



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C07D 249/04 (2022.02); C07D 249/16 (2022.02); A61K 31/4192 (2022.02); A61K 31/4196 (2022.02); A61P 7/02 (2022.02)

(21)(22) Заявка: 2021119727, 05.07.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
05.07.2021

Дата регистрации:
15.04.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 05.07.2021

(45) Опубликовано: 15.04.2022 Бюл. № 11

Адрес для переписки:

450008, г. Уфа, Ленина, 3,
БАШГОСМЕДУНИВЕРСИТЕТ, Патентный
отдел

(72) Автор(ы):

Павлов Валентин Николаевич (RU),
Самородов Александр Владимирович (RU),
ЮИ ВАНГ (CN),
ГУАНГ ЛИАНГ (CN),
ЗЕНГКВИАНГ СОНГ (CN),
ДИ ВУ (CN),
Пурыгин Пётр Петрович (RU),
Басанцев Антон Владимирович (RU),
Данилин Андрей Александрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

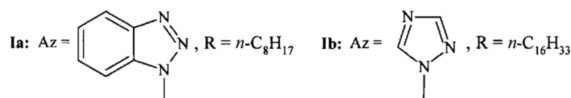
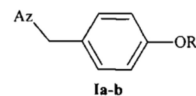
федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Башкирский государственный
медицинский университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU),
Медицинский Университет Вэньчжоу (CN)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2488583 C2, 27.07.2013. L.E.
Holmes, R. Gupta, S. Rajendran, J. Luu, J.K.
French, C.P. Juergens, 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, Cardiovasc. Ther., N21, 2016. doi:
(см. прод.)

(54) Производные триазола, проявляющие антиагрегационную активность

(57) Реферат:

Изобретение относится к новым производным
триазола общей формулы:



Технический результат: получены новые

соединения, обладающие антиагрегационной активностью, которые могут быть использованы для создания новых лекарственных средств для

профилактики тромбоза и тромбоэмболических осложнений. 3 з.п. ф-лы, 2 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

10.1111/1755-5922.12203. WO 1997003084 A1, 30.01.1997.

R U 2 7 7 0 4 0 5 C 1

R U 2 7 7 0 4 0 5 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C07D 249/04 (2006.01)*C07D 249/16* (2006.01)*A61K 31/4192* (2006.01)*A61K 31/4196* (2006.01)*A61P 7/02* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

C07D 249/04 (2022.02); *C07D 249/16* (2022.02); *A61K 31/4192* (2022.02); *A61K 31/4196* (2022.02); *A61P 7/02* (2022.02)

(21)(22) Application: **2021119727, 05.07.2021**

(24) Effective date for property rights:
05.07.2021

Registration date:
15.04.2022

Priority:

(22) Date of filing: **05.07.2021**(45) Date of publication: **15.04.2022** Bull. № 11

Mail address:

**450008, g. Ufa, Lenina, 3,
BASHGOSMEDUNIVERSITET, Patentnyj otдел**

(72) Inventor(s):

**YIWVANG (RU),
GUANG LIANG (RU),
ZENGQIANG SONG (CN),
DI WU (CN),
ZENGKVIANG SONG (CN),
DI VU (CN),
Purygin Petr Petrovich (RU),
Basantsev Anton Vladimirovich (RU),
Danilin Andrej Aleksandrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

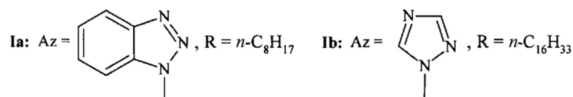
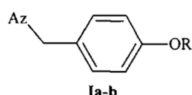
**Wenzhou Medical University (RU),
Meditsinskij Universitet Venchzhou (CN)**

(54) **TRIAZOLE DERIVATIVES EXHIBITING ANTIAGGREGATORY ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to new derivatives
of triazole of the general formula:



EFFECT: new compounds with antiaggregatory
activity have been obtained, which can be used to create
new drugs for the prevention of thrombosis and
thromboembolic complications.

