



УДК 577.15:612.117.7.08:519.24

СИНТЕЗ НОВЫХ ИНГИБИТОРОВ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ – ЗАМЕЩЕННЫХ ПИРИДИЛИЗОКСАЗОЛОВ И ИХ 4,5-ДИГИДРОАНАЛОГОВ

© 1995 г. О. В. Демина, П. В. Вржещ*, А. А. Ходонов**, В. И. Козловский***, С. Д. Варфоломеев*

*Институт прикладных исследований
Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва;*

** Научный парк МГУ, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии
им. А.Н. Белозерского Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва;*

*** Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва;*

**** Филиал Института энергетических проблем химической физики РАН,
Московская область, пос. Черноголовка*

Поступила в редакцию 03.02.95 г.

Осуществлен синтез ряда замещенных пиридилизоксазолов и их 4,5-дигидроаналогов 1,3-диполярным циклоприсоединением замещенных нитрилоксидов с алкенами или алкинами. Синтезированные соединения в концентрации 1×10^{-6} - 1×10^{-3} М ингибируют агрегацию тромбоцитов человека, вызванную индуктором агрегации – арахидоновой кислотой. Низкая токсичность этих соединений позволяет рассматривать их как потенциальные антитромбозные препараты.

Ключевые слова: замещенные изоксазолы, ингибиторы агрегации тромбоцитов человека, 1,3-диполярное циклоприсоединение.

Поиск новых антиагрегационных средств, обладающих низкой токсичностью и высокой эффективностью, остается одним из важнейших направлений биоорганической химии [1, 2].

Анализ структур физиологически активных веществ и нативных регуляторов агрегации тромбоцитов [1 - 5] позволил нам предположить, что сочетание в одной молекуле двух таких фармакофорных фрагментов, как пиридиновый и изоксазольный, представляет интерес с точки зрения получения новых гетероциклических соединений с выраженной антиагрегационной активностью.

Таким образом, нами были выбраны соединения общей формулы (V и VI), содержащие 2-, 3- и 4-пиридиновый фрагмент при C(3)-атоме и имеющие заместители различной природы при C(5)-атоме изоксазола (Va - и) или его 4,5-дигидропроизводного (VIa - г) (см. таблицу).

Известен ряд подходов к синтезу замещенных изоксазолов, из которых наиболее часто применяются два. Первый подход заключается в реакции 1,3-дикарбонильных соединений с гидросиламином или его гидрохлоридом [6 - 8]. Процесс протекает, как правило, с низкой региоселективностью и приводит к смеси изомерных изоксазолов.

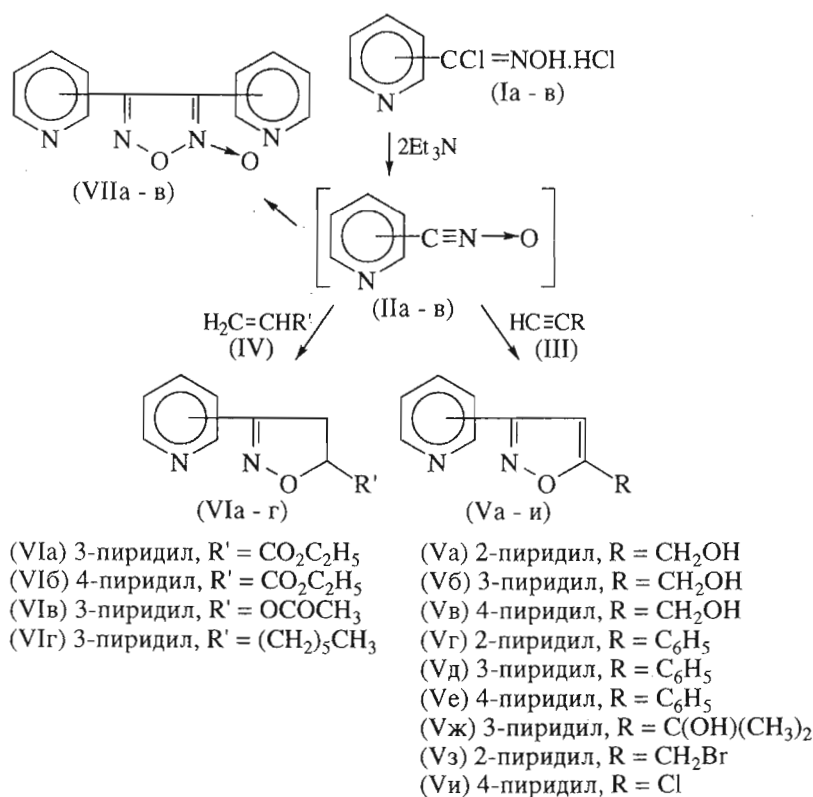
Второй, наиболее общий и широко используемый подход к синтезу производных изоксазолов основан на реакции циклоприсоединения нитрилоксидов к алкинам или алкенам [6, 7]. Этот наиболее эффективный метод получения пиридилзамещенных производных изоксазолов, позволяющий варьировать заместители по C5-положению изоксазольного кольца без дополнительных стадий, применен нами для синтеза новых соединений исследуемого класса в настоящей работе (см. схему 1).

Синтез замещенных пиридилизоксазолов

Для определения степени влияния природы заместителя при C(5)-атоме изоксазольного цикла на антиагрегационные свойства мы вводили в реакцию циклоприсоединения терминальные алкены или алкены, содержащие заместители, различающиеся как стерическими, так и электронными свойствами (см. таблицу).

Так как большинство нитрилоксидов отличается низкой стабильностью и склонностью к димеризации с образованием фуроксанов [9], их обычно генерируют *in situ*, чаще всего используя реакцию дегидрогалогенирования хлор- или бромангидридов гидроксимовых кислот [10, 11] под действием триэтиламина. Вместо триэтиламина

Адрес для переписки: 117571, Москва, просп. Вернадского, 86, МИТХТ, Ходонову А.А.



