



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2 379 306** (13) **C1**

(51) МПК  
*C07D 417/14* (2006.01)  
*A61K 31/541* (2006.01)  
*A61K 31/549* (2006.01)  
*A61P 7/02* (2006.01)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008130297/04, 22.07.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.07.2008

(45) Опубликовано: 20.01.2010 Бюл. № 2

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: RU 2259371 C2, 27.08.2005. RU 2157210  
C2, 10.10.2000. SU 1189862 A, 07.11.1985.

Адрес для переписки:  
620002, г.Екатеринбург, ул. Мира, 19, ГОУ  
ВПО "УГТУ-УПИ", Центр интеллектуальной  
собственности, Т.В. Маркс

(72) Автор(ы):

Чухахин Олег Николаевич (RU),  
Сидорова Лариса Петровна (RU),  
Перова Наталья Михайловна (RU),  
Русинов Владимир Леонидович (RU),  
Макаров Владимир Александрович (RU),  
Васильева Татьяна Михайловна (RU),  
Воробьев Андрей Иванович (RU)

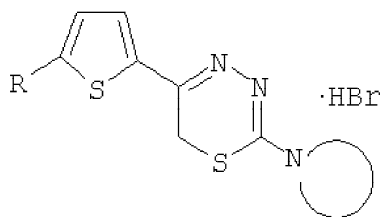
(73) Патентообладатель(и):


Государственное образовательное  
учреждение высшего профессионального  
образования "Уральский государственный  
технический университет-УПИ" (RU)

### (54) 2-ЦИКЛОАЛКИЛАМИНО-5-ТИЕНИЛ-1,3,4-ТИАДИАЗИНЫ ГИДРОБРОМИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ АНТИАГРЕГАНТНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области  
органической химии, а именно к  
2-циклоалкиламино-5-тиенил-1,2,3-тиадиазинам  
гидробромидам, обладающим  
антиагрегантным действием



где R=H; CH<sub>3</sub>; Br,  = морфолино-;

тиоморфолино-; пирролидино-;  
2,6-диметилморфолино-; гексаметиленимино-.  
Технический результат - получение новых  
соединений, которые могут быть использованы  
в медицине для лечения и профилактики таких  
заболеваний, как инфаркт миокарда,  
нарушение мозгового кровообращения,  
отторжение пересаженных органов и тканей, а  
также могут предотвращать образование  
тромбозов и эмболии. 5 табл.

RU 2 379 306 C1

RU 2 379 306 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 379 306** (13) **C1**

(51) Int. Cl.  
*C07D 417/14* (2006.01)  
*A61K 31/541* (2006.01)  
*A61K 31/549* (2006.01)  
*A61P 7/02* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2008130297/04, 22.07.2008

(24) Effective date for property rights:  
22.07.2008

(45) Date of publication: 20.01.2010 Bull. 2

Mail address:

620002, g.Ekaterinburg, ul. Mira, 19, GOU VPO  
"UGTU-UPI", Tsentr intellektual'noj  
sobstvennosti, T.V. Marks

(72) Inventor(s):

Chupakhin Oleg Nikolaevich (RU),  
Sidorova Larisa Petrovna (RU),  
Perova Natal'ja Mikhajlovna (RU),  
Rusinov Vladimir Leonidovich (RU),  
Makarov Vladimir Aleksandrovich (RU),  
Vasil'eva Tat'jana Mikhajlovna (RU),  
Vorob'ev Andrej Ivanovich (RU)

(73) Proprietor(s):

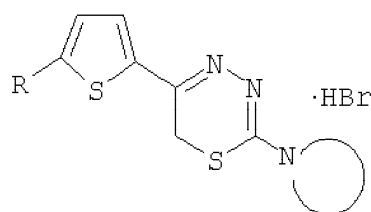
Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie  
vysshego professional'nogo obrazovanija  
"Ural'skij gosudarstvennyj tekhnicheskij  
universitet-UPI" (RU)

(54) **2-CYCLOALKYLAMINO-5-THIENYL-1,3,4-THIADIAZINES, HYDROBROMIDES, WITH ANTIAGGREGANT ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to organic chemistry and specifically to 2-cycloalkylamino-5-thienyl-1,2,3-thiadiazines hydrobromides with antiaggregant activity



CH<sub>3</sub>; Br,  = morpholino-; thiomorpholino-;

pyrrolidino-; 2,6-dimethylmorpholino-;  
hexamethylenimino-.

