Шифр «Проблема H1N1»

Синтез та противірусна дія заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти

ЗМІСТ

Вступ 3

Розділ І. Огляд літератури..... 7

1.1 Загальні відомості про вірус грипу 7

1.2 Зареєстровані лікарські препарати проти вірусу грипу 9

1.2.1 Препарати з недоведеною ефективністю 9

1.2.1.1 Препарати інтерферонів……..9

1.2.1.2 Індуктори інтерферонів (широкого спектру дії) 10

1.2.1.3 Інгібітори злиття 10

1.2.2 Препарати з доведеною ефективністю 11

1.2.2.1 Блокатори M_2-каналів 12

1.2.2.2 Інгібітори нейрамінідази 12

1.2.2.3 Синтетичні нуклеозиди 15

1.2.2.4 Інгібітори ендонуклеази 16

1.3 Заключення. Постановка задачі……..……17

Розділ ІІ Експериментальна частина 18

2.1 Похідні заміщених амідів карбонової кислоти……..……18

2.2 Синтез заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти 19

Розділ ІІІ Біологічні дослідження..... 26

3.1 Противірусна дія заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти..... 26

Висновки 29

Список використаних джерел 30

ВСТУП

В Україні, як правило, двічі на рік (восени та навесні) спостерігається епідемія вірусу грипу. Грип дуже легко сплутати на перших етапах зі звичайною застудою, що не визиває особливих занепокоєнь. Проте підступність вірусної інфекції закладається саме в край тяжких ускладненнях, особливо пневмонія та серцева недостатність, які і спричиняють летальні наслідки.

Особливо слід брати до уваги характерну хворобливість сьогоденного суспільства, що ускладнює перебіг грипу, наявні у багатьох такі хронічні хвороби як ожиріння, діабет, хронічні легеневі захворювання, та особливо розповсюджені на території нашої країни, серцево-судинні захворювання. Статистично доведено, що при наявності даних хронічних хвороб спостерігається особливо небезпечна смертельна подвійна геморагічна пневмонія [1].

Зазвичай, коли людина перехворіла на певний вірус один раз, то відповідно до нього вже утворюється імунітет, що не дає можливість підхопити його повторно, навіть якщо буде відбуватися тісний контакт з хворою особою. Подібний ефект зумовлений тим, що організм людини кожного разу виробляє конкретний імунітет, який відповідає певному типу вірусу. На жаль, проти вірусів грипу така властивість неефективна, через його високу характерну мутагенність. Одна й та ж людина щосезону може хворіти на грип, незважаючи навіть на те, що кілька років тому було зроблено щеплення вакциною [2].

За допомогою проведених раніше спостережень сучасна наука знає, що генна будова саме вірусу A/H1N1 є непростою. Він складається з вірусу свинячого грипу, який було знайдено в Північній Америці; з гену вірусу свинячого грипу, в Європі й Азії; а також гени пташиного вірусу грипу, що були переплетені з генами людського грипу. Звідси слідує, що в будові вірусу A/H1N1 наявні чотири різних джерела.

Сьогодні досліджено, що варіанти вірусів грипу, які спромоглися вирости до пандемічних масштабів, виникають за допомогою таких двох механізмів:

- переплетення генів між тваринними вірусами, вірусами птахів та

людини;

- адаптація вірусів тварин та птахів безпосередньо до людини [3].

Свинячий грип (ВСГ) – це високопатогенне респіраторне захворювання, яке відноситься до вірусів грипу типу А. На сьогодні для боротьби з цим вірусом використовують відповідні вакцини. Вакцинація найбільш доступний та ефективний варіант, але через високу мінливість вірусу, зазвичай не найбільш актуальний.

Саме тому є дуже важливим пошук нових противірусних препаратів.

Об'єкт дослідження: заміщені аміди 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти.

Предмет дослідження: противірусна дія заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти.

Мета роботи: синтез заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти та проведення ряд досліджень з виявлення противірусної дії даної сполуки, встановити залежність структура – фармакологічна активність синтезованих сполук.

Завдання дослідження:

- здійснити огляд наукової літератури з теми дипломної роботи;
- провести дослідження деяких властивостей синтезованих сполук;
- проаналізувати одержані результати щодо противірусної активності синтезованих сполук та відібрати перспективні речовини;
- розглянути залежність: структура – фармакологічна активність синтезованих сполук.

Гіпотеза: похідні заміщених амідів карбонових кислот є перспективною групою речовин з ймовірністю виявлення високої противірусної дії.

Наукова новизна отриманих результатів: одержані невідомі в науковій літературі заміщені похідні амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти.

Фармакологічна ефективність досліджуваних сполук визначається за допомогою значення EC_{50}, IC_{50} та SI. Дослідження по визначення ефективності даних сполук проводилось в експериментах *in vitro*. За допомогою цих методів була визначена ймовірна противірусна дія досліджуваних сполук на вірус H1N1 Каліфорнія/07/2009. В експериментах *in vitro* встановлена залежність ймовірної фармакологічної активності проти вірусу H1N1 в досліджуваних сполуках залежно від їх будови. Доведено, що синтезовані сполуки мають практичний інтерес щодо пошуку нових противірусних препаратів.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів. Проведені дослідження можуть бути включені до тем лекцій у вищих навчальних закладах за спеціальністю фармація та фармацевтична хімія. Синтезовані речовини можуть стати основою для отримання нових лікарських засобів з противірусною дією.

Особистий внесок автора. Особисто автором було здійснено пошук та огляд наукової літератури з теми дипломної роботи. Особисто автор брав участь у виконанні експериментальної частини роботи. Науковому керівникові належить ідея розробки заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти та дослідження їх на противірусну активність. Спільно з керівником проаналізовано отримані результати дослідження, узгоджено структуру роботи, а також сформульовані висновки. Наукову консультацію з експериментальної частини здійснив науковий консультант **Шифр «ПроблемаH1N1»**

Апробація результатів роботи: результати, які були отримані внаслідок проведеної роботи, доповідалися та були обговорені на **Шифр «ПроблемаH1N1»**.

Матеріали дипломного дослідження висвітлені в статті у фаховому виданні з хімії **Шифр «ПроблемаH1N1»** та у тезах доповіді зазначеної науково-практичної конференції.

Методи дослідження. Для виконання поставлених завдань застосовували синтетичні, спектральні, математично-статистичні, програмно-моделюючі та

лабораторні методи досліджень.

Структура і обсяг дипломної роботи. Робота викладена на 35 сторінках друкованого тексту та включає вступ, огляд літератури, експериментальну частину, висновки та список використаних джерел.

РОЗДІЛ І. ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ ПРО ВІРУС ГРИПУ

(огляд літератури)

1.1. Вірус грипу та його різновиди

Вірус H1N1 належить до типу А. Він може інфікувати людину через те, що в його будові присутні глікопротеїни, а саме гемаглютинін і нейрамінідаза.

Гемаглютинін за номенклатурою позначають літерою «Н», його існує 16 різновидів, які можуть різнитися за амінокислотним складом (рис. 1.1). Його функція в будові віруса заключається в утворенні зв'язку з клітиною господаря. Насамперед, він вступає в контакт з сіаловою кислотою, яка знаходиться на поверхні мембрани клітини [4].

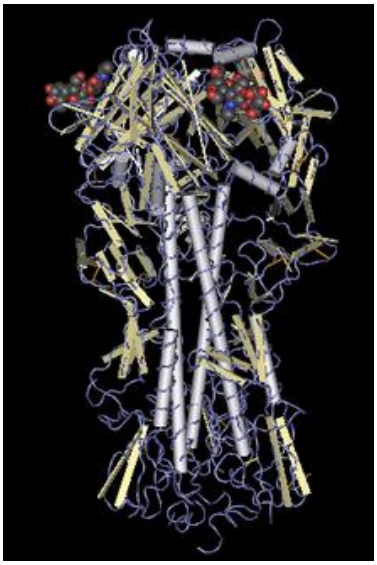


Рис. 1.1. Молекула гемаглютиніну

Функція глікопротеїну нейрамінідази в руйнуванні полісіалічної поверхневої кислоти для того, щоб була можливість виходу реплікованого вірусного покоління. Нейрамінідаз налічують дев'ять різних видів, в залежності від амінокислотних послідовностей в їх структурах N1-N9 (рис. 1.2) [5].

