



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
C07D 209/34 (2025.05); A61K 31/404 (2025.05); A61P 7/02 (2025.05)

(21)(22) Заявка: 2025111109, 28.04.2025

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
28.04.2025

Дата регистрации:  
04.08.2025

Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 28.04.2025

(45) Опубликовано: 04.08.2025 Бюл. № 22

Адрес для переписки:  
420088, Респ. Татарстан, г. Казань, ул.  
Арбузова, 8, Калачев Алексей Алексеевич

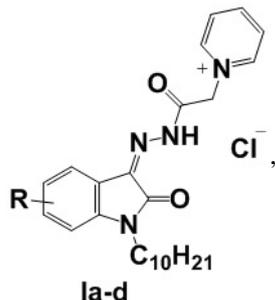
(72) Автор(ы):  
Богданов Андрей Владимирович (RU),  
Самородов Александр Владимирович (RU),  
Валиуллина Зульфия Альбертовна (RU),  
Корунас Владислав Игоревич (RU),  
Крылова Ирина Дмитриевна (RU),  
Кадомова Марина Евгеньевна (RU),  
Ильин Антон Викторович (RU)

(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: RU2822271C1, 03.07.2024.  
RU2816105C1, 26.03.2024. Богданов А. В. и др.  
**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ  
АКТИВНОСТЬ АММОНИЕВЫХ  
ПРОИЗВОДНЫХ ИЗАТИНА** //Химия и  
технология растительных веществ. - 2022. - С.  
21, 11.11.2022. Bogdanov A. V. et al. New N-  
Mannich bases obtained from isatin and  
piperazine derivatives: the synthesis and  
evaluation of antimicrobial (см. прод.)

(54) Производные 1-додецилизатина, обладающие противотромботическим действием

(57) Реферат:  
Изобретение относится к производному 1-  
додецилизатина формулы I



где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d), а также к применению производного 1-додецилизатина формулы I в качестве средства, обладающего противотромботическим действием. Технический результат: получены новые соединения, которые могут быть применимы в расширении арсенала биологически активных веществ, проявляющих антикоагуляционную и антиагрегационную активность. 2 н.п. ф-лы, 2 табл., 6 пр.

(56) (продолжение):

activity //Chemistry of Heterocyclic Compounds. - 2016. - Т. 52. - С. 25-30, 12.02.2016. Bridges T. M. et al. Discovery of the first highly M5-preferring muscarinic acetylcholine receptor ligand, an M5 positive allosteric modulator derived from a series of 5-trifluoromethoxy N-benzyl isatins //Journal of medicinal chemistry. - 2009. - Т. 52. - 11. - С. 3445-3448, 11.06.2009.

R U  
2 8 4 4 5 5 4  
C 1

R U  
2 8 4 4 5 5 4  
C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C07D 209/34* (2006.01)  
*A61K 31/404* (2006.01)  
*A61P 7/02* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*C07D 209/34 (2025.05); A61K 31/404 (2025.05); A61P 7/02 (2025.05)*(21)(22) Application: **2025111109, 28.04.2025**(24) Effective date for property rights:  
**28.04.2025**Registration date:  
**04.08.2025**

Priority:

(22) Date of filing: **28.04.2025**(45) Date of publication: **04.08.2025** Bull. № 22

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

**Bogdanov Andrei Vladimirovich (RU),  
Samorodov Aleksandr Vladimirovich (RU),  
Valiullina Zulfia Albertovna (RU),  
Korunas Vladislav Igorevich (RU),  
Krylova Irina Dmitrievna (RU),  
Kadomtseva Marina Evgenevna (RU),  
Ilin Anton Viktorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe  
uchrezhdenie nauki «Federalnyi issledovatel'skii  
tsentr «Kazanskii nauchnyi tsentr Rossiiskoi  
akademii nauk» (RU) (RU)**(54) **1-DODECYLIZATIN DERIVATIVES POSSESSING ANTITHROMBOTIC ACTION**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to 1-dodecylizatin  
derivative of formula I

$$\Omega_L = 2\Omega \frac{A_2}{A_1}, \text{ where}$$

Ia-d, where R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br(d), as well as to use of 1-dodecylizatin derivative of  
formula I as an agent having antithrombotic action.EFFECT: novel compounds which can be used to  
widen the range of biologically active substances having  
anticoagulation and antiaggregation activity are  
obtained.

