



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 96476

(13) U

(51) МПК

A61K 31/41 (2006.01)

A61P 19/08 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

(21) Номер заявки: **u 2014 08681**

(22) Дата подання заявки: **31.07.2014**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.02.2015**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.02.2015, Бюл.№ 3**

(72) Винахідник(и):

**Малова Наталія Георгіївна (UA),  
Яременко Федір Георгійович (UA),  
Сергієнко Лоріана Юріївна (UA),  
Комарова Ірина Володимирівна (UA),  
Вакула Володимир Миколайович (UA),  
Сиротенко Лариса Анатоліївна (UA),  
Бречка Наталія Михайлівна (UA),  
Курилко Юлія Сергіївна (UA),  
Стебліна Ольга Валеріївна (UA),  
Спиридонов Андрій Володимирович  
(UA),  
Мунтяну Яна Олегівна (UA),  
Бондаренко Тетяна Вікторівна (UA),  
Черевко Ганна Миколаївна (UA),  
Толмачова Любов Миколаївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ  
ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ.  
В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ  
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",  
вул. Артема, 10, м. Харків, 61002 (UA)**

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ 7-(3-ГІДРОКСИФЕНІЛ)-6-КАРБЕТОКСИ-5-МЕТИЛ-4,7-ДИГІДРО[1,2,4]ТРИАЗОЛО-  
[1,5-a]ПІРИМІДИНУ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ СТРУКТУРИ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ  
ГІПОТИРЕОЇДНИХ СТАНАХ**

**(57) Реферат:**

Застосування 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідину для корекції порушень структури кісткової тканини при гіпотиреоїдних станах. Вводять у дозі 10 мг/кг перорально у 2 % крохмальному розчині протягом 10 діб.

UA 96476 U



Корисна модель належить до експериментальної медицини і може бути використана при розробці засобів для відновлення структури кісток при патології щитовидної залози.

Синдром гіпотиреозу є однією з найбільш розповсюджених ендокринних патологій. Загальна поширеність його сягає від 3 до 8 %, а з урахуванням субклінічних форм від 10 до 12 % світової популяції, при цьому останніми роками спостерігається неухильне зростання цієї патології у осіб молодого і середнього віку. За станом на 01.01.2013 р. в Україні зареєстровано більше 98 тис. хворих на гіпотиреоз [1-3].

Недостатність тиреоїдних гормонів спричиняє цілий ряд важких ускладнень, зокрема розладів статевих систем, ліпідного обміну, порушень процесів кісткового метаболізму та ін. Як гіпотиреоз, так і зазначені побічні розлади, все частіше зустрічаються серед населення репродуктивного та працездатного віку.

Патогенетичною основою клінічних проявів гіпотиреозу є порушення енергетичного обміну внаслідок нестачі тиреоїдних гормонів, що призводить до зменшення основного обміну. Особливо це проявляється в органах і тканинах, що інтенсивно оновлюються.

Одним з тяжких ускладнень первинного гіпотиреозу є остеопороз, це явище пов'язано з порушеннями утворення білкової матриці кістки внаслідок зниження білкового синтезу [4]. Показано, що при первинному гіпотиреозі також знижено виділення з сечею оксипроліну, що опосередковано вказує на дисбаланс процесів ремоделювання кісток [5].

При цьому в клінічних дослідженнях показано, що гормональна замісна терапія гіпотиреозу суттєво не змінює масу кісткової тканини. Більш того, при тривалій замісній терапії гіпотиреозу може розвинути негативний баланс кальцію в організмі [6].

Тому, при пошуку нових засобів корекції тиреоїдної патології слід враховувати можливість відновлення не тільки тиреоїдної функції, а й супутньо виникаючих патологічних станів, зокрема в кістковій системі.

В основу корисної моделі поставлена задача пошук засобів, які разом із тиреоїдстимулюючою дією мають корегуючий вплив на кістковий метаболізм.

Поставлена задача вирішується тим, що порушення структури кісткової тканини при гіпотиреоїдних станах корегують за допомогою сполуки 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро [1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідин, яку вводять у дозі 10 мг/кг перорально у 2 % крохмальному розчині протягом 10 діб.

