

## Síntesis y Estudio como Antiagregantes Plaquetarios de un Nuevo Tipo de Compuestos Relativos a 3-Oxidos de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-*b*]indol)carboxilatos

A. MONGE\*, J.A. PALOP\*, J.I. RECALDE\*, A. LOPEZ DE CERAIN\*\*, E. GARCIA\*  
*Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica\* y Departamento de Genética\*\*,  
Centro de Investigación en Farmacobiología Aplicada de la Universidad de Navarra,  
31080 Pamplona, España*

y E. FERNANDEZ-ALVAREZ

*Instituto de Química Orgánica General del C.S.I.C., Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid, España*

**RESUMEN.** Se describe en este trabajo la preparación de 3-óxidos de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-*b*]indol)carboxilatos (*V*) por un procedimiento nuevo de síntesis. Se estudia la actividad antiagregante plaquetaria de estos compuestos y de sus intermediarios sintéticos, encontrándose una notable actividad como inhibidores de la agregación inducida por ácido araquidónico (AA). El compuesto más potente fue el 3-óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-*b*]indol)carboxilato de bencilo. Algunos de los compuestos preparados (*Vb* y *Vc*) resultaron ser inhibidores selectivos de tromboxano sintetasa (TXA<sub>2</sub>).

**SUMMARY.** "Synthesis and Study as Inhibitors of Platelet Aggregation of a New Type of Compounds: 1,2,3-triazino[5,4-*b*]indole-4-carboxylates 3-oxides". This paper describes the synthesis of 1,2,3-triazino[5,4-*b*]indole-4-carboxylates 3-oxides (*V*) by a new procedure. This antiplatelet activity of those new compounds, and also of the intermediaries, was studied. The most potent were benzyl 4-(5-methyl-1,2,3-triazine[5,4-*b*]indolil)carboxilate 3-oxide (*Vc*). Several of the prepared compounds were found to be selective thromboxane synthetase inhibitors.

En los últimos años hemos descrito la síntesis y propiedades biológicas de indoles fusionados con núcleos de piridacina y de pirimidina<sup>1-3</sup>, así como de sistemas de 1,2,4-triazina<sup>4</sup>. Nuestro objetivo es encontrar compuestos con actividad biológica en el sistema circulatorio.

El programa de triazinas fusionadas con sistemas indólicos por el enlace *b*, lo hemos ampliado con los sistemas de 1,2,3-triazina. Las primeras síntesis se han publicado<sup>5,6</sup> y suponen la puesta a punto de un nuevo procedimiento de preparación del sistema heterocíclico.

Aunque la síntesis de 1,2,3-triazinas está bien documentada<sup>7</sup>, solamente hemos encontrado dos publicaciones que describan la síntesis de estos sistemas condensados con heterociclos del tipo pirrol e indol. Así, Murata y Ukova<sup>8</sup> describen la preparación de pirrol[3,2-*d*]-1,2,3-triazin-4-onas, nitrosando las respectivas 3-aminopirrol-2-carboxamidas. Por otra parte, Simakov y colaboradores<sup>9</sup> describen la preparación de 1,2,3-triazino[5,4-*b*]indol-4-onas, por reacción de aminas con las sales de diazonio de 3-aminoindol-2-carboxilato de etilo.

Nuestro procedimiento considera la pre-

**PALABRAS CLAVE:** 1,2,3-Triazino[5,4-*b*]indoles; Inhibidores de la agregación plaquetaria.  
**KEY WORDS:** 1,2,3-Triazine[5,4-*b*]indols; Inhibitors of platelet aggregation.

paración de los N-óxidos de triazina (V), por reacción de indol-2-acetatos con nitrito sódico <sup>4</sup>.

Por tratamiento con diferentes alcoholes y catálisis de piridina, del anhídrido del ácido 2-(1-metil-3-carboxi-2-indolil)acético (I), se obtienen los correspondientes 2-(metil-3-carboxi-2-indolil)acetatos (II), que descarboxilan a 2-(1-metil-2-indolil)acetatos (III) por calefacción.