Для соединений (I), (II) и (VII): а – 2-пиридил, б – 3-пиридил, в – 4-пиридил.

Схема 1. Получение пиридилизоксазолов и пиридилизоксазолинов по реакции 1,3-циклоприсоединения.

для этих целей возможно применение ряда других реагентов [12 - 15]; кроме того, в последнее время разработаны также другие методы генерирования нитрилоксидов [9, 16 - 25]. Выбор триэтиламина в настоящей работе обусловлен его доступностью и простотой проведения процесса.

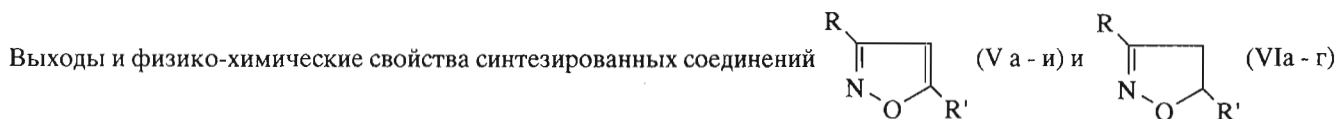
Стабильные предшественники пиридилнитрилоксидов – гидрохлориды хлорангидридов пиридингидроксимовых кислот (Ia - в) были получены по описанной методике из *E*-оксимов 2-, 3- и 4-пиридинкарбальдегидов с использованием газообразного хлора в дихлорметане при $-5 - -10^\circ C$ [26] с выходом 92 - 95%. *E*-Оксимы пиридинкарбальдегидов получали с выходами 80 - 93% из 2-, 3- и 4-пиридинкарбальдегидов по методу [27].

Реакцию циклоприсоединения осуществляли медленным прибавлением 2 экв. триэтиламина к хорошо перемешиваемой смеси 1 экв. соответствующего гидрохлорида хлорангидрида пиридингидроксимовой кислоты (Ia - в) и 3 - 5 экв. ненасыщенного соединения в этаноле. Медленное прибавление необходимо для поддержания низкой концентрации промежуточного пиридилнитрилоксида и сведения к минимуму образования побочных продуктов димеризации – фуроксанов (VIIa - в).

Преимущество примененного нами метода по сравнению с известными способами получения замещенных изоксазолов [12, 28] заключается в его высокой региоселективности, позволяющей получать исключительно 3,5-дизамещенные производные. Независимо от типа замещения пиридинового фрагмента, а также класса и природы заместителя ненасыщенного предшественника, вводимого в реакцию (алкин или алкен), образование 4-региоизомера не было зафиксировано (контроль с помощью ТСХ и 1H -ЯМР-спектроскопии).

Высокая региоселективность реакции циклоприсоединения алкинов с образованием 3,5-замещенного изоксазола (Va - и) подтверждена спектрами 1H -ЯМР, в которых присутствует единственный синглет в диапазоне 6.97 - 7.72 м. д. (точность определения – 98%). Для продуктов циклоприсоединения алкенов – 4,5-дигидропиридилизоксазолов (VIa - г) характерна АВХ-система протонов изоксазолинового кольца, а отсутствие сигналов другого возможного изомера также свидетельствует о региоселективном протекании процесса циклоприсоединения.

Более низкие выходы в случае алкинов (27 - 58%) по сравнению с алкенами (60 - 86%) можно объяснить малой устойчивостью и их



Соединение	R	R'	Брутто-формула	Выход, %	Т. пл., °С	δ (м. д.) изоксазола
(Va)	2-Рy	CH ₂ OH	C ₉ H ₈ N ₂ O ₂	53	101 - 102	6.99 (DMSO); 6.90 (CDCl ₃)
(Vб)	3-Рy	CH ₂ OH	C ₉ H ₈ N ₂ O ₂	40	139 - 140	7.04 (DMSO); 6.92 (ацетон)
(Vв)	4-Рy	CH ₂ OH	C ₉ H ₈ N ₂ O ₂	41	131 - 132	7.07 (DMSO)
(Vг)	2-Рy	C ₆ H ₅	C ₁₄ H ₁₀ N ₂ O	51	129 - 130 (94 - 95 [28])	7.59 (DMSO); 7.20 (CDCl ₃) (7.19 (CDCl ₃) [28])
(Vд)	3-Рy	C ₆ H ₅	C ₁₄ H ₁₀ N ₂ O	38	142 - 143 (143 - 144 [28])	7.72 (DMSO); 7.52 (ацетон) (6.88 (CDCl ₃) [28])
(Ve)	4-Рy	C ₆ H ₅	C ₁₄ H ₁₀ N ₂ O	27	164 - 165 (162 - 163 [28])	7.72 (DMSO) (6.96 (CDCl ₃) [28])
(Vж)	3-Рy	-C(CH ₃) ₂ OH	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	58	89 - 91	6.97 (DMSO)
(Vз)	2-Рy	-CH ₂ Br	C ₉ H ₇ BrN ₂ O	21	64 - 65	7.14 (DMSO)
(Ви)	4-Рy	-Cl	C ₈ H ₅ ClN ₂ O	9	166 - 168	7.51 (DMSO)
(VIa)	3-Рy	CO ₂ C ₂ H ₅	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃	77	Масло	3.76; 3.90; 5.30 (ацетон)
(VIб)	4-Рy	CO ₂ C ₂ H ₅	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃	87	»	3.75; 3.87; 5.35 (ацетон)
(VIв)	3-Рy	OCOCH ₃	C ₁₀ H ₁₁ N ₂ O ₃	61	77 - 79 (76 [29])	3.58; 3.88 (6.88 (ацетон) [29])
(VIг)	3-Рy	-(CH ₂) ₅ CH ₃	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O	86	48 - 49	3.15; 3.56; 4.73 (ацетон)

низкой реакционной способностью к циклоприсоединению [9] (таблица). Низкие выходы соединений (Vз, и) (21 и 9% соответственно), по-видимому, обусловлены склонностью к полимеризации пропаргилбромида и винилиденхлорида в условиях реакции циклоприсоединения.

