

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 597 764** ⁽¹³⁾ **C2**

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
(51) МПК

[A61K 31/433 \(2006.01\)](#)

[A61K 31/5377 \(2006.01\)](#)

[A61P 3/10 \(2006.01\)](#)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: прекратил действие, но может быть восстановлен (последнее изменение статуса: 07.09.2017)

(21)(22) Заявка: [2014151103/15](#), 16.12.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.12.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.12.2014

(43) Дата публикации заявки: 10.07.2016 Бюл. №
[19](#)

(45) Опубликовано: [20.09.2016](#) Бюл. № [26](#)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2152943 C1, 20.07.2000; WO 03/037349 A1, 08.05.2003; RU 2364591 C1, 20.08.2009; RU 2447066 C2, 10.04.2012; RU 2157808 C2, 20.10.2000; RU 2458060 C2, 10.08.2012; RU 2161613 C2, 10.01.2001; SHARAF AA. et al. Effect of ascorbic acid on oxygen consumption, glycolysis and lipid metabolism of diabetic rat testis. Ascorbic acid and diabetes, I.

J.Chem.Clin.Biochem. 1978 Dec; 16(12):651-5
Реферат PMID: 739235 [он-лайн] [найдено 16.11.2015] (Найдено из Интернет: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/739235).

Адрес для переписки:

620002, г. Екатеринбург, К-2, ул. Мира, 19,
УрФУ, центр интеллектуальной
собственности, Марк Т.В.

(72) Автор(ы):

**Емельянов Виктор Владимирович (RU),
Сидорова Лариса Петровна (RU),
Саватеева Екатерина Андреевна (RU),
Булавинцева Татьяна Сергеевна (RU),
Гетте Ирина Федоровна (RU),
Максимова Надежда Евгеньевна (RU),
Мочульская Наталия Николаевна (RU),
Черешнев Валерий Александрович (RU),
Чупахин Олег Николаевич (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

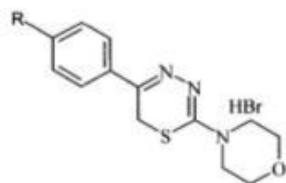
**Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Уральский федеральный
университет имени первого Президента
России Б.Н. Ельцина" (RU)**

(54) ПРИМЕНЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ КЛАССА 1,3,4-ТИАДИАЗИНА В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛОКСАНОВОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

(57) Реферат:

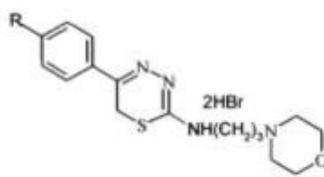
Изобретение относится к области медицины, в частности к экспериментальной фармакологии, новым биологически активным соединениям общей формулы I, представляющим собой 2-морфолино-5-фенил-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-17); 2-морфолино-5-(4'-фторфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-31), или общей формулы II: 2-аминопропилморфолино-5-фенил-6Н-1,3,4-тиадиазин, дигидробромид (L-14); 2-аминопропилморфолино-5-(4'-фторфенил)-6Н-1,3,4-

тиадиазин, дигидробромид (L-91) в качестве средства коррекции экспериментального аллоксанового сахарного диабета. Технический результат: вышеперечисленные соединения при внутримышечном введении в дозе 40 мг/кг обладают противодиабетическим действием при развитии аллоксанового сахарного диабета у крыс. 2 ил., 1 табл.



I

где R = H (L-17); F(L-31)



II

где R = H (L-14); F(L-91)

Изобретение относится к области медицины, в частности к экспериментальной фармакологии (новым биологически активным соединениям).

Широкая распространенность сахарного диабета (СД) диктует необходимость поиска новых средств патогенетической терапии данного заболевания. Существующие подходы к терапии СД сводятся к заместительной инсулинотерапии в случае абсолютного дефицита инсулина при СД 1 типа, либо к назначению средств, стимулирующих секрецию инсулина и повышающих чувствительность к нему клеток-мишеней, при СД 2 типа [1, 2, 3]. Известны синтетические противодиабетические препараты в основном в классах азот- и серосодержащих органических соединений, таких как производные сульфонилмочевины, бигуаниды, тиазолидиндионы и др. [1, 2, 3]. Тем не менее, существующие подходы к лечению СД не могут обеспечить полной нормализации показателей нарушенного обмена веществ и предотвращения хронических осложнений заболевания - диабетических ангиопатий и нейропатии. В прогрессировании этих осложнений отводят ведущую роль двум взаимосвязанным биохимическим нарушениям - активации неферментативного гликозилирования белков и оксидативному стрессу [1, 4].

