

Міністерство освіти і науки України
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя
Факультет природничо-географічних і точних наук
Кафедра хімії та фармації

Освітньо-професійна програма:

Хімія, медична та фармацевтична хімія

Спеціальність: *102 Хімія*

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня магістр

**Синтез та властивості нових похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-
діазациклопента[сd]азулену**

студентки **Багрєвої Оксани Сергіївни**

Рецензенти: к.б.н., доцент кафедри агрономії ВП НУБІП
України «Ніжинський агротехнічний інститут» **Семеніхін А.В.**;
д.х.н., професор, завідувач кафедри хімії та фармації НДУ
імені Миколи Гоголя, **Суховєєв В.В.**

Допущено до захисту

Завідувач кафедри хімії та фармації

«17» грудня 2021 р. _____/В.В. Суховєєв/

Ніжин – 2021

ЗМІСТ

Вступ	4
Розділ I. Будова та властивості похідних азулену (огляд літератури)	7
1.1. Характеристика будови та реакційна здатність похідних азулену	7
1.2. Фізико-хімічні властивості азулену та напрямки синтезу похідних на його основі	10
1.3. Будова коронавірусу	14
1.4. Ключові білки коронавірусу та їх роль у вірусному зараженні людей	19
1.5. Існуючі препарати з потенційним терапевтичним застосуванням для COVID-19	24
1.6. Сполуки у дослідженнях та розробках з потенційним впливом на SARS-CoV-2	27
1.7. Заключення. Постановка задачі	29
Розділ II. Матеріали та методи	30
2.1. Програмне забезпечення	30
2.2. Хемометричний аналіз	31
2.3. Комп'ютерне моделювання протівірусної активності	31
2.4. Дослідження протівірусної активності	33
Розділ III. Синтез та протівірусна активність похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[<i>cd</i>] азулену (експериментальна частина)	35
3.1. Синтез похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[<i>cd</i>]азулену	35
3.2. Дослідження біологічних властивостей похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[<i>cd</i>]азулену	43
3.2.1. Комп'ютерне прогнозування біологічної активності нових похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[<i>cd</i>]азулену	43

3.2.2. Дослідження противірусної активності похідних 1,4-діарил- 5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[сd]азулену	47
Висновки	49
Список використаних джерел	50

ВСТУП

Актуальність теми. Коронавіруси — це велика група споріднених РНК-вірусів. Ця родина вірусів може викликати захворювання як у тварин, так і у людей. У даний час науковому співтовариству відомо 7 видів коронавірусів, які можуть заражати людей. Серед них особливо небезпечними є три типи. Перший — SARS-CoV — збудник важкого гострого респіраторного синдрому, який був поширений у 2002 році (смертність досягла 10%). Другий — MERS-CoV — збудник респіраторного синдрому Близького Сходу, який спалахнув у 2012 році (смертність досягла 35%). І останній вид — це SARS-CoV-2, який викликає хворобу COVID-19, — був виявлений у 2019 році і є наразі глобальною проблемою.

Зараз науковцям відомо лише два шляхи подолання COVID-19: виготовлення вакцини та створення селективних противірусних препаратів. Сьогодні ми можемо спостерігати неодноразові ураження SARS-CoV-2 у людей. Багато людей, які вже мали набутий імунітет, знову отримують коронавірус. Цей факт змушує засумніватись у доцільності вибору шляху виготовлення вакцини саме через можливу коротку тривалість її дії.

Протеаза 3CLpro є однією з перспективних цілей для розробки ефективних противірусних препаратів. Головним чином завдяки своїй суттєвій ролі в обробці поліпротеїнів, які перекладаються з вірусної РНК.

Наразі є підстави вважати що похідні 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулену є перспективними інгібіторами 3CLpro.

Мета роботи: синтез нових похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[cd]азулену та дослідження властивостей і противірусної ефективності даних синтезованих сполук.

Завдання дослідження:

- здійснити огляд наукової літератури з теми кваліфікаційної роботи;

– синтезувати похідні 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[сd]азулену;

– дослідити фізико-хімічні та спектральні властивості синтезованих сполук;

– провести молекулярний докінг на мішенях вірусу SARS-CoV-2 похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[сd]азулену;

– відібрати перспективні речовини для подальших біологічних досліджень.

Об’єкт дослідження: нові похідні 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[сd]азулену.

Предмет дослідження: синтез та противірусна дія нових похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[сd]азулену.

Наукова новизна одержаних результатів: одержані нові у науковій літературі сполуки — заміщені похідні 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[сd]азулену. Ефективність цих сполук визначалася за допомогою одержаних даних про енергію зв’язку синтезованих сполук з 3СLpro, що були отримані внаслідок проведеного молекулярного докінгу. Було доведено, що синтезовані нові сполуки мають потенціал для пошуку нових противірусних препаратів.

Особистий внесок дослідника: особисто автором було здійснено безпосередньо огляд наукової літератури. Брав активну участь під час виконання експериментальної частини роботи. Спільно з керівником були проведені бесіди з приводу отриманих результатів роботи, формування структури роботи, а також формування висновків, відповідно трактуючи отримані результати.

Апробація результатів досліджень: результати, що були одержані внаслідок проведеної роботи, були обговорені на таких конференціях:

- 12th National Conference ICAR «Italian Conference on AIDS and Antiviral Research»;

- V Міжнародній науково-практичній інтернет конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»;

- V Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»;

- Міжнародній науково-практичній дистанційній конференції, присвяченій 100-річчю кафедри аналітичної хімії НФаУ «Сучасні аспекти створення лікарських засобів»;

- I Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science»;

- III Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»

Методи дослідження: визначення ефективності отриманих сполук здійснено за допомогою молекулярного докінгу та програми PASS.

Публікації: опубліковано 6 тез доповідей у матеріалах Міжнародних і Всеукраїнських науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дипломної роботи: робота викладена на 58 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини, висновків і списку використаних джерел.

РОЗДІЛ І. БУДОВА ТА ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ АЗУЛЕНУ (Огляд літератури)

1.1. Характеристика будови та реакційної здатності похідних азулену

Азулен — це ароматичний вуглеводень, що має у своєму складі унікальну хімічну структуру та різні біологічні властивості.

Ці небензоїдні ароматичні сполуки мають конденсовану систему, яка складається з 5- і 7-членного циклів. Атоми карбону в 5-членному циклі несуть невеликий негативний заряд, а 7-членного (окрім атомів карбону, що є загальним для обох циклів) є позитивним. Наслідком несиметричності даних циклів є те, що вони володіють певним дипольним моментом [1].

Похідні азулену, такі як гвайазулен та хамазулен, зустрічаються у природі як компоненти рослин та грибів [2].

Завдяки фізико-хімічним властивостям ці сполуки та їх похідні використовуються у техніці, а особливо в оптоелектронних спорядженнях. У медицині інгредієнти даних рослин широко використовуються протягом сотень років у антибактеріальних та протизапальних видах терапій (рис. 1.1).

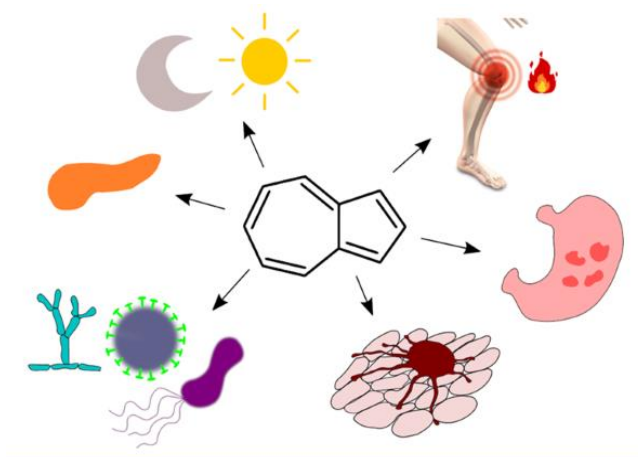


Рис 1.1. Властивості азуленів [3].

Потенційне функціональне призначення цих сполук стосується різних областей медицини та фармакології, включаючи протизапальну при виразковій

хворобі, протипухлинну при лейкемії, протидіабетичну та антиретровірусну з ВІЛ-1, протимікробну, антимікробну фотодинамічну терапію та протигрибкову види активностей [3].

Азулен та його похідні (рис. 1.2) — це ароматичні вуглеводні з унікальною хімічною структурою та характерними фізико-хімічними та біологічними властивостями.

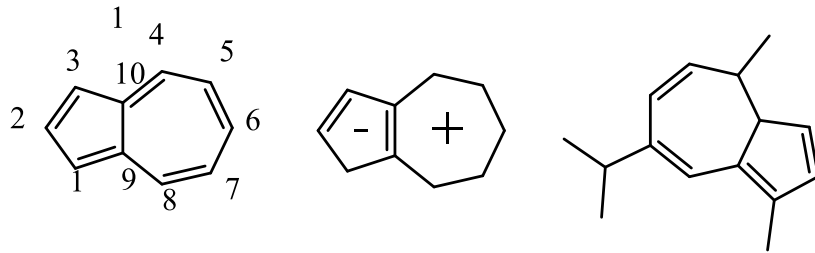


Рис. 1.2. Азулен та його похідні [5].

Сама молекула азулену складається з двох конденсованих кілець (циклопентадієну та циклогептатрієну) та має 10 π електронів, через це вона підкоряється правилу Хюккеля [5].

Оскільки сполуки азулену входять до складу багатьох лікарських рослин, вони звертають увагу дослідників, які шукають нові активні фармацевтичні сполуки.

Хамазулен міститься в оліях ромашки, полину та ахілеї і є відомим антибактеріальним та протизапальним засобом [7]. Доведено, що рецептура олеогелю з олії ромашки є ефективною проти багатьох різних захворювань, що супроводжуються біллю та нудотою. Фотофобія та фонофобія, що виникають під час мігрені, також ефективно лікувалися. Обидва вищезазначені ефекти були підтвержені в рандомізованому подвійному сліпому плацебо-контрольованому клінічному дослідженні [8].

Гвайазулен, як інгредієнт помади, забезпечив швидке відновлення шкіри новонароджених із пелюшковим дерматитом без будь-яких побічних ефектів [9].

Азулен — це перспективна платформа для застосування у лікарській

хімії, через те, що він нагадує біциклічні ароматичні речовини, які існують у багатьох лікарських препаратах. Окрім того, його можна вважати структурною модифікацією нафталену [10]. Модифікації азулену і його похідних залежать від введення радикалів або їх кон'югації з іншими біологічно активними речовинами. Так, введення радикалів до терпену підвищує його можливість розчинятися, змінює абсорбцію та метаболізм. Отже, ідея його поєднання з іншими активними сполуками, фармакофорами та фрагментами може приводити до більш якісних результатів. Концепція створення молекулярних кон'югатів, гібридів, димерів, що вивела науку про відкриття лікарських засобів до абсолютно нового рівня.

Однією з важливих проблем, з якою доводиться стикатися суспільству, є боротьба із спалахами небезпечних вірусів серед нашого середовища, що впливають на життя людей, такі як СНІД чи епідемії, чи такі як іспанський грип у 1918 році, або SARS у 2002-2004 роках, MERS у 2012 році та найновіший SARS-CoV-2 у 2019-2021 роках [11]. Отже, через вищезазначені проблеми вирішальним є розвиток нових антибактеріальних і противірусних речовин. Похідні азулену можуть дати зовсім нове розуміння та рішення даних питань.

Азулен та його похідні показали власний потенціал проти вірусів та певних мікробів. У дослідженні, проведеному Peet, 18 похідних азулену піддавали оцінці цитотоксичності в *in vitro* та оцінці їх на анти-ВІЛ-1 [12]. Найменш токсичні речовини досліджували на першій фазі скринінгу та на антивірусну активність, використовуючи певні вірусоподібні частинки на основі ВІЛ-1 для безпечного, чутливого та швидкого оцінювання антиретровірусної активності (рис. 1.3).

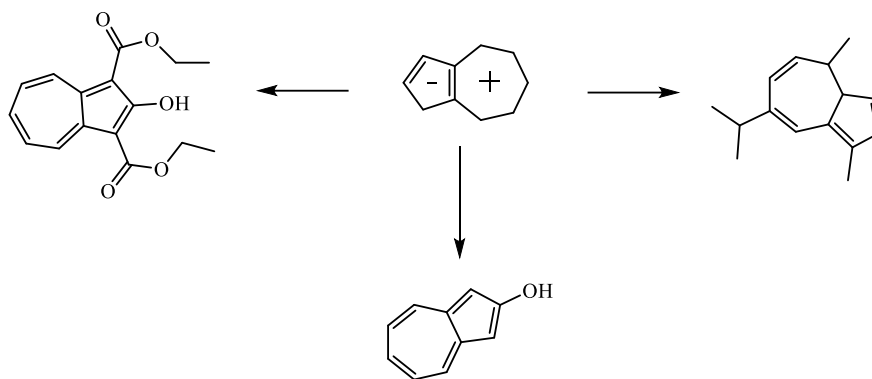


Рис. 1.3. Можливі модифікації похідних азулену з протівірусним та антимікробним потенціалом [12].