Технічний результат - розширення спектра дії оригінальної сполуки 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро [1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідин, за рахунок виявлення її позитивного впливу на перебіг остеопатій, що виникають на тлі гіпотиреозу.

В ДУ "ІПЕП НАМН" було синтезовано нову сполуку 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро [1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідин (ЯВ-99). Проведені дослідження біологічної активності ЯВ-99 показали, що пероральне терапевтичне застосування вказаної сполуки у тварин з мерказоліліндукованим гіпотиреозом призводить до підвищення рівня тиреоїдних гормонів, активації репаративних процесів та стимуляції тиреоїдогенезу при відсутності зобогених властивостей. Отримані результати обґрунтували перспективність застосування сполуки ЯВ-99 для фармакологічної корекції гіпотиреоїдних станів [7].

Було проведено вивчення особливостей впливу оригінальної сполуки ЯВ-99 на опорно-руховий апарат щурів. Дослідження проводилося на 105 статевозрілих щурах обох статей з масою тіла (м.т.) 200-250 г. Гіпотиреоз викликали шляхом індукції мерказолілом [8]. Піддослідні щури з гіпотиреозом отримували сполуку ЯВ-99 перорально в дозі 10 мг/кг маси тіла протягом 10 діб. В якості референтного препарату використовували препарат Левотироксин (Берлін-Хемі) в дозі 10 мкг/кг м.т.

Стан кісткового метаболізму визначали за допомогою морфологічних досліджень, які дають достатню інформацію для висновків щодо репаративних процесів у кістковій системі [9].

Щури були розподілені на 4 групи, що знаходилися в однакових умовах, та отримували той самий харчовий раціон.

Група 1 - еутиреоїдний контроль - інтактні тварини.

Група 2 - мерказоліловий контроль (модельований гіпотиреоз, 2 міс. індукції). Щури отримували мерказоліл перорально в дозі 10 мкг/кг протягом двох місяців, після чого препарат відміняли.

Група 3 - на фоні відміни мерказолілу проводили пероральне введення препарату левотироксин в дозі 10 мкг/кг м.т., щодобово протягом 10 діб.

Група 4 - дослідження дії хімічної сполуки ЯВ-99 на функціональну активність ЩЗ щурів з гіпотиреозом. Щурам на фоні змодельованого гіпотиреозу, після відміни мерказолілу, протягом 10 діб у 2 % крохмальному розчині за допомогою зонда перорально вводилася сполука ЯВ-99 у дозі 10 мг/кг.

Виведення тварин з експерименту проводили через 30 діб після закінчення введення біологічно активної сполуки.

Для гістологічного дослідження виділяли фрагменти поперекових хребців та фрагменти стегнових, мало- та великогомілкових кісток з колінним суглобом, фіксували у розчині нейтрального формаліну з масовою часткою 10 %. Фрагменти, які містили кісткову тканину, декальцинували в розчині азотної кислоти з масовою часткою 4 % при температурі 18-22 °С, зневоднювали в розчинах етилового спирту висхідної концентрації (від 60° до 96°) та в суміші етилового спирту з діетиловим ефіром (1:1), заливали у целоїдин і ущільнювали в густому целоїдині параами хлороформу. Для проводки матеріалу використовували термостат ТС-80, витягну шафу.

У процесі гістологічного дослідження кісткової тканини метафізів стегнової кістки щурів інтактною групи виявили розвинуту сітку кісткових трабекул з рівною поверхнею, на якій розташовувалися остеобласти в стані спокою. Матрикс був рівномірно забарвлений. Остеоцити в трабекулах характеризувалися високою щільністю та рівномірним розташуванням. Кортекс містив високу щільність остеоцитів, розширені судинні канали. Ендост та періост були неактивними (фіг. 1). У широкому епіфізарному хрящі чітко простежували зональність. Він щільно контактував з епіфізом кістки. Хондроцити розташовувалися в колонках упорядковано та паралельно один до одного. Міжтрабекулярні простори метафізів були заповнені червоним кістковим мозком.

