

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202490352 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2024.03.27

(22) Дата подачи заявки  
2022.09.02

(51) Int. Cl. C07D 405/04 (2006.01)  
C07D 405/14 (2006.01)  
A61K 31/40 (2006.01)  
A61P 9/12 (2006.01)  
A61P 13/12 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЕ - АНТАГОНИСТ РЕЦЕПТОРОВ ЭНДОТЕЛИНА А-ТИПА (ЕТА), СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ЕГО МЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202111041046.4; 202210201633.3

(32) 2021.09.03; 2022.03.03

(33) CN

(86) PCT/CN2022/116652

(87) WO 2023/030470 2023.03.09

(71) Заявитель:

ШЭНЬЧЖЭНЬ САЛЮБРИС  
ФАРМАСЬЮТИКАЛС КО., ЛТД.  
(CN)

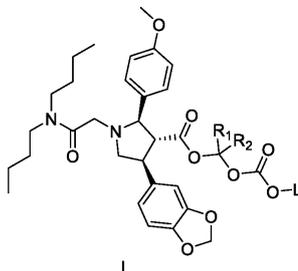
(72) Изобретатель:

Ву Цзюньцзюнь, Лу Инсуо, Син Вэй,  
Ху Хао, Сяо Ин (CN)

(74) Представитель:

Зуйков С.А. (RU)

(57) В изобретении, относящемся к области химических лекарственных средств, предложено соединение - антагонист рецепторов эндотелина А (ЕТА), а также способ его получения и варианты его медицинского применения.



A1

202490352

202490352

A1

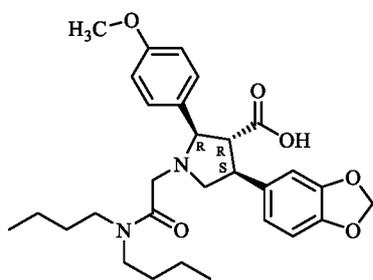
## Соединение - антагонист рецепторов эндотелина А-типа (ETA), способ его получения и его медицинское применение

### Область техники

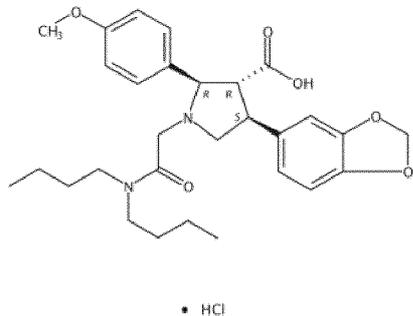
В настоящей заявке, относящейся к области химических лекарственных средств, предложено соединение - антагонист рецепторов эндотелина А (ETA), а также способ его получения и медицинское применение (варианты).

### Уровень техники

Атрасентан (номер в реестре Химической реферативной службы (CAS, англ. Chemical Abstracts Service): 173937-91-2) – эффективный и селективный антагонист рецепторов эндотелина А (ETA), структурная формула которого имеет вид



; в медицинской практике применяется атрасентана гидрохлорид (номер в реестре CAS: 195733-43-8), структурная формула которого имеет вид:



Ранее атрасентан был оценен на предмет лечения рака предстательной железы в рамках клинических испытаний, а в настоящее время он проходит клинические испытания для оценки на предмет лечения хронической почечной недостаточности на фоне диабета 2-го типа. Кроме того, подтверждена способность атрасентана снижать альбуминурию у пациентов с диабетической нефропатией, при этом на сегодняшний день продукт отсутствует в продаже.

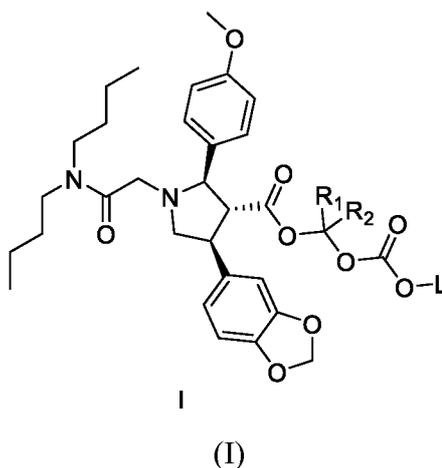
### Сущность изобретения

С учетом недостатков предшествующего уровня техники, в настоящей заявке предложено соединение - антагонист рецепторов эндотелина А (ETA), имеющее новую структуру, способ его получения и варианты его медицинского применения.

А именно, в настоящей заявке предложено соединение, представленное общей

формулой (I), или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль. Все переменные величины имеют значения, определенные в настоящем документе.

Изобретение по настоящей заявке реализовано посредством следующих технических решений: соединение формулы (I), или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль,



где  $R_1$  – водород или  $C_{1-6}$ -алкил;  $R_2$  – водород или  $C_{1-6}$ -алкил, или  $R_1$  и  $R_2$  совместно образуют  $C_{3-6}$ -циклоалкил;  $L$  выбран из замещенных или незамещенных  $C_{1-6}$ -алкила,  $C_{3-6}$ -циклоалкила,  $C_{1-6}$ -алкокси, или замещенного или незамещенного  $-(CH_2)_n$ -гетероцикла; при этом  $n$  представляет собой натуральное число от 0 до 3 и выбрано из 0, 1, 2 или 3.

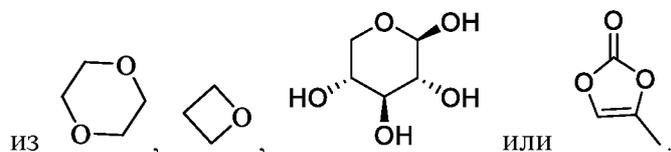
В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке, заместитель замещенного  $C_{1-6}$ -алкила включает в себя гидроксил, фосфорил, амино, или  $C_{1-6}$ -алкилзамещенный амино; заместитель замещенного  $-(CH_2)_n$ -гетероцикла включает в себя  $C_{1-6}$ -алкил, гидроксил или карбонил; при этом гетероцикл выбран из насыщенного или ненасыщенного  $C_{3-6}$ -гетероцикла, при этом более одного атома  $C$  в гетероцикле замещены  $O$ ,  $N$  или  $S$ .

В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке,  $R_1$  и  $R_2$  не являются водородом одновременно.

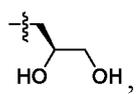
В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке,  $C_{1-6}$ -алкил включает в себя метил, этил, пропил, изопропил,  $n$ -бутил, изобутил, втор-бутил или трет-бутил.

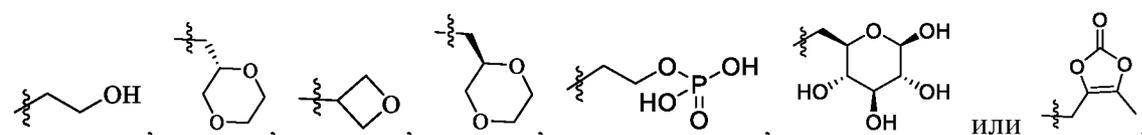
В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке,  $C_{3-6}$ -циклоалкил включает в себя циклопропан, циклобутан, циклопентан или циклогексан.

В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке, C<sub>1-6</sub>-алкокси включает в себя метокси, этокси, пропокси, изопропокси, н-бутокси, изобутокси, втор-бутокси и трет-бутокси; при этом замещенный или незамещенный гетероцикл выбран

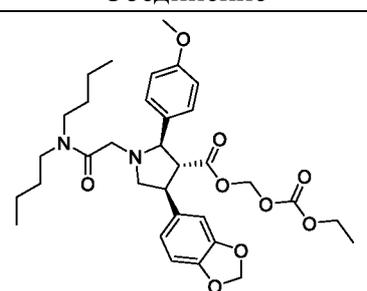
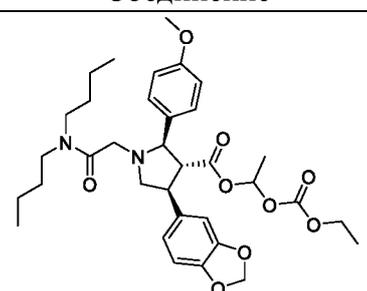
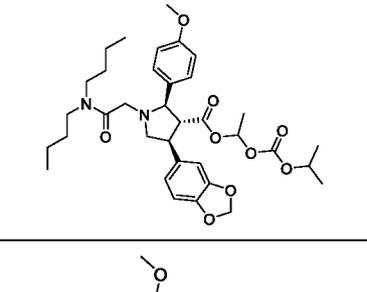
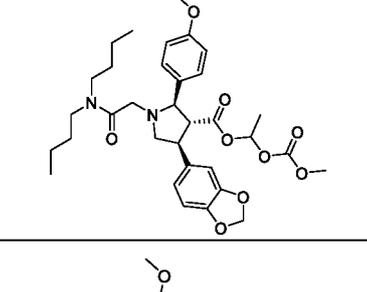
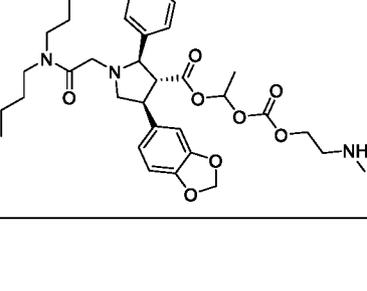
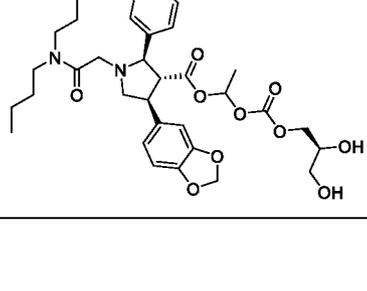


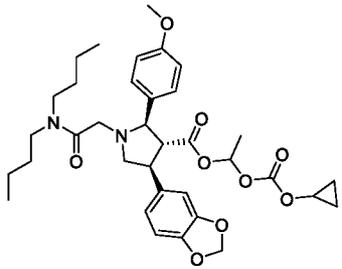
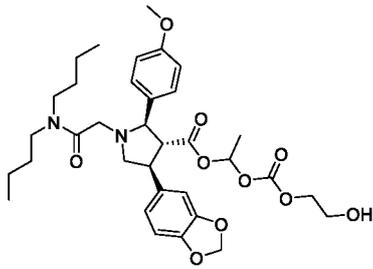
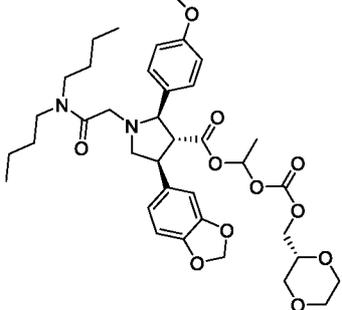
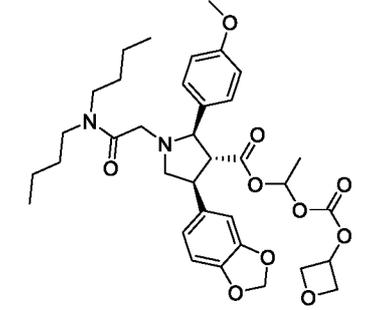
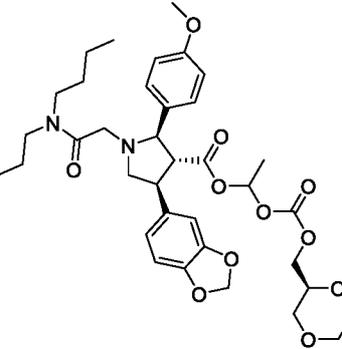
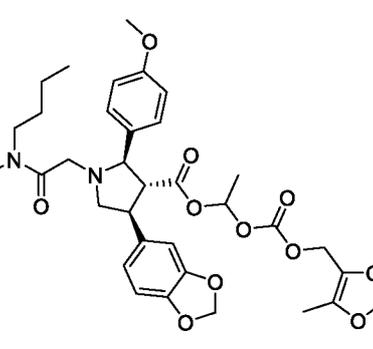
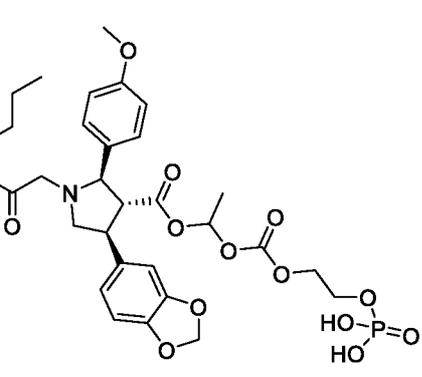
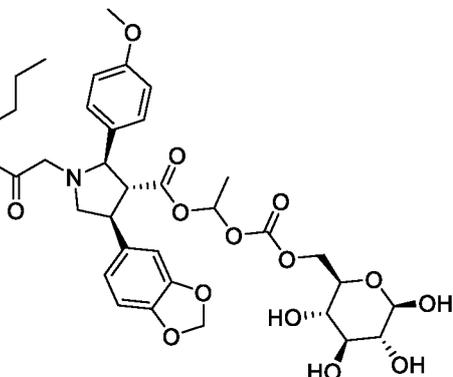
В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке, R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо друг от друга выбраны из водорода или метила. R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> не являются водородом

одновременно. L выбран из метила, этила, изопропила,  , циклопропила, .



В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке, соединение выбрано из следующих соединений.

№	Соединение	№	Соединение
1		2	
3		4	
5		6	

7		8	
9		10	
11		12	
13		14	

В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке, фармацевтически приемлемая соль соединения означает соль, полученную путем введения соединения, или его таутомера, или его мезомера, или его рацемата, или его энантиомера в реакцию с фармацевтически приемлемыми кислотой или основанием.