2 cl, 2 tbl, 6 ex

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

5 Нарушения в системе гемостаза обуславливают широкую распространенность тромбозов различного происхождения, являются ключевым звеном патогенеза многих заболеваний и критических состояний. Необходимость применения средств фармакологической коррекции системы гемостаза и степень их эффективности является фактом, доказанным результатами более 280 мета-анализов по вторичной и 6 испытаний по первичной профилактике тромбозов [Christiaan Vrints, Felicita Andreotti, Konstantinos C Koskinas, et al. ESC Scientific Document Group, 2024 ESC Guidelines for the management of chronic coronary syndromes: Developed by the task force for the management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC) *Endorsed by the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), European Heart Journal*, Volume 45, Issue 10 36, 21 September 2024, Pages 3415-3537, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehae177>]. На 15 сегодняшний день существуют препараты и схемы по лечению и профилактике тромбоза различной локализации, основанные на результатах клинических исследований [Сумин А.Н., Дупляков Д.В., Беялов Ф.И., Баутин А.Е., Безденежных А.В., Гарькина С.В., Гордеев М.Л., Затейщиков Д.А., Иртюга О.Б., Корок Е.В., Кулагина Т.Ю., Медведева 20 Е.А., Мензоров М.В., Напалков Д.А., Павлова Т.В., Петрунько О.В., Протасов К.В., Сибатуллин Ю.С., Черепанова Н.А., Чомахидзе П.Ш., Шутов А.М. Рекомендации по оценке и коррекции сердечно-сосудистых рисков при несердечных операциях. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(8):5555. doi:10.15829/1560-4071-2023-5555]. К сожалению, имеющийся арсенал современных антиагрегационных и 25 антикоагуляционных препаратов не обеспечивает полную и эффективную профилактику и лечение тромбозов.

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 30 качестве средства профилактики и лечения тромбоза и тромбоемболических 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].

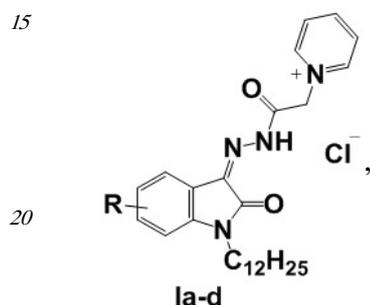
Недостатком прототипа является высокая частота аспиринорезистентности, 35 нежелательные клинические явления в виде ulcerогенного и геморрагических эффектов [Patrono, C. Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis / C. Patrono, F. Andreotti, H. Arnesen // *European Heart Journal*. - 2011. - Vol. 32. - P. 2922-2932]. Следует отметить, существует ряд состояний, при которых является абсолютным показанием применение нескольких антитромботических препаратов разных групп и механизмов 40 (антикоагулянты и антиагреганты) [Geoffrey D. Barnes; Combining antiplatelet and anticoagulant therapy in cardiovascular disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2020; 2020 (1): 642-648. doi: <https://doi.org/10.1182/hematology.2020000151>]. Хотя каждый из них помогает снизить риск тромбоза, их совместное применение значительно 45 увеличивает риск серьезных кровотечений, которые могут быть опасны для жизни. За последние 5 лет в ряде рандомизированных клинических испытаний изучались различные комбинации антикоагулянтов и антиагрегантов, направленных на минимизацию риска кровотечения при сохранении низких показателей тромботических событий. В целом было установлено, что короткие курсы с меньшим количеством антитромботических

препаратов являются эффективными, но потенциально опасными в связи с высоким риском развития клинически значимых кровотечений, в этой связи целесообразным является поиск средств с мультимодальным эффектом, сочетающие с первичной антиагрегационной активностью и антикоагуляционные свойства [Rubenstein JC, Cinquegrani MP, Wright J. Atrial Fibrillation in Acute Coronary Syndrome. J Atr Fibrillation. 2012. 15;5(1):551. doi: 10.4022/jafib.551].