Неферментативное гликозилирование белков активируется при СД вследствие длительной и выраженной гипергликемии. Реакция гликозилирования протекает в три этапа: образование начальных продуктов процесса - шиффовых оснований и фруктозамина; деструктивное окисление начальных продуктов до карбонильных интермедиатов (глиоксаля, метилглиоксаля и др.); образование разнообразных конечных продуктов гликозилирования, необратимо повреждающих структуру белка (см. рис. 1).

Оксидативный стресс при СД связан с повышением образования свободных радикалов при гипергликемии, инактивацией антиоксидантных ферментов при их гликозилировании, истощением запасов низкомолекулярных антиоксидантов, в том числе тиолов, а также витаминов Е и С. Однако практическая медицина не располагает средствами лечения СД, сочетающими свойства антиоксидантов и блокаторов неферментативного гликозилирования белков.

В терапии сахарного диабета (в эксперименте и клинике) известно применение препаратов липоевой кислоты [3-5]. В механизме действия липоевой кислоты при СД прослеживается ее способность к трансформации в тиольную форму - дигидролипоевую кислоту в результате ферментативного восстановления *in vivo* дисульфидной связи в дитиолановом цикле. Дигидролипоевая кислота при пероральном и внутривенном введении проявляет свойства антиоксиданта и блокатора неферментативного гликозилирования белков.

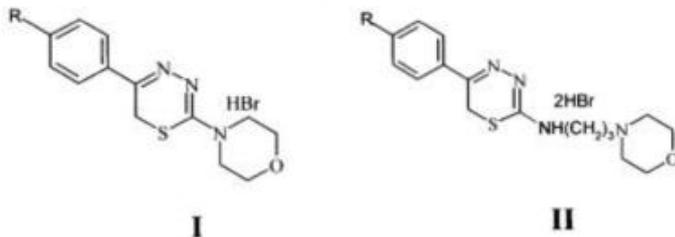
В научном поиске новых эффективных противодиабетических средств мы обратили внимание на оригинальные синтетические соединения класса 1,3,4-тиадиазина, которые, в зависимости от природы его заместителей, обладают отличительным свойством - способностью к раскрытию и сужению гетерокольца с образованием их различных тиольных производных [6]. За последние 15 лет в этом классе были получены новые соединения с уникальным комплексом антиоксидантного, гипотермического, гипометаболического действия [7]. Были также найдены соединения, которые влияют на гемостаз [8] и обладают противовоспалительным эффектом [8]. Однако применения соединений класса 1,3,4-тиадиазина для коррекции экспериментального СД не было зарегистрировано.

В результате широкого скрининга различных групп 1,3,4-тиадиазин были выявлены в эксперименте *in vitro* 4 соединения общей формулы I и II, содержащие в качестве заместителей в положении-2 тиадиазинового кольца остатки морфолина(I) и

1-аминопропилморфолина(II), проявившие ярко выраженные противодиабетические свойства:

Общей формулы I: 2-морфолино-5-фенил-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-17); 2-морфолино-5-(4'-фторфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-31)

Общей формулы II: 2-Аминопропилморфолино-5-фенил-6Н-1,3,4-тиадиазин, дигидробромид (L-14); 2-Аминопропилморфолино-5-(4'-фторфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, дигидробромид (L-91)