Проте, навіть якщо існує доволі багато комбінацій вказаних раніше глікопротеїнів, які спроможні до ураження клітини хазяїна, з них всього три підтипи грипу А в основному спричиняють успішне зараження клітини й передачу вірусу наступній. Подібний факт звуження можливостей до успішної

взаємодії відіграє вирішальне значення для розробки ефективних ліків та вакцин [6].

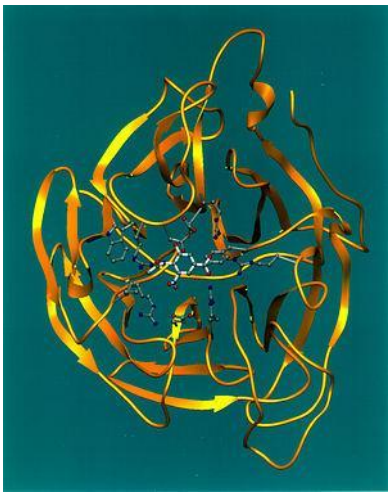


Рис. 1.2. Молекула нейрамінідази

Віруси типу А зазвичай мають схильність до утворення реасортантів через змішане зараження, звідси і походить сегментарність генома вірусу. Кожний з відповідних вірусів містить в своїй будові 8 геномних сегментів (рис. 1.3). Виділяє вірус грипу серед інших саме те, що всі 8 сегментів, особливо в гені гемаглютиніну, утворюють часті мутації які неможливо спрогнозувати, що впливає на виникнення нових пандемічних видів [6].

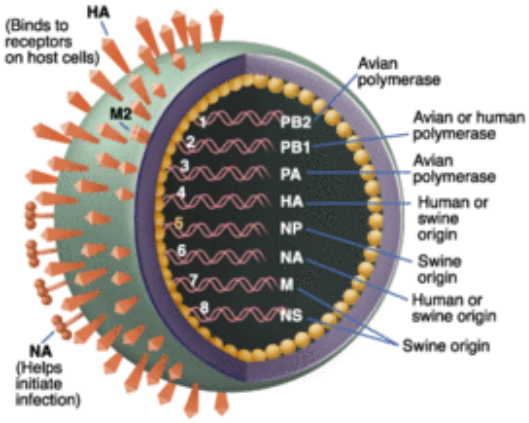


Рис. 1.3. Будова вірусу

Рапорт ВООЗ з приводу розповсюдження грипу H1N1 2009 р. показав, що майже у всіх країнах світу було виявлено лабораторно підтверджені випадки ураження вірусом A/H1N1, а також 17000 смертей. У Сполучених Штатах

Америки захворіло за весь період пандемії 59 мільйонів людей, та з них було госпіталізовано 265 тисяч, померло 12 тисяч [7].

1.2 Зареєстровані лікарські препарати проти вірусу

У світі використовуються багато різних лікарських засобів для боротьби проти вірусу H1N1. Існують ліки як з доведеною противірусною ефективністю так і з недоведеною.

Розподіл препаратів до відповідних груп залежить від кількості проведених рандомізованих незалежних клінічних випробувань. На фармакологічному ринку існують багато препаратів що не вивчалися в рандомізованих незалежних клінічних випробуваннях, тому їх застосування виявляє сумніви у фахівців. Проте в дослідженнях, що були все таки проведені, вказується певна наявна противірусна активність, такі ліки часто застосовують як безпечні для вагітних та дітей до 5 років (Віферон, Тілорон, Арбідол) [8]. А до препаратів з доведеною противірусною ефективністю відносяться тільки ті над якими було проведено багато незалежних клінічних випробувань і як результат була підтверджена їх противірусна дія (Занамівір, Озельтамівір, Рибавірин).

1.2.1 Препарати з недоведеною противірусною ефективністю

До препаратів з недоведеною противірусною ефективністю належать:

- Препарати інтерферонів (Віферон)
- Індуктори інтерферонів (широкого спектру дії) (Тілорон)
- Інгібітори злиття (Арбідол)

1.2.1.1 Препарати інтерферонів

Препарати інтерферонів, а саме діючою речовиною даних препаратів являється інтерферон альфа-2b. Наприклад, Віферон. Виробник стверджує в інструкції, що цей препарат має противірусні, імуномоделюючі, антипроліферативні властивості. Також він може пригнічувати реплікацію РНК

і ДНК-вірусів. Але на жаль, недостатньо доказових робіт, що підтверджували б дану активність [9].

1.2.1.2 Індуктори інтерферонів (широкого спектру дії)

При проведенні експериментів на тваринах, вживання Тілорону зумовлювало збільшення вироблення інтерферонів в організмі [10]. Що відіграє важливу функціональну роль в утворенні як противірусного так і протипухлинного імунітету. Але нажаль, доза Тілорону, що визвала значимий скачок вироблення інтерферону у піддослідних пацюків, відповідала близько 200 мг/кг на день. В перерахунку на людський організм ефективна кількість Тілорону для людини становить 12 грам на день, що відповідно в 100 разів більше того значення, що рекомендує виробник [11]. Хімічна формула та систематизована назва за IUPAC Тілорону зображена на рисунку 1.6.

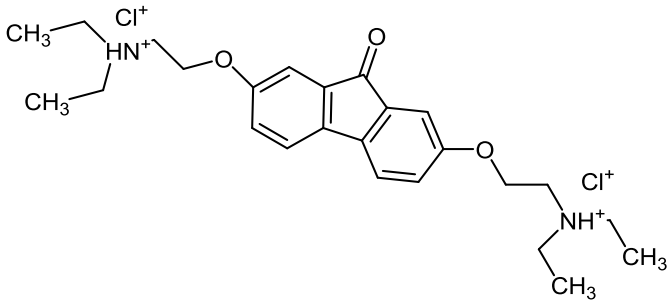


Рис. 1.6 Тілорон - 2,7-*біс*-[2-(діетиламіно)етокси]флуорен-9-ону дигідрохлорид.

1.2.1.3 Інгібітори злиття

Арбідол (рис. 1.7) противірусний засіб з імуномоделюючими та протигрипозними властивостями, що спроможний пригнічувати віруси грипу А та В. Механізм дії препарату в запобіганні контакту між вірусом і клітиною та в блокуванні проникнення вірусу в середину клітини. Такий ефект виникає при погіршенні умов для віруса підчас злиття ліпідної оболонки клітини людини та капсиду вірусу [12]. Сприяє синтезу інтерферонів, стає каталізатором гуморальних та клітинних відповідей імунної системи, збільшує фагоцитарний функціонал макрофагів [13]. Знижує можливість розвитку тяжких ускладнень, що були спричинені інфекцією вірусу, а також пригнічує

вплив хвороби на поточні хронічні захворювання пацієнта [14].

Терапевтичний ефект проявляється через зниження відповідно інтоксикації та явних симптомів захворювання, зменшується тривалість хвороби.

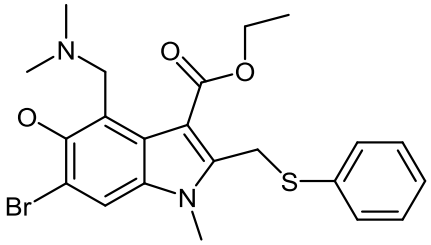


Рис. 1.7 Арбідол - Етиловий ефір 6-бром-5-гідрокси-1-метил-4-диметиламінометил-2-феніл-тіометиліндол-3-карбонової кислоти

Основна кількість досліджень по Арбідолу опубліковані російською мовою, цей фактор ускладнює аналіз їх якості міжнародним співтовариством через мовний бар'єр. Оперуючись на наявні публікації, в Арбідолі є потенціал в якості противірусного засобу широкого дії [16].

У 2015 році були опубліковані відповідні проміжні результати. Автори дослідження стверджують, що ефект від Арбідолу в пацієнтів при лікуванні ним вірусної інфекції грипу більше всього виражений на протязі найбільш інтенсивного періоду захворювання і відповідно проявляє свої властивості у вигляді зменшення термінів перебування симптомів хвороби, провокує зниження тяжких проявів захворювання у піддослідних і зменшенням термінів елімінації у вірусу [16].

1.2.2 Препарати з доведеною противірусною ефективністю

Існує чотири групи противірусних препаратів, що доведено впливають на вірус H1N1 типу A [17]:

- блокатори M_2-каналів (амантадин (Мідантан, ПК-Мерц), ремантадин (Орвірем));
- інгібітори вірусної нейрамінідази (занамівір, озельтамівір);
- синтетичні нуклеозиди (рибавірин) [18];

- інгібітори ендонуклеази (балоксавір марбоксил (ксофлюза).