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

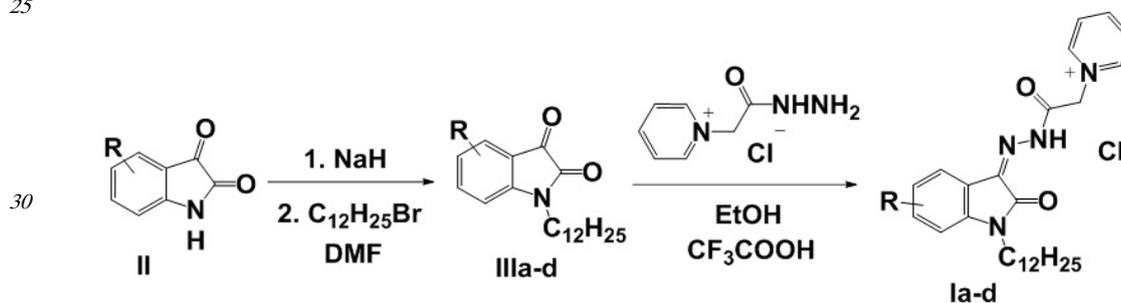
Техническим результатом являются новые соединения, расширяющие арсенал средств указанного назначения.

Указанная техническая проблема решается, и технический результат достигается впервые синтезированными соединениями - заявляемыми хлоридами 1-(2-(2-(1-додецил-2-оксоиндолин-3-илиден)гидразинил)-2-оксоэтил)пиридин-1-ия общей формулы I



где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d).

25 Заявляемые соединения (Ia-d) синтезируют по общей схеме



R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a); R = 5-F (b); R = 5-Br (c), R = 6-Br (d)

35 в этаноле в течение 3 часов при температуре кипения растворителя в присутствии трифторуксусной кислоты последовательным взаимодействием в эквимольном соотношении соединения формулы (IIIa-d), где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d), которое получают взаимодействием соединения формулы (IIa-d), где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d), с коммерчески доступными гидридом натрия и 1-бромдодеканом в среде диметилформаида, выделением соединения формулы (IIIa-d), где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d), в виде осадка, его фильтрованием, промыванием петролейным эфиром и сушкой с дальнейшим взаимодействием полученного порошка с коммерчески доступным реагентом Жирара Р (хлорид 1-(гидразинокарбонилметил)пиридиния, хлорид (1-пиридинио)ацетогидразида) при 25°C (или при комнатной

45 температуре) в течение 8 часов до получения целевого продукта - соединений (Ia-d) 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.

Характеристики соединений формулы I приведены в соответствующих примерах, иллюстрирующих изобретение.

Соединения формулы (IIIa-d) также получены впервые:

- 5 соединение (IIIa) - 1-додецил-5-этилизатин - из 5-этилизатина (IIa), полученного по методике [T. Sandmeyer. Über Isonitrosoacetanilide und deren Kondensation zu Isatinen // Helv. Chim. Acta. 1919. Vol. 2. No. 1. P. 234-242. <https://doi.org/10.1002/hlca.19190020125>]; представляет из себя порошок красного цвета, без запаха, слабо растворим в воде, хорошо растворим в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, хлороформе;
- 10 соединения (IIIb-d) - 1-додецил-5-фторизатин (IIIb), 1-додецил-5-бромизатин (IIIc), 1-додецил-6-бромизатина (IIId) - из коммерчески доступных 5-фторизатина (IIb), 5-бромизатина (IIc), 6-бромизатина (IId) соответственно; соединение (IIIb) представляет из себя порошок красного цвета, (IIIc-d) - порошки оранжевого цвета, соединения (IIIb-d) без запаха, слабо растворимы в воде, хорошо растворимы в диметилформамиде,
- 15 диметилсульфоксиде, хлороформе.

При получении, выделении заявляемых соединений и определении их свойств используют коммерчески доступные реагенты:

- 5-фторизатин (IIb) (CAS 443-69-6, Sigma-Aldrich),
  - 5-бромизатин (IIc) (CAS 87-48-9, Sigma-Aldrich),
  - 20 - 6-бромизатин (IId) (CAS 20780-74-9, Sigma-Aldrich),
  - 1-бромдодекан (CAS 143-15-7, Sigma-Aldrich),
  - реагент Жирара Р (CAS 1126-58-5, Sigma-Aldrich),
  - гидрид натрия - NaH (CAS 7646-69-7, 60 % dispersion in mineral oil, Sigma-Aldrich),
  - растворитель *N,N*-диметилформамид (ДМФА) (хч, фирмы ЭКОС),
  - 25 - растворитель этанол (CAS 64-17-5, Acros Organics),
  - трифторуксусная кислота (CAS 76-05-1, Acros Organics),
  - растворитель диэтиловый эфир (хч, фирмы ДИАМ),
  - растворитель петролейный эфир (Т кипения 40-70°C, хч, фирмы ДИАМ),
  - аденозиндифосфат (АДФ),
  - 30 коллаген «Технология-Стандарт» (Россия),
- реактивы для оценки системы гемостаза производства «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