Мікроскопічний аналіз кісткової тканини щурів, у яких протягом 2 міс. моделювали гіпотиреоз, виявив ознаки вираженого ендокринного остеопорозу. У метафізах стегнової кістки самиць щурів, які отримували мерказоліл, кісткові трабекули були поодинокі та розташовувалися переважно поблизу кортексу. У матриксі відмічали мікротріщини та щілини, ділянки з пустими лакунами остеоцитів. Остеобласти на поверхні трабекул були неактивними. На відстані від зони росту траплялися кісткові трабекули, які містили ділянки некрозу кісткової тканини та осередки хрящової тканини. В цих місцях спостерігали не лише ділянки слабо базофільного хрящового матриксу, але й хондроцити, що може свідчити про порушення процесів кісткоутворення та мінералізації (фіг. 2). У кортексі спостерігали судинні канали з базофільними краями заповнені ретикулофіброзною тканиною. Виявляли мікротріщини. Епіфізарний хрящ на окремих ділянках був різної товщини, матрикс нерівномірно забарвлений. Ділянки з підвищеною щільністю клітин перемежались з територіями без хондроцитів. Міжтрабекулярні простори заповнені червоним кістковим мозком з високою щільністю адипоцитів.

Під час мікроскопічного дослідження метафізів самців щурів, які отримували L-тироксин, виявлено вертикалізацію та потоншення кісткових трабекул. Вони містили осередки немінералізованого матриксу, безклітинні ділянки, мікротріщини (фіг. 3). На поверхні деяких трабекул, на відміну від інших піддослідних груп тварин, відмічали активні остеобласти. У кортексі виявляли розширені судинні канали, безклітинні ділянки, осередки немінералізованого матриксу. В епіфізарному хрящі нерівномірної товщини спостерігали території без клітин та нерівномірне забарвлення матриксу. Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком з високою щільністю адипоцитів.

У щурів, які отримували ЯВ-99, на ендостальній поверхні деструктивно зміненого кортексу відзначали яскраво забарвлені активні остеобласти, а подекуди - вузьку смужку остеоїду (фіг. 4), що свідчить про активацію процесів кісткоутворення. Відмічено виразний позитивний вплив на кісткову тканину в складі хребців щурів: мікроструктура хребців у цих тварин повністю повернулася до вихідної норми, стимуляція ростових процесів в періості призвела до новоутворення хрящових та сполучно-тканинних напластувань (фіг. 5).

Дослідження гістоструктури поперекових хребців показало, що у інтактних щурів тіло хребців сформовано пластинчастою кісткою, трабекули якої, переплітаються під різними кутами, формуючи губчасту кісткову масу (фіг. 6). Ці трабекули мають виразну товщину, рівну поверхню, на якій у вигляді ланцюжків розташовані дрібні клітини - остеобласти в стані спокою. Кісткова тканина балочок щільна; в них тільки подекуди спостерігаються невеликі отвори/лакуни; серед остеоїду знаходиться велика кількість остеоцитів. Зовсім іншу гістологічну структуру мають хребці в тварин з експериментальним гіпотиреозом після введення левотироксину: кількість трабекул в губчастій кістці різко знижується; трабекули різної товщини, часто їх поверхня нерівна, а кінці виглядають зламаними; площа вільного простору між ними значно більша, ніж у контрольних тварин; клітинний склад збіднений (фіг. 7).

Таким чином, сполука 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло-[1,5-a]піримідин майже повністю забезпечила репарацію кісткової тканини, втрачену внаслідок гіпотиреозу, не тільки в окремих ділянках довгих трубчастих кісток, а й у поперекових хребцях,

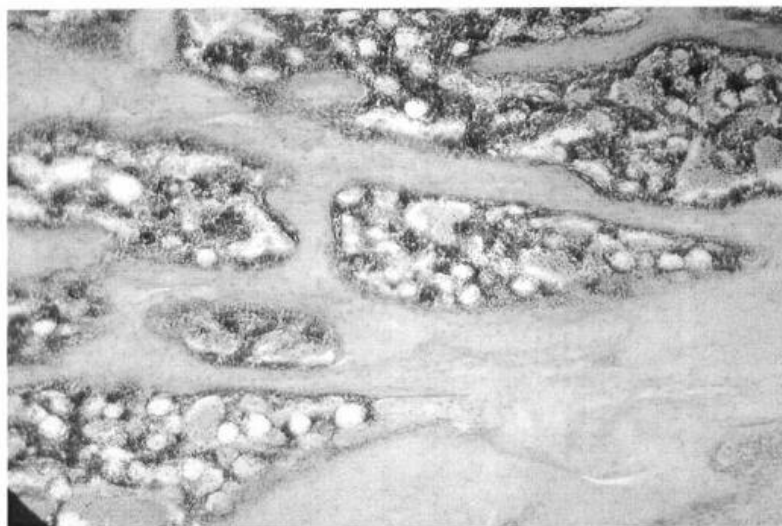
що дозволяє розглядати її як потенційний остеопротектор та лікувальний засіб при остеопатіях різного генезу.