1.2.2.1 Блокатори M_2-каналів

Можливість амантадину (рис. 1.8) і ремантадину (рис. 1.9) протистояти вірусам реалізується через шлях блокування певних йонних M_2-каналів вірусу H1N1типу А, в наслідок чого порушується його основна властивість проникнення в клітину та вивільняти рибонуклеопротеїд [19]. Звідси слідує, що пригнічується найважливіший етап у відтворенні вірусів. За даними досліджень від організації CDC, амантадин та ремантадин вже являються неефективними при лікуванні та профілактиці грипу. За їхніми даними майже 92,0 % вірусів грипу А втратили чутливість до цих препаратів [20].

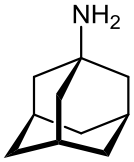


Рис. 1.8 Амантадин - Адамантан-1-амін

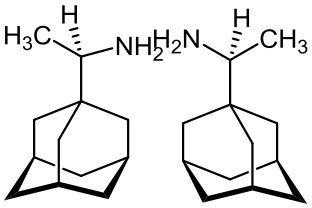


Рис. 1.9 Ремантадин - (RS)-1-(1-адамантил) етан амін.

Проте, що цікаво, похідні амантадину, мають властивість пригнічувати репродукцію резистентного до ремантадину віруса A(H1N1)pdm09 [21].

1.2.2.2 Інгібітори нейрамінідази

У змаганні за найбільш ефективними та найменш шкідливими противірусними препаратами, що могли б використовуватися при захворюванні грипом, більшість вчених та лікарів звертаються до двох препаратів: Озельтамівір (Таміфлю) та Занамівір (Реленза). Вони являють собою противірусні препарати прямої дії (ППД). Їхня здатність в блокуванні

нейрамінідази вірусів грипу H1N1 типу А. Також важливо зазначити, що лише озельтамівір можна впроваджувати як систематичний засіб.

Озельтамівір та Занамівір являють собою препарати які відносяться до другого покоління. Вони створені недавно за допомогою цілеспрямованої розробки, яка була заснована на знаннях про повний життєвий цикл вірусу.

Розробка озельтамівіру та занамівіру є дуже важливим етапом, який можна віднести до одних з дійсно суттєво важливих досягнень в боротьбі з грипом за останні десятиліття. При впровадженні інгібіторів нейрамінідази зменшується можливість повторного ураження на 79-100%, та відчутно зменшується час лікування (на 2,5 дня). За даними досліджень знижується відсоток ускладнень від грипу. Без тяжких ускладнень переносять хворобу 75-86,5% пацієнтів.

Озельтамівір (рис. 1.10) (інші назви озельтамівір фосфат, осельтамівір) є противірусним лікарським засобом, що відноситься до групи інгібіторів нейрамінідази. Цей препарат більш відомий під назвою Таміфлю [22].

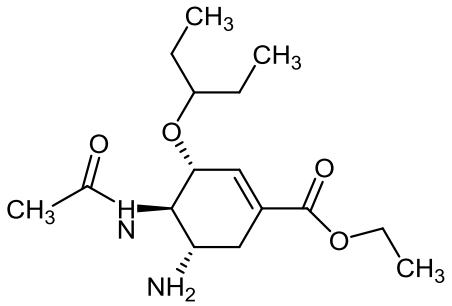


Рис. 1.10 Озельтамівір - Етил(3,4,5)-5-аміно-4-ацетамідо-3-(пентан-3-ілокси)циклогекс-1-ен-1-карбоксилат

Озельтамівір фосфат – це попередник озельтамівір карбоксилату, який є інгібітором нейрамінідази. Карбоксилат утворюється в організмі з фосфату під впливом травних ферментів [23].

Згідно з експериментів *in vitro*, озельтамівір карбоксилат утворює зв’язок з поверхневим білком вірусів, а саме нейрамінідазою типів А. Через те що нейрамінідаза слугує віріонами грипу відповідно для виходу з клітини.

Озельтамівір, так як і інші інгібітори нейрамінідази, має запобігти

розповсюдженню вірусу по організму [24].

Поміж цього, інгібітори нейрамінідази значно зменшують синтез деяких цитокінів, і через цей ефект перешкоджають розвитку та розповсюдженню місцевої запальної реакції, а також при цьому послаблює симптоми вірусної хвороби [25].

Дослідження що були опубліковані до 2009 року показують, саме те що озельтамівір зменшує тривалість спостереження симптомів грипу у пацієнтів без наявності інших захворювань приблизно скорочувались на 0,5 дня, а пацієнтів з групи ризику на 0,74 дня. Ці результати дійсні при умові якщо лікування було почато в перші години після контакту з хворою людиною [26].

При реальних умовах вірусної пневмонії грипу ефективність цього препарату обмежена. Причиною цього факту являється його здатність впливати на розповсюдження вірусу в організмі тільки за умови раннього призначення, бажано ще за інкубаційного періоду, або в перші 24-48 години від початку видимих симптомів [27].

Занамівір (Реленца) (рис. 1.11) представляє себе як потужний та високоселективний інгібітор вірусної репродукції штаму H1N1, а також інших підтипів класу А. Активність препарата представляється виключно як є позаклітинна [28].

Реленца після проведення інгаляції препарату осідає на дихальних шляхах у досить високій концентрації, досягаючи тим самим місця розмноження вірусу. Значна кількість Занамівіру в дихальному тракті сприяють швидкій противірусної дії препарату вже через 10 секунд після завершення інгаляції. Максимальна концентрація препарату досягається всього через кілька хвилин.

Реленца високоефективний препарат, що було доведено клінічними дослідженнями (зменшення часу захворювання аж до 40%, тяжких симптомів – до 44 %, життєво небезпечних ускладнень– на 32 %, ризик інфікування грипом зменшився на 79 %) [29].

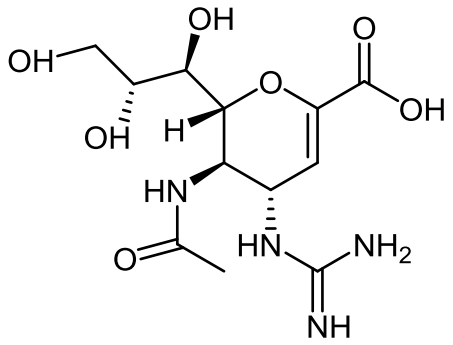


Рис. 1.11 Занамівір - (2R,3R,4S)-4-[(діамінометилетилен)аміно]-3-ацетамідо-2-[(1R,2R)-1,2,3-тригідроксипропіл]-3,4-дигідро-2*H*-піран-6-карбонова кислота.

Ризик утворення стійких штамів до препарату занамівіру є набагато нижчим, ніж для Озельтамівіру.

Враховуючи дані ВООЗ, під час пандемії свинячого грипу генна мутація в положенні Н274У призвела до того, що виникли озельтамівіррезистентні віруси. Натомість резистентність до Занамівіру не було жодного разу виявлено.

Дослідження 4500 ізолятів вірусу грипу, знайдених у США в 2009–2010 рр., показали, що всього 1,2% вірусів H1N1 дійсно були стійкими до озельтамівіру, проте 99,8% із них були резистентними до сполук з першого покоління препаратів – амантадину та ремантадину [30].

1.2.2.3 Синтетичні нуклеозиди

Рибавірину (рис. 1.12) властива противірусна активність щодо певних ДНК- і РНК-вірусів. Рибавірин – це антиметаболіт нуклеотидів. Він головним чином перешкоджає реплікації геномів у вірусів. Показана значна ефективність Рибавірину в боротьбі проти вірусу грипу H1N1.

Використовують Рибавірин часто у формі аерозолю саме для подолання респіраторного синцитіального вірусу у дітей. Проте ефективність препарату не була підтверджена у багатьох дослідженнях [31].

Рибавірин у Мексиці продається саме як ліки від грипу. Результати досліджень відрізняються один від одного.

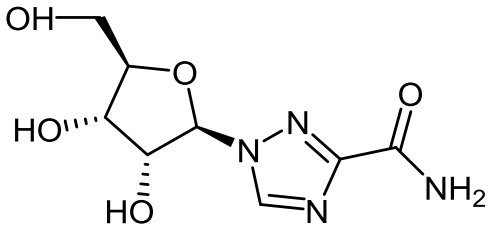


Рис. 1.12. Рибавірин – 1-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-дигідрокси-5-(гідроксиметил)оксолан-2-іл]-1*H*-1,2,4-тріазол-3-карбоксамід.

