



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **115011** (13) **C2**
(51) МПК**C07D 249/08** (2006.01)
C07D 249/12 (2006.01)
C07D 473/08 (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 ВІНАХІД**

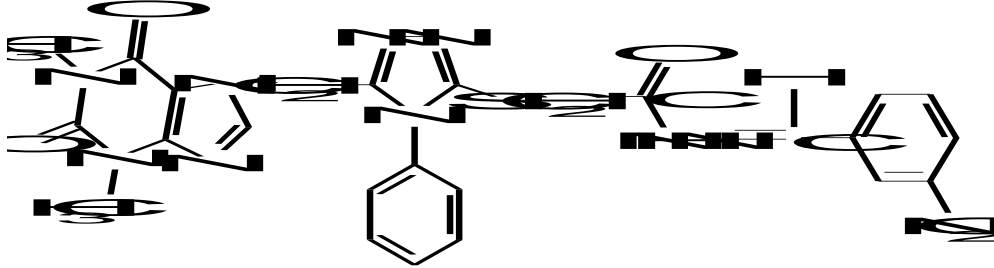
(21) Номер заявки: а 2016 11722	(72) Винахідник(и): Гоцуля Андрій Сергійович (UA), Ткаченко Олексій Андрійович (UA), Зажарський Володимир Володимирович (UA), Давиденко Павло Олександрович (UA), Парченко Володимир Володимирович (UA), Книш Євгеній Григорович (UA), Панасенко Олександр Іванович (UA)
(22) Дата подання заявки: 21.11.2016	(73) Власник(и): Гоцуля Андрій Сергійович, вул. Товариська, 64, кв. 77, м. Запоріжжя, 69035 (UA), Ткаченко Олексій Андрійович, вул. 8 Березня, 13, кв. 90, смт Ювілейне, 49000 (UA), Зажарський Володимир Володимирович, пр. Героїв, 12, кв. 52, м. Дніпро, 49000 (UA), Давиденко Павло Олександрович, вул. Мониторна, 10, кв. 571, 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)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 28.08.2017	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Актопротективні властивості похідних 7'-((3-тіо-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)метил)теофіліну/ А. С. Гоцуля// Запорізький медичний журнал. – 2016. – №3 (96). – С. 104–107 Синтез і дослідження фізико-хімічних властивостей солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-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 Протизапальна активність солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-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 Дослідження протимікробної та протигрибкової активності S-похідних 7'-((3-тіо-4-Р-4Н-1,2,4-триазол-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
(41) Публікація відомостей про заявку: 25.05.2017, Бюл.№ 10	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 28.08.2017, Бюл.№ 16	

(54) 2-((5-((ТЕОФІЛІН-7'-ІЛ)МЕТИЛ)-4-ФЕНІЛ-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛ)ТІО)-N'-(3-НІТРОБЕНЗИЛІДЕН)АЦЕТОГІДРАЗІД, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНУ АКТИВНІСТЬ**(57) Реферат:**

1. Об'єкт корисної моделі: 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид, що проявляє протитуберкульозну активність. 2. Галузь застосування: Фармацевтична хімія і ветеринарна медицина. 3. Суть корисної моделі: 2-((5-

UA 115011 C2

((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітро-бензиліден)ацетогідразид містить при N₄-атомі ядра 1,2,4-триазолу метальний 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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду. 5. Технічний результат: забезпечується доступність реактивів для синтезу, нескладна методика отримання, низька гостра токсичність, а також здатність проявляти більш високу протитуберкульозну активність.



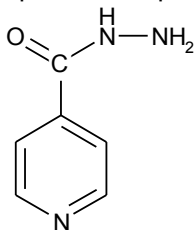
Винахід належить до ветеринарної мікробіології та може бути використаний для підвищення ефективності бактеріологічної діагностики туберкульозу тварин, селекції вакцинних штамів для конструювання препаратів специфічної профілактики хвороби.