В качестве предпочтительного технического решения по настоящей заявке, атомы соединения, представленного общей формулой (I), или его таутомера, мезомера, рацемата, энантиомера, диастереомера, или его смеси, или его фармацевтически приемлемой соли содержат изотопы атомов в неестественном соотношении; при этом

изотопы выбраны из дейтерия ( $^2\text{H}$ ), йода-125( $^{125}\text{I}$ ) или С-14( $^{14}\text{C}$ ).

Кроме того, в настоящей заявке предложено применение соединения, или его таутомера, мезомера, рацемата, энантиомера, диастереомера, или его смесевой формы, или его фармацевтически приемлемой соли в приготовлении лекарственных средств, в частности, предпочтительно, применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли в приготовлении лекарственных средств для лечения и/или предотвращения заболеваний, связанных с антагонизмом к эндотелиновым А (ЭТА)-рецепторам.

В свою очередь, в число данных заболеваний входят хроническая почечная недостаточность, IgA-нефропатия, фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) или гипертензия.

Кроме того, в настоящей заявке предложена фармацевтическая композиция. Фармацевтическая композиция содержит раскрытое выше соединение, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевую форму, или его фармацевтически приемлемую соль и один или более фармацевтически приемлемых носителей.

Если особо не указано иное, нижеследующие понятия и выражения используются в настоящей заявке в следующих значениях. Даже при отсутствии точных определений, понятие или выражение следует не рассматривать как неопределенное или неясное, а понимать его в его обычном значении. Торговые наименования, встречающиеся в настоящей заявке, служат для обозначения соответствующего товара или активного ингредиента. Понятие «фармацевтически приемлемый» в контексте настоящей заявки относится к соединениям, материалам, композициям и/или дозированным формам, которые, в рамках здравого медицинского суждения, подходят для применения в контакте с тканью человека и животного без проявления чрезмерной токсичности, раздражающего действия, аллергических реакций либо иных проблем или осложнений с соблюдением разумного соотношения «польза – риск».

В контексте настоящей заявки выражение «фармацевтически приемлемая соль» относится к производным предлагаемого соединения. Родоначальное соединение модифицировано путем образования соли под действием кислоты или образования соли под действием основания.

Пролекарство раскрытого в настоящей заявке соединения легко изменяется в физиологических условиях с превращением в предлагаемое соединение. Кроме того, пролекарство может, в результате химических или биохимических превращений, образовывать предлагаемое соединение в среде *in vivo*.

Некоторые соединения по настоящей заявке могут находиться в несольватированной или сольватированной формах, в том числе в – гидратированной форме. В общем случае, данные сольватированные и несольватированные формы являются эквивалентными и должны рассматриваться как входящие в объем настоящей заявки.

Атомы молекулы предлагаемого соединения являются изотопами, при этом такие эффекты, как продление периода полувыведения, снижение скорости выведения, стабилизация метаболизма и повышение активности *in vivo*, могут быть в значительной мере достигнуты путем создания изотопных производных. Кроме того, предусмотрено решение по реализации. По меньшей мере один атом замещается атомом с тем же атомным числом (числом протонов) и другими массовыми числами (суммой протонов и нейтронов). В число примеров изотопов в составе предлагаемого соединения входят атомы водорода, атомы углерода, атомы азота, атомы кислорода, атомы фосфора, атомы серы, атомы фтора или атомы хлора, в том числе, соответственно,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$  или  $^{36}\text{Cl}$ . В частности, радиоизотопы, испускающие излучение, которое сопровождает их распад, например,  $^3\text{H}$  или  $^{14}\text{C}$ , могут использоваться для топологического исследования фармацевтических препаратов или соединений *in vivo*. Стабильные изотопы не распадаются и не изменяются в зависимости от числа изотопов, а также не являются радиоактивными, благодаря чему данные изотопы безопасны в использовании. В случаях, когда атомы, составляющие молекулу предлагаемого соединения, являются изотопами, изотопы могут быть преобразованы общеизвестными способами путем замены используемого в синтезе реагента на реагент, содержащий соответствующие изотопы.

В предлагаемом соединении могут иметь место неестественные соотношения изотопов одного или более атомов, составляющих соединение. Например, соединение может быть помечено радиоизотопами, в частности – дейтерием ( $^2\text{H}$ ), йодом-125 ( $^{125}\text{I}$ ) или С-14 ( $^{14}\text{C}$ ). Трансформации всех изотопных составов предлагаемого соединения, будь то радиоактивных или нерадиоактивных, входят в объем настоящей заявки. Кроме того, один или более атомов водорода в предлагаемом соединении замещаются изотопом дейтерий ( $^2\text{H}$ ).

Дейтеризация предлагаемого соединения обеспечивает эффекты продления периода полувыведения, снижения скорости выведения, повышения стабильности метаболизма и повышения активности *in vivo*. Способ создания изотопных производных обычно включает в себя межфазный катализ. Например, один из предпочтительных способов дейтеризации предусматривает применение способа межфазного катализа (например, соли тетраалкиламмония или  $\text{NBu}_4\text{HSO}_4$ ). Обмен протонов метилена в составе соединения дифенилметана обеспечивается применением катализатора межфазного переноса, в результате чего повышается степень дейтеризации в результате реакции с дейтерированным боратом натрия по сравнению с реакцией с дейтерированным силаном (в частности – дейтерированным триэтилсиланом) или с кислотой Льюиса, в частности, хлоридом алюминия, в присутствии кислоты (например, метансульфоновой кислоты).

Понятие «фармацевтически приемлемый носитель» означает носитель или среду препарата, способную доставлять эффективное количество активной субстанции по настоящей заявке без нарушения биологической активности активной субстанции и не оказывающую токсическое побочное действие на реципиентов или пациентов. В число типичных носителей входят вода, масло, растения, минералы, основа для крема, основа для примочек, мазевая основа и т.п. Данные основы включают в себя суспендирующие вещества, загустители, усилители проникновения и т.п. Способы получения основ хорошо известны специалистам в области косметики или лекарственных препаратов для местного применения. Прочие сведения о носителе см. в документе «Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005)» («Ремингтон: Научная и практическая фармацевтика», изд. 21-е, Липпинкотт, Уильямс и Уилкинс (2005)), содержание которого включено в настоящее описание посредством отсылки.

Понятие «вспомогательное вещество» в общем случае означает носитель, разбавитель и/или среду, необходимые для получения эффективной фармацевтической композиции.

Понятие «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» применительно к лекарственному средству или фармакологически активному веществу означает количество данного лекарственного средства или вещества, которое, не будучи токсичным, достаточно для достижения желаемых эффектов. Для пероральных дозированных форм по настоящей заявке, «эффективное количество» одной активной

субстанции в составе композиции означает количество, необходимое для достижения желаемого эффекта при применении данной активной субстанции в комбинации с другой активной субстанцией в составе данной композиции. Эффективное количество для человека определяют индивидуально в зависимости от возраста и общего состояния здоровья реципиента, а также в зависимости от конкретной активной субстанции. В отдельных случаях, надлежащее эффективное количество может быть определено специалистами в данной области техники по результатам обычных экспериментов.

Понятия «активный ингредиент», «терапевтическое вещество», «активная субстанция» или «активнодействующее вещество» означают химическое соединение, эффективное при терапии нарушения, болезней или состояний, являющихся его мишенью.

Понятия «таутомерная модификация» или «модификация таутомерной формы» означают структурные изомеры с разными энергиями, которые могут превращаться друг в друга через низкий энергетический барьер. Если таутомерия возможна (например, в растворе), может быть достигнуто химическое равновесие таутомера. Например, протонная таутомерия (также именуемая «прототропная таутомерия») включает в себя случаи взаимного превращения путем миграции протонов, в частности – кето-енольную изомеризацию и имино-енаминную изомеризацию. Валентная таутомерия включает в себя взаимопревращения путем рекомбинации некоторых из связывающих электронов, в частности – кето-енольную таутомерию. Еще одним примером таутомерии является фенол-кетонная таутомерия. Если не указано иное, все таутомерные формы предлагаемого соединения входят в объем настоящей заявки.

Предлагаемое соединение может существовать в определенной геометрической или стереоизомерной форме. В настоящей заявке предусмотрены все такие соединения, в том числе – цис- и транс-изомеры, (-)- и (+)-энантиомеры, (R)- и (S)-энантиомеры, диастереоизомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры, или их рацемические или иные смеси, например, смеси, обогащенные энантиомерами или диастереомерами. Все эти смеси входят в объем настоящей заявки. Заменители, например, алкил, могут иметь дополнительные асимметрические атомы углерода. Все эти изомеры и их смеси входят в объем настоящей заявки.

Оптически активные (R)- и (S)-изомеры, как и D- и L-изомеры, могут быть получены путем хирального синтеза, или с использованием хиральных реагентов, или иных

известных технологий. Энантиомер того или иного соединения по настоящей заявке может быть получен путем асимметрического синтеза или создания производных с использованием хиральных вспомогательных реагентов. Полученные диастереоизомерные смеси разделяют, и вспомогательную группу расщепляют для получения чистого необходимого энантиомера. В качестве альтернативы, если молекула содержит основную функциональную группу (например, амина) или кислотную функциональную группу (например, карбоксильную), формируется диастереоизомерная соль с использованием соответствующих оптически активных кислот или оснований. Далее диастереоизомеры расщепляют известными в данной области техники способами, и возвращают чистые энантиомеры в повторный цикл. Кроме того, разделение энантиомеров и диастереоизомеров обычно выполняют с помощью хроматографии. Хроматография предусматривает применение хиральной неподвижной фазы и необязательно выполняется в комбинации с химической дериватизацией (например, получением карбамата на основе аминов).

Понятие «необязательный» или «необязательно» означает, что описываемое вслед за ним событие или состояние может, но не обязательно должно, произойти или возникнуть, при этом такое описание предусматривает возможность ситуации, в которой данное событие или состояние происходит или возникает, и ситуации, в которой данное событие или состояние не происходит или не возникает.

Предлагаемое соединение может быть получено различными способами синтеза, хорошо известными специалистам в данной области техники, в том числе – как раскрыто в указанных ниже вариантах реализации, вариантах реализации, созданных в комбинации с иными способами химического синтеза, а также способами, представляющими собой эквивалентные замены, хорошо известные специалистам в данной области техники, при этом предпочтительные варианты реализации включают в себя варианты осуществления изобретения по настоящей заявке, но не ограничиваются ими.

В отличие от известных решений, изобретение по настоящей заявке обеспечивает следующие полезные эффекты.

Предлагаемое соединение представляет собой соединение – антагониста рецепторов эндотелина А (ETA). Пролекарство может полностью превращаться в атрасентан в микросомах печени человека, при этом, по результатам фармакокинетического исследования, его технические эффекты эквивалентны эффектам атрасентана.

## **Осуществление изобретения**

Далее изобретение по настоящей заявке будет детально раскрыто на вариантах его осуществления, однако варианты реализации изобретения по настоящей заявке не ограничиваются ими.

Структура соединения определяется методами ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) или масс-спектрометрии (МС). Сдвиги ЯМР ( $\delta$ ) указаны в единицах  $10^{-6}$ (м.д.). Для измерения методом ЯМР используется ЯМР-спектрометр «Bruker AVANCE-III»; растворитель для измерений – диметилсульфоксид- $D_6$  (ДМСО- $D_6$ ) или дейтерохлороформ ( $CDCl_3$ ); внутренний эталон – тетраметилсилан (ТМС).

Для измерения массового спектра используется масс-спектрометр «ISQ EC» (изготовитель: «Thermo», модель: «ISQ EC»).

Для анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) используется высокоэффективный жидкостных хроматограф «Thermo U3000 HPLC DAD».

В измерительном приборе быстрой подготовки «CombiFlash» используется система «CombiFlash Rf+ LUMEN» (производства компании «TELEDYNE ISCO»).

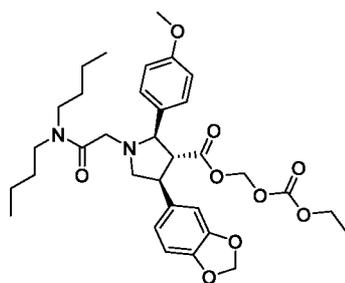
В качестве силикагелевой пластины для тонкослойной хроматографии используется силикагелевая пластина HSGF<sub>254</sub> или GF<sub>254</sub> (производства компании «Yantai Yinlong»). Характеристика силикагелевой пластины, используемой для тонкослойной хроматографии (ТСХ): от 0,17 мм до 0,23 мм. Требование к разделению и очистке продукта при тонкослойной хроматографии: от 0,4 мм до 0,5 мм.

Для хроматографии на колонке с силикагелем в качестве носителя обычно используется силикагель от 100 до 200 меш (силикагель производства компании «Rushan Shangbang»).

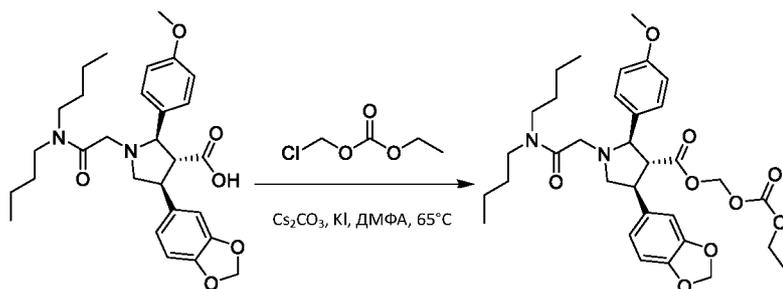
ДМФА (лат. DMF), N,N-диметилформамид, хлорметилэтилкарбонат, йодид калия, карбонат цезия, дихлорметан (ДХМ), н-гексан и этилацетат.

