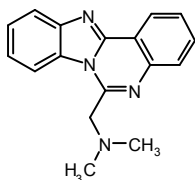


Корисна модель відноситься до біоорганічної хімії, зокрема до синтезу протівірусних агентів та індукторів інтерферону, і може бути використана для створення нових протівірусних та імунорегулюючих засобів.

Пошук нових протівірусних засобів обумовлений розповсюдженістю вірусних інфекцій, можливістю мутацій та виникненням нових вірусів, що є збудниками небезпечних для людини захворювань. За даними ВООЗ [Доклад о состоянии здравоохранения в мире, 2007г. http://whqlibdoc.who.int/whr/2007/WHR07_overview_rus.pdf], в останній чверті XX століття знову з'явилися холера, жовта лихоманка й епідемічні менінгококові захворювання, вимагаючи поновлення зусиль з епіднадзора, профілактики й боротьби з ними. Важкий гострий респіраторний синдром (ВГРС) і пташиний грип у людини викликали серйозну стурбованість міжнародного співтовариства, поставили нові питання перед наукою, заповділяли людям серйозні страждання й викликали величезний економічний збиток. Інші вірусні захворювання, наприклад лихоманка Ебола, Марбургська геморагічна лихоманка й вірус Ніпах, створюють погрозу для глобальної безпеки в області охорони здоров'я й також вимагають локалізації джерел у зв'язку з їхнім гострим характером і високою смертністю. Тому створення ефективних та безпечних протівірусних препаратів та імуноректорів є вкрай актуальним. До найбільш ефективних імуноректорів відносяться індуктори інтерферону (ІФН) [Ершов Ф.И., Новохатский А.С. Индукторы интерферона. - М.: Медицина, 1982, 180с.]. В Україні впроваджені в клінічну практику такі індуктори інтерферону як амизон [Frolov V.M., Vinnikova L.M., Ter'oshyn V.O., Klokot D.I. Efficacy of amizon in the treatment of chronic toxic hepatitis and its immunocorrective action // Lik. Sprava 2001. - №3. - С.135 -138.], арбідол [Boriskin Y.S., Pecheur E.I., Polyak S.J. Arbidol: a broad-spectrum antiviral that inhibits acute and chronic HCV infection // Virol. J. - 2006. - Vol.3. - P.56.], циклоферон [Zarubaev V.V., Slita A.V., Krivitskaya V.Z., Sirotkin A.K., Kovalenko A.L., Chatterjee N.K. Direct antiviral effect of cycloferon (10-carboxymethyl-9-acridanone) against adeno virus type 6 in vitro // Antiviral Res. - 2003. - Vol.58, №2. - P.131 - 137.] й аміксин [Litvinova L., Ptashko A. Amixin IC, antiviral medicine and oral inductor of endogenic interferon // Science and Innovation. - 2007. - Vol.3, №4. - P.75.]. Але перерахованим індукторам інтерферону притаманна переверхесна гіпореактивність та обмежений спектр дії, що зумовлює актуальність пошуку нових малотоксичних індукторів ІФН.

Найближчим аналогом корисної моделі, що заявляється, виходячи з структури є бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін-6-ілметилдиметиламін, здатний до інтеркаляції у ДНК та інгібування саркоми людини в концентрації $IC_{50} = 19.2 \mu M$ на культурі клітин MG-63 [Braná M.F., Castellano J.M., Keilhauer G., Machuca A., Martin Y., Redondo C., Schlick E., Walker N. Benzimidazo[1,2-c]quinazolines: a new class of antitumor compounds. // Anticancer Drug Des. - 1994 - Vol.9 №6 - P.527- 538].

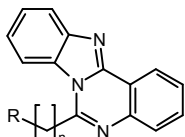


Бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін-6-ілметилдиметиламін

Відомості про протівірусну активність та індукцію інтерферону сполукою-аналогом відсутні.

В основу корисної моделі поставлено задачу пошуку нових протівірусних агентів серед похідних бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну та розширення спектру індукторів інтерферону.