Найвищий потенціал активності виявлено для 2-гідроксиазуленів 5-7 (рис. 1.4), що були відібрані в ході другої фази антивірусного тесту для розвитку інгібування реплікації вірусу ВІЛ-1 TZM-bl клітин. Проте, сполука 5 не була активною щодо вірусу ВІЛ-1, тоді як похідні азулену 6 і 7 виявили зазначену активність. Найвищий показник IC_{50} при 8,5 мкМ та індексом селективності 7 виявлений в останній сполуці.

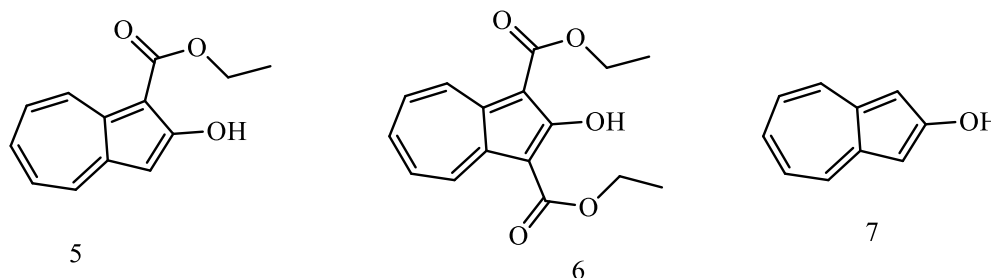


Рис. 1.4. Хімічна структура похідних 2-гідроксиазулену 5–7 [13].

Антиретровірусна активність похідних азулену 5–7 пояснювались інгібуванням зворотної транскриптази. Однак автори не виключали інших протівірусних механізмів. За отриманими результатами похідні азулену можна розглядати як потенційних кандидатів на розробку антиретровірусних засобів [13].

1.2. Фізико-хімічні властивості азулену та напрямки синтезу похідних на його основі.

Найпростіший з азуленів (рис. 1.5) знаходиться у вигляді синіх кристалів,

$T_{\text{пл}} = 99\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{кип}} = 170\text{ }^{\circ}\text{C}$. Енергія стабілізації сполуки – 72 кДж/моль. Гідрується та окиснюється на повітрі і під час дії KMnO_4 з утворенням CO_2 , $(\text{COOH})_2$ та ін. [14].

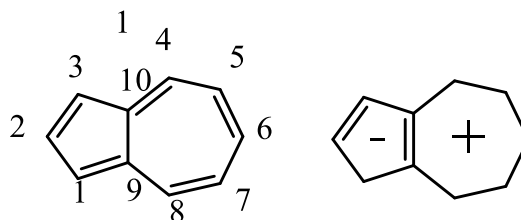


Рис. 1.5. Азулен [14].

Азулени з алкільними радикалами забарвлені в інтенсивний синій колір. У вільному стані вони являють собою рідини або кристалічні речовини $T_{\text{пл}} = 40\text{-}100\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Вперше термін «азулен» запропонував французький хімік Пісс для ефірних олій [15].

Азулени у вільному стані в природних умовах виявляються дуже рідко. В основному вони утворюються за допомогою дегідрування S та Se азуленогенів, що є в складі сесквітерпенових вуглеводнів, спиртів, кетонів, які містяться в ефірних оліях, і зі справжніх проазуленів, а точніше сесквітерпенових γ -лактонів – під час перегонки ефірної олії з водяною парою (рис. 1.6) [16].

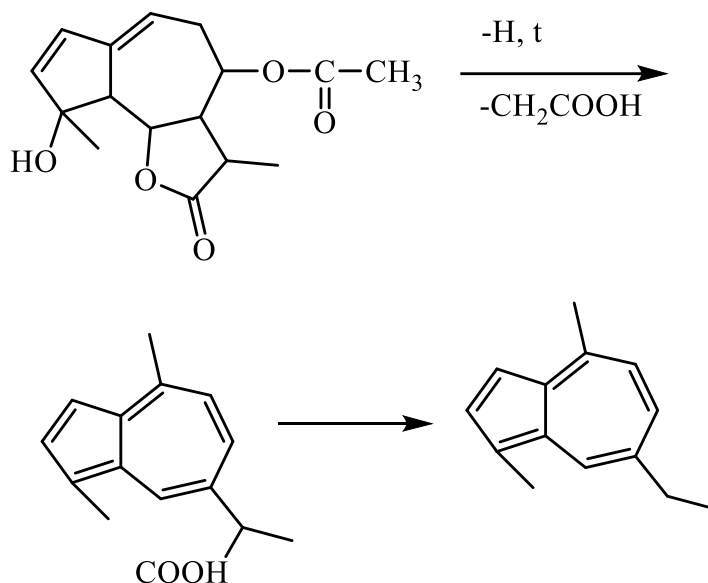


Рис. 1.6. Синтез похідних азулену [16].

Однак, незважаючи на велику кількість сесквітерпенових сполук, численність азуленів, що здатні утворюватися при дегідруванні, незначна.

Азуленогени містяться в основному в квіткових рослинах, а з грибів (*Lactarius deliciosus* L.) виділяють лактаразулен (рис. 1.7).

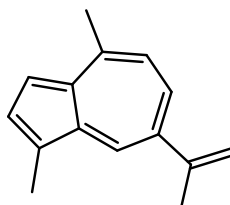


Рис. 1.7. Лактаразулен (1,4-диметил-7-ізопропенілазулен) [16].

Іноді вони утворюються у процесі хімічних реакцій. Азулени були виділені з буровугільної смоли, за допомогою піролізу вуглеводнів, та з махоркового диму. Також їх виявляли в продуктах тваринного обміну (сеча жеребних кобил) [18].

Азулени містяться в ефірних оліях у мізерній кількості, проте їх наявність навіть при 1:10000 помітна. Перші виділені азулени були названі додаванням назви ефірної олії до слова «азулен». За такою логікою, речовина, що виділена з гваякової смоли, отримувала назву гвайазулен, з олії хамоміли — хамазулен, з елемолу — елемазулен, з евкаліптової — евказулен, тощо. Пізніше багато даних сполук було ідентифіковано та виявлено, що багато сполук ідентичні за своїм складом (рис. 1.8, рис. 1.9) [19].

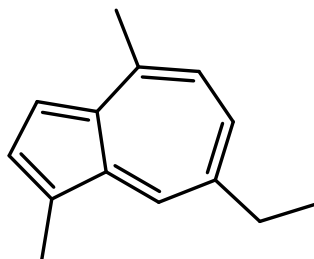


Рис. 1.8. 1,4-Диметил-7-етилазулен (хамазулен) [19].

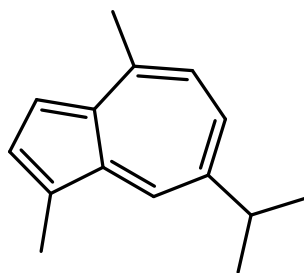


Рис. 1.9. 1,4-Диметил-7-ізопропілазулен (s-гвайазулен, гур'юназулен) [19].

Азулени є розчинними у вуглеводнях, а за температури вище 300 °С вони ізомеризуються у нафтален. При УФ-спектрах максимуми поглинання знаходяться в області 550-700 нм. А при ІЧ-спектрах відповідні смуги лежать при частотах 1570-1577 см^{-1} (C-C) та 3030-3086 см^{-1} (C-H).

Як наслідок підвищеної електронної щільності в атомах карбону 5-членного циклу, вони проявляють високу активність у реакціях за участю електрофільних агентів. Також вони легко утворюють π -комплекси з сполуками електронodefіцитного характеру, наприклад з тринітробенzenом, пікриною кислотою, тринітротолуеном, карбонілами металів, тетраціанхінодиметаном [20].

Азулени, як сполуки з високою основністю, при взаємодії з мінеральними або апротонними кислотами утворюють солі (рис. 1.10).

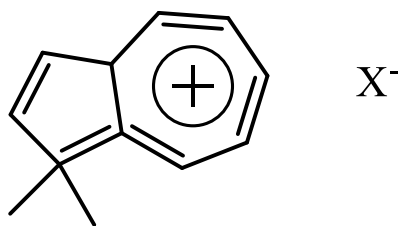


Рис. 1.10. Солі азулену [20].

Їхня здатність розчинятися у 85% H_3PO_4 та 60% H_2SO_4 з утворенням характерних солей використовується для отримання азуленів, оскільки сіль гідролізується під час розведення кислотного розчину водою.

Біполярна будова сполук пояснює більшу здатність до електрофільного заміщення, ніж в ароматичних сполуках, при цьому перший замісник заповнює положення 1, а другий – 3.

Проте, в реакціях нітрування, ацилювання, галогенування та азосполучення вони, за реакційною здатністю, такі ж самі, як високоактивні 5-членні гетероцикли [21].

Реакції азуленів з діазосполуками та нітроацетанлідом відбуваються за механізмом радикального заміщення в положення 1 або 3, тоді, як нуклеофільні реагенти вступають у положення 4, 6 або 8.

За промислових умов азулени отримують дегідруванням за присутності окиснювачів (S або Se) сесквітерпенів, що виділені з ефірних олій, наприклад як гвайазулен, що синтезований дегідратацією гвайолу, виділений зі смоли деревини гваяка, з відповідно наступним дегідруванням (рис. 1.11) [22].

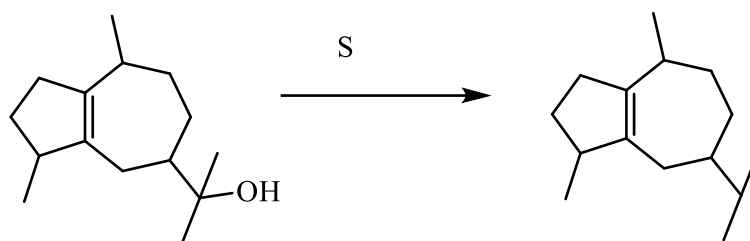


Рис. 1.11. Отримання азулену дегідруванням [22].

Але найзручніший синтез для промисловості проводиться із солей піридинію або пірилію і циклопентадієну, чи їх гомологів (рис. 1.12).

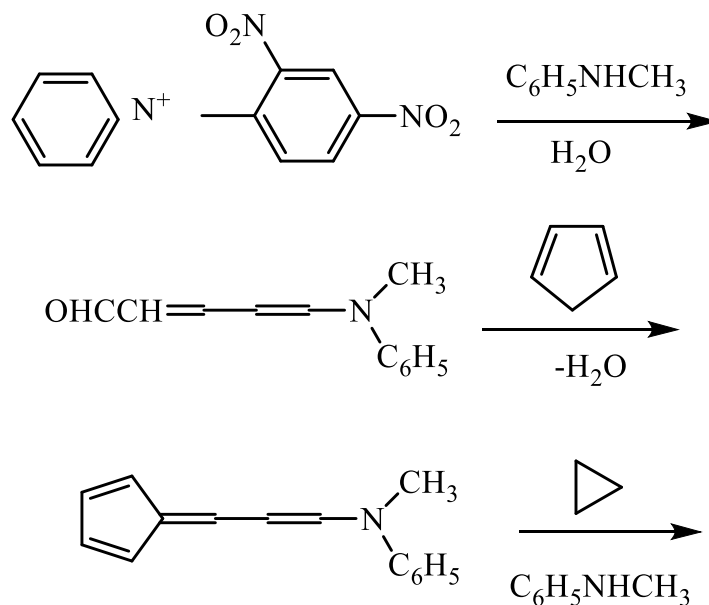


Рис. 1.12. Отримання азулену [22].

1.3. Будова коронавірусу

Як вже зазначалося раніше, азулени мають цілу низку фармакологічних активностей, серед них: протизапальна, бактеріостатична, противірусна, антиалергічна. Ми вважаємо, що похідні азуленів можуть бути активними противірусними сполуками й для боротьби з вірусом SARS-CoV-2.

Спалах нової коронавірусної хвороби COVID-19, спричиненої новим коронавірусом 2019-nCoV, що зараз офіційно називається важким гострим респіраторним синдромом коронавірусу SARS-CoV-2, представляє пандемічну загрозу для здоров'я людей [23].

Епіцентр спалаху COVID-19 відбувся у грудні 2019 року в місті Ухань, Китай. Пізніше дана хвороба поширилася на понад 100 країн (рис. 1.13) з 100 000+ підтвердженими випадками та 3800+ підтверджених смертей у всьому світі (рис. 1.14) станом на 9 березня 2020 р. І це не говорячи про те, що мільйони людей постраждало в наслідок обов'язкової ізоляції та карантину [24].

