



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **97868** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
C07D 249/00
A61K 31/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 10784**
(22) Дата подання заявки: **02.10.2014**
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **10.04.2015**
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **10.04.2015, Бюл.№ 7**

(72) Винахідник(и):
Панасенко Олександр Іванович (UA),
Книш Євгеній Григорович (UA),
Саліонов Володимир Олександрович (UA),
Ткаченко Олексій Андрійович (UA),
Зажарський Володимир Володимирович (UA),
Давиденко Павло Олександрович (UA),
Білан Марина Володимирівна (UA)

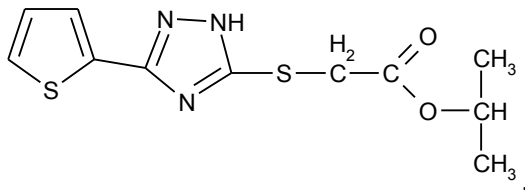
(73) Власник(и):
Панасенко Олександр Іванович,
вул. Дніпровські пороги, 35/ 152, м.
Запоріжжя, 69121 (UA),
Книш Євгеній Григорович,
вул. Дніпровські пороги, 35/146, м.
Запоріжжя, 69121 (UA),
Саліонов Володимир Олександрович,
вул. Знаменська, 44-б, м. Запоріжжя, 69083
(UA),
Ткаченко Олексій Андрійович,
вул. 8 Березня, 13/90, смт Ювілейний,
Дніпропетровська обл., 49000 (UA),
Зажарський Володимир Володимирович,
пр. Героїв, 12/52, м. Дніпропетровськ, 49000
(UA),
Давиденко Павло Олександрович,
вул. Моніторна, 10/571, м. Дніпропетровськ,
49000 (UA),
Білан Марина Володимирівна,
пр. Героїв, 1/34, м. Дніпропетровськ, 49000
(UA)

UA 97868 U

(54) ПОХІДНЕ 5-ТІЄНІЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНУ, ЩО ПРОЯВЛЯЄ ТУБЕРКУЛОСТАТИЧНУ ДІЮ

(57) Реферат:

Похідне 5-тієніл-1,2,4-триазол-3-тіону ілтію)ацетат формули:



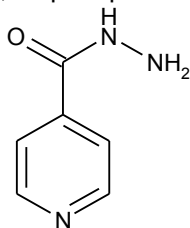
що проявляє туберкулостатичну дію.

ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-

Корисна модель належить до фармацевтичної хімії, медицини та ветеринарії і може бути використана для створення нових протитуберкульозних засобів.

Туберкульоз - це поширене захворювання як людей, так і тварин у багатьох регіонах світу. Наприкінці XX - початку XXI ст. ступінь небезпеки цієї хвороби все більше зростає. Хвороба наносить серйозні економічні збитки у тваринництві, які пов'язані зі зниженням продуктивності, передчасною вибраковкою і здаванням тварин на забій, а також іншими витратами.

Прототипом речовин, що заявляються, є препарат "Ізоніазид", формули:



що використовується як протитуберкульозний препарат (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - Х.: Торсинг, 2002. - Т. 2. - 608 с. (с. 306-308)).

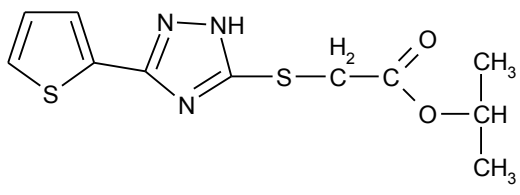
Суттєві ознаки прототипу і корисної моделі, що збігаються, є такі:

- в структурі прототипу і корисної моделі присутні групи C=N, C=O.
- наявність в структурі нітрогенвмісних гетероциклів.

Корисна модель в порівнянні з прототипом дещо активніше проявляє туберкулостатичну дію.

В основу корисної моделі поставлена задача створення нових біологічно активних сполук з протитуберкульозною активністю. Це забезпечить розширення арсеналу протитуберкульозних засобів.

