

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190447** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.12.07

(22) Дата подачи заявки
2019.02.12

(51) Int. Cl. *C07F 3/02* (2006.01)
A61K 31/28 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01)
A23K 20/24 (2016.01)
A23K 20/10 (2016.01)

(54) НОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ СЕРИНАТА МАГНИЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 10-2018-0098661

(32) 2018.08.23

(33) KR

(86) PCT/KR2019/001647

(87) WO 2020/040382 2020.02.27

(71) Заявитель:
АСТРОДЖИН КО., ЛТД. (KR)

(72) Изобретатель:

Хван Су-Кён, Ли Мин Ён, Со Мин
Соок, Чон До Ён, Ким Мин Чу, Ким
Ён Хо, Чо Ён Кёын (KR)

(74) Представитель:

Ловцов С.В., Вилесов А.С., Гавриков
К.В., Коптева Т.В., Левчук Д.В.,
Стукалова В.В., Ясинский С.Я. (RU)

(57) Изобретение относится к новому соединению серината магния и его применению, и более конкретно к новому соединению серината магния, в котором атом магния хелатирован L-серином, и к его фармацевтическому применению против заболеваний центральной нервной системы или тому подобного. Было подтверждено, что новая композиция серината магния, полученная способом получения согласно настоящему изобретению, состоящая из приблизительно 10% магния и приблизительно 90% серина, как определено посредством инструментального анализа, при солюбилизации при концентрации приблизительно 500 мг/мл в воде при комнатной температуре при значении pH от 6,0 до 10,0, оставалась в виде водного раствора без образования осадка, а также образование осадка не наблюдалось при солюбилизации при концентрации приблизительно 500 мг/мл в фосфатно-буферном солевом растворе (PBS) при комнатной температуре. Таким образом, новая композиция серината магния обладает свойствами, подходящими для введения перорально или посредством инъекции в организм человека. Кроме того, соединение активирует митохондриальную функцию и пролиферацию нервных клеток посредством увеличения уровня потребления кислорода митохондриями и проявляет защитный эффект в отношении нервных клеток, состоящий в ингибировании смерти нервных клеток в результате возможного повреждения митохондриальной мембраны и/или стресса эндоплазматического ретикула, вызванных окислительным стрессом, и демонстрирует улучшенную проницаемость гематоэнцефалического барьера. Поэтому соединение обладает превосходным эффектом в отношении профилактики, лечения и облегчения заболеваний центральной нервной системы, таких как когнитивное расстройство, умственная отсталость, микроцефалия, эпилепсия, нарушение нервно-психического развития, деменция, расстройства аутистического спектра, синдром Дауна, синдром Ретта, синдром ломкой X-хромосомы, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и боковой амиотрофический склероз, и, таким образом, настоящее изобретение весьма полезно для фармацевтической промышленности и т.д.

A1

202190447

202190447

A1

НОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ СЕРИНАТА МАГНИЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

ОПИСАНИЕ

Область техники, к которой относится настоящее изобретение

[0001] Настоящее изобретение относится к новому соединению серината магния и его применению, и более конкретно к новому соединению серината магния, в котором атом магния хелатирован L-серином, и к его фармацевтическому применению против заболеваний центральной нервной системы или тому подобного.

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

[0002] Магний является четвертым по распространенности минералом в организме человека. Приблизительно 50% магния организма хранится в костях, а остальные 50% существуют в основном в клетках тканей и органов организма [Jahnen-Dechent and Ketteler, 2012; Farruggia et al., 2014]. Поскольку магний действует как кофактор для сотен ферментов в клетках, магний участвует в основных клеточных реакциях. В частности, магний необходим для стабилизации ряда ферментов, участвующих в реакциях производства АТФ, и участвует в энергетическом метаболизме [Swaminathan, 2003; Saris et al., 2000; Romani, 2013]. В частности, недавно было сообщено, что гомеостаз магния в митохондриях, которые являются основным резервуаром для магния в клетке, регулируется действием MRS2 переносчика Mg^{2+} внутренней мембраны митохондрий, и когда поддержание гомеостаза магния не происходит из-за нарушения MRS2, производство АТФ нарушается с изменениями в митохондриальном энергетическом метаболизме и морфологии митохондрий, а устойчивость клеток к стрессу снижается [Yamanaka et al., 2016]. Эти результаты исследования позволяют предположить, что регуляция гомеостаза магния в митохондриях играет важную роль для внутриклеточного энергетического метаболизма и устойчивости клеток к стрессу.

[0003] Кроме того, потенциальная нейропротективная роль магния в улучшении и облегчении заболеваний нервной системы была признана в последние 30 лет, но точный анализ терапевтического эффекта магния все еще отсутствует в клинической области. Результаты последних исследований непрерывно свидетельствуют о том, что магний играет важную роль для различных неврологических состояний, включая головную боль, стресс, алкогольную/наркотическую зависимость, острую черепно-мозговую травму, судороги, болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера [Vink, 2016].

[0004] Кроме того, согласно нескольким недавним исследованиям пероральное введение магния улучшает научение, память и когнитивные функции благодаря увеличению нейропластичности у человека [Slutsky et al., 2010]. Что касается восстановления головного мозга в процессе старения, было обнаружено, что у людей, принимавших магний, старение головного мозга обращалось вспять на 9–14 лет, и функция мозга восстанавливалась [Liu et al., 2015].

[0005] Однако проблема, состоящая в том, что поглощение головным мозгом и внутриклеточная проницаемость магния в организме человека являются низкими, все еще остается предметом исследования с целью их улучшения. Исследователи из Массачусетского технологического института (MIT) протестировали соединение L-треоната магния и обнаружили, что L-треонат магния обладает более высокой биодоступностью и функцией повышения магния в головном мозге, чем неорганические соли магния, и, таким образом, может повышать уровень магния в головном мозге приблизительно на 15% [Mickley et al., 2013]. Этот результат исследования позволяет предположить, что магний, органически связанный с треоновой кислотой, которая относится к сахарной кислоте, имеет более высокую внутриклеточную проницаемость и скорость всасывания в центральную нервную систему, чем магний, который находится в форме неорганической соли металла.

[0006] При этом, L-серин, представляющий собой аминокислоту, является не только членом семейства белков *in vivo*, но также играет важную роль в биосинтезе аминокислот, таких как глицин и цистеин, биосинтезе пурина и пиримидина, которые являются предшественниками ДНК, биосинтезе фосфатидилсерина, который представляет собой фосфолипид клеточной мембраны, и биосинтезе сфингомиелина, цереброзидов и D-серина в головном мозге. Следовательно, концентрация L-серина в клетках напрямую способствует делению, пролиферации и росту клеток, а глицин и цистеин, полученные из L-серина, являются членами семейства S-трансфераз (GSH), известных как основные внутриклеточные антиоксиданты [Pompella et al., 2003]. Таким образом, L-серин также может играть важную роль в защитном механизме, который защищает клетки от повреждений, вызванных активными формами кислорода (ROS), действуя как источник предшественников, необходимых для продукции внутриклеточных GSH [Aoyama et al., 2008; Zhou et al., 2017].

[0007] L-серин, необходимый клеткам человека, как описано выше, может быть биосинтезирован посредством пути фосфорилирования, происходящего в цитоплазме. Однако, поскольку количество L-серина, биосинтезируемое в клетках в условиях болезни или стресса,

является недостаточным по сравнению с количеством L-серина, которое требуется клетке, а, L-серин классифицируется как условно незаменимая аминокислота, он должен поступать в организм извне вместе с пищей. В частности, известно, что, поскольку проницаемость L-серином гематоэнцефалического барьера (BBB) является относительно низкой, врожденные генетические дефекты пути биосинтеза L-серина вызывают дефицит L-серина в головном мозге, что приводит к таким заболеваниям, как мозжечковая дисфункция, тяжелая эпилепсия и умственная отсталость [Smith et al., 1987; Boado et al., 1999; De Koning et al, 2002].

[0008] Причины, по которым врожденные генетические дефекты пути биосинтеза L-серина вызывают серьезные заболевания центральной нервной системы из-за дефицита L-серина в головном мозге, заключаются в том, что L-серин действует как нейротрофический фактор в нервных клетках [Fuguu et al., 2000], и в том, что L-серин действует как источник глицина, а D-серин действует как коагонист с глутаминовой кислотой для N-метил-D-аспартатного рецептора (NMDAR) и, таким образом, вносит важный вклад в неврологическое развитие головного мозга, развитие синапса, нейронную пластичность и эксайтотоксичность [De Miranda et la., 2000].

[0009] В качестве врожденных дефектов пути биосинтеза L-серина диагностируют мутации в 3-фосфоглицерат дегидрогеназе (PHGDH), фосфосерин аминотрансферазе (PSAT) и фосфосерин фосфатазе (PSP), которые являются генами ферментов биосинтеза серина. Раскрыто, что когда от 100 до 600 мг/кг/день L-серина или комбинации от 200 до 700 мг/кг L-серина и от 200 до 300 мг/кг глицерина вводили перорально младенцам с дефектами пути биосинтеза L-серина в течение длительного периода времени, эпилепсия и нарушение нервно-психического развития улучшались без побочных эффектов, а объем белого вещества мозга и миелинизация восстанавливались [Pineda et al., 2000; De Koning et al., 2002; ElHattab, 2016]. Кроме того, раскрыто, что, когда от 100 до 150 мг/кг/день L-серина вводили подросткам с дефектами пути биосинтеза L-серина, вызванными мутациями в 3-фосфоглицерат дегидрогеназе, это облегчало эпилепсию, поведенческие расстройства и расстройства настроения [Tabatabaie et al., 2011]. Таким образом, было обнаружено, что поступление извне L-серина, присутствующего в дефиците из-за врожденных дефектов пути биосинтеза L-серина, в организм на уровне, необходимом для центральной нервной системы, является эффективным способом лечения связанных заболеваний.

[0010] Недавнее клиническое исследование, проведенное с целью возможности значительного расширения использования L-серина в качестве терапевтического средства для

лечения неврологических заболеваний у взрослых, показало, что L-серин обладает положительным эффектом в отношении лечения гуамской формы бокового амиотрофического склероза (ALS)/комплекса болезни Паркинсона и деменции (PDC) и бокового амиотрофического склероза посредством β -N-метиламино-L-аланина (L-BMAA) [Dunlop et al., 2018].

[0011] При этом, L-серин и магний играют существенную роль в поддержании митохондриальной функции [Lucas et al., 2018; Yamanaka et al., 2016]. Было обнаружено, что формирование и регуляция митохондриальных мембран играет важную роль в нейрогенезе и нейропластичности и является основной причиной различных нарушений нервно-психического развития, связанных с когнитивными нарушениями и нарушениями адаптации, таких как расстройства аутистического характера, синдром Дауна, синдром Ретта, синдром ломкой X-хромосомы и т.д., что позволяет предположить, что активация митохондриальной функции может стать новым терапевтическим способом [Valenti et al., 2014]. Головной мозг большинства пациентов с синдромом Дауна проявляет патологические признаки, аналогичные таковым у пациентов с болезнью Альцгеймера, и 75% этих пациентов страдают деменцией в возрасте 50 лет и старше. Было высказано предположение, что эти данные глубоко связаны с митохондриальной дисфункцией, и, таким образом, когда лечение, связанное с активацией митохондриальной функции, начинается рано, частота деменции может быть снижена [Pinar et al., 2012]. Кроме того, сообщалось о возникновении дегенеративных неврологических заболеваний болезни Альцгеймера [Wang et al., 2014], болезни Паркинсона [Franco-Iborra et al., 2018], болезни Гентингтона [Jodiriri et al., 2017] и бокового амиотрофического склероза (ALS) [Cozzolino and Carri, 2012]. Раскрыто, что причиной дегенеративных неврологических заболеваний, таких как боковой амиотрофический склероз (ALS) [Cozzolino and Carri, 2012], является смерть нервных клеток, вызванная окислительным стрессом из-за повреждения митохондрий. Митохондрии представляют собой органы, которые осуществляют апоптоз или некроз клеток и защищают клетки или восстанавливают или удаляют поврежденные клетки, осуществляя количественное регулирование числа митохондрий, как например деление и слияние митохондрий, с поддержанием гомеостаза клеток от внешнего стресса окружающей среды [Youle and van der Bliek, 2012; Ni et al., 2014].

[0012] В частности, нервные клетки представляют собой постмитотические непролиферирующие клетки, которые требуют более высокого энергетического метаболизма, чем клетки других тканей, имеют высокое соотношение жирных кислот и ионов металлов,

которые подвержены перокислению, и имеют относительно низкий уровень клеточных антиоксидантов, и эти нервные клетки очень уязвимы к окислительному стрессу, вызванному активными формами кислорода или активными формами азота [Ogawa et al., 2007; Bhat et al., 2015]. Сообщалось, что из-за этих особенностей нервных клеток общий симптом у нарушений нервно-психического развития, таких как расстройства аутистического фактора, синдром Дауна, синдром Ретта и синдром ломкой X-хромосомы, а также дегенеративных неврологических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и боковой амиотрофический склероз, состоит в митохондриальной дисфункции, вызванной окислительным стрессом, хотя основные причины этих заболеваний отличаются друг от друга.

[0013] Документы уровня техники

[0014] Непатентные документы

[0015] Aoyama K, Watabe M, Nakaki T. Regulation of neuronal glutathione synthesis. *J Pharmacol sci.* 2008;108(3):227-38.

Bhat AH, Dar KB, Anees S, Zargar MA, Masood A, Sofi MA, Ganie SA. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomed Pharmacother.* 2015;74:101-110.

Boado RJ, Li JY, Nagaya M, Zhang C, Pardridge WM. Selective expression of the large neutral amino acid transporter at the blood-brain barrier. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96 (21): 12079-12084.

Cozzolino M, Carri MT. Mitochondrial dysfunction in ALS. *Prog Neurobiol.* 2012; 97(2): 54-66.

De Koning TJ, Duran M, Van Maldergem L, Pineda M, Dorland L, Gooskens R, Jaeken J, Poll-The BT. Congenital microcephaly and seizures due to 3-phosphoglycerate dehydrogenase deficiency: outcome of treatment with amino acids. *J Inherit Metab Dis.* 2002;25(2):119-125.

De Koning TJ, Snell K, Duran M, Berger R, Poll-The BT, Surtees R. L-serine in disease and development. *Biochem J.* 2003; 371(Pt 3):653-661.

De Miranda J, Santoro A, Engelender S, Wolosker H. Human serine racemase: molecular cloning, genomic organization and functional analysis. *Gene.* 2000;256(1-2):183-8.

Doyle KM, Kennedy D, Gorman AM, Gupta S, Healy SJ, Samali A. Unfolded proteins and endoplasmic reticulum stress in neurodegenerative disorders. *J Cell Mol Med.* 2011; 15(10): 2025-2039.