EFFECT: obtaining novel compounds which can be used in medicine for treating and preventing such diseases as myocardial infarction, stroke, rejection of transplanted organs and tissue, and can also prevent embolism and thrombosis formation.

1 cl, 5 tbl, 5 ex

RU 2 379 306 C1

RU 2 379 306 C1

Изобретение относится к области биологически активных соединений, касается разработки новых производных класса 1,3,4-тиадиазинов, обладающих антиагрегантным действием и предназначенных для лечения и профилактики таких заболеваний, как инфаркт миокарда, нарушение мозгового кровообращения, отторжение пересаженных органов и тканей, а также способных предотвращать образование тромбозов и эмболий.

Агрегация тромбоцитов играет важную роль в физиологии и патологии человека, так как агрегация тромбоцитов является важным этиологическим моментом в патогенезе нарушений кровообращения (в частности, капиллярного). Это играет ведущую роль в возникновении сердечно-сосудистых заболеваний (нарушения коронарного и мозгового кровообращения, патологии сосудов конечностей, брюшной полости и др.), а также в развитии тромбозов после хирургических операций, при нарушении кровообращения на фоне раневых травм при ранении человека или животного. Агрегированные тромбоциты (склеенные между собой) и тромбоциты, адгезированные к сосудистой стенке, служат основой для формирования тромба. Разработка эффективных антиагрегантов, тормозящих агрегацию тромбоцитов, является важной проблемой современной медицины, решение которой позволит значительно улучшить лечение инфаркта миокарда, тромботического инсульта (данные заболевания являются ведущей причиной смертности в развитых странах). Поэтому модуляция агрегационной способности тромбоцитов - одно из главных направлений в коррекции нарушений системы гемостаза. В настоящее время в мире активно разрабатываются способы целенаправленного химического синтеза антиагрегантов нового поколения, обладающих высокой эффективностью и избирательностью действия.

Наиболее распространенными ингибиторами агрегации являются ацетилсалициловая кислота, дипиридамол, дериваты арахидоновой кислоты (простациклин и его производные, простагландин  $E_1$ ), блокаторы АДФ- и фибриногеновых рецепторов (различные моноклональные антитела, циклические пептиды, соединения непептидной природы), полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК).

Между тем, возможности врача в регуляции тромбоцитарного гемостаза в настоящее время еще недостаточны для оптимального воздействия на данную функцию, т.к. известные лекарственные средства, обладающие антиагрегационным действием, имеют существенные недостатки. Так, ацетилсалициловая кислота оказывает побочное ulcerогенное и гепатотоксическое действие. Широкому клиническому использованию простациклина и простагландина  $E_1$  препятствует их крайняя нестабильность и быстрая скорость метаболизма в организме человека. Разработанные химически стабильные синтетические аналоги этих простагландинов (например, илопрост и др.) обладают слишком широким спектром биологического действия, что ограничивает возможности их применения в практической медицине. Дипиридамол, пентоксифиллин обладают сравнительно небольшим антиагрегационным и сильным сосудорасширяющим действием. В последние годы разработаны эффективные ингибиторы агрегации тромбоцитов из группы производных тиенопиридина (тиклопидин, клопидогрель). По данным многих авторов они являются оптимальными из имеющихся препаратов. Однако их терапевтический эффект развивается лишь на второй день и достигает максимума лишь на 4-7-й день лечения. Кроме того, у тиклопидина часто встречаются осложнения в виде диареи, сыпи и лейкопении. Кроме того, тиклопидин и

клопидогрель не предназначены для внутривенного введения, т.е. не могут быть средствами скорой помощи.

