



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116174** (13) **C2**

(51) МПК (2017.01)

C07D 249/00

A61K 31/00

C07D 473/08 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

A61P 31/06 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2016 10163**

(22) Дата подання
заявки: **06.10.2016**

(24) Дата, з якої є
чинними права
на винахід: **12.02.2018**

(41) Публікація
відомостей про
заявку: **10.03.2017, Бюл.№ 5**

(46) Публікація
відомостей про
видачу патенту: **12.02.2018, Бюл.№ 3**

(72) Винахідник(и):

**Гоцуля Андрій Сергійович (UA),
Зажарський Володимир Володимирович (UA),
Давиденко Павло Олександрович (UA),
Бібен Іван Андрійович (UA),
Парченко Володимир Володимирович (UA),
Книш Євгеній Григорович (UA),
Панасенко Олександр Іванович (UA),
Самура Тетяна Олександрівна (UA)**

(73) Власник(и):

**Гоцуля Андрій Сергійович,
вул. Товарищеська, 64, кв. 77, м. Запоріжжя, 69035 (UA),
Зажарський Володимир Володимирович,
пр. Героїв, 12, кв. 52, м. Дніпропетровськ, 49000 (UA),
Давиденко Павло Олександрович,
вул. Моніторна, 10, кв. 571, м. Дніпро, 49000 (UA),
Бібен Іван Андрійович,
вул. Мандриківська, 276, м. Дніпро, 49000 (UA),
Парченко Володимир Володимирович,
вул. Новоросійська, 177, м. Запоріжжя, 69060 (UA),
Книш Євгеній Григорович,
вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 152, м. Запоріжжя, 69121 (UA),
Панасенко Олександр Іванович,
вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 146, м. Запоріжжя, 69121 (UA),
Самура Тетяна Олександрівна,
вул. Стефанова, 44, кв. 169, м. Запоріжжя, 69068 (UA)**

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:

Машковский М.Д. Лекарственные средства.- X.: Торсинг, 2002.- Т.2.

Актопротективні властивості похідних 7'-((3-тіо-4-метил-4Н-1,2,4-тріазол-5-іл)метил)теофіліну/ А. С. Гоцуля// Запорізький медичний журнал. – 2016. – №3 (96).

Синтез і дослідження фізико-хімічних властивостей солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)-ацетатної кислоти/А. С. Гоцуля, О. О. Міколасюк, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш// Запорізький медичний журнал. – 2014. – 1 (82).

Протизапальна активність солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти/ А. С. Гоцуля, Є. С. Пругло, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш// Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014. - №3 (16).

Дослідження протимікробної та протигрибкової активності S-похідних 7'-((3-тіо-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)теофіліну/ А. С. Гоцуля, О. М. Камишний, Н. М. Поліщук, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш// Запорізький медичний журнал. – 2015. – №4 (91).

(54) **2-((5-((ТЕОФІЛІН-7'-ІЛ)МЕТИЛ)-4-МЕТИЛ-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛ)ТІО)-N'-(2-НІТРОБЕНЗИЛІДЕН)АЦЕТОГІДРАЗІД, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ**

UA 116174 C2

(57) Реферат:

1. Об'єкт корисної моделі: 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразид, що проявляє протитуберкульозну активність. 2. Галузь застосування: Фармацевтична хімія і ветеринарна медицина. 3. Суть корисної моделі: 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітро-бензиліден)ацетогідразид містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу метильний замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу метиленовий радикал, поєднаний з теофіліном, двовалентний атом Сульфуру, синтон 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду. 4. Технічний результат: забезпечується доступність реактивів для синтезу, нескладна методика отримання, низька гостра токсичність, а також здатність проявляти більш високу протитуберкульозну активність.

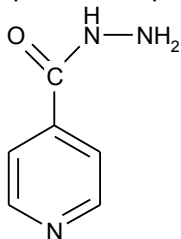
Винахід належить до ветеринарної мікробіології та може бути використаний для підвищення ефективності бактеріологічної діагностики туберкульозу тварин, селекції вакцинних штамів для конструювання препаратів специфічної профілактики хвороби.

5 Поширення туберкульозу в Україні за останні роки набуває характеру епідемії. Зниження рівня життя населення робить проблему протидії цій хворобі довготривалою та поширеною.