4 cl, 2 tbl, 4 ex

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к химии и медицине, а именно к фармацевтической химии и фармакологии, и может быть использовано для создания новых лекарственных средств профилактики тромбоза и тромбоэмболических осложнений.

Предшествующий уровень техники

Известно, что в качестве антиагрегационных средств последнего поколения

разрешены к клиническому применению препараты L-цистеинамид, N⁶-

(аминоиминометил)-N²-(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)бутокс]-L-фенилаланин гидрохлорид моногидрат (Тирофибан, «Агратат», Correio, Великобритания), F(ab')₂ фрагменты мышинных моноклональных антител FRaMon против рецептора фибриногена тромбоцитов - GPIIb/IIIa («Монафрам®», 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.].

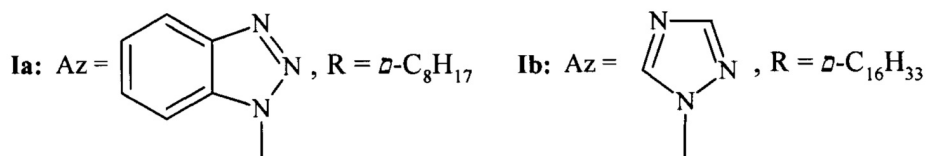
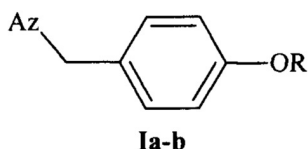
Наиболее близким аналогом изобретения и препаратом сравнения является ацетилсалициловая кислота (2-ацетилоксибензойная кислота), которая длительно и успешно применяется в практической медицине и имеет доказанную эффективность в качестве средства профилактики и лечения тромбоза и тромбоэмболических осложнений [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;49:e138].

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].

Раскрытие изобретения Задачей изобретения является расширение арсенала биологически активных веществ, проявляющих антиагрегационную активность.

Технический результат при использовании изобретения - синтез веществ, проявляющих антиагрегационную активность.

Сущность изобретения: производные триазола (Ia-b) общей формулы:



проявляющие антиагрегационную активность

Осуществление изобретения

Заявляемые соединения синтезируют следующим образом.

Пример 1. Синтез 1-[(4-*n*-октилоксифенил)метил]-1H-бензотриазола (Ia).

К раствору 0,20 г (0,88 ммоль) 4-[(1H-бензотриазол-1-ил)метил]фенола в 6 мл метилэтилкетона при 20°C в атмосфере аргона добавляют при интенсивном перемешивании 0,17 г (0,88 ммоль) *n*-октилбромида, а затем 0,58 г (1,77 ммоль) карбоната цезия. Реакционную смесь кипятят в инертной среде с обратным холодильником в течение 6 ч, а затем отфильтровывают от неорганического осадка. Растворитель удаляют в вакууме. Образовавшийся остаток белого цвета промывают горячим гексаном и высушивают на воздухе.

Выход 0,21 г (70%). т.пл. 65-67°C. R_f 0,69 (этанол-четыреххлористый углерод, 1:3).

Элементный анализ. Найдено, %: C 74,86; H 8,10. C₂₁H₂₇N₃O. Вычислено, %: C 74,74; H 8,07.

ИК спектр, ν, см⁻¹: 1254 (C-O-C, вал.), 1453, 1518, 1620 (аром., вал.) 2873 (C₈H₁₇, вал.).

Спектры ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д.: 0,87-0,90 (3H, т, CH₃), 1,30-1,75 (12H, м, 6CH₂), 3,95-3,97 (2H, т, CH₂), 5,82 (2H, с, CH₂), 6,84-6,85 (аром. 2H, д, CH=), 7,28-7,30 (аром. 2H, д, CH=), 7,40-7,51 (аром. 2H, м, CH=), 8,06-8,10 (аром. 2H, м, CH=).

Заявляемое вещество представляет собой белое твердое вещество, растворимое в ДМСО, ДМФА, CHCl₃ и ацетоне.

Пример 2. Синтез 1-[(4-*n*-гексадецилоксифенил)метил]-1H-1,2,4-триазола (Ib).