Настоящий проект патентной заявки предполагает разработку средства, способного эффективно ингибировать агрегацию тромбоцитов, в том числе при внутривенном введении.

Предшествующий уровень техники

Известны различные представители класса тиadiaзина, отличающиеся положением гетероатомов в тиadiaзиновом кольце, которые обладают выраженным влиянием на свертывающую систему крови. Так, N. Campillo с соавторами [1] констатировал уменьшение агрегации тромбоцитов, индуцированной аденазиндифосфатом (АДФ), арахидоновой кислотой (АК) и коллагеном, как *in vitro*, так и *ex vivo* при воздействии фенил- и гетероарилпиразино[2,3-с][1,2,6]тиadiaзин-2,2-диоксидов. Однако антиагрегационные свойства данных соединений в несколько раз ниже, чем у заявляемых соединений как при агрегации тромбоцитов АК, так и АДФ. В работе [Rehse K.] показано, что 2-нитрозоимино-3,6-дигидро-2Н-1,3,4-тиadiaзины также снижают агрегацию тромбоцитов, индуцированную коллагеном [2].

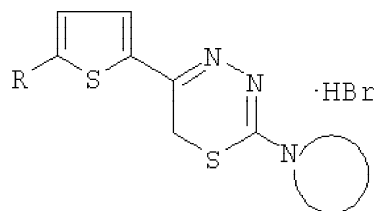
В других исследованиях [Ozcelic A.B.] установлена антифибринолитическая активность и некоторое ингибирование тромбоцитарной агрегации 3-замещенных-5-(4-карбоксициклогексилметил)-тетрагидро-2Н-1,3,5-тиadiaзин-2-тионом [3].

В патенте [Чупахин О.Н. и др.] приведены убедительные доказательства антиагрегантного и антикоагулянтного действия 2-циклоалкиламино-5-арил-1,3,4-тиadiaзинов [4].

Таким образом, тиadiaзины представляют собой класс соединений, на основе которых возможно создание эффективных антиагрегантов, действующих на различные пути активации и агрегации тромбоцитов. Целью настоящей работы была разработка синтеза и изучение антиагрегационных свойств новых производных класса 1,3,4-тиadiaзина - 2-циклоалкиламино-5-тиенил-1,3,4-тиadiaзинов, которые могли бы удовлетворять современным требованиям медицины к препаратам такого рода. Препараты должны быть устойчивыми, способными эффективно ингибировать агрегацию тромбоцитов, в том числе в условиях внутривенного введения, и, таким образом, могли бы быть средствами скорой помощи.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является создание новых химических соединений класса 1,3,4-тиadiaзинов, обладающих антиагрегантным действием как «*in vitro*», так и «*ex vivo*» и пригодных для внутривенного введения.

Указанный технический результат достигается тем, что согласно изобретению предложены гидробромиды 2-циклоалкиламина-5-тиенил-1,3,4-тиadiaзинов, обладающие антиагрегантной активностью и имеющие общую формулу I:



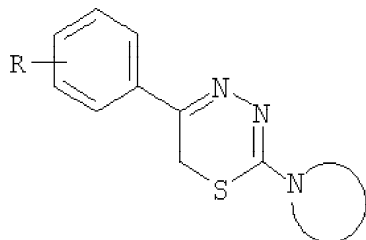
где R=H; CH<sub>3</sub>; Br



= морфолино-; тиоморфолино-; пирролидино-; 2,6-диметилморфолино-; гексаметиленимино-.

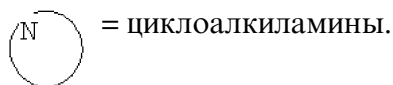
Данные соединения могут быть использованы в кардиологии и позволят значительно улучшить лечение различных сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе инфаркта миокарда и тромботического инсульта.

