

# РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2822271

### Производные 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзил)изатина, обладающие антиагрегационной активностью

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук" (RU)*

Авторы: *Богданов Андрей Владимирович (RU), Самородов Александр Владимирович (RU), Валиуллина Зульфия Альбертовна (RU), Ванг Юи (RU), Алабугин Игорь Владимирович (RU)*

Заявка № 2023134595

Приоритет изобретения **22 декабря 2023 г.**

Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **03 июля 2024 г.**

Срок действия исключительного права на изобретение истекает **22 декабря 2043 г.**

*Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности*

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ  
Сертификат 429b6a0fe3853164baf96f83b73b4aa7  
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**  
Действителен с 10.05.2023 по 02.08.2024

*Ю.С. Зубов*





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/4353 (2024.01); A61P 7/02 (2024.01); C07D 491/147 (2024.01); A61K 2121/00 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023134595, 22.12.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.12.2023Дата регистрации:  
03.07.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.12.2023

(45) Опубликовано: 03.07.2024 Бюл. № 19

Адрес для переписки:

420088, Рес. Татарстан, г. Казань, ул. Арбузова,  
8, Калачев Алексей Алексеевич

(72) Автор(ы):

Богданов Андрей Владимирович (RU),  
Самородов Александр Владимирович (RU),  
Валиуллина Зульфия Альбертовна (RU),  
Ванг Юи (RU),  
Алабугин Игорь Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

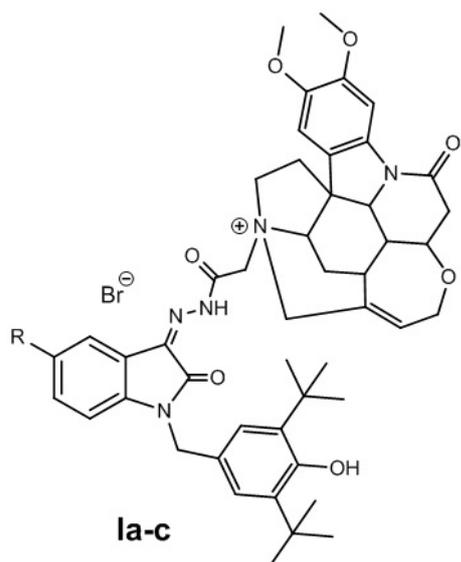
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки "Федеральный  
исследовательский центр "Казанский  
научный центр Российской академии наук"  
(RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: БОГДАНОВ А.В. и др., СИНТЕЗ,  
ПРОТИВОМИКРОБНАЯ,  
АНТИАГРЕГАЦИОННАЯ И  
АНТИКОАГУЛЯЦИОННАЯ  
АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  
ИЗАТИНА, СОДЕРЖАЩИХ  
ГЕТЕРОАННЕЛИРОВАННЫЙ  
ИМИДАЗОЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ,  
ЖУРНАЛ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ,  
2022, Т.58, N 3, с.317-325. PATRONO C. et al,  
Antiplatelet agents for the treatment and  
prevention of atherothrombosis, Eur Heart J, 2011,  
(см. прод.)

(54) Производные 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзил)изатина, обладающие антиагрегационной активностью

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к фармацевтической химии и фармакологии, а именно к производному бромиды 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксibenзил)индол-2-он-3-(4aR,4a1R,5aS,8aS,8a1S,15aS)-6-(2-гидразино-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-декагидро-2H,14H-4,6-метаноиндоло[3,2,1-ij]оксепино[2,3,4-de]пирроло [2,3-h]-6-хинолиния общей формулы Ia-c, а также к применению указанного соединения в качестве

средства, обладающего антиагрегационной активностью. Технический результат изобретения заключается в расширении арсенала биологически активных веществ, проявляющих антиагрегационную активность. 2 н.п. ф-лы, 1 ил., 1 табл., 5 пр.



где R = CH<sub>3</sub> (Ia), OCH<sub>3</sub> (Ib), H (Ic)

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю
1	Ia	-3,1 (2,7-5,1)	-17,8 (16,9-19,7)**, #	-18,7 (16,5-19,2)**, #	+17,2 (16,4-19,3)**, #
2	Ib	-25,0 (21,5-28,5)**, ##	-20,7 (17,8-22,4)**, #	-16,9 (14,8-18,3)*, #	+19,3 (17,6-20,5)**, ##
3	Ic	+14,6 (10,3-19,1)**, #	-25,4 (21,3-27,6)*, #	-36,7 (32,1-40,2)**, ##	+40,1 (36,2-42,3)**
4	Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1-2,6)	-13,7 (10,8-16,4)*	-10,5 (7,6-12,3)*	+10,5 (8,7-13,4)*

(56) (продолжение):

vol.32, no.23, p.2922-2932. RU 2453312 C1, 20.06.2012. RU 2486182 C2, 27.06.2013.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C07D 491/147* (2006.01)  
*A61K 31/4353* (2006.01)  
*A61P 7/02* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 31/4353* (2024.01); *A61P 7/02* (2024.01); *C07D 491/147* (2024.01); *A61K 2121/00* (2024.01)