При реализации изобретения используют следующие приборы и оборудование:

- оборудование для фильтрования. Воронка Шотта ПОР 40 (ГОСТ 25336-82, фирмы
- 35 SIMAX),
- магнитная мешалка. ULAB US-1500D Магнитная мешалка с подогревом (Китай), роторный испаритель. Испаритель роторный RV 10 auto pro V, комплект стекла, баня, насос, автоматический лифт, ИКА (Германия),
- ИК-спектрометр. ИК-Фурье-спектрометр Tensor 37 Vertex 70 RAM II Bruker Optic
- 40 GmbH (Германия),
- ЯМР-спектрометр. ЯМР-Фурье спектрометр AVANCE PTM 400 МГц BRUKER BioSpin (Германия),
- масс-спектрометр. Масс-спектрометр с матрично-ассистируемой лазерной десорбцией-ионизацией (MALDI) UltraFlex III TOF/TOF Bruker GmbH (Германия),
- 45 элементный анализатор. Элементный CHNS-O высокотемпературный анализатор EuroEA 3028-НТ-ОМ Eurovector S.p.A. (Италия),
- прибор Stuart SMP10 (Великобритания) для определения температуры плавления, центрифуга ОПН-3.02 (ОАО ТНК «ДАСТАН», Киргизия),

агрегометр «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия),

турбидиметрический гемокоагулометр Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Россия).

Также техническая проблема решается, и технический результат достигается применением заявляемых хлоридов 1-(2-(2-(1-додецил-2-оксоиндолин-3-илиден) гидразинил)-2-оксоэтил)пиридин-1-ия общей формулы (Ia-d) в качестве соединений, обладающих антикоагуляционной и антиагрегационной активностью.

Кроме того, патентуемые соединения не обладают гемотоксичностью (по отношению к эритроцитам крови человека  $IC_{50} > 600 \mu M$  и нормальным клеткам печени человека  $IC_{50} > 600 \mu M$ ) и, соответственно оказывают менее негативное влияние на здоровье человека.

Изобретение иллюстрируется примерами получения соединений Ia-d (примеры 1-4) и определения антикоагуляционной и антиагрегационной активности (примеры 5-6).

Пример 1. Синтез хлорида 1-(2-(2-(1-додецил-5-этил-2-оксоиндолин-3-илиден) гидразинил)-2-оксоэтил)пиридин-1-ия (Ia).

К перемешиваемому с помощью магнитной мешалки раствору (1.0 ммоль) 5-этилизиатина (IIa) в сухом ДМФА (5 мл) небольшими порциями при  $5^\circ C$  добавляют 1.4 ммоль NaH, перемешивают в течение 30 минут. Затем к реакционной смеси добавляют 1-бромдодекан (1.2 ммоль) и перемешивают при  $25^\circ C$  в течение 8 часов. Затем раствор выливают в смесь измельченного льда (20 г) с водой (200 мл, дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018). Образовавшийся осадок отфильтровывают, последовательно промывают на фильтре холодной водой (50 мл), петролейным эфиром (20 мл) и сушат в вакууме водоструйного насоса при температуре  $25^\circ C$  до постоянной массы. К раствору (1.0 ммоль) соединения (IIIa) в этаноле (7 мл) при  $20^\circ C$  последовательно добавляют реагент Жирара Р (1.0 ммоль) и три капли трифторуксусной кислоты. Раствор нагревают при  $78^\circ C$  3 часа, затем упаривают на роторном испарителе. Твердый остаток обрабатывают диэтиловым эфиром, отфильтровывают и сушат в вакууме водоструйного насоса при температуре  $25^\circ C$  до постоянной массы. Выход продуктов (Ia-d) 89-97%. Получают соединения Ia-d в виде порошков желтого цвета. Выход продукта (Ia) 89%.