Джерело інформації:

1. Паньків, В.І. Поширеність патології щитоподібної залози в йододефіцитних районах Західної України [Текст] / В.І. Паньків // Ендокринологія. - 2006. - Т. 11. – С. 134-137.
2. Олійник, В.А. Патологія щитовидної залози в Україні (епідеміологія та регіональні особливості) [Текст] / В.А. Олійник // Журн. практ. лікаря. - 2001. - № 2. – С. 5-7.
3. Кравчун, Н.А. Гипотиреоз: эпидемиология, диагностика, опыт лечения [Текст] / Н.А. Кравчун, И.В. Чернявская // Пробл. эндокрин. патологии. - 2011. - № 3. - С. 27-33.
4. Perte osseux transitoire an cours du traitement substitutif de le hypotiroidism. Resultants d'une etude prospective de deux ans [Text] / F. Tremollieres, M. Pouilles, J. P. Larvet, C. Ribot // Rev. Rhum. Mai. Osteoartic. - 1991. - Vol. 58. - P. 869-875.
5. Baran, D.T. Thyroid hormones and bone mass [Text] / D.T. Baran, L.E. Braverman // J. Clin. Endocrinol. Metabol. - 1991. - Vol. 72. - P. 1182-1183.
6. Кальций-фосфорный обмен и костный метаболизм у больных с первичным гипотиреозом [Текст] / Е.И. Марова, Н.К. Ахкубекова, Л.Я. Рожинская [и др.] // Остеопороз и остеопатии. - 1999. - № 1. - С. 13-17.
7. Пат. 56977 UA, МПК (2011.01) C07D487/00, A61K31/41. 7-(3-Гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідин, що стимулює функціональну активність щитовидної залози [Текст] / В.М. Вакула, Ф.Г. Яременко, І.В. Комарова [та ін.] (UA); заявник і патентовласник ДУ "Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського АМН України" (UA). - № u201004397; заявл. 15.04.10; опубл. 10.02.11, Бюл. № 3. - 7 с.
8. Доклінічні дослідження лікарських засобів [Текст]: методичні рекомендації / за ред. О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.
9. Особенности изменений минеральной плотности костной ткани у белых крыс линии Вистар в зависимости от возраста и пола [Текст] /В.В. Поворознюк, И.В. Гопкалова, Н.В. Григорьева // Проблемы старения и долголетия. - 2011. - Т. 20 № 4. - С. 393-401.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Застосування 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідину для корекції порушень структури кісткової тканини при гіпотиреоїдних станах.
2. Застосування за п. 1, яке **відрізняється** тим, що 7-(3-гідроксифеніл)-6-карбетокси-5-метил-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло-[1,5-а]піримідин вводять у дозі 10 мг/кг перорально у 2 % крохмальному розчині протягом 10 діб.