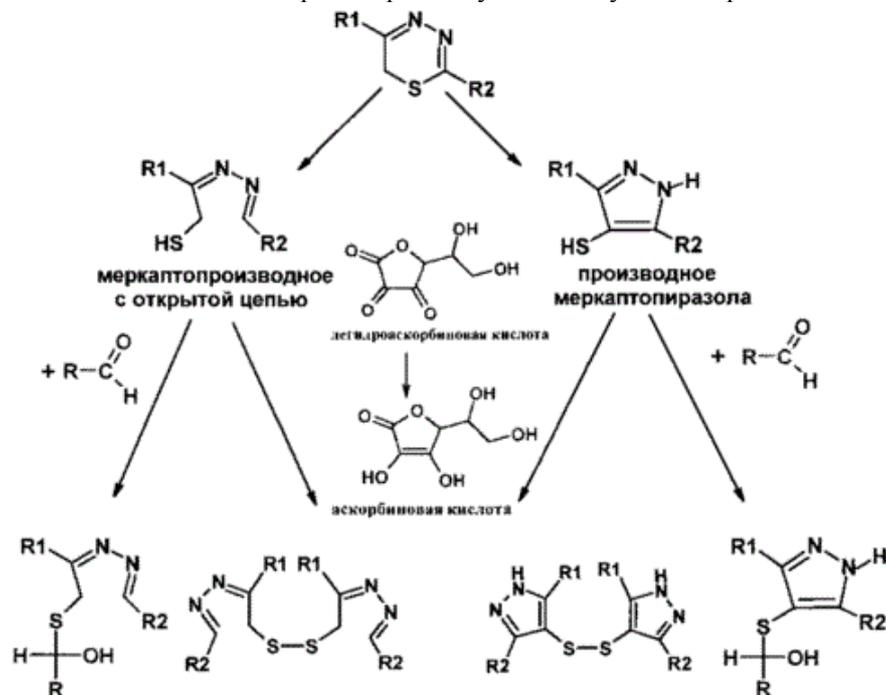
где R = H (L-17); F(L-31)

где R = H (L-14); F(L-91)

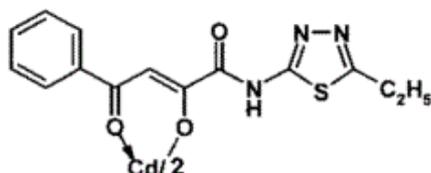
Для заявляемых соединений класса 1,3,4-тиадиазина I и II, в экспериментах *in vitro*, а затем и *in vivo*, была показана их высокая способность ингибировать неферментативное гликозилирование белков, а также их дозозависимая способность к снижению скорости окисления аскорбиновой кислоты кислородом воздуха (см. рис. 2).

Механизм ингибирования соединениями класса 1,3,4-тиадиазинов реакции неферментативного гликозилирования белков и окисления аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты кислородом воздуха мы связываем с вероятным образованием SH-замещенных производных 1,3,4-тиадиазинов (схема), подобно тому, как это наблюдается на примере их химической трансформации в кислых и щелочных средах [6].

Тиольные производные 1,3,4-тиадиазинов могут связывать глюкозу и карбонильные интермедиаты неферментативного гликозилирования белков и восстанавливать дегидроаскорбиновую кислоту до аскорбиновой кислоты (схема)



В результате поиска в научной литературе соединений, корректирующих метаболические нарушения при экспериментальном аллоксановом сахарном диабете, в статье [9] были найдены данные по комплексному соединению - производному 1,3,4-тиадиазола - бис{3-фенил-1-[2-(5-этил-1,3,4-тиадиазолил)]карбоксамидо-1,3-пропандионато} кадмию,



для которого была выявлена при тестировании гипогликемическая активность. Однако в этой публикации отсутствуют сведения об антиоксидантной активности этого соединения и его способности блокировать неферментативное гликозилирование белков.

Метод и результаты исследования

Эксперименты проведены на белых крысах-самцах линии Wistar массой 200-300 г. Для исследования способности соединений 1,3,4-тиадиазина корректировать течение экспериментального СД, моделировали аллоксановый СД путем трехкратного внутривентрикулярного введения аллоксана в суммарной дозе 300 мг/кг массы животного.

Эксперимент:

Одновременно с индукцией СД вводили внутримышечно раствор одного из соединений в дистиллированной воде (L-14, L-17, L-31 и L-92) в фармакологической дозе - 40 мг/кг массы животного с периодичностью 3 раза в неделю в течение 4 недель.

По окончании эксперимента в крови животных определяли концентрацию глюкозы и общего белка. Для характеристики активности процесса неферментативного гликозилирования белков (НГБ) у животных определяли концентрацию фруктозамина (ФА) плазмы и гликозилированного гемоглобина (HbA_{1c}) крови, концентрацию ФА в гомогенатах органов. Активность свободно-радикального окисления липидов оценивали по концентрации малонового диальдегида (МДА) плазмы крови.