Соединения (Va - в, Vж - и) и (VIa, б, г) синтезированы нами впервые, а изоксазолы (Vг - е) ранее были получены в результате реакции соответствующих 1,3-дикарбонильных соединений с гидроклоридом гидросиламина, приводящей к смеси 3- и 5-региоизомеров [28]. К недостаткам известного варианта синтеза соединений (Vг - е) следует отнести дополнительную стадию разделения региоизомеров с ΔR_f 0.05 при отсутствии данных об их выходах.

Соединение (VIв) получено известным методом [26], выходы и константы этого производного совпадают с литературными данными [29] (см. таблицу).

Структуры всех синтезированных пиридил-изоксазолов (Va - и) и их 4,5-дигидропроизводных (VIa - г) доказаны на основании данных ¹H-ЯМР- и хроматомасс-спектров. Определенные трудности, вызванные суперпозицией сигналов для соединений (Vг - е), преодолены съемкой спектров в нескольких растворителях (CDCl₃, ацетон-d₆, DMSO-d₆), что позволило сделать строгое отнесение сигналов протонов пиридинового и фенильного фрагментов.

Характеристическая фрагментация производных изоксазола в масс-спектрах показана на схеме 2 на примере соединения (Vд): образование M⁺ сопровождается перегруппировкой изоксазольного кольца в азириновое производное [6, 30] с последующим отщеплением иона C₆H₅CO⁺. Наличие C₆H₅CO⁺ согласуется с расположением

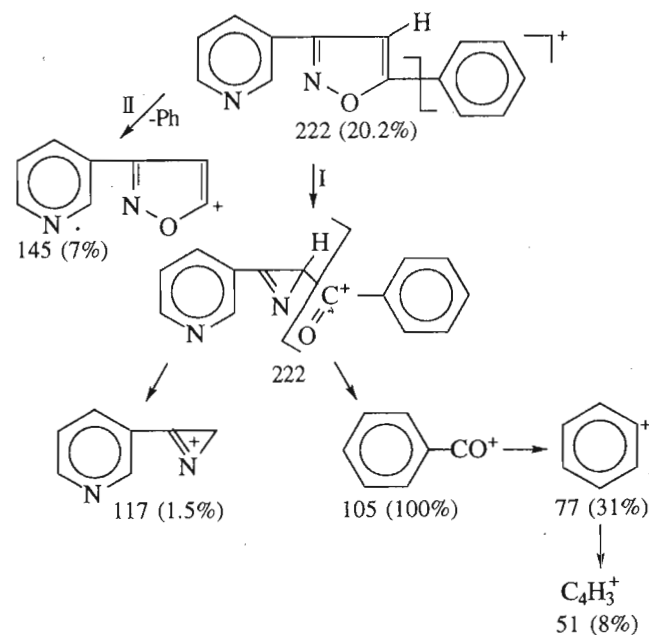


Схема 2. Фрагментация 3-(3-пиридил)-5-фенилизоксазола по данным масс-спектроскопии.

фенильного заместителя при С-3 изоксазола, так как в масс-спектре 3,4-региоизомера подобный ион не наблюдается [30, 31].

Влияние замещенных пиридилизоксазолов и их аналогов на агрегацию тромбоцитов человека

Процесс агрегации тромбоцитов под действием индуктора или ингибитора агрегации исследовали с помощью турбидиметрического метода, основанного на непрерывном детектировании оптического изменения светопропускания цилиндрической кюветы с богатой тромбоцитами плазмой после добавления индуктора агрегации [32, 33].

В качестве индукторов агрегации применены арахидоновая кислота и аденозиндифосфат. Для количественной характеристики биологической активности соединений приведена величина IC_{50} – концентрация вещества, при которой степень агрегации тромбоцитов составляет 50% от исходного значения.

Соединения (Va - д) и (VIв, г) ингибировали агрегацию тромбоцитов, вызванную арахидоновой кислотой, полностью, дозозависимым способом.

Ряд активности для испытанных производных пиридилизоксазолов можно представить в следующем виде:



Предварительными испытаниями на антиагрегационную активность 5-гексил-3-(3-пиридил)-4,5-дигидроизоксазола (VIг) и 5-ацетокси-3-(3-пиридил)-4,5-дигидроизоксазола (VIв) установлено, что IC_{50} этих веществ <100 мкМ.

Все испытанные вещества проявляли антиагрегационную активность в диапазоне концентраций 1×10^{-6} - 1×10^{-3} М. Эти же соединения при таких же концентрациях подавляли вторую волну агрегации, индуцируемой аденозиндифосфатом.

При сравнении замещенных 3-пиридилизоксазолов (Vб) и (Vд) следует отметить, что наличие в положении С5 изоксазола более гидрофобного заместителя (фенила (Vд) вместо гидроксиметила (Vб)) способствует повышению антиагрегационной активности.

Исследованиями на острую токсичность установлена величина LD_{50} , которая составила для соединения (Va) >1500 мг/кг, а для соединений (Vб, в, д) ≥ 2000 мг/кг (испытания проводились на мышах, внутрибрюшинно). Эти данные позволили отнести исследуемые соединения к малотоксичным веществам [34].

Участие изучаемых соединений в цепи передачи сигнала в тромбоцитах (явление суперкооперативности) показано нами в кратком сообщении [35].

Таким образом, данные вещества могут рассматриваться как потенциальные антиагрегационные препараты.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры 1H -ЯМР регистрировали на спектрометрах Bruker СХР-200 и Bruker MSL-200 (ФРГ) с рабочей частотой 200 МГц в дейтерохлороформе, дейтероацетоне- d_6 , диметилсульфоксиде- d_6 . Химические сдвиги приведены в миллионных долях относительно внутреннего стандарта тетраметилсилана (δ 0.000), величины констант спин-спинового взаимодействия измерены в герцах. Масс-спектры получены на приборе Finnigan-4021 (США) при энергии ионизации 70 эВ.