### **Вариант осуществления 1**

**Сложный эфир 1-[(этоксикарбонил)окси]метил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламин)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



**Этап А: Синтез сложного эфира 1-[(этоксикарбонил)окси]метил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (500 мг, 0,98 ммоль), хлорметилэтилкарбонат (270 мг, 1,96 ммоль), карбонат цезия (640 мг, 1,96 ммоль) и йодид калия (325 мг, 1,96 ммоль) вводят в 10 мл сухого диметилформамида и повышают температуру до 65 °С для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, охлаждают реакционный раствор до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (100 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют, концентрируют под вакуумом и выпаривают; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/1) с получением 480 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира [(этоксикарбонил)окси]метил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 79,9%).

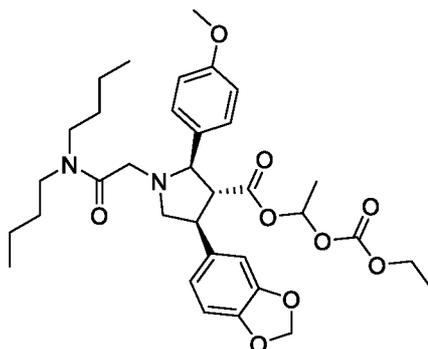
ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,20 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 613,42.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,23 (д, J = 8,6 Гц, 2H), 7,04 (д, J = 1,2 Гц, 1H), 6,89 (д, J = 8,7 Гц, 2H), 6,84 – 6,76 (м, 2H), 5,98 (д, J = 4,6 Гц, 2H), 5,58 (q, J = 6,2 Гц, 2H), 4,12 (q, J = 7,1 Гц, 2H), 3,78 – 3,72 (м, 1H), 3,72 (с, 3H), 3,49 (дд, J = 11,2, 5,3 Гц, 1H), 3,26 – 3,20 (м, 3H),

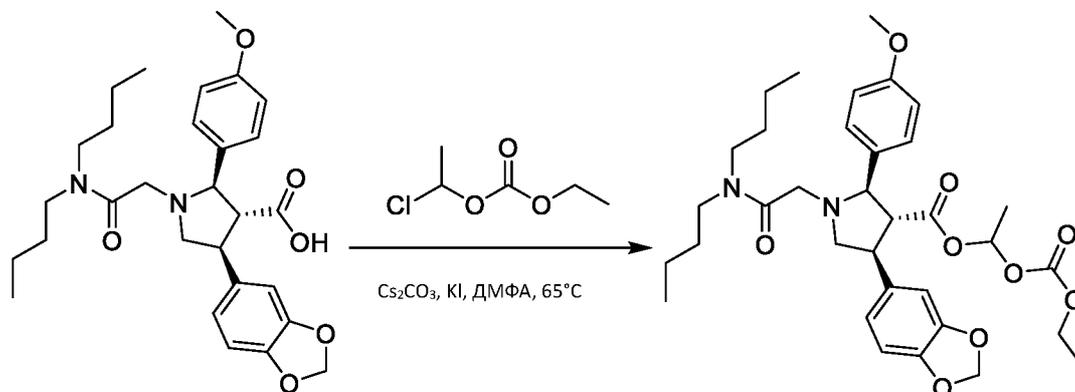
3,16 (с, 1H), 3,02 – 2,90 (м, 3H), 2,86 – 2,80 (м, 1H), 2,71 (д,  $J = 13,8$  Гц, 1H), 1,33 (дд,  $J = 14,6$ , 7,0 Гц, 2H), 1,27 – 1,09 (м, 7H), 0,96 (дд,  $J = 14,7$ , 7,3 Гц, 2H), 0,81 (т,  $J = 7,3$  Гц, 3H), 0,71 (т,  $J = 7,3$  Гц, 3H).

## Вариант осуществления 2

### Сложный эфир 1-[(этоксикарбонил)окси]этил-(2*R*,3*R*,4*S*)-4-(бензо[*d*][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата



### Этап А: Синтез сложного эфира 1-[(этоксикарбонил)окси]этил-(2*R*,3*R*,4*S*)-4-(бензо[*d*][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата



При комнатной температуре, атрасентан(2*R*,3*R*,4*S*)-4-(бензо[*d*][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (500 мг, 0,98 ммоль), 1-хлорэтил этил карбонат (298 мг, 1,96 ммоль), карбонат цезия (640 мг, 1,96 ммоль) и йодид калия (325 мг, 1,96 ммоль) вводят в 10 мл сухого диметилформаида и повышают температуру до 65 °С для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, охлаждают реакционный раствор до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (100 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью

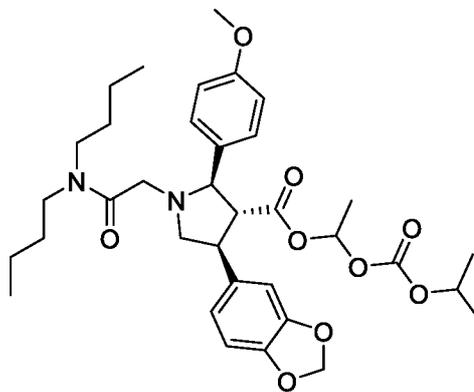
водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют, концентрируют под вакуумом и выпаривают; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/1) с получением 442 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-[(этоксикарбонил)окси]метил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 66,5%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,21 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 627,40.

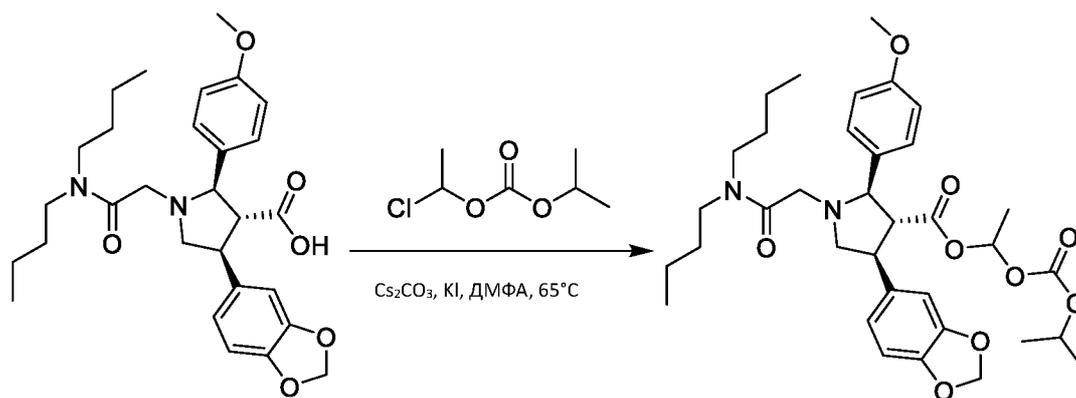
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,27 – 7,17 (м, 2H), 7,09 – 6,98 (м, 1H), 6,92 – 6,85 (м, 2H), 6,85 – 6,74 (м, 2H), 6,60 – 6,52 (м, 1H), 5,98 (д, J = 5,3 Гц, 2H), 4,11 (dq, J = 11,1, 7,1 Гц, 2H), 3,67-3,73 (м, 4H), 3,57 – 3,44 (м, 1H), 3,30 – 3,20 (м, 3H), 3,19 – 3,10 (м, 1H), 3,01 – 2,85 (м, 3H), 2,77 (ddd, J = 9,4, 6,9, 2,6 Гц, 1H), 2,70 (д, J = 13,9 Гц, 1H), 1,39 – 1,22 (м, 6H), 1,21 – 1,04 (м, 6H), 1,01 – 0,89 (м, 2H), 0,81 (т, J = 7,3 Гц, 3H), 0,71 (т, J = 7,3 Гц, 3H).

### Вариант осуществления 3

**Сложный эфир 1-[(изопропокси-карбонил)окси]этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



**Этап А: Синтез сложного эфира 1-[(изопропокси-карбонил)окси]этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (500 мг, 0,98 ммоль), 1-хлорэтил изопропил карбонат (325 мг, 1,96 ммоль), карбонат цезия (640 мг, 1,96 ммоль) и йодид калия (325 мг, 1,96 ммоль) вводят в 10 мл сухого диметилформамида и повышают температуру до 65 °С для осуществления реакции в течение 2 часов.

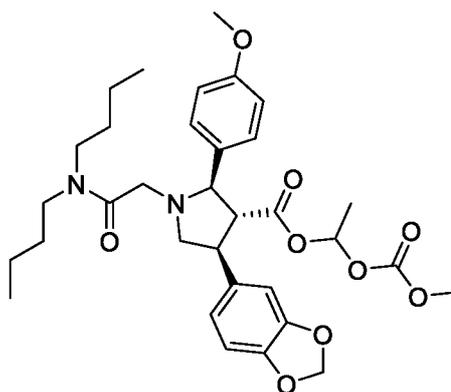
По окончании реакции, реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/1) с получением 482 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-[(изопропокси-карбонил)окси]этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 76,9%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,29 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 641,48.

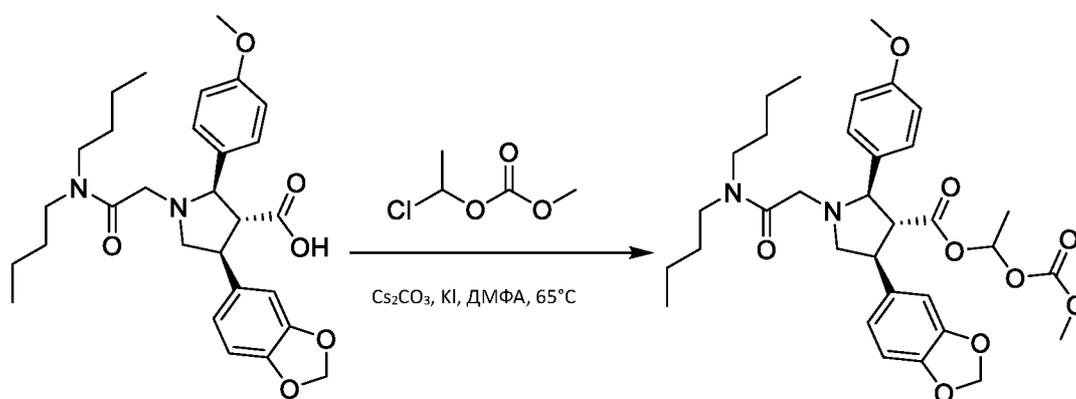
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,25 (т, J = 9,0 Гц, 2H), 7,07–7,04 (м, 1H), 6,93–6,89 (м, 2H), 6,85–6,78 (м, 2H), 6,59–6,54 (м, 1H), 5,99 (д, J = 6,2 Гц, 2H), 4,79–4,69 (м, 1H), 3,76–3,70 (м, 4H), 3,55–3,44 (м, 1H), 3,33–3,23 (м, 4H), 3,21–3,13 (м, 1H), 3,02–2,90 (м, 3H), 2,80–2,75 (м, 1H), 2,71 (д, J = 13,9 Гц, 1H), 1,39–1,33 (м, 1H), 1,32 (д, J = 5,4 Гц, 2H), 1,26 (д, J = 5,4 Гц, 2H), 1,22–1,14 (м, 9H), 1,00–0,94 (м, 2H), 0,82 (т, J = 7,3 Гц, 3H), 0,72 (т, J = 7,3 Гц, 3H).

#### Вариант осуществления 4

**Сложный эфир 1-[(метоксикарбонил)окси]этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



**Этап А: Синтез сложного эфира 1-[(метоксикарбонил)окси]этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (500 мг, 0,98 ммоль), 1-хлорэтил метил карбонат (270 мг, 1,96 ммоль), карбонат цезия (640 мг, 1,96 ммоль) и йодид калия (325 мг, 1,96 ммоль) вводят в 10 мл сухого диметилформамида и повышают температуру до 65 °С для осуществления реакции в течение 2 часов.

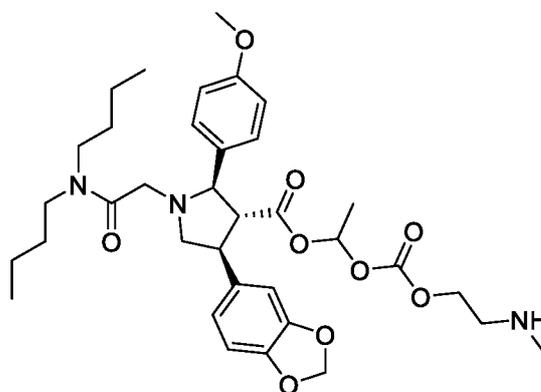
По окончании реакции, реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/1) с получением 428 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-[(метоксикарбонил)окси]этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 71,3%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,20 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 613,42.

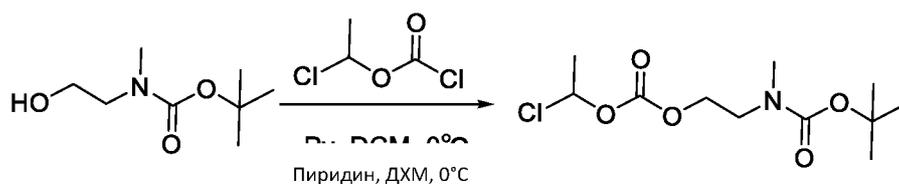
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,25 (дд, J = 10,3, 8,7 Гц, 2H), 7,08–7,04 (м, 1H), 6,91 (дд, J = 8,7, 2,9 Гц, 2H), 6,86–6,78 (м, 2H), 6,60–6,55 (м, 1H), 5,99 (д, J = 5,1 Гц, 2H), 3,76–3,69 (м, 6H), 3,56–3,44 (м, 1H), 3,33–3,16 (м, 5H), 3,00–2,94 (м, 3H), 2,81–2,76 (м, 1H), 2,71 (д, J = 13,7 Гц, 1H), 1,39–1,14 (м, 9H), 1,02–0,93 (м, 2H), 0,82 (т, J = 7,3 Гц, 3H), 0,72 (т, J = 7,3 Гц, 3H).