Близкими по структуре (прототип), по отношению к заявляемым 2-циклоалкиламино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазином и обладающими антиагрегантным действием являются 2-циклоалкиламино-5-арил-1,3,4-тиадиазины [4] общей формулы II:



II

где R=H; Cl; Br; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкокси; C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкильные группы



От прототипа заявляемые соединения отличаются тем, что в положение-5 1,3,4-тиадиазинового кольца вместо арильного остатка введен остаток тиофена (или замещенного тиофена). Такая формула сочетает в себе фрагмент (тиенил-) известных эффективных препаратов - тиклопидина, клопидогреля (производные тиенопиридина) и 1,3,4-тиадиазиновое кольцо. Это привело к новым положительным свойствам данных препаратов - хорошей растворимости в воде, возможности использовать внутривенную форму введения. В свою очередь, это сократило время начала действия препарата *in vivo* - от часа до 3-х часов, в сравнении с препаратом клопидогрелем (около двух суток). Все исследованные соединения ингибировали агрегацию тромбоцитов, индуцированную АК и АДФ, (таблицы 1 и 2) в диапазоне концентраций 0,001-0,1 мМ.

Примеры синтеза и физико-химические характеристики заявляемых соединений

Все соединения получены с выходом 50-80% путем конденсации соответствующих α-бром-2-ацетилтиофенов и 4,4-циклоалкиламиноосемикарбазидов при нагревании в абсолютном этаноле и последующем высаживанием продуктов реакций эфиром из охлажденных растворов. Строение соединений доказано спектральными данными <sup>1</sup>H ЯМР. Чистота соединений подтверждена элементным анализом, тонкослойной хроматографией.

Пример 1

2-Морфолино-5-тиенил-6Н-1,3,4-тиадазин, гидробромид (1).

Соединение синтезировано нагреванием 4,1 г (20 ммоль) α-бром-2-ацетилтиофена и 3,2 г (20 ммоль) морфолида тиокарбазиновой кислоты в 150 мл абсолютного этанола и 1 мл конц. НВг в течение 40 мин. После горячего фильтрования к охлажденному реакционному раствору добавляли 200 мл абсолютного диэтилового эфира. Выпавший осадок тиадазина Н-29 отфильтровывали, сушили и перекристаллизовывали из абсолютного этанола с добавлением абсолютного диэтилового эфира в соотношении этанол: эфир 1:5. Выход 4,6 г (68%). Т.пл. 225-226°С (светло-желтые кристаллы, из этанола). R<sub>f</sub>=0,42 (элюент, бутанол:уксусная кислота: вода 4:1:5).

Найдено, %: С 37,92; Н 3,91; N 12,04 C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>BrN<sub>3</sub>OS<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 37,93; Н 4,02;

N 12,07 ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 3,84 (м, 4Н, морфолино); 3,91 (м, 4Н, морфолино); 4,44 (с, 2Н,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 7,21 (д.д. 1Н тиофена); 7,74 (д. 1Н тиофена); 7,85 (д, 1Н тиофена).

#### Пример 2

5 2-Пирролидино-5-тиенил-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (2).

Соединение синтезировано нагреванием 0,8 г (4 ммоль)  $\alpha$ -бром-2-ацетилтиофена с 0,58 г (4 ммолем) 4,4-тетраметилениминоотиосемикарбазида в 60 мл абсолютного этанола и 0,2 мл конц.  $\text{HBr}$  30 мин. К охлажденному реакционному раствору добавляли 70 мл абсолютного диэтилового эфира. Выпавший осадок тиадиазина отфильтровывали, сушили и перекристаллизовывали из абсолютного этанола с добавлением абсолютного эфира в соотношении 1:4. Выход 0,92 г (71%). Т.пл. 158-159°C (желтые кристаллы, из этанола). Найдено, %: С 39,65; Н 4,17; N 12,47  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{S}_2$ . Вычислено, %: 39,76; Н 4,22; N 12,65 ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 2,12 (м, 4Н, пирролидино); 3,78 (м, 4Н, пирролидино); 4,40 (с, 2Н,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 7,19 (д.д., 1Н тиофена); 7,71 (д, 1Н тиофена); 7,87 (д, 1Н тиофена).