Dranka BP, Hill BG, Darley-Usmar VM. Mitochondrial reserve capacity in endothelial cells: The impact of nitric oxide and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med.* 2010;48(7):905-914.

[0016] Dunlop RA, Powell JT, Metcalf JS, Guillemin GJ, Cox PA. L-Serine-mediated neuroprotection includes the upregulation of the ER stress chaperone protein disulfide isomerase (PDI). *Neurotox Res.* 2018;33(1):113-122.

El-Hattab AW. Serine biosynthesis and transport defects. *Mot Genet Metab.* 2016;118(3):153-159.

Farruggia G, Castiglioni S, Sargenti A, Marraccini C, Cazzaniga A, Merolle L, Iotti S, Cappadone C, Maier JA. Effects of supplementation with different Mg salts in cells: is there a clue? *Magnes Res.* 2014;27(1):25-34.

Franco-Iborra S, Vila M, Perier C. Mitochondrial quality control in neurodegenerative diseases: Focus on Parkinson's disease and Huntington's disease. *Front Neurosci.* 2018;12:342.

Furuya S, Tabata T, Mitoma J, Yamada K, Yamasaki M, Makino A, Yamamoto T, Watanabe M, Kano M, Hirabayashi Y. L-serine and glycine serve as major astroglia-derived trophic factors for cerebellar Purkinje neurons. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(21): 11528-11533.

Jahnen-Dechent W, Ketteler M. Magnesium basics. *Clin Kidney J* 2012;5: i3-14.

Lench AM, Massey PV, Pollegioni L, Woodhall GL, Jones RS. Astroglial d-serine is the endogenous co-agonist at the presynaptic NMDA receptor in rat entorhinal cortex. *Neuropharmacology.* 2014;83:118-127.

Liu G, Weinger JG, Lu ZL, et al. Efficacy and safety of MMFS-01, a synapse density enhancer, for treating cognitive impairment in older adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Alzheimers Dis.* 2015;49(4):971-90.

Metcalf JS, Dunlop RA, Powell JT, Banack S A, Cox PA L-Serine: a Naturally-occurring amino acid with therapeutic potential. *Neurotox Res.* 2018;33(1):213-221.

[0017] Mickley GA, Hoxha N, Luchsinger JL, et al. Chronic dietary magnesium-L-threonate speeds extinction and reduces spontaneous recovery of a conditioned taste aversion. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013;106:16-26.

Ni HM, Williams TA, Ding WX. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control. *Redox Biol.* 2015;4:6-13.

Ogawa S, Kitao Y, Hori O. Ischemia-induced neuronal cell death and stress response. *Antioxid Redox Signal*. 2007;9(5):573-587.

Pineda M, Vilaseca MA, Artuch R, Santos S, Garcia Gonzalez MM, Aracil A, Van Schaftingen E, Jaeken J. 3-phosphoglycerate dehydrogenase deficiency in a patient with West syndrome. *Dev Med Child Neurol*. 2000;42(9) :629-633.

Pompella A, Visvikis A, Paolicchi A, De Tata V, Casini AF. The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem Pharmacol*. 2003 ;66(8):1499-1503.

Romani AMP. Magnesium homeostasis in mammalian cells. *Met Ions Life Sci* 2013; 12: 69-118.

Saris NEL, Mervaala E, Karppanen H, Khavaja JA, Lewenstam A. An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta* 2000; 294:1-26.

Shahbah D, Hassan T, Morsy S, Saadany HE, Fathy M, Al-Ghobashy A, Elsamad N, Emam A, Elhewala A, Ibrahim B, Gebaly SE, Sayed HE, Ahmed H. Oral magnesium supplementation improves glycemic control and lipid profile in children with type 1 diabetes and hypomagnesaemia. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(11):c6352.

Slutsky I, Abumaria N, Wu LJ, et al. Enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. *Neuron*. 2010;65(2): 165-77.

[0018] Smith QR. Transport of glutamate and other amino acids at the blood-brain barrier. *J Nutr*. 2000;130(4S Suppl):1016S-1022S.

Swaminathan R. Magnesium metabolism and its disorders. *Clin Biochem Rev* 2003; 24: 47-66.

Tabatabaie L, Klomp LW, Rubio-Gozalbo ME, Spaapen T J, Haagen AA, Dorland L, De Koning TJ. Expanding the clinical spectrum of 3-phosphoglycerate dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2011;34(1):181-184.

Valenti D, de Bari L, De Filippis B, Henrion-Caude A, Vacca RA. Mitochondrial dysfunction as a central actor in intellectual disability-related diseases: an overview of Down syndrome, autism, Fragile X and Rett syndrome. *Neurosci Biobehav Rev*. 2014;46 Pt 2:202-217.

Vink R. Magnesium in the CNS: recent advances and developments. *Magnes Res*. 2016;29(3):95-101.

Wang X, Wang W, Li L, Perry G, Lee HG, Zhu X. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(8): 1240-1247.

Wolosker H, Panizzutti R, De Miranda J. Neurobiology through the looking-glass: D-serine as a new glial-derived transmitter. *Neurochem Int.* 2002;41(5):327-332.

Yamanaka R, Tabata S, Shindo Y, Hotta K, Suzuki K, Soga T, Oka K. Mitochondrial Mg(2+) homeostasis decides cellular energy metabolism and vulnerability to stress. *Sci Rep.* 2016;6:30027.

Youle RJ, van der Bliek AM. Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science.* 2012;337(6098):1062-1065.

Zhou X, He L, Wu C, Zhang Y, Wu X, Yin Y. Serine alleviates oxidative stress via supporting glutathione synthesis and methionine cycle in mice. *Mol Nutr Food Res.* 2017;61(11).

Краткое раскрытие настоящего изобретения

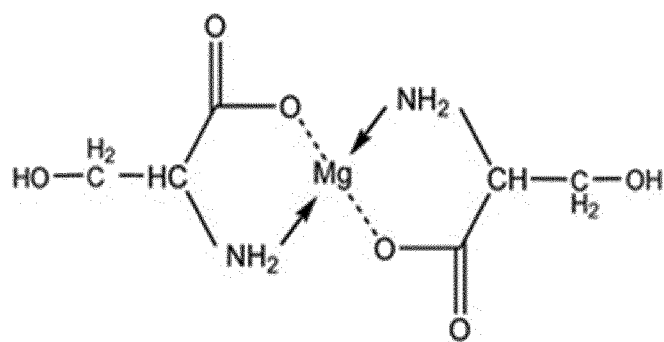
Техническая задача

[0019] Одна из задач, решаемых настоящим изобретением, состоит в обеспечении нового соединения серината магния, обладающего эффектом увеличения не только клеточного захвата магния и L-серина, но также концентраций магния и L-серина в головном мозге посредством одновременной доставки магния и L-серина в организм человека при необходимости, которое полезно для активации митохондриальной функции, а также в обеспечении способа его получения.

[0020] Другая задача, решаемая настоящим изобретением, состоит в обеспечении фармацевтической композиции для профилактики или лечения заболеваний центральной нервной системы, вызванных митохондриальной дисфункцией, таких как когнитивное расстройство, умственная отсталость, микроцефалия, эпилепсия, нарушение нервно-психического развития, деменция, расстройства аутистического спектра, синдром Дауна, синдром Ретта, синдром ломкой X-хромосомы, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и боковой амиотрофический склероз, причем фармацевтическая композиция содержит соединение серината магния или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

Техническое решение

[0021] Настоящее изобретение решает описанные выше задачи посредством обеспечения соединения следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, гидрата или изомера:



[0022]

[0023] (I)

[0024] Настоящее изобретение также относится к способу получения соединения формулы (I) посредством реакции MgO с L-серином.

[0025] Реакцию предпочтительно проводят при температуре от 70 до 80°C.

[0026] Настоящее изобретение также относится к способу получения соединения формулы (I) посредством реакции MgH₂ с L-серином.

[0027] Реакцию предпочтительно проводят при комнатной температуре.

[0028] Реакцию предпочтительно проводят при температуре от 70 до 80°C.

[0029] Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции для профилактики или лечения заболеваний центральной нервной системы, причем фармацевтическая композиция содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

[0030] Заболевания центральной нервной системы предпочтительно выбраны из группы, состоящей из когнитивного расстройства, умственной отсталости, микроцефалии, эпилепсии, нарушения нервно-психического развития, деменции, расстройств аутистического спектра, синдрома Дауна, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и бокового амиотрофического склероза.

[0031] Настоящее изобретение также относится к функциональному продукту лечебного питания для профилактики или облегчения заболеваний центральной нервной системы, причем функциональный продукт лечебного питания содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

[0032] Заболевания центральной нервной системы предпочтительно выбраны из группы, состоящей из когнитивного расстройства, умственной отсталости, микроцефалии, эпилепсии, нарушения нервно-психического развития, деменции, расстройств аутистического

спектра, синдрома Дауна, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и бокового амиотрофического склероза.

[0033] Настоящее изобретение также относится к композиции кормовой добавки, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

[0034] Настоящее изобретение также относится к композиции реагента для ингибирования смерти нервных клеток, причем композиция реагента содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

[0035] Настоящее изобретение также относится к способу ингибирования смерти нервных клеток, причем способ предусматривает обработку нервных клеток соединением формулы (I) или его фармацевтически приемлемой солью *in vitro*.

Преимущественные эффекты

[0036] Было подтверждено, что новая композиция серината магния, полученная способом получения согласно настоящему изобретению, состоящая из приблизительно 10% магния и приблизительно 90% серина, как определено посредством инструментального анализа, при солюбилизации при концентрации приблизительно 500 мг/мл в воде при комнатной температуре при значении pH от 6,0 до 10,0, оставалась в виде водного раствора без образования осадка, а также образование осадка не наблюдалось при солюбилизации при концентрации приблизительно 500 мг/мл в фосфатно-буферном солевом растворе (PBS) при комнатной температуре. Таким образом, новая композиция серината магния обладает свойствами, подходящими для введения перорально или посредством инъекции в организм человека. Кроме того, соединение активирует митохондриальную функцию и пролиферацию нервных клеток посредством увеличения уровня потребления кислорода митохондриями и проявляет защитный эффект в отношении нервных клеток, состоящий в ингибировании смерти нервных клеток в результате возможного повреждения митохондриальной мембраны и/или стресса эндоплазматического ретикулума, вызванных окислительным стрессом, и демонстрирует улучшенную проницаемость гематоэнцефалического барьера. Поэтому соединение обладает превосходным эффектом в отношении профилактики, лечения и облегчения заболеваний центральной нервной системы, таких как когнитивное расстройство, умственная отсталость, микроцефалия, эпилепсия, нарушение нервно-психического развития, деменция, расстройства аутистического спектра, синдром Дауна, синдром Ретта, синдром

ломкой X-хромосомы, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и боковой амиотрофический склероз, и, таким образом, настоящее изобретение весьма полезно для фармацевтической промышленности и т.д.

Краткое описание чертежей

[0037] На Фиг. 1 показаны результаты ^1H -ЯМР анализа L-серина.

[0038] На Фиг. 2 показаны результаты ^1H -ЯМР анализа серината магния согласно настоящему изобретению (соединение, полученное согласно способу синтеза, описанному в Примере 1, приведенном ниже, и далее упоминается в настоящем документе как «AST-011»).

[0039] На Фиг. 3 показаны результаты ^1H -ЯМР анализа серината магния согласно настоящему изобретению (соединение, полученное согласно способу синтеза, описанному в Примере 2, приведенном ниже, и далее упоминается в настоящем документе как «AST-014»).

[0040] На Фиг. 4 показаны результаты ^{13}C -ЯМР анализа L-серина.

[0041] На Фиг. 5 показаны результаты ^{13}C -ЯМР анализа серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению.

[0042] На Фиг. 6 показаны результаты ^{13}C -ЯМР анализа серината магния (AST-014) согласно настоящему изобретению.

[0043] На Фиг. 7 показаны результаты Фурье-ИК-спектрального анализа L-серина.

[0044] На Фиг. 8 показаны результаты Фурье-ИК-спектрального анализа серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению.

[0045] На Фиг. 9 показаны результаты Фурье-ИК-спектрального анализа серината магния (AST-014) согласно настоящему изобретению.

[0046] На Фиг. 10 показаны результаты Фурье-ИК-спектрального анализа серината магния согласно настоящему изобретению (соединение, полученное согласно способу синтеза, описанному в Примере 3, приведенном ниже, и далее упоминается в настоящем документе как «AST-016»).

[0047] На Фиг. 11 показана жизнеспособность клеток мышинных гиппокампальных нервных клеток HT-22 как функция от применяемой для обработки концентрации серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению. На (A) показана жизнеспособность клеток в среде, недостаточной относительно серина/глицерина, а на (B) показана жизнеспособность клеток в полной среде.

[0048] На Фиг. 12 показаны результаты анализа, осуществляемого с применением анализатора внеклеточного потока Seahorse(XF) для оценки влияния серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению на метаболическую ёмкость митохондриальной системы производства энергии и дыхательной системы в мышинных гиппокампальных нервных клетках HT-22.

[0049] На Фиг. 13 показан защитный эффект в отношении клетки серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению на защите мышинных гиппокампальных нервных клеток HT-22, обработанных DMNQ (2,3-диметокси-1,4-нафтохинон), как функция от применяемой для обработки концентрации серината магния (AST-011).

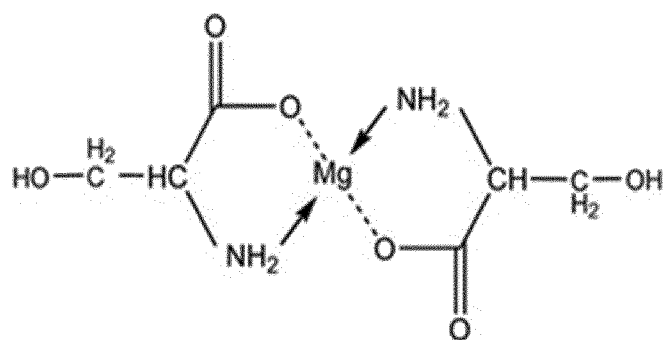
[0050] На Фиг. 14 показана проницаемость гематоэнцефалического барьера лекарственными средствами, определенная посредством введения серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению мышам ICR, количественной оценки концентраций серината магния, распределенных в крови и головном мозге, и вычисления соотношения концентрации серината магния в головном мозге и концентрации серината магния в крови.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

[0051] Далее настоящее изобретение описано более подробно.