Зазвичай використовується в поєднанні з кетаміном, мідазолом та амантадином, безпосередньо для лікування сказу.

Як жінки, так і чоловіки за час лікування і якнайменше 7 місяців після прийому повинні утриматися від продовження роду. У літніх людей необхідно оглянути нирки. А також при захворюваннях серцево-судинної системи використовують тільки виключно після ретельного обстеження [32].

1.2.2.4 Інгібітори ендонуклеази

Перед черговою сезонною епідемією грипу міністерство з контролю за продуктами та ліками в США було схвалено новий препарат для боротьби з грипом, а саме ксофлюзу (рис. 1.13). А вже за кілька місяців препарат дозволили в Японії.

Ксофлюза являє собою інгібітор ендонуклеази, який унеможливлює розмноження вірусу. Для досягнення значного терапевтичного результату ліки потрібно вжити при проявах перших симптомів захворювання, точніше до 48 год від початку хвороби [33].

Балоксавір марбоксил – це проліки. В організмі він перетворюється на балоксавір, який являє собою інгібітор кеп-залежної ендонуклеази. Це специфічний для вірусу H1N1 фермент, який знаходиться в його РНК-полімеразному комплексі. Цей фермент необхідний саме для транскрипції віруса [34].

Відмінність його від інгібіторів нейрамінідази (Озельтамівіру, Занамівіру) полягає в перешкоджанні відкріплення нових віріонів саме від поверхності

інфікованих клітин, тим самим обмежуючи поширення інфекції по організму. Звідси слідує, що Балоксавір пригнічує самовідтворення вірусу грипу. Дана молекула пригнічує синтез мРНК, що являється першим етапом відтворення вірусу саме після його потрапляння до клітини, після чого неможливим стає утворення білків, необхідних для формування вірусних частинок [35].

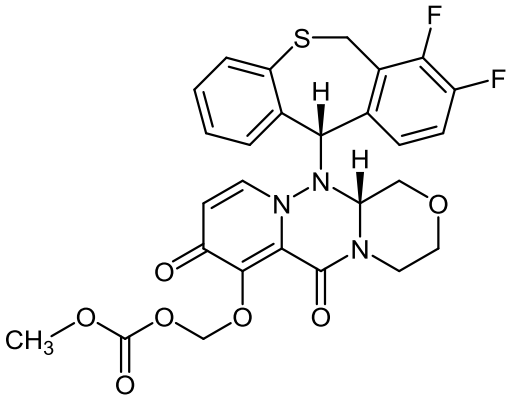


Рис. 1.13 Ксофлюза - ({(12aR)-12-[(11S)-7,8-дифтор-6,11-дигідродібензо[b,e]тиепін-11-іл]-6,8-діоксо-3,4,6,8,12,12a-гексагідро-1*H*-[1,4]оксазино[3,4-c]піридо[2,1-f][1,2,4]триазин-7-іл}окси)метилметил карбонат.

Проте, нажаль, ще під час клінічних випробувань вияснилось, що в організмах 10% дорослих пацієнтів і 23,4% дітей вірус мутував через що отримав повну або часткову стійкість до Ксофлюзи [36].

Також в Україні недавно був зареєстрований медикамент з РНК дріжджів Нуклекс. Він містить в своїй будові високо очищену РНК, що має в складі приблизно 20-25 нуклеотидів. Цей медикамент вже добре зарекомендував себе як ефективний при багатьох інфекційних вірусних захворюваннях. Спостерігалась і висока противірусна дія цього медикаменту на H1N1 [37].

1.3. Заключення. Постановка задачі

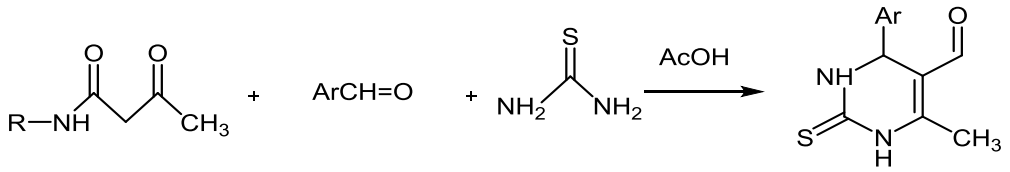
Аналіз літературних джерел щодо противірусних засобів дозволяє констатувати, що необхідно проводити пошук нових, безпечних для людини, препаратів. Пошук таких лікарських засобів можливий серед заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a,4a-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти.

РОЗДІЛ ІІ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1 Похідні заміщених амідів карбонової кислоти

Аміди 4-арил-6-метил-2-тіоксо-1,2,3,4,тетрагідро-піримідин-5-карбонових кислот – сполуки Біджинеллі. Їхня головна особливість в близькій спорідненості до дигідропіримідинових блокаторів кальцієвих каналів, та окрім цього вони володіють противірусною активністю [38].

Синтезується відповідно до схеми 2.1.



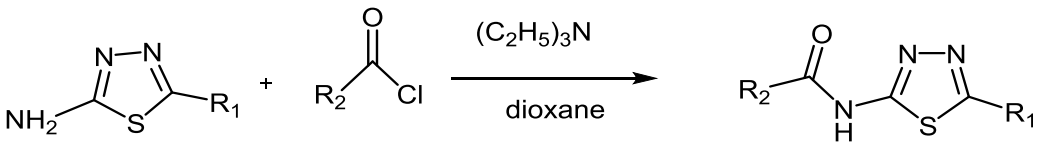
- I – R = H (а), Ph (б), 2-$CF_3C_6H_4$ (в), 4-ClC_6H_4 (г), 4-MeC_6H_4 (д);
- II – Ar = 3,4-$(OH)_2C_6H_3$ (а), 3-MeO-4-OH-C_6H_3 (б), 2,4-$(CH_3O)_2C_6H_3$ (в), 2-MeO-5-BrC_6H_3(г);
- III – Ar = 3,4-$(OH)_2C_6H_3$, R = Ph (а); Ar = 3-MeO-4-OH-C_6H_3, R = H (б), Ph (в), 4-ClC_6H_4 (г), 2-$CF_3C_6H_4$ (д); Ar = 2,4-$(CH_3O)_2C_6H_3$, R = H (е), Ph (є), 4-ClC_6H_4 (ж), 4-MeC_6H_4 (з); Ar = 2-MeO_5-BrC_6H_3, R = H (і), Ph (к), 4-ClC_6H_4 (л), 4-MeC_6H_4 (м), 2-$CF_3C_6H_4$ (н).

Схема 2.1

N-(1,3,4-тіадіазол-2-іл)заміщені аміди кислот алканкарбонового ряду

Похідні 1,3,4-тіадіазолу мають широкий спектр фармакологічної дії: протипухлинна, анальгезуюча, протизапальна, транквілізуюча, протимікробна, противірусна, протисудомна [39].

N-(1,3,4-тіадіазол-2-іл)заміщені аміди кислот алканкарбонового ряду, синтезуються взаємодією 2-аміно-5-алкіл-1,3,4-тіадіазолу з відповідними ацилхлоридами (схема 2.2) [40].