Поставлена задача вирішується тим, що створено похідне 1,2,4-триазолу ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат (сполука 1)



що проявляє туберкулостатичну дію.

Сполуку 1, що заявляється, отримують шляхом взаємодії 2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)оцтової кислоти з ізопропіловим спиртом в присутності каталітичної кількості сірчаної кислоти.

Приклад 1

У круглодонну колбу, обладнану холодильником, завантажують 241,2 г (1 моль) 2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)оцтової кислоти, 1000 мл ізопропілового спирту та 20 мл сірчаної кислоти. Кип'ячать 40 годин, після чого дають охолонути та нейтралізують NaHCO₃ до рН=7. Промивають дистильованою водою, відфільтровують та висушують.

Вихід ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату складає 68,3 %. Тпл. 60-62 °С нерозчинний у воді. Сполуку очищено із суміші ізопропанол:вода (1:2).

Вирахувано: С 46,62 %; Н 4,62; N 14,83 %; S 22,63 %; C₁₁H₁₃N₃O₂S₂.

Знайдено: С 46,72 %, Н 4,61 %; N 14,85 %, S 22,61 %.

В ІЧ-спектрі сполуки, що заявляється, наявні смуги поглинання тіофенового радикалу при 1430-1400 см⁻¹, а також смуги в межах 1730-1700 см⁻¹, що можуть вказувати на наявність СО-групи. Крім того ІЧ спектр естеру характеризується смугами поглинання С-О-С-групи в інтервалі 1100-940 см⁻¹.

Для визначення активності сполуки, що заявляється, було проведено наступне дослідження. Було проведено культивування патогенних штамів *M. bovis* за температури 37 °С та їх дисоціативних форм *M. bovis* за температури 3°С на середовищі із рН 6,5 та 7,1, що додатково містить ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат у масових концентраціях 0,1; 0,5; 1 %, а також для порівняння ізоніазид у масових концентраціях 0,1; 0,5; 1 %.

Культивування та накопичення біомаси досліджуваних штамів *M. bovis* проводили на яєчному живильному середовищі, яке за складом було ідентичним стандартному, виготовленому ДП "Ветеринарна медицина" (Харків, Україна). До середовища додавали препарат ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат або ізоніазид відповідно

для отримання концентрацій 0,1 %; 0,5 %; 1 %. Дослідження проводили зі встановленням двох рівнів pH: 6,5 та 7,1.

Висів мікобактерій 117а варіанта, накопичених за температури культивування 3°C, у кількості двох бактеріологічних петель проводили на скошене живильне середовище в 10 пробірок з наступною інкубацією в термостаті впродовж трьох місяців за різних температур (3; 37°C), зі щоденним спостереженням.

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. 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". 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).

У таблиці 1 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з pH 7,1, що додатково містить ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат у трьох концентраціях.

Таблиця 1

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

7-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
14-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Шорсткий наліт та поодинокі білі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
30-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
60-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
90-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній

До 7 доби дослідю ріст культури 100 пасажу *M. bovis* в контрольній групі на середовищі з pH 7,1 за температури 37 °C не відмічався.

Результати, наведені в табл. 1, засвідчили відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу за трьох (0,1; 0,5 та 1 %) концентрацій ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату.

Аналізуючи культуральні властивості із дослідних концентрацій ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату, нами відмічено відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу впродовж усього періоду спостереження (90 діб), що свідчить про стійку туберкулостатичну дію.

- 5 У таблиці 2 систематизовано дані щодо культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 6,5, що додатково містило ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат у трьох концентраціях.

Таблиця 2

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

7-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Поодинокі колонії за лінією посіву	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
14-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
30-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
60-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
90-а доба досліджу			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній

- 10 До 7-ї доби досліджу ріст культури 100 пасажу *M. bovis* в контрольній групі на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С спостерігався у вигляді поодиноких колоній за лінією посіву.