Україна посідає друге місце в Європі за темпами зростання мультирезистентного туберкульозу та четверте місце в світі за його поширеністю у вперше виявлених хворих (Європейський регіональний комітет ВООЗ, 2011). Загальновідомо, що всі існуючі бактерії та віруси протистоять дії лікарських препаратів. Теорія адаптації припускає зміни властивостей мікроорганізму, що адекватні змінам навколишнього середовища. Відповідно до цієї теорії, розвиток лікарської стійкості МБТ вважають проявом однієї з форм мінливості бактеріальної клітини під впливом хіміопрепаратів. Тобто виникнення стійкості МБТ до протитуберкульозних препаратів зумовлено самим лікуванням, оскільки співвідношення популяцій чутливих і стійких форм МБТ становить 90 % та 10 % відповідно, але в процесі лікування, у разі підбору 10 неправильної схеми хіміотерапії значна кількість чутливих МБТ гине, внаслідок чого порушується співвідношення в мікробній популяції і кількість стійких МБТ перевищує таку чутливих (Л.Д. Тодоріко, 2011).

Питання біологічних властивостей мікобактерій, зокрема бичачого виду, дотепер потребують вивчення, оскільки з'являються все нові й нові повідомлення авторів про особливості деяких з них. Так, в 2004 році повідомлено про *M. bovis* швидкорослого штаму, а в наступному - про втрату здатності швидко розмножуватися за пасажів через штучне живильне середовище. Також відмічено, що цей, згаданий вище штам *M. bovis*, на такому середовищі конверсує в некіслотостійкі паличкоподібні та ниткоподібні форми з паралельною зміною характеру росту культури: наліт, димка (О. Ткаченко та співавт., 2004; 2009).

25 Прототипом речовини, що заявляється, є препарат "Ізоніазид", формули:



що використовується як протитуберкульозний засіб (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Х.: Торсинг, 2002. - Т. 2. - 608 с. (С. 306-307)).

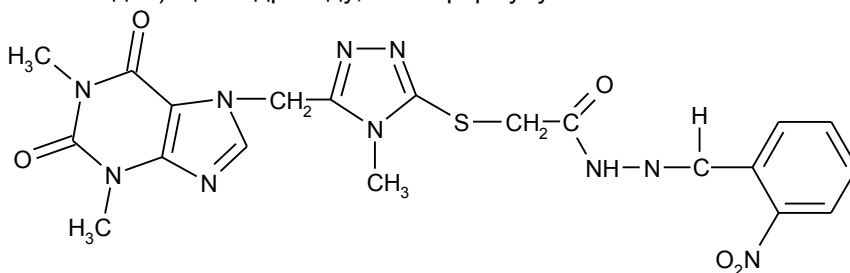
30 Суттєві ознаки прототипу і винаходу, що збігаються, є такі:
- в структурі прототипу і винаходу присутні групи C-N, C=N.

Винахід у порівнянні з прототипом дещо активніше проявляє протитуберкульозну активність відносно *Mycobacterium bovis*.

35 Задачею винаходу є дослідження впливу концентрації 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітро-бензиліден)ацетогідрозиду і рН середовища на культивування патогенних штамів *M. bovis* за температури 37 °С.

Поставлена задача вирішується проведенням культивування патогенних штамів *M. bovis* за температури 37 °С на середовищі із рН 6,5 та 7,1, що додатково містить 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозид у масових концентраціях 0,1; 0,5; 1 %.

40 2-((5-((Теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозид містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-тріазолу метильний замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-тріазолу метиленовий радикал, поєднаний з теофіліном, двовалентний атом Сульфуру, синтон 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду, і має формулу:



45

Сполуку, що заявляється, отримують шляхом взаємодії (2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетогідрозиду з 2-нітробенз-альдегідом у середовищі пропан-1-олу.

Приклад 1

У круглодонну колбу, обладнану змішувачем, холодильником та термометром, завантажують 379 г (1 моль) (2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-етил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетогідрозиду, 1500 мл пропан-1-олу та 151 г (1 моль) 2-нітробензальдегіду. Суміш нагрівають до 70 °С протягом 2 годин. Розчинник відганяють. Продукт реакції промивають водою та гексаном. Сушать. Вихід 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду 79 % в розрахунку на (2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетогідрозид.

Жовта кристалічна речовина з температурою плавлення 178-180 °С (кристалізовано з етанолу), розчинна у ДМФА та 1,4-діоксані, малорозчинна в діетиловому ефірі та хлороформі, практично нерозчинна у воді.

Елементний аналіз. Знайдено, %: С 46,97, Н 3,94, N 24,27, S 6,28. Вираховано, %: С 46,87, Н 3,93, N 27,33, S 6,26.