При описании спектров приняты следующие сокращения: с – синглет, уш. с – уширенный синглет, д – дублет, т – триплет, кв – квартет, м – мультиплет.

Тонкослойную хроматографию осуществляли на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, ФРГ) и Silufol UV-254 (Kavalier, ЧСФР) в системах растворителей: хлороформ–метанол, 10 : 1 (А); диэтиловый эфир (Б). Пятна обнаруживали в парах иода или в УФ-свете.

Препаративную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 меш (Chemapol, ЧСФР). В работе использовали реактивы и препараты отечественного производства марки х. ч. и ч. д. а., а также 2-, 3-, 4-пиридинкарбальдегиды, цитрат натрия (Fluka, Швейцария), арахидоновую кислоту, аденозиндифосфат (Sigma, США).

Исследование процесса агрегации тромбоцитов проводили на агрегометре Thromlite 1006, изготовленном в АО “Биохиммак” (Россия).

Растворы упаривали в вакууме при 40 - 60°C и 10 - 12 мм рт. ст.

Оксимы пиридинкарбальдегидов получали по методике [27].

Синтез гидрохлоридов хлорангидридов пиридингидроксамовых кислот (Iа - в) осуществлен по методике [26]. Физико-химические характеристики соединений (Iа - в) полностью соответствовали литературным данным [29].

Синтез производных изоксазола

5-Гидроксиметил-3-(2-пиридил)изоксазол (Va). К перемешиваемому раствору 4.00 г (20.7 ммоль) гидрохлорида 2-пиридилгидроксамоилхлорида (Iа) и 5.80 г (103.5 ммоль) пропаргилового спирта в 195 мл сухого этанола прибавляли по каплям раствор 4.18 г (41.4 ммоль) триэтиламина в 10 мл сухого этанола. Реакционную массу выдерживали 1 ч при 20°C и затем растворитель удаляли. Остаток суспендировали в 30 мл сухого эфира, выпавший осадок гидрохлорида триэтиламина отделяли

фильтрованием. Фильтрат упаривали, остаток перекристаллизовывали из бензола. Белые кристаллы, т. пл. 101 - 102°C; выход 1.93 г (53%); R_f 0.31 (А). ^1H -ЯМР-спектр (δ , DMSO- d_6): 4.76 (2H, д, J 6.0, CH_2O), 5.77 (1H, т, J 6.0, OH), 6.99 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.62 (1H, ддд, J 8.0, 5.0, 1.8, 5-Н), 8.06 (1H, тд, J 8.0, 1.8, 4-Н), 8.11 (1H, ддд, J 8.0, 1.8, 1.0, 3-Н), 8.82 (1H, ддд, J 5.0, 1.8, 1.0, 6-Н). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 4.82 (2H, с, CH_2O), 6.90 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.36 (1H, ддд, J 8.0, 5.0, 1.3, 5-Н), 7.82 (1H, тд, J 8.0, 2.0, 4-Н), 8.08 (1H, ддд, J 8.0, 1.3, 0.7, 3-Н), 8.68 (1H, ддд, J 5.0, 2.0, 0.7, 6-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 176 [M^+] (17.5), 159 (0.2), 145 (60.7), 117 (10.6), 105 (5.2), 90 (3.9), 78 (100.0), 63 (0.9), 51 (9.9). Найдено, %: С 59.97, Н 4.55, N 15.12. $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 61.36, Н 4.58, N 15.90.

5-Гидроксиметил-3-(3-пиридил)изоксазол (Vб) получен так же, как соединение (Va), из 4.00 г (20.7 ммоль) гидрохлорида 3-пиридилгидроксамоилхлорида (Iб), 5.80 г (103.5 ммоль) пропаргилового спирта и 4.18 г (41.4 ммоль) триэтиламина.

Вещество кристаллизовали из этанола. Белые кристаллы, т. пл. 139 - 140°C; выход 1.46 г (40%); R_f 0.18 (А). ^1H -ЯМР-спектр (δ , DMSO- d_6): 4.63 (2H, д, J 6.0, CH_2O), 5.76 (1H, т, J 6.0, OH), 7.04 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.54 (1H, ддд, J 8.0, 5.0, 0.8, 5-Н), 8.25 (1H, ддд, J 8.0, 2.3, 1.8, 4-Н), 8.68 (1H, дд, J 5.0, 1.8, 6-Н), 9.07 (1H, дд, J 2.3, 0.8, 2-Н). ^1H -ЯМР-спектр (δ , ацетон- d_6): 4.80 (2H, с, CH_2O), 4.90 (1H, уш. с, OH), 6.92 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.56 (1H, ддд, J 8.0, 5.0, 0.8, 5-Н), 8.26 (1H, ддд, J 8.0, 2.3, 1.8, 4-Н), 8.70 (1H, дд, J 5.0, 1.8, 6-Н), 9.10 (1H, дд, J 2.3, 0.8, 2-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 176 [M^+] (20.0), 145 (100.0), 117 (9.1), 105 (1.7), 90 (2.4), 78 (40.0), 63 (3.5), 51 (13.9). Найдено, %: С 59.45, Н 4.86, N 15.18. $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 61.36, Н 4.58, N 15.90.

5-Гидроксиметил-3-(4-пиридил)изоксазол (Vв) получен так же, как соединение (Va), из 0.54 г (3.5 ммоль) гидрохлорида 4-пиридилгидроксамоилхлорида (Iв), 0.97 г (17 ммоль) пропаргилового спирта и 0.7 г (7 ммоль) триэтиламина. Вещество кристаллизовали из бензола. Белые кристаллы, т. пл. 131 - 132°C; выход 0.25 г (41%); R_f 0.15 (А). ^1H -ЯМР-спектр (δ , DMSO- d_6): 4.64 (2H, д, J 6.0, CH_2O), 5.77 (1H, т, J 6.0, OH), 7.07 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.83 (2H, м, 3,5-Н), 8.79 (2H, м, 2,6-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 176 [M^+] (27.8), 159 (0.2), 145 (100.0), 117 (7.8), 105 (6.1), 90 (0.9), 78 (80.9), 63 (3.9), 51 (25.2). Найдено, %: С 59.63, Н 4.72, N 16.30. $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$. Вычислено, %: С 61.36, Н 4.58, N 15.90.