Порошок желтого цвета,  $T_{пл} = 191^\circ C$ . ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3419 уш. (N-H вал.), 1728 уш. (C=O вал.), 1689 уш. (C=O вал.), 1630 (C=C вал.), 1486 (C=N вал.), 1468 (C-N вал.). ЯМР  $^1H$  (400 МГц,  $CDCl_3$ ):  $\delta$  0.87 (т, J(HH) = 7.0 Гц, 3H,  $CH_3$ ), 1.25-1.33 (м, 21H,  $CH_2$ ,  $CH_3$ ), 1.62-1.69 (м, 2H,  $CH_2$ ), 2.64 (к, J(HH) = 7.7 Гц, 2H,  $CH_2$ ), 3.64 (т, J(HH) = 7.3 Гц, 2H,  $CH_2$ ), 6.70 (уш. с, 2H,  $CH_2$ ), 6.74 (д, J(HH) = 8.1 Гц, 1H, ArH), 7.20 (д, J(HH) = 8.1 Гц, 1H, ArH), 7.62 (уш. с, 1H, ArH), 8.08-8.11 (м, 2H, ArH), 8.49-8.52 (м, 1H, ArH), 9.42-9.47 (м, 2H, ArH), 12.90 (с, 1H, NH). ЯМР  $^{13}C$  (100 МГц,  $CDCl_3$ )  $\delta$  166.3, 160.3, 146.6, 145.3, 140.8, 139.0, 135.6, 130.9, 127.0, 120.5, 118.4, 108.8, 60.8, 39.2, 31.1, 28.83, 28.82, 28.79, 28.7, 28.54, 28.45, 27.7, 26.7, 21.9, 15.1, 13.4. Масс-спектр (MALDI):  $m/z$  477.5  $[M-Cl]^+$ . Элементный анализ.  $C_{27}H_{37}ClN_4O_2$ . Вычислено, %: C, 66.86; H, 7.69; Cl, 7.31; N, 11.55; Найдено, %: C, 66.76; H, 7.57; Cl, 7.22; N, 11.47.

Пример 2. Синтез хлорида 1-(2-(2-(1-додецил-5-фтор-2-оксоиндолин-3-илиден) гидразинил)-2-оксоэтил)пиридин-1-ия (Ib).

Пример 2 осуществляют аналогично примеру 1, из 1,0 ммоль 5-фторизатина (IIb), NaH (1,4 ммоль, 60% суспензия в минеральном масле), 1-бромдодекана (CAS 112-29-8, Sigma-Aldrich) (1.2 ммоль), реагента Жирара Р (1.0 ммоль) и получают 92% соединения (Ib). Порошок желтого цвета,  $T_{пл} = 215^\circ C$ . ИК-спектр,  $\nu$ ,  $cm^{-1}$ : 3443 уш. (N-H вал.), 1690

уш. (C=O вал.), 1632 (C=C вал.), 1481 уш. (C=N вал.). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.87 (т,  $J(\text{HH}) = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.25-1.32 (м, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 1.60-1.67 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.64 (т,  $J(\text{HH}) = 7.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.76-6.73 (м, 1H, ArH), 6.79 (уш. с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.02-7.06 (м, 1H, ArH),  
 5 7.51-7.53 (м, 1H, ArH), 8.06-8.11 (м, 2H, ArH), 8.47-8.52 (м, 1H, ArH), 9.41-9.48 (м, 2H, ArH), 12.74 (с, 1H, NH). ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  167.2, 160.7, 159.3 (д,  $J(\text{FC}) = 242.4$  Гц), 147.2, 145.8, 139.3, 135.3, 127.6, 120.4 (д,  $J(\text{FC}) = 8.8$  Гц), 118.1 (д,  $J(\text{FC}) = 24.4$  Гц), 110.0 (д,  $J(\text{FC}) = 7.7$  Гц), 109.8 (д,  $J(\text{FC}) = 25.6$  Гц), 61.5, 39.9, 31.8, 29.54, 29.53, 29.50, 29.4, 29.3, 29.2,  
 10 27.3, 26.7, 22.6, 14.0. Масс-спектр (MALDI):  $m/z$  467.5  $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ . Элементный анализ.  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{ClFN}_4\text{O}_2$ . Вычислено, %: C, 63.22; H, 6.79; Cl, 7.46; N, 11.80; Найдено, %: C, 63.17; H, 6.70; Cl, 7.32; N, 11.65.