#### ACTIVIDAD BIOLÓGICA. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos descritos en este trabajo fueron estudiados como inhibidores de la agregación de plaquetas inducida por adenosina 5'-difosfato (ADP), ácido oraquidónico (AA) y colágeno, según un método descrito previamente <sup>3</sup>, utilizando sangre total de cobaya. Los resultados aparecen en la tabla 1.

Los compuestos de la serie V, 3-óxidos de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-*b*]indolil)carboxilatos, resultaron ser especialmente activos frente a la agregación inducida por AA, (100% a  $[5 \cdot 10^{-4} \text{ M}]$  para *Va* y *Vb*, y 95% para *Vc*). Es igualmente importante la capacidad antiagregante de los compuestos de la serie IV, 2-hidroxiimino-2-(1-metil-3-nitroso-2-indolil)acetatos (100% para *IVa*, 65% para *IVb* y 70% para *IVc*).

Los resultados anteriores aconsejaron determinar la inhibición selectiva de TXA<sub>2</sub> sintetasa para los compuestos más activos (tabla 2). Se encontró una importante actividad para el compuesto *Vc*: 3-óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-*b*]indolil)carboxilato de bencilo (TXB<sub>2</sub> -57%; PGE<sub>2</sub> +63%).

Los resultados anteriores abren el estudio de un nuevo tipo de estructuras con actividad importante en el sistema circulatorio.

#### PARTE EXPERIMENTAL

##### Compuestos preparados

Todos los compuestos nuevos fueron caracterizados por análisis elemental, espectro de IR y espectro de <sup>1</sup>H-RMN. Los espectros de IR fueron registrados en un aparato Perkin-Elmer 681, en pastillas de BrK y las frecuencias se expresan en cm<sup>-1</sup>. Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN se realizaron en un aparato de Perkin-Elmer R-32 (90 MHz), o en un Bruker AC 200, con tetrametilsilano como referencia interna; las abreviaturas utilizadas son las usuales y el disolvente dimetilsulfóxido deuterado. Los puntos de fusión se determinaron en microscopio con platina calefactora y no están corregidos. Los análisis elementales se obtuvieron de muestras secas al vacío y están en un intervalo del 0,4% de los valores teóricos.

##### Anhídrido del ácido 2-(1-metil-3-carboxi-2-indolil)acético

Se preparó según un método descrito con anterioridad <sup>10</sup>.

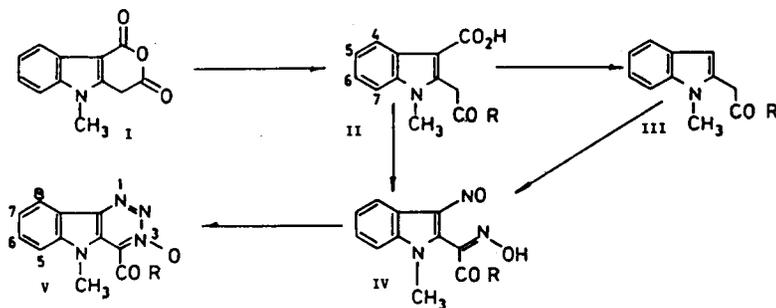
##### 2-(1-metil-3-carboxi-2-indolil)acetatos (II)

2-(1-metil-3-carboxi-2-indolil)acetato de etilo (*Ila*). Se calienta a reflujo durante dos horas una solución de (6,5 g; 30,2 mmol) en alcohol etílico absoluto (80 ml) y piridina (5 ml). Terminada la calefacción se filtra la disolución y aparece un precipitado.