(21)(22) Application: **2023134595, 22.12.2023**(24) Effective date for property rights:  
**22.12.2023**Registration date:  
**03.07.2024**

Priority:

(22) Date of filing: **22.12.2023**(45) Date of publication: **03.07.2024** Bull. № 19

Mail address:

**420088, Res. Tatarstan, g. Kazan, ul. Arbuzova, 8,  
Kalachev Aleksey Alekseevich**

(72) Inventor(s):

**Bogdanov Andrei Vladimirovich (RU),  
Samorodov Aleksandr Vladimirovich (RU),  
Valiullina Zulfia Albertovna (RU),  
Vang Iui (RU),  
Alabugin Igor Vladimirovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**"Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethoe  
uchrezhdenie nauki "Federalnyi issledovatel'skii  
tsentr "Kazanskii nauchnyi tsentr Rossiiskoi  
akademii nauk" (RU)**

(54) **DERIVATIVES OF 1-(3,5-DI-TERT-BUTYL-4-HYDROXYBENZYL)ISATIN HAVING ANTIAGGREGATORY ACTIVITY**

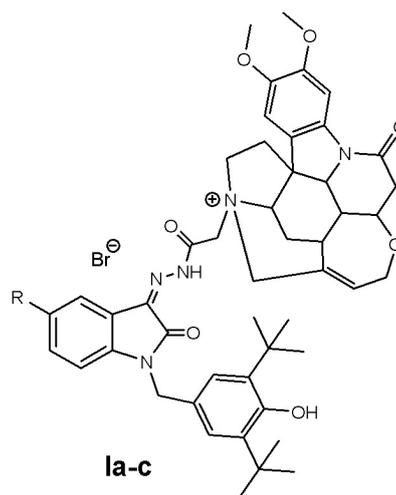
(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutical chemistry; pharmacology.

SUBSTANCE: group of inventions relates to bromide derivative 1-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzyl)indol-2-one-3-(4*aR*,4*a1R*,5*aS*,8*aS*,8*a1S*,15*aS*)-6-(2-hydrazino-2-oxoethyl)-10,11-dimethoxy-14-oxo-4*a*,4*a1*,5,5*a*,6,7,8,8*a1*,15,15*a*-*decahydro-2H,14H*-4,6-methanoindolo[3,2-*ij*]oxepino[2,3,4-*de*]pyrrolo[2,3-*h*]-6-quinolinium of general formula Ia-c, as well as to the use of said compound as an agent having antiaggregatory activity.

EFFECT: wider range of biologically active substances exhibiting antiaggregatory activity.

2 cl, 1 dwg, 1 tbl, 5 ex



where R = CH<sub>2</sub> (Ia), OCH<sub>2</sub> (Ib), H (Ic)

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю
1	Ia	-3,1 (2,7-5,1)	-17,8 (16,9-19,7)**, #	-18,7 (16,5-19,2)**, #	+17,2 (16,4-19,3)**, #
2	Ib	-25,0 (21,5-28,5)**, ##	-20,7 (17,8-22,4)**, #	-16,9 (14,8-18,3)*, #	+19,3 (17,6-20,5)**, ##
3	Ic	+14,6 (10,3-19,1)**, #	-25,4 (21,3-27,6)*, #	-36,7 (32,1-40,2)**, ##	+40,1 (36,2-42,3)**
4	Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1-2,6)	-13,7 (10,8-16,4)*	-10,5 (7,6-12,3)*	+10,5 (8,7-13,4)*

RU 2822271 C1

RU 2822271 C1

Группа изобретений относится к органической химии и фармацевтике, медицине, в частности, к фармацевтической химии и фармакологии, а именно к новым соединениям, обладающим антиагрегационной активностью, и может быть использовано для создания новых антиагрегационных препаратов.

5 Известно, что в качестве антиагрегационных средств последнего поколения разрешены к клиническому применению препараты L-цистеинамид, N<sup>6</sup>- (аминоиминометил)-N<sup>2</sup>-(3-меркапто-1-оксопропил)-L-лизилглицил-L-α-аспартил-L-триптофил-L-пролил-, циклический(1-6)-дисульфид («Интегрилин», Glaxo Operations UK Limited, Великобритания), N-(бутилсульфонил)-4-[4-(пиперидил)бутоксид]-L-фенилаланин гидрохлорид моногидрат (Тирофибан, «Агратат», Correvio, Великобритания), F(ab')<sub>2</sub> фрагменты мышиных моноклональных антител FRaMon против рецептора фибриногена тромбоцитов - GPIIb/IIIa («Монафрам<sup>®</sup>», ЗАО «Фрамон», Россия) [см. Holmes L.E. A randomized trial assessing the impact of three different glycoprotein IIb/IIIa antagonists on glycoprotein IIb/IIIa platelet receptor inhibition and clinical endpoints in patients with acute coronary syndromes / L.E. Holmes, R. Gupta, S. Rajendran, J. Luu, J.K. French, C.P. Juergens // Cardiovasc. Ther. - 2016, N21. doi: 10.1111/1755-5922.12203].