Фиг. 1



Fig. 2

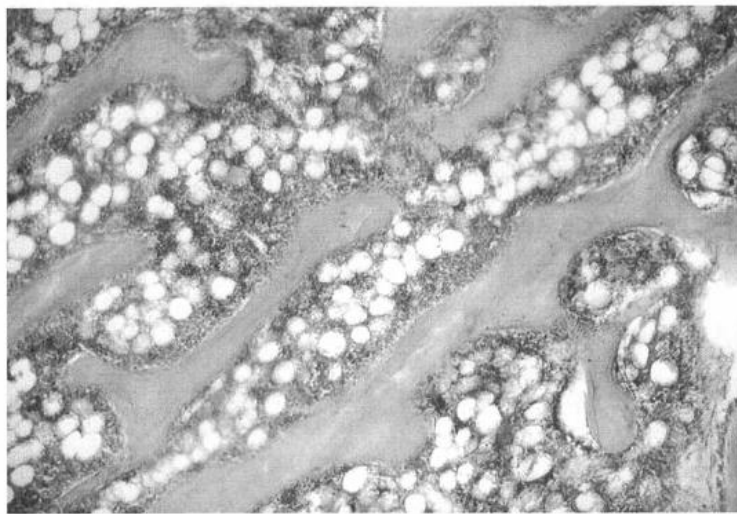


Fig. 3

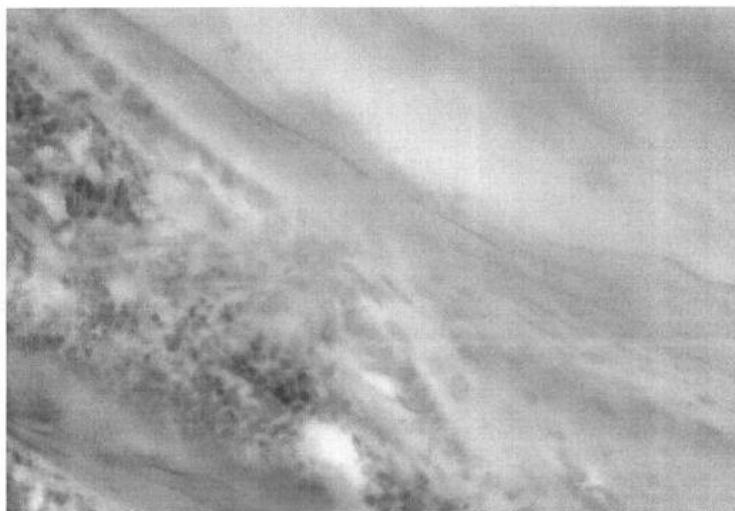
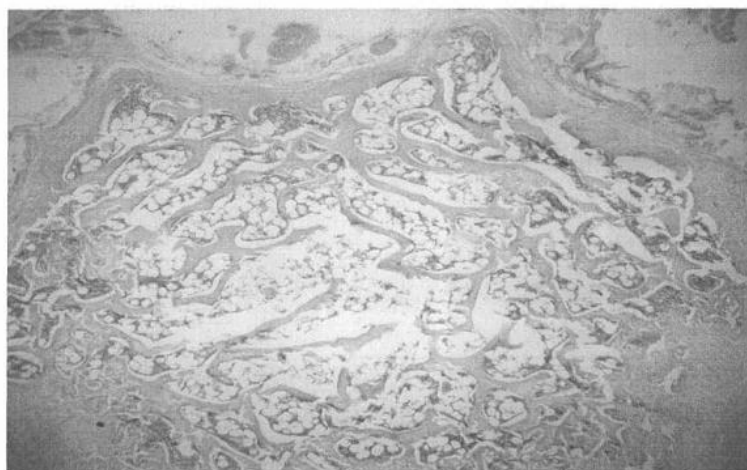
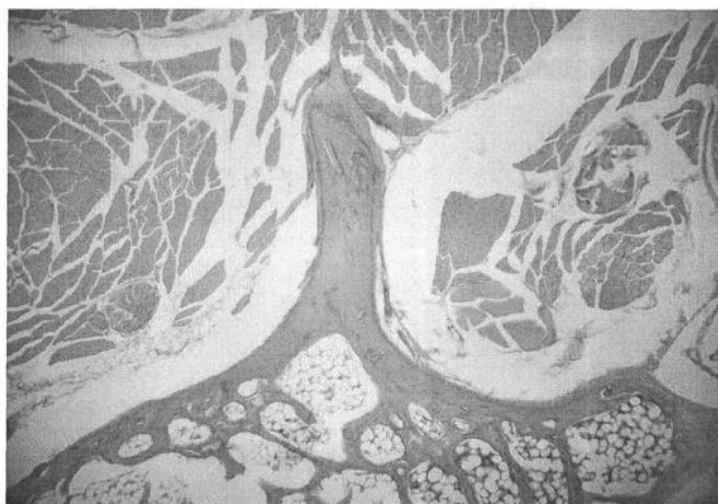


Fig. 4



Φir. 5



Φir. 6



Φir. 7

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601