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 популяції 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:

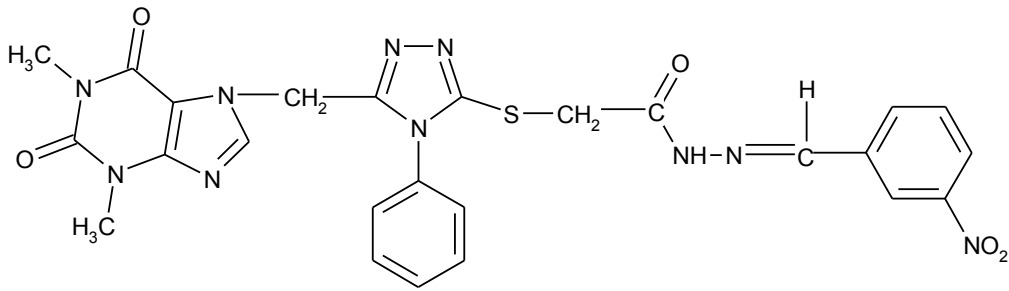
- в структурі прототипу і винаходу присутні групи C-N, C=N.

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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідрозид у масових концентраціях 0,1; 0,5; 1 %.

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



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

Приклад 1

5 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)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-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду 79 % в розрахунку на (2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетогідразид.

Жовта кристалічна речовина з температурою плавлення 186-188 °С (кристалізовано з етанолу), розчинна у ДМФА та 1,4-діоксані, малорозчинна в діетиловому ефірі та хлороформі, практично не розчинна у воді.

15 Елементний аналіз. Знайдено, %: С - 46,97, Н - 3,94, N-24,27, S-6,28.

Вирахувано, %: С - 46,87, Н - 3,93, N-27,33, S-6,26.

В ІЧ-спектрі 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду присутні характеристичні полоси поглинання валентних коливань NH-групи середньої інтенсивності при 3410 см⁻¹, карбонілу NHC=O-групи при 1695 см⁻¹ та при 1655 см⁻¹, C=N-зв'язку у циклі при 1645-1610 см⁻¹.

20 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 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 7,49 м. ч. Сигнал NH проявляється при 8,10 м. ч. у вигляді синглету. Синглет при 8,35 м. ч. належить протонам азометинової групи.

25 Спектр ЯМР ¹H, δ, 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).

30 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-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид 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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду проводили згідно з ГОСТ 27025-86. Розчини готували згідно методик, описаних у ГОСТ 4212-76 та ГОСТ 4517-87.

40 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, пігменто-утворенням, 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).

50 Приклад 2

На початку дослідження 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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразидом 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-феніл-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 °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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду 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-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразид у трьох концентраціях.

До 7 доби дослідження 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 дослідження			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 дослідження			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 дослідження			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 дослідження			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 дослідження			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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

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

У таблиці 2 систематизовано дані щодо культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 6,5, яке додатково містило 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N'-(3-нітробензиліден)ацетогідразиду у трьох концентраціях.

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

Таблиця 2

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

7-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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
30-а доба досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 досліду			
Контроль	Концентрація 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 досліду 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 %) концентрацій 2-((5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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 І 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).

5 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.

10 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 культуральних 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 %
Слизивий наліт	Слизивий наліт жовтуватого кольору	Слизивий 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	Дещо 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	Дещо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Ріст відсутній

15 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 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 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.

20 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.

25 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 %
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 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.

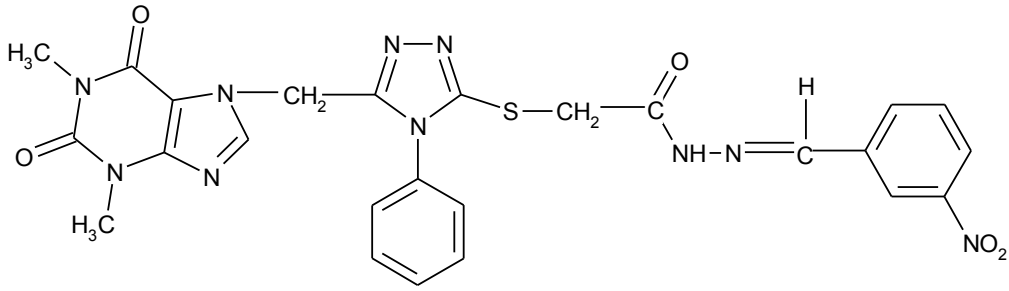
Отже, проведені дослідження засвідчили, що препарат ізоніазид за 1 % концентрації пригнічує ріст і розвиток патогенного штаму *M. bovis*, культивованого на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С, що свідчить про туберкулостатичну його дію.

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

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

2-((5-((Теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-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