Однако несмотря на то, что данные соединения по результатам клинических исследований оказываются наиболее эффективными в условиях интервенционной кардиологии, применение их ограничено по причине высокой стоимости, развития аутоиммунных реакций [Patrono, C. Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis / C. Patrono, F. Andreotti, H. Arnesen // European Heart Journal. - 2011. - Vol. 32. - P. 2922-2932].

Наиболее близким аналогом изобретения и препаратом сравнения является ацетилсалициловая кислота (2-ацетилоксибензойная кислота), которая длительно и успешно применяется в практической медицине и имеет доказанную эффективность в качестве средства профилактики и лечения тромбоза и тромбоэмболических осложнений [2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke. 2018 Mar; 49(3):e138. doi: 10.1161/STR.000000000000163].

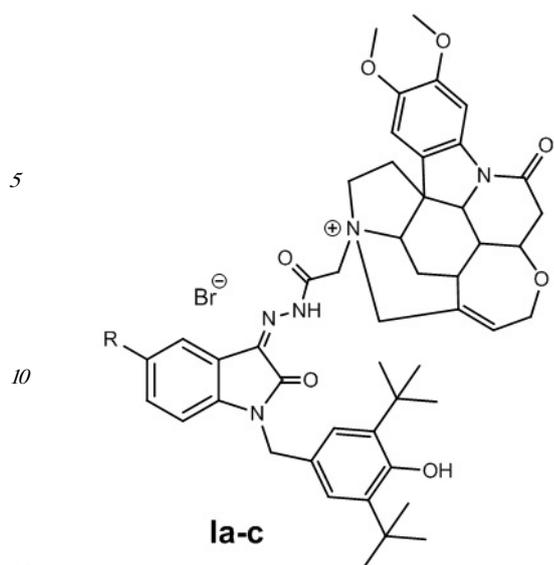
Недостатком прототипа является высокая частота аспиринорезистентности, нежелательные клинические явления в виде ulcerогенного и геморрагических эффектов [Patrono, C. Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis / C. Patrono, F. Andreotti, H. Arnesen // European Heart Journal. - 2011. - Vol. 32. - P. 2922-2932].

35 Техническая проблема, на решение которой направлена заявляемая группа изобретений, состоит в расширении арсенала биологически активных веществ, проявляющих антиагрегационную активность.

Техническим результатом являются новые соединения, расширяющие арсенал средств указанного назначения.

40 Указанная техническая проблема решается, и технический результат достигается впервые синтезированными соединениями - заявляемыми бромид 1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)индол-2-он-3-(4a*R*,4a*1R*,5a*S*,8a*S*,8a*1S*,15a*S*)-6-(2-гидразино-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-декагидро-2*H*,14*H*-4,6-метаноиндоло [3,2,1-*ij*]-оксепино[2,3,4-*de*]пирроло[2,3-*h*]-6-хинолиния общей формулы (Ia-c):

45



где R = CH<sub>3</sub> (Ia), OCH<sub>3</sub> (Ib), H (Ic)

Также техническая проблема решается, и технический результат достигается применением заявляемых бромид 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)индол-2-он-3-(4a*R*,4a1*R*,5a*S*,8a*S*,8a1*S*,15a*S*)-6-(2-гидразино-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-*декагидро-2H,14H*-4,6-метаноиндоло[3,2,1-*ij*]-оксепино[2,3,4-*de*]пирроло[2,3-*h*]-6-хинолиния общей формулы (Ia-c) в качестве антиагрегационных средств.

Заявляемые соединения синтезируют следующим образом.

Соединение (Ia) синтезируют в этаноле при температуре кипения растворителя в присутствии трифторуксусной кислоты при перемешивании взаимодействием в эквимольном соотношении 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-5-метилизатина, получаемого по методике [A catalyst-free and easy nucleophilic addition of certain isatins to sterically hindered 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylenecyclohexa-2,5-dienone / A.V. Bogdanov, S.V. Bukharov, Yu.N. Oludina, L.I. Musin, G.N. Nugumanova, V.V. Syakaev, V.F. Mironov // ARKIVOC. 2013. - V. III. - P. 424-435], и бромида (4a*R*,4a1*R*,5a*S*,8a*S*,8a1*S*,15a*S*)-6-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-*декагидро-2H,14H*-4,6-метаноиндоло-[3,2,1-*ij*]оксепино[2,3,4-*de*]пирроло[2,3-*h*]-6-хинолиния (II), полученного впервые взаимодействием в эквимольном соотношении бруцина и этилового эфира бромуксусной кислоты в среде этанола, выделением в виде осадка, его фильтрованием, промыванием диэтиловым эфиром, сушкой с дальнейшим взаимодействием полученного белого порошка при перемешивании с водным раствором гидразин гидрата до получения целевого продукта - соединения (Ia) в виде выпавшего осадка с последующим его выделением после охлаждения реакционной массы путем фильтрования, промывания диэтиловым эфиром с последующей сушкой на воздухе при комнатной (20-25°C) температуре.