[0052] С целью разработки нового соединения, обладающего эффектом увеличения не только клеточного захвата магния и L-серина, но и концентрации магния и L-серина в головном мозге посредством одновременной доставки магния и L-серина в организм человека при необходимости, авторы настоящего изобретения обработали L-серин солью магния (MgO или MgH_2), с получением таким образом серината магния в виде хелата металла и аминокислоты, в котором магний хелатирован аминокислотой L-серин. Было показано, что полученный серинат магния солубилизировался при концентрации приблизительно 500 мг/мл в воде при комнатной температуре при значении pH от 6,0 до 10,0 и поддерживал состояние водного раствора без образования осадка. Кроме того, полученный серинат магния солубилизировался при концентрации приблизительно 500 мг/мл в солевом растворе, содержащем хлорид натрия (NaCl) и фосфат, при комнатной температуре без образования осадка.

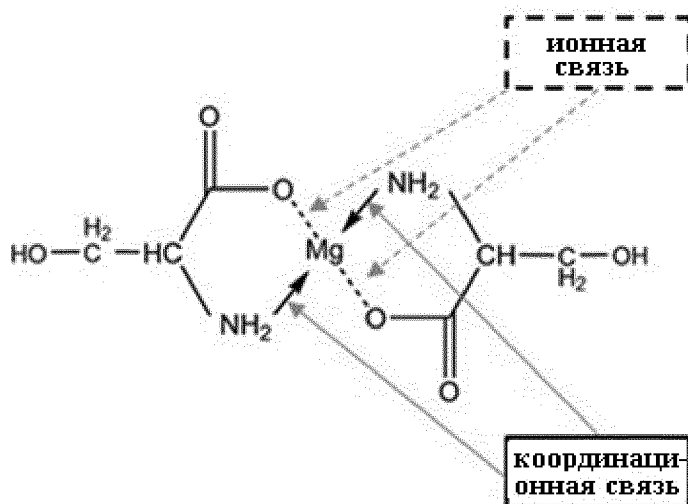
[0053] Таким образом, настоящее изобретение относится к соединению следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвату, гидрату или изомеру:



[0054]

[0055] (I)

[0056] Как показано на следующей структурной формуле, соединение формулы (I) имеет структуру, в которой две молекулы серина образуют ионную связь и координационную связь с одной молекулой магния:



[0057]

[0058] Соединение формулы (I) может существовать в виде соли присоединения основания или соли присоединения кислоты. Соль присоединения является частью настоящего изобретения. Хотя соль преимущественно получают с фармацевтически приемлемой кислотой, соли других кислот, например, пригодные для очистки или выделения соединения формулы (I), также являются частью настоящего изобретения. Кислотами могут быть, например, пикриновая кислота, щавелевая кислота или оптически активные кислоты, такие как винная кислота, дибензоилвинная кислота, миндальная кислота или камфорсульфоновая кислота, и кислоты, которые образуют физиологически приемлемые соли, такие как гидрохлорид, гидробромид, сульфат, гидросульфат, дигидрофосфат, малеат, фумарат, 2-нафталинсульфонат или пара-толуолсульфонат. Для физиологически приемлемых солей можно сделать ссылку на

Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002).

[0059] Сольваты или гидраты могут быть получены непосредственно в способе синтеза, и соединение формулы (I) может быть выделено в форме гидрата, например, моно- или полугидрата, или сольвата растворителя реакции или очистки.

[0060] Кроме того, соединение формулы (I) может существовать в виде изомера, например, в виде поворотного изомера. Поворотные изомеры соединения формулы (I) являются частью настоящего изобретения.

[0061] Соединение формулы (I) согласно настоящему изобретению может быть синтезировано с высоким выходом и чистотой посредством способа получения, как описано ниже.

[0062] Таким образом, настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I) посредством реакции MgO с L-серином.

[0063] Соединение формулы (I) синтезируют согласно следующей формуле реакции, и реакцию синтеза предпочтительно проводят при температуре от 70 до 80°C:



[0065] В частности, соединение формулы (I) может быть получено посредством добавления и растворения L-серина в реакторе, содержащем дистиллированную воду, и добавления в него порошкообразного MgO в виде одной порции, и реакции смеси при перемешивании в течение приблизительно 2 часов. Способ извлечения и очистки соединения формулы (I) в реакторе можно проводить согласно общему способу выделения и очистки после реакции органического синтеза.

[0066] Настоящее изобретение также относится к способу получения соединения формулы (I) посредством реакции MgH₂ с L-серином.

[0067] Соединение формулы (I) синтезируют согласно следующей формуле реакции, и реакцию синтеза предпочтительно проводят при температуре от 70 до 80°C:



[0069] В частности, соединение формулы (I) может быть получено посредством добавления и растворения L-серина в реакторе, содержащем дистиллированную воду, и добавления в него MgH₂ небольшими порциями при комнатной температуре (для реакции при комнатной температуре) или при повышенной температуре от 70 до 80°C (для реакции при

повышенной температуре), и реакции смеси при перемешивании в течение приблизительно 14 часов (для реакции при комнатной температуре) или приблизительно 6 часов (для реакции при повышенной температуре) до тех пор, пока не перестанет образовываться газ H_2 . Способ извлечения и очистки соединения формулы (I) в реакторе можно проводить согласно общему способу выделения и очистки после реакции органического синтеза.

[0070] Соединение серината магния согласно настоящему изобретению может улучшать проницаемость гематоэнцефалического барьера для магния и L-серина посредством одновременной доставки магния и L-серина в организм человека при необходимости, и может проявлять эффекты против заболеваний, связанных с центральной нервной системой, таких как врожденные неврологические заболевания и дегенеративные неврологические заболевания. Таким образом, соединение серината магния может применяться в качестве фармацевтического лекарственного средства против этих заболеваний.

[0071] Таким образом, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для профилактики или лечения заболеваний центральной нервной системы, причем фармацевтическая композиция содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

[0072] Активный ингредиент согласно настоящему изобретению можно применять в виде фармацевтического лекарственного средства против заболеваний центральной нервной системы, где заболевания центральной нервной системы предпочтительно выбраны из группы, состоящей из когнитивного расстройства, умственной отсталости, микроцефалии, эпилепсии, нарушения нервно-психического развития, деменции, расстройств аутистического спектра, синдрома Дауна, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и бокового амиотрофического склероза.

[0073] Активный ингредиент предпочтительно индуцирует активацию пролиферации нервных клеток. Термин «активация пролиферации нервных клеток» в контексте настоящего изобретения может включать как стимуляцию деления нервных клеток, так и ингибирование апоптоза или некроза нервных клеток.

[0074] Активация пролиферации нервных клеток предпочтительно представляет собой эффект, достигаемый посредством увеличения уровня потребления кислорода митохондриями.

[0075] Активный ингредиент предпочтительно обладает активностью защиты нервных клеток. Термин «защита нервных клеток» относится к ингибированию апоптоза или некроза нервных клеток, вызванных внешними факторами или внутриклеточными факторами.

[0076] Защита нервных клеток предпочтительно представляет собой защиту от окислительного стресса. Термин «окислительный стресс» означает, что клетки находятся в ненормальном состоянии из-за активных форм кислорода.

[0077] Защита от окислительного стресса предпочтительно достигается посредством ингибирования смерти клеток, вызванной возможным повреждением митохондриальной мембраны.

[0078] Защита от окислительного стресса предпочтительно достигается посредством ингибирования смерти клеток, вызванной стрессом эндоплазматического ретикула.

[0079] Активный ингредиент предпочтительно обладает способностью проникать через гематоэнцефалический барьер. Неожиданно обнаружено, что активный ингредиент согласно настоящему изобретению значительно улучшает проницаемость гематоэнцефалического барьера L-серином и может быть эффективно доставлен в головной мозг при введении пациенту с нарушениями биосинтеза L-серина.

[0080] В целях применения фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может быть составлена в виде пероральных лекарственных форм, таких как пилюли, гранулы, таблетки, капсулы, суспензии, эмульсии, сиропы или аэрозоли, или других различных форм, таких как стерильные растворы для инъекций, в зависимости от ее предполагаемого использования в соответствии с традиционными способами. Фармацевтическую композицию можно вводить перорально или можно вводить различными путями, включая внутривенный, интраперитонеальный, подкожный, ректальный и местный пути.

[0081] Эта фармацевтическая композиция может дополнительно содержать носители, вспомогательные вещества или разбавители, и примеры подходящих носителей, вспомогательных веществ или разбавителей, которые могут содержаться в композиции, включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, ксилит, эритрит, мальтит, крахмал, камедь акации, альгинат, желатин, фосфат кальция, силикат кальция, целлюлозу, метилцеллюлозу, аморфную целлюлозу, поливинилпирролидон, воду, метилгидроксibenзоат, пропилгидроксibenзоат, тальк, стеарат магния и минеральное масло.

[0082] Кроме того, фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать наполнитель, средство против агрегации, смазывающее средство, смачивающее средство, ароматизатор, эмульгатор, консервант и тому подобное.

[0083] Фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить в фармацевтически эффективном количестве. В контексте настоящего изобретения термин «фармацевтически эффективное количество» относится к количеству, достаточному для лечения заболеваний при разумном соотношении польза/риск, применимом для любого лечения. Эффективный уровень дозы композиции может быть определен в зависимости от факторов, включая вид и тяжесть заболевания пациента, активность лекарственного средства, чувствительность к лекарственному средству, время введения, путь введения, скорость выведения, продолжительность лечения, лекарственные средства, используемые в комбинации с композицией, и другие факторы, известные в области медицины.

[0084] Фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить отдельно или в комбинации с другими терапевтическими средствами, а также можно вводить последовательно или одновременно с обычными терапевтическими средствами. Фармацевтическую композицию можно вводить в виде лекарственной формы, содержащей однократную дозу или многократные дозы. Важно вводить композицию в минимальном количестве, которое может проявлять максимальный эффект, не вызывая побочных эффектов, с учетом всех вышеописанных факторов, и это количество может быть легко определено специалистом в данной области техники.

[0085] Согласно предпочтительному варианту осуществления эффективное количество активного ингредиента в фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению может варьироваться в зависимости от возраста, пола и массы тела пациента. В общем, активный ингредиент можно вводить в дозе от 1 до 5000 мг/кг массы тела/день, предпочтительно от 100 до 3000 мг/кг массы тела/день, ежедневно или раз в два дня, или можно вводить от одного до трех раз в день. Однако, поскольку доза может увеличиваться или уменьшаться в зависимости от пути введения, тяжести заболевания, пола, массы тела и возраста пациента и т.д., доза не предназначена для ограничения объема настоящего раскрытия каким-либо образом.

[0086] Фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить субъекту различными путями. Можно рассмотреть все пути введения. Например, композицию можно вводить перорально, интаректально или путем внутривенной,

внутримышечной, подкожной, внутриматочной, интратекальной или интрацеребровентрикулярной инъекции.

[0087] В контексте настоящего изобретения термин «введение» означает обеспечение пациента данным веществом любым подходящим способом. Фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить перорально или парентерально или всеми основными путями, если при этом она достигает ткани-мишени. Кроме того, композицию согласно настоящему изобретению также можно вводить с использованием любого устройства, способного доставлять активный ингредиент к клеткам-мишеням.

[0088] В контексте настоящего изобретения термин «субъект» не ограничен конкретным образом, но включает, например, людей, обезьян, крупный рогатый скот, лошадей, овец, свиней, цыплят, индеек, перепелов, кошек, собак, мышей, крыс, кроликов или морских свинок, и предпочтительно относится к млекопитающим, более предпочтительно к людям.

[0089] Помимо использования в качестве фармацевтического лекарственного средства, как описано выше, соединение серината магния согласно настоящему изобретению можно применять в виде функционального продукта лечебного питания.

[0090] Таким образом, настоящее изобретение относится к функциональному продукту лечебного питания для профилактики или облегчения заболеваний центральной нервной системы, причем функциональный продукт лечебного питания содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

[0091] Заболевания центральной нервной системы предпочтительно выбраны из группы, состоящей из когнитивного расстройства, умственной отсталости, микроцефалии, эпилепсии, нарушения нервно-психического развития, деменции, расстройств аутистического спектра, синдрома Дауна, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и бокового амиотрофического склероза.

[0092] Функциональный продукт лечебного питания согласно настоящему изобретению может различным образом использоваться в продуктах питания и напитках, эффективно предотвращающих и облегчающих заболевания, связанные с центральной нервной системой.

[0093] Продукты питания, содержащие активный ингредиент согласно настоящему изобретению, включают различные продукты питания, например, напитки, жевательные

резинки, чай, витаминные комплексы, продукты питания с биологически активными пищевыми добавками и т.п., и могут использоваться в форме порошков, гранул, таблеток, капсул или напитков.

[0094] Активный ингредиент согласно настоящему изобретению в общем может быть добавлен в количестве от 0,01 до 15 мас.% на основе общей массы продукта питания. Для композиции напитка для лечебного питания активный ингредиент может быть добавлен в количестве от 0,02 до 10 г, предпочтительно от 0,3 до 1 г из расчета на 100 мл композиции напитка для лечебного питания.

[0095] Функциональный продукт лечебного питания согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать приемлемые для продуктов питания добавки, например, природные углеводы и различные ароматизаторы, в дополнение к содержанию соединения в качестве основного компонента в указанном процентном содержании.

[0096] Примеры природных углеводов включают обычные сахара, такие как моносахариды (например, глюкоза, фруктоза и т.д.), дисахариды (например, мальтоза, сахароза и т.д.), полисахариды (например, декстрин, циклодекстрин и т.д.) и сахарные спирты, такие как ксилит, сорбит, эритрит и т.п.

[0097] Примеры ароматизаторов, которые могут быть использованы в настоящем изобретении, включают тауматин, ребаудиозид А, глицирризин, сахарин, аспартам и т.д. Ароматизатор используется в количестве приблизительно от 1 до 20 г, предпочтительно приблизительно от 5 до 12 г, из расчета на 100 мл функционального продукта лечебного питания согласно настоящему изобретению.

[0098] Кроме того, функциональный продукт лечебного питания согласно настоящему изобретению может содержать различные питательные вещества, витамины, минералы, ароматизаторы, такие как синтетические ароматизаторы и природные ароматизаторы, красители, наполнители, пектиновую кислоту и ее соль, альгиновую кислоту и ее соль, органические кислоты, защитные коллоидные загустители, регуляторы pH, стабилизаторы, консерванты, глицерин, спирт, средства, способствующие карбонизации, используемые в газированных напитках и т.д.

[0099] Функциональный продукт лечебного питания согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать мякоть фруктов, которую используют для приготовления натуральных фруктовых соков, напитков на основе фруктовых соков или овощных напитков. Эти компоненты можно использовать по отдельности или в комбинации.