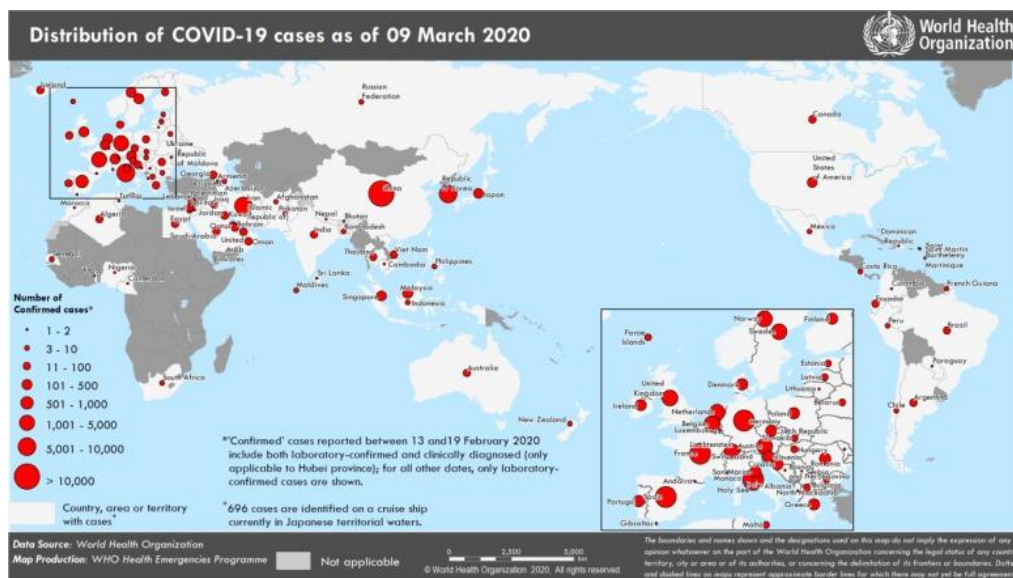


Рис. 1.13. Глобальне поширення підтверджених випадків COVID-19. (Карта відтворена зі звітів про хворобу коронавірусу ВООЗ (COVID-2019)) [23].

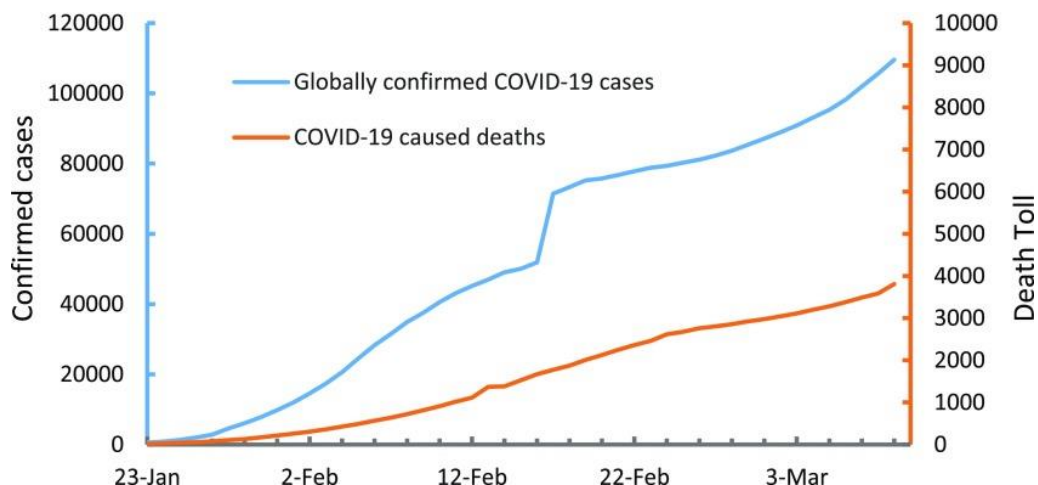


Рис. 1.14. Глобальна тенденція підтверджених випадків COVID-19 та пов'язаних із цим смертей з 23 січня по 9 березня 2020 року. (Дані отримані зі звітів про хворобу коронавірусу ВООЗ (COVID-2019)) [24].

Ефект пульсацій спалаху COVID-19 вже спричинив серйозні проблеми для всіх світових систем охорони здоров'я, а також викликав серйозні наслідки для світової економіки. Якщо поширення вірусу не буде ефективно контролюватися, то це може призвести до колапсу та тотальних радикальних змін і не тільки в цих сферах.

Коронавіруси (CoV) є відносно великими вірусами, які містять в своїй будові одноланцюговий РНК-геном, що інкапсульований всередині мембранної оболонки. Вірусна мембрана усіяна глікопротеїновими шипами, що викликає асоціацію з короною (рис 1.15) [25].

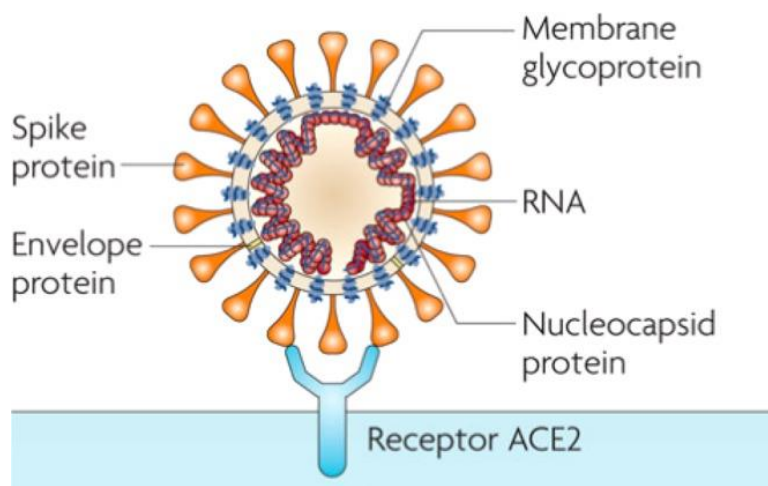


Рис. 1.15. Ілюстрація структури коронавірусу та вірусного рецептора ACE2 на поверхні клітини-господаря [25].

Коронавіруси можуть інфікувати як людей, так і тварин, але певні типи тварин, такі як кажани, в яких наразі виявлено найбільша кількість коронавірусів, є несприйнятливими до цього захворювання.

На даний час існує 5 класів коронавірусів, вони позначені як альфа, бета, гама, дельта та омікрон.

Клас бетакоронавірусів включає віруси важкого гострого респіраторного синдрому (SARS, SARS-CoV), вірус респіраторного синдрому Близького Сходу (MERS, MERS-CoV) та SARS-CoV-2 (збудник COVID-19) [26].

Подібно до SARS-CoV та MERS-CoV, SARS-CoV-2 атакує нижні відділи дихальної системи (рис. 1.16), при цьому викликаючи вірусну пневмонію, проте він може впливати і на шлунково-кишкову систему, нирки, серце, центральну нервову систему, печінку, що призводить до поліорганної недостатності [27].

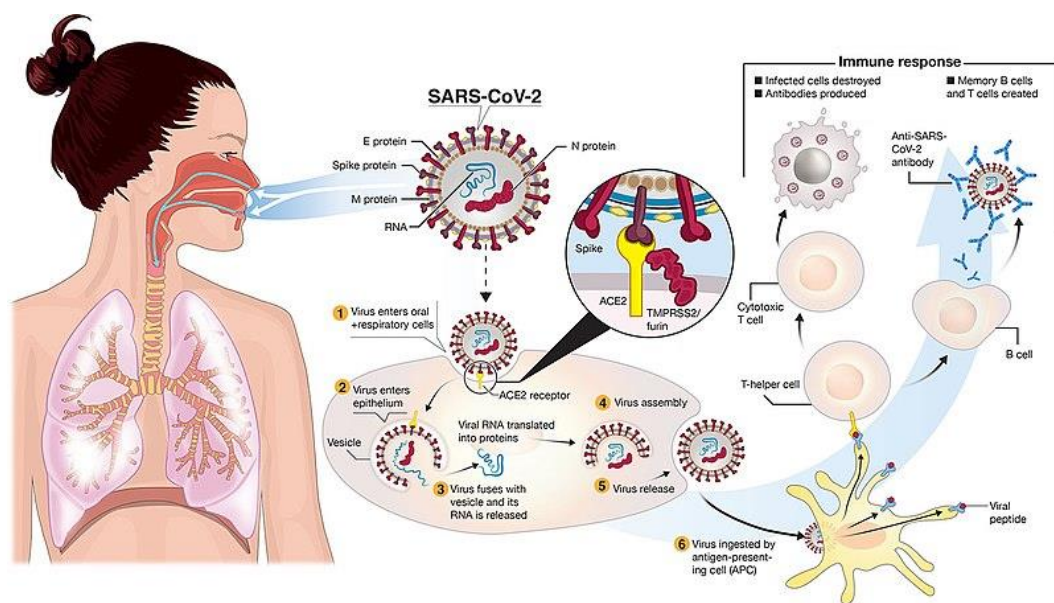


Рис. 1.16. Ілюстрація взаємодії коронавірусу з людським організмом [27].

На даний момент SARS-CoV-2 є більш заразним, ніж SARS-CoV.

Геном бетакоронавірусу кодує декілька структурних білків, включаючи білок глікозильованого колоска (S), який функціонує як головний індуктор імунної відповіді господаря.

S-білок опосередковує інвазію клітин-господаря, як SARS-CoV, так і

SARS-CoV-2, через зв'язування з білком-рецептором, який називається ангіотензин-перетворюючий фермент 2 (ACE2) (рис. 1.17), розташований на поверхневій мембрані клітин-господарів [28].

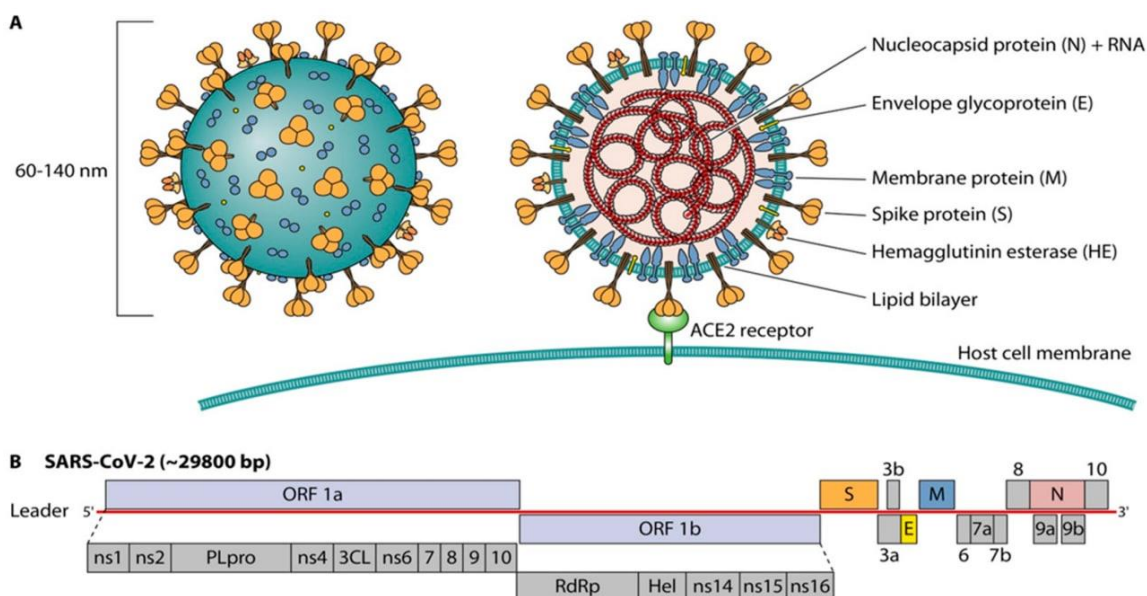


Рис. 1.17. Ілюстрація рецепторів, та будови глікопротеїнових шипів SARS-CoV-2 [з вільних інтернет-ресурсів].

Нещодавні дослідження також показали, що цей процес інвазії вимагає праймування S-білка, чому сприяє продукована клітиною господаря серинована протеаза TMPRSS211 (рис. 1.18).