Соединение (II) представляет из себя порошок белого цвета, без запаха. Слабо растворим в воде, хорошо растворим в диметилформамиде, диметилсульфоксиде.

Соединения (Ib), (Ic) получают аналогично соединению (Ia).

Соединение (Ib) синтезируют в этаноле при температуре кипения растворителя в присутствии трифторуксусной кислоты при перемешивании взаимодействием в эквимольном соотношении 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)-5-метоксиизатина [Isatin derivatives containing sterically hindered phenolic fragment and water-soluble acyl hydrazones on their basis: synthesis and antimicrobial activity / A.V. Bogdanov, I.F. Zaripova,

A.D. Voloshina, A.S. Strobykina, N.V. Kulik, S.V. Bukharov, V.F. Mironov // Russ. J. Gen. Chem. 2018. - Vol. 88. - No. 1. - P. 57-67] и бромида (4a*R*,4a*1R*,5a*S*,8a*S*,8a*1S*,15a*S*)-6-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-

5 4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-декагидро-2*H*,14*H*-4,6-метаноиндоло-[3,2,1-*ij*]оксепино [2,3,4-*de*]пирроло[2,3-*h*]-6-хинолиния (II) полученного впервые взаимодействием в эквимольном соотношении бруцина и этилового эфира бромуксусной кислоты в среде этанола, выделением в виде осадка, его фильтрованием, промыванием диэтиловым эфиром, сушкой с дальнейшим взаимодействием полученного белого порошка при перемешивании с водным раствором гидразин гидрата до получения целевого продукта  
10 - соединения (Ib) в виде выпавшего осадка с последующим его выделением после охлаждения реакционной массы путем фильтрования, промывания диэтиловым эфиром с последующей сушкой на воздухе при комнатной (20-25°C) температуре.

Соединение (Ic) синтезируют в этаноле при температуре кипения растворителя в присутствии трифторуксусной кислоты при перемешивании взаимодействием в  
15 эквимольном соотношении 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)изатина [Synthesis of sterically hindered phenolic compounds from indole and its derivatives / G.N. Nugumanova, S.V. Bukharov, R.G. Tagasheva, M.V. Kurapova, N.A. Mukmeneva, P.A. Gurevich, A.R. Burilov // Russ. J. Org. Chem. 2007. - Vol. 43. - No. 12. - P. 1797-1803] и бромида (4a*R*,4a*1R*,5a*S*,8a*S*,8a*1S*,15a*S*)-6-(2-гидразинил-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-  
20 4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-декагидро-2*H*,14*H*-4,6-метаноиндоло-[3,2,1-*ij*]оксепино [2,3,4-*de*]пирроло[2,3-*h*]-6-хинолиния (II) полученного впервые взаимодействием в эквимольном соотношении бруцина и этилового эфира бромуксусной кислоты в среде этанола, выделением в виде осадка, его фильтрованием, промыванием диэтиловым эфиром, сушкой с дальнейшим взаимодействием полученного белого порошка при  
25 перемешивании с водным раствором гидразин гидрата до получения целевого продукта - соединения (Ic) в виде выпавшего осадка с последующим его выделением после охлаждения реакционной массы путем фильтрования, промывания диэтиловым эфиром с последующей сушкой на воздухе при комнатной (20-25°C) температуре.

Пример 1.

30 Синтез соединения (II).

К взвеси 3,95 г (10 ммоль) бруцина в 7 мл этанола добавляют 0,44 мл (10 ммоль) этилового эфира бромуксусной кислоты. Полученную смесь перемешивают при 25°C в течение 3 часов. Осадок отфильтровывают, промывают диэтиловым эфиром, сушат на воздухе при комнатной (20-25°C) температуре. К полученному белому порошку при  
35 перемешивании при 25°C добавляют 2 мл 80% водного раствора гидразин гидрата. Полученную смесь перемешивают при 25°C в течение 6 часов. После этого выпавший осадок соединения (II) выделяют путем фильтрования, промывания диэтиловым эфиром с последующей сушкой на воздухе при комнатной (20-25°C) температуре. Получают 4,16 г (76%) соединения (II) в чистом виде. Белый аморфный порошок без запаха, Тпл.  
40 257-259°C.

Элементный анализ.

Найдено, %: С, 54.80; Н, 5.67; N, 10.19 - C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>5</sub>

Вычислено, %: С, 54.85; Н, 5.71; N, 10.23.