Содержание этих добавок в общем выбирают в диапазоне от 0,01 до приблизительно 20 мас.частей расчета на 100 мас.частей функционального продукта лечебного питания.

[00100] Поскольку соединение серината магния согласно настоящему изобретению может эффективно доставлять магний и серин в живой организм, его можно применять для питания.

[00101] Таким образом, настоящее изобретение относится к композиции кормовой добавки, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

[00102] Композиция кормовой добавки может быть предназначена для животных. Термин «животные» относится к группе организмов, соответствующих растениям, которые потребляют органические вещества в качестве питательных веществ и у которых различаются органы пищеварения, выведения и дыхания. В частности, животными могут быть иглокожие, ракообразные, моллюски, рыбы, амфибии, рептилии, птицы или млекопитающие. Предпочтительно, животными являются иглокожие, такие как морские ежи или морские огурцы, членистоногие, включая ракообразных, такие как крабы, креветки и китайские белые креветки, моллюски, такие как головоногие моллюски, брюхоногие моллюски или двустворчатые моллюски, рыбы, такие как красный лещ, морской лещ, треска, палтус или камбала, птицы, включая домашнюю птицу, такую как фазан или курица, или млекопитающие, такие как свиньи, крупный рогатый скот, овцы, лошади, козы, собаки или кошки.

[00103] Композиция кормовой добавки может дополнительно содержать зерна, корм с растительным белком, корм с животным белком, сахар или молочный продукт в дополнение к активному ингредиенту согласно настоящему изобретению. Зернами могут быть, в частности, размолотая или дробленая пшеница, овес, ячмень, кукуруза и рис, корм с растительным белком может, в частности, быть на основе семян рапса, сои и подсолнечника, кормом с животным белком может быть, в частности, кровяная мука, мясная мука, костная мука и рыбная мука, и сахаром или молочным продуктом может быть, в частности, сухой компонент, состоящий из различных сухих молочных порошков и сухой молочной сыворотки.

[00104] Композиция пищевой добавки может дополнительно содержать такие компоненты, как пищевые добавки, усилители пищеварения и поглощения, стимуляторы роста или средства для профилактики заболеваний.

[00105] Композиция кормовой добавки согласно настоящему изобретению может варьироваться в зависимости от цели использования и условий использования корма.

Например, композиция кормовой добавки может содержаться в количестве от 0,1 до 100 г из расчета на 1 кг окончательно произведенного корма.

[00106] Кроме того, композиция кормовой добавки может быть приготовлена в виде однородных вязких крупнозернистых или гранулированных материалов в зависимости от степени измельчения ее компонентов. Композиция может поставляться в виде насыпного материала или может быть сформована в желаемую отдельную форму для дальнейшей обработки и упаковки, и может быть подвергнута процессам гранулирования, расширения или экструзии для хранения. Для простоты хранения излишки воды могут быть удалены из композиции посредством сушки.

[00107] При этом, поскольку серинат магния согласно настоящему изобретению эффективно ингибирует смерть нервных клеток, его можно применять в качестве реагента для ингибирования клеточной смерти в клетках, предпочтительно нервных клетках.

[00108] Таким образом, настоящее изобретение относится к композиции реагента для исследования, предпочтительно композиции реагента для ингибирования смерти нервных клеток, причем композиция реагента содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

[00109] Нервными клетками могут быть первичные нервные клетки, трансформированные нервные клетки или линии нервных клеток.

[00110] Реагент может быть использован для активации нервных клеток, активации пролиферации нервных клеток посредством увеличения уровня потребления кислорода митохондриями, защиты нервных клеток, ингибирования повреждения нервных клеток, вызванного окислительным стрессом, ингибирования смерти нервных клеток в результате возможного повреждения митохондриальной мембраны, вызванного окислительным стрессом, или ингибирования гибели нервных клеток в результате стресса эндоплазматического ретикулума, вызванного окислительным стрессом.

[00111] Настоящее изобретение также относится к способу ингибирования смерти нервных клеток, причем способ предусматривает обработку нервных клеток реагентом согласно настоящему изобретению, который содержит соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

[00112] Согласно описанному выше способу возможно получить эффекты активации нервных клеток, активации пролиферации нервных клеток посредством увеличения уровня потребления кислорода митохондриями, защиты нервных клеток, ингибирования

повреждения нервных клеток, вызванного окислительным стрессом, ингибирования смерти нервных клеток в результате возможного повреждения митохондриальной мембраны, вызванного окислительным стрессом, или ингибирования смерти нервных клеток в результате стресса эндоплазматического ретикулума, вызванного окислительным стрессом.

[00113] В указанном выше способе способ культивирования клеток, способ обработки реагентом и т.д. очевидны для специалистов в данной области техники. В частности, применяемая для обработки концентрация реагента и т.д. может быть соответствующим образом изменена в пределах диапазона значений, описанных в настоящем описании, или в пределах диапазона, в котором действие реагента не изменяется.

[00114] Способ предпочтительно проводят *in vitro*.

Вариант осуществления изобретения

[00115] Далее настоящее изобретение описано более подробно со ссылкой на конкретные примеры. Следующие ниже примеры описывают один предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения, однако, должно быть понятно, что объем настоящего изобретения не ограничен следующими примерами.

[00116] Примеры

[00117] 1. Получение серината Mg

[00118] 1.1. Получение серината Mg (AST-011)

[00119] 100 мл дистиллированной воды помещали в колбу Эрленмейера объемом 500 мл и нагревали до температуры от 70 до 80 °C, а затем взвешивали 50 г (приблизительно 0,48 моль) L-серина (MW: 105,1) и растворяли в дистиллированной воде при перемешивании с применением магнитной мешалки. MgO (MW: 40,3) измельчали до мелких частиц в ступке, а затем 9,7 г (приблизительно 0,24 моль) частиц MgO добавляли небольшими порциями к водному раствору L-серин при перемешивании при температуре от 70 до 80 °C. Затем смеси давали возможность прореагировать в колбе Эрленмейера, снабженной обратным холодильником, в течение 2 часов при тех же условиях.

[00120] Реакционный раствор в неохлажденном состоянии немедленно центрифугировали при 6000 оборотах в минуту в течение 10 минут и собирали 130 мл супернатанта. К супернатанту добавляли этанол до конечной концентрации 75 об./об.%, и смесь перемешивали с помощью магнитной мешалки при комнатной температуре в течение 14

часов с образованием осадка. Супернатант удаляли посредством декантации, и только осадок извлекали и сушили замораживанием с получением твердого серината магния.

[00121] Твердый серинат магния, извлеченный сушкой замораживанием, измельчали до мелких частиц в ступке с получением в конечном итоге порошка серината магния (AST-011). Полученный порошок серината магния весил 53,1 г, и его выход составлял приблизительно 89%.

[00122] 1.2. Получение серината Mg (AST-014) посредством реакции при комнатной температуре

[00123] 500 мл дистиллированной воды помещали в колбу Эрленмейера (2000 мл), взвешивали 75 г (приблизительно 0,71 моль) L-серина (MW: 105,1) и растворяли в дистиллированной воде при перемешивании при комнатной температуре. Взвешивали 9,5 г (приблизительно 0,36 моль) MgH_2 (MW: 26,3) и добавляли небольшими порциями к водному раствору L-серина при перемешивании при комнатной температуре. Смеси давали возможность прореагировать при перемешивании с помощью магнитной мешалки при комнатной температуре в течение 14 часов до тех пор, пока не перестал образовываться газ H_2 .

[00124] Реакционный раствор фильтровали через фильтровальную бумагу (Whatman 3MM Filter Paper, GE Healthcare, Life Sciences, USA), и фильтрат концентрировали до объема приблизительно 200 мл, используя вакуумный концентратор (Heidolph LR 4000, Germany). К концентрату добавляли 600 мл этанола (приблизительно 200 мл) до конечной концентрации 75 об./об.% и перемешивали с магнитной мешалкой в течение 14 часов с образованием осадка. Затем супернатант удаляли декантацией, а осадок извлекали в виде серината магния и сушили замораживанием.

[00125] Твердый серинат магния, извлеченный сушкой замораживанием, измельчали до мелких частиц в ступке с получением в конечном итоге порошка серината магния (AST-014). Полученный порошок серината магния весил 48,3 г, и его выход составлял приблизительно 57,3%.

[00126] 1.3. Получение серината Mg (AST-016) посредством реакции при повышенной температуре.

[00127] 200 мл дистиллированной воды помещали в колбу Эрленмейера (1000 мл) и предварительно нагревали до от 70 до 80°C. Взвешивали 60 г (приблизительно 0,57 моль) L-

серина (MW: 105,1) и растворяли в предварительно нагретой дистиллированной воде при перемешивании. Взвешивали 7,5 г (приблизительно 0,285 моль) MgH_2 (MW: 26,3) и добавляли небольшими порциями к водному раствору L-серина при перемешивании с магнитной мешалкой. Смеси давали возможность прореагировать в колбе Эрленмейера, снабженной обратным холодильником, при перемешивании с магнитной мешалкой при той же температуре от 70 до 80°C в течение 6 часов, до тех пор, пока не перестал образовываться газ H_2 .

[00128] Реакционный раствор фильтровали через фильтровальную бумагу (Whatman 3MM Filter Paper, GE Healthcare, Life Sciences, USA), и приблизительно 220 мл фильтрата концентрировали до объема приблизительно 100 мл, используя вакуумный концентратор (Heidolph LR 4000, Germany). Этанол добавляли к концентрату (приблизительно 100 мл) до конечной концентрации 75 об./об.% и перемешивали с магнитной мешалкой в течение 14 часов с образованием осадка. Затем супернатант удаляли декантацией, а осадок промывали погружением в 300 мл 75 об./об.% этанола на 8 часов и затем сушили замораживанием с получением серината магния.

[00129] Твердый серинат магния, извлеченный сушкой замораживанием, измельчали до мелких частиц в ступке с получением в конечном итоге порошка серината магния (AST-016). Полученный порошок серината магния весил 62,6 г, и его выход составлял приблизительно 92,8%.

[00130] 2. Инструментальный анализ синтезированного серината магния

[00131] 2.1. Анализ содержания магния в серинате магния

[00132] Содержание магния в каждом хелатном соединении анализировали с помощью оптической эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES) (Optima 7300DV, PerkinElmer, USA). В качестве условий эксперимента использовали частоту 40 МГц, а длину волны 285,213 нм использовали для неорганического анализа.

[00133] (1) приблизительно от 0,1 до 0,2 г каждого образца аккуратно отбирали и взвешивали, а затем добавляли к ним от 25 до 30 г азотной кислоты.

[00134] (2) Смесь обрабатывали с применением устройства UltraWAVE (Milestone, Italy) при 220°C в течение 25 минут, а затем разбавляли с применением 2азотной кислоты и анализировали.

[00135] Средние значения анализа приведены в Таблице 1 ниже.

[00136] Таблица 1. Содержания магния в серинате магния AST-011, AST-014 и AST-016

[00137]

Образцы	Масса образ-ца (г)	Масса (г) добавлен-ного раствора азотной кислоты	Масса образца, взятого после предвари-тельной обработки	Масса (г) добавлен-ного 2% раствора азотной кислоты	Концент-рация (%) магния в образце	Содер-жание Mg (%), исключая воду	Среднее содержа-ние Mg (%)
AST-011	0,17	30,55	1,11	24,98	8,15	9,62	9,63
	0,10	29,77	1,11	29,77	8,16	9,63	
AST-014	0,15	27,90	1,12	48,53	8,68	10,21	10,06
	0,12	30,75	1,11	48,41	8,28	9,90	
AST-016	0,21	25,85	1,10	49,09	8,95	10,59	10,77
	0,12	27,40	1,04	49,96	9,26	10,95	

[00138] 2.2. Анализ содержаний составляющих аминокислот в серинате магния

[00139] Содержания составляющих аминокислот в каждом серинате магния анализировали с применением автоматического анализатора аминокислот (L-8900, Hitachi, Japan).

[00140] (1) 0,05 г каждого образца добавляли к 2 мл 6Н HCl и подвергали гидролизу при 110°C в течение 24 часов в атмосфере азота.

[00141] (2) После кислотного гидролиза раствор сушили посредством нагревания при 80°C в течение приблизительно 24 часов.

[00142] (3) Подвергнутый кислотному гидролизу раствор разбавляли в 1000 раз с 0,02Н HCl, а затем анализировали посредством автоматического анализатора аминокислот.

[00143] Результаты анализа приведены в Таблице 2 ниже.

[00144] Таблица 2. Содержания серина в серинате магния AST-011, AST-014 и AST-016

[00145]

Аминокислота	AST-011 (мг/г)	AST-014 (мг/г)	AST-016 (мг/г)
Аспарагиновая кислота	ND	ND	ND
Треонин	ND	ND	ND
Серин	890,1	890,5	895,1
Глутаминовая кислота	ND	ND	ND
Глицин	ND	ND	ND
Аланин	ND	ND	ND
Цистин	ND	ND	ND
Валин	ND	ND	ND
Метионин	ND	ND	ND
Изолейцин	ND	ND	ND
Лейцин	ND	ND	ND
Тирозин	ND	ND	ND
Фенилаланин	ND	ND	ND
Лизин	ND	ND	ND
Аммиак	ND	ND	ND
Гистидин	ND	ND	ND
Аргинин	ND	ND	ND
Пролин	ND	ND	ND

ND – не определено

[00146] 2.3. Анализ серината магния посредством ядерного магнитного резонанса (ЯМР)

[00147] Каждый из образцов серината магния (AST-011, AST-014 и AST-016) и аутентичного L-серина (ICN Biomedicals, OH, USA) анализировали посредством ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР. 100 мг каждого образца растворяли в 0,7 мл D_2O и анализировали с применением ЯМР спектроскопии (Bruker Avance II 500 МГц с зондом CyroBBO, Bruker, Germany) при 24,85°C (298 K).

[00148] 2.3.1. ^1H ЯМР анализ

[00149] Как показано на Фиг. 1 – 3, где приведены результаты ^1H ЯМР анализа, в случае аутентичного L-серина, пик, рассматриваемый как α -углерод, имеющий карбоксильную группу и аминогруппу, проявлялся при от 3,7 до 3,8 ppm, и пик, рассматриваемый как β -углерод, имеющий гидроксильную группу, проявлялся при от 3,6 до 3,7 ppm. В случае AST-011 пик, рассматриваемый как α -углерод, имеющий карбоксильную группу и аминогруппу, проявлялся при от 3,5 до 3,6 ppm, и пик, рассматриваемый как β -углерод, имеющий гидроксильную группу, проявлялся при 3,2 ppm, и в случае AST-014 пик, рассматриваемый как α -углерод, имеющий карбоксильную группу и аминогруппу, проявлялся при от 3,5 до 3,6 ppm, и пик, рассматриваемый как β -углерод, имеющий гидроксильную группу, проявлялся при 3,2 ppm.