В ІЧ-спектрі 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду присутні характеристичні смуги поглинання валентних коливань NH-групи середньої інтенсивності при 3410 см⁻¹, карбонілу NHC=O-групи при 1690 см⁻¹ та при 1655 см⁻¹, C=N-зв'язку у циклі при 1640-1605 см⁻¹.

В ¹H ЯМР-спектрі сигнали метильних груп проявляються у вигляді синглетів при 3,60-4,33 м.ч., сигнали метиленових груп - у вигляді синглетів при 3,95 та при 5,62 м.ч. Протони фенільного фрагмента 2-нітробензиліденового синтону спостерігаються у вигляді двох дублетів при 7,58 та 7,68 м.ч. і двох триплетів при 7,23 м.ч. та 7,49 м.ч. Сигнал NH проявляється при 8,10 м.ч. у вигляді синглету. Синглет при 8,35 м.ч. належить протонам азометинової групи.

Спектр ЯМР ¹H, д, м.ч.: 3,60 (3H, с, N¹CH₃), 3,95 (3H, с, N³CH₃), 4,33 (3H, с, N⁴CH₃), 3,95 (2H, с, CH₂), 5,62 (2H, с, CH₂), 7,23 (2H, т, C₆H₄), 7,49 (2H, т, C₆H₄), 7,58 (2H, д, C₆H₄), 7,68 (2H, д, C₆H₄), 8,10 (1H, с, NH), 8,35 (1H, с, N=CH).

Культитивування та накопичення біомаси досліджуваних штамів *M. bovis* проводили на яєчному живильному середовищі, яке за складом було ідентичним стандартному, виготовленому ДП "Ветеринарна медицина" (м. Харків, Україна). До середовища додавали 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозид для отримання концентрацій 0,1 %; 0,5 %; 1 %. Дослідження проводили зі встановленням двох рівнів рН: 6,5 та 7,1. Відмірювання необхідної кількості 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(2-нітро-бензиліден)ацетогідрозиду проводили згідно з ГОСТ 27025-86. Розчини готували згідно з методиками, описаних у ГОСТ 4212-76 та ГОСТ 4517-87.

У виділених та накопичених мікобактерій вивчали тинкторіальні властивості, морфологічні ознаки, строки появи первинного росту, його інтенсивність і характер субкультури. Аналіз та оцінку колоній проводили за кількістю, величиною, формою, поверхнею, консистенцією, пігментоутворенням, прозорістю, блиском та емульгованістю у фізіологічному розчині (В.М. Манченко, З.Р. Троценко, М.С. Павленко та ін., 1994; О.А. Ткаченко, М.В. Білан, В.В. Захарський, Л.О. Ковальова, 2010). Тинкторіальні властивості мікобактерій визначали, готуючи мазки із колоній, зафарбованих за методом Ціля-Нільсена та досліджуючи їх під імерсією мікроскопа SUNNY серії XS із цифровим мікроскопічним комплексом "Микмед-2-1600" (Санкт-Петербург, Росія). Морфологію мікобактерій визначали за: довжиною, товщиною, формою, характером кінців клітин, зернистістю та розташуванням.

Гравіметричні вимірювання виконували на лабораторних електронних аналітичних вагах моделі ESJ-200-4 (США).

Приклад 2

На початку досліду виявляли вплив концентрації препарату та рН середовища на інтенсивність росту культури за температур 37 °С. Для цього відбирали *M. bovis* 100 пасажу, який культивували за температури 37 °С на середовищі з 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозидом у зазначених концентраціях у термостаті протягом трьох місяців на середовищі з рН 6,5 (в кількості десять пробірок із кожною концентрацією препарату) та рН 7,1 (в кількості десять пробірок із кожною концентрацією препарату). Як контроль використовували *M. bovis* 100 пасажу без додавання до середовища 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду. Після закінчення цих термінів так само, як і після культивування за температури 37 °С, проводили облік та характеризували ріст колоній мікобактерій (В.М. Манченко, З.Р. Троценко, М.С. Павленко та ін., 1994). У підсумку були

одержані дані впливу концентрацій 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду на культивування *M. bovis* за температур 37 °С на середовищі з різним рН на інтенсивність росту культури.

У таблиці 1 систематизовано дані щодо культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 7,1, яке додатково містило 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозид у трьох концентраціях.

До 8-ї доби досліду ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С не відмічався.