### Вариант осуществления 5

**Сложный эфир 1-(((2-(метиламино)этокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



**Этап А: Синтез 2-(((1-хлорэтокси)карбонил)окси)этил(метил)трет-бутил карбамата**

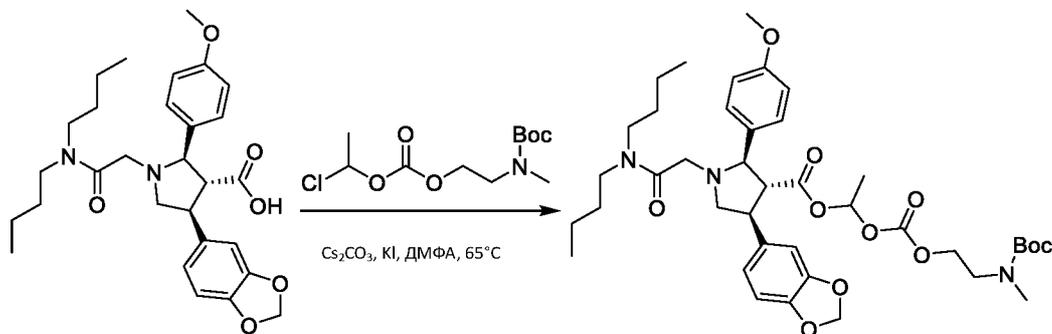


В условиях ледяной бани, 2-(N-бутоксикарбонил-N-метиламино)этанол (500 мг, 2,85 ммоль) и пиридин (248 мг, 3,14 ммоль) вводят в 10 мл сухого дихлорметана; 1-хлорэтил хлорформиат (248 мг, 3,14 ммоль) вводят по каплям в условиях ледяной бани; и, по окончании введения, повышают температуру до комнатной температуры для осуществления реакции в течение 1 часа.

По окончании реакции, смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); органический слой промывают дважды соляной кислотой в концентрации 1М/л (20 мл); выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют

под вакуумом до осушения с получением 725 мг бесцветного маслянистого продукта - (2-(((1-хлорэтокси)карбонил)окси)этил(метил)трет-бутил карбамата (выход: 90,6%).

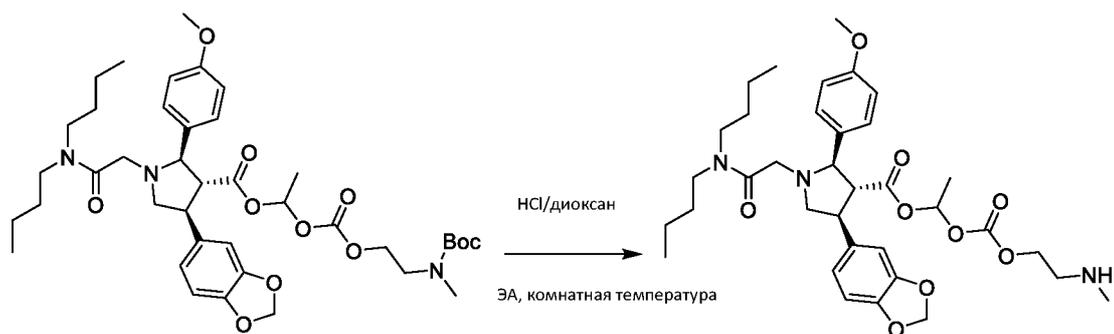
**Этап В: Синтез сложного эфира 2,2,5-триметил-4,9-диоксо-3,8,10-триокса-5-аза-11-этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (500 мг, 0,98 ммоль), (2-(((1-хлорэтокси)карбонил)окси)этил(метил)трет-бутил карбамат (550 мг, 1,96 ммоль), карбонат цезия (640 мг, 1,96 ммоль) и йодид калия (325 мг, 1,96 ммоль) вводят в 10 мл сухого диметилформамида и повышают температуру до 65°C для осуществления реакции в течение 4 часов.

По окончании реакции, реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/1) с получением 625 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 2,2,5-триметил-4,9-диоксо-3,8,10-триокса-5-аза-11-этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 84,4). ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,34 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 756,49.

**Этап С: Синтез сложного эфира 1-(((2-(метиламино)этокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, сложный эфир 2,2,5-триметил-4,9-диоксо-3,8,10-триокс-5-аза-11-этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (300 мг, 0,39 ммоль) растворяют в 10 мл этилацетатного растворителя; вводят 2 мл раствора 4М/л гидрохлорида в диоксане в условиях ледяной бани, и проводят реакцию в течение 2 часов при комнатной температуре.

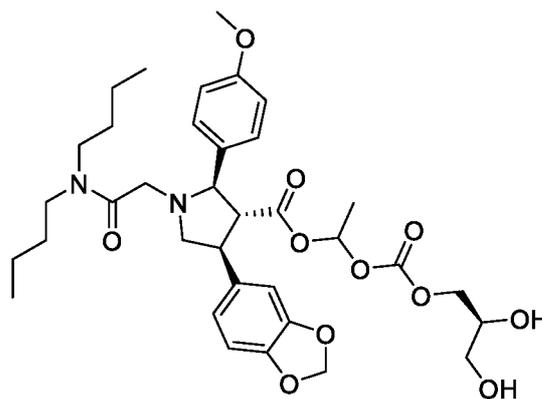
По окончании реакции, осуществляют концентрирование с получением 260 мг твердого вещества желтого цвета – сложного эфира 1-(((2-(метиламино)этоксикарбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 101,6%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 1,82 мин.,  $[M+H]^+ = 656,45$ .

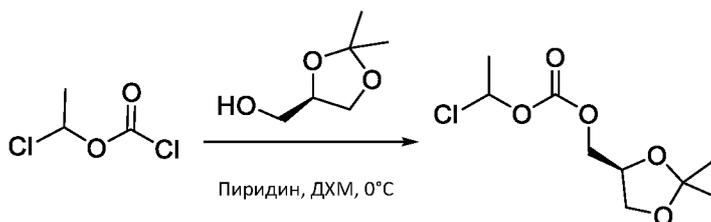
$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО)  $\delta$  7,60 (м, 2H), 7,21 (м, 1H), 7,01 (д,  $J = 8,1$  Гц, 2H), 6,90 (д,  $J = 15,8$  Гц, 2H), 6,50 (м, 1H), 6,04 (с, 2H), 3,77 (с, 3H), 3,17 (д,  $J = 6,4$  Гц, 3H), 3,08 – 2,90 (м, 4H), 2,52 (д,  $J = 5,6$  Гц, 3H), 2,06 (д,  $J = 4,1$  Гц, 3H), 1,90 (с, 6H), 1,33 (д,  $J = 34,4$  Гц, 4H), 1,23 – 1,10 (м, 7H), 0,83 (т,  $J = 7,0$  Гц, 6H).

#### Вариант осуществления 6

**Сложный эфир 1-(((S)-2,3-дигидрокси пропоксикарбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



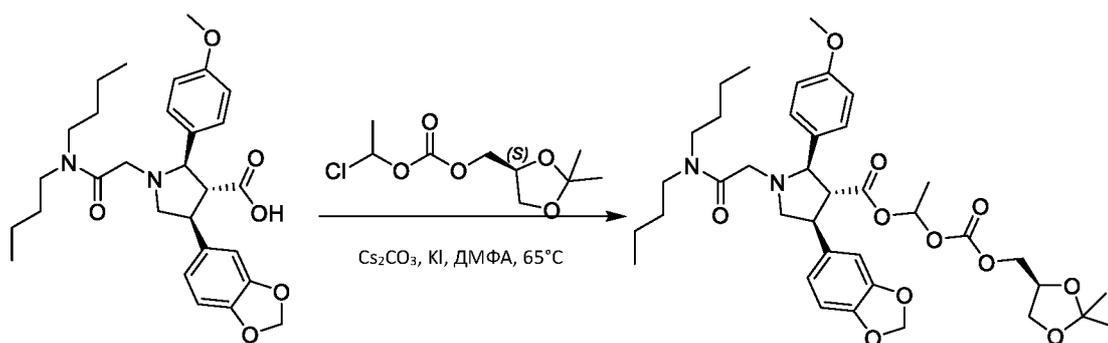
**Этап А: 1-хлорэтил(((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)карбонат**



В условиях ледяной бани, (S)-(+)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-метанол (315 мг, 2,38 ммоль) и пиридин (225 мг, 2,85 ммоль) вводят в 10 мл сухого дихлорметана; 1-хлорэтил хлорформиат (408 мг, 2,85 ммоль) вводят по каплям в условиях ледяной бани; и, по окончании введения, повышают температуру до комнатной температуры для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды, выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 10/1) с получением 250 мг бесцветного маслянистого продукта - 1-хлорэтил(((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)карбоната (выход: 44,2%).

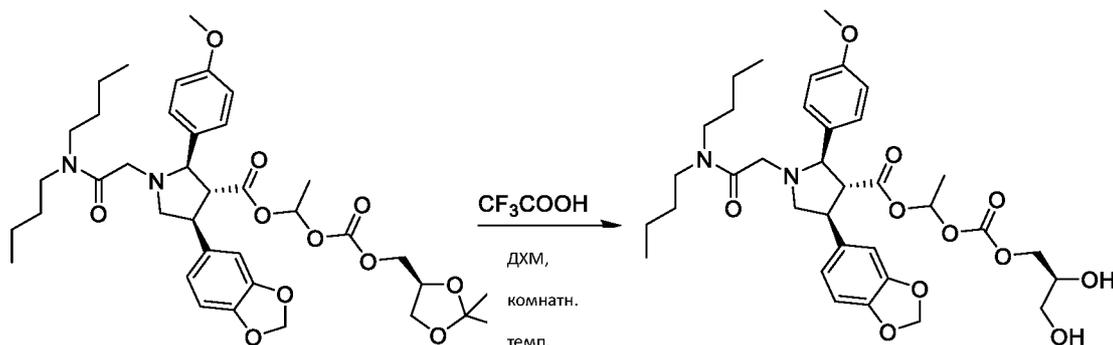
**Этап В: Синтез сложного эфира 1-(((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (100 мг, 0,20 ммоль), 1-хлорэтил(((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метил)карбонат (72 мг, 0,3 ммоль), карбонат цезия (130 мг, 0,4 ммоль) и йодид калия (66,4 мг, 0,4 ммоль) вводят в 5 мл сухого диметилформаида и повышают температуру до 65°C для осуществления реакции в течение 4 часов.

По окончании реакции, реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 3/1) с получением 85 мг бесцветного маслянистого продукта - сложного эфира 1-(((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 59,9%). ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,21 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 713,46.

**Этап С: Сложный эфир 1-(((S)-2,3-дигидрокси пропокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, сложный эфир 1-(((S)-2,2-диметил-1,3-диоксолан-4-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (80 мг, 0,11 ммоль) растворяют в 10 мл этилацетатного растворителя; вводят 2 мл раствора трифторуксусной кислоты и осуществляют реакцию в течение 0,5 часа при комнатной температуре.

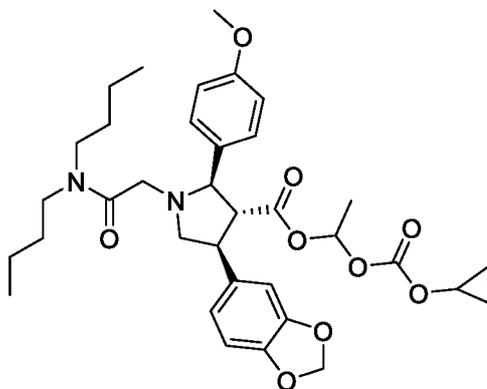
По окончании реакции, соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/2) с получением 56 мг твердого вещества желтого цвета – сложного эфира 1-(((S)-2,3-дигидрокси пропокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 74,1%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,06 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 673,39.

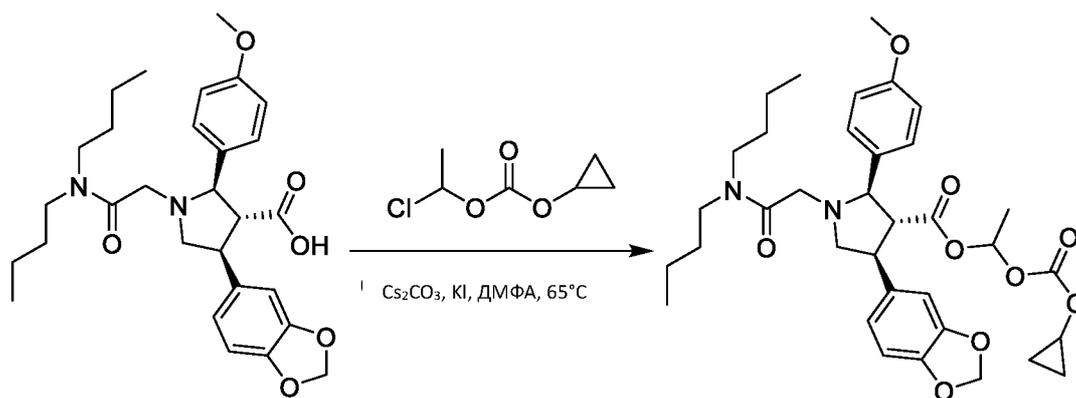
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,32 – 7,17 (м, 2H), 7,12 – 7,04 (м, 1H), 6,93 (с, 2H), 6,84 (с, 2H), 6,55 (с, 1H), 6,00 (д, J = 5,2 Гц, 2H), 4,18 – 4,06 (м, 2H), 3,90 (с, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,64 (с, 2H), 3,55 – 3,42 (м, 2H), 3,18 – 3,07 (м, 3H), 3,00 (с, 4H), 2,66 (с, 1H), 2,44 – 2,35 (м, 2H), 2,32 (с, 1H), 1,31 (с, 3H), 1,18 (с, 3H), 0,99 (с, 3H), 0,81 (т, J = 7,4 Гц, 3H), 0,74 (с, 3H).