[00150] Подводя итоги, ^1H ЯМР пики, имеющие химический сдвиг, подобный химическому сдвигу аутентичного L-серина, в общем были обнаружены в двух образцах (AST-011 и AST-014). В отличие от пиков ^1H ЯМР аутентичного L-серина, в случае AST-011 и AST-014 пик этанола CH_2 был обнаружен при от 3,4 до 3,5 ppm, а пик этанола CH_3 был обнаружен при 1,00 ppm. Полагают, что это связано с тем, что этанол, использованный на стадии осаждения этанолом в ходе способа получения каждого из AST-011 и AST-014, оставался в небольшом количестве в твердом образце даже после сушки замораживанием.

[00151] 2.3.2. ^{13}C ЯМР анализ

[00152] Как показано на Фиг. 4 – 6, где приведены результаты ^{13}C ЯМР анализа, в случае AST-011 пик $\text{C}=\text{O}$, рассматриваемый как карбоксильная группа α -углерода в аутентичном L-серине, проявлялся при 177,885 ppm, пик $\text{C}-\text{O}$ гидроксильной группы β -углерода проявлялся при 62,607 ppm, и пик $\text{C}-\text{C}$ α -углерода и β -углерода проявлялся при 56,151 ppm. Кроме того, в случае AST-014 было подтверждено, что пик $\text{C}=\text{O}$, рассматриваемый как карбоксильная группа α -углерода, проявлялся при 179,838 ppm, пик $\text{C}-\text{O}$ гидроксильной группы β -углерода проявлялся при 63,784 ppm, и пик $\text{C}-\text{C}$ α -углерода и β -углерода проявлялся при 56,892 ppm.

[00153] Подводя итоги, ^{13}C ЯМР пики, подобные пикам аутентичного L-серина, в общем были обнаружены в двух образцах (AST-011 и AST-014). При этом, было подтверждено, что пики небольшой высоты, которые проявлялись при 56,391 ppm и 15,732

ppm для AST-011 и 57,334 ppm и при 16,692 ppm для AST-014, представляли собой пики этанола, которые также были определены в ^1H ЯМР анализе.

[00154] 2.3.3. Результаты ЯМР анализа

[00155] На основании результатов двух анализов, выполненных с использованием ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР, соответственно, можно подтвердить, что полученные образцы серината магния (AST-011 и AST-014) содержат L-серин.

[00156] 2.4. Анализ серината магния посредством инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (FT-IR)

[00157] Каждый из образцов серината магния (AST-011, AST-014 и AST-016) и аутентичный L-серин (ICN Biomedicals, OH, USA) анализировали с применением микроскопа FT-UV-VIS-IR Spectroscopic Imaging Microscope (Vertex 80, Bruker, Germany). На основании результатов анализа было определено синтезировались ли или нет полученные соединения серината магния в виде хелатных соединений.

[00158] В то же время от 30 до 40 мг каждого образца измеряли и анализировали с трехкратным повторением при разрешении 4 см^{-1} с применением методики ATR (уменьшенный коэффициент полного отражения). Спектральный диапазон составлял от 600 до 4000 см^{-1} , и использовали детектор DLaTGS.

[00159] На Фиг. 7 показаны результаты анализа ИК-характеристик, проведенного только для L-серина в качестве контроля. Было подтверждено, что отпечаток пальца, указывающий на $-\text{COO}^-$ благодаря влиянию цвиттер-ионов, проявлялся при от 800 до 1400 см^{-1} и 1600 см^{-1} , и характерная полоса $-\text{NH}^{3+}$ была образована при 2100 см^{-1} . При сравнении этих результатов с результатами, приведенными на Фиг. 8 - 10, было подтверждено, что отпечаток пальца $-\text{COO}^-$, образованный при от 800 до 1400 см^{-1} , был изменен и разделен на несколько пиков, и, в частности, пик, образованный при приблизительно 2100 см^{-1} , что указывает на то, что характерная полоса $-\text{NH}^{3+}$ полностью исчезла.

[00160] Результаты Фурье-ИК-спектрального анализа, проведенного как описано выше, непосредственно подтверждают на основании изменений в пиках аминогруппы и карбоксильной группы L-серина, что две функциональные группы обе органически участвуют в связывании с магнием.

[00161] 3. Оценка активности серината магния в отношении пролиферации нервных клеток

[00162] 3.1. Анализ жизнеспособности клеток

[00163] Реагенты клеточной культуры, включая среду Игла в модификации Дульбекко (DMEM), фетальную бычью сыворотку (FBS), 4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-этансульфоновую кислоту (HEPES) и стрептомицин-пенициллин, получали от Gibco BRL (Grand Island, USA).

[00164] Линию мышинных гиппокампальных нервных клеток HT-22 культивировали в среде Игла в модификации Дульбекко (DMEM) с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки (FBS) и 100 мкг/мл гентамицина при 37°C в атмосфере 5% CO₂. В этом примере клетки применяли при пассаже 15 или ниже.

[00165] Активность в отношении пролиферации клеток исследовали с помощью МТТ-анализа для измерения жизнеспособности клеток. Сначала гиппокампальные нервные клетки HT-22 (1×10^4 клеток) инкубировали с каждым из серийно разведенных растворов образцов в 96-луночных планшетах в течение 16 часов, а затем смешивали с 50 мкл раствора МТТ (3-(4,5-диметилтиазолил)2,5-дифенилтетразолия бромид) (1,1 мг/мл) с последующей дополнительной инкубацией в течение 4 часов. Образовавшиеся кристаллы формазана растворяли в 150 мкл раствора DMSO и измеряли оптическую плотность (OD) при 540 нм с помощью планшетного ридера.

[00166] 3.2. Результаты оценки активности в отношении пролиферации нервных клеток

[00167] Для оценки активности в отношении пролиферации нервных клеток выбранного серината магния (AST-011) согласно настоящему изобретению, проводили сравнение активности в отношении пролиферации клеток между AST-011 и L-серином в качестве контроля путем добавления каждого вещества (от 25 до 10000 мкг). В результате, как показано на Фиг. 11, было подтверждено, что в полной среде L-серин существенно не активировал пролиферацию клеток, тогда как AST-011 показал жизнеспособность клеток до 112% при применяемой для обработки концентрации 1 мг/мл (Фиг. 11B). Кроме того, в среде, недостаточной относительно серина/глицерина, AST-011 показал жизнеспособность клеток 129% (Фиг. 11A), в то время как L-серин показал жизнеспособность клеток 125% при

применяемой для обработки концентрации 500 мкг/мл, что указывает на то, что лекарственное средство AST-011 активирует пролиферацию гиппокампальных клеток HT-22.

[00168] 4. Оценка влияния серината магния на уровень потребления кислорода митохондриями

[00169] 4.1. Стресс-тест Seahorse XF Cell Mito Stress Test

[00170] Влияние каждого из серина и серината магния (AST-011) на уровень потребления кислорода (OCR) митохондрий в линии гиппокампальных нервных клеток HT-22 оценивали с применением стресс-теста Seahorse XF Cell Mito Stress Test (Seahorse, Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Все процедуры проводили согласно протоколу Mito Stress Test Kit. Сначала гиппокампальные нервные клетки HT-22 высевали на культуральный планшет XP-96 при плотности 8×10^3 клеток/лунка, а затем инкубировали в среде DMEM в инкубаторе с CO₂ при 37 °C в течение 12 часов. Затем клетки обрабатывали различными концентрациями каждого из серина и лекарственного средства AST-011. Через 4 часа после обработки лекарственным средством среду заменяли свежей средой, и клетки дополнительно инкубировали в инкубаторе с CO₂ при 37 °C в течение 12 часов. После 12 часов инкубации клетки дважды промывали аналитической средой (10 mM глюкозы, 1 mM пирувата, 2 mM глутамина, pH 7,4) и добавляли 180 мкл среды. Затем клетки инкубировали в инкубаторе без CO₂ при 37 °C в течение 1 часа и анализировали с помощью анализатора внеклеточного потока Seahorse (XF). Для измерения OCR клетки обрабатывали 1 мкМ олигомицина, 0,5 мкМ фторкарбонилцианидфенилгидразона (FCCP) и 0,5 мкМ ротенона/антимидина А. Эксперимент проводили в трех идентичных лунках для каждого образца, и результаты получали в виде средних значений.

[00171] 4.2. Результаты оценки уровня потребления кислорода митохондриями

[00172] Чтобы проверить, связана ли активация пролиферации каждым из L-серина и серината магния (AST-011) с улучшением митохондриальной функции, уровень потребления кислорода митохондриями исследовали способом, описанным в разделе «Материалы и способы». В результате, как показано на Фиг.12, можно подтвердить, что каждый из двух лекарственных средств (L-серин и AST-011) увеличивал значение OCR, таким образом, улучшая митохондриальную функцию. В частности, было показано, что для L-серина значение OCR увеличивалось при применяемой для обработки концентрации до 100 мкг/мл, а

затем слегка снижалось при 500 мкг/мл (Фиг. 12А), тогда как для AST-011 значение OCR увеличивалось при применяемой для обработки концентрации 500 мкг/мл (Фиг. 12В). Эти результаты согласуются с результатами экспериментов по активности в отношении пролиферации клеток, показанными на Фиг. 11.

[00173] 5. Активность серината магния в отношении защиты нервных клеток

[00174] 5.1. Анализ проточной цитометрии

[00175] Сначала 1×10^6 клеток промывали три раза 2% раствором PBS, содержащим FBS, и промытые клетки суспендировали в 70% этаноле и фиксировали при 4 °С в течение 1 часа. Фиксированные клетки дважды промывали одним и тем же раствором, суспендировали в 250 мкл раствора РНКазы А (концентрация 50 мкг/мл) и инкубировали при 37 °С в течение 30 минут для удаления РНК из клеток. Затем ДНК в клетках окрашивали при 37 °С в течение 20 минут путем добавления 250 мкл 1,12% натрийцитратного буфера (рН 8,45), содержащего 50 мкг/мл пропидиум йодида. Клетки анализировали с помощью проточного цитометра (FACS Calibur), и распределение клеточного цикла исследовали на основании содержания окрашенной ДНК в каждой клетке.

[00176] 5.2. Результаты оценки активности в отношении защиты нервных клеток

[00177] Активность в отношении защиты клеток серината магния (AST-011) от DMNQ-индуцированного окислительного стресса сравнивали с помощью окрашивания DiOC6. В результате, как показано на Фиг. 13, было подтверждено, что при обработке клеток только DMNQ (10 мкМ) степень повреждения клеток составляла 77,8%, тогда как при обработке клеток AST-011 при концентрациях 0,5, 1 и 5 мг/мл степень повреждения клеток при этих концентрациях составила 66,5%, 65,9% и 64,6% соответственно, что указывает на то, что клетки защищены от потенциального повреждения митохондриальной мембраны. Из приведенных выше результатов видно, что лекарственное средство AST-011 не только обладает лучшей способностью активировать пролиферацию клеток, чем L-серин, но также обладает превосходной активностью в отношении защиты нервных клеток от окислительного стресса по сравнению с L-серином.

[00178] 6. Анализ проницаемости гематоэнцефалического барьера (BBB) серинатом магния

[00179] 6.1. Анализ проницаемости гематоэнцефалического барьера (BBB)

[00180] Каждый из L-серина и AST-011 вводили мышам ICR в возрасте 7-ми недель ($n = 3$) в дозе 600 мг/кг, а затем ткань мозга и кровь собирали. Концентрации L-серина, распределенные в крови и головном мозге, были количественно определены с помощью ЖХ/МС, и проницаемость BBB сравнивали между лекарственными средствами, вычисляя соотношение концентрации L-серина в головном мозге и концентрации в крови.

[00181] 6.2. Результаты оценки проницаемости BBB серинатом магния

[00182] Доставку AST-011 в головной мозг сравнивали с доставкой L-серина, и результаты показаны на Фиг. 14 и в Таблице 3 ниже. Как показано на Фиг. 14 и в Таблице 3, значение $C_{\text{головной мозг}}/C_{\text{плазма}}$ препарата AST-011 составляло $21,85 \pm 4,28$, что выше, чем у L-серина ($18,29 \pm 2,43$). В соответствии с этими результатами было показано, что концентрации L-серина и AST-011 в ткани мозга составляли 11410 ± 1299 и 12296 ± 610 , соответственно, а концентрации L-серина и AST-011 в плазме составляли $636 \pm 55,2$ и 578 ± 103 , соответственно. Таким образом, было подтверждено, что серинат магния согласно настоящему изобретению обладает значительно улучшенной проницаемостью BBB по сравнению с L-серином.

[00183] Таблица 3. Соотношение головной мозг/плазма у самцов мышей ICR (600 мг/кг, Р.О., среднее значение $\pm$ SD, $n = 4$)

[00184]

Соединения	Концентрация (нг/мл или нг/г)		$C_{\text{головной мозг}}/C_{\text{плазма}}$
	Плазма	Ткань головного мозга	
Ацетонитрил	$588 \pm 91,2$	9713 ± 1594	$16,72 \pm 3,11$
L-серин	$636 \pm 55,2$	11410 ± 1299	$18,29 \pm 2,43$
AST-011	578 ± 103	12296 ± 610	$21,85 \pm 4,28$

[00185] Настоящее изобретение разработано при поддержке национального научно-исследовательского проекта

[00186] Номер гранта: S2611222

[00187] Наименование министерства: Ministry of Small and Medium Business

[00188] Профессиональная организация, руководящая исследованием: Korea Technology and Information Promotion Agency for Small & Medium Enterprises

[00189] Название проекта исследования: Start-up Growth-Technology Development Project

[00190] Название исследования: Development of functional food for improving autism spectrum disorder

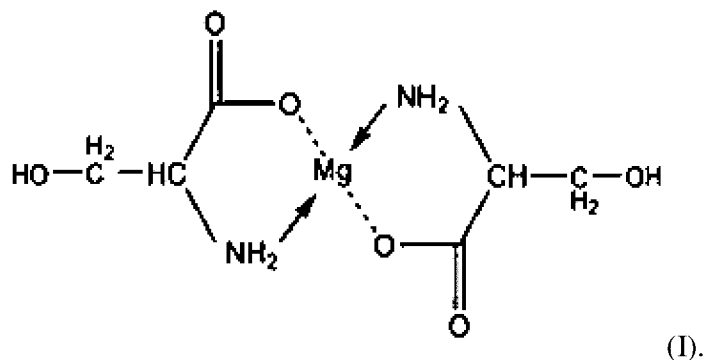
[00191] Соотношение вклада: 1/1

[00192] Руководящий орган: Astrogen Co., Ltd.