Таблиця 1

Характеристика культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, культивованих на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С

8-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
17-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт та поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
24-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору. Суцільний ріст	Шорсткий наліт	Шорсткий наліт	Без змін
38-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору. Суцільний ріст	Шорсткий наліт	Шорсткий наліт	Ріст відсутній
42-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Поодинокі білі колонії за лінією посіву	Поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній
54-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідрозиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст. Шорсткий наліт жовтуватого кольору	Суцільний ріст. Шорсткий наліт жовтуватого кольору	Ріст відсутній
90-а доба досліду			

Продовження таблиці 1

Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст. Шорсткий наліт жовтуватого кольору	Суцільний ріст. Шорсткий наліт жовтуватого кольору	Ріст відсутній

До 24 доби досліду ріст культури 100 пасажу *M. bovis* в дослідній групі на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С не відмічався.

5 Результати, наведені в табл. 1, засвідчили відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу тільки за 1 % концентрації 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду.

10 За концентрацій 0,1 % та 0,5 % відзначався поступовий ріст колоній, починаючи вже з 24-ї доби досліду - за лінією посіву шорсткий наліт, який впродовж 60 діб спостереження не змінився.

Аналізуючи культуральні властивості із 1 % концентрацією 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразид, нами відмічено відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу впродовж усього періоду спостереження (60 діб), що свідчить про туберкулостатичну дію препарату.

15 У таблиці 2 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 6,5, що додатково містить 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразид у трьох концентраціях.

20 До 8 доби досліду ріст культури 100 пасажу *M. bovis* в контрольній та 24 доби в дослідній групі на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С не відмічався. Якщо на 24-у добу за концентрацій 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразид 0,1 % та 0,5 % ріст колоній не відмічається, але є шорсткий наліт за лінією посіву (в контролі - поодинокі колонії за лінією посіву), то вже на 38 добу з'являються поодинокі дрібні колонії за лінією посіву (в контролі - суцільний ріст, колонії дрібні, білі, гладенькі - S-форми). За наступних термінів спостереження відмічається ріст росинчатих біло-жовтих колоній (42 доба досліду), збільшення кількості поодиноких дрібних колоній (54 доба досліду) і збільшення шорстких R-форм, які потім перетворюються в білуваті гладенькі колонії S-форм (60 доба досліду), але кількість колоній менше у порівнянні з контролем.

25

Таблиця 2

Характеристика культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С

8-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
17-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт та поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
24-а доба досліду			

Продовження таблиці 2

Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору. Суцільний ріст	Шорсткий наліт	Шорсткий наліт	Без змін
38-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору. Суцільний ріст	Поодинокі білі колонії за лінією посіву	Поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній
42-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Шорсткий наліт жовтуватого кольору	Шорсткий наліт жовтуватого кольору	Ріст відсутній
54-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст	Суцільний ріст	Ріст відсутній
90-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст	Суцільний ріст	Ріст відсутній

Аналізуючи 1 % концентрацію 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду була відмічена відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу протягом всього періоду спостереження (60 діб). Таким чином, можна зробити висновок, що 0,1 % та 0,5 % концентрації 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду не впливають на культуральні властивості патогенного штаму *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С, а 1,0 % концентрація препарату має туберкулостатичною дією.

За результатами досліджу видно, що дія 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразиду за різних концентрацій на середовищі з рН 6,5 і рН 7,1 не відрізняється.

Приклад 3

Використовувався класичний туберкулостатичний препарат ізоніазид за різних концентрацій, рН середовища та температури 37 °С. Ізоніазид, згідно класифікації протитуберкульозних препаратів міжнародної спілки боротьби із туберкульозом, відноситься до I групи - препарати високої ефективності. В якості контролю використовували *M. bovis* 100 пасажу без додавання до середовища препарату ізоніазид.

Для цього відбирали *M. bovis* 100 пасажу, який культивували за температури 37 °С на середовищі з препаратом ізоніазид у зазначених концентраціях у термостаті протягом трьох місяців на середовищі з рН 6,5 та рН 7,1 (в кількості десять пробірок із кожною концентрацією препарату).

У виділених мікобактерій вивчали строки появи первинного росту, його інтенсивність і характер субкультури.

У таблиці 3 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 7,1, що додатково містить препарат ізоніазид у трьох концентраціях.

До 7-ї доби дослідів ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С не відмічався.