#### Вариант осуществления 7

**Сложный эфир 1-[(циклопропоксикарбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



**Этап А: Синтез сложного эфира 1-[(циклопропоксикарбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



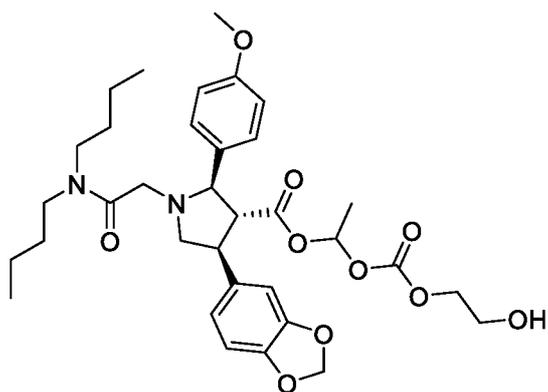
При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (500 мг, 0,98 ммоль), 1-хлорэтил циклопропил карбонат (240 мг, 1,96 ммоль), карбонат цезия (640 мг, 1,96 ммоль) и йодид калия (325 мг, 1,96 ммоль) вводят в 10 мл сухого диметилформаида и повышают температуру до 65°C для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (100 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/1) с получением 412 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-[(циклопропоксикарбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 65,8%). ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,29 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 639,40.

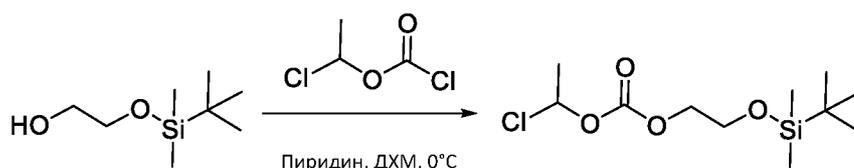
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,25 (с, 2H), 7,06 (д, J = 10,4 Гц, 1H), 6,90 (м, 2H), 6,83 (м, 2H), 6,57 (м, 1H), 5,98 (с, 2H), 4,09 (с, 2H), 3,73 (м, 4H), 3,53 – 3,42 (м, 2H), 2,95 (м, 5H), 2,71 (д, J = 13,2 Гц, 3H), 1,98 (с, 1H), 1,38 – 1,02 (м, 9H), 0,99 – 0,87 (м, 2H), 0,81 (с, 2H), 0,71 (д, J = 7,0 Гц, 6H).

#### Вариант осуществления 8

**Сложный эфир 1-(((2-(гидроксиэтокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



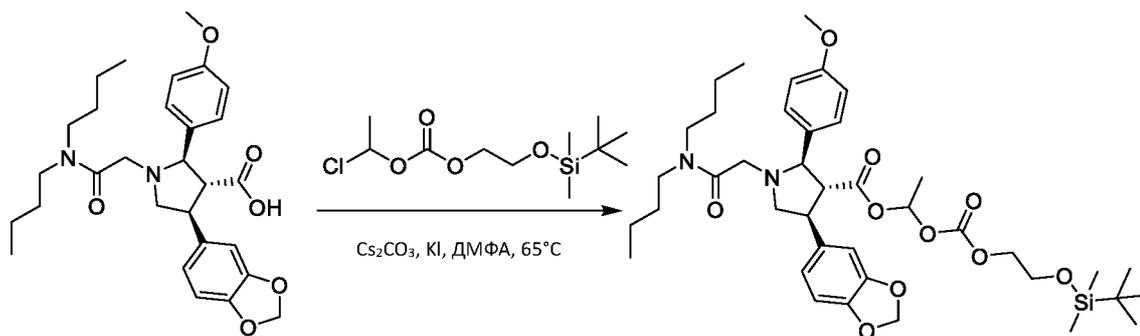
### Этап А: Синтез 2-((трет-бутил-диметилсиланил)окси)этил(1-хлорэтил)карбоната



В условиях ледяной бани, 2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)этанол (1000 мг, 5,67 ммоль) и пиридин (739 мг, 9,36 ммоль) вводят в 10 мл сухого дихлорметана; 1-хлорэтил хлорформиат (900 мг, 6,24 ммоль) вводят по каплям в условиях ледяной бани; и, по окончании введения, повышают температуру до комнатной температуры для осуществления реакции в течение 1 часа.

По окончании реакции, смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 10/1) с получением 245 мг бесцветного маслянистого продукта – 2-((трет-бутилдиметилсилил)оксо)этил(1-хлорэтил)карбоната (выход: 15,4%).

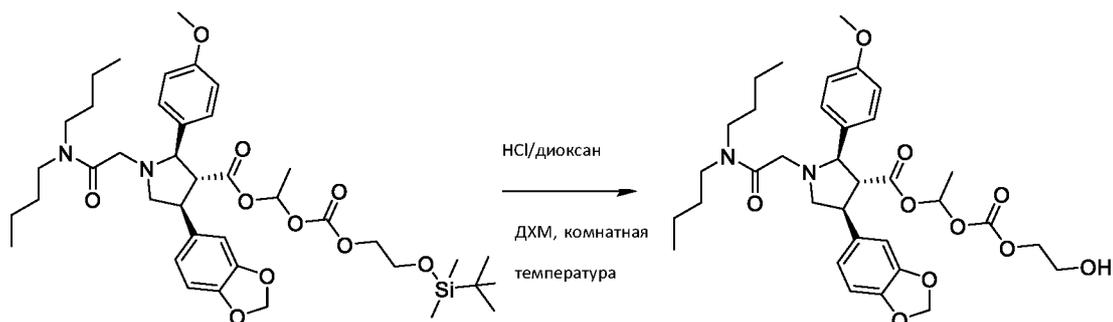
**Этап В: Синтез сложного эфира 2,2,3,3-тетраметил-8-оксо-4,7,9-триокса-3-сила-10-этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (100 мг, 0,20 ммоль), 2-((трет-бутил-диметилсиланил)окси)этил(1-хлорэтил)карбонат (85 мг, 0,3 ммоль), карбонат цезия (130 мг, 0,4 ммоль) и йодид калия (66,4 мг, 0,4 ммоль) вводят в 5 мл сухого диметилформаида и повышают температуру до 65 °С для осуществления реакции в течение 4 часов.

По окончании реакции, реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 3/1) с получением 62 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 2,2,3,3-тетраметил-8-оксо-4,7,9-триокса-3-сила-10-этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 41,0%). ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,75 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 757,50.

**Этап С: Синтез сложного эфира 1-(((2-гидроксиэтокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутила+мино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, 2,2,3,3-тетраметил-8-оксо-4,7,9-триокса-3-сила-10-

этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата сложный эфир (62 мг, 0,08 ммоль) растворяют в 10 мл дихлорметанового растворителя; вводят 2 мл раствора 4М/л гидрохлорида в диоксане в условиях ледяной бани и проводят реакцию в течение 2 часов при комнатной температуре.

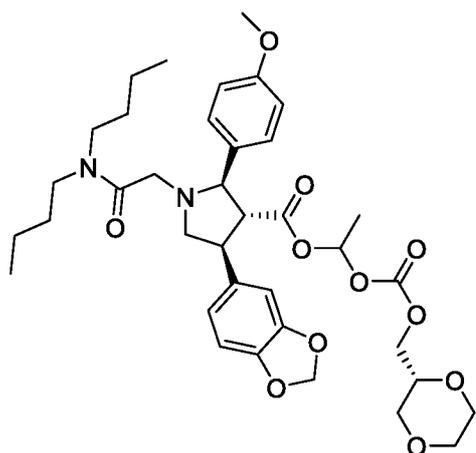
По окончании реакции, соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 1/2) с получением 40 мг твердого вещества желтого цвета – сложного эфира 1-(((2-гидроксиэтокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 77,9%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,07 мин.,  $[M+H]^+ = 643,44$ .

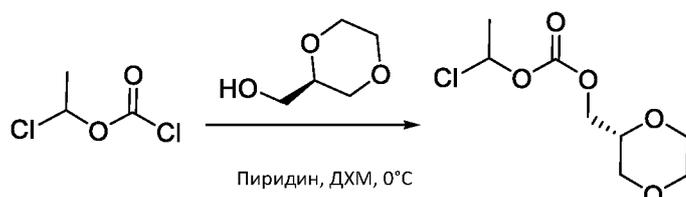
$^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО)  $\delta$  7,71 – 7,38 (м, 2H), 7,19 (д, J = 12,2 Гц, 1H), 7,00 (д, J = 6,8 Гц, 2H), 6,93 – 6,79 (м, 2H), 6,48 (с, 1H), 6,03 (с, 2H), 4,02 (д, J = 7,1 Гц, 3H), 3,76 (м, 4H), 3,57 – 3,48 (м, 3H), 3,20 – 3,09 (м, 1H), 3,08 – 2,90 (м, 3H), 1,45 – 1,02 (м, 14H), 0,91 – 0,68 (м, 8H).

#### Вариант осуществления 9

**Сложный эфир 1-(((R)-1,4-диоксан-2-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



**Этап А: ((R)-1,4-диоксан-2-ил)метил(1-хлорэтил)карбонат**

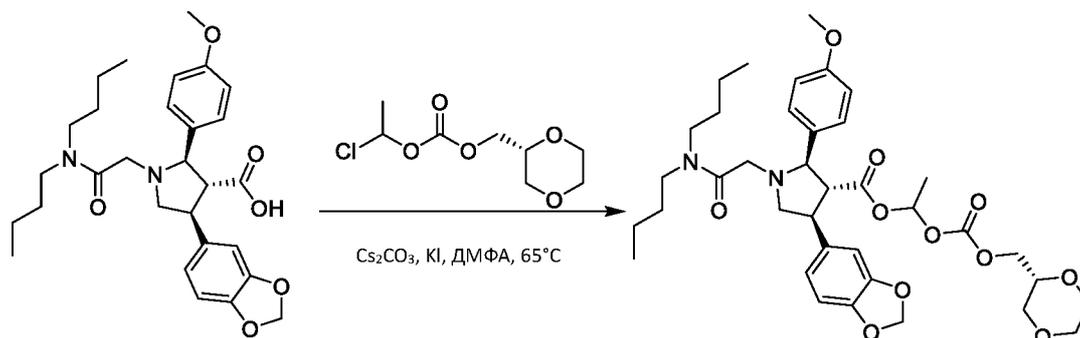


В условиях ледяной бани, ((R)-1,4-диоксан-2-ил)метанол (280 мг, 2,38 ммоль) и

пиридин (225 мг, 2,85 ммоль) вводят в 10 мл сухого дихлорметана; 1-хлорэтил хлорформат (408 мг, 2,85 ммоль) вводят по каплям в условиях ледяной бани; и, по окончании введения, повышают температуру до комнатной температуры для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 10/1) с получением 212 мг бесцветного маслянистого продукта - ((R)-1,4-диоксан-2-ил)метил(1-хлорэтил)карбоната (выход: 39,8%).

**Этап В: Синтез сложного эфира 1-(((R)-1,4-диоксан-2-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (100 мг, 0,20 ммоль), ((R)-1,4-диоксан-2-ил)метил(1-хлорэтил)карбонат (67,2 мг, 0,3 ммоль), карбонат цезия (130 мг, 0,4 ммоль) и йодид калия (66,4 мг, 0,4 ммоль) вводят в 5 мл сухого диметилформамида и повышают температуру до 65°C для осуществления реакции в течение 4 часов.

По окончании реакции, реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом

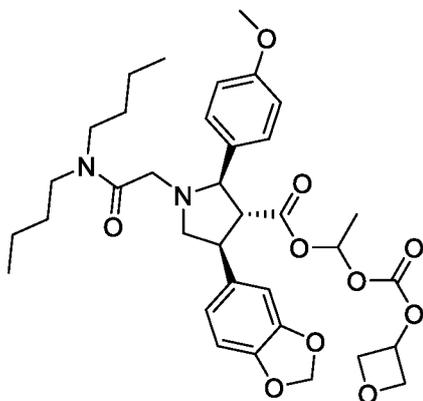
хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 3/1) с получением 80 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-(((R)-1,4-диоксан-2-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 59,9%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,16 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 699,42.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,24 (дд, J = 11,6, 8,6 Гц, 2H), 7,06 (д, J = 11,4 Гц, 1H), 6,91 (дд, J = 8,6, 2,7 Гц, 2H), 6,85–6,75 (м, 2H), 6,59–6,53 (м, 1H), 5,99 (д, J = 6,0 Гц, 2H), 4,06 (дд, J = 9,5, 4,7 Гц, 2H), 3,75–3,56 (м, 8H), 3,53 (д, J = 9,9 Гц, 1H), 3,50–3,41 (м, 2H), 3,29–3,21 (м, 5H), 2,95 (дд, J = 18,3, 10,6 Гц, 3H), 2,79–2,73 (м, 1H), 2,69 (д, J = 14,1 Гц, 1H), 1,33 (т, J = 8,5 Гц, 3H), 1,29–1,21 (м, 3H), 1,17 (дд, J = 14,8, 7,4 Гц, 3H), 0,96 (д, J = 4,7 Гц, 2H), 0,81 (т, J = 7,3 Гц, 3H), 0,71 (т, J = 7,3 Гц, 3H).