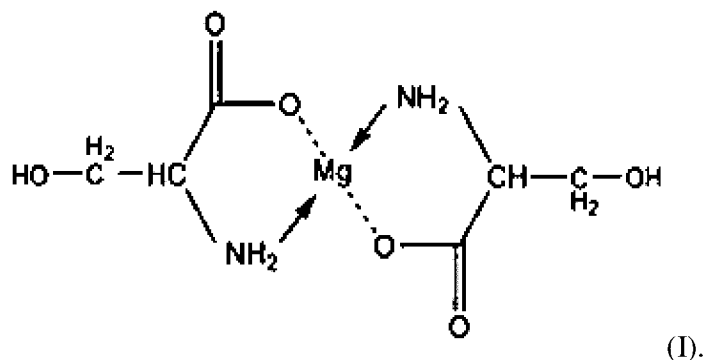
[00193] Период исследования: 29 июня 2018 – 28 июня 2019

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, гидрат или изомер:

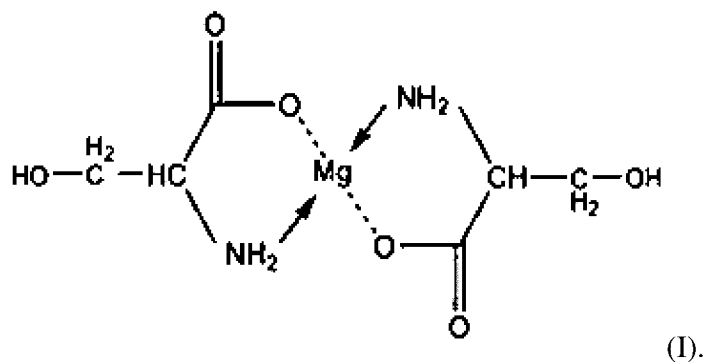


2. Способ получения соединения следующей формулы (I) посредством реакции MgO с L-серином:



3. Способ по п. 2, где реакцию проводят при температуре от 70 до 80°C.

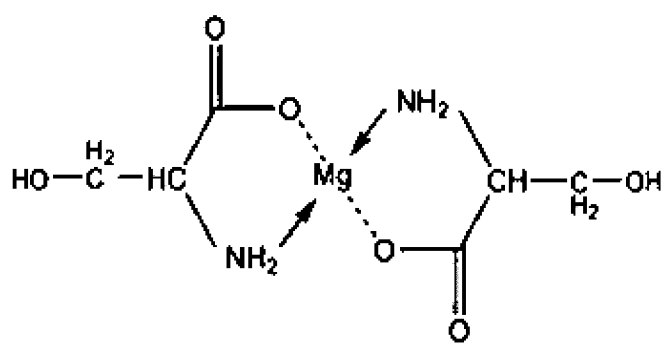
4. Способ получения соединения следующей формулы (I) посредством реакции MgH₂ с L-серином:



5. Способ по п.4, где реакцию проводят при комнатной температуре.

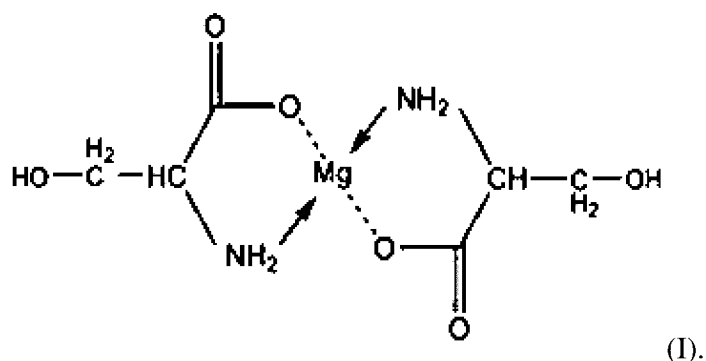
6. Способ по п. 4, где реакцию проводят при температуре от 70 до 80°C.

7. Фармацевтическая композиция для профилактики или лечения заболеваний центральной нервной системы, где фармацевтическая композиция содержит соединение следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента:



8. Фармацевтическая композиция по п. 7, где заболевания центральной нервной системы выбраны из группы, состоящей из когнитивного расстройства, умственной отсталости, микроцефалии, эпилепсии, нарушения нервно-психического развития, деменции, расстройств аутистического спектра, синдрома Дауна, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и бокового амиотрофического склероза.

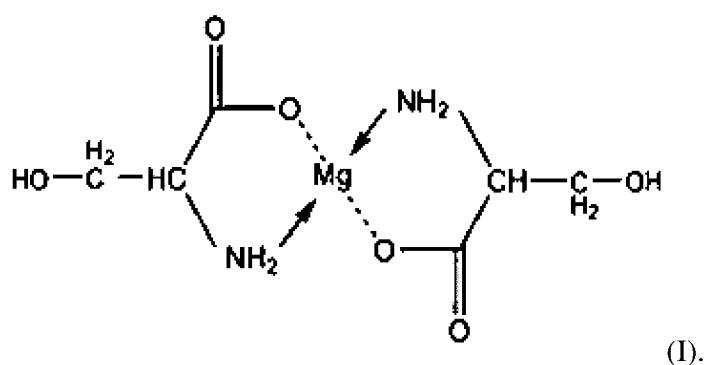
9. Функциональный продукт лечебного питания для профилактики или облегчения заболеваний центральной нервной системы, где функциональный продукт лечебного питания содержит соединение следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента:



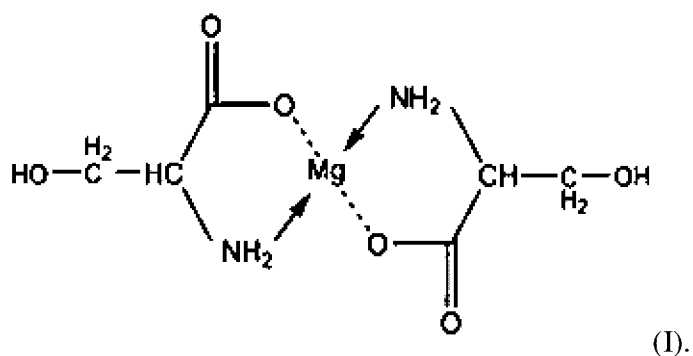
10. Функциональный продукт лечебного питания по п. 9, где заболевания центральной нервной системы выбраны из группы, состоящей из когнитивного расстройства, умственной отсталости, микроцефалии, эпилепсии, нарушения нервно-психического развития,

деменции, расстройств аутистического спектра, синдрома Дауна, синдрома Ретта, синдрома ломкой X-хромосомы, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни Гентингтона и бокового амиотрофического склероза.

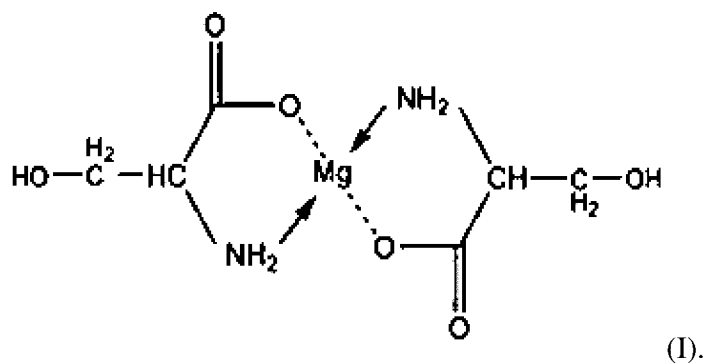
11. Композиция кормовой добавки, содержащая соединение следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента:



12. Композиция реагента для ингибирования смерти нервных клеток, где композиция реагента содержит соединение следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль:

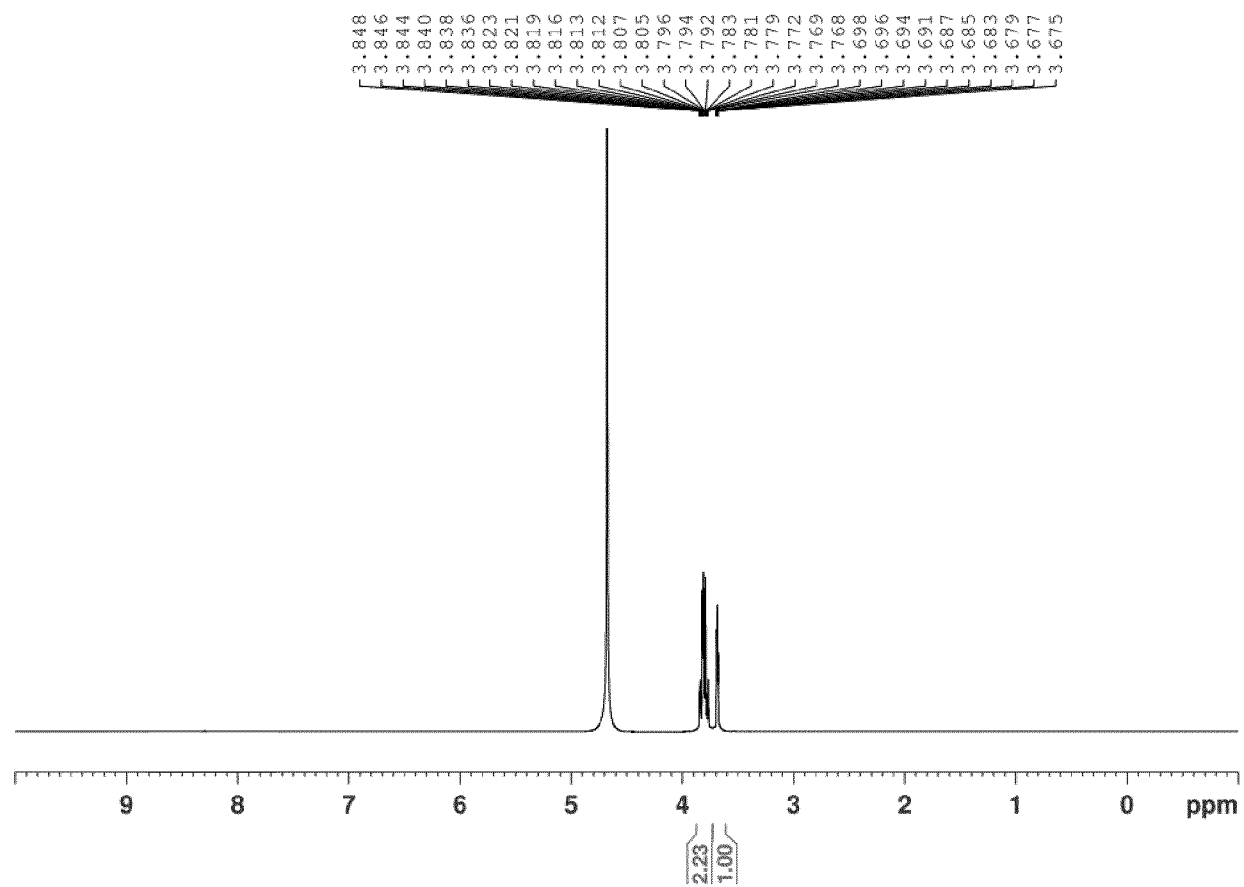


13. Способ ингибирования смерти нервных клеток, где способ предусматривает обработку нервных клеток соединением следующей формулы (I) или его фармацевтически приемлемой солью *in vitro*:



