

S. A. Demchenko¹, L. S. Bobkova¹, O. E. Yadlovskiy¹,
T. A. Bukhtiarova¹, A. M. Demchenko^{1,2}

Synthesis of derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes and their effect on platelets aggregation

¹Institute of Pharmacology and Toxicology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

²Nizhyn Mykola Gogol State University

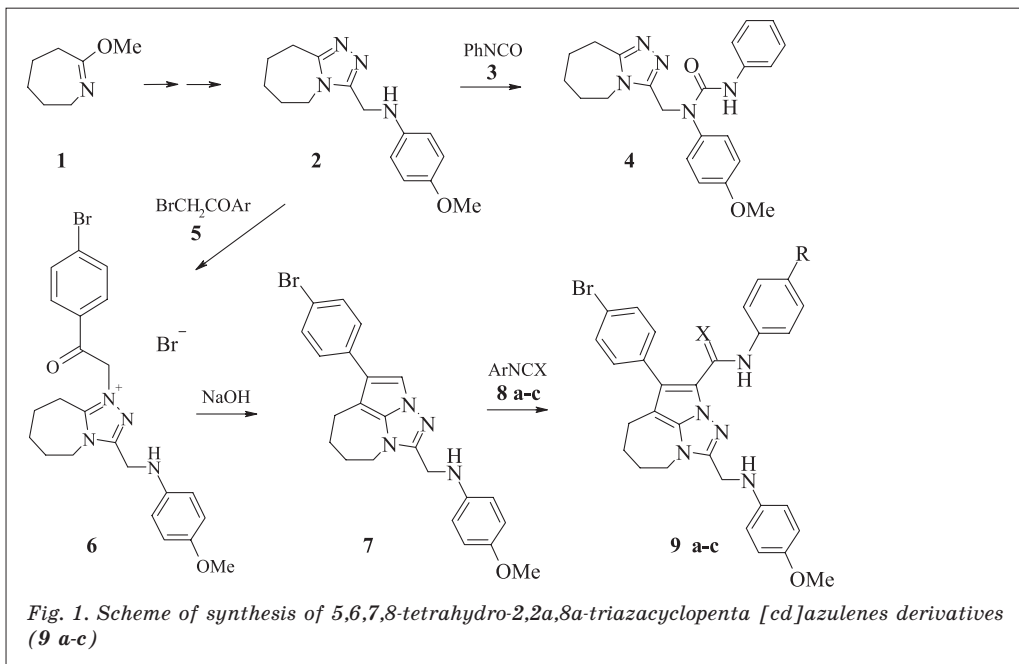
Key words: platelets aggregation, 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes

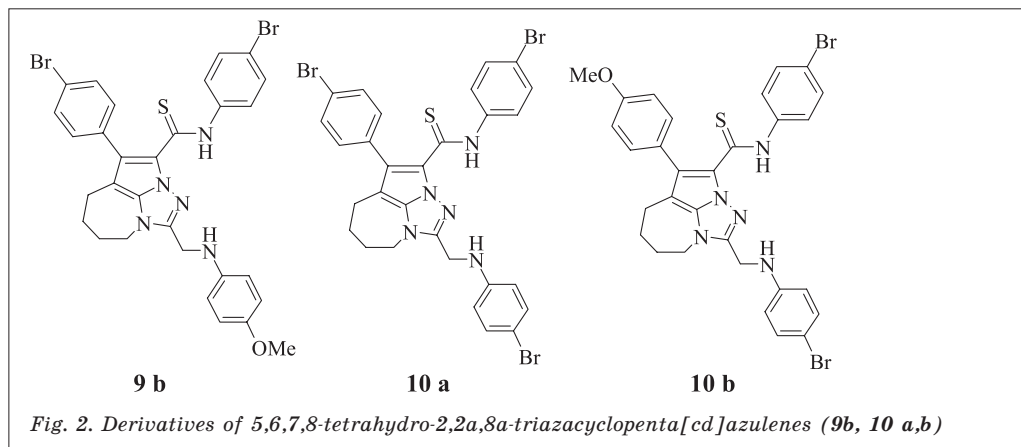
In our previous studies derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes were synthesized and their antitumor, analgesic and anti-inflammatory activities were studied *in vivo* [1–7]. It is well known that nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are able to inhibit cyclooxygenase enzymes activity (COX-1 and/or COX-2). COX isozymes participate in prostaglandins and thromboxanes synthesis which are involved in inflammation and in blood clotting respectively [8]. It is suggested the effect of the derivatives 5,6,7,8-tetra-

hydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes on blood coagulation system. It's known that a series of novel azulene-1 carboxylic acid derivatives and azulene-1 sulfonic acid sodium salts show TXA₂ receptor antagonistic activity [9, 10].

The aim of this study – to synthesize novel derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes and to evaluate their effects on platelets aggregation.

Materials and methods. Test compounds – derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes were synthesized in department of medical chemistry, SI «Institute of Pharmacology and Toxicology NAMS of Ukraine» (Fig.1, Fig. 2).





2-Methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine **1** was obtained by alkylating caprolactam with dimethyl sulfate using the method [11]. 3-(4¹-Methoxyphenyl)-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a]azepine-3-yl-methyl)-amine **2** was obtained by condensation of 2-methoxy-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine **1** with (4-methoxyphenylamino)acetic acid hydrazide and further cyclization of the intermediate product by the method [12].

¹H-NMR spectra were recorded on the Bruker DAX500MHz (Germany) in DMSO-d₆ using tetramethylsilane (TMS) as an internal standard. Chemical shifts are reported in ppm units with use of the δ scale.

Purity control of novel compounds was conducted by thin-layer chromatography in the system chloroform – methanol 9:1. The melting points were measured on a small-sized heating table with the observation device RNMK 05 (VEB Analytik, Dresden).

Synthesis 1-(4-methoxyphenyl)-3-phenyl-1-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a]azepine-3-yl-methyl)-urea 4. To solution of 2.72 g (0.01 M) 3-(4¹-methoxyphenyl)-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a]azepine-3-yl-methyl)-amine **2** in 25 ml dry benzene with stirring added 1.19 g (0.01 M) isocyanatobenzene **3** and was refluxed for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried. Yield 3.05 g (78 %). M. p. = 190–192 °C (from ethanol). Anal. Calc. for C₂₂H₂₅N₅O₂, %: N 17.9. Found, %: N 17.6. NMR ¹H (DMSO-d₆, δ): 1.56–1.62 (m, 4H, CH₂CH₂), 2.84 (m, 2H,

CH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 4.07 (m, 2H, CH₂), 4.94 (s, 2H, CH₂), 6.94 – 7.38 (m, 9H, C₆H₅+C₆H₄), 7.69 (s, 1H, NH).

Synthesis of 1-[2-(4¹-bromophenyl)-2-oxoethyl]-3-(4²-methoxyphenylamino)-methyl]-6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a]azepin-1-ium bromide 6. A mixture of 5.45 g (0.02 M) 3-(4¹-methoxyphenyl)-(6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a]azepine-3-yl-methyl)-amine **2** and 5.56 g (0.02 M) 4-bromophenacylbromide **5** in 100 ml of ethylacetate was refluxed for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried. Yield 8.91 g (81 %). Anal. Calc. for C₂₃H₂₆Br₂N₄O₂, %: Br = 29.0, N = 11.4. Found, %: Br = 28.7, N = 11.6. NMR ¹H (DMSO-d₆, δ): 1.69 (m, 2H, CH₂), 1.87 (m, 4H, 6,7-CH₂CH₂), 3.24 (m, 2H, 5-CH₂), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 4.46 (m, 2H, 8-CH₂), 4.60 (m, 2H, NHCH₂), 6.09 (s, 1H, NH), 6.38 (m, 2H, N⁺CH₂CO), 6.65 and 6.74 (d-d, 4H, C₆H₄), 7.87 and 8.02 (d-d, 4H, C₆H₄).

