts del indol sustituido de fórmula general (VIII) con un cloruro de ácido (III) realizada usando un reactivo de ácido de Lewis en un disolvente adecuado y en condiciones de reacción adecuadas, para proporcionar el indol 3-aciulado de fórmula general (IX);
 - 15 iii) eliminación del grupo protector PG del N de indol del intermedio de fórmula general (IX) con un reactivo en una mezcla de disolventes y a una temperatura de reacción adecuada para proporcionar el indol 3-aciulado de fórmula general (V),
 - 20 iv) bromación de (V) con un reactivo en un disolvente adecuado, para proporcionar compuestos de fórmula general (VI);
 - 25 v) reacción de los compuestos de fórmula general (VI) con 3-metoxi-5-(methylsulfonyl)-anilina (VII) en un disolvente adecuado y utilizando una base para proporcionar los compuestos de fórmula general I como mezclas racémicas;
- vi) separación quiral de los compuestos de fórmula general I para proporcionar los enantiómeros A y B de fórmula general I.



11. Un método para la síntesis del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende las etapas de:

- 5 1) conversión del indol-3-carbaldehído sustituido protegido con *N*-Boc de fórmula general (X) en el correspondiente tipo de intermedio Strecker de fórmula general (XI) mediante reacción con morfolina en presencia de reactivos en un disolvente adecuado, en el que R¹, R² y R³ tienen el mismo significado que en la reivindicación 1;
- 10 2) alquilación del compuesto de fórmula general (XI) con cloruro de 4-cloro-2-metoxi-bencilo en presencia de una base en un disolvente adecuado para proporcionar el compuesto de fórmula general (XII);
- 15 3) sometimiento del compuesto de fórmula general (XII) a una condición hidrolítica ácida acuosa adecuada para proporcionar el intermedio de fórmula general (V);
- 20 4) bromación de (V) con un reactivo en un disolvente adecuado, para proporcionar compuestos de fórmula general (VI);
- 5) reacción de los compuestos de fórmula general (VI) con 3-metoxi-5-(metilsulfonil)-anilina (VII) en un disolvente adecuado y utilizando una base para proporcionar los compuestos de fórmula general I como mezclas racémicas;
- 6) separación quiral de los compuestos de fórmula general I para proporcionar los enantiómeros A y B de fórmula general I.