45 Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м.д.: 1,66-1,68 (1H, м, CH); 2,13-2,16 (1H, м, CH); 2,61-2,69 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3,74 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 3,80 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4,07-4,09 (1H, м, OCH); 4,13-4,22 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>); 4,30-4,44 (4H, м, CH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>); 4,70 (1H, уш. с, NCH); 6,40 (1H, м, =CH); 7,28 (1H, с, Ar-H); 7,64 (1H, с, Ar-H); 10,04 (1H, уш. с, NH).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 24,87 (CH); 29,39 (CH<sub>2</sub>); 39,05 (CH<sub>2</sub>); 41,41 (CH); 46,65 (CH); 52,36; 56,21 (CH<sub>3</sub>); 56,87 (CH<sub>3</sub>); 59,06 (CH); 60,11 (CH<sub>2</sub>); 62,84 (CH<sub>2</sub>); 63,71 (CH<sub>2</sub>); 63,79 (CH<sub>2</sub>); 74,08 (CH); 76,39 (CH); 100,84 (CH); 108,04 (CH); 120,55; 133,00; 135,94; 136,55 (CH); 146,48; 150,14; 162,14; 168,93.

Заявляемое соединение представляет собой белый аморфный порошок без запаха, растворимый в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, при нагревании в воде.

Пример 2. Синтез соединения (Ia).

К смеси 0,21 г (0,55 ммоль) 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)-5-метилизатина и 0,30 г (0,55 ммоль) бромиды N-бруцинияацетогидразида в 7 мл этанола добавляют 3 капли трифторуксусной кислоты. Полученную смесь нагревают при кипении растворителя в течение 3 часов. Осадок отфильтровывают, промывают диэтиловым эфиром, сушат. Получают 0,48 г (96%) соединения (Ia) в чистом виде. Оранжевый аморфный порошок без запаха, Тпл. 252-254°C.

Элементный анализ.

Найдено, %: C 64,6 H 6,3 N 7,6 - C<sub>49</sub>H<sub>58</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>

Вычислено, %: C 64,8 H 6,4 N 7,7

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1,33 (18H, с, 9CH<sub>3</sub> (*t*-Bu)); 2,33 (3H, с, CH<sub>3</sub>); 4,37-4,40 (2H, м, C(O)CH<sub>2</sub>); 4,86 (2H, с, NCH<sub>2</sub>); 5,43 (1H, с, OH); 7,13-7,15 (3H, м, 3Ar-H); 7,29 (1H, д, J 7,7 Гц, Ar-H); 7,48 (1H, м, Ar-H); 12,76 (1H, с, NH) (протоны оксиндола); 1,48-1,49 (1H, м, CH); 1,70-1,72 (1H, м, CH); 2,18-2,20 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 2,37-2,42 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 2,66-2,69 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 2,91-2,95 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3,75 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 3,81 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4,14-4,16 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 4,24-4,26 (3H, м, CH<sub>2</sub>, OCH), 4,48-4,50 (1H, м, CH), 4,84-4,86 (1H, м, CH), 6,43 (1H, м, =CH), 6,96 (1H, с, Ar-H), 7,66 (1H, с, Ar-H) (протоны бруциния).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 20,44; 28,96; 30,24; 34,39; 38,63; 40,71; 43,01; 46,15; 52,10; 55,68; 55,97; 58,82; 59,63; 60,63; 62,61; 63,23; 63,50; 74,69; 75,63; 100,30; 107,77; 108,46; 110,58; 118,56; 120,14; 121,71; 124,06; 126,56; 132,53; 134,94; 135,59; 136,15; 139,48; 141,19; 145,97; 149,73; 153,33; 160,51; 166,70; 168,53.

Заявляемое соединение представляет собой оранжевый аморфный порошок без запаха, растворимый в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, при нагревании в воде.

Пример 3. Синтез соединения (Ib).

К смеси 0,22 г (0,55 ммоль) 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)-5-метоксиизатина и 0,30 г (0,55 ммоль) бромиды N-бруцинияацетогидразида в 7 мл этанола добавляют 3 капли трифторуксусной кислоты. Полученную смесь нагревают при кипении растворителя в течение 3 часов. Осадок отфильтровывают, промывают диэтиловым эфиром, сушат. Получают 0,33 г (64%) соединения (Ib) в чистом виде. Оранжевый аморфный порошок без запаха, Тпл. 275-277°C.

Элементный анализ.

Найдено, %: C 63,5 H 6,1 N 7,5 - C<sub>49</sub>H<sub>58</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>8</sub>

Вычислено, %: C 63,6 H 6,3 N 7,6

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 1,33 (18H, с, 9CH<sub>3</sub> (*t*-Bu)); 3,75 (3H, с, OCH<sub>3</sub>); 4,22-4,25 (2H, м, C(O)CH<sub>2</sub>); 4,85 (2H, с, NCH<sub>2</sub>); 5,39 (1H, с, OH); 7,07 (1H, дд, J 8,9 Гц, J 2,0 Гц, Ar-H); 7,14-7,16 (3H, м, 3Ar-H); 7,45-7,47 (1H, м, Ar-H); 12,76 (1H, с, NH) (протоны оксиндола); 1,49-1,51 (1H, м, CH); 1,70-1,73 (1H, м, CH); 2,17-2,20 (1H, м, CH); 2,64-2,67

(2H, м, CH<sub>2</sub>); 2,92-2,95 (4H, м, 2CH<sub>2</sub>); 3,80 (6H, с, 2OCH<sub>3</sub>); 4,13-4,16 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 4,22-4,25 (3H, м, NCH<sub>2</sub>, OCH); 4,45-4,48 (2H, м, OCH<sub>2</sub>); 4,83-4,85 (1H, м, NCH); 6,43 (1H, м, =CH); 6,97 (1H, с, Ar-H); 7,66 (1H, с, Ar-H) (протоны бруциния).