Synthesis of [4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-1-yl-methyl]-(4²-methoxyphenyl)-amine 7. Solution 40 ml 5 % NaOH was added into the suspension of 5.50 g (0.01 M) 1-[2-(4¹-bromophenyl)-2-oxoethyl]-3-(4²-methoxyphenylamino)-methyl]-6,7,8,9-tetrahydro-5H-[1,2,4] triazolo[4,3-a]azepin-1-ium bromide **6** in 50 ml water and refluxed for 3 hours. After cooling, the precipitate formed is filtered off, washed with water, dried and crystallized from benzene. Yield 2.21 g (49%). M. p. = 172–174 °C. Anal. Calc. for C₂₃H₂₃BrN₄O, %: Br = 17.7, N = 12.4. Found, %: Br = 17.5, N = 12.6.

NMR ^1H (DMSO- d_6 , δ): 1.97 (m, 4H, 6,7- CH_2CH_2), 2.74 (m, 2H, 5- CH_2), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 4.03 (m, 2H, 8- CH_2), 4.34 (d, 2H, NHCH_2), 5.86 (t, 1H, NHCH_2), 6.67 and 6.75 (d-d, 4H, C_6H_4 $J = 9.2$ Hz), 7.25 (s, 1H, 3-H), 7.39 and 7.51 (d-d, 4H, C_6H_4 $J = 8.5$ Hz).

Synthesis of 1-[(4²-methoxyphenylamino)methyl]-4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carboxylic acid phenylamide 9 a. 0.596 g (0.005 M) Phenyl isocyanate was added to solution of 2.26 g (0.005 M) [4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd] azulene-1-yl-methyl]-(4²-methoxyphenyl)-amine **7** in 40 ml of dry benzene with stirring and refluxed for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried and crystallized from DMFA. Yield 2.34 g (82 %). M. p. = 210–211 °C. Anal. Calc. for $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{BrN}_5\text{O}_2$, %: Br = 14.0, N = 12.3. Found, %: Br = 13.7, N = 12.1. NMR ^1H (DMSO- d_6 , δ): 1.91 (m, 2H, CH_2), 2.07 (m, 2H, CH_2), 2.52 (m, 2H, 5- CH_2), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 4.16 (m, 2H, 8- CH_2), 4.58 (d, 2H, NHCH_2), 6.00 (t, 1H, NHCH_2), 6.77 (s, 4H, C_6H_4), 6.99–7.57 (m, 9H, $\text{C}_6\text{H}_5 + \text{C}_6\text{H}_4$), 9.65 (s, 1H, NH).

Synthesis of 1-[(4²-methoxyphenylamino)methyl]-4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carbothioic acid (4-bromophenyl)amide 9 b. 1.07 g (0.005 M) 4-Bromophenyl isothiocyanate was added to solution of 2.26 g (0.005 M) [4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-1-yl-methyl]-(4²-methoxyphenyl)-amine **7** in 40 ml of dry benzene with stirring and reflux for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried and crystallized from DMFA. Yield 2.83 g (85 %). M. p. = 212–213 °C. Anal. Calc. for $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{Br}_2\text{N}_5\text{OS}$, %: Br = 24.0, N = 10.5. Found, %: Br = 23.8, N = 10.3. NMR ^1H (DMSO- d_6 , δ): 1.89 (m, 2H, CH_2), 2.05 (m, 2H, CH_2), 2.40 (m, 2H, 5- CH_2), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 4.17 (m, 2H, 8- CH_2), 4.55 (d, 2H, NHCH_2), 5.97 (t, 1H, NHCH_2), 6.72 and 6.78 (d-d, 4H, C_6H_4), 7.23 and 7.59 (d-d, 4H, C_6H_4), 7.47 and 7.51 (d-d, 4H, C_6H_4), 10.9 (s, 1H, NH).