Пример 3. Синтез хлорида 1-(2-(2-(5-бром-1-додецил-2-оксоиндолин-3-илиден) гидразинил)-2-оксоэтил)пиридин-1-ия (Ic).

15 Пример 3 осуществляют аналогично примеру 1, из 1,0 ммоль 5-бромизатина (IIc), NaH (1,4 ммоль, 60% суспензия в минеральном масле), 1-бромдодекана (CAS 112-29-8, Sigma-Aldrich) (1.2 ммоль), реагента Жирара Р (1.0 ммоль) и получают 93% соединения (Ic). Порошок желтого цвета,  $T_{\text{пл}} = 198^\circ\text{C}$ . ИК-спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3407 уш. (N-H вал.), 1731  
 20 уш. (C=O вал.), 1687 уш. (C=O вал.), 1619 (C=C вал.), 1477 (C=N вал.), 1445 (C-N вал.). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0.73 (т,  $J(\text{HH}) = 7.1$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.11-1.20 (м, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 1.52-1.54 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.57 (т,  $J(\text{HH}) = 7.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.63 (уш. с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.67 (д,  $J(\text{HH}) = 8.2$  Гц, 1H, ArH), 7.37 (д,  $J(\text{HH}) = 8.2$  Гц, 1H, ArH), 7.69 (уш. с, 1H, ArH), 7.96-7.98 (м, 2H,  
 25 ArH), 8.41-8.43 (м, 1H, ArH), 9.44-9.45 (м, 2H, ArH), 12.65 (с, 1H, NH). ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{DMCO}-d_6$ )  $\delta$  166.8, 160.1, 147.6, 147.0, 145.4, 141.9, 134.3, 134.5, 127.2, 124.4, 120.5, 111.2, 61.2, 39.7, 31.5, 29.2, 29.3, 29.1, 29.0, 28.9, 28.8, 27.0, 26.5, 22.2, 13.7. Масс-спектр (MALDI):  $m/z$  527.8  $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ . Элементный анализ.  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{BrClN}_4\text{O}_2$ . Вычислено, C, 56.03; H, 6.02;  
 30 Br, 14.91; Cl, 6.61; N, 10.45; Найдено, %: C, 55.90; H, 5.97; Br, 14.80; Cl, 6.49; N, 10.30.

Пример 4. Синтез хлорида 1-(2-(2-(6-бром-1-додецил-2-оксоиндолин-3-илиден) гидразинил)-2-оксоэтил)пиридин-1-ия (Id).

35 Пример 4 осуществляют аналогично примеру 1, из 1,0 ммоль 6-бромизатина (IIId), NaH (1,4 ммоль, 60% суспензия в минеральном масле), 1-бромдодекана (CAS 112-29-8, Sigma-Aldrich) (1.2 ммоль), реагента Жирара Р (1.0 ммоль) и получают 97% соединения (Id). Порошок желтого цвета,  $T_{\text{пл}} = 229^\circ\text{C}$ . ИК-спектр,  $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 3406 уш. (N-H вал.), 1717  
 40 уш. (C=O вал.), 1690 уш. (C=O вал.), 1611 (C=C вал.), 1486 (C=N вал.), 1450 (C-N вал.). ЯМР  $^1\text{H}$  (400 МГц,  $\text{CDCl}_3/\text{DMCO}-d_6$ ):  $\delta$  0.79 (т,  $J(\text{HH}) = 7.0$  Гц, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.18-1.27 (м, 16H,  $\text{CH}_2$ ), 1.58-1.65 (м, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.64 (т,  $J(\text{HH}) = 7.0$  Гц, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.63 (уш. с, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7.00 (уш. с, 1H, ArH), 7.19-7.23 (м, 1H, ArH), 7.60 (уш. с, 1H, ArH), 7.99-8.06 (м, 2H, ArH),  
 45 8.51-8.44 (м, 1H, ArH), 9.39-9.46 (м, 2H, ArH), 12.73 (с, 1H, NH). ЯМР  $^{13}\text{C}$  (100 МГц,  $\text{CDCl}_3/\text{DMCO}-d_6$ )  $\delta$  161.4, 160.3, 146.5, 146.4, 146.1, 144.4, 127.6, 125.9, 125.1, 121.9, 117.8, 113.4, 60.9, 39.7, 31.1, 28.9, 28.83, 28.80, 28.75, 28.53, 28.45, 26.7, 26.0, 21.9, 13.7. Масс-  
 спектр (MALDI):  $m/z$  527.5  $[\text{M}-\text{Cl}]^+$ . Элементный анализ.  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{BrClN}_4\text{O}_2$ . Вычислено, C, 56.03; H, 6.02; Br, 14.91; Cl, 6.61; N, 10.45; Найдено, %: C, 55.92; H, 5.90; Br, 14.83; Cl, 6.52; N, 10.34.