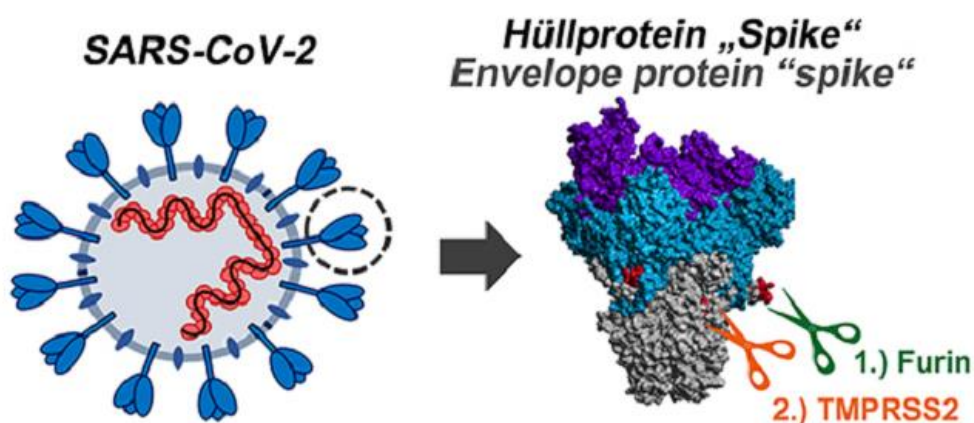


Рис. 1.18. Механізм активації SARS-CoV-2 [з вільних інтернет-ресурсів].

Крім того, вірусний геном також кодує кілька неструктурних білків,

включаючи РНК-залежну РНК-полімеразу (RdRp), основну протеазу коронавірусу (3CLpro) та папаїноподібну протеазу (PLpro).

При вході в клітину-господаря вірусний геном виділяється у вигляді одноланцюгової позитивної РНК. Згодом він перетворюється на вірусні поліпротеїни за допомогою механізму перекладу білків клітин-господарів, які потім розщеплюються на ефекторні білки за допомогою вірусних протеїназ 3CLpro та PLpro. Останній поводить себе як деубіквітиназа, яка може деубіквінувати деякі білки клітини-господаря, включаючи фактор інтерферону 3 та NF-κB, що призводить до пригнічення імунітету [29]. RdRp синтезує матрицю РНК з негативним ланцюжком на всю довжину, яка використовується RdRp для отримання більш вірусної геномної РНК.

Існує перспектива для відкриття терапевтичних засобів, спрямованих на висококонсервативні білки, пов'язані як з SARS-CoV, так і з SARS-CoV-2. Так, RdRp та 3CLpro протеази SARS-CoV-2 мають понад 95% схожості послідовностей із такими, як SARS-CoV, незважаючи на той факт, що ці два віруси демонструють лише 79% подібності послідовностей на рівні геному. На основі моделювання вирівнювання послідовностей та гомології, SARS-CoV та SARS-CoV-2 мають високозбережений рецептор-зв'язуючий домен (RBD), домен S-білка та 76% подібності послідовностей у своїх S-білках. Крім того, хоча послідовності PLpro SARS-CoV-2 та SARS-CoV схожі лише на 83%, вони мають подібні активні сайти [30].

На сьогоднішній день не існує специфічних для SARS-CoV-2 противірусних засобів. Дослідники стараються знайти можливості лікування, щоб врятувати життя та виготовити ефективні препарати.

1.4. Ключові білки коронавірусу та їх роль у вірусному зараженні людей

Ідентифікація цілей є важливою для виявлення ліків з високою специфічністю цілі та/або для виявлення існуючих ліків, які можуть бути перероблені для лікування інфекції SARS-CoV-2.

У таблиці 1.1 перераховані потенційні мішені, їх роль у вірусній інфекції

та репрезентативні існуючі ліки, які, як повідомляється, діють на відповідні мішені у подібних вірусів, тому має бути оцінено їх вплив на інфекцію SARS-CoV-2.

Таблиця 1.1

Цільовий кандидат	Повна назва	Роль під час вірусної інфекції	Кандидат у ліки
3CLpro	Коронавірус основна протеаза 3CLpro	Протеаза для протеолізу вірусного поліпротеїну на функціональні одиниці	Лопінавір
PLpro	Папаїноподібна протеаза PLpro	Протеаза для протеолізу вірусного поліпротеїну на функціональні одиниці	Лопінавір
RdRp	РНК-залежна РНК-полімераза	РНК-залежна РНК-полімераза для реплікації вірусного геному	Ремдезивір, рибавірин
S білок	Вірусний спайковий глікопротеїн	Вірусний поверхневий білок для зв'язування з рецептором клітини-господаря ACE2	Арбідол
TMPRSS2	Трансмембранна протеаза, серин 2	Продукована клітиною-господарем протеаза, яка ґрунтує S-білок, щоб полегшити його зв'язування з ACE2	Камостат мезилат
ACE2	Ангіотензин-перетворюючий фермент 2	Білок вірусного рецептора на клітинах-господарях, який зв'язується з вірусним S-білком	Арбідол
AT2	Рецептор ангіотензину AT2	Важливий ефектор, що бере участь у регуляції артеріального тиску та об'єму серцево-судинної системи	L-163491

3CLpro та PLpro — це дві вірусні протеази, що відповідають за розщеплення вірусних пептидів до функціональних одиниць для реплікації та упаковки вірусу в клітинах-господарях. Таким чином, були досліджені ліки, спрямовані на ці протеази в інших вірусах, таких як ВІЛ-препарати, лопінавір

та ритонавір [31].

RdRp — це РНК-полімераза, відповідальна за синтез вірусної РНК, яка може блокуватися існуючими противірусними препаратами, такими як ремдесивір [32].

Можливо, взаємодія вірусного S-білка з його рецептором ACE2 на клітинах-господарях та подальший вірусний ендоцитоз у клітинах також може бути життєздатною мішенню для ліків [33].

Протеаза TMPRSS2, що продукується клітинами-господарями, відіграє важливу роль у протеолітичній переробці S-білка, що ґрунтується на зв'язуванні рецептора ACE2 в клітинах людини. Було показано, що мезилат камостату, клінічно затверджений інгібітор TMPRSS2, зміг заблокувати проникнення SARS-CoV-2 до клітин людини, вказуючи на його потенціал як препарату проти COVID-19.

Взаємодія ACE2 з коронавірусною інфекцією представляє додатковий інтерес, оскільки ACE2 є потужним негативним регулятором, що стримує надмірну активацію ренін-ангіотензинової системи (RAS), який може брати участь у виникненні запальних захворювань легенів, крім загальновідомої ролі в регуляції артеріального тиску і балансі рідини та електролітів [34]. Він каталізує деградацію ангіотензину II до ангіотензину (1–7). Баланс між ангіотензином II та ангіотензином (1–7) є критичним, оскільки ангіотензин II зв'язується з рецептором ангіотензину AT1, викликаючи звуження судин, тоді як ангіотензин (1–7) викликає вазодилатацію, опосередковану AT2 [35].

Хоча уявлення про те, що АПФ2 опосередковує інвазію коронавірусу, є загальноновизнаним, залишається незрозумілим, як змінюється рівень або активність ACE2, AT1-рецепторів та AT2-рецепторів при захворюваннях, викликаних коронавірусом, через обмежену кількість досліджень. Отже, ще не визначено, чи можуть деякі ліки або сполуки, націлені на будь-який із цих білків (наприклад, L-163491, як частковий антагоніст рецептора AT1 та частковий агоніст рецептора AT2), може полегшити пошкодження легенів, спричинене коронавірусом [36].

Раніше було показано, що SARS-CoV-2 має подібну геномну організацію до інших бета-коронавірусів, що складається з 5-нетранслюємої області (UTR), комплексу реплікази (orf1ab), що кодує неструктурні білки (nsps), ген білка шипа (S), ген оболонки білка (E), ген мембранного білка (M), ген нуклеокапсидного білка (N), 3-UTR та кілька неідентифікованих неструктурних відкритих рамок зчитування [37].

Хоча SARS-CoV-2 віднесено до групи бета-коронавірусів, він відрізняється від MERS-CoV та SARS-CoV. Недавні дослідження підкреслили, що гени SARS-CoV-2 мають <80% ідентичності нуклеотидів і 89,1% схожості нуклеотидів з генами SARS-CoV [38]. Зазвичай бета-коронавіруси виробляють поліпептид ~800 кДа при транскрипції геному.

Цей поліпептид протеолітично розщеплюється для утворення різних білків. Протеолітична обробка опосередковується папаїноподібною протеазою (PLpro) та 3-хімотрипсин-подібною протеазою (3CLpro). 3CLpro розщеплює поліпротеїн на 11 різних ділянках, утворюючи різні неструктурні білки, важливі для реплікації вірусів [39].

3CL pro відіграє вирішальну роль у реплікації частинок вірусу, і на відміну від структурних/допоміжних генів, що кодують білок, він знаходиться на третьому кінці, що виявляє надмірну мінливість (рис 1.19). Тому — це потенційна мішень для скринінгу інгібіторів антикоронавірусів.

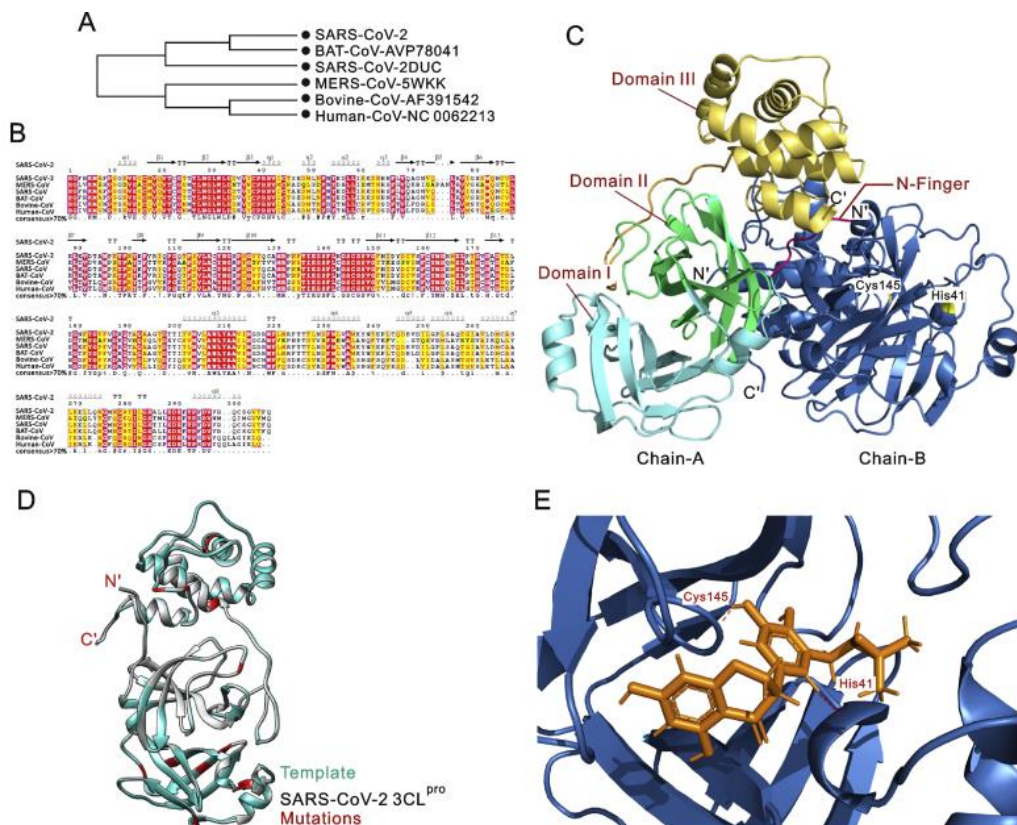


Рис. 1.19. А: філогенетичне дерево, виведене з найближчих гомологів SARS-CoV-2 3CLpro. Для побудови цього дерева був використаний метод максимальної вірогідності;

В: вирівнювання кількох послідовностей найближчих гомологів SARS-CoV-2 3CLpro спільного використання $\geq 70\%$ ідентичності послідовності;

С: модель SARS-CoV-2 3CLpro гомодимер. Ланцюг-А (протомер-А) має різнокольоровий колір, а Ланцюг-В (протомер-В) – в темно-синьому кольорі. N-палець, який відіграє важливу роль у димеризації, що підтримує активну конформацію, позначений яскраво-рожевим кольором, домен I пофарбований у блакитний, домен II – зеленим, а домен III – жовтим. N- і С-кінці позначені маркуванням. Залишки каталітичної діади (Cys-145 та His-41) виділені жовтим кольором та маркуються;

Д: мультиплікаційне зображення 3CLpro модель мономера (ланцюг/протомерів-А) SARS-COV-2 накладається з ТОРС-коронавірус 3CLpro структуру. Шаблон SARS-CoV 3CLpro забарвлений у блакитний колір, структура SARS-CoV-2 3CLpro – сірий, а всі виявлені мутації виділені червоним кольором.

Е: докінг 5,7,3', 4'-тетрагідрокси-2'-(3,3-диметилаліл) ізофлавоу всередині ділянки зв'язування з рецепторами SARS-CoV-2 3CLpro, показуючи водневі зв'язки з каталітичною діадою (Cys-145 та His-41). 3CLpro структура пофарбована в темно-синій, 5,7,3',4'-тетрагідрокси-2'-(3,3-діметілалілової) ізофлавоу в помаранчевий, і водень кольором темно-бордовий [39].