Agujas transparentes de p.f. = 203 °C (etanol), (li. 202-3 °C). Rdt. 79% (6,2 g). Análisis para C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>. Calculado: C, 64,37; H, 5,75; N, 5,36. Encontrado: C, 64,27; H, 5,92; N, 5,50. IR: 3100-2500, 1730, 1660, 1220, 750 <sup>1</sup>H-RMN: 1,30 (t, 3H, CH<sub>3</sub>); 3,77 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 4,25 (c, 2H, CH<sub>2</sub>); 4,46 (s, 2H, CH<sub>2</sub>CO); 7,20-7,40 (m, 3H, H-5,6,7); 8,3 (m, 1H, H-8).

2-(1-metil-3-carboxi-2-indolil)acetato de 2-cloroetilo (*Iib*). Se calienta a reflujo durante tres horas una solución de *I* (2,0 g; 9,3 mmol) en tolueno (30 ml), 2-cloroetanol (8 ml) y piridina (5 ml). Terminada la calefacción, se concentra a sequedad en rotavapor y el residuo se disgrega en agua.

Agujas transparentes de p.f. = 155-156 °C (isopropanol/agua). Rdt. 73% (2,0 g). Análisis para



Compuesto	R	Conc. final (mM)	% Inhibición de agregación inducida <sup>a</sup>		
			ADP	COLAGENO	AA
IIa	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	0	0	15
IIb	Cl-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	5	0	0
IIc	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> O-	0,5	30	0	20
IIIa	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	30	25	0
IIIb	Cl-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	0	5	0
IIIc	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> O-	0,5	10	0	0
IVa	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	50	60	100
		0,1	-	20	20
IVb	Cl-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	100	55	65
		0,1	5	-	0
IVc	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> O-	0,5	60	90	70
		0,1	20	25	0
Va	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	0	35	100
Vb	Cl-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O-	0,5	25	40	100
Vc	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -CH <sub>2</sub> O-	0,5	0	100	95
		0,1	-	25	0
Vd	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> O-	0,5	40	5	20

Tabla 1. Actividad antiagregante plaquetaria de los compuestos sintetizados, utilizando como proagregantes ADP, colágeno y AA. <sup>a</sup>: En sangre total de cobaya incubada 5 min a 37 °C.

Compuesto	% de Variación de	
	TXB <sub>2</sub>	PGE <sub>2</sub>
IVa	+36	+91
Va	- 7	+24
Vb	-22	+37
Vc	-57	+63

Tabla 2. Inhibición selectiva de tromboxano A<sub>2</sub> sintetasa por efecto de los compuestos más activos. TXB<sub>2</sub>: tromboxano B<sub>2</sub>; PGE<sub>2</sub>: prostaglandina E<sub>2</sub>.

$C_{14}H_{14}ClNO_4$ . Calculado: C, 56,85; H, 4,74; N, 4,75. Encontrado: C, 56,73; H, 4,84; N, 4,75. IR: 3200-2100, 1735, 1650, 1250, 745.  $^1H$ -RMN: 3,00-5,50 (sa, 1H, OH); 3,79 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 3,85 (t, 2H,  $CH_2O$ ); 4,42 (t, 2H,  $CH_2Cl$ ); 4,58 (s, 2H,  $CH_2CO$ ); 7,30-7,65 (m, 3H, H-5,6,7); 8,15 (m, 1H, H-8).

2-(1-metil-3-carboxi-2-indolil)acetato de bencilo (IIc). Como en IIb. A partir de I (1 g; 4,65 mmol) y alcohol bencílico (5 ml).

Agujas blancas de p.f. = 200 °C. Rdt. 81% (1,22 g). Análisis para  $C_{19}H_{17}NO_4$ . Calculado: C, 70,58; H, 5,30; N, 4,30. Encontrado: C, 70,29; H, 5,64; N, 4,27. IR: 3200-2400, 1720, 1655, 1195, 750, 745, 690.  $^1H$ -RMN: 3,00-4,00 (sa, 1H, OH); 3,75 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 4,55 (s, 2H,  $CH_2$ ); 5,20 (s, 2H,  $CH_2Ph$ ); 7,35 (m, 5H, Ph); 7,20-7,55 (m, 3H, H-5,6,7); 8,05 (m, 1H, H-8).