За результатами досліджу видно, що дія сполуки, яка заявляється, за різних концентрацій на середовищі з рН 6,5 подібна, як і за рН 7,1.

- 15 Аналізуючи 0,1 %, 0,5 % та 1,0 % концентрації ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату нами відмічена відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу протягом всього періоду спостереження (90 діб). Таким чином, можна зробити висновок, що усі концентрації ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату суттєво впливають на культуральні властивості патогенного штаму *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 37 С, маючи туберкулостатичною дією.

- 20 У таблиці 3 систематизовано дані про культуральні властивості дисоціативних форм *M. bovis* 117а варіанта, який культивували на середовищі з рН 7,1, що додатково містило ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат у трьох концентраціях.

Характеристика культуральних властивостей *M. bovis* 117a варіанта, культивованих на середовищі з рН 7,1 за температури 3°C

3-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий сіруватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
7-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий сірувато-жовтого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
14-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву сірого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву яскраво вираженого помаранчевого кольору	Ріст відсутній
30-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву декілька дрібних колоній помаранчевого кольору	Ріст відсутній

Вже з 3-ї доби дослідю в контрольній групі спостерігається ріст культури 117a варіанта дисоціативних форм *M. bovis* на середовищі з рН 7,1 за температури 3°C.

Аналізуючи вплив різних концентрацій ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату на культуральні властивості *M. bovis* 117a варіанта, культивованих на середовищі з рН 7,1 за температури 3°C, відмічено, що протягом 30-и діб спостереження за 0,1 та 0,5 % концентрацій відбувається ріст культур: у вигляді шорсткого нальоту за лінією посіву сіруватого (0,1 %), помаранчевого (0,5 %) кольору - 14 доба дослідю до суцільного росту (0,1 %), появи дрібних колоній помаранчевого кольору (0,5 %) - 30 доба.

Між тим за 1 % концентрації ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату протягом всього періоду дослідю поява та ріст колоній не відмічалась, що свідчить про туберкулостатичну дію сполуки, яка заявляється, за використання високої концентрації.

У таблиці 4 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 117a варіанта, який культивували на середовищі з рН 6,5, що додатково містило ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат у трьох концентраціях.

Вивчаючи вплив різних концентрацій ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату на культуральні властивості *M. bovis* 117a варіанта, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 3°C спостерігалася також тенденція, як за рН 7,1: протягом перших 3-х діб спостереження різних концентрацій ріст *M. bovis* відсутній; починаючи з 7 доби виявлено шорсткий наліт сіруватого кольору; а у контролі - слизивий наліт сірувато-жовтого кольору. На 14 добу дослідю за 0,1 % концентрацією препарату виявлені дрібні колонії блідо-рожевого кольору; а 0,5 % - шорсткий наліт за лінією посіву; на 30-у добу за 0,1 % та 0,5 % концентрації ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату - суцільний ріст колоній помаранчевого кольору. За 1 % концентрацією ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату спостерігається відсутність росту культури дисоціативної форми *M. bovis* 117a варіанта.

Характеристика культуральних властивостей *M. bovis* 117 а варіанта, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 3°С

3-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий сіруватого кольору	Ріст відсутній	Ріст відсутній	Ріст відсутній
7-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий сірувато-жовтого кольору	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт	Ріст відсутній. За лінією посіву шорсткий наліт	Ріст відсутній
14-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву декілька дрібних колоній блідо-рожевого кольору	Шорсткий наліт за лінією посіву помаранчевого кольору	Ріст відсутній
30-а доба дослідю			
Контроль	Концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Ріст відсутній

Отже, ці дослідження засвідчили, що ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетат за різних концентрацій пригнічує ріст і розвиток патогенного штаму *M. bovis*, культивованого на середовищі з рН 7,1 та 6,5 за температур 37 °С та 3°С; протягом 90 діб спостерігалася відсутність росту колоній даного штаму мікобактерій, що свідчить про його туберкулостатичну дію.