Фізико-хімічні показники SARS-CoV-2 3CLpro наведено у таблиці 1.2 [40].

Таблиця 1.2

Параметри	SARS-CoV-2 3CLpro
Мол. вага	33796,64 Дальтон
Кількість амінокислот	306
Теоретичний <i>pI</i>	5.95
Індекс нестабільності (II)	27,65 (стабільно)
Кількість негативно заряджених залишків (Asp + Glu)	26
Кількість позитивно заряджених залишків (Arg + Lys)	22
Аліфатичний індекс	82.12
Середнє середнє значення гідропатичності (СИНЕ)	-0,019
Атомний склад	Вуглець-1499; Гідроген-2318; Азот-402; Кисень-445; Сірка-22
Склад амінокислот	Ala-17 (5.6%); Arg-11 (3.6%); Asn-21 (6.9%); Asp-17 (5.6%); Cys-12 (3.9%); Gln-14 (4.6%); Glu-9 (2.9%); Gly-26 (8.5%); His-7 (2.3%); Ile-11 (3.6%); Leu-29 (9.5%); Lys-11 (3.6%); Met-10 (3.3%); Phe-17 (5.6%); Pro-13 (4.2%); Ser-16 (5.2%); Thr-24 (7.8%); Trp-3 (1.0%); Tyr-11 (3.6%); Val-27 (8.8%); Pyl-0 (0.0%); Sec-0 (0.0%)

Структурний аналіз активності та високопродуктивні дослідження виявили, що найбільш потенційною мішенню для інгібування SARS-CoV та MERS-CoV є 3CLpro.

1.5. Існуючі препарати з потенційним терапевтичним застосуванням для COVID-19

Оскільки SARS-CoV-2 є нещодавно виявленим збудником, конкретних препаратів не виявлено і в даний час немає. Економічна та ефективна терапевтична стратегія полягає у перегляді існуючих ліків та проведенні аналізу щодо потенційно активних речовин.

На основі інформації про геномну послідовність, поєднаної з моделюванням структури білка, наукове співтовариство змогло швидко відповісти запропонованим списком існуючих препаратів з терапевтичним потенціалом для COVID-19.

У таблиці 1.3 наведено короткий опис таких препаратів разом із потенційними механізмами дії для їх діяльності.

Таблиця 1.3

Кандидат у ліки	Мішень	Можливий механізм дії на COVID-19	Первинна функція
Баріцитиніб	Кіназа JAK	Інгібітор JAK, який може перешкоджати запальним процесам	Схвалений препарат від ревматоїдного артриту
Лопінавір	Вірусні протеази: 3CLpro або PLpro	Інгібітори протеази, які можуть інгібувати вірусні протеази: 3CLpro або PLpro	Лопінавір та ритонавір є схваленою комбінацією препаратів для ВІЛ-інфекції
Фавіпіравір (фавілавір)	RdRp	Пуриновий нуклеозид, який діє як альтернативний субстрат, що призводить до неточного синтезу вірусної РНК	Вірусні інфекції
Ремдезивір		Аналог нуклеотиду, який може блокувати синтез вірусного	Інфекція вірусом Ебола

Кандидат у ліки	Мішень	Можливий механізм дії на COVID-19	Первинна функція
		нуклеотиду, щоб зупинити реплікацію вірусу	
Рибавірин			RSV-інфекція, гепатит С, деякі вірусні геморагічні лихоманки
Хлорохін	Ендосома/ ACE2	Препарат, який може підвищити рН ендосом і перешкоджати глікозилюванню ACE2	Зараження малярійними паразитами
Нітазоксанід	Не застосовується	Препарат, який може інгібувати експресію вірусного білка	Різні гельмінтозні, найпростіші та вірусні інфекції, викликані діареєю

Барцитиніб був запропонований через його протизапальну дію та можливу здатність зменшувати потрапляння вірусу. Фіксована доза комбінації проти ВІЛ, лопінавір – ритонавір, наразі перебуває у клінічних випробуваннях з арбідолом та рибавірином [41].

Ремдесивір, розроблений компанією Gilead Sciences Inc., раніше був протестований на людях із хворобою вірусу Ебола і показав перспективність на моделях тварин для MERS та ГРВІ. В даний час препарат вивчається у фазі III клінічних випробувань як у Китаї, так і в США [42].

Фавіпіравір, пуриновий нуклеозид, що призводить до неточного синтезу вірусної РНК, [43] був спочатку розроблений японською компанією Toyama Chemical, і нещодавно був схвалений для клінічного випробування як препарат для лікування COVID-19 [44].

Ритонавір — це підсилювач фармакокінетичного профілю, який може посилювати ефекти інших інгібіторів протеази завдяки своїй здатності

послаблювати деградацію цих препаратів печінковим ферментом CYP3A4, тому застосовується у комбінації з антивірусним лопінавіром.

Хлорохін — протималарійний препарат, довів свою ефективність у лікуванні коронавірусу в Китаї [45].

1.6. Сполуки у дослідженнях та розробках з потенційним впливом на SARS-CoV-2

Окрім різних комерціалізованих протівірусних препаратів, в даний час в ході досліджень та розробок є також сполуки з невеликими молекулами, які продемонстрували значний інгібуючий вплив на багато ключових білків від подібних коронавірусів, таких як SARS-CoV та MERS-CoV (таблиця 1.4).

Ці кандидати в ліки здебільшого інгібують вірусні ферменти, включаючи протеази та компоненти для RdRp. Оскільки протеаза 3CLpro має високий рівень гомології послідовностей між SARS-CoV та SARS-CoV-2, інгібітори проти 3CLpro SARS-CoV можуть також застосовуватися до SARS-CoV-2 [46].

Таблиця 1.4

Маломолекулярна сполука	Мішень	Можливий механізм дії на COVID-19
Трикарбонова кислота аурину	РНК-залежна РНК-полімераза (RdRp)	Інгібітор, який може зв'язуватися з вірусним RdRp, як тестували на SARS-CoV в культурі клітин
4-метил- <i>N</i> - [(1 <i>S</i>) -2-оксо-2 [(1 <i>S</i> , 2 <i>E</i>) -1- (2-фенілетил) -3-(фенілсульфоніл) -2-пропен-1-іл] аміно] -1- (фенілметил) етил] - 1-піперазинкарбоксамід	Вірусні протеази: 3CLpro та PLpro	Інгібітор, який може порушити функцію 3CLpro та PLpro, який тестували на SARS-CoV
Рупінтрівір		Інгібітор цистеїнової протеази, який може порушити функцію 3CLpro та PLpro [51]

Маломолекулярна сполука	Мішень	Можливий механізм дії на COVID-19
(α R) - α - [[3- (4-хлор-2-фторфеніл) - 1-оксо-2-пропен-1-іл] аміно] - N - [(1 R) -1-метил-2- (2-оксо-3-піролідиніл) етил] - бензенпропанамід	Вірусні протеази: 3CLpro або PLpro	Інгібітор, який може порушити функцію 3CLpro або PLpro, протестований проти SARS-CoV або MERS-CoV
Бензопурпурин В	NSP15 (полі(U)-специфічна ендорибонуклеаза)	Хімічні інгібітори, які можуть пригнічувати вірусну інфекційність шляхом інгібування ендорибонуклеази NSP15, які тестували проти SARS-CoV у культивованих клітинах [52]
С-21	AT2	Агоніст рецептора ангіотензину AT2, який може полегшити вірус-індуковану травму легенів

Сполуки, включаючи бензопурпурин В, С-467929, С-473872, NSC-306711 та N--65828, можуть інгібувати активність вірусної NSP15, полі(U)-специфічної ендорибонуклеази, тестували на зниження інфекційності SARS-CoV у культивованих клітинах з IC_{50} 0,2-40 мкМ [47].

Сполуки С-21 і CGP-42112A є двома агоністами AT2, тоді як L-163491 виконує подвійні функції як частковий агоніст рецептора AT2 і частковий антагоніст рецептора AT1 [48].

Оскільки AT1 і AT2 є важливими ефекторами в системі RAS, до якої належить ACE2, припускають, що ці сполуки можуть бути використані для регулювання балансу між AT1 і AT2 [49], на який може вплинути коронавірусна інфекція, та для полегшення вірусно-індукованої травми легенів під час зараження [50].

1.7 Заключення. Постановка задачі

Аналіз літературних джерел стосовно протівірусних засобів дозволяє говорити про те, що необхідно проводити пошуки нових, а найголовніше безпечних для людини, лікарських препаратів. Пошук даних лікарських засобів можливий серед похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[*cd*]азулену.

Для досягнення поставленої мети кваліфікаційної роботи необхідно вирішити низку практичних задач, а саме:

- синтезувати нові похідні 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[*cd*]азулену;
- дослідити їх фізико-хімічні та спектральні властивості;
- провести молекулярний докінг на мішенях вірусу SARS-CoV-2 одержаних похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[*cd*]азулену;
- відібрати перспективні речовини для подальших біологічних досліджень.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1. Програмне забезпечення

Libre Office — це пакет програм, який створений для різних операційних систем та цілей. Конкретно використовувались у даній роботі Libre Office Writer та Libre Office Calc [53] (Libre Office Writer є текстовим процесором, а Libre Office Calc – табличним процесором [54]).

ISIS Draw — це безкоштовна програма, основною функцією якої є створення різних хімічних структурних формул. Зроблені файли зберігаються в форматі *. Skc, що легко розпізнається програмою ChemDraw. А це значить, що не відбувається втрат даних. Цей момент є дуже важливим при перенесенні структур між форматами (*. cdx -> *. skc) [55].

CarboDraw — це безкоштовна програма, що призначена для побудови циклічних структур. У зазначеній програмі існує можливість вибору багатьох заступників (замість гідроксильних груп та атомів водню). Назви сполук задаються автоматично, але їх можна також відредагувати самостійно [56].

PASS оцінює ймовірні профілі біологічної активності досліджуваних сполук на основі їх структурних формул, представлених у форматі MOLfile або SDfile [57]. Загальний список передбачуваної біологічної активності складається з понад 4000 термінів, включаючи фармакотерапевтичні ефекти, біохімічні механізми (наприклад, інгібітор циклооксигенази-1), токсичність, метаболізм (наприклад, інгібування CYP3A4), регуляцію експресії генів (наприклад, інгібування експресії VEGF), активності, що пов'язані з транспортером (наприклад, субстрат Р-глікопротеїну).

Прогноз PASS базується на базі знань про взаємозв'язки структура-активність для більш ніж 1 000 000 сполук з відомою біологічною активністю [58]. Середня точність прогнозу, оцінена в процедурі перехресної перевірки без урахування, для всього навчального набору PASS становить близько 96%.

2.2. Хемометричний аналіз

Підтвердження будови та чистоти всіх синтезованих нових сполук було доведено ЯМР-спектроскопією.

ЯМР-спектроскопія — це спектральний метод ідентифікації, що дозволяє вивчати різні хімічні об'єкти. Найбільш вживаними в хімії та у практичних застосуваннях є спектроскопія протонного магнітного резонансу (^1H ЯМР/ПМР-спектроскопія), та ЯМР на ядрах карбону-13 (^{13}C ЯМР-спектроскопія) [59].

Подібно до інфрачервоної спектроскопії, ЯМР виявляє дані про молекулярну будову проаналізованих хімічних речовин. Однак, він забезпечує більш широкий спектр інформації, ніж ІЧ, тим самим дозволяє вивчати різні динамічні процеси в зразку, визначати швидкості перебігу хімічних реакцій, величину енергетичних бар'єрів обертання всередині молекули. Ці особливості зробили ЯМР-спектроскопію зручним засобом для аналізу різноманітних біологічних об'єктів.

На сьогоднішній день ЯМР-спектроскопія дозволяє ідентифікувати сполуки, маючи, навіть, менше 1 мг речовини [60]. Отриманий зразок розчиняють в дейтерованому розчиннику, ампулу кладуть в ЯМР спектрометр, а після нетривалого накопичення сигналу отримують відповідний спектр, де по характерному положенню піків протонів описують сполуку за параметрами їх специфічної резонансної частоти.

2.3. Комп'ютерне моделювання протівірусної активності

Незважаючи на широке застосування методів високопродуктивного скринінгу, експериментально протестувати дію мільйонів сполук для визначення їх спектрів біологічної активності, неможливо. Із цим пов'язана одна з фундаментальних проблем сучасної хімії – дослідження співвідношень «структура–активність» фізіологічно активних сполук [61].

Тому необхідна допомога спеціальних комп'ютерних систем (рис. 2.1) в отриманні оцінок можливостей прояву біологічних активностей для різних

класів сполук. Комплексну можливість дослідження біологічної активності речовин можна забезпечити розвитком нових технологій в комп'ютерному прогнозуванні.