Таблиця 3

Характеристика культуральних властивостей 100 пасажу *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С

7-а доба дослідів			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт	Слизивий наліт жовтуватого кольору	Слизивий наліт	Ріст відсутній
14-а доба дослідів			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Без змін	Без змін	Поодинокі гладенькі колонії	Ріст відсутній
30-а доба дослідів			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Численні колонії білого кольору	Поодинокі колонії білуватого кольору	Дрібні колонії білого кольору	Ріст відсутній
60-а доба дослідів			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Дещо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Дрібні колонії білого кольору	Ріст відсутній
90-а доба дослідів			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст	Дещо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Ріст відсутній

- 5 Характеризуючи отримані дані, що наведені в таблиці 3 нами визначена відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу за 1 % концентрації препарату ізоніазид. На сьому добу дослідів за 0,1 % концентрації виявлений слизивий наліт жовтуватого кольору, на 30-у добу з'являються поодинокі дрібні білуватого кольору, на 60-добу їх кількість збільшується і на 90-у добу визначаємо суцільний ріст, як і в контролі.
- 10 При використанні 0,5 % концентрації препарату ізоніазид на 7-у добу виявлений слизивий наліт, на 14 добу дослідів з'являються поодинокі гладенькі колонії, на 30 та 60 добу - дрібні колонії білого кольору. На 90 добу збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній. Аналізуючи 1 % концентрацію препарату ізоніазид нами визначено відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу протягом усього періоду дослідів (90 діб), що свідчить
- 15 про туберкулостатичну дію препарату. Культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, накопиченого та культивованого на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С з препаратом ізоніазид у трьох концентраціях представлений в таблиці 4. До 14 доби дослідів ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С не відмічався.

Таблиця 4

Характеристика культуральних властивостей 100 пасажу *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 6,5 з препаратом ізоніазид за температури 37 °С

7-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт	Поодинокі колонії білуватого кольору	Шорсткий наліт	Ріст відсутній
14-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Поодинокі колонії білуватого кольору	Без змін	Поодинокі гладенькі колонії	Ріст відсутній
30-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Численні колонії білого кольору	Поодинокі колонії білуватого кольору	Дрібні колонії білого кольору	Поодинокі дрібні колонії за лінією посіву
60-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст білуватих, поодиноких гладеньких колоній	Ріст білуватих, поодиноких гладеньких колоній	Без змін
90-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній

5 Аналізуючи результати дослідю, що наведено в табл. 4, нами визначені відмінності дії 1 % концентрації препарату ізоніазид на середовищі з рН 6,5, ніж за рН 7,1. Якщо на середовищі з рН 7,1 ріст культури *M. bovis* 100 пасажу протягом 90 дів культивування не спостерігався, то на середовищі з рН 6,5 з 30 доби з'являються поодинокі дрібні колонії, кількість яких на 90 добу збільшувалась.

10 0,1 % концентрація препарату ізоніазид незначно впливає на ріст *M. bovis* - вже на 7 добу виявлені поодинокі колонії білуватого кольору, кількість яких поступово збільшується з терміном спостереження.

За 0,5 % концентрації препарату ізоніазид ріст колоній відмічається на 14 добу - колонії дрібні, гладенькі, білого кольору, кількість яких має тенденцію до збільшення протягом терміну спостереження.

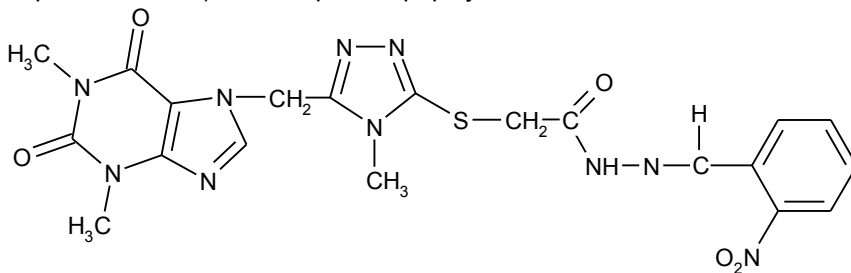
15 Отже, проведені дослідження засвідчили, що препарат ізоніазид за 1 % концентрації пригнічує ріст і розвиток патогенного штаму *M. bovis*, культивованого на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С, що свідчить про його туберкулостатичну дію.

Низька концентрація (0,1 та 0,5 %) препарату ізоніазид на середовищі з рН 6,5 та 7,1 за температури 37 °С ріст патогенного штаму *M. bovis* 100-го пасажу не стримує.

20

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 2-((5-((Теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(2-нітробензиліден)ацетогідразид формули



який проявляє протитуберкульозну активність.

10

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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