#### Вариант осуществления 10

**Сложный эфир 1-(((оксетан-3-ил)окси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



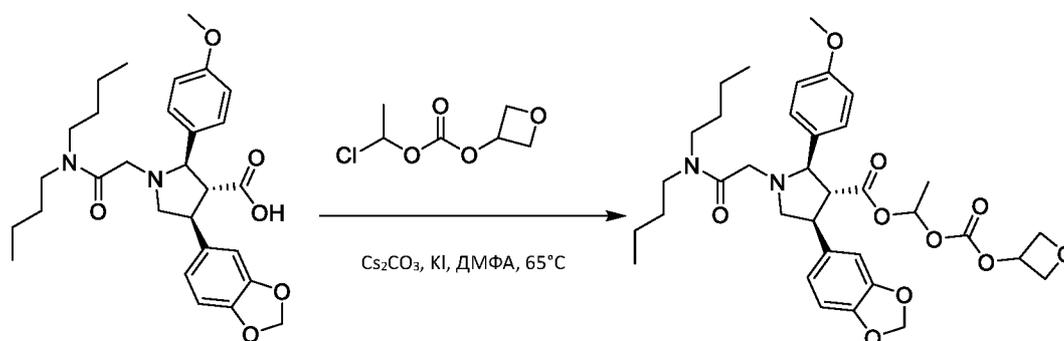
#### Этап А: 1-хлорэтил оксетан-3-ил карбонат



В условиях ледяной бани, оксетан-3-ол (176 мг, 2,38 ммоль) и пиридин (225 мг, 2,85 ммоль) вводят в 10 мл сухого дихлорметана; 1-хлорэтил хлорформиат (408 мг, 2,85 ммоль) вводят по каплям в условиях ледяной бани; и, по окончании введения, повышают температуру до комнатной температуры для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды, выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; выполняют фильтрацию и концентрирование и выполняют выпаривание до сухого состояния; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 10/1) с получением 200 мг бесцветного маслянистого продукта - 1-хлорэтил оксетан-3-ил карбоната (выход: 46,7%).

**Этап В: Синтез сложного эфира 1-(((оксетан-3-ил)окси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (100 мг, 0,2 ммоль), 1-хлорэтил оксетан-3-ил карбонат (54 мг, 0,3 ммоль), карбонат цезия (130 мг, 0,4 ммоль) и йодид калия (66,4 мг, 0,4 ммоль) вводят в 5 мл сухого диметилформаида и повышают температуру до 65°С для осуществления реакции в течение 4 часов.

По окончании реакции, реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 3/1) с получением 76 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-(((оксетан-3-ил)окси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход:

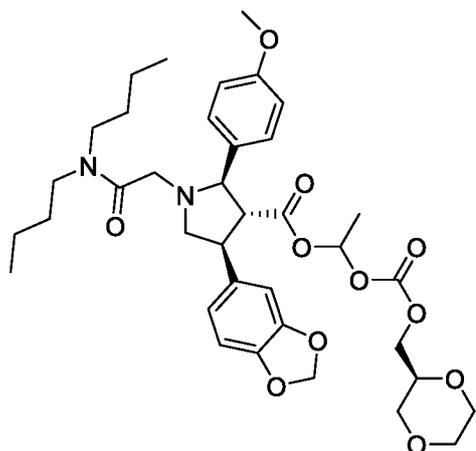
58,0%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,18 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 655,39.

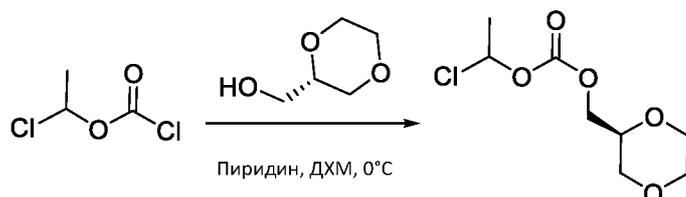
<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 7,24 (т, J = 8,4 Гц, 2H), 7,05 (д, J = 12,1 Гц, 1H), 6,94–6,86 (м, 2H), 6,85–6,71 (м, 2H), 6,61–6,50 (м, 1H), 5,99 (д, J = 5,7 Гц, 2H), 5,41–5,26 (м, 1H), 4,82–4,63 (м, 2H), 4,53–4,32 (м, 2H), 3,80–3,60 (м, 4H), 3,57–3,41 (м, 1H), 3,27–3,11 (м, 4H), 2,98 (дд, J = 14,1, 6,6 Гц, 3H), 2,82 – 2,74 (м, 1H), 2,68 (с, 1H), 1,32 (т, J = 7,1 Гц, 3H), 1,26 (дд, J = 18,2, 7,3 Гц, 3H), 1,17 (дд, J = 14,8, 7,1 Гц, 3H), 0,96 (д, J = 6,6 Гц, 2H), 0,81 (т, J = 7,3 Гц, 3H), 0,71 (т, J = 7,3 Гц, 3H).

### Вариант осуществления 11

Сложный эфир 1-(((S)-1,4-диоксан-2-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата



### Этап А: ((S)-1,4-диоксан-2-ил)метил(1-хлорэтил)карбонат

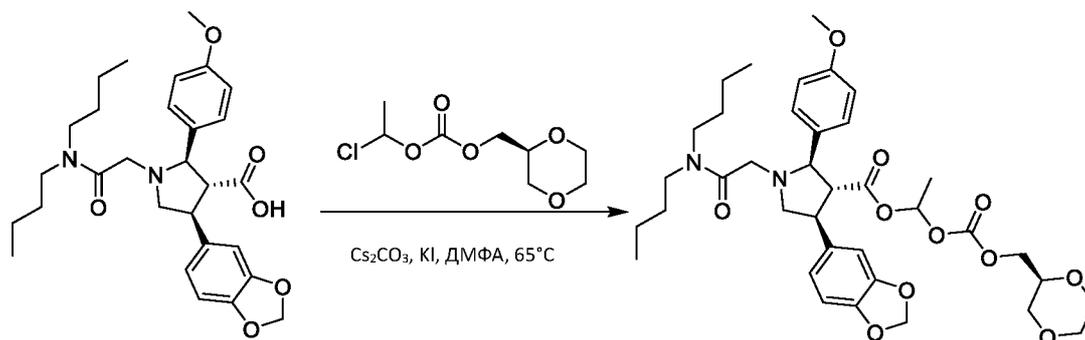


В условиях ледяной бани, ((S)-1,4-диоксан-2-ил)метанол (280 мг, 2,38 ммоль) и пиридин (225 мг, 2,85 ммоль) вводят в 10 мл сухого дихлорметана; 1-хлорэтил хлорформиат (408 мг, 2,85 ммоль) вводят по каплям в условиях ледяной бани; и, по окончании введения, повышают температуру до комнатной температуры для осуществления реакции в течение 2 часов.

По окончании реакции, смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды, выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); выполняют промывание насыщенной солью водой

(50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат = 10/1) с получением 219 мг бесцветного маслянистого продукта - ((S)-1,4-диоксан-2-ил)метил(1-хлорэтил)карбоната (выход: 41,0%).

**Этап В: Синтез сложного эфира 1-(((S)-1,4-диоксан-2-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата**



При комнатной температуре, атрасентан(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоновая кислота (100 мг, 0.20 ммоль), ((S)-1,4-диоксан-2-ил)метил(1-хлорэтил)карбонат (44,8 мг, 0,3 ммоль), карбонат цезия (130 мг, 0,4 ммоль) и йодид калия (66,4 мг, 0,4 ммоль) вводят в 5 мл сухого диметилформаида и повышают температуру до 65°C для осуществления реакции в течение 4 часов.

По окончании реакции, реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры; смесь заливают в 40 мл раствора ледяной воды; выполняют экстракцию дихлорметаном (20 мл × 3); объединение органической фазы; выполняют промывание насыщенной солью водой (50 мл); выполняют осушение безводным сульфатом магния; фильтруют и концентрируют под вакуумом до осушения; соединение-сырец очищают методом хроматографии на колонке с силикагелем (элюент: н-гексан/этилацетат=3/1) с получением 92 мг бесцветного маслянистого продукта – сложного эфира 1-(((S)-1,4-диоксан-2-ил)метокси)карбонил)окси)этил-(2R,3R,4S)-4-(бензо[d][1,3]диоксолан-5-ил)-1-[2-(дибутиламино)-2-оксоэтил]-2-(4-метоксифенил)пирролидин-3-карбоксилата (выход: 65,8%).

ЖХ-МС: RT (время пребывания) = 2,14 мин., [M+H]<sup>+</sup> = 699,43.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО)  $\delta$  7,24 (дд,  $J = 11,6, 8,7$  Гц, 2H), 7,06 (д,  $J = 10,7$  Гц, 1H), 6,91 (дд,  $J = 8,6, 2,7$  Гц, 2H), 6,85–6,70 (м, 2H), 6,59–6,53 (м, 1H), 5,99 (д,  $J = 6,2$  Гц, 2H), 4,09–3,97 (м, 2H), 3,75–3,65 (м, 6H), 3,56 (дд,  $J = 22,9, 9,5$  Гц, 3H), 3,47–3,38 (м, 2H), 3,23 (дд,  $J = 31,0, 20,1$  Гц, 5H), 2,96 (дт,  $J = 16,3, 8,0$  Гц, 3H), 2,84–2,62 (м, 2H), 1,33 (т,  $J = 8,2$  Гц, 3H), 1,29–1,20 (м, 3H), 1,19–1,07 (м, 3H), 0,96 (д,  $J = 7,4$  Гц, 2H), 0,81 (т,  $J = 7,3$  Гц, 3H), 0,71 (т,  $J = 7,3$  Гц, 3H).

## **Вариант осуществления 12**

Исследование соединения на микросомах

(1) Материал для эксперимента

Все микросомы печени человека приобретены у организации «Research Institute for Liver Diseases (Shanghai) Co. Ltd.».

Растворители: диметилсульфоксид (ДМСО), ацетонитрил, формиатная кислота, пропранолол (внутренний эталон), имеющиеся в продаже.

Измерительный прибор: система ЖХ-МС производства компании «Thermo Fisher» (устройство сверхпроизводительной жидкостной хроматографии U300, трехквadrupольный масс-спектрометр TSQ QUANTUMN ULTRA).

(2) Методика проведения эксперимента

Некоторое количество соединения точно отвешивают и растворяют в ДМСО с получением маточного раствора с концентрацией 10 ммоль; маточный раствор разводят до рабочего раствора с концентрацией 100 мкМ разбавителем (ацетонитрил (ACN): $\text{H}_2\text{O}$ =1:1); далее рабочий раствор разводят калий-фосфатным буфером с концентрацией 0,1 М до вводимого раствора с концентрацией 3 мкМ для последующего применения. Микросомы печени в объеме 75 мкл вводят в 925 мкл калий-фосфатного буфера концентрацией 0,1 М с получением путем тщательного смешивания суспензии микросом печени в концентрации 1,5 мг/мл, которую предварительно инкубируют в течение 10 минут при 37°C. Препарат нулевой точки: 15 мкл суспензии микросом печени вводят в раствор НАДФН с концентрацией 6 ммоль, незамедлительно вводят 150 мкл раствора пропранолол ацетонитрила для осаждения, далее вводят 15 мкл вводимого раствора и тщательно перемешивают для последующего использования. Подготовка образца в течение 20 минут и 60 минут: 15 мкл вводимого раствора вводят по отдельности в 15 мкл суспензии микросом печени и 15 мкл раствора НАДФН в концентрации 6 ммоль с тщательным перемешиванием,

далее данные смеси инкубируют соответственно в течение 20 минут и 60 минут при 37°C. Подготовку вышеуказанных образцов осуществляют параллельно с двойными лунками. По достижении соответствующих значений продолжительности инкубирования образцов, вводят 150 мкл раствора пропранолол ацетонитрила для прекращения реакции. Все образцы центрифугируют в течение 5 минут на скорости 4000 об/мин; вводят 100 мкл супернатанта в 100 мкл сверхчистой воды и тщательно перемешивают для анализа методом ЖХ-МС/МС. Определение методом ЖХ-МС/МС осуществляют в следующих условиях.

Хроматографическая колонка: Waters ACQUITY™ PREMIER HSS T3, 50\*2,1 мм, 1,8 мкм.

Подвижная фаза: градиентное элюирование смесью воды с (0,1% формиатная кислота)-ацетонитрилом по следующей таблице.

Время, мин.	Вода (с 0,1%-ным содержанием формиатной кислоты)	Ацетонитрил
0	85%	15%
0,6	85%	15%
1	20%	80%
2,3	20%	80%
2,31	85%	15%
3	85%	15%

### (3) Обработка данных

Приняв исходную нулевую точку за 100%, вычисляют относительное остаточное количество препарата в каждый момент времени; приняв атрасентан за 100% в каждый момент времени, вычисляют относительное количество соединения по варианту осуществления в пересчете на атрасентан. Результаты приведены в Таблице 2 и Таблице 3.

Таблица 2. Изменение первоначальной формы каждого из препаратов в микросомах

Вид	Матрица	Соединение	Время	Оставшаяся первоначальная форма (%)
			(мин)	Среднее значение
Человек	Микросома печени (+НАДФН)	Атрасентан		100,0
				83,3
				50,3
		1	0	100,0
			20	0,5
			60	0,7
		2	0	100,0
			20	67,8
			60	1,6

		3	0	100,0
			20	0,04
			60	0,06
		4	0	100,0
			20	0
			60	0
		5	0	100,0
			20	0
			60	0
		6	0	100,0
			20	0,0
			60	0,7
		7	0	100,0
			20	0,10
			60	0,47
		8	0	100,0
			20	0,04
			60	0,03
		9	0	100,0
			20	0,1
			60	0,0
		10	0	100,0
			20	0,0
			60	0,0
		11	0	100,0
			20	0,5
			60	0,0

Таблица 3. Количество соединения по варианту осуществления, превратившегося в атрасентан в микросомах

Вид	Матрица	Соединение	Время	Количество образовавшегося атрасентана
			(мин)	Среднее значение
Человек	Микросома печени (+НАДФН)	1	0	0
			20	18,6
			60	33,1
		2	0	0
			20	54,8
			60	97,9
		3	0	0,1
			20	113,4
			60	104,0
		4	0	0,3
			20	73,2

		60	77,1
5	0	76,0	
	20	73,4	
	60	82,4	
6	0	67,3	
	20	61,0	
	60	54,5	
7	0	1,3	
	20	115,1	
	60	107,3	
8	0	26,5	
	20	29,0	
	60	27,4	
9	0	3,6	
	20	36,4	
	60	36,6	
10	0	6,5	
	20	42,6	
	60	46,1	
11	0	9,1	
	20	55,9	
	60	51,7	

Результаты свидетельствуют о том, что соединение по Варианту осуществления 3 может быстро метаболизироваться в микросомах человека и полностью превращаться в атрасентан.