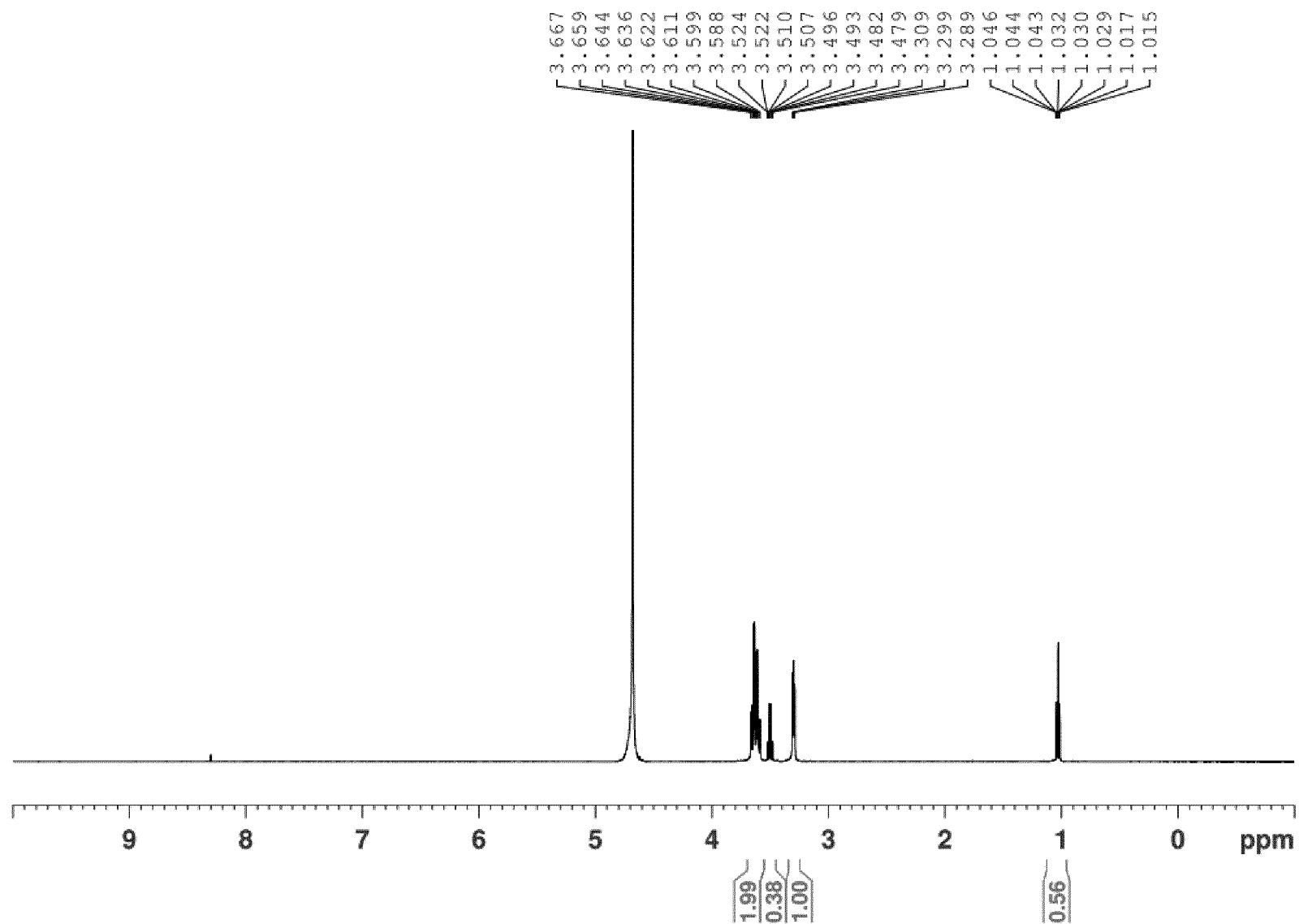
L-серин

ФИГ. 1



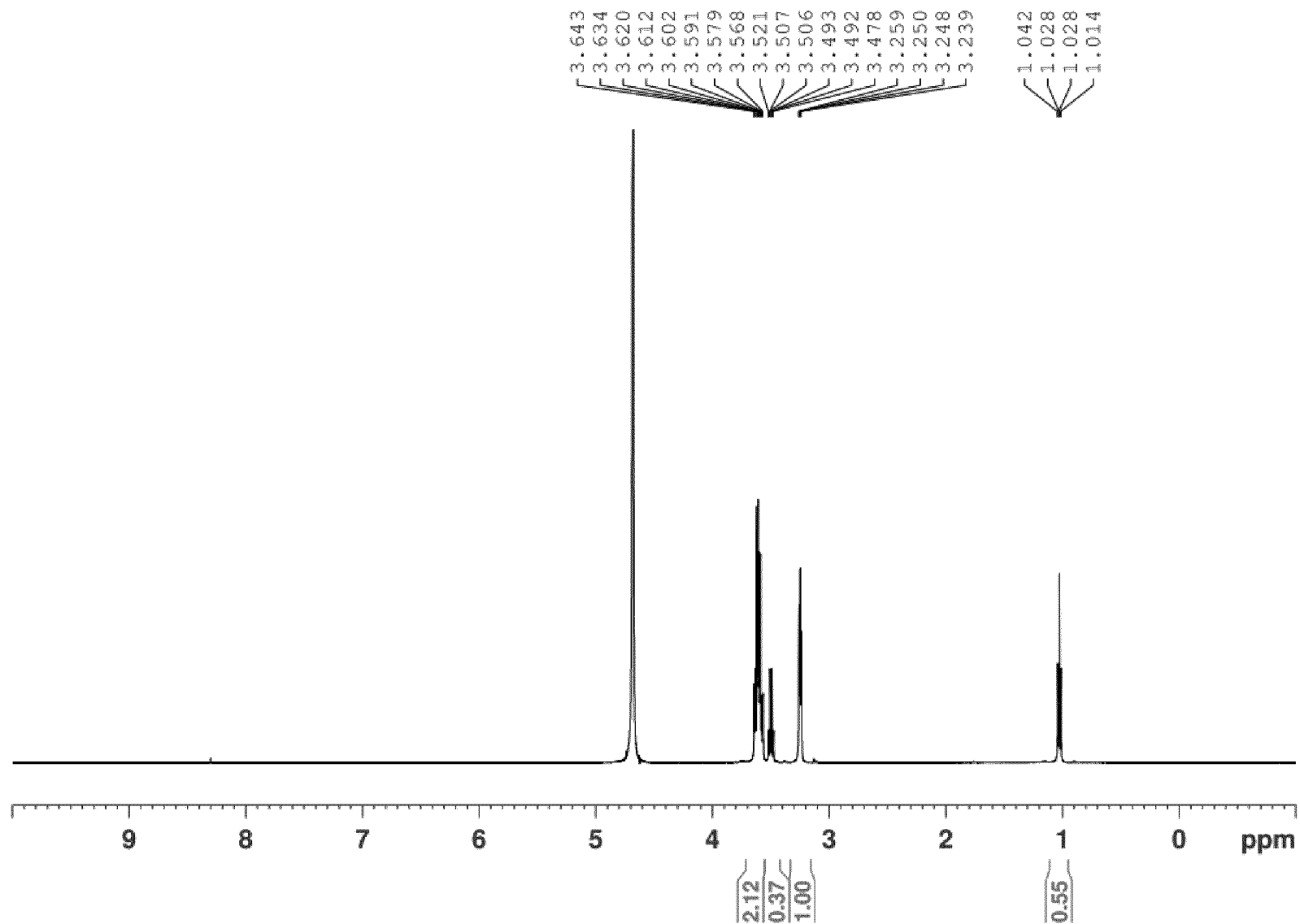
AST-011

ФИГ. 2



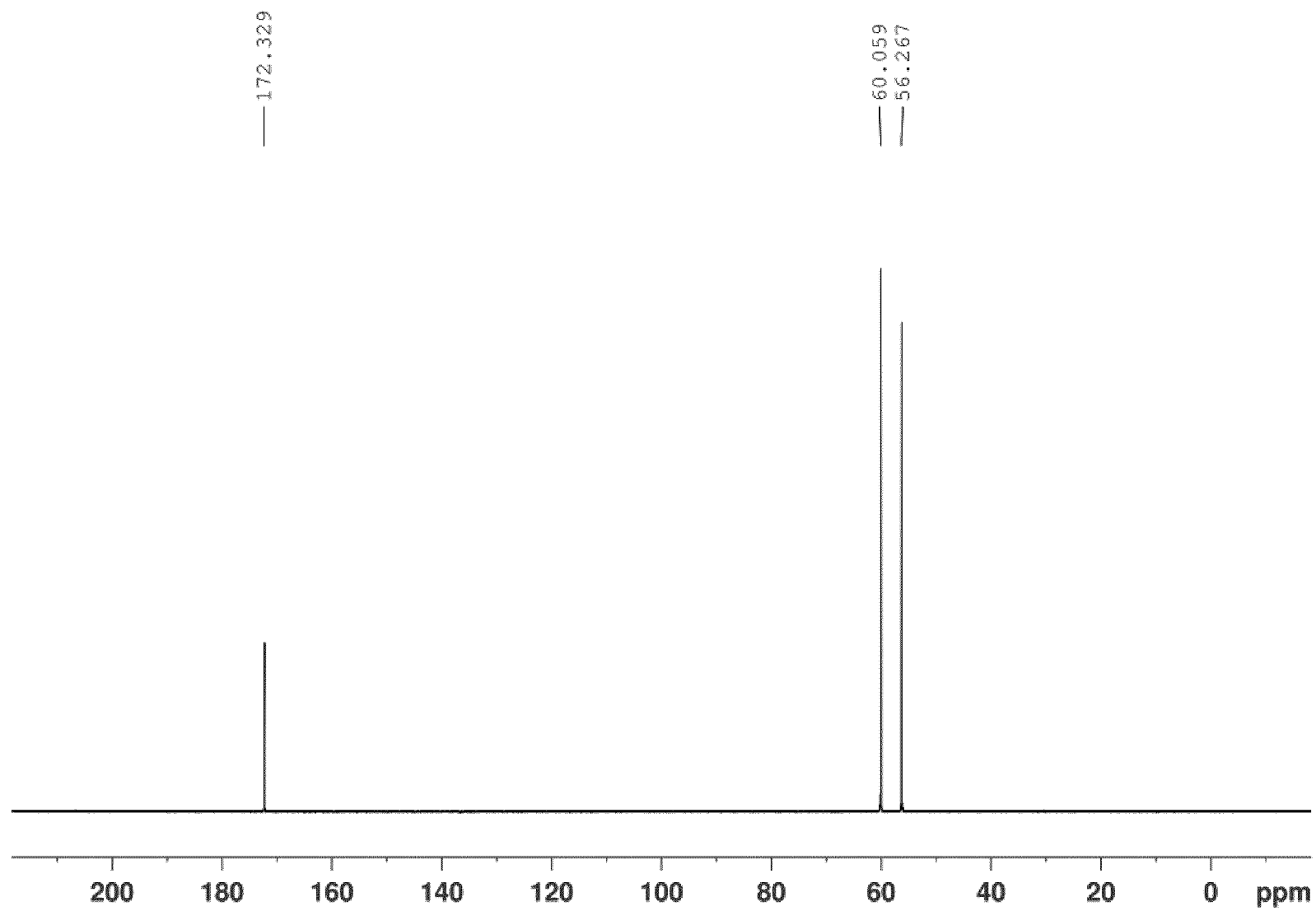
AST-014

ФИГ. 3



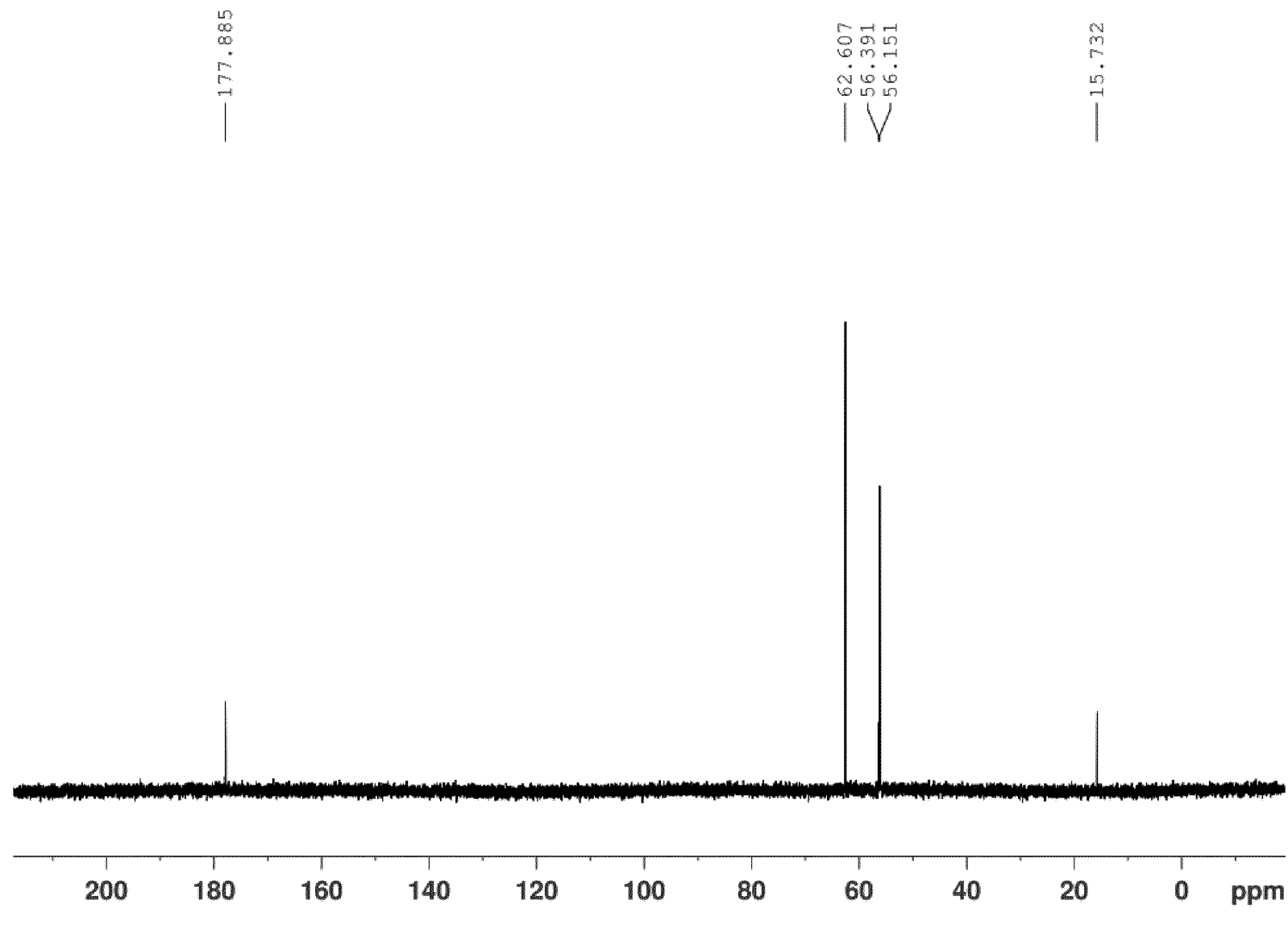
L-серин

ФИГ. 4



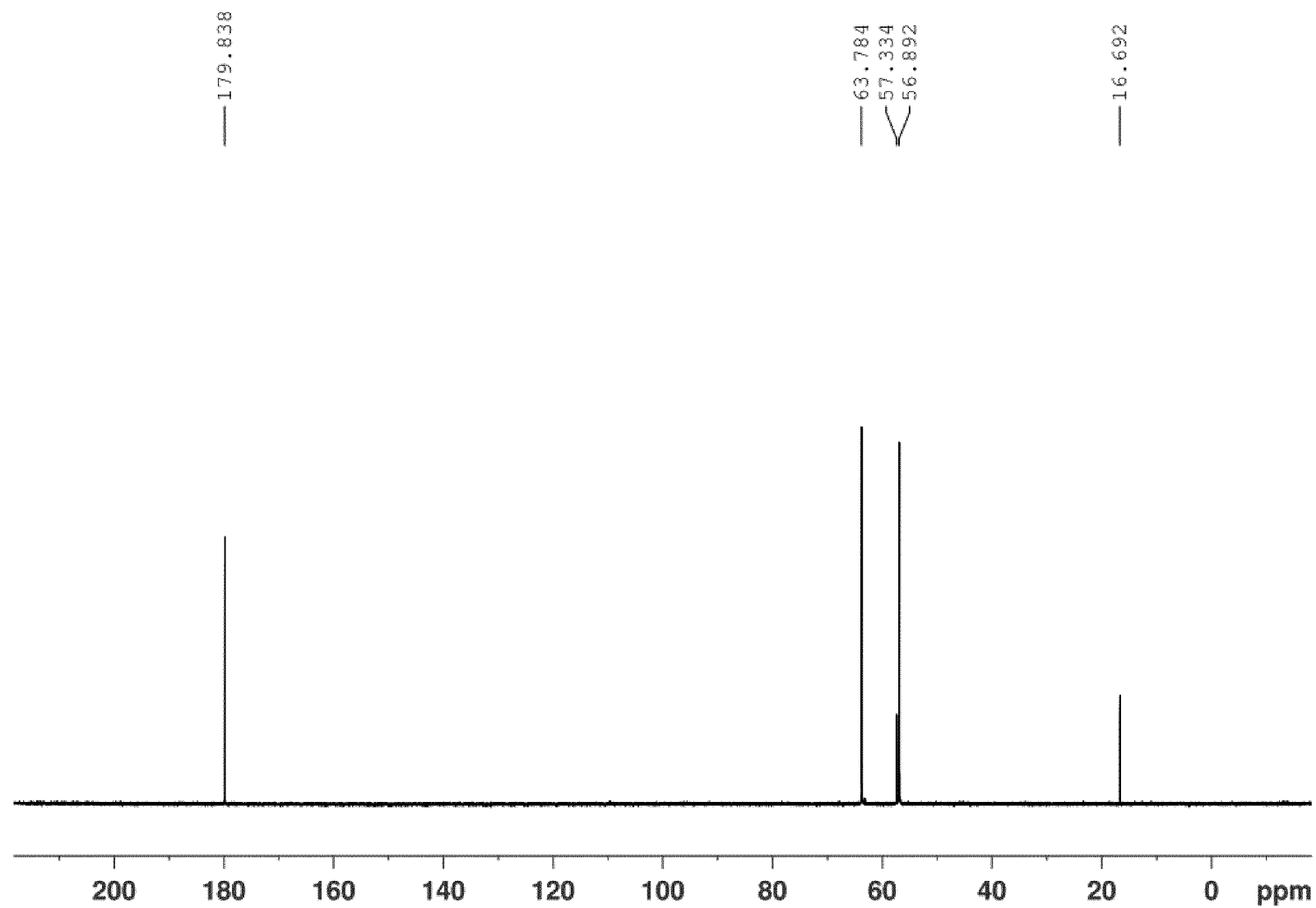
AST-011

ФИГ. 5

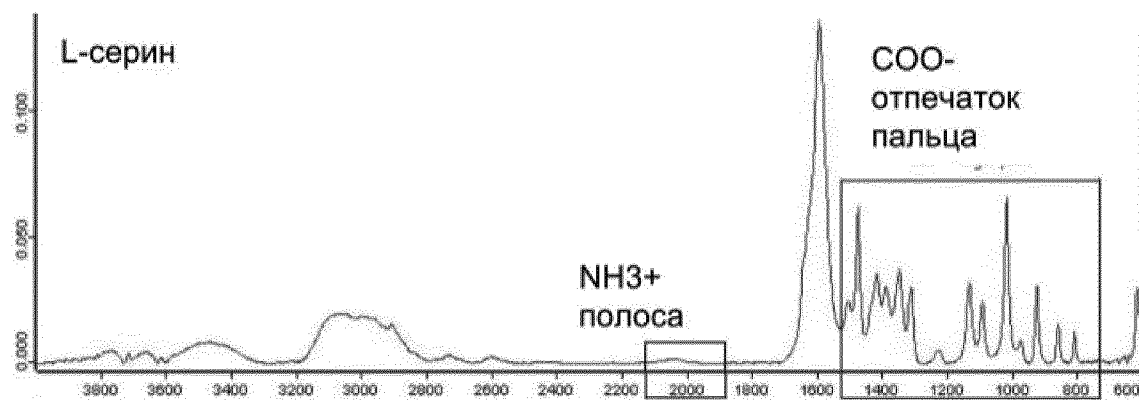


AST-014

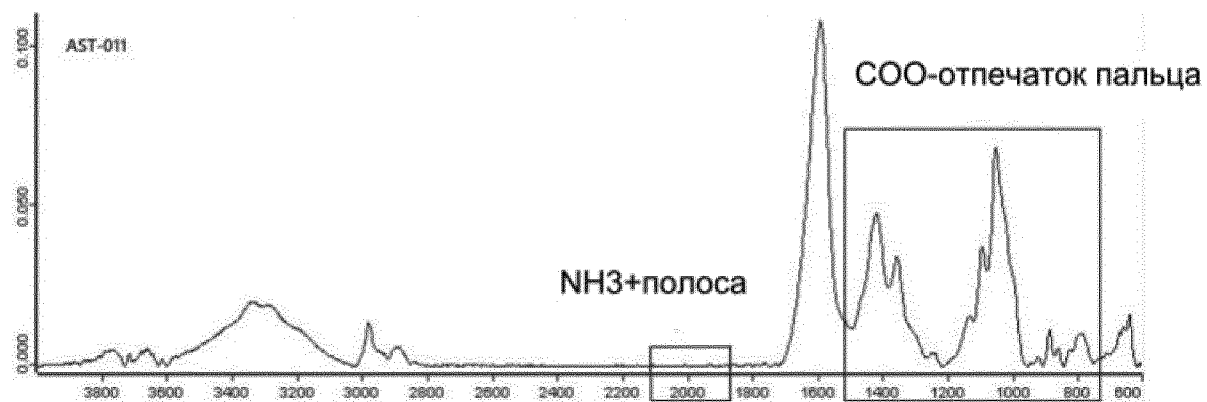
ФИГ. 6