Synthesis of 1-[(4²-methoxyphenylamino)methyl]-4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-

tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd] azulene-3-carbothioic acid (4-ethoxyphenyl)amide 9 c. 0.896 g (0.005 M) 4-Ethoxyphenyl isothiocyanate was added to solution of 2.26 g (0.005 M) [4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-1-yl-methyl]-(4²-methoxyphenyl)-amine **7** in 40 ml of dry benzene with stirring and refluxed for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried and crystallized from DMFA. Yield 2.83 g (85 %). M. p. = 216–218 °C. Anal. Calc. for $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{BrN}_5\text{O}_2\text{S}$, %: Br = 12.7, N = 11.1. Found, %: Br = 12.9, N = 11.3. NMR ^1H (DMSO- d_6 , δ): 1.32 (t, 3H, CH_3), 1.89 (m, 2H, CH_2), 2.05 (m, 2H, CH_2), 2.40 (m, 2H, 5- CH_2), 3.63 (s, 3H, OCH_3), 4.01 (q, 2H, CH_2), 4.17 (m, 2H, 8- CH_2), 4.54 (s, 2H, NHCH_2), 6.01 (t, 1H, NHCH_2), 6.75 (s, 4H, C_6H_4), 6.87 and 7.51 (d-d, 4H, C_6H_4), 7.24 and 7.47 (d-d, 4H, C_6H_4), 10.8 (s, 1H, NH).

Synthesis of 1-[(4²-bromophenylamino)methyl]-4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd] azulene-3-carbothioic acid (4-bromophenyl)amide 10 a. 1.07 g (0.005 M) 4-Bromophenyl isothiocyanate was added to solution of 2.50 g (0.005 M) [4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-1-yl-methyl]-(4²-bromophenyl)-amine in 50 ml of dry benzene with stirring and refluxed for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried and crystallized from DMFA. Yield 2.83 g (85 %). M. p. = 224–226 °C. Anal. Calc. for $\text{C}_{29}\text{H}_{24}\text{Br}_3\text{N}_5\text{S}$, %: Br = 33.6, N = 9.80. Found, %: Br = 33.2, N = 9.66. NMR ^1H (DMSO- d_6 , δ): 1.88 (m, 2H, CH_2), 2.05 (m, 2H, CH_2), 2.40 (m, 2H, 5- CH_2), 4.14 (m, 2H, 8- CH_2), 4.61 (d, 2H, NHCH_2), 6.59 (t, 1H, NHCH_2), 6.74 and 7.28 (d-d, 4H, C_6H_4), 7.22 and 7.57 (d-d, 4H, C_6H_4), 7.44 and 7.55 (d-d, 4H, C_6H_4), 10.8 (s, 1H, NH).

Synthesis of 1-[(4²-bromophenylamino)methyl]-4-(4¹-methoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carbothioic acid (4-bromophenyl)amide 10b. 1.07 g (0.005 M) 4-Bromophenyl isothiocyanate was added to solution of 2.26 g (0.005 M) [4-(4¹-methoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-

triazacyclopenta[cd]azulene-1-yl-methyl]- (4²-bromophenyl)-amine **7** in 50 ml of dry benzene with stirring and refluxed for 1 hour. After cooling the precipitate formed is filtered off, dried and crystallized from DMFA. Yield 2.63 g (79 %). M. p. = 245–247 °C. Anal. Calcd. for C₃₀H₂₇Br₂N₅OS, %: Br = 24.0, N = 10.5. Found, %: Br = 24.3, N = 10.6. NMR ¹H (DMSO-d₆, δ): 1.93 (m, 2H, CH₂), 2.10 (m, 2H, CH₂), 2.45 (m, 2H, 5-CH₂), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 4.16 (m, 2H, 8-CH₂), 4.58 (d, 2H, NHCH₂), 6.41 (t, 1H, NHCH₂), 6.71 and 7.16 (d-d, 4H, C₆H₄), 6.83 and 7.20 (d-d, 4H, C₆H₄), 7.38 and 7.55 (d-d, 4H, C₆H₄), 10.7 (s, 1H, NH).