### **Вариант осуществления 13**

Фармакокинетическое исследование соединения на крысах

#### **(1) Материал для эксперимента**

Крысы линии Спрег-Доули (SD, англ. Sprague Dawley): самцы, 200-300 г, приобретены у компании «Бэйцзин Вайтал Ривер Лаборатори Энимал Текнолоджи Ко., Лтд.».

Растворители: диметилсульфоксид (ДМСО), полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ-400), физраствор, гепарин, ацетонитрил, формиатная кислота, пропранолол (внутренний эталон), имеющиеся в продаже.

Измерительный прибор: система ЖХ-МС/МС производства компании «Thermo Fisher» (устройство сверхпроизводительной жидкостной хроматографии U300, трехкврупольный масс-спектрометр TSQ QUANTUMN ULTRA).

#### **(2) Методика проведения эксперимента**

Соединение отвешивают и разводят в системе ДМСО-ПЭГ-400-физраствор (5:60:35, об/об/об); после того, как крысы получают препарат путем внутрижелудочного введения, берут 200 мкл венозной крови на 15-й минуте, 30-й минуте, 1-м часу, 2-м часу, 5-м часу, 7-м часу, 24-м часу после введения в гепаринизированные пробирки типа Эппендорф (EP) с фтористым натрием; центрифугируют в течение 2 минут на скорости 12000 об/мин; отбирают плазму и хранят ее на холоде при -80°C для последующего определения. Отвешивают некоторое количество испытуемого образца и разводят ДМСО до концентрации 2 мг/мл в качестве маточного раствора. Точно отмеривают достаточное количество маточного раствора соединения пипеткой и вводят ацетонитрил для разведения с получением растворов типовой серии. Точно отмеряют пипеткой по 20 мкл каждого раствора типовой серии; вводят 180 мкл холостой плазмы; тщательно перемешивают на вортексе; готовят плазменные образцы, эквивалентные плазменной концентрации 1, 3, 5, 10, 30, 100, 300, 1000 и 3000 нг/мл; выполняют двухступенчатый анализ с каждой из концентраций и получают градуировочную кривую. Берут 30 мкл плазмы; вводят 200 мкл ацетонитрилового раствора внутреннего эталона – пропранолола (50 нг/мл); тщательно перемешивают на вортексе, далее вводят 100 мкл очищенной воды и вновь тщательно перемешивают на вортексе; центрифугируют в течение 5 минут на скорости 4000 об/мин; и отбирают супернатант для анализа методом ЖХ-МС/МС. Определение методом ЖХ-МС/МС осуществляют в следующих условиях.

Хроматографическая колонка: Waters ACQUITY™ PREMIER HSS T3, 50\*2,1 мм, 1,8 мкм.

Подвижная фаза: градиентное элюирование смесью воды с (0,1% формиатная кислота)-ацетонитрилом по следующей таблице.

Время, мин.	Вода (с 0,1%-ным содержанием формиатной кислоты)	Ацетонитрил
0	85%	15%
0,6	85%	15%
1	20%	80%
2,3	20%	80%
2,31	85%	15%
3	85%	15%

### (3) Обработка данных

Определив концентрацию препарата в крови методом ЖХ-МС/МС, вычисляют

фармакокинетические параметры на некомпартментной модели, полученной с помощью программного продукта WinNonlin 6.1. Результаты приведены в Таблице 4.

Таблица 4: Фармакокинетические параметры атрасентана после получения крысами линии SD атрасентана, соединения по Варианту осуществления 3 и соединения по

Варианту осуществления 4 путем внутрижелудочного введения

Вид	Соединение	Доза (мг/кг), путь введения	T <sub>max</sub> (ч)	C <sub>max</sub> (нг/мл)	Конечная площадь под кривой AUC <sub>last</sub> (ч*нг/мл)	T <sub>1/2</sub> (ч)
Крыса SD	Атрасентан	5,0, п/о	0,58	877	2028	1,7
	2	5,0, п/о	0,5	349	2140	7,0
	3	5,0, п/о	1,92	494	2867	16,3
	4	5,0, п/о	3,0	512	2637	5,07

Примечание: Доза введения указана в пересчете на количество атрасентана

Экспозиция соединений по Вариантам осуществления 3 и 4 выше экспозиции атрасентана при одинаковой дозе и превосходит атрасентан после внутрижелудочного введения.

#### Вариант осуществления 14

Фармакокинетическое исследование соединения на крысах

(1) Материал для эксперимента

Крысы линии SD: самцы, 200-300 г, приобретены у компании «Бэйцзин Вайтал Ривер Лаборатори Энималь Текнолоджи Ко., Лтд.».

Растворители: диметилсульфоксид (ДМСО), полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ-400), физраствор, гепарин, ацетонитрил, формиатная кислота, пропранолол (внутренний эталон), имеющиеся в продаже.

Измерительный прибор: Система ЖХ-МС/МС производства компании «Thermo Fisher» (устройство сверхпроизводительной жидкостной хроматографии U300, трехкврупольный масс-спектрометр TSQ QUANTUMN ULTRA).

(2) Методика проведения эксперимента

Соединение отвешивают и разводят в системе ДМСО-ПЭГ-400-физраствор (5:60:35, об/об/об); после того, как крысы получают препарат путем внутрижелудочного введения, берут 200 мкл венозной крови на 15-й минуте, 30-й минуте, 1-м часу, 2-м часу, 5-м часу, 7-м часу, 24-м часу после введения в гепаринизированные пробирки типа Эппендорф (EP) с

фтористым натрием; центрифугируют в течение 2 минут на скорости 12000 об/мин; отбирают плазму и хранят ее на холоде при -80°C для последующего определения. Отвешивают некоторое количество испытуемого образца и разводят ДМСО до концентрации 2 мг/мл в качестве маточного раствора. Точно отмеривают достаточное количество маточного раствора соединения пипеткой и вводят ацетонитрил для разведения с получением растворов типовой серии. Точно отмеряют пипеткой по 20 мкл каждого раствора типовой серии; вводят 180 мкл холостой плазмы; тщательно перемешивают на вортексе; готовят плазменные образцы, эквивалентные плазменной концентрации 1, 3, 5, 10, 30, 100, 300, 1000 и 3000 нг/мл; выполняют двухступенчатый анализ с каждой из концентраций и получают градуировочную кривую. Берут 30 мкл плазмы; вводят 200 мкл ацетонитрилового раствора внутреннего эталона – пропранолола (50 нг/мл); тщательно перемешивают на вортексе, далее вводят 100 мкл очищенной воды и вновь тщательно перемешивают на вортексе; центрифугируют в течение 5 минут на скорости 4000 об/мин; и отбирают супернатант для анализа методом ЖХ-МС/МС. Определение методом ЖХ-МС/МС осуществляют в следующих условиях.

Хроматографическая колонка: Waters ACQUITY™ PREMIER HSS T3, 50\*2,1 мм, 1,8 мкм.

Подвижная фаза: градиентное элюирование смесью воды с (0.1% формиатная кислота)-ацетонитрилом по следующей таблице.

Время, мин.	Вода (с 0,1%-ным содержанием формиатной кислоты)	Ацетонитрил
0	85%	15%
0,6	85%	15%
1	20%	80%
2,3	20%	80%
2,31	85%	15%
3	85%	15%

### (3) Обработка данных

Определив концентрацию препарата в крови методом ЖХ-МС/МС, вычисляют фармакокинетические параметры на некомпартментной модели, полученной с помощью программного продукта WinNonlin 6.1. Результаты приведены в Таблице 4.

Таблица 4: Фармакокинетические параметры атрасентана после получения крысами линии SD атрасентана и соединения по Варианту осуществления 7 путем

внутрижелудочного введения

Вид	Соединение	Доза (мг/кг), путь введения	Tmax(ч)	Cmax(нг/мл)	Конечная площадь под кривой AUClast(ч*нг/мл)	T1/2(ч)
Крыса SD	7	5,0, п/о	0,5	151	461	2,31

Очевидно, что, по сравнению с экспозицией атрасентана, экспозиция соединения по Варианту осуществления 7 у крыс является более низкой при одинаковой дозе и уступает атрасентану после внутрижелудочного введения.

В комбинации с Вариантами осуществления 12, 13 и 14, соединение по Варианту осуществления 3 в общем случае может быстро превращаться в атрасентан в условиях *in vitro* и *in vivo*, при этом его экспозиция выше экспозиции атрасентана в случае перорального введения эквимольной дозы.

Пример 15: Оценка испытуемых соединений в части противогипертонического эффекта и действия на функцию почек на модели крыс линии Dahl, чувствительных к развитию гипертензии при употреблении солевой диеты (крыс линии Dahl/SS, англ. Dahl Salt-Sensitive rats)

1. Экспериментальные животные и экспериментальные группы

В эксперименте использовались самцы крысы линии Dahl/SS, все без исключения приобретенные у компании «Бэйцзин Вэйтун Лихуа Лаборатори Энималь Текнолоджи Ко. Лтд.». По окончании периода адаптации, животных произвольно разделили на 5 групп в зависимости от их артериального базального давления и массы тела. Конкретные данные о распределении по группам и схеме введения доз приведены в нижеследующей Таблице 5:

Таблица 5: Экспериментальные животные и экспериментальные группы

Группа	Препарат	Число животных	Путь введения	Доза (мг/кг)
Нормальная контрольная группа	растворитель	8	Желудочный зонд	-
Модельная контрольная группа	растворитель	12	Желудочный зонд	-
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в малой дозе	соединение по Варианту осуществления 3	10	Желудочный зонд	10
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в средней дозе	соединение по Варианту осуществления 3	10	Желудочный зонд	20

Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в большой дозе	соединение по Варианту осуществления 3	10	Желудочный зонд	40
--	--	----	-----------------	----

## 2. Методики проведения эксперимента и результаты эксперимента

Все животные получали корм с концентрацией соли 0,3 % и приучались к устройству неинвазивного измерения кровяного давления в течение одной недели, после чего животных разделили на нормальную группу, модельную контрольную группу и три группы введения в зависимости от значения кровяного давления и массы тела. Нормальную группу продолжили кормить кормом с концентрацией соли 0,3 %, а модельную контрольную группу и три группы введения перевели на кормление кормом с концентрацией соли 8% в течение 6 недель. Препараты вводили одновременно в ходе моделирования, ежедневно через желудочный зонд и непрерывно в течение 6 недель. Время определения кровяного давления: определяли кровяное давление на 1-м, 3-м, 7-м и 24-м часах после введения и вычисляли площадь под кривой (AUC, англ. Area Under the Curve); время определения сывороточного креатинина: однократно перед распределением по группам и однократно по окончании эксперимента. По окончании эксперимента, почки крыс брали для проведения патогистологического исследования.

Измеренные показатели выражены в виде «среднее значение  $\pm$  среднеквадратичное отклонение». Если число образцов было меньше 3, данные по такой группе не включались в статистическое сравнение. Данные вводили и статистически анализировали с использованием программных продуктов Excel 2010, GraphPad Prism 7, SPSS 22.0 и Stata 15.0. Сперва измеренные показатели проверяли на однородность дисперсии по критерию Левена. Если дисперсия была однородной ( $P > 0.05$ ), результаты дисперсионного анализа были пригодны для непосредственного использования при принятии решения о статистической значимости общей дисперсии. Если общая дисперсия была статистически значимой ( $P \leq 0.05$ ), применяли t-критерий Даннета для сравнения различий между группами. Если общая дисперсия не была статистически значимой ( $P > 0,05$ ), статистический анализ прекращали; если проверка на однородность по критерию Левена показывала, что дисперсия является однородной ( $P \leq 0,05$ ), применяли H-критерий Краскела-Уоллиса. Если проверка по H-критерию Краскела-Уоллиса показывала, что общая дисперсия была статистически значимой ( $P \leq 0,05$ ), применяли U-критерий Манна-Уитни для сравнения

различий между группами, если проверка по H-критерию Краскела-Уоллиса показывала, что общая дисперсия не была статистически значимой ( $P > 0,05$ ), статистический анализ прекращали.

Таблица 6: Результаты статистического анализа площади под кривой систолического кровяного давления (SBP-AUC) (Среднее $\pm$ СКО)

Группа	SBP-AUC (мм рт.ст. * ч)
	6-я неделя
Нормальная контрольная группа	3849,63 $\pm$ 121,49
Модельная контрольная группа	4440,00 $\pm$ 358,77*
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в малой дозе	4049,60 $\pm$ 207,83 <sup>&amp;</sup>
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в средней дозе	4045,30 $\pm$ 281,73 <sup>&amp;</sup>
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в большой дозе	4104,80 $\pm$ 239,23 <sup>&amp;</sup>

Примечание: \* $P \leq 0,05$  указывает на статистически значимую дисперсию в сравнении с нормальной контрольной группой, <sup>&</sup> $P \leq 0,05$  указывает на статистически значимую дисперсию в сравнении с модельной контрольной группой.