2-(1-metil-2-indolil)acetatos (III)

2-(1-metil-2-indolil)acetato de etilo (IIIa). Se calienta a 180 °-190 °C durante treinta minutos IIa en atmósfera de nitrógeno. Terminada la calefacción se destila a vacío (4 mmHg) a 220 °-230 °C el producto de descarboxilación.

Sólido blanco de p.f. = 47 °-48 °C (sin recristalizar) (lit. 46 °-48 °C). Rdt. 82% (5,5 g). Análisis para  $C_{13}H_{15}NO_2$ . Calculado: C, 71,89; H, 6,91; N, 6,45. Encontrado: C, 71,95; H, 7,08; N, 6,52. IR: 1740, 1180, 745.  $^1H$ -RMN: 1,35 (t, 3H,  $CH_3$ ), 3,75 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 3,75 (s, 2H,  $CH_2$ ); 4,30 (c, 2H,  $OCH_2$ ); 6,35 (s, 1H,  $H_3$ ); 6,90-7,60 (m, 4H, H-4,5,6,7).

2-(1-metil-2-indolil)acetato de 2-cloroetilo (IIIb) Como en IIIa. A partir de IIb (0,5 g; 1,69 mmol).

Sólido blanco de p.f. = 75 °-77 °C (sin recristalizar). Rdt. 96% (0,41 g). Análisis para  $C_{13}H_{14}ClNO_2$ . Calculado: C, 62,03; H, 5,57; N, 5,57. Encontrado: C, 61,93; H, 5,62; N, 5,52. IR: 1750, 1170, 750.  $^1H$ -RMN: 3,70 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 3,83 (t, 2H,  $OCH_2$ ); 4,25 (s, 2H,  $CH_2$ ); 4,38 (t, 2H,  $CH_2Cl$ ); 6,38 (s, 1H,  $H_3$ ); 7,05-7,43 (m, 4H, H-5,6,7,8).

2-(1-metil-2-indolil)acetato de bencilo (IIIc). Como en IIIa. A partir de IIc (1,0 g; 3,1 mmol).

Sólido marrón de p.f. = 61 °-62 °C (sin recristalizar). Rdt. 95% (0,82 g). Análisis para  $C_{18}H_{17}NO_2$ . Calculado: C, 77,42; H, 6,09; N, 5,02. Encontrado: C, 77,68; H, 6,25; N, 4,85. IR: 1745, 1190, 735.  $^1H$ -RMN: 3,61 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 4,02

(s, 2H,  $CH_2$ ); 5,17 (s, 2H,  $CH_2Ph$ ); 6,36 (s, 1H,  $H_3$ ); 6,85-7,50 (m, 4H, H-4,5,6,7); 7,33 (s, 5H, Ph).

2-hidroxiimino-2-(1-metil-3-nitroso-2-indolil) acetatos (IV)

2-hidroxiimino-2-(1-metil-3-nitroso-2-indolil) acetato de etilo (IVa)

Método a. A una disolución de IIIa (0,5 g; 2,3 mmol) en ácido acético glacial (7 ml), enfriada a 10 °C, se añade nitrito sódico 3,86 M (1,3 ml; 5 mmol). La disolución se torna rojiza y evoluciona a color verde oliva. Se mantiene la agitación durante dos horas y la disolución se vierte sobre agua fría, con lo que aparece un precipitado que se filtra y seca.

Cristales rojizos de p.f. = 155 °-157 °C dec. (etanol/agua). Rdt. 33% (0,22 g). Análisis para  $C_{13}H_{13}N_3O_4$ . Calculado: C, 56,73; H, 4,76; N, 15,27. Encontrado: C, 56,80; H, 4,97; N, 15,20. IR: 3200-200, 1720, 1220, 750.  $^1H$ -RMN: 1,25 (t, 3H,  $CH_3$ ); 3,90 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 4,40 (q, 2H,  $CH_2$ ); 7,60-7,85 (m, 3H, H-5,6,7); 8,20 (m, 1H, H8).