К раствору 0,25 г (1,42 ммоль) 4-[(1H-1,2,4-триазол-1-ил)метил]фенола в 10 мл метилэтилкетона при 20°C в атмосфере аргона добавляют 0,44 г (1,42 ммоль) *n*-гексадецилбромида при интенсивном перемешивании, а затем 0,93 г (2,86 ммоль) карбоната цезия. Реакционную смесь кипятят в инертной среде с обратным холодильником в течение 5 ч, а затем отфильтровывают от неорганического осадка. Растворитель удаляют в вакууме. Образовавшийся остаток белого цвета перекристаллизовывают из гексана и высушивают на воздухе.

Выход 0,40 г (71%). т.пл. 68-70°C (гексан). R_f 0,44 (этанол-четыреххлористый углерод, 1:7).

Элементный анализ. Найдено, %: C 75,28; H 10,50. C₂₅H₄₁N₃O. Вычислено, %: C 75,14; H 10,34.

ИК спектр (KBr), ν, см⁻¹: 1253 (C-O-C, вал.), 1450, 1463, 1515, 1615 (аром., вал.), 2848, 2917 (C₁₆H₃₃, вал.).

Спектры ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д.: 0,89-0,91 (3H, т, CH₃), 1,31-1,74 (28H, м, 14CH₂),

3,97-3,99 (2H, т, CH₂), 5,78 (2H, с, CH₂), 6,75-6,76 (аром. 2H, д, CH=), 7,14-7,15 (аром. 2H, д, CH=), 7,95 (аром. 1H, с, CH=), 8,56 (аром. 1H, с, CH=).

Заявляемое вещество представляет собой белое кристаллическое вещество, растворимое в ДМСО, ДМФА, CHCl₃ и CCl₄.

Пример 3. Антиагрегационная активность соединений I а, б.

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 плазмах. Образцы богатой тромбоцитами 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 антиагрегационной активности соединения I 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 амплитуды агрегации, скорости агрегации, времени достижения максимальной амплитуды и дезагрегации 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 развивается секреция тромбоцитарных гранул и синтез тромбоксана А₂).

Определение острой токсичности заявляемых соединений и аспирина проведено на 200 белых мышах самцах в возрасте 2 месяцев со средней массой тела 20-21 г. при внутрибрюшинном способе введения. Животные прошли карантин в течение 14 дней в условиях отдельного бокса вивария кафедры биологической химии БГМУ.

Температурный режим помещения вивария поддерживался от +18 до +22 С. Освещение вивария совмещенное (естественное и люминисцентное). Ежедневно в помещении вивария проводилась 20 мин. бактерицидная обработка стационарным настенным бактерицидным облучателем. Животные имели круглосуточный свободный доступ к поилкам, получали набор натуральных продуктов (овощи, зерно) и стандартную диету, представленную в виде экструдированного гранулированного корма для содержания лабораторных животных (мышей, крыс, хомяков) соответствующего Декларации о соответствии № РОСС RU. ПР 98, Д 00497 до 07.02.2016 г. и содержащего в своем составе пшеницу, ячмень, шрот соевый, муку рыбную, дрожжи, отруби, а также витамины и минеральные вещества, витаминно-минеральный комплекс, растительный жир, антиоксидант.

Исследования выполнялись в соответствии правилами лабораторной практики (GLP), со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (М., 2012).

При проведении исследований на белых беспородных мышах при внутрибрюшинном

введении вещества исследовали в дозах 100-500 мг/кг с шагом в 50 мг/кг. Количество вводимого вещества рассчитывали по объему введенного раствора в зависимости от массы тела с учетом максимально допустимого количества жидкости. Контрольная (интактная) группа животных включена в эксперимент для проведения сравнительной оценки состояния и поведения особей в контрольной и опытных группах. Данная группа животных по окончании первых суток наблюдений исключалась из эксперимента. Наблюдение за опытными группами проводилось в течение 14 суток.

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 критериев принимали равным 0,05. Величину LD50 вычисляли методом пробит-анализа с использованием программы BioStat 5.9 (AnalystSoft Inc.).