Согласно данным таблицы, введение аллоксана приводило к стойкой и выраженной гипергликемии, накоплению гликозилированных белков в крови и органах животных. Гипергликемия и активация неферментативного гликозилирования белков могли служить триггером оксидативного стресса, приводя к накоплению МДА в крови. Исследованные соединения 1,3,4-тиадиазина также обладали способностью частично корректировать метаболические нарушения при развитии аллоксанового СД. Так производные 1,3,4-тиадиазина вызывали снижение гипергликемии и концентрации HbA_{1c} в крови, а также ФА в почках и печени животных.

Таблица

Биохимические показатели крови и органов крыс при развитии аллоксанового сахарного диабета на фоне введения производных 1,3,4-тиадиазина, M ± m

| Показатель | Контроль | Исследованное вещество | | | |
|-------------------------------------|-------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | | L-31 | L-91 | L-17 | L-14 |
| Кровь | | | | | |
| Глюкоза, ммоль/л | 34,6 ± 3,42 | 10,3 ± 0,90* | 13,7 ± 1,86* | 23,7 ± 2,22* | 29,3 ± 2,98* |
| HbA _{1c} , % | 9,1 ± 0,82 | 6,95 ± 0,35* | 5,3 ± 0,33* | 6,5 ± 0,71* | 6,5 ± 0,71* |
| Фруктозамин, мкмоль/г белка | 4,7 ± 0,51 | 3,8 ± 0,48 | 3,6 ± 0,20* | 3,2 ± 0,94* | 5,3 ± 0,62 |
| МДА, нмоль/л | 441 ± 19,4 | 365 ± 45,3 | 303 ± 43,4* | 106 ± 26,8* | 620 ± 68,3 |
| Органы | | | | | |
| Фруктозамин, почки, мкмоль/г белка | 45,2 ± 3,74 | 37,7 ± 1,53 | 16,3 ± 0,34* | 15,6 ± 2,23* | 20,7 ± 1,41* |
| Фруктозамин, печень, мкмоль/г белка | 20,9 ± 7,99 | 5,1 ± 0,90* | 9,3 ± 0,84* | 8,6 ± 1,58* | 9,4 ± 1,05* |

* - статистически значимые различия с контрольной группой, p < 0,05

Способность производных 1,3,4-тиадиазина ослаблять метаболические нарушения при развивающемся аллоксановом СД связываются, прежде всего, с защитой β-клеток островков Лангерганса от индуцированного аллоксаном оксидативного стресса,

приводящего к гибели панкреатических эндокриноцитов. В качестве биохимического механизма такого влияния может рассматриваться способность производных 1,3,4-тиадиазина трансформироваться в тиольные производные (см. схему), увеличивающие эффективность антиоксидантной защиты β -клеток.

Техническим результатом данного изобретения является ранее неизвестное применение для коррекции экспериментального аллоксанового сахарного диабета соединений класса 1,3,4-тиадиазина.

Этот факт позволяет расширить и методологию поиска такого рода препаратов среди синтетических химических соединений, способных к трансформации в различные тиольные соединения и, таким образом, связывать глюкозу и карбонильные интермедиаты неферментативного гликозилирования белков.

Заявляемые соединения класса 1,3,4-тиадиазина перспективны для их углубленного изучения с целью создания эффективного лекарственного препарата для коррекции экспериментального аллоксанового сахарного диабета.

Список литературы

1. Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика. Под ред. И.И. Дедова и М.В. Шестаковой. М., 2011. - 808 с.

2. Спасов А.А., Петров В.И., Чепляева Н.И., Ленская К.В. Фундаментальные основы поиска лекарственных средств для терапии сахарного диабета 2-го типа // Вестник РАМН. - 2013 - №2. - С. 43-49.

3. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 704 с.

4. Балаболкин М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами α -липоевой кислоты / М.И. Балаболкин, В.М. Креминская, Е.М. Клебанова // Пробл. эндокринологии. - 2005. - Т. 51, №3. - С. 22-33.