#### Пример 3

20 2-Тиоморфолино-5-тиенил-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (3).

Соединение синтезировано кипячением 3 г (17 ммоль) тиоморфолида тиокарбазиновой кислоты с 3,5 г (17 ммоль)  $\alpha$ -бром-2-ацетилтиофена в 170 мл абсолютного этанола с добавлением 1 мл конц.  $\text{HBr}$  40 мин. После горячего фильтрования к охлажденному реакционному раствору добавляли 180 мл абсолютного диэтилового эфира в соотношении 1:4. Выход 2,5 г (53%). Т. пл. 184-185°C (желтые кристаллы, из этанола).  $R_f=0,38$  (элюент, бутанол: уксусная кислота: вода 4:1:5). Найдено, %: С 36,15; Н 3,81; N 11,48  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{BrN}_3\text{S}_3$ . Вычислено, %: С 36,26; Н 3,85; N 11,54 ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$  м.д.: 2,88 (4Н, тиоморфолино); 4,10 (м, 4Н, тиоморфолино); 4,42 (с, 2Н,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 7,27 (д.д., 1Н тиофена); 7,82 (д, 1Н тиофена); 7,90 (д, 1Н тиофена).

#### Пример 4

2-Пирролидино-5-(5-бромтиенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (4).

35 Соединение синтезировано кипячением 0,84 г (3 ммоль)

$\alpha$ -бром-2-ацетил-5-бромтиофена с 0,44 г (3 ммоль)

4,4-тетраметилениминоотиосемикарбазидом в 60 мл абсолютного этанола и 0,2 мл конц.  $\text{HBr}$  40 мин. После горячего фильтрования к охлажденному раствору добавляли 100 мл абсолютного этанола, выпавший осадок отфильтровывали, сушили и перекристаллизовывали из абсолютного этанола. Выход 0,63 г (52%). Т. пл. 262-263°C.  $R_f=0,31$  (элюент, бутанол: уксусная кислота: вода 4:1:5).

Найдено, %: С 32,13; Н 3,19; N 10,19  $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{Br}_2\text{N}_3\text{S}_2$ . Вычислено, %: С 32,12; Н 3,16; N 10,22 ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 2,11 (м, 4Н, пирролидино); 3,76 (м, 4Н, пирролидино); 4,39 (с, 2Н,  $\text{CH}_2\text{S}$ ); 7,28 (д, 1Н тиофена); 7,67 (д, 1Н тиофена).

#### Пример 5

2-Морфолино-5-(5-метилтиенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (5)

Соединение получено нагреванием 4,2 г (19 ммоль)

50  $\alpha$ -бром-2-ацетил-5-метилтиофена с 3 г (19 ммоль) морфолида тиокарбазиновой кислоты в 110 мл абсолютного этанола 1 мл конц.  $\text{HBr}$ . После горячего фильтрования к охлажденному реакционному раствору добавляли 180 мл абсолютного этанола, выпавший осадок отфильтровывали, сушили и перекристаллизовывали из абсолютного этанола. Выход 4,8 г (69%). Т. пл. 191-192°C (слегка желтые кристаллы,

из абсолютного этанола).  $R_f=0,32$  (бутанол: уксусная кислота: вода 4:1:5).

Найдено, %: С 39,75; Н 4,30; N 11,55  $C_{12}H_{16}BrN_3OS_2$ . Вычислено, %: С 39,80; Н 4,42; N 11,60. ЯМР  $^1H$  (ДМСО- $d_6$ ),  $\delta$ , м.д.: 2,50 (м, 3H,  $CH_3$ ); 3,71 (м, 4H, морфолино); 3,85 (м, 4H, морфолино); 4,33 (с, 2H,  $CH_2S$ ); 6,90 (д.д., 1H тиофена); 7,62 (д, 1H тиофена).

Примеры исследования антиагрегантной активности заявляемых соединений.