Установлено (таблица 1), что введение исследуемых соединений в кювету агрегометра приводит к удлинению реакции высвобождения тромбоцитов (lag-периода) на 15,7% ($p < 0.05$) для Ia и 10,3% ($p < 0.05$) для Ib, снижению амплитуды агрегации тромбоцитов на 29,4% ($p < 0.05$) для Ia и 23,5% ($p < 0.05$) для Ib, скорости агрегации тромбоцитов на 13,6% ($p < 0.05$) для Ia и 7,4% ($p < 0.05$) для Ib и удлинению времени достижения максимальной агрегации на 25,7% ($p < 0.05$) и 18,3% ($p < 0.05$) соответственно для Ia и Ib по сравнению с контролем. При этом ацетилсалициловая кислота не влияет на реакцию высвобождения тромбоцитов, уступая соединению Ia по действию на уровень агрегации тромбоцитов более чем в 2,2 раза ($p < 0.05$), показатели скорости агрегации тромбоцитов на 28,6% ($p < 0.05$) и времени достижения максимума агрегации более чем в 2,4 раза ($p < 0.05$). При этом ацетилсалициловая кислота уступает соединению Ib по действию на уровень агрегации тромбоцитов более чем в 1,7 раза ($p < 0.05$), показатели скорости агрегации тромбоцитов на 59,4% ($p < 0.05$) и времени достижения максимума агрегации более чем в 1,7 раза ($p < 0.05$).

Пример 4. Изучение острой токсичности соединений I a, b при внутрибрюшинном введении мышам.

В результате исследования установлено, что заявляемые соединения согласно классификации химических веществ по параметрам острой токсичности И.В. Березовской и критерию токсичности при оценке опасности химических соединений по И.В. Саноцкому и И.П. Улановой, относятся к классу малотоксичных веществ (таблица 2).

Таким образом, заявляемые соединения являются малотоксичными и эффективнее аспирина ингибируют процессы активации и агрегации тромбоцитов.

Производные триазола, проявляющие антиагрегационную активность

Таблица 1

Показатели антиагрегационной активности соединений Ia и Ib 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	+15.7 (13.2–19.6)*,#	–29.4 (28.5–30.2)*,##	–13.6 (10.5–16.3)*,##	+25.7 (24.9–28.5)*,##
2	Ib	+10.3 (8.7–11.4)*,#	–23.5 (21.1–26.4)*,##	–16.4 (15.4–19.2)*,##	+18.3 (14.2–21.3)*,##
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.

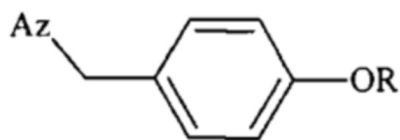
Таблица 2

Показатели острой токсичности заявляемых соединений и ацетилсалициловой кислоты, $M \pm SD$

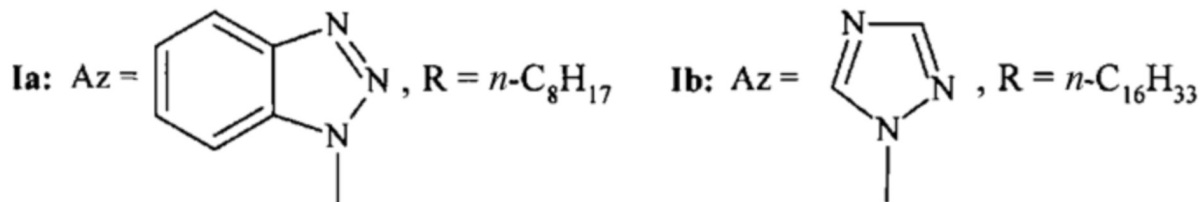
Показатель	Ацетилсалициловая кислота	Ia	Ib
LD50, мг/кг	302,9±32,6	560±27,9	610±39,7

(57) Формула изобретения

1. Производные триазола общей формулы:



Ia-b



2. Соединение по п. 1, представляющее собой 1-[(4-н-октилоксифенил)метил]-1Н-бензотриазол.

3. Соединение по п. 1, представляющее собой 1-[(4-н-гексадецилоксифенил)метил]-1Н-1,2,4-триазол.

4. Производные по п. 1, проявляющие антиагрегационную активность.