5. Нейрозащита α -липоевой кислотой при стрептозотоцин-индуцированном диабете / Г. Байдас, Е. Дондер, М. Килибоз, Е. Сонкая, М. Тузку, А. Язар, В.С. Недзветский // Биохимия. - 2004. - Т. 69, вып. 9. - С. 1233-1238.

6. Сидорова Л.П., Перова Н.М., Егорова Л.Г., Новикова А.П. Изучение реакционной способности 1,3,4-тиадиазинов в кислой и щелочной средах при трансформации в пиразолы // Тезисы I Всесоюзной конференции по теоретической органической химии. Волгоград, 29.09-05.10 1991 г. С. 232.

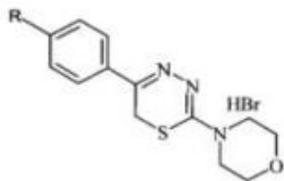
7. О.Н. Чупахин, Л.П. Сидорова, Э.А. Тарахтий, А.П. Новикова, Н.М. Перова и др., Патент РФ №2152943 (2000).

8. О.Н. Чупахин, Л.П. Сидорова, Н.М. Перова и др. Патент РФ №2456284 (2012).

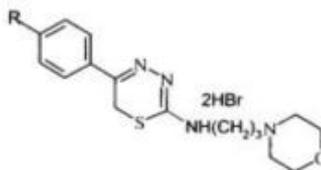
9. Н.А. Пулина, В.В. Юшков, Т.А. Юшкова, П.А. Мокин, Е.А. Гольшева, В.В. Залесов. Патент РФ №2364591 (2008).

Формула изобретения

Применение соединения формулы (I) или формулы (II)



I



II

где R = H или F

в качестве средства коррекции экспериментального аллоксанового сахарного диабета.

ПРИЛОЖЕНИЕ

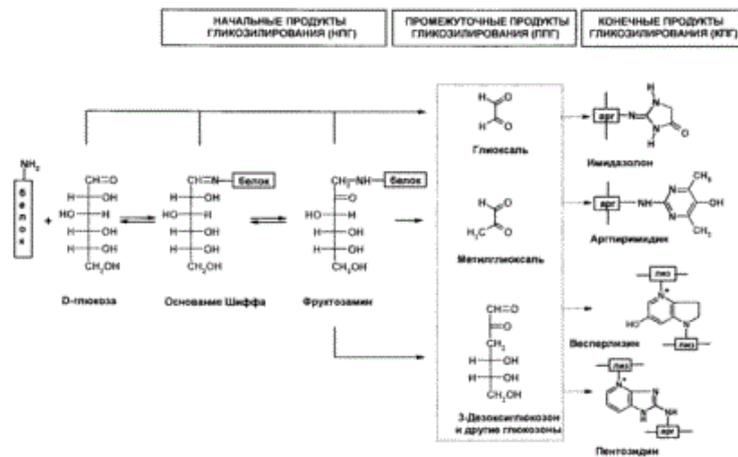


Рис. 1. Стадии реакции неферментативного гликозилирования белков

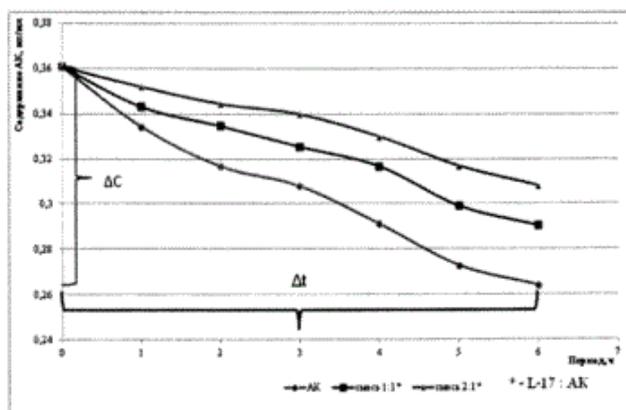


Рис. 2. Дозозависимая способность соединения L-17 ряда 1,3,4-тиадиазинсв снижать окисление аскорбиновой кислоты кислородом воздуха

ИЗВЕЩЕНИЯ

ММ4А Досрочное прекращение действия патента из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе

Дата прекращения действия патента: **17.12.2016**

Дата внесения записи в Государственный реестр: **04.09.2017**

Дата публикации: [04.09.2017](#)