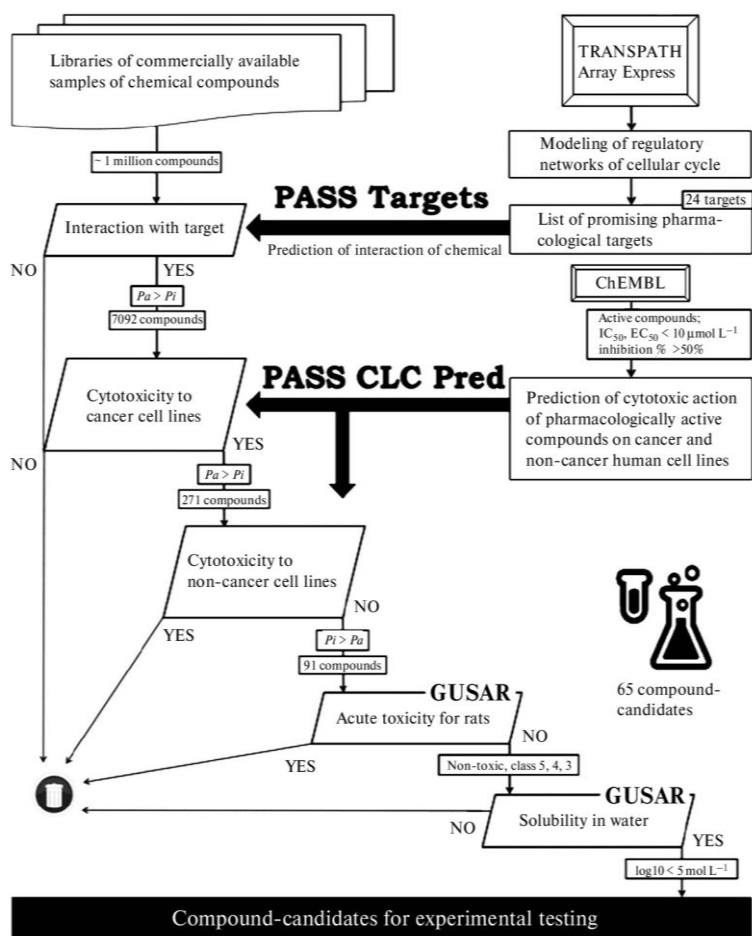


Рис. 2.1. Схема прогнозування активності речовин за допомогою програм [з вільних інтернет-ресурсів].

Досить швидким та ефективним методом пошуку фармакологічно активних сполук є використання баз даних, на основі яких можливий попередній прогноз структурних аналогів із заданою фармакологічною активністю. При цьому, найчастіше, для відображення структур молекул прогнозованих сполук у площині 2D, використовуються такі програми, як ISIS/Draw, ChemDraw, ChemScetch та ін. Процес пошуку перспективних речовин здійснюється за допомогою віртуального скринінгу. За таким принципом працює програма комп'ютерного прогнозування спектрів біологічної активності в органічних сполуках PASS [62].

Для опису структури органічних сполук PASS обрана в якості основи структурна формула. Програма дозволяє здійснити прогнозування біологічної активності сполук на основі їхньої двовимірної структурної формули, представленої у форматі mol-файлу через Інтернет, в режимі реального часу [63].

Результат прогнозування спектра активностей представлений у програмі у вигляді впорядкованого списку назв активностей та їх ймовірностей P_a — бути активним у чомусь і P_i — бути неактивним у чомусь для прогнозованої речовини. Це дозволяє об'єднувати в одній вибірці інформацію про біологічно активні сполуки. Упорядкування списку виконано за зменшенням різниці $P_a - P_i$, відповідно, найімовірніші види активності перебувають у початку списку [64].

2.4 Дослідження протівірусної активності

Молекулярний докінг — це специфічний метод молекулярного моделювання, за допомогою якого можна передбачити найбільш вигідну для створення стійкого комплексу двох молекул [65].

Вхідною інформацією для проведення докінгу є тривимірні структури білка-рецептора та ліганду, конформаційна рухливість та положення, які моделюється в процесі (рис. 2.2). У результаті моделювання виходить конформація ліганду, що найкращим чином може взаємодіяти з білком.

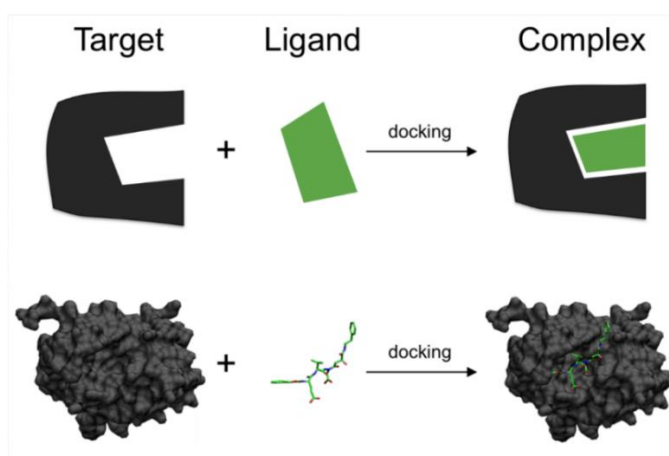


Рис. 2.2. Схема молекулярного докінгу [з вільних інтернет-ресурсів].

Процес здійснюють за допомогою операції, у ході якої одну молекулу

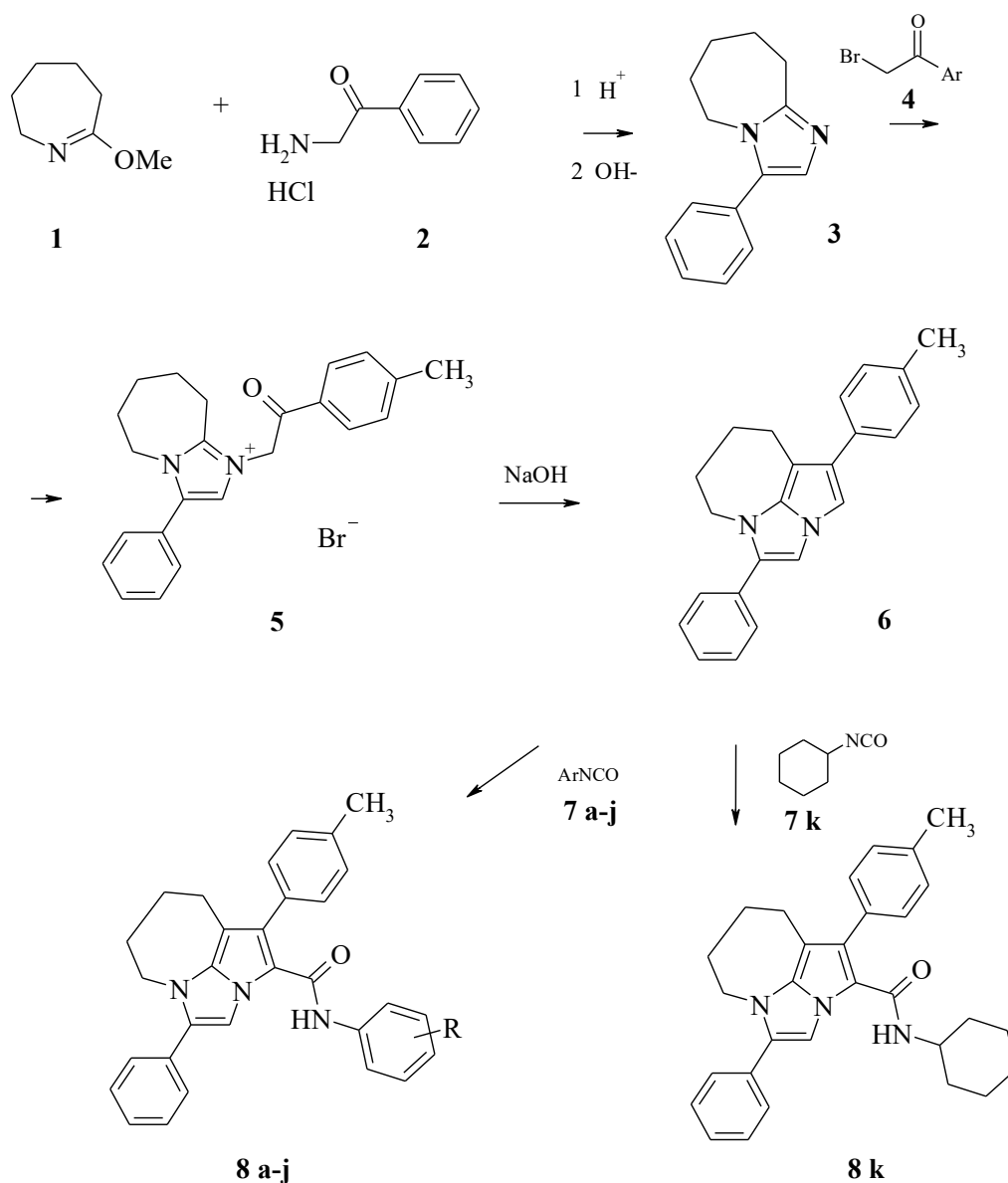
наближають до іншої, неперервно обчислюючи енергію взаємодії між ними при різних орієнтаціях та конформаціях. Потім поступово встановлюють найвигідніше взаємне положення. При обчисленнях, в основному, враховують тільки кулонівські та ван-дер-ваальсові взаємодії між атомами молекул [66].

Обчислення оптимальної молекулярної орієнтації дає змогу для передбачення сили асоціації та спорідненості між двома молекулами. Окрім того, відносна орієнтація двох взаємодіючих молекул може вплинути на тип сигналу. Через дану особливість докінг може використовуватися для прогнозування сили та типу сигналу [68]. Даний метод лежить в основі структурного дизайну лікарських засобів.

**РОЗДІЛ III. СИНТЕЗ ТА ПРОТИВІРУСНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ
1,4-ДІАРИЛ-5,6,7,8-ТЕТРАГІДРО-2А,4А-
ДІАЗАЦИКЛОПЕНТА[CD]АЗУЛЕНУ
(Експериментальна частина)**

**3.1. Синтез похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-
діазациклопента[cd]азулену**

Схема 3.1.



Де 8 a-j: R = **a)** Ph, **b)** 2-CH₃OC₆H₄, **c)** 3-CH₃OC₆H₄, **d)** 4-CH₃OC₆H₄, **e)** 3-CH₃C₆H₄,
f) 4-CH₃C₆H₄, **g)** 2-ClC₄H₄, **h)** 3-ClC₆H₄, **i)** 4-ClC₆H₄, **j)** 3,4-Cl₂C₆H₃.

2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7*H*-азепін **1** отримували алкілуванням капролактаму диметилсульфатом. Сіль α -Амінофілацетофенон гідрохлориду **2** було одержано взаємодією α -бромацетофенону з гексаметилентетраміном. Відповідно до наведеної схеми одержаний і 3-феніл-6,7,8,9-тетрагідро-5*H*-імідазо[1,2-*a*]азепін **3** [69].

Спектри ^1H -ЯМР записували на Bruker VXR-300 (Німеччина), робоча частота 299,945 МГц, в ДМСО-*d*₆ з використанням тетраметилсилану (ТМС) як внутрішнього стандарту для **8 a-i** та Bruker DRX300 (Німеччина), робота частота 500,13 МГц, для **8 j, k**. Хімічні зрушення вказуються в одиницях проміле за допомогою шкали δ . Температури плавлення вимірювали на малогабаритному нагрівальному столі за допомогою приладу спостереження RNMK 05 (VEB Analytik, Dresden) [70].

Синтез **1-(2-оксо-2-*n*-толіл-етил)-3-феніл-6,7,8,9-тетрагідро-5*H*-імідазо[1,2-*a*]азепін-1 броміду **5****. До розчину 6,37 г (0,03 моль) 3-феніл-6,7,8,9-тетрагідро-5*H*-імідазо[1,2-*a*]азепіну **3**, який розчинений в 120 мл етилацетату, додали 6,39 г (0,03 моль) α -бром-4-метилацетофенону **4**. Реакційну суміш кип'ятили протягом 1 години. Після охолодження тверду речовину **5** фільтрували, промивали етилацетатом, потім сушили на повітрі. Вихід 10,3 г (81% з етанолу). $T_{\text{пл.}} = 235\text{--}237\text{ }^\circ\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}$, %: N 6,58. Знайдено, %: N 6,69.

Синтез **4-феніл-1-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетра-гідро-2а,4а-діазациклопента[*cd*] азулену **6****. До суспензії 4,25 г (0,01 моль) 1-(2-оксо-2-*n*-толіл-етил)-3-феніл-6,7,8,9-тетрагідро-5*H*-імідазо[1,2-*a*]азепін-1 броміду **5** в 50 мл води додали 5% NaOH в 20 мл. Реакційну суміш кип'ятили протягом 3 годин. Після охолодження тверду речовину **6** відфільтрували, промили водою, висушили на повітрі та перекристалізували з бензену. Вихід 1,43 г (44). $T_{\text{пл.}} = 143\text{--}144\text{ }^\circ\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2$, %: N 8,58 Знайдено, %: N 8,67.

