



УКРАЇНА

(19) UA (11) 115949 (13) C2
(51) МПКC07D 249/08 (2006.01)
C07D 473/04 (2006.01)
A61K 31/4196 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2016 11377
(22) Дата подання заявки: 10.11.2016
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.01.2018
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.05.2017, Бюл.№ 10
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.01.2018, Бюл.№ 1

(72) Винахідник(и):
Гоцуля Андрій Сергійович (UA),
Зажарський Володимир Володимирович (UA),
Давиденко Павло Олександрович (UA),
Бібен Іван Андрійович (UA),
Алексєєва Наталія Вікторівна (UA),
Парченко Володимир Володимирович (UA),
Книш Євгеній Григорович (UA),
Панасенко Олександр Іванович (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. Мандриковська, 276, м. Дніпро, 49100 (UA),
Алексєєва Наталія Вікторівна,
вул. Мандриковська, 276, м. Дніпро, 49100 (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)

(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
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). – С. 104–107, 2 арк
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). – С. 91–94, 2 арк
Противопальна активність солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-Р-4Н-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). – С. 60–62, 2 арк
Дослідження протимікробної та протигрибкової активності S- похідних 7'-((3-тіо-4-Р-4Н-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). – С. 95–99, 3 арк

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

(57) Реферат:

Винахід належить до фармацевтичної хімії і може бути застосований в ветеринарній медицині.
2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-N'-(3-

UA 115949 C2

нітробензиліден)ацетогідразид містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу метильний замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу метиленовий радикал, поєднаний з 3-метилксантином, двовалентний атом сульфуру, синтон 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду. Забезпечується доступність реактивів для синтезу, нескладна методика отримання, низька гостра токсичність, а також здатність проявляти більш високу протитуберкульозну активність.

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті у вивченні збудника туберкульозу, шляхів занесення його у господарства, які сприяють поширенню захворювання, багато аспектів цієї складної проблеми вивчені недостатньо і туберкульоз великої рогатої худоби в Україні не ліквідовано. Існують осередки інфекції, котрі створюють постійну загрозу занесення збудника у благополучні господарства і становлять велику загрозу зараженню людей.

Нерідко трапляються випадки захворювання на туберкульоз тварин навіть в областях, котрі вважалися вільними від даної інфекції, а нові економічні відносини в перехідний період створили додаткові проблеми в ліквідації туберкульозу великої рогатої худоби в Україні (Ткаченко О.А., Зажарський В.В., 2013). Цьому сприяють штучно створені унікальні можливості: взаємодія в замкнутому середовищі мікро- та макроорганізму за багаточисельних пасажів різного ступеня вірулентності збудника протягом років через організм тварини з високою чи низькою природною резистентністю, нестерильним спонтанно набутим імунітетом. Це, безперечно, може призвести до виникнення нових рас мікобактерій з іншими властивостями (Ткаченко О.А., Зажарський В.В., Давиденко П.О., 2013-2015).

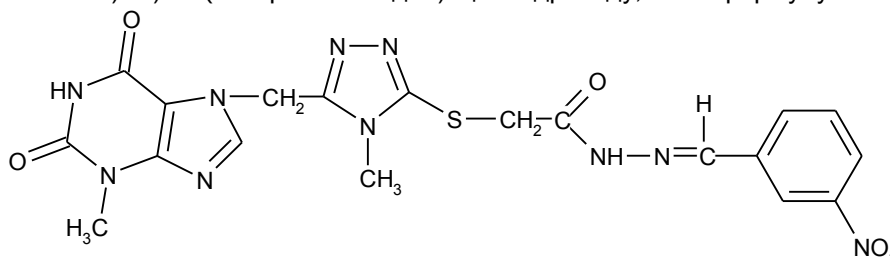
Підтримка епізоотичного процесу туберкульозу відбувається за циркуляції *M. bovis* як повільно-, так і швидкоорослих штамів, які змінюють структуру інфікованого поголів'я та характер прояву інтенсивності алергічних реакцій на ППД-туберкулін для ссавців. Значна мінливість мікобактерій безперечно впливає на розвиток епізоотичного, інфекційного процесів та ефективність діагностики. До цього часу остаточно не з'ясовано, які фактори суттєво впливають на *M. bovis*. Існуючі експериментальні дані свідчать, що мінливість збудника туберкульозу відмічається за впливу антибіотиків, туберкулостатичних препаратів. Дотепер не з'ясовані морфологічні аспекти конверсії мікобактерій (Kazuhiro Matsuo and Yasuhiro Yasutomi, 2011; Дорошкова І.Р., 2012).