Поставлена задача вирішена синтезом сполук, що заявляються, загальної формули:



де $n=1$

$R =$ піперидин-1-іл (1); 2-метилпіперидин-1-іл (2); 4-метилпіперидин-1-іл (3) морфолін-4-іл (4); 4-метилпіперазин-1-іл (5);

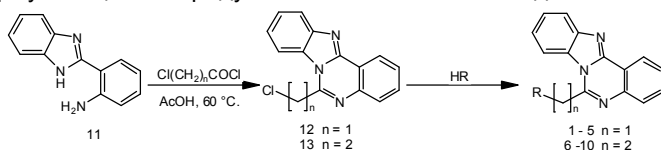
$n = 2$

$R =$ піперидин-1-іл (6); 2-метилпіперидин-1-іл (7); 4-метилпіперидин-1-іл (8) морфолін-4-іл (9); 4-метилпіперазин-1-іл (10);

Сполуки 1-10 одержують за двостадійною схемою.

Вихідні сполуки 12 та 13 одержують взаємодією аміна 11 з хлорацетилхлоридом та хлорпропіонілхлоридом, відповідно, нагріванням в крижаній оцтової кислоті при $60^\circ C$ [Богатский А.В., Иванов Э.И., Вострова Л.Н., Гренадерова М.В., Караван Л.Д., Гервега С.А. Синтез и исследование свойств некоторых производных о-аминофенил-бензимидазола // Укр. хим. журн. - 1979. - Т.45, №3. - С.225 - 230.].

Сполуки 1-5 отримують обробкою сполуки 12 вторинними амінами в ДМФА при кімнатній температурі протягом 24 год. Кип'ятіння вихідного 13 в метанолі з триразовими надлишками вторинних амінів дозволяє одержувати цільові продукти 6 - 10 з високими виходами.



Чистоту синтезованих сполук контролювали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol UV-254 з використанням елюентів різного складу. Будову синтезованих сполук підтверджено набором спектральних методів: спектроскопією ПМР, ІЧ- спектроскопією і мас-спектрометрією.

Первинне дослідження препаратів проводили за схемою і за умов, що враховували адекватність тест-моделі можливого механізму інтерферогенної активності, що передбачався на підставі аналізу структури хімічної сполуки, яка вивчалась [Вильнер Л.М. Актуальные вопросы скрининга и последующего изучения протівовірусных препаратов типа интерферогенов / В сб.: Методические вопросы научной разработки

противовирусных средств. - Минск, 1977. - С.134 - 136]. Противірусну та інтерфероніндукуючу активність синтезованих сполук вивчали як описано [Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації./ За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К: МОЗ, України. ДФЦ, 2001. - 392с.]

Отримання сполук, що заявляються, та їх противірусної та інтерфероніндукуючої активностей підтверджено наступними прикладами.

Приклад 1. 6-Піперидин-1-ілметилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (1).

До розчину 7г (0.035 моль) 2-(1Н-бензоімідазол-2-іл)феніламіну (11) в 100см³ крижаної оцтової кислоти додають по краплях 4.4см³ (6.2г, 0.055моль) хлорацетилхлориду. Розчин нагрівають на водяній бані (не вище 60°C) 15хв, охолоджують і виливають в холодну воду. Осад відфільтровують, промивають на фільтрі водою до нейтральної реакції і висушують. Після перекристалізації із ацетону одержують 6.3г (68%) 6-хлорметилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (12). C₁₅H₁₀ClN₃. M.W. 267.72. Т.пл. 237 - 238°C. R_f = 0.33 (елюент - хлороформ). ІЧ спектр: 2970 - 2990см⁻¹ (ClCH₂Ar); 1595, 1665см⁻¹ (коливання аром. системи); 690см⁻¹(ClCH₂Ar). Мас-спектр (БША), m/z(%): 268 (100) [M+H]⁺. Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 267 (100) [M]⁺, 232 (55). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: с. 5.49 м.ч. (2H). Ароматичні протони: м. 7.55 - 7.66 м.ч. (2H); м. 7.77 - 7.83 м.ч. (1H); м. 7.87 - 7.93 м.ч. (1H); м. 7.97 - 8.02 м.ч. (2H); д. 8.25 м.ч. (1H); д. 8.60 м.ч. (1H).