## Пример 5. Антиагрегационная активность соединений (Ia-d).

Определение антиагрегационной активности в условиях *in vitro* выполнено на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. Общее количество доноров составило 16 человек. Забор крови для исследования соединений в отношении системы гемостаза проводят из кубитальной вены с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, США). В качестве стабилизатора венозной крови используют 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Все тесты проводят на обогащенной и обедненной тромбоцитами плазме. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получают центрифугированием цитратной крови при 1000 об/мин в течение 10 минут, бестромбоцитарной плазмы - при 3000 об/мин в течение 20 минут. В работе используют центрифугу ОПН-3.02 (ОАО ТНК «ДАСТАН», Киргизия). Исследование влияния на агрегацию тромбоцитов проводят по методу Born [Born G.G.V. Nature (London). - 1962. - V.194] на агрегометре «АТ-02» (НПФ «Медтех», Россия). Определение антиагрегационной активности соединений Ia-d и ацетилсалициловой кислоты проводят в конечной концентрации  $10^{-3}$  моль/л. В качестве индукторов агрегации используют аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл производства «Технология-Стандарт» (Россия). Проводят оценку максимальной амплитуды агрегации, скорости агрегации, времени достижения максимальной амплитуды и дезагрегацию в присутствии изучаемых соединений при агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. При коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов оценивают латентный период, во время которого происходит активация фосфолипазы С (что приводит к образованию вторичных посредников, вследствие чего развивается секреция тромбоцитарных гранул и синтез тромбоксана  $A_2$ ). Результаты исследования обрабатывают с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняют с помощью критерия Шапиро-Уилка. Дисперсионный анализ проводят с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости  $p$  для статистических критериев принимают равным 0,05.

Показатели антиагрегационной активности заявляемых веществ представлены в таблице 1.

Таблица 1 Показатели антиагрегационной активности соединений Ia-d 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	+7,1 (6,4-7,9)*, #	-2,6 (1,6-3,7)#	+24,9 (21,8-27,4)*, #	-15,6 (14,5-16,7)*, #
2	Ib	+19,3 (16,7-22,6)*, #	-10,9 (8,5-12,6)*	+32,5 (30,7-34,4)*, #	-30,5 (27,8-32,4)*, #
3	Ic	+17,6 (15,3-18,5)*, #	-22,3 (17,5-24,6)*, #	-2,2 (1,6-4,3)#	-32,0 (30,1-34,5)*, #
4	Id	+32,1 (28,7-33,1)*, #	+0,9 (0,5-1,4)#	+24,4 (22,4-25,6)*, #	-17,9 (15,6-18,9)*, #
5	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. \* $p<0.05$  - в сравнении с контролем; # $p<0.05$  - в сравнении с ацетилсалициловой кислотой.

Установлено, что в присутствии соединения Ic на 22,3% ( $p<0.05$ ) эффективнее снижается агрегация тромбоцитов по сравнению с ацетилсалициловой кислотой, скорость агрегации тромбоцитов снижается на 2,2% относительно контроля. Соединение Ib проявляет антиагрегационную активность на уровне ацетилсалициловой кислоты (10,9% Ib vs 13,7% контроля,  $p<0.05$ ). Следует отметить, что ацетилсалициловая кислота не влияет на реакцию высвобождения тромбоцитов и уступает соединениям Ia-d, при действии

которых lag-период удлиняется на 7,1%, 17,6%, 19,3% и 32,1% ( $p < 0.05$ ) относительно контроля соответственно для соединений Ia, Ic, Ib, Id, что свидетельствует о потенциально широком антитромботическом потенциале данных соединений.

Пример 6. Антикоагуляционная активность соединений (Ia-d).

