



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115116** (13) **C2**  
(51) МПК*C07D 249/08* (2006.01)*A61K 31/33* (2006.01)*A61P 31/06* (2006.01)*C07D 473/08* (2006.01)МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2016 11719</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>21.11.2016</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>11.09.2017</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>25.05.2017, Бюл.№ 10</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>11.09.2017, Бюл.№ 17</b></p> <p>(72) Винахідник(и): <b>Гоцуля Андрій Сергійович (UA), Ткаченко Олексій Андрійович (UA), Зажарський Володимир Володимирович (UA), Давиденко Павло Олександрович (UA), Парченко Володимир Володимирович (UA), Книш Євгеній Григорович (UA), Панасенко Олександр Іванович (UA)</b></p>	<p>(73) Власник(и): <b>Гоцуля Андрій Сергійович,</b> вул. Товарищеська, 64, кв. 77, м. Запоріжжя, 69035 (UA), <b>Ткаченко Олексій Андрійович,</b> вул. 8 Березня, 13, кв. 90, смт Ювілейне, 49000 (UA), <b>Зажарський Володимир Володимирович,</b> пр. Героїв, 12, кв. 52, м. Дніпро, 49000 (UA), <b>Давиденко Павло Олександрович,</b> вул. Моніторна, 10, кв. 571, м. Дніпро, 49000 (UA), <b>Парченко Володимир Володимирович,</b> вул. Новоросійська, 177, м. Запоріжжя, 69060 (UA), <b>Книш Євгеній Григорович,</b> вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 152, м. Запоріжжя, 69121 (UA), <b>Панасенко Олександр Іванович,</b> вул. Дніпровські пороги, 35, кв. 146, м. Запоріжжя, 69121 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: А.С. ГОЦУЛЯ, О.І. ПАНАСЕНКО, Є.Г. КНИШ, А.О. ПРИЙМЕНКО, Б.О. ВАРИНСЬКИЙ, СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ 7-((3-ТІО-4R-4H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ІЛ)МЕТИЛ)ТЕОФІЛІНУ, СИНТЕЗ ТА АНАЛІЗ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК, стор.43-51, 10.11.2014, УДК 547.79:547.857.4].03/04.057, <a href="http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&amp;I21DBN=UJRN&amp;P21DBN=UJRN&amp;IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&amp;Image_file_name=PDF/pharmazh_2014_6_9.pdf">http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&amp;I21DBN=UJRN&amp;P21DBN=UJRN&amp;IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&amp;Image_file_name=PDF/pharmazh_2014_6_9.pdf</a> A.S. Gotsulia, P.S. Knyazevich, O.I. Panasenko, Ye. G. Knysh, Synthesis and physical-chemical research of 7-((3-thio-4-r-4h-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline carbonyl derivatives, Запоріжський медичинський журнал, №2 (89), 2015, стор.103-106 El Ashry, El Sayed; Abdel-Rahman, Adel; Rashed, Nagwa; Awad, Laila; Rasheed, Hanaa, Synthesis of AZT analogues: 7-(3-azido-2hydroxypropyl)-, 7-(3-amino-2-hydroxypropyl)-, 7-(3-triazolyl-2-hydroxypropyl)theophyllines, - Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 2006, vol. 25, # 3, p. 299 - 305 WO 2012/076974 A1 (Life &amp; Brain GMBH [DE]), 14.06.2012 EP 0089028 A1 (CHINOIN [HU]), 11.03.1983</p>
--	--

UA 115116 C2

(54) 7'-((4-ЕТИЛ-5-((2-(4-ФЛУОРОФЕНИЛ)-2-ГІДРОКСОЕТИЛ)ТІО)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛ)МЕТИЛ)ТЕОФІЛІН, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ

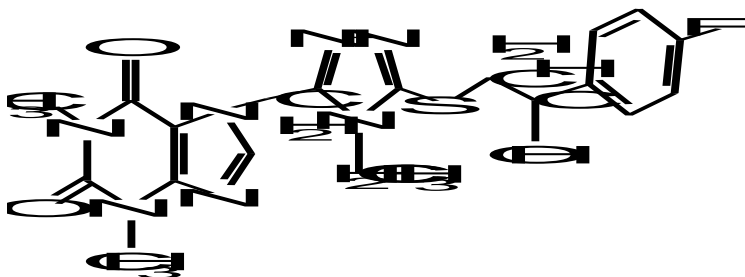
---

(57) Реферат:

Об'єкт корисної моделі: 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін, що проявляє протитуберкульозну активність.

Галузь застосування: Фармацевтична хімія і ветеринарна медицина.