3-(2-Пиридил)-5-фенилизоксазол (Vг). К перемешиваемому раствору 1.81 г (9.4 ммоль) гидрохлорида 2-пиридилгидроксамоилхлорида (Iа) и

4.78 г (47 ммоль) фенилацетилена в 130 мл сухого этанола при 0°C по каплям прибавляли раствор 1.89 г (18.8 ммоль) триэтиламина в 10 мл этанола. Реакционную смесь перемешивали еще в течение 5 ч при 20°C и упаривали досуха. Остаток суспендировали в 15 мл сухого эфира, осадок отделяли на фильтре, промывали эфиром (2 раза по 5 мл), из объединенных эфирных фильтратов удаляли растворитель. Вещество дважды кристаллизовали из гексана. Белые кристаллы, т. пл. 129 - 130°C (лит. данные [28]: т. пл. 94 - 95°C); выход 1.05 г (51%); R_f 0.81 (А). ^1H -ЯМР-спектр (δ , CDCl_3): 7.20 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.36 (1H, ддд, J 8.0, 5.0, 1.3, 5-Н), 7.48 (3H, м, *m*- и *p*- C_6H_5), 7.82 (1H, тд, J 8.0, 1.9, 4-Н), 7.86 (2H, м, *o*- C_6H_5), 8.13 (1H, ддд, J 8.0, 1.3, 1.0, 3-Н), 8.71 (1H, ддд, J 5.0, 1.9, 1.0, 6-Н). ^1H -ЯМР-спектр (δ , DMSO- d_6): 7.59 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.54 (3H, м, *m*- и *p*- C_6H_5), 7.54 (1H, дд, J 8.0, 5.0, 5-Н), 7.98 (2H, м, *o*- C_6H_5), 7.985 (1H, тд, J 8.0, 1.8, 4-Н), 8.08 (1H, ддд, J 8.0, 1.5, 1.0, 3-Н), 8.74 (1H, ддд, J 5.0, 1.8, 1.0, 6-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 222 [M^+] (63.9), 194 (11.7), 167 (2.8), 145 (8.3), 117 (2.2), 105 (100.0), 89 (4.3), 78 (35.7), 77 (40.0), 51 (21.3), 39 (2.6). Найдено, %: С 76.90, Н 4.47, N 11.86. $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 75.66, Н 4.53, N 12.60.

3-(3-Пиридил)-5-фенилизоксазол (Vд) получен так же, как соединение (Vг), из 6.22 г (32 ммоль) гидрохлорида 3-пиридилгидроксамоилхлорида (Iб), 16.4 г (160 ммоль) фенилацетилена и 6.45 г (64 ммоль) триэтиламина. Реакционную смесь перемешивали 20 ч. Вещество дважды кристаллизовали из бензола. Белые кристаллы, т. пл. 142 - 143°C (лит. данные [28]: т. пл. 143 - 144°C); выход 2.70 г (38%); R_f 0.57 (А). ^1H -ЯМР-спектр (δ , DMSO- d_6): 7.58 (3H, м, *m*- и *p*- C_6H_5), 7.60 (1H, дд, J 8.0, 5.0, 5-Н), 7.72 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.92 (2H, м, *o*- C_6H_5), 8.30 (1H, ддд, J 8.0, 2.5, 1.8, 4-Н), 8.71 (1H, дд, J 5.0, 1.8, 6-Н), 9.11 (1H, д, J 2.0, 2-Н). ^1H -ЯМР-спектр (δ , ацетон- d_6): 7.52 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.58 (1H, дд, J 8.0, 5.0, 5-Н), 7.60 (3H, м, *m*- и *p*- C_6H_5), 7.99 (2H, м, *o*- C_6H_5), 8.34 (1H, ддд, J 8.0, 2.5, 1.5, 4-Н), 8.70 (1H, дд, J 5.0, 1.5, 6-Н), 9.16 (1H, д, J 2.0, 2-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 222 [M^+] (21.2), 194 (0.2), 167 (0.3), 145 (5.8), 117 (1.0), 105 (100.0), 89 (1.6), 78 (4.4), 77 (29.7), 51 (7.6). Найдено, %: С 74.13, Н 4.37, N 12.90. $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 75.66, Н 4.53, N 12.60.

3-(4-Пиридил)-5-фенилизоксазол (Ve) получен так же, как соединение (Vг), из 2.04 г (10.6 ммоль) гидрохлорида 4-пиридилгидроксамоилхлорида (Iв), 5.40 г (53 ммоль) фенилацетилена и 2.14 г (21.2 ммоль) триэтиламина. Вещество дважды перекристаллизовывали из смеси бензол-гексан. Белые кристаллы, т. пл. 164 - 165°C (лит. данные [28]: т. пл. 162 - 163°C); выход 0.64 г (27%); R_f 0.49 (А). ^1H -ЯМР-спектр (δ , DMSO- d_6): 7.57 (3H, м, *m*- и

n-C₆H₅), 7.72 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.90 (2H, м, 3,5-Н), 7.93 (2H, м, *o*-C₆H₅), 8.77 (2H, м, 2,6-Н). Масс-спектр [*m/z* (*I*, %)]: 222 [*M*⁺] (52.0), 194 (2.1), 167 (1.5), 145 (5.3), 117 (1.2), 105 (100.0), 89 (3.3), 78 (13.4), 77 (41.7), 51 (17.5). Найдено, %: С 74.96, Н 4.24, N 13.17. C₁₄H₁₀N₂O. Вычислено, %: С 75.66, Н 4.53, N 12.60.