Дослідження впливу туберкулостатичних препаратів та морфологічних аспектів конверсії мікобактерій є пріоритетним напрямом у ветеринарній медицині.

Задачею винаходу є дослідження впливу концентрації 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду і рН середовища на культивування патогенних штамів *M. bovis* за температур 37 °С.

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

2-((5-((3'-Метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу метильний замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу метиленовий радикал, поєднаний з 3-метилксантином, двовалентний атом Сульфуру, синтон 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду, і має формулу:



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

Приклад 1

У круглодонну колбу, обладнану змішувачем, холодильником та термометром, завантажують 498 г (1 моль) 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетогідразиду, 1500 мл пропан-1-олу та 151 г (1 моль) 3-нітробензальдегіду. Суміш нагрівають до 70 °С протягом 2 годин. Розчинник відганяють. Продукт реакції промивають водою та гексаном. Сушать. Вихід 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду 77 % в розрахунку на 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетогідразид.

Жовта кристалічна речовина з температурою плавлення 188-190 °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 45,67, Н 3,65, N 28,12, S 6,44. Вирахувано, %: С 45,78, Н 3,64, N 28,10, S 6,43.

В ІЧ-спектрі 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду присутні характеристичні полоси 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 $1640\text{--}1605\text{ см}^{-1}$.

В ^1H ЯМР-спектрі сигнали метильних груп проявляються у вигляді синглетів при 3,50–4,33 м. ч., сигнали метиленових груп - у вигляді синглетів при 3,95 та при 5,65 м. ч. Протони фенільного фрагменту 3-нітробензиліденового синтону спостерігаються у вигляді двох дублетів при 7,58 та 7,68 м.ч. і двох триплетів при 7,23 м. ч. та 7,51 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 , δ , м.ч.: 3,50 (3H, с, N^3CH_3), 4,33 (3H, с, N^4CH_3), 3,95 (2H, с, CH_2), 5,65 (2H, с, CH_2), 7,23 (2H, т, C_6H_4), 7,51 (2H, т, C_6H_4), 7,58 (2H, д, C_6H_4), 7,68 (2H, д, C_6H_4), 8,10 (1H, с, NH), 8,35 (1H, с, N=CH).

Культивування 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-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид для отримання концентрацій 0,1 %; 0,5 %; 1 %. Дослідження проводили зі встановленням двох рівнів pH: 6,5 та 7,1. Відмірювання необхідної кількості препарату проводили згідно з ГОСТ 27025-86. Розчини готували згідно методик, описаних у ГОСТ 4212-76 та ГОСТ 4517-87.

У виділених та накопичених мікобактерій вивчали тинкторіальні властивості, морфологічні ознаки, а також 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 (Манченко В.М., Троценко З.Р., Павленко М.С. та ін., 1994; Ткаченко О.А., Білан М.В., Захарський В.В., Ковальова Л.О., 2010). Тинкторіальні властивості мікобактерій визначали, готуючи мазки із колоній (культур), зафарбованих за методом Ціля-Нільсена, та досліджуючи їх під іммерсією 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 pH середовища на інтенсивність росту культури за температур $37\text{ }^\circ\text{C}$. Для цього відбирали *M. bovis* 100 пасажу, який культивували за температури $37\text{ }^\circ\text{C}$ на середовищі з 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразидом у зазначених концентраціях у термостаті протягом трьох місяців на середовищі з pH 6,5 (в кількості десять пробірок із кожною концентрацією препарату) та pH 7,1 (в кількості десять пробірок із кожною концентрацією препарату). В якості контролю використовували *M. bovis* 100 пасажу без додавання до середовища 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду.

Після закінчення цих термінів так само, як і після культивування за температури $37\text{ }^\circ\text{C}$, проводили облік й характеризували ріст колоній мікобактерій (культур). (Манченко В.М., Троценко З.Р., Павленко М.С. та ін., 1994).

У підсумку були одержані дані впливу концентрацій 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду на культивування *M. bovis* за температур $37\text{ }^\circ\text{C}$ на середовищі з різним pH на інтенсивність росту культури.