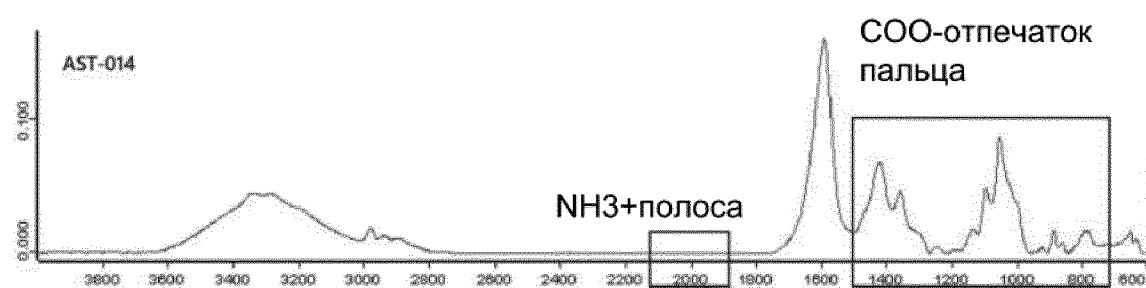
ФИГ. 7



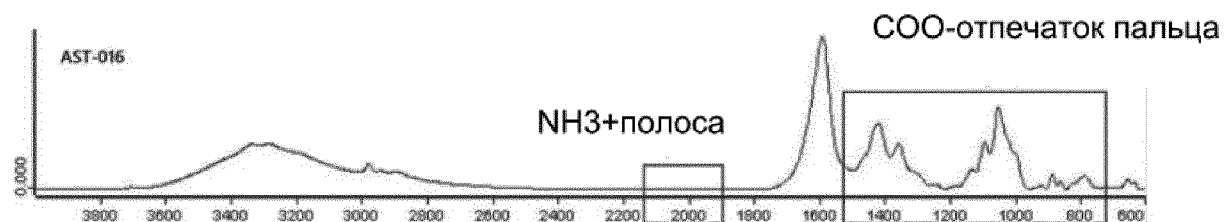
ФИГ. 8



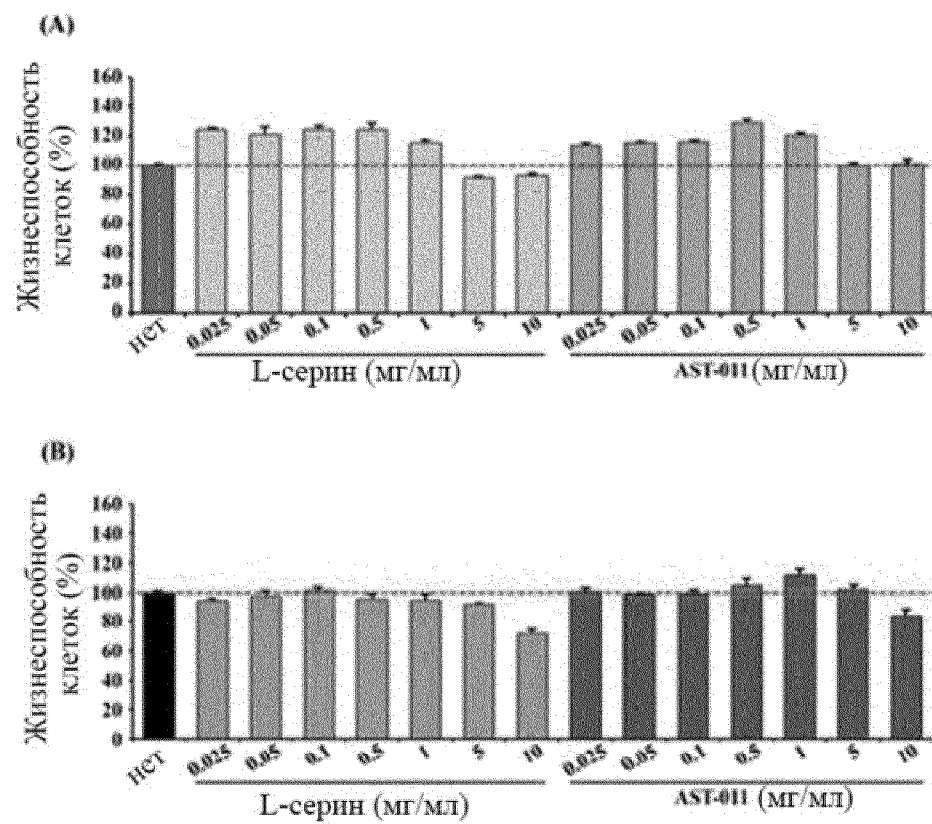
ФИГ. 9



ФИГ. 10

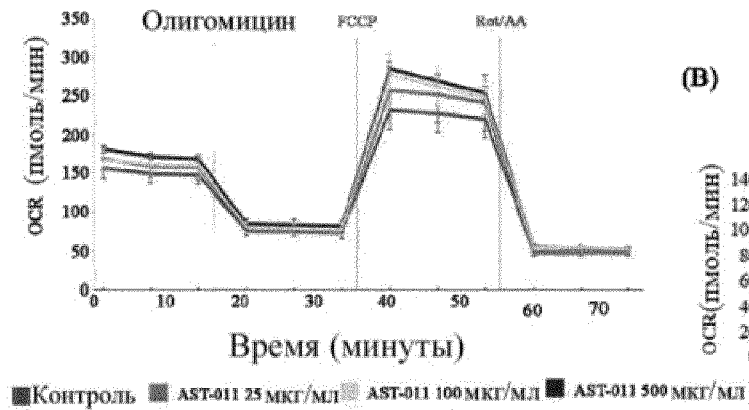


ФИГ. 11

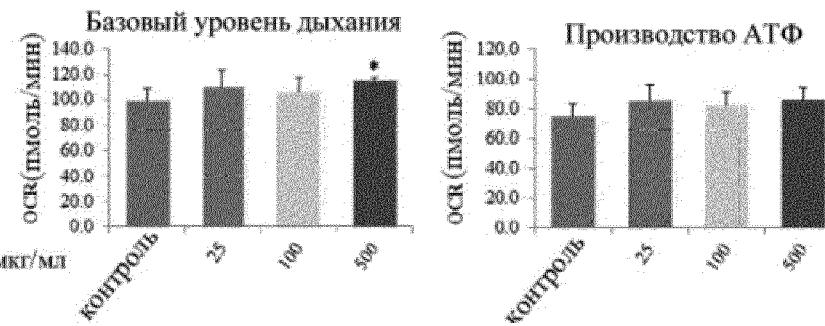


ФИГ. 12

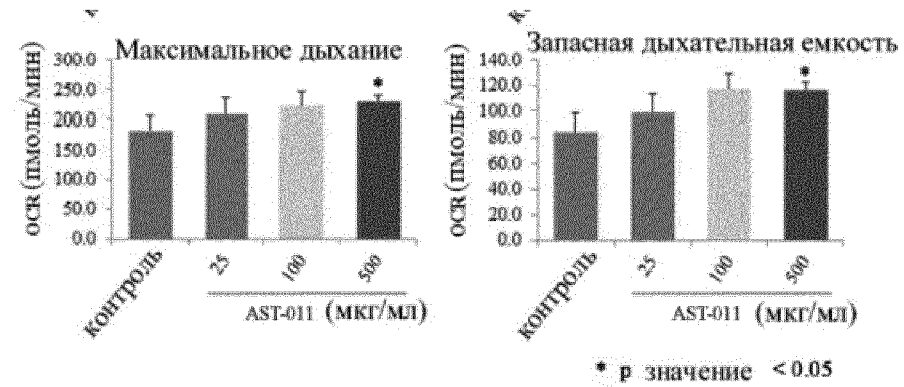
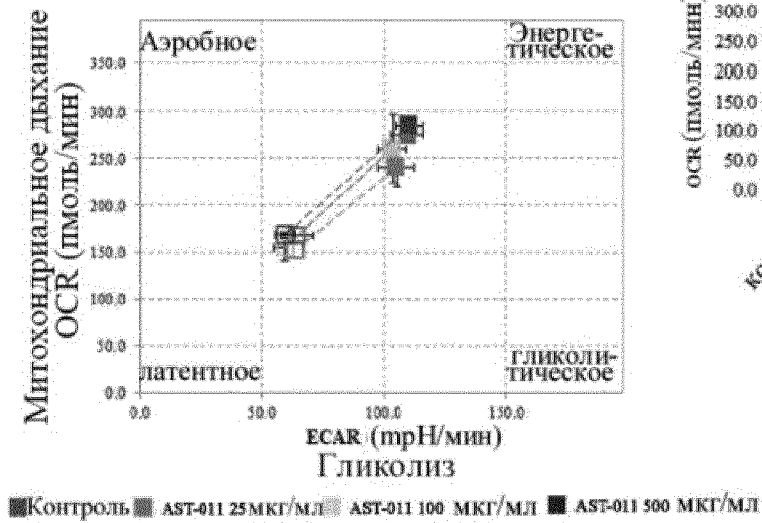
(А)



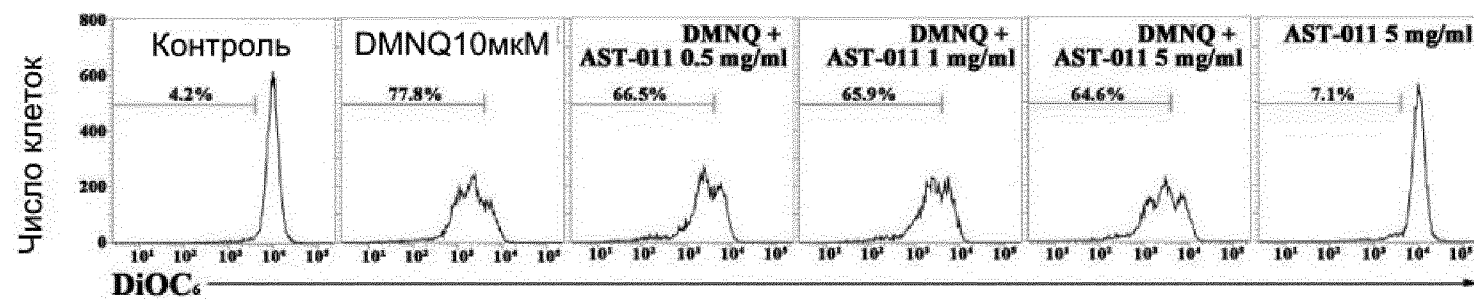
(В)



(C)



ФИГ. 13



ФИГ.14