Суспендують при кімнатній температурі 0.54г (0.002моль) 6-хлорметил-бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (12) в 10см³ ДМФА та додають 0.60см³ (0.51г, 0.006моль) піперидину, при цьому суспензія переходить до розчину. Реакційну суміш залишають при кімнатній температурі на добу, після чого виливають до 100см³ води дистильованої. Осад, що випав відфільтровують, промивають на фільтрі водою дистильованою до нейтрального рН, висушують в ексікаторі над лугом протягом ночі й перекристалізовують з гептану. Вихід 0.58мг (61%). C₂₀H₂₀N₄. M.W. 316.41. Т.пл. = 145 -146°C. R_f = 0.27 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.52 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z(%): 317 (100) [M+H]⁺. Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: м. 1.43 - 1.45 м.ч., (6H); н/р. м. 2.59 м.ч. (4H); с. 4.15 м.ч. (2H, ArCH₂N). Ароматичні протони: скл.м. 7.48 - 7.60 м.ч. (2H); м. 7.71 - 7.77 м.ч. (1H); м. 7.82 - 7.88 м.ч. (1H); м. 7.93 - 7.96 м.ч. (2H); д. 8.09 м.ч. (1H); д. 8.57 м.ч. (1H).

Приклад 2. 6-(2-Метилпіперидин-1-ілметил)бензо[4,5]імідазо(1,2-с)хіназолін (2).

Синтез проводили як описано у прикладі 1, виходячи із 0.54г (0.002моль) 6-хлорметилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (12) та 0.71см³ (0.60г, 0.006моль) 2-метилпіперидину. Отриману сполуку перекристалізовують з ізопропанолу. Вихід 0.41г (62%). C₂₁H₂₂N₄. M.W. 330.44. Т.пл. = 134 - 135°C. R_f = 0.41 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.52 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z(%): 331 (100) [M+H]⁺. Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: д. 1.20 м.ч. (3H, -H(CH₂CH₂)₂CHCH₃); н/р. м. 1.37 м.ч. (4H); н/р. м. 1.58 м.ч. (2H); м. 2.46 - 2.56 м.ч. (1H); м. 2.65 - 2.71 м.ч. (1H); н/р. м. 2.85 м.ч. (1H); д. 4.09 м.ч., 15.0Гц (1H, ArCH₂N); д. 4.54 м.ч., 15.0Гц (1H, ArCH₂N). Ароматичні протони: скл.м. 7.47 - 7.60 м.ч. (2H); м. 7.70 - 7.76 м.ч. (1H); м. 7.81 - 7.87 м.ч. (1H); м. 7.91 - 7.95 м.ч. (2H); д. 8.32 м.ч. (1H); д. 8.57 м.ч. (1H).

Приклад 3. 6-(4-Метилпіперидин-1-ілметил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (3).

Синтез проводили як описано у прикладі 1, виходячи із 0.54г (0.002моль) 6-хлорметилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (12) та 0.71см³ (0.60г, 0.006моль) 4-метилпіперидину. Отриману сполуку перекристалізовують з ізопропанолу. Вихід 0.45г (68%). C₂₁H₂₂N₄. M.W. 330.44. Т.пл. = 142 - 144°C. R_f = 0.52 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.52 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 331 (100) [M+H]⁺, 259, 233, 219, 112. Мас-спектр (електронний удар), m/z(%): 233 (100), 98 (25). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: д. 0.81 м.ч., (3H, N(CH₂CH₂)₂CHCH₃); м. 0.98 -1.06 м.ч. (2H); н/р. м. 1.36 м.ч. (1H, H(CH₂CH₂)₂CHCH₃); д. 1.56 м.ч. (2H); т. 2.17 м.ч. (2H); д. 2.95 м.ч. (2H); с. 4.16 м.ч. (2H, COCH₂N). Ароматичні протони: м. 7.47 - 7.58 м.ч. (2H); м. 7.70 - 7.76 м.ч. (1H); м. 7.81 - 7.89 м.ч. (1H); м. 7.92 - 7.95 м.ч. (2H); д. 8.07 м.ч. (1H); д.д. 8.57 м.ч. (1H).

Приклад 4. 6-Морфолін-1-ілметилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (4).