Різні концентрації ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату (0,1, 0,5 %) на середовищі з рН 6,5 та 7,1 за температури 3°С не впливають на характер росту колоній дисоціативних (апатогенних) форм *M. bovis* 117а варіанта: ріст відбувається так само, як і в контролі. Встановлено, що 1 % концентрація ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-ілтіо)ацетату затримує ріст і розвиток колоній впродовж 30 діб дослідю, що засвідчує його туберкулостатичну дію за високої концентрації.

В якості препарату порівняння, використовувався класичний туберкулостатик ізоніазид за різних концентрацій, рН середовища та температур (3 та 37 °С). Ізоніазид, згідно з класифікацією протитуберкульозних препаратів міжнародної спілки боротьби із туберкульозом, відноситься до I групи - препарати високої ефективності. Як контроль використовували *M. bovis* 100 пасажу та дисоціативні форми 117 а варіанта 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). *M. bovis* 117 а варіанта культивували за температури 3°С на середовищі з препаратом ізоніазид у зазначених концентраціях у термостаті з охолоджуючим ефектом протягом трьох місяців на середовищі з рН 6,5 та рН 7,1 (в кількості десять пробірок із кожною концентрацією препарату). У виділених та накопичених мікобактерій вивчали строки появи первинного росту, його інтенсивність і характер субкультури.

У таблиці 5 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 7,1, що додатково містило 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 5

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	Децо 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	Децо збільшилася кількість поодиноких дрібних колоній	Ріст відсутній

Характеризуючи отримані дані, що наведені в таблиці 5, 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 колонії білуватого кольору, на 60-добу їх кількість збільшується і на 90-у добу визначено 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. 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 представлені в таблиці 6.

Таблиця 6

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

До 14 доби дослідю ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 6,5 за температури 37 °С не відмічався.

5 Аналізуючи результати дослідю, наведені в табл. 6, нами визначені відмінності дії 1 % концентрації препарату ізоніазид на середовищах з рН 6,5, і 7,1. Якщо на середовищі з рН 7,1 ріст культури *M. bovis* 100 пасажу протягом 90 діб 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.

15 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.

У таблиці 7 систематизовано дані про культуральні властивості дисоціативних форм *M. bovis* 111 а варіанта, який культивували на середовищі з рН 7,1, що додатково містило препарат ізоніазид у трьох концентраціях.

20 Вже з 3-ї доби дослідю спостерігається ріст культури 117а варіанта дисоціативних форм *M. bovis* на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С за всіх концентрацій препарату.

25 Аналізуючи вплив різних концентрацій препарату ізоніазид на культуральні властивості 117а варіанта *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 7,1 за температури 37 °С відмічено, що протягом 30-и діб спостереження за 0,1 та 0,5 % концентрацій відбувається ріст культур: у вигляді слизового нальоту за лінією посіву - 3 доба, росту дрібних колоній блідо-помаранчевого кольору (до 14 доби) до суцільного росту з характерною пігментацією (помаранчевого кольору) -

30-а доба досліду. За 1 % концентрації препарату ізоніазид протягом перших 14 діб досліду спостерігається слизовий наліт за лінією посіву, а на 30-у - слабкий ріст дрібних поодиноких колоній блідо-помаранчевого кольору.

Таблиця 7

Характеристика культуральних властивостей 117 а варіанта *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 7,1 з препаратом ізоніазид за температури 3°C

3-а доба досліду			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт сіруватого кольору	Слизивий наліт сіруватого кольору за лінією посіву	Ріст поодинокі помаранчевого кольору	слабкий. колонії
7-а доба досліду			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт сіруватого-жовтого кольору	За лінією посіву декілька дрібних блідо-помаранчевого кольору	Ріст поодинокі сіруватого-помаранчевого кольору	слабкий. колонії
14-а доба досліду			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву декілька дрібних блідо-помаранчевого кольору	За лінією посіву збільшилась кількість дрібних сіруватого-помаранчевого кольору	Слизивий наліт сіруватого кольору за лінією посіву
30-а доба досліду			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	За лінією посіву збільшилась кількість дрібних сіруватого-помаранчевого кольору	Ріст поодинокі блідо-помаранчевого кольору

5

У таблиці 8 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis* 117а варіанта, який культивували на середовищі з рН 6,5, що додатково містило препарат ізоніазид у трьох концентраціях.