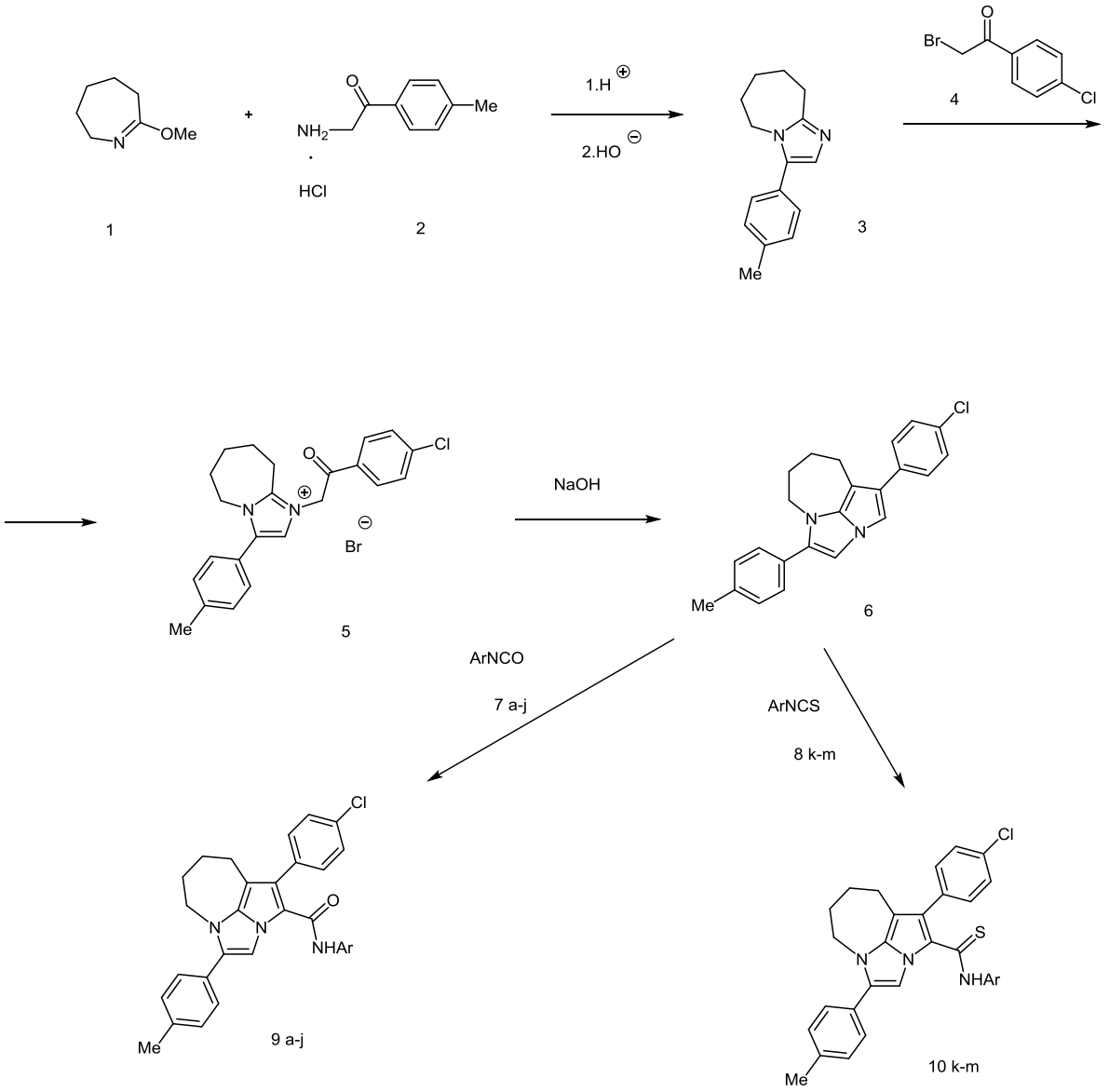


R_1 = CH_3, C_2H_5, C_3H_7; R_2 = CH_3, $CH_3(CH_2)_3$.

Схема 2.2

2.2 Синтез заміщених похідних амідів 1-(4[2]-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти

Серія похідних аміду та тіоаміду 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти були синтезовані шляхом взаємодії 1-(4-хлорфенілу)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен з відповідним арилізо-(тіо) ціанатом в сухому бензені (схема 2.3).



9a Ar = Ph, 9b Ar = 2-MeO-C_6H_4, 9c Ar = 3-MeO- C_6H_4, 9d Ar = 4-MeO- C_6H_4, 9e Ar = 3-MeO-C_6H_4, 9f Ar = 4-MeO- C_6H_4, 9g Ar = 2-Cl- C_6H_4, 9h Ar = 3-Cl- C_6H_4, 9i Ar =4-Cl- C_6H_4, 9j Ar = 3,4-di-Cl- C_6H_3, 10k Ar = Ph, 10l Ar = 4-MeO- C_6H_4, 10m Ar =4-Cl- C_6H_4

Схема 2.3

Синтез 1-[2-(4-хлорофеніл)-2-оксо-етил]-3-(*пара*-толіл)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-імідазо[1,2-а] азепін-1-іл бромід 5.

До розчину 3-(4-метилфенілу)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-імідазо-[1,2-а] азепіну 3 (9,04 г, 0,04 моль) у 150 мл етилацетату додають α-бромо-4-метилацетофенон 4 (9,43 г, 0,04 моль). Реакційну суміш кип'ятять із зворотним холодильником протягом 1 години. Після охолодження фільтрують твердий продукт 5, промивають етилацетатом, потім висушують на повітрі.

Вихід - 16,0 г (87%). Т пл. 239 - 240 ° С (з етанолу). Емпірична формула: $C_{23}H_{24}BrClN_2O$, % : N 6.09. Знайдено %: N 6.16.

Синтез 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазацикло-пента-[cd] азулену 6

До суспензії 1-[2-(4-хлорфеніл)-2-оксоетил]-3-(*пара*-толіл)-6,7,8,9-тетрагідро-5Н-імідазо [1,2-а] азепін-1-бромід 5 (4,60 г, 0,01 моль) в 50 мл води додають 5% NaOH в 20 мл.

Реакційну суміш кип’ятять із зворотним холодильником протягом 3 годин. Після охолодження фільтрують твердий продукт 6, промивають водою, потім висушують на повітрі і перекристалізують з бензену.

Вихід - 1,73 г (48%). Т пл. 216 - 218 ° С. Емпірична формула: $C_{23}H_{21}ClN_2$, %: N 7.76. Знайдено, %: N 7.62.

Загальна процедура синтезу (4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а, 4а-діазациклопента [cd] азулен-2-карбонової кислоти ариламіди 9а - j.

Суміш 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазацикло-пента [cd] азулену 6 (0,005 моль) та відповідного арилізоціанату 7а кип'ятять із зворотним холодильником - j (0,005 моль) в 50 мл сухого бензену протягом 2 годин. Після охолодження фільтрують тверді продукти 9а-j, промивають бензеном, потім сушать на повітрі і перекристалізують з бензену або пропанолу-2.

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента [cd] азулен-2-карбонової кислоти феніламід 9а.

Вихід - 1,90 г (79%). Т пл. 212 – 213^{0}С (з бензену).

Емпірична формула: $C_{30}H_{26}ClN_3O$, %: Cl 7.40, N8.75. Знайдено %: Cl 7.56, N 8.53.

Спектр НМР(300 MHz, DMSO -d6), δ, ppm: 1.88–2.01 (2H, m, CH_2), 2.03–2.11 (2H, m, CH_2), 2.42 (3H, s, CH_3), 2.39–2.70 (2H, m, CH_2), 3.80–4.08 (2H, m, CH_2), 6.97 (1H, s, NH), 6.89–7.24 (5H, m, C_6H_5), 7.31 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.43 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4,), 7.47 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.56 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.84 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a,4a-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонова кислота (2-метоксифеніл) амід 9b.

Вихід - 1,76 г (69%).Т пл. 230 - 231^{0}С (від бензена).

Емпірична формула: $C_{31}H_{28}ClN_3O_2$, %: Cl 6.96, N 8.24. Знайдено, %: Cl 6.81, N 8.39.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.87–1.98 (2H, m, CH_2), 2.03–2,15 (2H, m, CH_2), 2.43 (3H, s, CH_3), 2.35–2.64 (2H, m, CH_2), 3.50 (3H, s, OCH_3), 3.85–4.05 (2H, m, CH_2), 7.45 (1H, s, NH), 6.75–8.43 (4H, m, C_6H_4,), 7.31 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.56 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.48 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.56 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.91 (1H, s, 3-CH).

(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a,4a-діазациклопента [cd]азулен-2-карбонова кислота (3-метоксифеніл) амід 9c.

Вихід - 1,86 г (73%). Т пл. 203 – 204 ^{o}С (з бензену)

Емпірична формула: $C_{31}H_{28}ClN_3O_2$, %: Cl 6.96, N 8.24.Знайдено, %: Cl 7.08, N 8.41.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ (ppm): 1.89–1.99 (2H, m, CH_2), 2.04–2.14 (2H, m, CH_2), 2.43 (3H, s, CH_3), 2.40–2.70 (2H, m, CH_2), 3.72 (3H, s, OCH_3), 3.82–4.12 (2H, m, CH_2), 6.43–7.06 (4H, m, C_6H_4), 7.01 (1H, s, NH), 7.31 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.45 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.48 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.59 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.86 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a,4a-діазациклопента [cd]азулен-2-карбонова кислота (4-метоксифеніл) амід 9d.