Синтез проводили як описано у прикладі 1, виходячи із 0.54г (0.002моль) 6-хлорметилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (12) та 0.53см³ (0.52г, 0.006моль) морфоліну. Отриману сполуку перекристалізовують з ізопропанолу. Вихід 0.52г (82%). C₁₉H₁₈N₄O. M.W. 318.38. Т.пл. = 191 - 192°C. R_f = 0.38 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.40 (бензол : триетиламін (10 : 1)). 14 спектр: 2770 - 2990см⁻¹ (аліфатич. фрагмент піперидину); 1600, 1665см⁻¹ (коливання аром. системи). Мас-спектр (БША), m/z(%): 319 (100) [M+H]⁺, 233, 100. Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 233 (98), 83 (100). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: т. 2.63 м.ч. (4H, O(CH₂CH₂)₂N); т. 3.52 м.ч. (4H, O(CH₂CH₂)₂N); с. 4.22 м.ч. (2H, COCH₂N). Ароматичні протони: м. 7.48 - 7.60 м.ч. (2H); м. 7.71 - 7.76 м.ч. (1H); м. 7.81 - 7.87 м.ч. (1H); м. 7.93 - 7.97 м.ч. (2H); д. 8.10 м.ч. (1H); д. 8.56 м.ч. (1H).

Приклад 5. 6-(4-Метилпіперазин-1-ілметил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (5).

Синтез проводили як описано у прикладі 1, виходячи із 0.54г (0.002моль) 6-хлор-метилбензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (12) та 0.67см³ (0.60г, 0.006моль) 4-метил-піперазину. Отриману сполуку перекристалізовують з гептану. Вихід 0.36г (54%). C₂₀H₂₁N₅. M.W. 331.42. Т.пл. = 164 - 165°C. R_f = 0.01 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.15 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z(%): 332 (100) [M+H]⁺, 289, 261, 233, 220. Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: с. 2.08 м.ч., (3H, N(CH₂CH₂)₂NCH₃); н/р м. 2.25 м.ч. (4H, N(CH₂CH₂)₂NCH₃); н/р м. 2.62 м.ч. (4H, N(CH₂CH₂)₂NCH₃); с. 4.17 м.ч. (2H, COCH₂N). Ароматичні протони: м. 7.47 - 7.58 м.ч. (2H); м. 7.70 - 7.75 м.ч. (1H); м. 7.80 - 7.85 м.ч. (1H); м. 7.92 - 7.94 м.ч. (2H); д. 8.05 м.ч. (1H); д. 8.55 м.ч. (1H).

Приклад 6. 6-(2-Піперидин-1-ілетил)-бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (6).

Отримують 6-(2-хлоретил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (13) як описано у першій частині прикладу 1, виходячи із 7.32г (0.035моль) 2-(1Н-бензоімідазол-2-іл)феніламіну (11) та 5.30см³ (7.00г, 0.055моль) хлорпропіонілхлориду. Продукт 13 перекристалізовують з ацетону. Вихід 9.52г (97%). C₁₆H₁₂ClN₃. M.W. 281.75. Т.пл. = 165 - 166°C (с розкл). R_f = 0.69 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.80 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 282 (100) [M+H]⁺. Спектр ПМР: розчинник - CDCl₃, аліфатичні протони: т. 3.77 м.ч. (2H); т. 4.20 м.ч. (2H). Ароматичні протони: м. 7.38 - 7.42 м.ч. (1H); м. 7.47 - 7.51 м.ч. (1H); м. 7.57 - 7.63 м.ч. (1H); м. 7.70 - 7.74 м.ч. (1H); м. 7.80 - 7.83 м.ч. (1H); м. 7.88 - 7.95 м.ч. (2H); д. 8.62 м.ч. (1H).

Розчиняють при нагріванні 0.56г (0.002моль) 6-(2-хлоретил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну 13 в 50см³ метанолу, і додають 0.6см³ (0.006моль) піперидину. Реакційну суміш кип'ятять 30-40хв, випарюють при зниженому тиску до об'єму 10см³ і виливають в 100см³ води дистильованої. Осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі водою дистильованою до нейтрального рН і перекристалізовують із ізопропанолу. Вихід