Оценка антиагрегантной активности новых соединений была проведена в лаборатории патологии и фармакологии гемостаза Гематологического научного центра РАМН г.Москва. Выявлена высокая способность ингибировать агрегацию тромбоцитов человека у пяти растворимых в воде препаратов.

Эксперименты по исследованию антиагрегационной способности соединений были выполнены с использованием венозной крови здоровых доноров ( $n=50$ ), которую получали путем пункции кубитальной вены и стабилизировали 3,8%-ным раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Для приготовления богатой тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали в течение 10 минут при 1000 об/мин, после чего верхний слой плазмы переносили в другую пробирку, а остаток повторно центрифугировали в течение 20 минут при 3000 об/мин для получения плазмы, бедной тромбоцитами.

Агрегацию тромбоцитов исследовали на агрегометре фирмы "Chrono-Log Corporation" (США) по методу G.Born [5]. С этой целью в кювету прибора помещали 250 мкл богатой тромбоцитами плазмы. Оптическим контролем служил такой же объем плазмы, не содержащей тромбоцитов. О степени агрегации судили по максимальной величине падения оптической плотности после окончания реакции ( $A_{max}$ ) по сравнению с исходной величиной. Эксперименты проводили следующим образом: в кювету, содержащую 250 мкл богатой тромбоцитами плазмы, добавляли 28 мкл изучаемого препарата и инкубировали полученную смесь в течение 5 мин при температуре 37°C и индуцировали процесс тромбоцитарной агрегации. В контрольных опытах к богатой тромбоцитами плазме добавляли либо только проагрегант, либо предварительно инкубировали тромбоциты с 28 мкл смеси спирт: вода (5 мин при 37°C) и после этого вносили индуктор тромбоцитарной агрегации.

В качестве проагрегантов в работе использовали аденозиндифосфорную кислоту (АДФ) (Boehringer Mannheim, Австрия) в конечной концентрации  $1 \times 10^{-5}$  М и арахидоновую кислоту (АК) в конечной концентрации  $1 \times 10^{-3}$  М. Арахидоновая кислота (АК), свободная от продуктов окисления, была предоставлена сотрудниками лаборатории оксипипидов Института биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН. Статистический анализ полученных данных проводили в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента [6]. Полученные данные приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

**Влияние 2- циклоалкилимино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазинов, гидробромидов (1-5)  
на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную арахидоновой кислотой  
(АК  $1 \times 10^{-3}$  М) *in vitro* ( $A_{max}$ , %)**

Исследуемое вещество	АК $1 \times 10^{-3}$ М (контроль)	Конечная концентрация соединений (1-5), mM					
		0,1	0,05	0,025	0,01	0,001	0,0001
1	65,5±2,3	5,6±1,6 *	26,4±3,5 *	----	44,7±6,1 *	48,6±5,9 *	62,8±1,9
2	77,8±1,7	0*	0*	----	23,3±8,2*	53,6±8,3*	73,7±2,3
3	76,9±1,4	0*	0,2±0,1*	----	53,9±6,6 *	56,1±8,9 *	71,8±3,5
4	62,3±4,5	2,0±1,3*	5,7±1,0*	4,2±1,5*	39,9±6,5*	48,4±3,2*	56,1±3,5
5	69,9±2,8	60,5±4,0	----	----	65,2±3,7	----	----

\* - достоверно по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Таблица 2

**Влияние 2- циклоалкилимино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазинов, гидробромидов (1-5)  
на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную  
АДФ ( $1 \times 10^{-5}$  М) *in vitro* ( $A_{max}$ , %)**

Исследуемое вещество	АДФ $1 \times 10^{-5}$ М (контроль)	Конечная концентрация соединений (1-5), mM				
		1	0,5	0,1	0,01	0,001
1	73,3±1,7	50,0±2,9*	56,0±3,3*	57,9±3,4*	-----	-----
2	52,9±2,1	29,3±2,0*	32,9±1,6*	34,6±1,6*	38,5±1,3*	40,2±1,7*
3	58,4±2,9	34,3±2,8*	36,4±2,6*	38,2±2,4*	42,3±3,1*	44,4±2,5*
4	53,4±2,2	29,8±3,0*	32,6±3,6*	36,6±2,2*	40,4±2,3*	41,2±1,9*
5	73,8±3,8	52,4±4,7*	53,4±4,8*	53,9±3,2*	55,8±3,2*	57,9±2,6*