Вихід - 1,94 г (76%). Т пл. 202 - 204^{0}С (з бензену)

Емпірична формула: $C_{31}H_{28}ClN_3O_2$, %: Cl 6.96, N 8.24. Знайдено, %: Cl 6.85, N 8.33.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.85–1.95 (2H, m, CH_2), 2.02–2.13 (2H, m, CH_2), 2.43 (3H, s, CH_3), 2.41–2.74 (2H, m, CH_2), 3.71 (3H, s, OCH_3), 3.81–4.18 (2H, m, CH_2), 6.97 (1H, s, NH), 6.74 (2H, d, J = 9.3 Hz, C_6H_4), 7.06 (2H, d, J = 9.3 Hz, C_6H_4), 7.30 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.44 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.48 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.56 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.84 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а, 4а-діазациклопента [cd]азулен-2-карбонової кислоти (3-метилфеніл) амід 9е.

Вихід - 1,70 г (69%). Т пл. 218 - 219^0 С (з бензену)

Емпірична формула: $C_{31}H_{28}ClN_3O_2$, %: Cl 7.19, N 8.50.Знайдено, %: Cl 7.28, N 8.64.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.88–1.97 (2H, m, CH_2), 2.02–2.13 (2H, m, CH_2), 2.26 (3H, s, CH_3), 2.43 (3H, s, CH_3), 2.42–2.72 (2H, m, CH_2), 3.81–4.12 (2H, m, CH_2), 6.71–7.05 (4H, m, C_6H_4), 6.97 (1H, s, NH), 7.31 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.45 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.48 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.58 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.85 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента [cd]азулен-2-карбонової кислоти (4-метилфеніл) амід 9f.

Вихід - 1,65 г (67%). Т пл. 221 - 223^{0}С (з бензену).

Емпірична формула: $C_{31}H_{28}ClN_3O_2$, %: Cl 7.19, N 8.50.Знайдено, %: Cl 7.28, N 8.64.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.87–1.98 (2H, m, CH_2), 2.01–2.12 (2H, m, CH_2), 2.25 (3H, s, CH_3), 2.42 (3H, s, CH_3), 2.39–2.68 (2H, m, CH_2), 3.80–4.10 (2H, m, CH_2), 6.97 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.01 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 6.98 (1H, s, NH), 7.30 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.44 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.47 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.56 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.85 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а, 4а-діазациклопента

[cd]азулен-2-карбонової кислоти (2-хлорфеніл) амід 9g.

Вихід - 1,88 г (73%).Т пл. 202 - 203^{0}С (з пропанолу-2).

Емпірична формула: $C_{30}H_{25}Cl_2N_3O$, %: Cl 13.80, N 8.16. Знайдено, %: Cl 13.50, N 8.24.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.85–1.95 (2H, m, CH_2), 2.03–2.13 (2H, m, CH_2), 2.43 (3H, s, CH_3), 2.35–2.63 (2H, m, CH_2), 3.82–4.12 (2H, m, CH_2), 6.87–8.51 (4H, m, C_6H_4), 7.39 (1H, s, NH), 7.31 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.45 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_6H_4), 7.46 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.53 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.90 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a,4a-діазациклопента [cd] азулен-2-карбонової кислоти (3-хлорофеніл) амід 9h.

Вихід - 1,98 г (77%).Т пл. 205 - 206^{0}С (з пропанолу-2).

Емпірична формула: $C_{30}H_{25}Cl_2N_3O$, %: Cl 13.80, N 8.16.Знайдено, %: Cl 13.50, N 8.24.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.82–1.98 (2H, m, CH_2), 2.01–2.13 (2H, m, CH_2), 2.39 (3H, s, CH_3), 2.37–2.67 (2H, m, CH_2), 3.78–4.08 (2H, m, CH_2), 7.47 (1H, s, NH), 6.86–7.60 (12H, m, 3× C_6H_4), 7.82 (1H, s, 3-CH).

(4-Хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a, 4a-діазациклопента[cd] азулен-2-карбонової кислоти (4-хлорфеніл) амід 9i.

Вихід - 2,08 г (81%).Т пл. 245 - 246^{0}С (від пропанолу-2).

Емпірична формула: $C_{30}H_{25}Cl_2N_3O$, %: Cl 13.80, N 8.16.Знайдено, %: Cl 13.50, N 8.24.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.85–1.95 (2H, m, CH_2), 2.03–2.15 (2H, m, CH_2), 2.41 (3H, s, CH_3), 2.35–2.65 (2H, m, CH_2), 3.80–4.10 (2H, m, CH_2), 7.37 (1H, s, NH), 7.32 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.46 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.45 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.53 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_6H_4), 7.51 (2H, d, J = 8.6 Hz, C_6H_4), 7.61 (2H, d, J = 8.6 Hz, C_6H_4), 7.89 (1H, s, 3-CH).

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2a,4a-діазациклопента [cd]азулен-2-карбонової кислоти (3,4-дихлорфеніл) амід 9j.

Вихід - 2,08 г (87%).Т пл.250 - 251^{0}С (від пропанол-2).

Емпірична формула: $C_{30}H_{25}Cl_2N_3O$, %: Cl 13.8, N 8.16.Знайдено, %: Cl 13.5, N 8.24.

Спектр НМР (300 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.81–1.93 (2H, m, CH_2), 1.98–2.12 (2H, m, CH_2), 2.39 (3H, s, CH_3), 2.36–2.64 (2H, m, CH_2), 3.78–4.06 (2H, m, CH_2), 7.48 (1H, s, NH), 7.34 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.56 (2H, d, J = 7.8 Hz, C6H4), 6.97–7.79 (7H, m, C_6H_4+C_6H_3), 7.81 (1H, s, 3-CH).

Загальна процедура синтезу 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd] азулен-2-карботіонова кислота ариламіди 10 k-m.

Збивають суміш 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен 6 (0,005 моль) та відповідний арилізотіоціанат 8 к - м (0,005 моль) в 50 мл сухого бензену протягом 2 годин. Після охолодження фільтрують тверді осади 10 k-m, промивають бензеном, потім сушать на повітрі і перекристалізують з бензену або пропанолу-2.

1-(4-Хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а, 4а-діазациклопента [cd]азулен-2-карботіонова кислота феніламід 10k.

Вихід - 2,03 г (82%).Т пл. 196 – 197 ^oC

Емпірична формула: $C_{30}H_{26}ClN_3O$, %: N 8.47.Знайдено, %: N 8.65.

Спектр НМР (500 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.80–1.92 (2H, m, CH_2), 1.98–2.06 (2H, m, CH_2), 2.24 (3H, s, CH_3), 2.44–2.66 (2H, m, CH_2), 3.94–4.14 (2H, m, CH_2), 7.22–7.91 (13H, m, C_6H_4+ C_6H_4+ C_6H_5), 8.58 (1H, s, 3-CH), 8.99 (1H, s, NH).

1-(4-Хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента [cd] азулен-2-карботіонова кислота (4-метилфеніл) амід 10l.

Вихід - 1,96 г (77%). М. п. 219 - 220^{0}C (з бензену).

Емпірична формула: $C_{31}H_{28}ClN_3S$, %: N 8.24.Знайдено, %: N 8.06.

Спектр НМР (500 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.82–1.94 (2H, m, CH_2), 2.01–2.11 (2H, m, CH_2), 2.21 (3H, s, CH_3), 2.43 (3H, s, CH_3), 2.36–2.64 (2H, m, CH_2), 3.81–4.17 (2H, m, CH_2), 6.97 (1H, s, NH), 6.96 (2H, d, J = 7.8 Hz, C_6H_4), 7.11 (2H, d, J = 8.1 Hz, C_6H_4), 7.32 (2H, d, J = 7,8 Hz, C_6H_4), 7.44 (2H, d, J = 8,1 Hz, C_6H_4), 7.36 (2H, d, J = 8.4 Hz, C_6H_4), 7.48 (2H, d, J = 8.4 Hz, C_6H_4), 8.52 (1H, s, 3-CH),

8.75 (1H, s, NH).

1-(4-Хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента [cd]азулен-2-карботіонова кислота (4-хлорфеніл) амід 10m.

Вихід - 2,12 г (80%). М. п. 216 - 217^{0}С (з пропанолу-2).

Емпірична формула: C31H25Cl2N3S, %: N 7.92.Знайдено, %: N 8.08.

Спектр НМР (500 MHz, DMSO-d6), δ, ppm: 1.88–1.96 (2H, m, CH_2), 2.01–2.13 (2H, m, CH_2), 2.19 (3H, s, CH3), 2.38–2.68 (2H, m, CH_2), 3.84–3.14 (2H, m, CH_2), 7.21 (4H, s, C_6H_4), 7.29 (2H, d, J = 7.9 Hz, C_6H_4), 7.41 (2H, d, J = 7.9 Hz, C_6H_4), 7.36 (2H, d, J = 8.1 Hz, C_6H_4), 7.51 (2H, d, J = 8.1 Hz, C_6H_4), 7.36 (2H, d, J = 8.4 Hz, C_6H_4), 7.48 (2H, d, J = 8.4 Hz, C_6H_4), 8.57 (1H, s, 3-CH), 9.11 (1H, s, NH).