0.49мг (74%). $C_{21}H_{22}N_4$. M.W. 330.44. Т.пл. = 119 - 120 °С. R_f = 0.01 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.48 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 331 (100) $[M+H]^+$, 307, 246, 220, 98. Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: м. 1.41 - 1.43 м.ч., (2H); м. 1.53 - 1.59 м.ч., (4H); н/р. м. 2.50 м.ч. (4H); т. 2.93 м.ч. (2H, Ar_2CH_2N); т. 3.57 м.ч. (2H, $ArCH_2C_2N$). Ароматичні протони: м. 7.46 - 7.57 м.ч. (2H); м. 7.63 - 7.68 м.ч. (1H); м. 7.76 - 7.86 м.ч. (2H); д. 7.92 м.ч. (1H); д. 8.14 м.ч. (1H); д. 8.50 м.ч. (1H).

Приклад 7. 6-[2-(2-Метилпіперидин-1-іл)-етил]-бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін(7).

Синтез проводили як описано у прикладі 6, виходячи із 0.56г (0.002моль) 6-(2-хлоретил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (13) та 0.71см³ (0.60г, 0.006моль) 2-метилпіперидину. Отриману сполуку перекристалізовують з ізопропанолу. Вихід 0.44г (64%). $C_{22}H_{24}N_4$. M.W. 344.46. Т.пл. = 162 - 163°С. R_f = 0.06 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.48 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 345 $[M+H]^+$, 113 (100). Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 344 (0.3) $[M]^+$, 244 (16), 112 (100). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: д. 1.00 (3H, $-N(CH_2CH_2)_2CHCH_3$); н/р. м. 1.16 - 1.35 м.ч. (2H); н/р. м. 1.44 - 1.49 м.ч. (1H); м. 1.56 - 1.63 м.ч. (3H); м. 2.28 - 2.37 м.ч. (1H); м. 2.41 - 2.45 м.ч. (1H); м. 2.93 - 3.01 м.ч. (2H, $ArCH_2CH_2N$); м. 3.34 - 3.40 м.ч. (1H); м. 3.56 - 3.62 м.ч. (2H, $ArCH_2CH_2N$). Ароматичні протони: м. 7.48 - 7.60 м.ч. (2H); м. 7.65 - 7.71 м.ч. (1H); м. 7.78 - 7.88 м.ч. (2H); д. 7.94 м.ч. (1H); д. 8.18 м.ч. (1H); д. 8.53 м.ч. (1H).

Приклад 8. 6-[2-(4-Метилпіперидин-1-іл)-етил]-бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (8).

Синтез проводили як описано у прикладі 6, виходячи із 0.56г (0.002моль) 6-(2-хлоретил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (13) та 0.71см³ (0.60г, 0.006моль) 4-метилпіперидину. Отриману сполуку перекристалізовують з метанолу. Вихід 0.47г (68%). $C_{22}H_{24}N_4$. M.W. 344.46. Т.пл. = 108-110°С. R_f = 0.07 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.48 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 345 $[M+H]^+$, 112 (100). Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 344 (0.5) $[M]^+$, 244 (9), 112 (100). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆ аліфатичні протони: д. 0.91 м.ч. (3H, $N(CH_2CH_2)_2CHCH_3$); м. 1.16-1.29 м.ч. (2H); н/р. м. 1.38 м.ч. (1H, $N(CH_2CH_2)_2CHCH_3$); м. 1.62 - 1.66 м.ч. (2H); м. 2.06 - 2.13 м.ч. (2H); м. 3.00 - 3.04 м.ч. (4H); т. 3.60 м.ч. (2H). Ароматичні протони: м. 7.45 - 7.57 м.ч. (2H); м. 7.62 - 7.67 м.ч. (1H); м. 7.75 - 7.80 м.ч. (1H); д. 7.83 м.ч. (1H); д. 7.91 м.ч. (1H); д. 8.16 м.ч. (1H); д. 8.53 м.ч. (1H).

Приклад 9. 6-(2-Морфолін-4-ілетил)-бензо [4,5] імідазо [1,2-с] хіназолін (9).