\* - достоверно по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Все исследованные соединения ингибировали агрегацию тромбоцитов, индуцированную АК (таблица 1), в диапазоне концентраций 0,001-0,1 mM. При этом в максимальных исследованных концентрациях (0,025-0,1 mM) изученные 1,3,4-тиадиазины практически полностью подавляли тромбоцитарное взаимодействие. В концентрации 0,01 mM соединения 1, 3 и 4 снижали АК-индуцированную агрегацию тромбоцитов в среднем 1,5 раза. Соединение 2 было более эффективно и снижало тромбоцитарную активность в 3,3 раза по сравнению с исходным уровнем. В более низкой концентрации (0,001 mM) изученные соединения (1-5) уменьшали АК-индуцированную агрегацию тромбоцитов в 1,3-1,4 раза по сравнению с контрольным экспериментом.

В случае АДФ-индуцированной агрегации соединения (2-4) обладали одинаковым антиагрегационным влиянием. Полученные результаты представлены в таблице 2. В максимальной исследованной концентрации данные вещества ингибировали тромбоцитарную активность в среднем 1,8 раза по сравнению с контрольным



экспериментом. Антиагрегационный эффект (2-4) сохранялся и при их использовании в дозе 0,001 мМ: агрегация оставалась сниженной до 40,2-44,4%. Соединение 1 было наименее эффективным и достоверно снижало агрегацию тромбоцитов только в концентрациях 0,1-1 мМ (при этом агрегация уменьшалась в 1,3-1,5 раза по сравнению с контролем).

Влияние 2-морфолино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазина, гидробромида (1) на агрегацию тромбоцитов и некоторые параметры плазменного гемостаза *ex vivo*

Несмотря на менее убедительный результат для вещества 1 «*in vitro*» чем у соединений (2-5) в случае АДФ-индуцированной агрегации внутривенное введение вещества 1 кроликам в дозе 20 мг/кг привело к достоверному и выраженному снижению «*ex vivo*» АДФ-индуцированной агрегации. Уже через 60 мин после инъекции 1 отмечалось уменьшение агрегационной способности тромбоцитов на 17% по сравнению с исходным уровнем. Максимальный антиагрегационный эффект проявлялся через 3 часа после введения 1. При этом тромбоцитарная агрегация снижалась более чем в 1,5 раза по сравнению контролем. Следует отметить, что антиагрегационное действие 1 сохранялось и через сутки после его инъекции (таблица 3). Таким образом, соединение 1 оказывало выраженный антиагрегационный эффект «*ex vivo*» при внутривенном введении в случае АДФ-индуцированной агрегации, которая хуже всего ингибируется.

При использовании в качестве проагреганта АК снижение тромбоцитарного взаимодействия наблюдалось только через 3 часа после введения 1 (агрегация снижалась с  $59,90 \pm 7,02\%$  в контрольном эксперименте до  $37,10 \pm 11,98\%$ ). Через 24 часа антиагрегационный эффект 1 полностью исчезал, и тромбоцитарная агрегация восстанавливалась (таблица 4).

Внутривенное введение 1 также приводило к удлинению активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) через 2 часа после инъекции.