В заключення експериментальної частини були розроблені методики синтезу перспективних речовин і за ними було синтезовано ряд похідних заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента-[cd]азулен-2-карбонової кислоти, та доведено їх структуру ЯМР-спектроскопією.

РОЗДІЛ III
БІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Противірусна дія заміщених амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти

Противірусна активність сполуки 9d проти вірусу грипу H1N1 Каліфорнія / 07/2009 була вивчена в Південному науково-дослідному інституті (НДІ, Бірмінгем, Алабама). Отримані результати наведені в таблиці нижче в таблиці 3.1. Ефективність сполук визначається за допомогою значення EC_{50}, IC_{50} та SI, Дослідження проводилось в експериментах in vitro. Ці методи дали повну картину впливу сполук на H1N1 Каліфорнія / 07/2009.

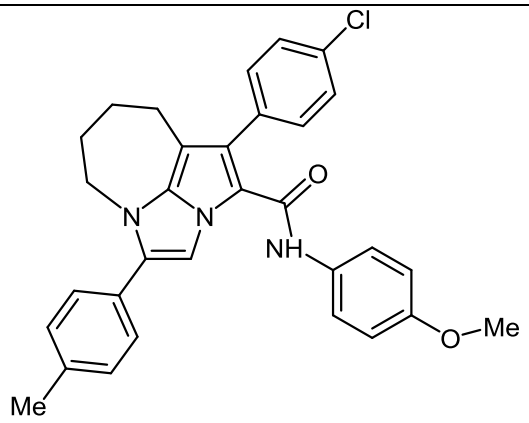
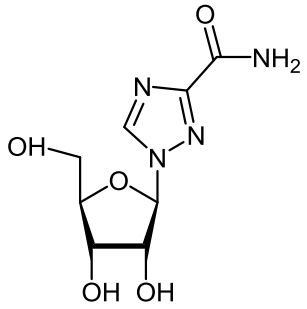
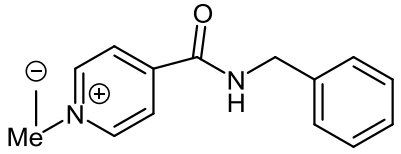
З’єднання розчинили в диметилсульфоксиді, в середньому діапазон концентрацій 0,1–100 мкг/мл.

Противірусну дію 1-(4-хлорофенілу)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти (4-метоксифеніл) амід 9d порівнювали з використовуванням вже доказово підтверджених активних сполук Амізону та Рибавірину для лікування інфекцій, спричинених респіраторно-синцитіальним вірусом, а також вірусом гепатиту С [41].

Проте серед негативних ефектів Рибавірину є анемія, тяжкість захворювання залежить від дози. Даний негативний ефект особливо шкодить людям які мають захворювання нирок та серцево-судинної системи [42]. Тому особливо важливим є пошук нових противірусних засобів

Отримані результати (див. табл. 3.1) свідчать про те, що противірусна активність 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен2-карбонової кислоти (4-метоксифеніл) амід 9d спостерігається при дозі в 2,56 разів меншої, ніж для речовини Рибавірину, і в 13,8 разів меншої дози, ніж для препарату Амізон [43].

Таблиця 3.1

Назва	Структурна формула	Тип вірусу	EC_{50}, мкг/мл	IC_{50}, мкг/мл	SI
9d		A/H1N1	3.4	>100	>29
Рибавірин		A/H1N1	8.7	>320	>37
Амізон		A/H1N1	47	>100	>2.1

Примітки:

EC_{50} – це ефективна концентрація, яка визначається кривою дози/ефекту, і являє собою концентрацію сполуки, в якій ефект спостерігається у 50% населення через визначений проміжок часу, мкг/мл;

IC_{50} – це концентрація, при якій інгібування клітин сполукою становить 50%, мкг/мл;

SI – це індекс селективності, що є показником ефективності сполуки, виражений у співвідношенні IC_{50} до EC_{50}.

Індекс селективності досліджуваної сполуки виявився більше 29 і IC_{50}>100 мкг/мл. У той же час, індекс селективності Рибавірину становить понад 37, а IC_{50}>320 мкг/мл. Слід зазначити наступне, якщо IC_{50} для тих двох сполук були однаковими, тоді SI для аміду 9d був би втричі вищим і дорівнював би SI>92.8.

Таким чином, дослідження показало високий рівень противірусної

активності сполуки 9d проти грипу A/H1N1 Каліфорнія / 07/2009, тому пошук нових противірусних засобів серед цього класу сполук має не лише науковий, а й практичний інтерес[44].

ВИСНОВКИ

1) Під час виконання роботи був здійснений огляд наукової літератури стосовно вірусу грипу та препаратів, що використовуються при його лікуванні;
2) Були отримані синтезовані нові сполуки, а саме, похідні амідів 1-(4^2-хлорфеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопен-та[cd]азулен-2-карбонової кислоти;
3) В ході роботи були одержані результати щодо фармакологічної активності синтезованих сполук та відібрані перспективні речовини;
4) Отримані результати свідчать про те, що противірусна активність аміду 1-(4-хлорофеніл)-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазацикло-пента[cd]азулен2-карбонової кислоти (4-метоксифеніл) 9d спостерігається при дозі в 2,56 разів меншої, ніж для речовини Рибавірину, і в 13,8 разів меншої дози, ніж для речовини Амізон;
5) Проведено наукову консультацію з експериментальної частини яку здійснив науковий консультант Демченко А.М.
6) Матеріали дипломної роботи викладені в статті фахового видання **Шифр «Проблема H1N1»**, та в матеріалах **Шифр «Проблема H1N1»** Міжнародної науково-практичної конференції **Шифр «Проблема H1N1»**. Результати досліджень можуть бути використані для проведення факультативних занять з хімії в закладах середньої освіти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Нормативно-директивні документи МОЗ України. Як відрізнити грип від ГРВІ. URL: https://moz.gov.ua/article/health/jak-vidrizniti-grip-vid-grvi (дата звернення: 06.04.2020).
2. Вірус грипу: як вчені передбачають епідемії для створення вакцин. URL:https://www.bbc.com/ukrainian/blogs-47019031 (дата звернення: 05.04. 2020).
3. М.А. Андрейчин, Н.А. Ничик, Н.Г. Завіднюк, Я.І. Йосик. Проблема пандемічного грипу A/H1N1 : журнал Інфекційні хвороби : 2019. №2. 45-57.
4. Кононова А.А., Чересиз С.В., Чечушков А.В. Сравнительное исследование фузогенной активности гемагглютинов H1 и H5 субтипов вируса гриппа : Бюллетень эксперементальной биологии и медицины : 2017. №7. 100-105.
5. Нейраминидаза антигенные свойства. URL: https://chem21.info/info/327531/ (дата звернення: 25.03.2020).
6. С. М.Шамрай, Д.В. Леонтьєв. Вірусологія: підручник : Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди : ХНП, 2019. 244.
7. H1N1 United States Fast Facts. URL: https://edition.cnn.com/2013/08/23/health/h1n1-u-s-fast-facts/index.html (дата звернення: 25.04.2020).
8. Ткачова, О. В. Сілаєв, А. О. Шептак. Аналіз споживання противірусних лікарських засобів на фармацевтичному ринку України, які використовуються для фармакотерапії хворих на гострі респіраторні вірусні інфекції : Український біофармацевтичний журнал. Архів статей 2008-2019 : 2018.
9. Беш Л.В. Оцінка ефективності препаратів інтерферону в лікуванні гострих респіраторних вірусних інфекцій у дітей, які часто хворіють. : журнал «ЗДОРОВЬЕ РЕБЕНКА» : 2015. № 2. 32-36.
10. Тилорон как средство выбора для профилактики и лечения острых

респираторных вирусных инфекций URL: https://www.kovostok.ru/load/zhurnal-lechashhij-vrach-2013-10.pdf#page=45 (дата звернення: 03.05.2020.).