5-(2-Гидрокси-2-пропил)-3-(3-пиридил)изоксазол (Vж) получен так же, как соединение (Vг), из 1.24 г (6.4 ммоль) гидрохлорида 3-пиридилгидроксиаминоксидхлорида (Iб), 2.68 г (32 ммоль) 2-гидрокси-2-метилбут-3-ина и 1.8 мл (12.8 ммоль) триэтиламина. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при 20°C. Вещество дважды перекристаллизовывали из смеси этанол-вода, 10 : 1. Кремовые кристаллы, т. пл. 89 - 91°C; выход 0.76 г (58%); *R_f* 0.25 (А). ¹H-ЯМР-спектр (δ, DMSO-*d*₆): 1.50 (6H, с, CH₃), 5.72 (1H, с, OH), 6.97 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.53 (1H, дд, *J* 8.0, 5.0, 0.9, 5-Н), 8.25 (1H, дд, *J* 8.0, 2.3, 1.8, 4-Н), 8.67 (1H, дд, *J* 5.0, 1.8, 6-Н), 9.06 (1H, дд, *J* 2.3, 0.8, 2-Н). Масс-спектр [*m/z* (*I*, %)]: 204 [*M*⁺] (24.3), 189 (84.5), 161 (8.7), 145 (23.5), 123 (8.7), 119 (57.2), 105 (11.7), 86 (37.4), 78 (46.5), 59 (40.0), 51 (26.5), 43 (100.0). Найдено, %: С 64.03, Н 5.78, N 14.01. C₁₁H₁₂N₂O₂. Вычислено, %: С 64.69, Н 5.92, N 13.72.

5-Бромометил-3-(2-пиридил)изоксазол (Vз) был получен из 0.62 г (3.2 ммоль) гидрохлорида 2-пиридилгидроксиаминоксидхлорида (Iа), 0.96 мл (12.8 ммоль) пропаргилбромид и 0.65 г (6.4 ммоль) триэтиламина в условиях синтеза соединения (Vж). Вещество кристаллизовали несколько раз из смеси гексан-бензол. Желтоватые кристаллы, т. пл. 64 - 65°C; выход 0.16 г (21%); *R_f* 0.32 (А). ¹H-ЯМР-спектр (δ, DMSO-*d*₆): 5.06 (2H, с, CH₂Br), 7.14 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.58 (1H, м, 5-Н), 8.06 (2H, м, 3,4-Н), 8.76 (1H, м, 6-Н). Найдено, %: Br 31.32. C₉H₇BrN₂O. Вычислено, %: С 45.22, Н 2.95, Br 33.42, N 11.72.

3-(4-Пиридил)-5-хлоризоксазол (Ви). К перемешиваемой суспензии 0.97 г (5.0 ммоль) гидрохлорида 4-пиридилгидроксиаминоксидхлорида (Iв) в 4.0 мл (50 ммоль) винилиденхлорида при 0°C медленно, по каплям прибавляли раствор 2.02 г сухого триэтиламина в 2 мл винилиденхлорида. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 дней, после чего упаривали досуха. Остаток суспендировали и растирали с 10 мл сухого эфира, осадок отфильтровывали, промывали на фильтре 5 мл эфира, фильтраты объединяли и упаривали. Остаток дважды перекристаллизовывали из смеси гексан-бензол. Белые кристаллы, т. пл. 166 - 168°C; выход 0.08 г (9%); *R_f* 0.45. ¹H-ЯМР-спектр (δ, DMSO-*d*₆): 7.51 (1H, с, 4-Н изоксазола), 7.81 (2H, м, 3,5-Н), 8.75 (2H, м, 2,6-Н). Масс-спектр [*m/z* (*I*, %)]: 180 [*M*⁺] (47.8), 145 (100.0), 104 (6.1), 78 (62.2), 63 (15.2), 51 (37.8). Найдено, %: Cl 18.90. C₈H₅ClN₂O. Вычислено, %: С 53.21, Н 2.79, Cl 19.63, N 15.51.

Синтез производных изоксазолина

3-(3-Пиридил)-4,5-дигидроизоксазол-5-овая кислота, этиловый эфир (VIa). К перемешиваемому раствору 0.12 г (0.6 ммоль) гидрохлорида 3-пиридилгидроксиаминоксидхлорида (Iб) и 0.32 г (3.2 ммоль) этилового эфира акриловой кислоты в 30 мл сухого этанола по каплям при 20°C прибавляли 0.13 г (1.3 ммоль) триэтиламина в 10 мл этанола, реакционную смесь выдерживали еще 20 ч и упаривали досуха. Остаток суспендировали в 10 мл сухого эфира, осадок отделяли фильтрованием, фильтрат упаривали, остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя вещество смесью бензол-метанол с градиентом последнего от 0 до 40%. Фракции, содержащие соединение (VIa) с *R_f* 0.45 (А), собирали, объединяли и упаривали. Желтое масло; выход 0.11 г (77%); *R_f* 0.45 (А). ¹H-ЯМР-спектр (δ, ацетон-*d*₆): 1.34 (3H, т, *J* 7.0, OCH₂CH₃), 3.76 (1H, дд, *J* 17.5, 7.5, 4-Н_б изоксазола), 3.90 (1H, дд, *J* 17.5, 11.0, 4-Н_а изоксазола), 4.26 (2H, кв, *J* 7.0, OCH₂CH₃), 5.30 (1H, дд, *J* 11.0, 7.5, 5-Н изоксазола), 7.44 (1H, дд, *J* 8.0, 5.0, 5-Н), 8.16 (1H, дд, *J* 8.0, 2.5, 1.5, 4-Н), 8.70 (1H, д, *J* 5.0, 6-Н), 8.96 (1H, д, *J* 2.5, 2-Н). Масс-спектр [*m/z* (*I*, %)]: 220 [*M*⁺] (6.8), 147 (100), 119 (54.4), 105 (6.5), 92 (12.6), 78 (69.4), 51 (24.6), 39 (2.4). Найдено, %: С 59.05, Н 5.11, N 12.32. C₁₁H₁₂N₂O₃. Вычислено, %: С 59.99, Н 5.49, N 12.72.