The effect of novel derivatives on rat platelets aggregation was studied *in vitro*. Blood samples were taken from jugular vein of rats under pentobarbital (50 mg/kg) anesthesia. For experiments in which aggregation were studied, blood samples were stabilized by sodium citrate (3.8 %, in a ratio 9:1) and poured into silicone cuvettes. Test compounds were added into cuvettes at the concentration (1 · 10⁻⁵–1 · 10⁻⁶) mg/l. Cuvettes were at 37 °C for 15 minutes in thermostat. Blood samples were taken from the cuvettes (20 µl) and the initial number of platelets was counted. After that in cuvettes was added ADP (Reanal, Hungary) to the final concentration (5 · 10⁻⁵) M. Blood samples were taken from the cuvette (20 µl) after 90 seconds. Samples were placed in ammonium oxalate (1 % sol.). Single platelets were counted in the Hemocytometer. Platelets

aggregation was calculated in accordance with the formula:

$$[(A_{\text{base.}} - B)/A_{\text{base.}}] \cdot 100 \%,$$

where: A_{base.} – base number of platelets, B – number of single platelets (90 seconds after ADP add).

The statistical analysis of the data obtained was performed by the method of variation 0 statistics (t-test) OriginPro 8.0 (originLab Corporation, USA) [13].

Results and discussion. There were studied *in vitro* the effects of base compounds (derivatives of 5H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]azepines **4**, **6** and 2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene **7**) and target compounds (derivatives of 2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carbothioic acid **9 a-c** and **10 a, b**) on platelets aggregation at whole rat's blood samples. Analysis of base compounds activities shows that salt **6** and 2,2a,8a-triazacyclopenta [cd] azulene **7** had no significant effect on the ADP-induced platelets aggregation (relation to control) (Table 1).

Compound with triazolo-azepine fragment **4** significantly increases the platelets aggregation in whole blood by 21 % at concentration of 1 · 10⁻⁶ M (P < 0.05) and by 12 % at 1 · 10⁻⁵ M. It is possible that these compounds are characterized by agonist-antagonist action as to the blood coagulation system [14].

The compounds **9 a-c** and **10 a,b** exhibited similar activity for both concentrations (Table 2).

Table 1

ADP-induced platelets aggregation under the effect of base compounds 4–7

Compound	Concentration, M	Aggregation, % n = 6	Aggregation (+)/ antiaggregation (–) effect, Δ %
Control (0.9 % NaCl)		36.0 ± 4.52	
4	1 · 10 ⁻⁵	40.2 ± 3.87	+ 12 %
4	1 · 10 ⁻⁶	43.6 ± 3.79	+ 21 %*
6	1 · 10 ⁻⁵	33.8 ± 2.87	- 6 %
6	1 · 10 ⁻⁶	37.0 ± 4.97	+ 3 %
Control (0.9 % NaCl)		43.4 ± 5.13	
7	1 · 10 ⁻⁵	45.4 ± 2.71	+ 5 %
7	1 · 10 ⁻⁶	41.4 ± 2.48	- 5 %

Note. *P < 0.05 compared to the control.

*ADP-induced platelets aggregation under the effect of target compounds
9 a-c and 10 a,b*

Compound	Concentration, M	Aggregation (+)/ antiaggregation (-) effect, Δ %
9 a	$1 \cdot 10^{-5}$	+ 15
	$1 \cdot 10^{-6}$	+ 5
9 b	$1 \cdot 10^{-5}$	- 22*
	$1 \cdot 10^{-6}$	- 24*
9 c	$1 \cdot 10^{-5}$	+ 3
	$1 \cdot 10^{-6}$	+ 1
10 a	$1 \cdot 10^{-5}$	+ 13
	$1 \cdot 10^{-6}$	+ 32*
10 b	$1 \cdot 10^{-5}$	+ 4
	$1 \cdot 10^{-6}$	+ 23*

Note. *P < 0.05 compared to the control.

Compound **9 b** showed significant anti-aggregation effect 22–24 % in both investigated concentrations. Compounds **9 a**, **9 c** did not reveal anti-aggregation effect in both study concentrations. It was shown, that replacement of the (4¹-methoxyphenyl)-substituent in the first position (**9 b**) of the heterocyclic system to (4¹-bromophenyl) (**10 a,b**) changes the anti-aggregation effect to the aggregation. The similar tendency were observed for compounds **9b** and **9a** with the same substituents in the first and fourth positions of the heterocyclic system. However, these compounds had differ structure of the amide fragment: 4-bromophenylthioamide (**9 b**) and phenylamide (**9 a**) respectively.