Таблица 3

**Влияние 2-морфолино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазина, гидробромида(1)  
на агрегацию тромбоцитов, индуцированную АДФ ( $1 \times 10^{-5}$  М)  
*ex vivo* ( $A_{max}$ , %)**

0 мин (контроль)	60 мин	120 мин	180 мин	240 мин	Сутки
$63,36 \pm 11,77$	$52,81 \pm 11,08^*$	$55,85 \pm 9,03^*$	$49,01 \pm 10,68^*$	$40,53 \pm 15,12^*$	$55,81 \pm 9,79^*$

- - достоверно по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

Таблица 4

**Влияние 2-морфолино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазина, гидробромида(1), на агрегацию  
тромбоцитов, индуцированную АК ( $1 \times 10^{-3}$  М)  
*ex vivo* ( $A_{max}$ , %)**

0 мин (контроль)	60 мин	120 мин	180 мин	240 мин	Сутки
$59,90 \pm 7,02$	$47,70 \pm 11,95$	$52,60 \pm 6,55$	$49,90 \pm 5,63$	$37,10 \pm 11,98^*$	$52,14 \pm 9,49$

- - достоверно по отношению к контролю ( $p < 0,05$ )

**Изменение некоторых показателей свертывающей системы крови кроликов под действием болюсного внутривенного введения 2-морфолино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазина, гидробромида(1) (20,0 мг/кг)**

5

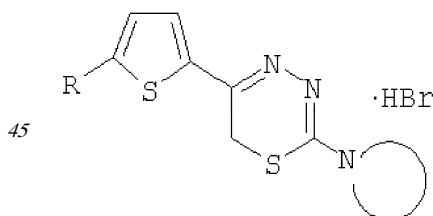
Показатель	Время после инъекции препарата 1					
	0 мин (контроль)	60 мин	120 мин	180 мин	240 мин	Сутки
10 Число тромбоцитов, %	100,00	88,67±22,96	98,10±20,37	105,41±19,11	82,05±31,36	60,90±6,11*
АЧТВ, с	16,62±0,62	17,26±1,21	17,57±1,50*	17,27±1,25	17,51±2,07	15,56±1,69*
Протромбиновое время, с	10,96±1,02	10,96±1,01	10,62±0,96	10,86±1,15	10,52±1,36	11,43±1,25
15 Тромбиновое время, с	17,54±1,05	18,80±1,67	17,46±1,67	18,00±0,51	18,00±0,84	16,07±1,65
Концентрация фибриногена, г/л	3,23±0,31	3,06±0,41	3,21±0,39	3,13±0,32	3,28±0,70	3,60±0,39

Источники научно-технической информации

- 20 1. Campillo N., Garcia C, Goya P., et al. Novel arylpyrazino[2,3-c][1,2,6]thiadiazine 2,2-dioxides as inhibitors of platelet aggregation. 1. Synthesis and pharmacological evaluation. J. Med. Chem., 42(10), 1698-1704 (1999).
2. Rehse K., Brümmer U., Unsöld E. 2-Nitrosoimino-3,6-dihydro-2H-1,3,4-thiadiazines with antiplatelet and antithrombotic properties. Pharmazie., 53(12), 820-824 (1998).
- 25 3. Ozcelik A.B., Ersan S., Ural A.U., et al. Synthesis of 3-substituted-5-(4-carboxycyclohexylmethyl) - tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione derivatives as antifibrinolytic and antimicrobial agents. Arzneimittelforschung., 57 (8), 554-559 (2007).
- 30 4. Патент РФ №2259371 (2005). Чупахин О.Н., Сидорова Л.П., Перова Н.М., Чарушин В.Н., Русинов В.Л. и др. «Замещенные 5R<sub>1</sub>, 6R<sub>2</sub> - 1,3,4-тиадиазин-2-амины и содержащие их фармацевтические композиции в качестве фармакологически активных средств, обладающих антикоагулянтным и антиагрегантным действием».
5. Born G. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal Nature (London)., 194, 927-929 (1962).
- 35 6. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов - 4-е изд., перераб. и доп. - М.: Высш. шк., 1990. - 352 с.

Формула изобретения

40 2-Циклоалкиламино-5-тиенил-1,3,4-тиадиазины гидробромиды, обладающие антиагрегантным действием



где R = H; CH<sub>3</sub>; Br;

50 = морфолино-; тиоморфолино-; пирролидино-; 2,6-диметилморфолино-; гексаметиленимино-.