5 Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ, м.д.: 28,97 (CH); 30,23 (CH<sub>3</sub>); 34,40; 38,62 (CH<sub>2</sub>); 40,78 (CH<sub>2</sub>); 42,99 (CH<sub>2</sub>); 46,09 (CH); 51,82; 52,08; 55,68 (CH<sub>3</sub>); 55,97 (CH); 56,71 (CH); 58,75 (CH<sub>2</sub>); 59,58; 60,54 (CH<sub>2</sub>); 61,96 (CH<sub>2</sub>); 62,19 (CH<sub>2</sub>); 62,49 (CH<sub>2</sub>); 63,20 (CH<sub>2</sub>); 63,51 (CH<sub>2</sub>); 74,71 (CH); 75,79 (CH); 100,31 (CH); 107,56 (CH); 108,37 (CH); 111,66 (CH); 117,32 (CH); 119,50; 120,11; 124,03 (CH); 126,54; 132,70; 135,61; 136,14 (CH); 137,01; 139,47; 145,95; 10 149,74; 153,33; 155,94; 160,44; 166,74; 168,50.

Заявляемое соединение представляет собой оранжевый аморфный порошок без запаха, растворимый в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, при нагревании в воде.

15 Пример 4. Синтез соединения (Ic).

К смеси 0,20 г (0,55 ммоль) 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксибензил)изатина и 0,30 г (0,55 ммоль) бромиды N-бруцинияацетогидразида в 7 мл этанола добавляют 3 капли трифторуксусной кислоты. Полученную смесь нагревают при кипении растворителя в течение 3 часов. Осадок отфильтровывают, промывают диэтиловым эфиром, сушат. 20 Получают 0,33 г (64%) соединения (Ic) в чистом виде. Оранжевый аморфный порошок без запаха, Тпл. 230-232°C.

Элементный анализ.

Найдено, %: С, 64,3; Н, 6,1; N, 7,7 - C<sub>48</sub>H<sub>56</sub>BrN<sub>5</sub>O<sub>7</sub>

Вычислено, %: С, 64,4; Н, 6,3; N, 7,8

25 Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 1,38 (18H, с, 9CH<sub>3</sub> (*t*-Bu)); 4,32-4,33 (2H, м, C(O)CH<sub>2</sub>); 4,79 (2H, с, NCH<sub>2</sub>); 6,80 (1H, д, J 7,8 Гц, Ar-H); 7,09 (2H, с, Ar-H); 6,99 (1H, с, OH); 7,26-7,30 (1H, м, Ar-H); 7,49-7,53 (1H, м, Ar-H); 8,30 (1H, м, Ar-H); 12,92 (1H, с, NH) (протоны оксиндола); 1,77-1,81 (1H, м, CH); 2,14-2,17 (1H, м, CH); 2,63-2,68 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3,07-3,14 30 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3,38-3,40 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 3,88 (6H, с, 2OCH<sub>3</sub>); 4,00-4,07 (2H, м, CH<sub>2</sub>); 4,22-4,26 (1H, м, OCH); 4,62-4,66 (2H, м, OCH<sub>2</sub>); 4,71 (1H, уш. с, NCH); 5,44 (1H, м, =CH); 7,14 (1H, с, Ar-H); 7,75 (1H, с, Ar-H) (протоны бруциния).

35 Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 26,12 (CH<sub>2</sub>); 30,16 (CH<sub>3</sub>); 34,26; 39,92 (CH<sub>2</sub>); 41,81 (CH<sub>2</sub>); 43,88 (CH<sub>2</sub>); 44,33 (CH<sub>2</sub>); 46,80 (CH); 52,92; 56,22 (CH<sub>3</sub>); 57,53 (CH); 59,44 (CH); 60,97 (CH<sub>2</sub>); 64,12 (CH<sub>2</sub>); 64,95 (CH<sub>2</sub>); 75,26 (CH); 100,74 (CH); 106,95 (CH); 109,73 (CH); 110,87 (CH); 118,61; 124,01 (CH); 124,55 (CH); 125,27; 132,10 (CH); 132,84; 135,43; 136,51; 137,19 (CH); 138,06; 143,46; 147,05; 150,37; 153,62; 160,85; 166,43; 168,45.

40 Заявляемое соединение представляет собой оранжевый аморфный порошок без запаха, растворимый в хлороформе, диметилформамиде, диметилсульфоксиде, при нагревании в воде.