Синтез проводили як описано у прикладі 6, виходячи із 0.56г (0.002моль) 6-(2-хлоретил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (13) та 0.53 см³ (0.52г, 0.006моль) морфоліну. Отриману сполуку перекристалізовують з метанолу. Вихід 0.54г 81%. $C_{20}H_{20}N_4O$. M.W. 332.41. Т.пл. = 190 - 191°С. R_f = 0.12 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.31 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 333 (100) $[M+H]^+$. Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 332 (0.9) $[M]^+$, 314 (1.5), 245 (7), 233 (1.4), 100 (100). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: т. 2.56 м.ч. (4H); т. 3.00 м.ч. (2H); м. 3.61 - 3.65 м.ч. (6H). Ароматичні протони: м. 7.46 - 7.56 м.ч. (2H); м. 7.64 - 7.70 м.ч. (1H); м. 7.77 - 7.87 м.ч. (2H); д. 7.93 м.ч. (1H); д. 8.17 м.ч. (1H); д. 8.51 м.ч. (1H).

Приклад 10. 6-[2-(4-Метилпіперазин-1-іл)етил]бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназолін (10).

Синтез проводили як описано у прикладі 6, виходячи із 0.56г (0.002моль) 6-(2-хлоретил)бензо[4,5]імідазо[1,2-с]хіназоліну (13) та 0.67см³ (0.60г, 0.006моль) морфоліну. Отриману сполуку перекристалізовують з ізопропанолу. Вихід 0.54г (78%). $C_{21}H_{23}N_5$. M.W. 345.45. Т.пл. = 97-98 °С. R_f = 0 (хлороформ : ацетон (10 : 1)), R_f = 0.13 (бензол : триетиламін (10 : 1)). Мас-спектр (БША), m/z (%): 346 $[M+H]^+$, 275, 246, 113 (100). Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 345 (2) $[M]^+$, 303 (12), 289 (5), 275 (22), 244 (20), 233 (8), 113 (81), 70 (100). Спектр ПМР: розчинник - DMSO-d₆, аліфатичні протони: с. 2.18 м.ч., (3H, $N(CH_2CH_2)_2NCH_3$); н/р м. 2.37 м.ч. (4H, $N(CH_2CH_2)_2NCH_3$); н/р м. 2.58 м.ч. (4H, $N(CH_2CH_2)_2NCH_3$); т. 3.00 м.ч. (2H, $ArCH_2CH_2N$); т. 3.60 м.ч. (2H, $ArCH_2CH_2N$). Ароматичні протони: м. 7.47 - 7.59 м.ч. (2H); м. 7.66 - 7.71 м.ч. (1H); м. 7.78 - 7.88 м.ч. (2H); м. 7.94 м.ч. (1H); д. 8.17 м.ч. (1H); д. 8.52 м.ч. (1H).

Приклад 11. Визначення цитотоксичності препаратів в умовах *in vitro* клітин L929 за пригніченням їх життєздатності.

Параметром, за яким оцінювали токсичність доз препаратів було пригнічення їх життєздатності. [Методы испытания и оценки противовирусной активности химических соединений в отношении вируса гриппа. Методические указания. Сост. проф. В.И. Ильенко. - Л. - 1977. - 35с.]. Підрахунок клітин та визначення їх життєздатності через 24 та 48 годин інкубації проводили після фарбування клітин водним розчином вітального фарбника трипанового синього. При відсутності токсичного ефекту клітини засвоювали вітальний барвник. Забарвлення контрольних культур приймали за 100%. Розведення препарату, що викликало засвоєння фарбника на 50% вважали токсичним.

Приклад 12. Вивчення інтерфероніндукуючих властивостей.

Інтерфероніндукуючу активність синтезованих сполук вивчали як описано [Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За редакцією член-кореспондента АМН України О.В. Стефанова. / Міністерство охорони здоров'я України. Державний фармакологічний центр., Київ, 2001. С.392].

Інтерфероніндукуючу активність препаратів в умовах *in vitro* вивчали в культурі клітин ПТП. Препарати в різних дозах (30-250мкг/см³) додавали до сформованого моношару клітин і культивували при 37°С на протязі 24 та 48год, після чого надосадову рідину збирали і в ній визначали активність інтерферону за раніше опублікованою методикою. [Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За редакцією член-кореспондента АМН України О.В. Стефанова. / Міністерство охорони здоров'я України. Державний фармакологічний центр., Київ, 2001. С.392] (пригнічення цитопатогенної дії вірусу везикулярного стоматиту).