Загальна процедура синтезу аріламідів **4-феніл-1-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетра-гідро-2,2а-діазациклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти **8 a-к****.

Суміш 0,005 моль 4-феніл-1-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[*cd*]азулену **6** та 0,005 моль відповідного арилізоціанату **7 а-і** кип'ятили у 50 мл сухого бензену протягом 2 годин. Після охолодження тверду речовину **8 а-і** відфільтрували, промили бенzenом, потім висушили на повітрі і перекристалізували з бензену або пропанолу-2.

Феніламід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти **8 а.**

Вихід 1,90 г (79% з бензену). $T_{пл.} = 197-198\text{ }^{\circ}\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{O}$, %: Cl 7,40, N 8,75. Знайдено, %: 1.94 (m, 2H, CH_2), 2.07 (m, 2H, CH_2), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.54 (t, 2H, CH_2), 3.94 (t, 2H, CH_2), 6.97 (s, 1H, NH), 6.89 - 7.24 (m, 5H, C_6H_5), 7.31 та 7.43 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3\text{ Hz}$), 7.47 та 7.56 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.8\text{ Hz}$), 7.84 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.1).

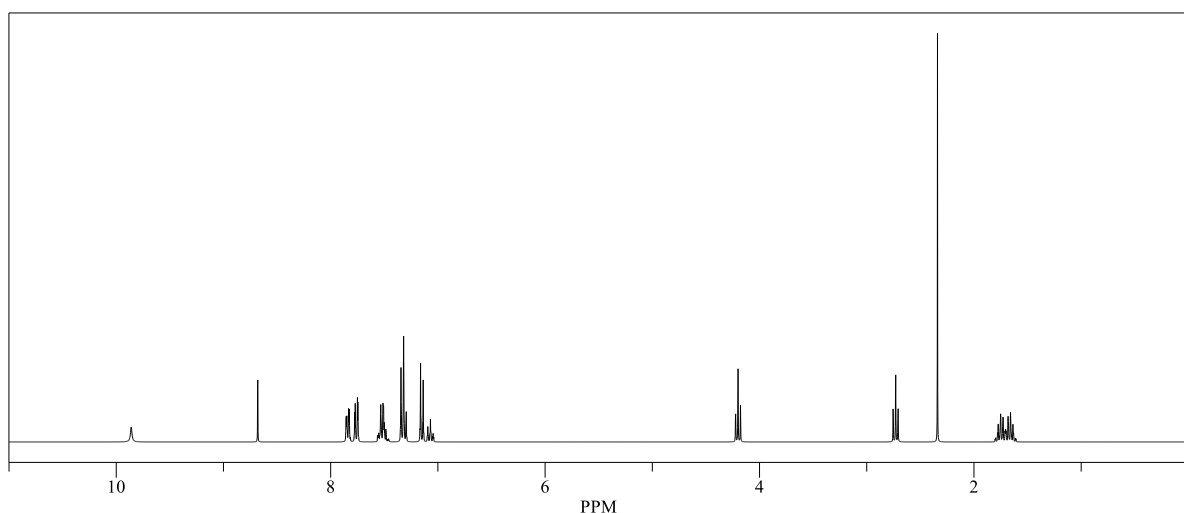


Рис. 3.1. ^1H ЯМР спектр для **8 а**.

(2'-Метоксифеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[*cd*] азулен-2-карбонової кислоти **8 в.**

Вихід 1,76 г (69% з бензену). $T_{пл.} = 183-184\text{ }^{\circ}\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_2$, %: Cl 6,96, N 8,24. Знайдено, %: Cl 6,81, N 8,39. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6), δ (ppm): 11.93 (m, 2H, CH_2), 2.08 (m, 2H, CH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.49 (t, 2H, CH_2), 3.50 (s, 3H, OCH_3), 3.95 (t, 2H, CH_2), 7.45 (s, 1H, NH), 6.75 - 8.43 (m, 4H, C_6H_4), 7.31 і 7.56 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3\text{ Hz}$), 7.48 та 7.56 (d-d,

4H, C₆H₄, J=8.8 Hz), 7.91 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.2).

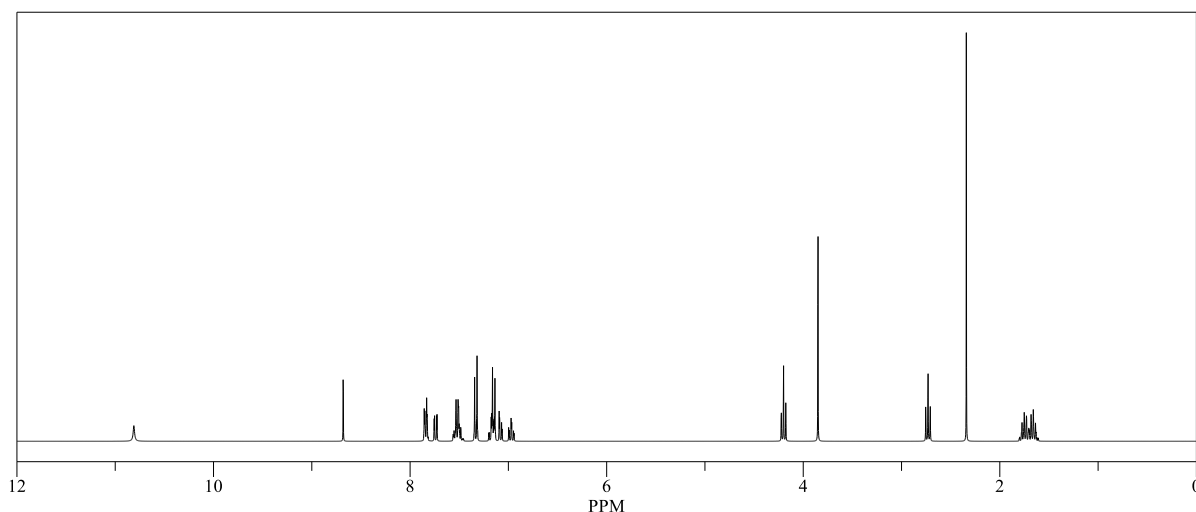


Рис. 3.2. ¹H ЯМР спектр для 8 б.

(3²-Метоксифеніл)-амід 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти 8 с.

Вихід 1,86 г (73% з бензену). T_{пл.} = 190–191 °С. Аналітичний розрахунок для C₃₁H₂₈ClN₃O₂. %: Cl 6,96, N 8,24. Знайдено, %: Cl 7,08, N 8,41. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆), δ (ppm): 1.94 (m, 2H, CH₂), 2.09 (m, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.55 (t, 2H, CH₂), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (t, 2H, CH₂), 6.43 - 7.06 (m, 4H, C₆H₄), 7.01 (s, 1H, NH), 7.31 і 7.45 (d-d, 4H, C₆H₄, J=7.8 Hz), 7.48 та 7.59 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.3 Hz), 7.86 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.3).

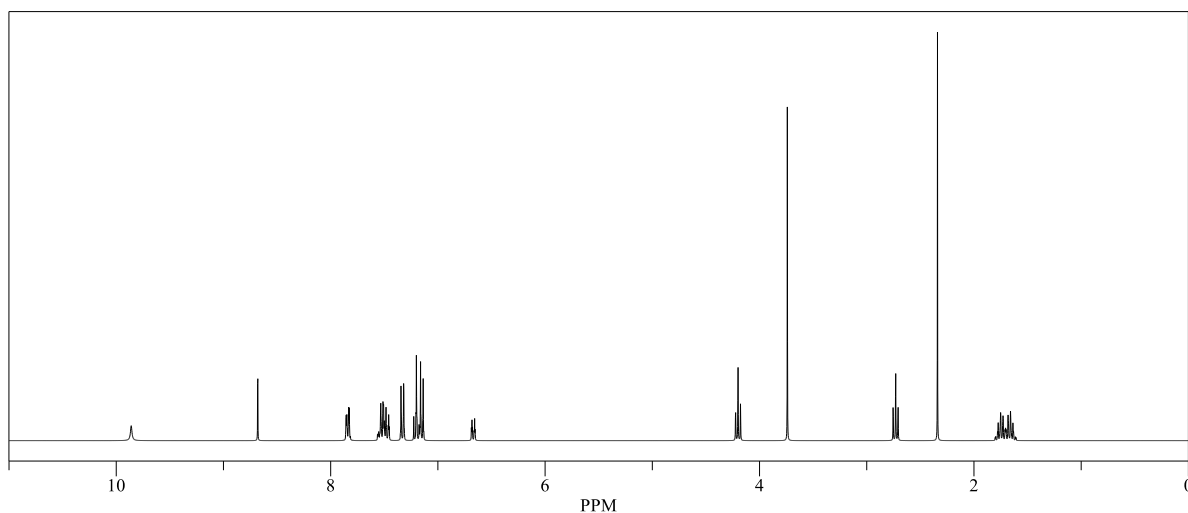


Рис. 3.3. ¹H ЯМР спектр для 8 с.

(4²-Метоксифеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 d.

Вихід 1,94 г (76% з бензену). $T_{пл.} = 202-204\text{ }^{\circ}\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_2$. %: Cl 6,96, N 8,24. Знайдено, %: Cl 6,85, N 8,33. **¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*6), δ (ppm):** 1.93 (m, 2H, CH₂), 2.08 (m, 2H, CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.55 (t, 2H, CH₂), 3.71 (s, 3H, OCH₃), 3.94 (t, 2H, CH₂), 6.97 (s, 1H, NH), 6.74 and 7.06 (d-d, 4H, C₆H₄, J=9.3 Hz), 7.30 і 7.44 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.3 Hz), 7.48 та 7.56 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.8 Hz), 7.84 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.4).

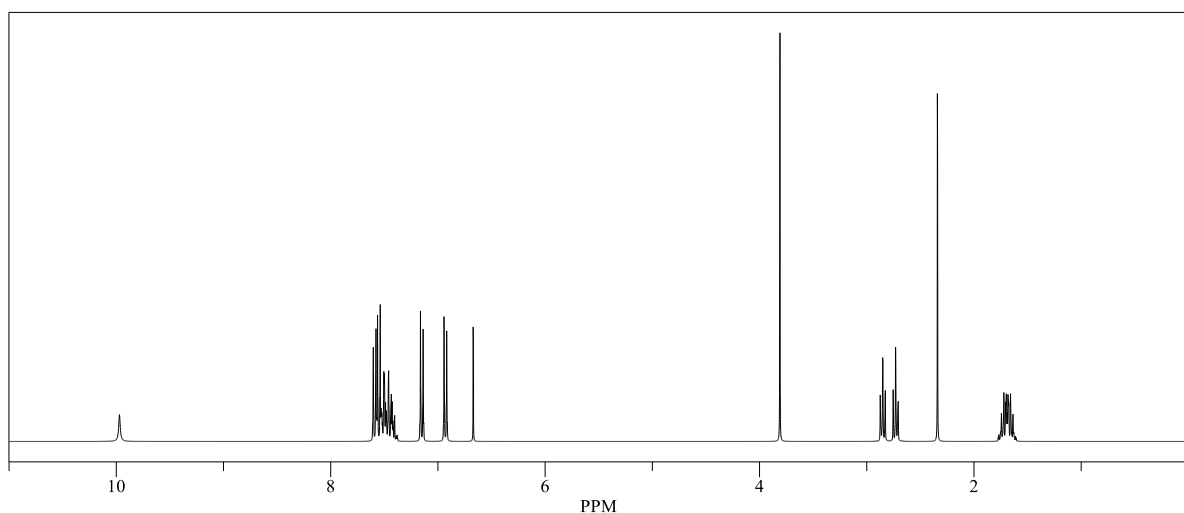
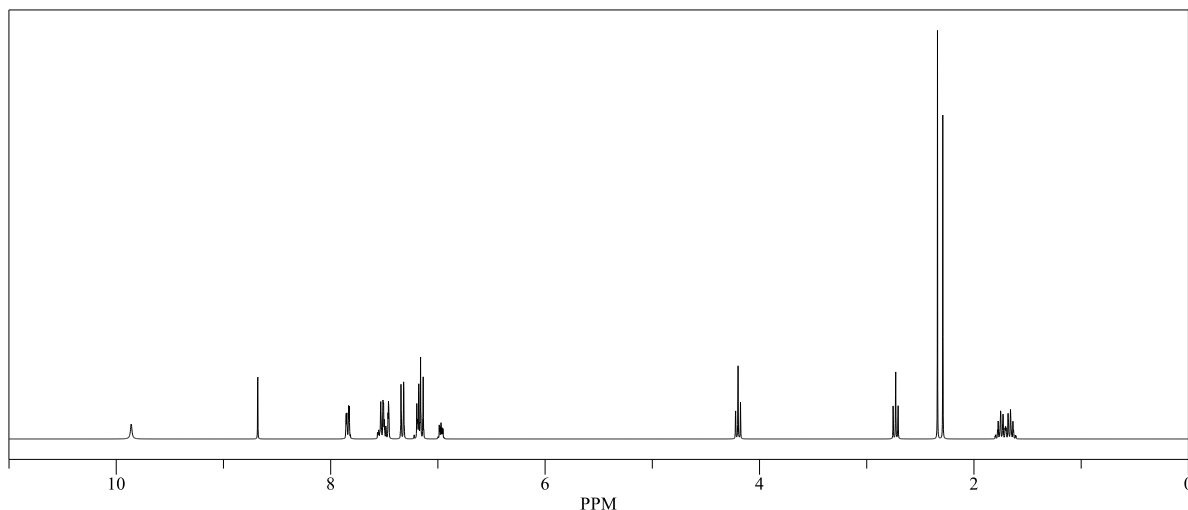


Рис. 3.4. ¹H ЯМР спектр для 8 d.