3-(4-Пиридил)-4,5-дигидроизоксазол-5-овая кислота, этиловый эфир (VIб) синтезирован аналогично соединению (VIa) из 0.12 г (0.6 ммоль) гидрохлорида 4-пиридилгидроксиаминоксидхлорида (Iв), 0.32 г (3.2 ммоль) этилового эфира акриловой кислоты и 0.13 г (1.3 ммоль) триэтиламина. Желтое масло, выход 0.12 г (87%); *R_f* 0.40 (А). ¹H-ЯМР-спектр (δ, ацетон-*d*₆): 1.30 (3H, т, *J* 7.0, OCH₂CH₃), 3.75 (1H, дд, *J* 17.5, 7.5, 4-Н_б изоксазола), 3.87 (1H, дд, *J* 17.5, 11.0, 4-Н_а изоксазола), 4.26 (2H, кв, *J* 7.0, OCH₂CH₃), 5.35 (1H, дд, *J* 11.0, 7.5, 5-Н изоксазола), 7.64 (2H, м, 3,5-Н), 8.68 (2H, м, 2,6-Н). Масс-спектр [*m/z* (*I*, %)]: 220 [*M*⁺] (2.7), 147 (100.0), 119 (62.8), 105 (7.1), 92 (9.3), 78 (82.0), 51 (58.0), 39 (9.2). Найдено, %: С 59.16, Н 5.27, N 12.45. C₁₁H₁₂N₂O₃. Вычислено, %: С 59.99, Н 5.49, N 12.72.

5-Гексил-3-(3-пиридил)-4,5-дигидроизоксазол (VIг). К перемешиваемому раствору 1.24 г (6.4 ммоль) гидрохлорида 3-пиридилгидроксиаминоксидхлорида (Iб) и 3.56 г (32 ммоль) 1-октена в 100 мл сухого этанола по каплям при 0°C прибавляли раствор 1.30 г (12.8 ммоль) триэтиламина в 12 мл этанола, продолжали перемешивание реакционной массы при 20°C в течение 30 ч и затем упаривали досуха. Остаток суспендировали в 50 мл сухого эфира, выпавший осадок гидрохлорида триэтиламина отделяли на фильтре, промывали 10 мл

эфира, объединенные эфирные фильтраты упаривали, остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя соединение (VIr) смесью бензол-метанол с градиентом последнего от 0 до 15%. Фракции, содержащие вещество (VIr) с R_f 0.75 (A), собирали, объединяли и упаривали. Желтые кристаллы, т. пл. 48 - 49°C; выход 1.28 г (86%); R_f 0.75 (A), 0.35 (B). $^1\text{H-NMR}$ -спектр (δ , ацетон- d_6): 0.93 (3H, с, CH_3), 1.34, 1.68 (10H, м, $(\text{CH}_2)_5$), 3.15 (1H, дд, J 17.0, 8.0, 4- H_b изоксазола), 3.56 (1H, дд, J 17.0, 10.5, 4- H_a изоксазола), 4.73 (1H, м, 5-Н изоксазола), 7.42 (1H, ддд, J 8.0, 5.0, 0.7, 5-Н), 8.06 (1H, ддд, J 8.0, 3.0, 1.5, 4-Н), 8.56 (1H, дд, J 5.0, 1.5, 6-Н), 8.80 (1H, д, J 2.0, 2-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 232 [M^+] (3.4), 147 (100.0), 119 (33.4), 92 (6.4), 78 (34.4), 51 (9.9). Найдено, %: С 71.59, Н 8.84, N 10.61. $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 72.38, Н 8.68, N 12.06.

5-Ацетокси-3-(3-пиридил)-4,5-дигидроизоксазол (VIb). К перемешиваемому раствору 1.24 г (6.4 ммоль) гидрохлорида 3-пиридилгидроксиамила и 2.76 г (32 ммоль) винилацетата в 120 мл сухого этанола по каплям при 0°C прибавляли раствор 1.30 г (12.8 ммоль) триэтиламина в 15 мл этанола, продолжали перемешивание реакционной смеси при 20°C в течение 30 ч и затем упаривали досуха. Остаток суспендировали в 50 мл сухого эфира, выпавший осадок гидрохлорида триэтиламина отделяли на фильтре, промывали 10 мл эфира, объединенные эфирные фильтраты упаривали, вещество дважды перекристаллизовывали из бензола. Желтые кристаллы, т. пл. 77 - 79°C (лит. данные [29]: т. пл. 76°C); выход 0.81 г (61%); R_f 0.32 (A), 0.16 (B). $^1\text{H-NMR}$ -спектр (δ , ацетон- d_6): 2.08 (3H, с, CH_3), 3.58 (1H, дд, J 18.5, 2.0, 4- H_b изоксазола), 3.88 (1H, дд, J 18.5, J 7.0, 4- H_a изоксазола), 6.88 (1H, дд, J 7.0, 2.0, 5-Н изоксазола), 7.53 (1H, ддд, J 8.5, 5.0, 0.9, 5-Н), 8.18 (1H, ддд, J 5.0, 2.5, 1.8, 4-Н), 8.70 (1H, дд, J 5.0, 1.8, 6-Н), 8.93 (1H, д, J 2.5, 2-Н). Масс-спектр [m/z (I , %)]: 206 [M^+] (2.6), 164 (1.7), 146 (56.1), 136 (100.0), 119 (9.3), 104 (8.3), 92 (0.9), 78 (23.5), 51 (0.4), 43 (8.3). Найдено, %: С 57.91, Н 4.32, N 12.90. $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 58.25, Н 4.89, N 13.59.

Исследование антиагрегационной активности синтезированных соединений проводили по методике [32].