Conclusion

1. New derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carboxylic acid phenylamide and arylthioamides were synthesized by the reaction of 4-aryl-5,6,7,8-tetrahydro-

2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-1-ylmethyl-arylamines with the corresponding isocyanate or isothiocyanates at 79–85% yield.

2. 1-[(4²-Methoxyphenylamino)methyl]-4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carboxylic acid (4-bromophenyl)amide **9 b** demonstrates anti-aggregation activity *in vitro*. Compound **9 b** showed the highest anti-aggregation effect (22–24 %) at concentrations of $1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ M.

3. It was shown, that replacement of the (4¹-methoxyphenyl)- substituent in the first position (**9 b**) of the heterocyclic system to (4¹-bromophenyl) (**10 a,b**) changes the anti-aggregation effect to the aggregation effect.

Authors are grateful to the Head of department Toxicology Laboratory, Institute of Bioorganic Chemistry, NAS of Belarus, Ph.D. Nasek V. M. for realization of biological studies.

1. Патент на корисну модель № 119422 Україна, МПК (2017.01) C07D 487/04, C07B 43/00. 3-Ариламінометил-6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло [4,3-а]азепіни, що проявляють анальгетичну активність // Демченко С. А., Серединська Н. М., Бухтіарова Т. А., Бобкова Л. С., Бершова Т. А., Демченко А. М. – № у 2017 03262; Заявл. 05.04.2017; Опубл. 25.09.2017, Бюл. № 18.
2. Патент на корисну модель № 121780 Україна, МПК (2006) C07D 487/00, A07B 43/00. 1-Ариламінометил-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[cd]азулені, що проявляють анальгетичну активність // Демченко С. А., Серединська Н. М., Бухтіарова Т. А., Бобкова Л. С., Демченко А. М. – № у 2017 07646; Заявл. 19.07.2017; Опубл. 11.12.2017, Бюл. № 23.

3. Патент на винахід № 115756 Україна, МПК (2006): C07D 487/04, A61K 31/4196 (2006.01), A61P 29/00. Застосування 3-ариламінометил-6,7,8,9-тетрагідро-5H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]азепінів, як анальгетиків // Демченко С. А., Серединська Н. М., Бухтіарова Т. А., Бобкова Л. С., Бершова Т. А., Демченко А. М. – № а 2017 03263; Заявл. 05.04.2017; Опубл. 11.12.2017, Бюл. № 23.
4. Патент на винахід № 115750 Україна, МПК (2006): C07D 487/06 (2006.01), A61K 31/343 (2006.01), A61P 35/00, C07C 13/52 (2006.01). 1-Феніл-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[с,d]азулені, що мають протипухлинну активність // Демченко С. А., Колесніков О. В., Демченко А. М., Бобкова Л. С. – № а 2017 01124; Заявл. 07.02.2017; Опубл. 11.12.2017, Бюл. № 23.
5. Патент на корисну модель № 121779 Україна, МПК (2006) C07D 487/00, А 61P 35/00. 1-(2¹-Метоксифеніл)амінометил-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[сd]азулен, що має протипухлинну активність // Демченко С. А., Бобкова Л. С., Бухтіарова Т. А., Демченко А. М. – № у 2017 07644; Заявл. 19.07.2017; Опубл. 11.12.2017, Бюл. № 23.
6. Патент на корисну модель № 120100 Україна, МПК (2017.01) C07D 487/00, А 61P 35/00. 4-Арил-1-феноксиметил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триаза-ціклопента[сd]азулені, що мають протипухлинну активність // Демченко С. А., Волочник Д. М., Демченко А. М., Бобкова Л. С. – № у 2017 03603; Заявл. 13.04.2017; Опубл. 25.10.2017, Бюл. № 20.
7. Патент на корисну модель № 123896 Україна, МПК (2006) C07D 487/00, А61P 35/00. 1-(4¹-Бромфеніл)-4-арил-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a,8a-триазаціклопента[сd]азулені, що проявляють протипухлинну активність // Демченко С. А., Артемчук Л. П., Демченко А. М., Бобкова Л. С. – № у 2017 09889; Заявл. 12.10.2017; Опубл. 12.03.2018, Бюл. № 5.
8. Rainsford K. D. Anti-inflammatory drugs in the 21st century / K. D. Rainsford // Subcell Biochem. – 2007. – № 42. – Р. 3–27.
9. Design, synthesis, and pharmacology of 3-substituted sodium azulene-1-sulfonates and related compounds: non-prostanoid thromboxane A2 receptor antagonists / T. Tomiyama, M. Yokota, S. Wakabayashi [et al.] // J Med Chem. – 1993 – V. 2, № 36 (7). – P. 791–800.
10. Azulene derivatives: new non-prostanoid thromboxane A2 receptor antagonists / T. Tomiyama, S. Wakabayashi, K. Kosakai, M. Yokota // J Med Chem. – 1990. – V. 33, № 9. – P. 2323–6.
11. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом / Граник В. Г., Жидкова А. М., Курятов Н. С. [и др.] // ХГС. – 1973. – № 11. – С. 1532–1535.
12. Синтез, противокоррозионная и биоцидная активность производных триазолоазепина / А. М. Демченко, К. Г. Назаренко, А. П. Макей [и др.] // Журнал прикладной химии. – 2004. – Т. 77, Вып. 5. – С. 794–797.
13. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : Морион, 2002. – 640 с.
14. Katzung B. G., Mesters S. B., Trevor J. A. Basic & clinical pharmacology Katzung B. G., Mesters S. B., Trevor J. A. 12th Edition. by The McGraw-Hill Companies. 2012 – 1229 p.