Método b. A IIa (0,5 g; 2,3 mmol), en ácido acético glacial (15 ml) a 10 °C, se adiciona con agitación nitrito sódico 3,86 M (2,7 ml; 10,4 mmol). Se mantiene la disolución con agitación durante dos horas y finalmente se vierte sobre agua helada, apareciendo un precipitado que se filtra, seca y recristaliza. Rdt. 34% (0,37 g).

2-hidroxiimino-2-(1-metil-3-nitroso-2-indolil) acetato de 2-cloroetilo (IVb). Como en IVa, método a. A partir de IIIb (0,85 g; 3,38 mmol), en ácido acético glacial (15 ml). Se añade nitrito sódico 4 M (1,7 ml; 6,8 mmol).

Agujas rojizas de p.f. = 139-141 °C (tolueno/metanol). Rdt. 38% (0,40 g). Análisis para  $C_{13}H_{12}ClN_3O_4$ . Calculado: C, 50,40; H, 3,88; N, 13,57. Encontrado: C, 50,35; H, 3,85; N, 13,34. IR: 3200-2000, 1710, 1270, 1225, 750.  $^1H$ -RMN: 3,85 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 3,90 (t, 2H,  $OCH_2$ ); 4,55 (t, 2H,  $CH_2Cl$ ); 7,48-7,72 (m, 3H, H-5,6,7); 8,01 (m, 1H, H-8); 14,11 (s, 1H, OH).

2-hidroxiimino-2-(1-metil-3-nitroso-2-indolil) acetato de bencilo (IVc). Como en IVa, método a. A partir de IIIc (0,5 g; 1,55 mmol), en ácido acético glacial (20 ml). Se añade nitrito sódico 4M (1,60 ml; 6,4 mmol).

Cristales verdosos de p.f. = 145 °-147 °C (tolueno). Rdt. 21% (0,11 g). Análisis para

$C_{18}H_{15}N_3O_4$ . Calculado: C, 64,09; H, 4,48; N, 12,46. Encontrado: C, 64,50; H, 4,55; N, 12,47. IR: 3200-2000, 1710, 1220, 750.  $^1H$ -RMN: 3,85 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 5,37 (s, 2H,  $CH_2$ ); 7,37 (s, 5H, pH); 7,00-8,02 (m, 4H, H-4,5,6,7); 14,09 (s, 1H, OH).

*3-óxidos de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-b]indolil)carboxilatos (V)*

*3-óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-b]indolil)carboxilato de etilo (Va)*

*Método a.* A una disolución de *IIIa* (3,0 g; 14 mmol), en ácido acético (28 ml), enfriado a 10 °C, se añade nitrito sódico 7,7 M (12 ml; 92,4 mmol). La disolución evoluciona desde incoloro inicial al rojo intenso y al verde, para terminar siendo amarilla. Se agita durante tres horas, apareciendo un sólido amarillo que se filtra y lava con agua.

Agujas amarillas de p.f. = 180 °C. Rdt. 80% (3,05 g). *Análisis* para  $C_{13}H_{12}N_4O_3$ . Calculado: C, 57,35; H, 4,44; N, 20,58. Encontrado: C, 57,40; H, 4,44; N, 20,25. IR: 1730, 1600, 1395, 1275, 1220, 750.  $^1H$ -RMN: 1,35 (t, 3H,  $CH_3$ ); 3,70 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 4,50 (c, 2H,  $CH_2$ ); 7,40-7,80 (m, 3H, H-5,6,7); 8,10-8,30 (d, 1H, H-8).

*Método b.* A una disolución de *IVa* (0,2 g; 0,7 mmol) en ácido acético glacial (5 ml), enfriada a 5 °C, se añade nitrito sódico 3,86 M (2 ml; 7,72 mmol). Se mantiene la disolución con agitación durante una hora, apareciendo un precipitado que se identifica como *Va*. Rdt. 62% (0,125 g).