Визначення активності інтерферону здійснювали через 24 - 48год, коли доза внесеного вірусу везикулярного стоматиту (ВВС) 100 ТЦД₅₀ викликає повну дегенерацію клітин у контролі вірусу (КВ) за відсутністю дегенерації у неінфікованій культурі.

За титр інтерферону в одиницях дії (ОД) приймали величину, зворотну розведенню препарату, при якому культура клітин в 50% лунок була повністю захищена від цитопатогенної дії індикаторного вірусу.

Титр індукованого інтерферону (максимальне розведення супернатанту, при якому в 50% лунок цілком запобігалася дегенерація клітинного моношару) визначали в трьох паралельних експериментах.

Виявлено, що в умовах *in vitro* досліджені речовини спричиняють утворення інтерферону (дані - діапазон значень, що отримані у трьох паралельних експериментах - наведені в таблиці).

Приклад 13. Вивчення противірусної активності на культурі клітин L929.

Вплив сполук на протівірусну резистентність культур клітин L929 вивчали за допомогою мікрометоду скринінгу протівірусних сполук [Первичное изучение антивирусных свойств синтетических и природных соединений: Метод, рекомендации / Вотяков В.И., Бореко Е.И., Владыко Г.В. и др. - Минск. - 1986.].

В 96-лункові пластикові панелі вносили суспензію клітин в концентрації, необхідній для формування суцільного шару клітин. На 2-3-й день (в залежності від активності росту культури) середовище зливали, моношар промивали середовищем для культур клітин без сироватки і вносили досліджувані препарати в серійних розведеннях в вертикальних рядах. На кожне розведення відводили 3 лунки для визначення протівірусної активності, одну - для контролю токсичності. Враховували також контроль клітин та вірусу. Клітини інкубували з препаратами 24 год при 37°C, після чого середовище вилучали з лунок. В лунки для визначення контролю клітин та токсичності вносили середовище для підтримання росту клітин, у всі інші - вірусну суспензію ВВС. Для визначення ефективності захисту клітин проводили досліди із застосуванням ВВС в різних дозах: 10, 100, 1000 ЦТД₅₀.

Мікропанелі інкубували в термостаті з постійним рівнем CO₂ при 37°C та вологості 98% до настання 100% цитопатичного ефекту (ЦПЕ) в лунках контролю вірусу. Потім визначали ступінь інгібування вірусоспецифічного ЦПЕ. Аналіз пригнічення вірусної реплікації проводили через 24 год. Протівірусну активність препаратів МК оцінювали за цитопатичним ефектом в формі некрозу (визначення проценту клітин, що загинули за допомогою прямого підрахунку під мікроскопом).

Визначали: ID₅₀ - дозу (мкг/мл), що затримує ЦПЕ вірусу на 50%. Дані про цитотоксичність, інтерфероніндукуючу та протівірусну активність сполук 1-10 наведені в таблиці.

Як видно з наведених даних, сполуки, що заявляються, є ефективними індукторами інтерферону і протівірусними агентами, причому протівірусна активність сполук 3,4,6-10 при профілактичному введенні набагато вища, ніж при одночасному, що свідчить на користь інтерферон-опосередкованого механізму протівірусної дії.

Таблиця

Цитотоксичність, інтерфероніндукуюча та протівірусна активність сполук, що заявляються

Сполука	Цитотоксичність	Інтерфероніндукуюча активність		Протівірусна активність			
				При одночасному введенні		При профілактичному введенні	
				% живих клітин	С, μМ	% живих клітин	С, μМ
1	52.1	1.93	8	50	20.6	-	-
2	52.1	3.69	12	80	9.85	25	0.185
3	13.0	1.85	8-16	80	19.7	99	0.023
4	104.2	0.96	16-32	80	81.8	99	0.024
5	208.3	1.47	16	95	78.6	-	-
6	189.14	0.05	8-16	93	0.05	100	0.012
7	181.44	0.04	8-16	91	0.35	100	0.011
8	11.35	0.09	8-16	100	0.04	100	0.011
9	47.00	0.73	16	83	11.76	100	0.012
10	180.92	0.09	8-16	83	5.64	100	0.023
A	300	25	32	75	25	50	15

Примітка: А - аміксин, "-" - активність відсутня