При получении и выделении заявляемых соединений используют коммерчески доступные реагенты:

- растворитель этанол (CAS 64-17-5, Acros Organics),
- 45 - трифторуксусная кислота (CAS 76-05-1, Acros Organics),
- растворитель диэтиловый эфир (хч, фирмы ДИАМ),
- бруцин (CAS 357-57-3, Sigma-Aldrich),
- этиловый эфир бромуксусной кислоты (CAS 105-36-2, Sigma-Aldrich),

- гидразин гидрат (CAS 302-01-2, Sigma-Aldrich).

При реализации изобретений использованы следующие приборы и оборудование.

Оборудование для фильтрования. Воронка Шотта ПОР 40 (ГОСТ 25336-82, фирмы SIMAX).

5 Магнитная мешалка. ULAB US-1500D Магнитная мешалка с подогревом (Китай).  
ЯМР-спектрометр. ЯМР-Фурье спектрометр AVANCE 600 BRUKER BioSpin (Германия), высокоэффективный цифровой ЯМР спектрометр AVANCE ПТМ 400МГц BRUKER BioSpin (Германия).

10 Элементный анализатор. Элементный CHNS-О высокотемпературный анализатор EuroEA 3028-НТ-ОМ Eurovector S.p.A. (Италия).

Прибор Stuart SMP10 (Великобритания) для определения температуры плавления.

Пример 5. Антиагрегационная активность соединений (Ia-c).

15 Эксперименты в условиях *in vitro* выполнены на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. Общее количество доноров составило 22 человека. Забор крови для исследования соединений в отношении системы гемостаза проводился из кубитальной вены с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, США). В качестве стабилизатора венозной крови использовался 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Все тесты проводились на обогащенной и обедненной тромбоцитами плазме. Образцы богатой тромбоцитами  
20 плазмы получали центрифугированием цитратной крови при 1000 об/мин в течение 10 минут, бестромбоцитарной плазмы - при 3000 об/мин в течение 20 минут. В работе использовалась центрифуга ОПН-3.02 (ОАО ТНК "ДАСТАН", Киргизия). Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов проводили по методу Born [Born G.G.V. Nature (London). - 1962. - V.194.] на агрегометре "АТ-02" (НПФ "Медтех", Россия). Определение  
25 антиагрегационной активности соединений Ia-c и ацетилсалициловой кислоты проводили в конечной концентрации  $10^{-3}$  моль/л. В качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл производства "Технология-Стандарт" (Россия). Проводили оценку максимальной  
30 амплитуды агрегации, скорости агрегации, времени достижения максимальной амплитуды и дезагрегацию в присутствии изучаемых соединений при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. При коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов оценивали латентный период, во время которого происходит активация фосфолипазы С (что приводит к образованию вторичных посредников, вследствие чего  
35 развивается секреция тромбоцитарных гранул и синтез тромбоксана  $A_2$ ). Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости  $p$  для статистических  
40 критериев принимали равным 0,05.

Установлено, что в присутствии (Ia) на 29,9% ( $p < 0.05$ ), (Ib) на 51,9% ( $p < 0.05$ ) и (Ic) на 53,9% ( $p < 0.05$ ) эффективнее снижается агрегация тромбоцитов по сравнению с ацетилсалициловой кислотой, скорость агрегации тромбоцитов снижается на 76,2% ( $p < 0.05$ ), на 65,7% ( $p < 0.05$ ) и на 249,1% ( $p < 0.05$ ) относительно ацетилсалициловой кислоты  
45 соответственно для соединений (Ia-Ic). Время достижения максимальной агрегации увеличивается по сравнению с ацетилсалициловой кислотой на 68,6% ( $p < 0.05$ ) для соединения (Ia), на 88,6% ( $p < 0.05$ ) для соединения (Ib) и на 281,9% ( $p < 0.05$ ) для соединения (Ic). Ацетилсалициловая кислота и соединение (Ia) не влияют на реакцию высвобождения

тромбоцитов и уступают соединению (Ib), при действии которого lag-период удлиняется на 25,0% ( $p < 0.05$ ) относительно контроля и 91,6% ( $p < 0.05$ ) в сравнении с соединением (Ia). При этом соединение (Ic) эффективнее и ацетилсалициловой кислоты, и соединений (Ia) и (Ib), пролонгирует реакцию высвобождения тромбоцитов на 14,6% ( $p < 0.05$ ) относительно контроля (таблица).

Таким образом, заявляемые химические соединения (Ia, Ib, Ic), расширяющие арсенал антиагрегационных средств, обладают большей антиагрегационной активностью, чем ацетилсалициловая кислота, а соединение (Ic) эффективнее ацетилсалициловой кислоты подавляет реакцию высвобождения тромбоцитов, что может свидетельствовать о более широком антитромботическом потенциале.