*Método c.* Como en el *método a*, a partir de *Ila* (1,0 g, 3,83 mmol). Rdt 82% (0,85 g).

*3-óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-b]indolil)carboxilato de 2-cloroetilo (Vb)*

*Método a.* Como en *Va*. A partir de *IIIb* (1,0 g; 3,98 mmol) en ácido acético (20 ml), se añade nitrito sódico 4M (7 ml; 28 mmol).

Cristales de color amarillo naranja de p.f. = 157 °-159 °C (dioxano/agua). Rdt. 73% (0,89 g). *Análisis* para  $C_{13}H_{11}ClN_4O_3$ . Calculado: C, 50,90; H, 3,59; N, 18,27. Encontrado: C, 51,01; H, 3,70; N, 18,20. IR: 1750, 1600, 1398, 1280, 1220, 750.  $^1H$ -RMN: 3,68 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 4,07 (t, 2H,  $OCH_2$ ); 4,87 (t, 2H,  $CH_2Cl$ ); 7,35-7,60 (d, 3H, H-5,6,7); 8,04 (d, 1H, H-8).

*Método b.* Como en *Vb*. A partir de *IVb* (0,1 g; 0,32 mmol) en ácido acético (20 ml), se añade nitrito sódico 4M (3 ml; 12 mmol). Rdt. 72% (0,07 g).

*Método c.* Como en *método a*, a partir de *Iic* (1,0 g; 3,38 mmol) disuelto en ácido acético glacial

(20 ml), se añade nitrito sódico 4M (7 ml; 28 mmol). Rdt. 73% (0,76 g).

*3-óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-b]indolil)carboxilato de bencilo (Vc)*

*Método a.* Como en *Va*. A partir de *IIIc* disuelto en ácido acético (10 ml), se añade nitrito sódico 4M (3,5 ml; 14 mmol). Cristales amarillos de p.f. = 165 °-166 °C (dioxano). Rdt. 82% (0,49 g). *Análisis* para  $C_{18}H_{14}N_4O_3$ . Calculado: C, 64,67; H, 4,22; N, 16,76. Encontrado: C, 64,91; H, 4,44; N, 16,66. IR: 1745, 1730, 1505, 1395, 1280, 1210, 755.  $^1H$ -RMN: 3,55 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 5,62 (s, 2H,  $CH_2$ ); 7,41 (m, 5H, Ph); 7,55-7,66 (m, 3H, H-5,6,7); 8,13 (d, 1H, H-8).

*Método c.* Como en *Vc*. A partir de *Iic* (1 g; 3,1 mmol) en ácido acético glacial (30 ml), se añade nitrito sódico 4M (7,0 ml; 28 mmol). Rdt. 96% (1,1 g).

*3-óxido de 4-(5-metil-1,2,3-triazino[5,4-b]indolil)carboxilato de n-octilo (Vd)*. Se calienta a reflujo durante 6 horas, una disolución de *I* (2,0 g; 9,3 mmol), tolueno (40 ml), 1-octanol (7 ml) y piridina (10 ml). Terminada la calefacción, se evapora a sequedad y el residuo se disuelve en ácido acético (30 ml). A la disolución enfriada a 10 °C, se añade nitrito sódico 4M (9,0 ml; 36 mmol), y se mantiene en agitación durante treinta minutos. Aparece un precipitado que se filtra, lava con agua abundante y recristaliza.