Данная работа была выполнена при частичной финансовой поддержке Международного научного фонда (№ MRY000), Российского фонда фундаментальных исследований (№ 93-03-4302), а также направления "Инженерная энзимология" ГКНТ "Новейшие методы биоинженерии".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. V. 5 / Ed. J.G. Lombardi. N. Y.: Wiley Inc., 1985. P. 78 - 103.
2. Bundy G.L., Baldwin J.M., Peterson D.C. // J. Org. Chem. 1983. V. 48. P. 976 - 982.
3. Fitzpatrick F.A., Bundy G.L., Gorman R.R., Honohan T. // Nature. 1978. V. 272. P. 764 - 766.
4. Bundy G.L., Peterson D.C. // Tetrahedron Lett. 1978. P. 41 - 44.
5. Flynn D.L., Belliotti T.R., Boctor A.M., Connor D.T., Kostlan C.R., Nies D.E., Ortwine D.F., Schrier D.J., Sir-car J.C. // J. Med. Chem. 1991. V. 34. P. 518 - 525.
6. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. V. 1 / Eds A.R. Katritzky, C.W. Rees. Oxford: Pergamon Press, 1984.
7. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. V. 6 / Eds A.R. Katritzky, C.W. Rees. Oxford: Pergamon Press, 1984.
8. Bandiera T., Grunanger P., Albini F.M. // J. Heterocycl. Chem. 1992. V. 29. P. 1423 - 1428.
9. Grundmann Ch., Grunanger P. Nitrile Oxides. B.: Springer, 1971.
10. Cristle M., Huisgen R. // Chem. Ber. 1973. B. 106. S. 3345 - 3367.
11. Huisgen R. // Angew. Chem. 1963. B. 75. S. 604 - 637.
12. Dignam K.J., Hegarty A.F., Quain P.L. // J. Org. Chem. 1978. V. 43. P. 388 - 393.
13. Eloy P., Lenaers R. // Bull. Soc. Chim. Belg. 1963. V. 72. P. 719 - 724.
14. Moriya O., Urata Y., Endo T. // J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1991. P. 884 - 885.
15. Kim J.N., Ryu E.K. // Heterocycles. 1990. V. 31. P. 1693 - 1697.
16. Kozikowski A.P. // Acc. Chem. Res. 1984. V. 17. P. 410 - 416.
17. Caramella P., Grunanger P. // 1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry. V. 1 / Ed. A. Padwa. N.Y.: J. Wiley, 1984. P. 292 - 392.
18. Torssell K.B.C. // Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis. Novel Strategies in Synthesis / Ed. H. Feuer. Weinheim: VCH, 1988.
19. Hassner A., Rai K.M. // Synthesis. 1989. P. 57 - 59.
20. Moriya O., Urata Y., Nakamura H., Kageyama T. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 3887 - 3900.
21. Kim J.N., Ryu E.K. // Synth. Commun. 1990. V. 20. P. 1373 - 1377.
22. Shono T., Matsumura Y., Tsubata K., Kamada T., Kishi K. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. P. 2249 - 2251.
23. Mukaijama T., Hoshino T. // J. Amer. Chem. Soc. 1960. V. 82. P. 5339 - 5342.
24. McMurry J.E. // Org. Synth. 1973. V. 53. P. 59 - 62.
25. Mitchell W.R., Paton R.M. // Tetrahedron Lett. 1979. P. 2443 - 2446.
26. Kano H., Adachi I., Kido R., Hirose K. Preparation of 3,5-Disubstituted Ixoxazole Compounds (Pat. 3.294.807 (США)).

27. Ginsburg S.M., Wilson J.B. // J. Amer. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 481 - 483.
28. Belgorede E., Bossio R., De Sio F., Marcaccini S., Pepino R. // Heterocycles. 1983. V. 20. P. 501 - 504.
29. Paul R., Tchelitcheff S. // Bull. Soc. Chim. France. 1962. P. 2215 - 2221.
30. Beam C.F., Oyer M.C.D., Schwarz R.A., Heuser C.R. // J. Org. Chem. 1970. V. 35. P. 1806 - 1810.
31. Begrlmans R., Morin C. // J. Org. Chem. 1977. V. 42. P. 1356 - 1360.
32. Вржец П.В., Татаринцев А.В., Еришов Д.Э., Федоров Н.А., Зайцев С.В., Варфоломеев С.Д. // Докл. АН СССР. 1989. Т. 307. С. 477 - 480.
33. Vrzheshch P.V., Tatarintsev A.V., Ershov D.E., Varfolomeev S.D. // Thromb. Res. 1992. V. 66. P. 537 - 547.
34. Сидоров К.К. Токсикология новых промышленных химических веществ: М.: Медицина, 1973. С. 47 - 51.
35. Vrzheshch P.V., Demina O.V., Shram S.I., Varfolomeev S.D. // FEBS Lett. 1994. V. 351. P. 168 - 170.

Synthesis of Substituted Pyridylisoxazoles and Their 4,5-Dihydro Analogs – Novel Inhibitors of Thrombocyte Aggregation

O. V. Demina*, P. V. Vrzheshch**, A. A. Khodonov***,¹
V. I. Kozlovskii****, and S. D. Varfolomeev**

*Institute of Applied Research, Moscow State University, Moscow, 119899 Russia

**Science Park, Belozerskii Institute of Physicochemical Biology, Moscow State University, Moscow, 119899 Russia

***Lomonosov Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

****Institute of Energy Problems of Chemical Physics, Chernogolovka Branch,
Chernogolovka, Moscow oblast, 142432 Russia

Abstract – A number of substituted pyridylisoxazoles and their 4,5-dihydro analogs were synthesized by 1,3-dipolar cycloaddition of substituted nitrile oxides to either alkenes or alkynes. The synthesized compounds inhibit arachidonic acid-induced aggregation of human thrombocytes at concentrations of 10^{-6} to 10^{-3} M. Due to low toxicity, these compounds can be regarded as potential antithrombosis medicines.

Key words: substituted isoxazoles, human platelet aggregation inhibitors, 1,3-dipolar cycloaddition.

¹ To whom correspondence should be addressed.