Суть корисної моделі: 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін містить при N<sub>4</sub>-атомі ядра 1,2,4-триазолу етильний замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу метиленовий радикал, поєднаний з теофіліном, двовалентний атом Сульфуру, синтон 4-флуорофенілу, 2-гідроксоетильний фрагмент. 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.

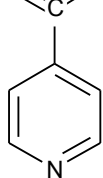
Проблема побічної дії ксенобіотиків та протидії їх токсичним проявам залишається вкрай важливою. Проблема лікування хворих на туберкульоз має значну наукову та соціальну значимість в умовах глобальної епідемії цього захворювання в світі, і в тому числі в Україні [Tuberculosis. Clinical diagnosis and management of tuberculosis, and measures for its prevention and control, March 2011].

Первинна резистентність виникає, коли людина заражається стійким до ліків штамом туберкульозу. У людини, у якої немає резистентності до ліків, протягом лікування може розвинути вторинна (придбана) резистентність. Остання може розвинути через неадекватне лікування, або приймання неякісних лікарських засобів [Espinal M.A. et al., 2001, Migliori G.B., et al., 2007; WHO Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis, 2011]. Резистентний туберкульоз є серйозною проблемою охорони здоров'я населення у багатьох країнах, що розвиваються [Kawahara K., Sasada S., Nagano T., 2008; WHO policy on collaborative TB/HIV activities: guidelines for national programmes and other stakeholders. Geneva, WHO, 2012]. Лікування такого туберкульозу займає більше часу та потребує більш дорогих ліків. Multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) - це туберкульоз, на який не діють два найбільш ефективні лікарські засоби: рифампіцин та ізоніазид [Guidelines for Clinical and Operational Management of Drug-Resistant Tuberculosis, 2013].

Частота персистенції *M. bovis* таких штамів в організмі великої рогатої худоби неблагополучних щодо туберкульозу господарств досить висока (у межах 30 %), щоб суттєво визначити тенденцію епізоотичного процесу.

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 конвертує в некіслотостійкі паличкоподібні та ниткоподібні форми з паралельною зміною характеру росту культури: наліт, димка [Ткаченко О. та співавт., 2004; 2009].

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)].

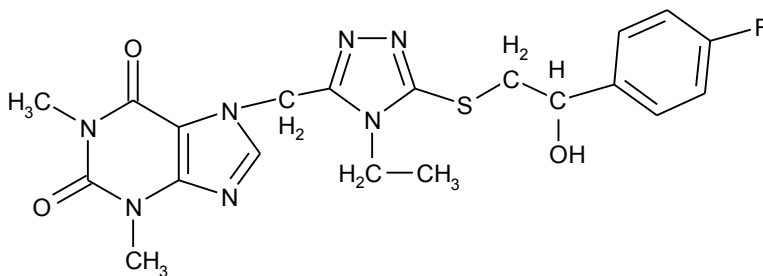
Суттєві ознаки прототипу і винаходу, що збігаються, є такі: в структурі прототипу і винаходу присутні групи C-N, C=N.

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

В основу винаходу поставлено задачу створення нових біологічно активних сполук, які можуть застосовуватись як оригінальні лікарські засоби у ряду 1,2,4-триазолу та проявляють протитуберкульозну активність.

Поставлена задача вирішується тим, що створено 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін, який проявляє протитуберкульозну дію.

7'-((4-Етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін містить при N<sub>4</sub>-атомі ядра 1,2,4-триазолу етильний замісник, в положенні 5 ядра 1,2,4-триазолу метиленовий радикал, поєднаний з теофіліном, двовалентний атом Сульфуру, синтон 4-флуорофенілу, 2-гідроксоетильний фрагмент і має формулу:



Сполуку, що заявляється, отримують шляхом відновлення 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-оксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну натрію боргідридом з додаванням еквімолекулярної кількості натрію гідроксиду з наступним підкисленням кислотою ацетатною.

#### 5 Приклад 1

У круглодонну колбу, обладнану змішувачем та термометром, завантажують 457 г (1 моль) 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-оксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну, 1500 мл етанолу та 40 г (1 моль) натрію гідроксиду. Після чого по краплях протягом 2 годин додають розчин 2 моль натрію боргідриду в 1000 мл води. Суміш залишають при кімнатній температурі на 24 години, нейтралізують кислотою ацетатною, додають 5000 мл води, осад відфільтровують. Сушать. Вихід 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)-теофіліну 92 % в розрахунку на 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-оксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін.

Жовта кристалічна речовина з температурою плавлення 167-168 °С (кристалізовано з пропан-1-олу), розчинна у ДМФА та 1,4-діоксані, малорозчинна в діетиловому ефірі та хлороформі, практично не розчинна у воді.

#### Елементний аналіз

Знайдено, %: С - 52,38, Н - 4,84, N - 21,29, S - 6,96.