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

До 7 доби досліду ріст культури 100 пасажу *M. bovis* в контрольній групі на середовищі з pH 7,1 за температури $37\text{ }^\circ\text{C}$ не відмічався.

Результати, наведені в табл. 1, засвідчили відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу за усіх (0,1, 0,5 та 1 %) концентрацій 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду впродовж усього періоду спостереження (90 діб), що свідчить про туберкулостатичну дію препарату.

Таблиця 1

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

7-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
14-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт та поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
30-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Без змін	Без змін	Без змін
60-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація препарату 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
90-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній

У таблиці 2 систематизовано дані щодо культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з pH 6,5, яке додатково містило 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид у трьох концентраціях. До 7-ї доби досліджу ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з pH 6,5 за температури 37 °C не відмічався.

Таблиця 2

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

7-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Поодинокі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
14-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %

	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
30-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
60-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація препарату 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
90-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація препарату 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній

За результатами досліджу видно, що дія препарату за різних концентрацій на середовищі з рН 6,5 не відрізняється від рН 7,1. За всіма дослідними (0,1, 0,5 та 1,0 %) концентраціями 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду нами відмічена відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу протягом всього періоду спостереження (90 діб).

Таким чином, можна зробити висновок, що 0,1, 0,5 % та 1,0 % концентрації 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду активно впливають на культуральні властивості патогенного штаму *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С, стримуючи ріст і розвиток, володіючи туберкулостатичною дією.

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 кожній десятій 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 досліджу 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 °C

7-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт	Слизивий наліт жовтуватого кольору	Слизивий наліт	Ріст відсутній
14-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Без змін	Без змін	Поодинокі гладенькі колонії	Ріст відсутній
30-а доба досліджу			
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 досліджу			
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 досліджу			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Суцільний ріст	Дещо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Ріст відсутній

Характеризуючи отримані дані, що наведені в таблиці 4 нами визначена відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу за 1 % концентрації препарату ізоніазид. На сьому добу досліджу 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. За використання 0,5 % концентрації препарату ізоніазид на 7-у добу виявлений слизивий наліт, на 14 добу досліджу 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 досліджу (90 діб), що свідчить про туберкулостатичну дію препарату. Культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, накопиченого та культивованого на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °C з препаратом ізоніазид у трьох концентраціях представлений в таблиці 4. До 14 доби досліджу ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °C не відмічався.

Таблиця 4

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

7-а доба досліджу			
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

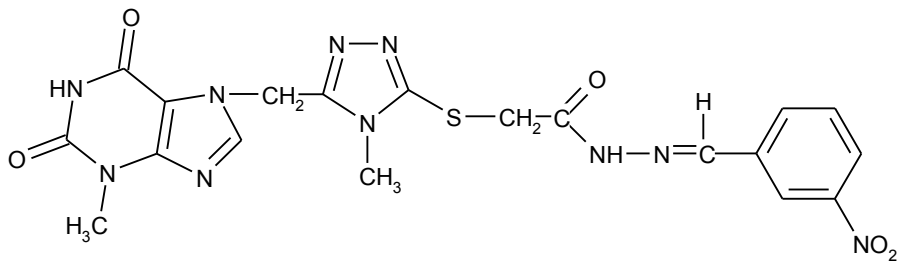
Аналізуючи результати дослідю, що наведено в табл. 4, нами визначені відмінності дії 1 % концентрації препарату ізоніазид на середовищі з pH 6,5, ніж за pH 7,1. Якщо на середовищі з pH 7,1 ріст культури *M. bovis* 100 пасажу протягом 90 діб культивування не спостерігався, то на середовищі з pH 6,5 з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

Отже, проведені дослідження засвідчили, що препарат ізоніазид за 1 % концентрації пригнічує ріст і розвиток патогенного штаму *M. bovis*, культивованого на середовищі з pH 7,1 за температури 37 °C, що свідчить про туберкулостатичну його дію. Низька концентрація (0,1 та 0,5 %) препарату ізоніазид на середовищі з pH 6,5 та 7,1 за температури 37 °C ріст патогенного штаму *M. bovis* 100-го пасажу не стримує.

Таким чином, 2-((5-((3'-метилксантин-7'-іл)метил)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид у порівнянні з найближчим аналогом більш виражено пригнічує ріст і розвиток патогенного штаму *M. bovis*.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

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



який проявляє протитуберкульозну активність.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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