S. A. Demchenko, L. S. Bobkova, O. E. Yadlovskiy, T. A. Bukhtiarova, A. M. Demchenko

Synthesis of derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta [cd]azulenes and their effect on platelets aggregation

The derivatives of triazacyclopenta[cd]azulenes have great interest as biologically active compounds. In our previous studies the analgesic, anti-inflammatory activities of 2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes derivatives were shown. The anti-inflammatory activity of derivatives 2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes and antiaggregant activity other azulene derivatives suggested the presence of antiaggregant action of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd] azulene derivatives.

The aim of this study – to synthesize novel derivatives of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes and to evaluate their effects on platelets aggregation.

A series of novel derivatives of phenylamide and arylthioamides of 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carboxylic acid were synthesized. The structure and purity of compounds were confirmed by NMR ¹H spectroscopy and TLC at Silufol UV-254 plates.

The effect of new compounds on ADP-induced platelets aggregation was studied on the whole blood of Wistar male rats *in vitro*. Blood was collected from the jugular vein of anesthetized animals. Test compounds were added to samples at concentrations of 10⁻⁵ M and 10⁻⁶ M. The number of single platelets was counted at the Hemocytometer and than the changes in the degree of platelet aggregation compared with the control.

It was shown, that 1-[(4²-methoxyphenylamino)methyl]-4-(4¹-bromophenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulene-3-carboxylic acid (4-bromophenyl)amide (**9 b**) showed a significant anti-aggregation effect at concentrations of 10⁻⁵ M and 10⁻⁶ M. It was also shown, that replacement of the (4¹-methoxyphenyl)- substituent in the first position (**9 b**) of the heterocyclic system to (4¹-bromophenyl) (**10 a, b**) changes the anti-aggregation effect to the aggregation respectively. Other compounds did not show anti-aggregation activity in the experiment *in vitro*.

Key words: platelets aggregation, 5,6,7,8-tetrahydro-2,2a,8a-triazacyclopenta[cd]azulenes

**С. А. Демченко, Л. С. Бобкова, О. Е. Ядловський, Т. А. Бухтіарова,
А. М. Демченко**

Синтез похідних 5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулену та їхній вплив на агрегацію тромбоцитів

Як біологічно активні сполуки великий інтерес викликають похідні триазаціклопента[сd]азулену. У наших попередніх дослідженнях показано анагезуючу та протизапальну активність похідних 2,2а,8а-триазаціклопента [сd]азулену. Протизапальна активність похідних 2,2а,8а-триазаціклопента [сd]азулену та антиагрегантна активність інших похідних азулену припускають наявність антиагрегантної дії в похідних 5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулену.