Escamas de color salmón de p.f. = 113 °-115 °C (etanol/agua). Rdt. 81% (1,05 g). *Análisis* para  $C_{19}H_{24}N_4O_3 \cdot H_2O$ . Calculado: C, 60,90; H, 6,94; N, 14,96. Encontrado: C, 61,20; H, 6,70; N, 14,79. IR: 1735, 1600, 1390, 1275, 1220, 750.  $^1H$ -RMN: 0,82 (m, 3H,  $CH_3$ ); 1,23 (m, 10H,  $CH_2 \times 5$ ); 1,74 (m, 2H,  $CH_2-C-O$ ); 3,72 (s, 3H,  $NCH_3$ ); 4,52 (t, 2H,  $OCH_2$ ); 7,47-7,75 (m, 3H, H-5,6,7); 8,22 (d, 1H, H-8).

### Actividad antiagregante

La actividad antiagregante de los compuestos sintetizados ha sido determinada según el método descrito por nosotros con anterioridad<sup>3</sup>.

Los ensayos se realizaron empleando cobayas como animales de experimentación. La agregación ha sido determinada mediante agregómetro de sangre total CHRONO

LOG basado en el procedimiento de Cardinal y Flower <sup>11</sup>, que al utilizar sangre total permite una buena aproximación al comportamiento de las plaquetas *in vivo*. La sangre se obtiene por punción cardíaca directa recogién dose en tubos de polietileno provistos de vacío que contienen citrato sódico al 3,8%, hasta una relación sangre/citrato de 9:1.

Los productos se disuelven en DMSO de forma tal que la concentración del disolvente en la sangre total no supere a los 6,6  $\mu$ l por cada 0,5 ml de sangre total.

Como proagregantes se han utilizado ácido araquidónico (Sigma), que se emplea a una concentración 3 mM, ADP (Sigma) a concentración de  $5 \cdot 10^{-5}$  M y colágeno tipo

III (Stago) a concentración inicial de 0,2 mg/ml, incubado en tampón de Michaelis en proporción colágeno/tampón de 1:9.

La concentración inicial de los compuestos estudiados fue de  $5 \cdot 10^{-4}$  M. Todas las experiencias se realizaron con ácido acetil-salicílico (ASA) como control. En la tabla 1 se presentan los resultados.

La determinación del carácter potencial de inhibidores selectivos de tromboxano A<sub>2</sub> sintetasa se ha llevado a cabo en base al protocolo de Gorman, en las condiciones que hemos descrito recientemente <sup>3</sup>.

AGRADECIMIENTOS. Este trabajo se ha realizado con la financiación de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Monge, A., J.A. Palop, A. Ochoa de Retana, P. Parrado y E. Fernández-Alvarez (1987) *An. Quím.* 83(C): 195-200
2. Monge, A., J.A. Palop, P. Parrado, C. Pérez-Illzarbe y E. Fernández-Alvarez. (1987) *J. Heterocyclic, Chem.* 24: 437-9
3. Monge, A., P. Parrado, M. Font y E. Fernández-Alvarez (1987) *J. Méd. Chem.* 30: 1029-35
4. Monge, A., J.A. Palop, C. Ramírez y E. Fernández-Alvarez (1987) *Acta Farm. Bonaerense* 6: 157-62
5. Monge, A., J.A. Palop, J.I. Recalde y E. Fernández-Alvarez (1988) *J. Chem. Research (S)* 344-5
6. Recalde, J.I. (1989) *Tesis Doctoral*. Universidad de Navarra
7. Neunhoffer, H. (1978) en "*Chemistry of 1,2,3-Triazines, 1,2,4-Triazines, Tetrazines and Pentazines*" (H. Neunhoffer y P.F. Wiley, eds.) Academic Press, New York, 33: 188
8. Murata, T. y K. Ukawa (1974) *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)* 22: 240-8
9. Simakov, S.V., S.V. Velezheva, T.A. Kozit, V. Ershova, A. Chernov y N.N. Suvarov (1984) *Khim. Farm. Zh.* 17: 1185; (C.A. 100: 209572r)
10. Monge, A., J.A. Palop, T. Goñi y E. Fernández-Alvarez (1986) *J. Het. Chem.* 29: 141-4
11. Cardinal, D.C. y R.J. Flower (1980) *J. Pharm. Meth.* 3: 135