Таблица 7: Результаты статистического анализа сывороточного креатинина (среднее $\pm$ СКО)

Группа	Креатинин в крови (мкмоль/л)	
	0-я неделя	6-я неделя
Нормальная контрольная группа	19,25 $\pm$ 1,28	28,75 $\pm$ 1,16
Модельная контрольная группа	19,58 $\pm$ 1,00	28,36 $\pm$ 1,96
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в малой дозе	20,30 $\pm$ 2,06	25,00 $\pm$ 2,05* <sup>&amp;</sup>
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в средней дозе	19,50 $\pm$ 0,97	24,70 $\pm$ 1,57* <sup>&amp;</sup>
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в большой дозе	19,30 $\pm$ 1,06	24,90 $\pm$ 2,42* <sup>&amp;</sup>

Примечание: \* $P \leq 0,05$  указывает на статистически значимую дисперсию в сравнении с нормальной контрольной группой, <sup>&</sup> $P \leq 0,05$  указывает на статистически значимую дисперсию в сравнении с модельной контрольной группой.

Таблица 8: Результаты статистического анализа степеней гломерулосклероза у животных (среднее $\pm$ СКО)

Группа	Степень гломерулосклероза (%)
	6-я неделя
Нормальная контрольная группа	0,34 $\pm$ 0,29
Модельная контрольная группа	1,72 $\pm$ 1,09*
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в малой дозе	0,84 $\pm$ 0,43 <sup>&amp;</sup>

Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в средней дозе	0,93±0,42 <sup>&amp;</sup>
Группа, получавшая соединение по Варианту осуществления 3 в большой дозе	0,77±0,35 <sup>&amp;</sup>

Примечание: \* $P \leq 0,05$  указывает на статистически значимую дисперсию в сравнении с нормальной контрольной группой, & $P \leq 0,05$  указывает на статистически значимую дисперсию в сравнении с модельной контрольной группой.

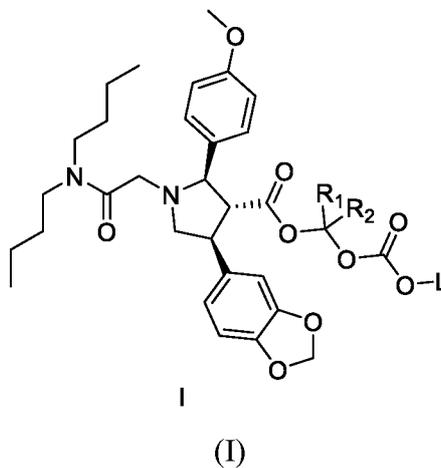
По приведенным выше результатам анализа, в условиях данного эксперимента, при дозе 10 мг/кг ~ 40 мг/кг, введение соединения по Варианту осуществления 3 один раз в сутки в ходе моделирования оказывало значительное влияние на снижение кровяного давления.

При этом, в условиях данного эксперимента, фильтрующая функция и экскреторная функция почек крыс линии Dahl, чувствительных к развитию гипертензии при употреблении солевой диеты, серьезно ухудшились в результате кормления кормом с высоким содержанием соли в течение 2 недель. Однако введение соединения по Варианту осуществления 3 в дозах 10 мг/кг ~ 40 мг/кг один раз в сутки в период кормления кормом с высоким содержанием соли значительно снизило степень нарушения фильтрующей функции и экскреторной функции почек, при этом Соединение по Варианту осуществления 3 значительно снизило степень патологических изменений почечной ткани.

Раскрытые выше варианты осуществления представляют собой предпочтительные варианты осуществления изобретения по настоящей заявке, при этом варианты осуществления изобретения по настоящей заявке не ограничены ими, а любые иные изменения, модификации, замены, комбинации и упрощения без отступления от существа и принципа изобретения по настоящей заявке должны рассматриваться как эквивалентные замены и входят в объем охраны изобретения по настоящей заявке.

## Формула изобретения

1. Соединение формулы (I), или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором



где  $R_1$  – водород или  $C_{1-6}$ -алкил;  $R_2$  – водород или  $C_{1-6}$ -алкил, или  $R_1$  и  $R_2$  совместно образуют  $C_{3-6}$ -циклоалкил;  $L$  выбран из замещенных или незамещенных  $C_{1-6}$ -алкила,  $C_{3-6}$ -циклоалкила,  $C_{1-6}$ -алкокси, или замещенного или незамещенного  $-(CH_2)_n$ -гетероцикла; при этом  $n$  представляет собой натуральное число от 0 до 3.

2. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором заместитель замещенного  $C_{1-6}$ -алкила включает гидроксил, фосфорил, амина или  $C_{1-6}$ -алкилзамещенный амина; заместитель замещенного  $-(CH_2)_n$ -гетероцикла включает  $C_{1-6}$ -алкил, гидроксил или карбонил; при этом гетероцикл выбран из насыщенного или ненасыщенного  $C_{3-6}$  гетероцикла, при этом более одного атома  $C$  в гетероцикле замещены  $O$ ,  $N$  или  $S$ .

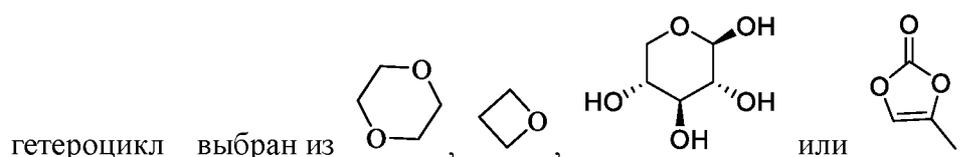
3. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором  $R_1$  и  $R_2$  не являются водородом одновременно.

4. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором  $C_{1-6}$ -алкил включает метил, этил, пропил, изопропил,  $n$ -бутил, изобутил, втор-бутил или трет-бутил.

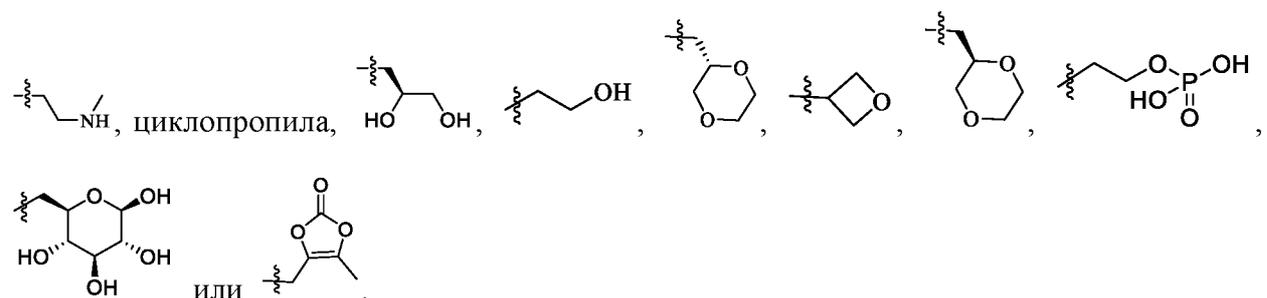
5. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер,

диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором С<sub>3-6</sub>-циклоалкил включает циклопропан, циклобутан, циклопентан или циклогексан.

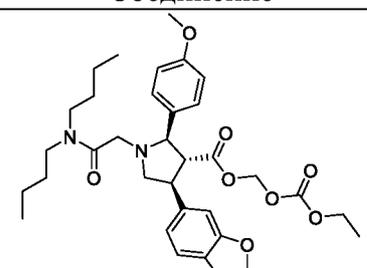
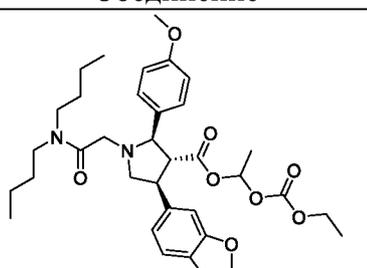
6. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором С<sub>1-6</sub>-алкокси включает метокси, этокси, пропокси, изопропокси, н-бутокси, изобутокси, втор-бутокси или трет-бутокси; при этом замещенный или незамещенный

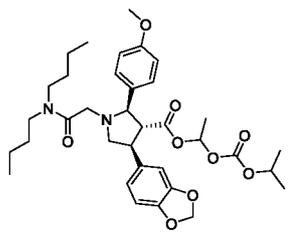
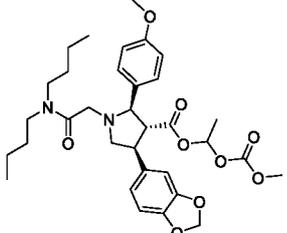
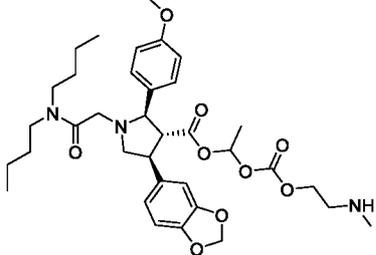
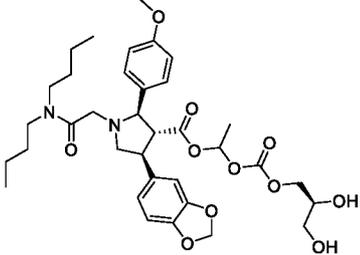
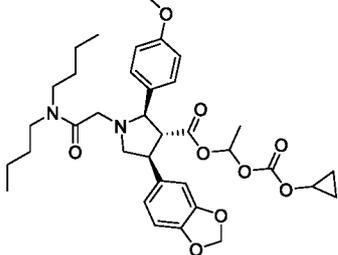
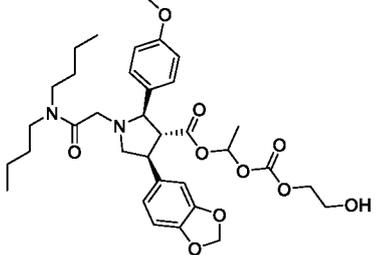
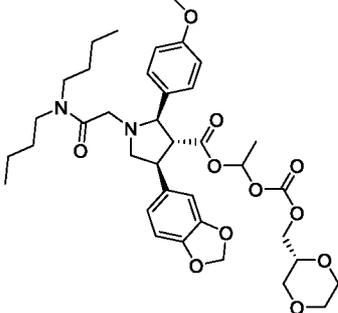
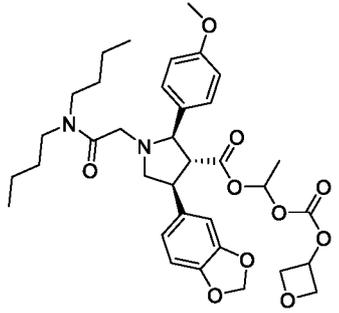
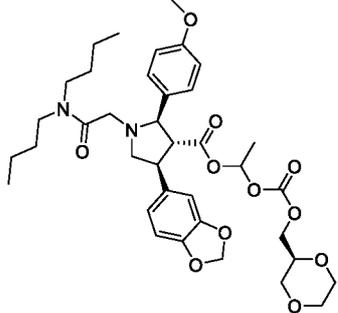
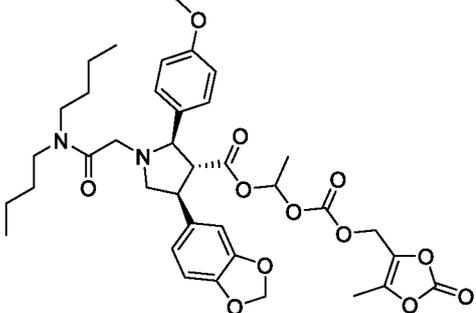
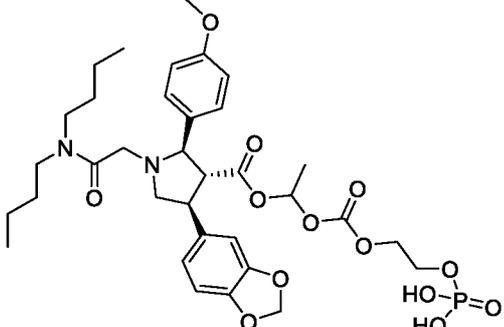
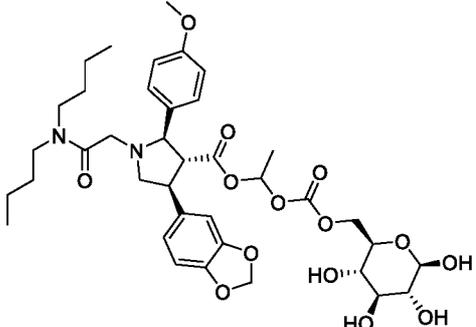


7. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в котором R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо друг от друга выбраны из водорода или метила, при этом R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> не являются водородом одновременно; при этом L выбран из метила, этила, изопропила,



8. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из нижеследующих соединений:

№	Соединение	№	Соединение
1		2	

3		4	
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	

9. Соединение по п. 1, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесевая форма, или его фармацевтически приемлемая соль, в

котором фармацевтически приемлемая соль соединения означает соль, полученную путем введения соединения, или его таутомера, или его мезомера, или его рацемата, или его энантиомера в реакцию с фармацевтически приемлемыми кислотой или основанием.

10. Применение соединения по любому из п.п. 1 - 9, или его таутомера, мезомера, рацемата, энантиомера, диастереомера, или его смеси, или его фармацевтически приемлемой соли в приготовлении лекарственных средств для лечения и/или предотвращения заболеваний, связанных с антагонизмом к эндотелиновым А (ЭТА)-рецепторам.

11. Применение по п. 10, в котором заболевания включают хроническую почечную недостаточность, IgA-нефропатию, фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС) или гипертензию.

12. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из п.п. 1 - 9, или его таутомер, мезомер, рацемат, энантиомер, диастереомер, или его смесь, или его фармацевтически приемлемую соль и один или более фармацевтически приемлемых носителей.