Таблиця 8

Характеристика культуральних властивостей 117 а варіанта *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 6,5 з препаратом ізоніазид за температури 3°C

3-а доба досліду			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт, поодинокі сіруватого-гірчичного кольору	Слизивий наліт сіруватого кольору	Слизивий наліт сіруватого кольору	Слизивий наліт сіруватого кольору

10

7-а доба дослідіу			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Слизивий наліт, поодинокі колонії сірватого-гірчичного кольору	За лінією посіву колоній помаранчевого кольору	Слизивий наліт сірватого кольору	Слизивий наліт сірватого кольору
14-а доба дослідіу			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній гірчичного кольору	За лінією посіву колоній помаранчевого кольору	Слизивий наліт сірватого кольору	Слизивий наліт сірватого кольору
30-а доба дослідіу			
Контроль	Концентрація препарату ізоніазид		
	0,1 %	0,5 %	1 %
Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній помаранчевого кольору	Суцільний ріст колоній сірватого-помаранчевого кольору	Слизивий наліт сірватого-помаранчевого кольору

Оцінюючи вплив різних концентрацій препарату ізоніазид на культуральні властивості 117a варіанта *M. bovis*, культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 3°C, нами виявлено подібну тенденцію, як і під час дослідження цієї культури за рН 7,1: протягом перших 3-х діб спостереження за всіх досліджуваних концентрацій виявлений слизивий наліт сірватого кольору (на відміну від контролю, де спостерігалися поодинокі колонії сірватого-гірчичного кольору); на 7-у та 14-у добу - за концентрацій препарату 0,5 та 1 % змін не спостерігалось, за концентрації препарату 0,1 % - збільшення за лінією посіву дрібних колоній помаранчевого кольору, в контролі - суцільний ріст колоній гірчичного кольору; на 30-у добу - відзначено суцільний ріст колоній помаранчевого кольору (контроль, 0,1 % концентрація), сірватого-помаранчевого кольору (0,5 % концентрація). За 1 % концентрації препарату ізоніазид спостерігаються подібні зміни в рості культури дисоціативної форми *M. bovis* 117a варіанта, як і протягом перших 14 діб дослідіу. Відзначався слизивий наліт сірватого-помаранчевого кольору.

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 °C, 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 °C ріст патогенного штаму *M. bovis* 100-го пасажу не стримує.

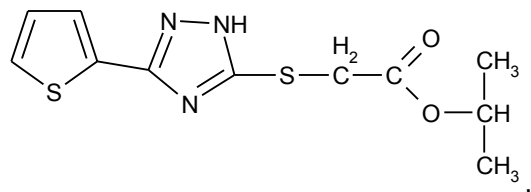
Різні концентрації препарату (0,1, 0,5 та 1 %) на середовищі з рН 6,5 та 7,1 за температури 3 °C не впливають на характер росту колоній дисоціативних (апатогенних) форм *M. bovis* 117a варіанта: ріст відбувається так само, як і в контролі, що свідчить про дещо меншу туберкулостатичну дію, ніж у сполуки, яка заявляється.

Таким чином, сполука, що заявляється, проявляє виражену туберкулостатичну дію та може бути використана в подальшому для створення нових протитуберкульозних засобів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Похідне 5-тієніл-1,2,4-триазол-3-тіону ілтію)ацетат формули:

ізопропіл-2-(3-(тіофен-2-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-



30

що проявляє туберкулостатичну дію.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

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

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