Мета дослідження – синтезувати та вивчити вплив похідних 5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулену на агрегацію тромбоцитів у цільній крові на етапі первинного фармакологічного скринінгу.

Синтезовані нові похідні – феніламід та арилтіоаміди 5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулен-3-карбонової кислоти. Будова та чистота отриманих сполук підтверджена за допомогою ЯМР ¹H спектроскопії та ТШХ на пластинках Silufol UV-254.

Вплив досліджених сполук на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів вивчали *in vitro* в зразках цільної крові щурів-самців лінії Вістар. Кров відбирали у наркотизованих тварин з яремної вени та стабілізували 3,8 %-ним розчином цитрату натрію. У проби додавали досліджувані сполуки в концентраціях 10⁻⁵ і 10⁻⁶ моль/л. Про активність судили за зміною ступеня агрегації тромбоцитів порівняно з контролем.

Показано, що сполука – (4-бромфенілітоаміду)-1-[(4²-метоксифеніламіно)метил]-4-(4¹-бромфеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулен-3-карбонової кислоти у концентраціях 10⁻⁵ і 10⁻⁶ моль/л проявила достовірну антиагрегаційну дію. Для 4-бромфенілітоамідів-3-карбонової кислоти заміна (4-метоксифеніламіно) метильного замісника на (4-бромфеніламіно) – метильний призводила до агрегаційного ефекту. Інші цільові сполуки достовірно не впливали на АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів порівняно з контролем.

Ключові слова: агрегація тромбоцитів, 5,6,7,8-тетрагідро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулен

**С. А. Демченко, Л. С. Бобкова, О. Е. Ядловський, Т. А. Бухтіарова,
А. М. Демченко**

Синтез производных 5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулена и их влияние на агрегацию тромбоцитов

В качестве биологически активных соединений большой интерес вызывают производные триазаціклопента[сd]азулена. В наших предыдущих исследованиях показана анальгезирующая и противовоспалительная активность производных 2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулена. Противовоспалительная активность производных 2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулена и антиагрегантная активность других производных азулена позволили предположить наличие антиагрегантного действия у производных 5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулена.

Цель исследования – синтезировать и изучить влияние производных 5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулена на агрегацию тромбоцитов в цельной крови на этапе первичного фармакологического скрининга.

Синтезированы новые производные – феніламід и арилтіоаміди 5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазаціклопента[сd]азулен-3-карбонової кислоти. Строение и чистота полученных соединений подтверждены при помощи ЯМР ¹H спектроскопии и ТСХ на пластинках Silufol UV-254.

Определено влияние исследованных соединений на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов в цельной крови крыс-самцов линии Вистар в опытах *in vitro*. Кровь отбирали у наркотизированных животных из яремной вены и стабилизировали 3,8 %-ным раствором цитрата натрия. В пробы прибавляли исследуемые соединения в концентрациях 10⁻⁵ и 10⁻⁶ моль/л. Количество тромбоцитов в образцах определяли с помощью гемоцитометра. Об активности судили по изменению степени агрегации тромбоцитов в сравнении с контролем.

Показано, что соединение - (4-бромфенілітоамід) -1 - [(4²-метоксифеніламіно)метил]-4-(4¹-бромфеніл)-5,6,7,8-тетрагидро-2,2а, 8а-триазаціклопента[сd] азулен-3-карбонової кислоти в концентрациях 10⁻⁵ и 10⁻⁶ моль/л проявляет достоверную антиагрегантную активность. Для 4-бромфенілітоамідів-3-карбонової кислоти заміна (4-метоксифеніламіно) метильного заместителя на (4-бромфеніламіно) – метильный, приводит к агрегационному эффекту. Другие целевые соединения практически не меняли АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов по сравнению с контролем.

Ключевые слова: агрегация тромбоцитов, 5,6,7,8-тетрагидро-2,2а,8а-триазаціклопента [сd]азулен

Надійшла: 16 січня 2019 р.

Контактна особа: Демченко А. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 94 18.