11. A.V. Budnevsky, A.D. Shurupova, A.Ya. Kravchenko, R.E. Tokmachev Clinical efficacy of acute respiratory viral infections prevention in patients with chronic heart failure : Терапевтический архив : 2019. № 3. 36-41.
12. О. И. Киселев, В. В. Малеев, Э. Г. Деева Клиническая эффективность препарата Арбидол (умифеновир) в терапии гриппа у взрослых: промежуточные результаты многоцентрового двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования АРБИТР : Терапевтический архив (архив до 2018 г.). : 2015. №87. 88-96.
13. Открытое сравнительное исследование безопасности и эффективности препаратов «Цитовир-3» и «Арбидол» при профилактике детей в период сезонного подъема заболеваемости респиторными вирусными инфекциями / В. С. Смирнов, С. А. Савельев, С. В. Петленко, Г. Редлих, М. К. Ерофеева, А. В. Лёвина, Н. И. Завьялова // Инфекция и имунитет Том 9, № 2 - 2019
14. Торбеева К.С., Дианова Д.Г. Возможность использования противовирусных препаратов при фармакотерапии гриппа : журнал Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук : 2016. №4. 87-89.
15. Савина Е.А Маркетинговое исследование рынка противовирусных лекарственных препаратов : Бюллетень медицинских интернет-конференций. : 2015. №5. 349.
16. Суворов А.О., Перлович Г.А. Фармацевтические соли умифеновира: кристаллическая структура и физико-химические свойства : Программа и тезисы VIII Национальной кристаллохимической конференции : 2016
17. Немченко А.С, Сімонян Л.С, Немченко О.А. Маркетинговий аналіз ринку противірусних ліків від грипу. : Професійний менеджмент в сучасних умовах розвитку ринку : матеріали доп. IV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 3 листоп. 2015 р. 179-181.
18. Державний реєстр лікарських засобів України. Державний експертний

центр Міністерства охорони здоров'я України. URL: http://www.drlz.kiev.ua (дата звернення: 06.04.2020).

19. Гейдаров Р. Н., Фесенко Е. Е. Определение генетических детерминант устойчивости вируса гриппа А к адамантанам и ингибиторам нейроминидазы на биологическом микрочипе : Доклады академии наук : 2015. Т.460. № 1. 102-106.
20. Гараев Т.М., Одноворов А.И., Кириллова Е.С, Бурцева Е.И Производные адамантана, способные ингибировать репродукцию резистентного к римантадину штамма вируса гриппа A(H1N1) pdm09 (Influenza A virus, Alphainfluenzavirus, Orthomyxoviridae) : журнал Вопросы вирусологии: 2020 Т.65. №1. 16-20.
21. Волощук Л. В., Головачева Е.Г., Го А.А., Мушкатина А.Л., Заришнюк П.В. Клинико-лабораторная оценка эффективности применения озельтамивира для лечения гриппа у госпитализированных пациентов : журнал Инфекция и имунитет : 2015. Т.5. №1. 45-54.
22. Скарнович М. А., Скарнович М.О. Изучение биологических свойств и чувствительности к противовирусным препаратам штаммов вируса гриппа A(H3N2), A(H1N1), A(H5N1) И A(H7N9) in vitro : Материалы Седьмой Всероссийской научно-практической конференции. ФГБНУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины». : 2015. 264-265.
23. В. П. Малий, О. В. Гололобова Противірусна терапія хворих на грип та інші ГРВІ : Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія.: 2011. №4. 53-56.
24. Попов Александр Фёдорович, Симакова Анна Ивановна, Дмитренко Ксения Александровна, Щелканов Михаил Юръевич Повышение противогриппозной эффективности осельтамивира и умифеновира путём сочетанного применения с кагоцелом : журнал Антибиотики и химиотерапия: 2017. Т.62. №1-2. 25-29.
25. Учайкин В.Ф., Кладова О.В., Харламова Ф.С., Вальтц Н.Л., Компаниец Ю.В. Международный и российский опыт лечения гриппа у детей : 2018.

№17. 137-145.

26. Романова Е.Н., Говорин А.В., Серебрякова О.М., Филев А.П., Перевалова Е.Б. Анализ противовирусной и антибактериальной терапии пациентов с пневмониями на фоне гриппа : Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия : 2012. Т.14. №3. 252-259.
27. Абдулазизова Шахзода Особенности применения противовирусных препаратов при H1N1 – ассоциированной пневмонии : Сборник статей XIV Международной научной медицинской конференции. : 2017. 23-24.
28. Нормативно-директивні документи МОЗ України Реленцана™ URL: http://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=5697 (дата звернення: 25.04.2020).
29. Морозов В.Г., Фролов А.В. Эффективность и безопасность противовирусной терапии паритапревир/ритонавир + омбитасвир ++ дасабувир + рибавирин у больных циррозом печени в исходе хронического гепатита С : журнал Инфекционные болезни : 2016. Т9. №4. 56-68.
30. Н. П. Блохина, Е. А. Нурмухаметова, М. Г. Русанова, И. В. Гагарина, Е. С. Марьямова, Н. А. Кузнецова, Т. В. Марьяновская, Т. В. Лопатина, О. В. Кузина, И. Н. Алексеева, Е. Н. Шуренкова, А. В. Девяткин, Ю. Н. Линькова, М. А. Морозова Эффективность и безопасность применения цепэгинтерферона альфа 2b в составе двойной (цепэгинтерферон альфа 2b и рибавирин) и тройной (симепревир, цепэгинтерферон альфа 2b и рибавирин) схемы противовирусной терапии у пациентов с хроническим гепатитом С. Опыт реальной клинической практики : журнал Инфектология : 2016. Т8. №2. 48-55.
31. Трихліб В. І. Актуальні інфекційні захворювання. Сучасні аспекти клініки, діiагностики, лікування та профілактики : журнал Актуальна інфектологія : 2019.
32. А. И. Одноворов, Т. В. Гребенникова, Т. В. Плетенева Специфическая терапия гриппа: современное состояние и перспективы (обзор) : Разработка и регистрация лекарственных средств : 2020. Т9. №1. 83-91.
33. Paul G. Місце балоксавіру в лікуванні грипу : журнал Клінічна імунологія,

алергологія, інфектологія. : 2019. № 1. 10-11.

34. Imai, M., Yamashita, M., Sakai-Tagawa, Y. et al. Influenza A variants with reduced susceptibility to baloxavir isolated from Japanese patients are fit and transmit through respiratory droplets.: Nat Microbiol : 2020. №5. 27–33.
35. Andreychyn, M. A., Nychyk, N. A., Zavidniuk, N. A., & Iosyk, I. I.. Проблема пандемічного грипу A/H1N1.: Інфекційні хвороби : 2019. 45-57.
36. М.Є. Даниленко, В.В. Россіхін, О.М. Огурцов Удосконалення біотехнології виробництва вакцини проти вірусів грипозної групи : XII Міжнародна науково-практична конференція магістрантів та аспірантів: 2018. 31-32.
37. Васильченко Олександр Володимирович Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук Нові антибактеріальні та противовірусні сполуки серед ариламідів трициклічних карбонових кислот. Київ. 2015
38. Matysiak J. Biological and Pharmacological Activities of 1,3,4-Thiadiazole BasedCompounds : Mini Reviews in Medicinal Chemistry : 2015. № 15. 762–775.
39. Держсанепідслужба: епідемічна ситуація із захворюваності на грип та ГРВІ в Україні.: 2015. URL: http://www.kmu.gov.ua/control/uk/publish/article?art_id=248572512&cat_id=244277212 (дата звернення:05.04.2020).
40. Ткачова, О. В. Аналіз споживання противірусних лікарських засобів на фармацевтичному ринку України, які використовуються для фармакотерапії хворих на гострі респіраторні вірусні інфекції : Український біофармацевтичний журнал.: 2018. № 1. 35-40.
41. **Шифр «Проблема H1N1»** Синтез та противірусна активність похідних 1-(4-хлорофеніл)-4-(пара-толіл)-5,6,7,8тетрагідро-2a,4a-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти : **Шифр «Проблема H1N1»**.: 2019. Т. 17, вип. 4.
42. Рибавірін-астрафарм URL: https://compendium.com.ua/dec/273565/ (дата звернення: 05.04.2020)
43. **Шифр «Проблема H1N1»**Пошук нових противірусних препаратів серед

похідних азотовмісних гетероциклічних сполук : **Шифр «Проблема H1N1»** : 2020. 222-223.

44. **Шифр «Проблема H1N1»** Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня бакалавр Синтез та противірусна дія заміщених амідів 1-(42-хлорфеніл)-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти. **Шифр «Проблема H1N1»**.