Вирахувано, %: С - 52,28, Н - 4,83, N - 21,34, S - 6,98.

20 В ІЧ-спектрі 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну присутні характеристичні полоси поглинання валентних коливань NH-групи середньої інтенсивності при 3415 см<sup>-1</sup>, карбонілу NHC=O-групи при 1690 см<sup>-1</sup> та при 1655 см<sup>-1</sup>, C=N-зв'язку у циклі при 1640-1600 см<sup>-1</sup>.

25 В <sup>1</sup>H ЯМР-спектрі сигнали метильних груп теофілінового фрагмента проявляються у вигляді синглетів при 3,15-3,40 м. ч., сигнал метальної групи етильного фрагмента фіксується у вигляді триплету при 1,25 м. ч. Сигнал метиленової групи етильного фрагмента спостерігається у вигляді квадруплету при 4,05 м. ч., метиленова група, що поєднує синтони теофіліну та 1,2,4-триазолу - у вигляді синглету при 5,10 м. ч. Протони тіометиленового фрагмента визначаються у вигляді синглету при 3,85 м. ч. Сигнали ОН-групи та СН-групи фіксуються у вигляді мультиплету та розташовані при 5,05 м. ч. Протони флуорофенільного фрагмента фіксуються у вигляді дублетів при 7,15 та 7,28 м.ч. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м. ч.: 1,25 (3H, т, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3,15-3,40 (3H, с, CH<sub>3</sub>), 3,85 (2H, с, SCH<sub>2</sub>), 4,05 (2H, кв, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 5,05 (3H, м, ОН+CH<sub>2</sub>), 7,15 (2H, д, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 7,28 (2H, д, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>), 8,42 (1H, с, CH).

35 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 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін для отримання концентрацій 0,1, 0,5, 1 %. Дослідження проводили зі встановленням двох рівнів рН: 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 [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 (культур), 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).

#### 50 Приклад 2

На початку дослідів 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 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліном 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 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін.

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

У підсумку були одержані дані впливу концентрацій 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну на культивування *M. bovis* за температур 37 °С на середовищі з різним рН на інтенсивність росту культури. У таблиці 1 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 7,1, що додатково містить 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну у трьох концентраціях. До 7 доби дослідів ріст культури 100 пасажу *M. bovis* в контрольній групі 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

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

Результати, наведені в табл. 1, засвідчили відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу за усіх (0,1, 0,5 та 1 %) концентрацій 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну впродовж усього періоду спостереження (90 діб), що свідчить про туберкулостатичну дію препарату. У табл. 2 систематизовано дані щодо культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 6,5, яке додатково

містить 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну у 3-х концентраціях.

Таблиця 2

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

7-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Поодинокі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
14-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
30-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
60-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
90-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній

5 До 7-ї доби дослідю ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С не відмічався.

10 За результатами дослідю 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 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну 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 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофіліну 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.

15 Приклад 3

20 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. Як контроль 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 досліду ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С не відмічався.

Таблиця 3

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

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

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 досліду за 0,1 % концентрації виявлений слизовий 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 слизовий наліт, на 14 добу досліду 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 досліду (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 °С з препаратом ізоніазид у трьох концентраціях представлений в таблиці 4. До 14 доби досліду 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 %
Слизовий 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 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. 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 рН 7,1 за температури 37 °С, що свідчить про туберкулостатичну його дію.

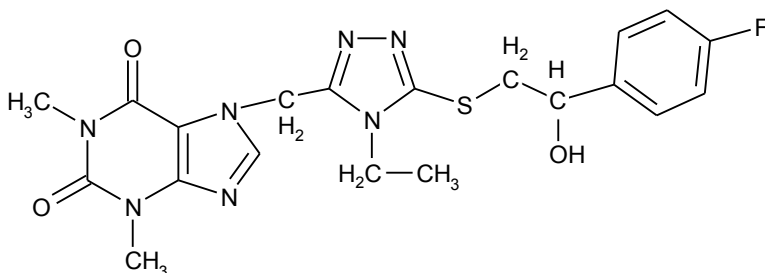
Низька концентрація (0,1 та 0,5 %) препарату ізоніазид на середовищі з рН 6,5 та 7,1 за температури 37 °С ріст патогенного штаму *M. bovis* 100-го пасажу не стримує.

Таким чином, 7'-((4-етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін у порівнянні з прототипом дещо активніше проявляє протитуберкульозну активність.



## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

5 7'-((4-Етил-5-((2-(4-флуорофеніл)-2-гідроксоетил)тіо)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)теофілін формули:



який проявляє протитуберкульозну активність.

---

Комп'ютерна верстка М. Мацело

---

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