**Производные 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)-изатина, обладающие антиагрегационной активностью**

Таблица

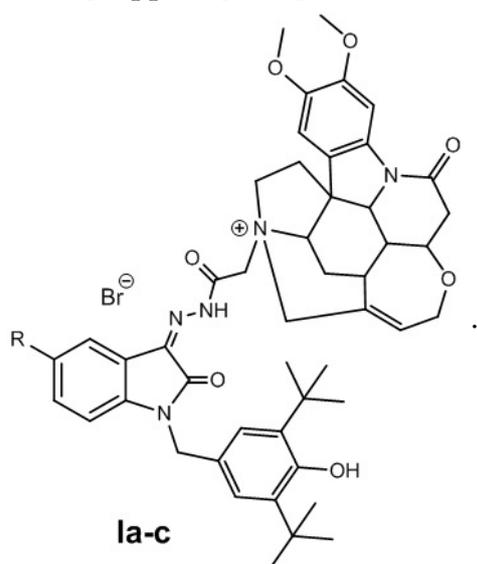
Показатели антиагрегационной активности соединений Ia-c и ацетилсалициловой кислоты,  $n=10$

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю
1	Ia	-3,1 (2,7-5,1)	-17,8 (16,9-19,7)**, #	-18,7 (16,5-19,2)**, #	+17,2 (16,4-19,3)**, #
2	Ib	-25,0 (21,5-28,5)**, ##	-20,7 (17,8-22,4)**, #	-16,9 (14,8-18,3)*, #	+19,3 (17,6-20,5)**, ##
3	Ic	+14,6 (10,3-19,1)**, #	-25,4 (21,3- 27,6)*, #	-36,7 (32,1-40,2)**, ##	+40,1 (36,2-42,3)**
4	Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1-2,6)	-13,7 (10,8-16,4)*	-10,5 (7,6-12,3)*	+10,5 (8,7-13,4)*

Примечание: Латентный период представлен для агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, остальные параметры для АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. \* $p \leq 0.05$ , \*\* $p \leq 0.001$  - в сравнении с контролем; # $p \leq 0.05$ , ## $p \leq 0.001$  - в сравнении с ацетилсалициловой кислотой

(57) Формула изобретения

1. Производное бромиды 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)индол-2-он-3-(4aR,4a IR,5aS,8aS,8a IS,15aS)-6-(2-гидразино-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-декагидро-2H,14H-4,6-метаноиндолло[3,2,1-ij]оксепино [2,3,4-de]пирроло[2,3-h]-6-хинолиния общей формулы



где R = CH<sub>3</sub> (Ia), OCH<sub>3</sub> (Ib), H (Ic)

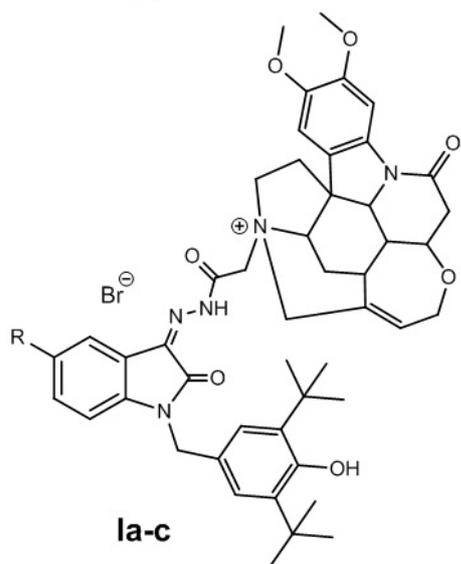
2. Применение производного бромиды 1-(3,5-ди-*трет*-бутил-4-гидроксibenзил)индол-2-он-3-(4aR,4a IR,5aS,8aS,8a IS,15aS)-6-(2-гидразино-2-оксоэтил)-10,11-диметокси-14-оксо-4a,4a1,5,5a,6,7,8,8a1,15,15a-декагидро-2H,14H-4,6-метаноиндолло[3,2,1-ij]оксепино

[2,3,4-*de*]пирроло-[2,3-*h*]-6-хинолиния общей формулы

5

10

15



где R = CH<sub>3</sub> (1a), OCH<sub>3</sub> (1b), H (1c)

в качестве средств, обладающих антиагрегационной активностью.

20

25

30

35

40

45

Таблица

Показатели антиагрегационной активности соединений Ia-с и  
ацетилсалициловой кислоты, n=10

№	Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю
1	Ia	-3,1 (2,7-5,1)	-17,8 (16,9-19,7)**, #	-18,7 (16,5-19,2)**, #	+17,2 (16,4-19,3)**, #
2	Ib	-25,0 (21,5-28,5)**, ##	-20,7 (17,8-22,4)**, #	-16,9 (14,8-18,3)*, #	+19,3 (17,6-20,5)**, ##
3	Ic	+14,6 (10,3-19,1)**, #	-25,4 (21,3-27,6)*, #	-36,7 (32,1-40,2)**, ##	+40,1 (36,2-42,3)**
4	Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1-2,6)	-13,7 (10,8-16,4)*	-10,5 (7,6-12,3)*	+10,5 (8,7-13,4)*

Примечание: Латентный период представлен для агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, остальные параметры для АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. \*p≤0.05, \*\*p≤0.001 – в сравнении с контролем; #p≤0.05, ##p≤0.001 - в сравнении с ацетилсалициловой кислотой