5 Определение антикоагуляционной активности в условиях *in vitro* выполнено на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. Общее количество доноров составило 12 человек. Забор крови для исследования соединений в отношении системы гемостаза проводят из кубитальной вены с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer® (Becton Dickinson and Company, США). В качестве стабилизатора венозной  
10 крови используют 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Все тесты проводят на обедненной тромбоцитами плазме. Образцы бестромбоцитарной плазмы получают центрифугированием при 3000 об/мин в течение 20 минут. В работе использовалась центрифуга ОПН-3.02 (ОАО ТНК «ДАСТАН», Киргизия). Определение  
15 антикоагуляционной активности проводят общепризнанными клоттинговыми тестами [Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздравсоцразвития России, Часть 1. Москва: Гриф и К, 2012 994 с. ISBN 978-5-8125-1466-3] на турбидиметрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Россия).  
20 Изучают показатели активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПВ) и концентрации фибриногена по A. Clauss. Определение антикоагуляционной активности исследуемых веществ и препарата сравнения проводят в концентрации  $5 \times 10^{-4}$  г/мл. В работе используют реактивы для  
25 оценки системы гемостаза производства «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия). Результаты исследования обрабатывают с применением статистического пакета Statistica 10,0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняют с помощью критерия Шапиро-Уилка. Дисперсионный анализ проводят с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Критический уровень значимости  $p$  для статистических критериев принимают равным 0,05.

30 Показатели антикоагуляционной активности новых веществ представлены в таблице 2.

Таблица 2 Показатели антикоагуляционной активности соединений Ia-d и гепарина натрия,  $n=10$

№	Шифр	Удлинение АПТВ, % к контролю	Удлинение ПВ, % к контролю	Изменение концентрации фибриногена, г/л
1.	Ia	7,3 (6,2-10,1)*	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
2.	Ib	12,4 (11,2-13,8)*	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
3.	Ic	7,5 (4,3-10,6)*	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
4.	Id	9,2 (6,7-10,6)*	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
5.	Ацетилсалициловая кислота	0,4 (0,1-0,7)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
40 6.	Гепарин натрия	20,3 (19,7-21,4)*	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)

Примечание: \* $p < 0.05$  - в сравнении с контролем; соединения vs гепарин натрия при  $p < 0.05$ .

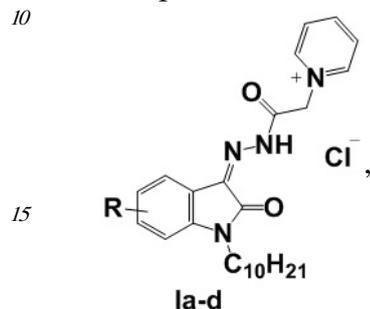
Соединения показали различной степени выраженности влияние на плазменный компонент системы гемостаза, проявляющееся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови - АПТВ, однако уступали значениям гепарина натрия.  
45 Наибольшую активность проявило соединение Ib, удлиняя АПТВ на 12,4% ( $p < 0.05$ ) относительно контроля. Соединения Ia-d в указанной концентрации не влияли на показатель концентрации фибриногена и ПВ.

Таким образом, заявляемые химические соединения (Ia-d), расширяющие арсенал

антиагрегационных и антикоагуляционных средств, эффективнее ацетилсалициловой кислоты пролонгируют lag-период, проявляют незначительную антикоагуляционную активность, пролонгируя АПТВ, что может свидетельствовать о более широком антитромботическом потенциале. Патентуемые соединения не обладают выраженной гемотоксичностью (по отношению к эритроцитам крови человека  $IC_{50} > 600 \mu M$  и нормальным клеткам печени человека  $IC_{50} > 600 \mu M$ ).

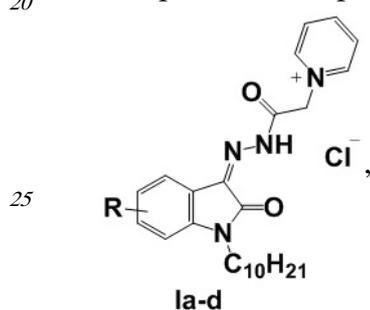
## (57) Формула изобретения

## 1. Производное 1-додецилизатина формулы I



где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d).

## 2. Применение производного 1-додецилизатина формулы I



где R = 5-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d), в качестве средства, обладающего противотромботическим действием.

35

40

45