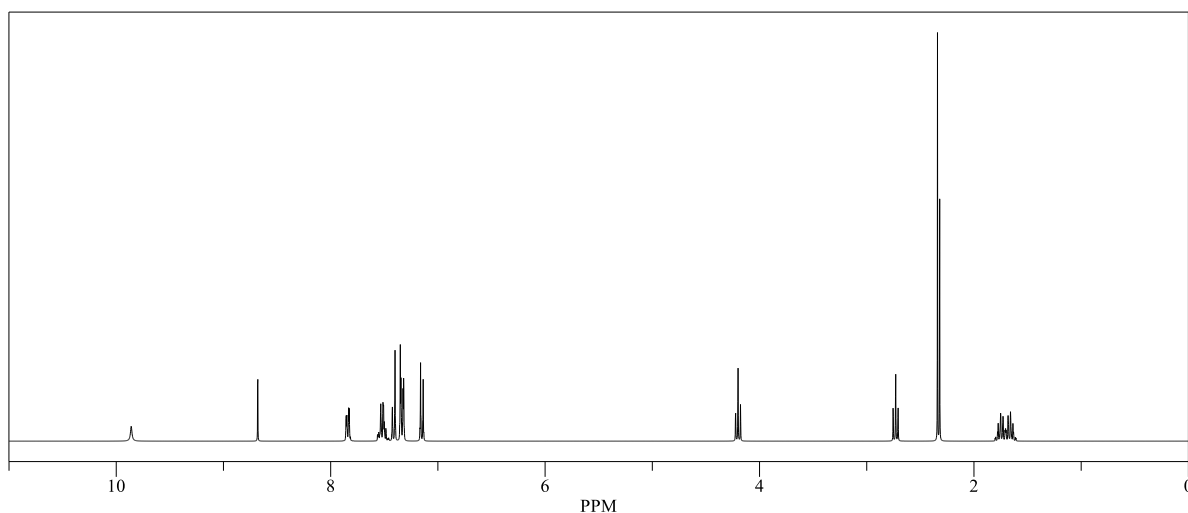
(3²-Метилфеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 e.

Вихід 1,70 г (69% з бензену). $T_{пл.} = 177-178\text{ }^{\circ}\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}$ %: Cl 7,19, N 8,50. Знайдено, %: Cl 7,28, N 8,64. **¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*6), δ (м.д.):** 1.94 (m, 2H, CH₂), 2.09 (m, 2H, CH₂), 2.26 (s, 3H, CH₃), 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.55 (t, 2H, CH₂), 3.95 (t, 2H, CH₂), 6.71 - 7.05 (m, 4H, C₆H₄), 6.97 (s, 1H, NH), 7.31 and 7.45 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.3 Hz), 7.48 and 7.58 (d-d, 4H, C₆H₄, J=8.8 Hz), 7.85 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.5).

Рис. 3.5. ^1H ЯМР спектр для 8 е.

(4²-Метилфеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 ф.

Вихід 1,65 г (67% з бензену). $T_{\text{пл.}} = 197\text{--}198\text{ }^\circ\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}$. %: Cl 7,19, N 8,50. Знайдено, %: Cl 7,28, N 8,64. ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*6), δ (м.д.): 1.94 (m, 2H, CH_2), 2.08 (m, 2H, CH_2), 2.25 (s, 3H, CH_3), 2.42 (s, 3H, CH_3), 2.54 (t, 2H, CH_2), 3.94 (t, 2H, CH_2), 6.97 і 7.01 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3$ Hz), 6.98 (s, 1H, NH), 7.30 та 7.44 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3$ Hz), 7.47 і 7.56 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3$ Hz), 7.85 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.6).

Рис. 3.6. ^1H ЯМР спектр для 8 ф.

(2²-Хлорфеніл)-амід 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазацикло-пента[cd]азулен-2-карбонової кислоти 8 г.

Вихід 1,88 г (73% з пропанолу-2). $T_{пл.} = 205-206\text{ }^{\circ}\text{C}$. **Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{31}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}$. %: Cl 13,8, N 8,16. Знайдено, %: Cl 13,5, N 8,24.** **^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.):** 1.93 (m, 2H, CH_2), 2.08 (m, 2H, CH_2), 2.43 (s, 3H, CH_3), 2.49 (t, 2H, CH_2), 3.97 (t, 2H, CH_2), 6.87 – 8.51 (m, 4H, C_6H_4), 7.39 (s, 1H, NH), 7.31 і 7.45 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=7.8\text{ Hz}$), 7.46 та 7.53 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3\text{ Hz}$), 7.90 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.7).

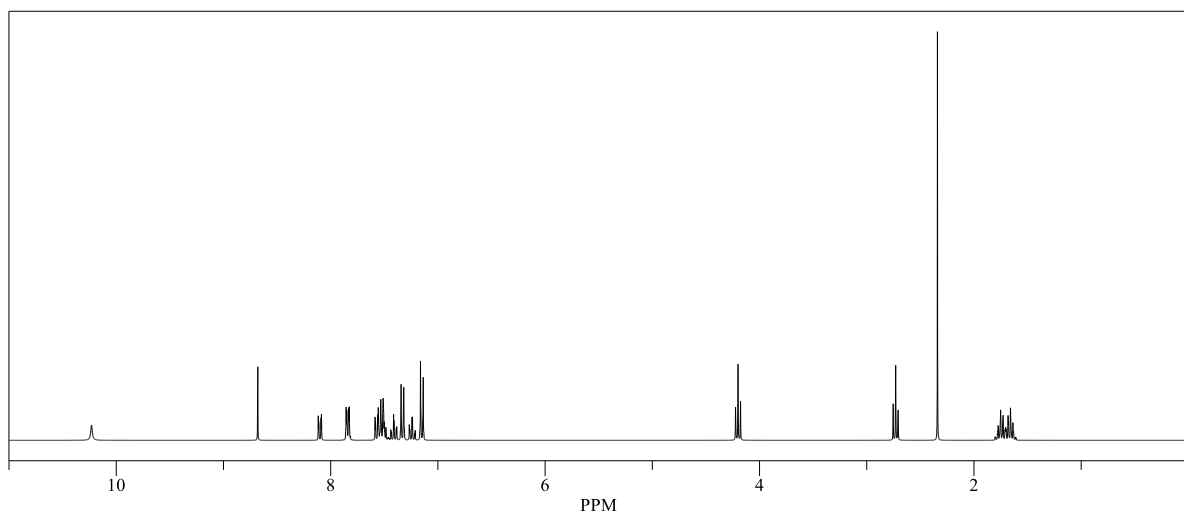
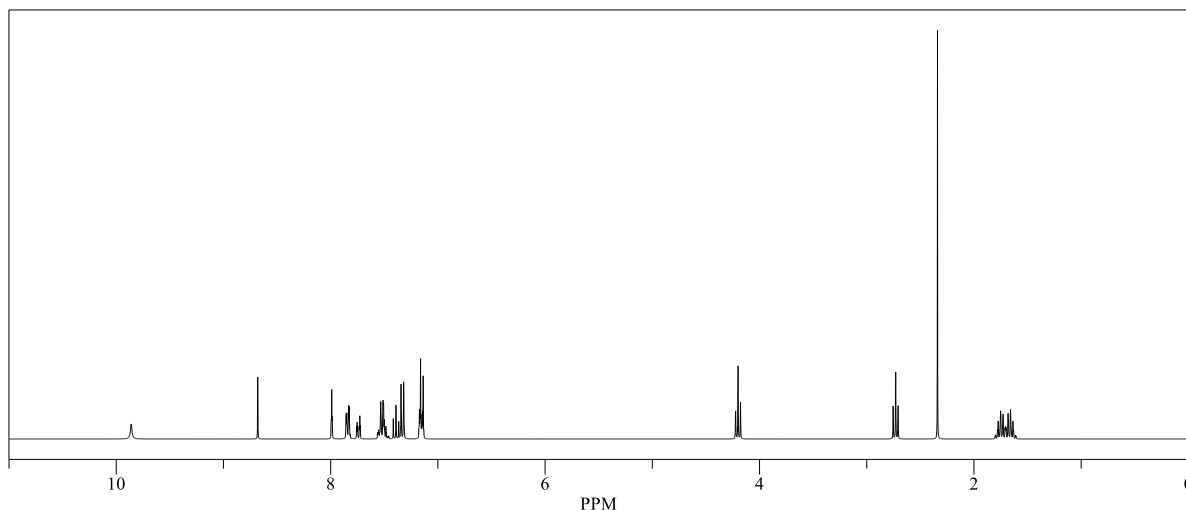


Рис. 3.7. ^1H ЯМР спектр для 8 г.

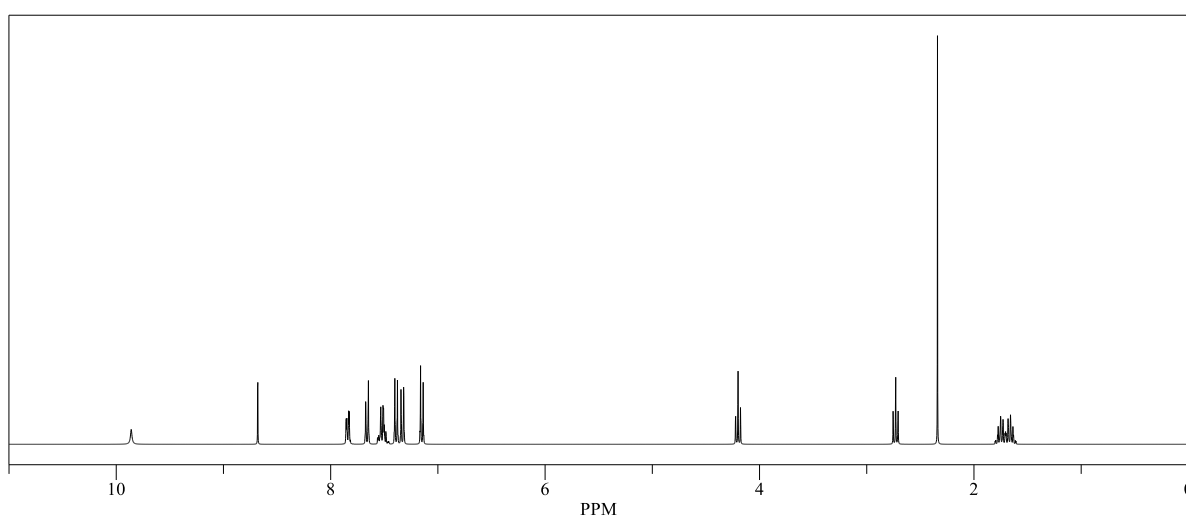
(3²-Хлорфеніл)-амід 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти 8 г.

Вихід 1,98 г (77% з пропанолу-2). $T_{пл.} = 211-212\text{ }^{\circ}\text{C}$. **Аналітичний розрахунок $\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}$. %: Cl 13,8, N 8,16. Знайдено, %: Cl 13,5, N 8,24.** **^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6), δ (ppm):** 1.89 (m, 2H, CH_2), 2.04 (m, 2H, CH_2), 2.39 (s, 3H, CH_3), 2.51 (t, 2H, CH_2), 3.92 (t, 2H, CH_2), 7.47 (s, 1H, NH), 6.86 – 7.60 (m, 12H, $3\text{C}_6\text{H}_4$), 7.82 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.8).

Рис. 3.8. ^1H ЯМР спектр для 8 h.

(4²-Хлорфеніл)-амід 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2a-діазациклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти 8 і.

Вихід 2,08 г (81% з пропанолу-2). $T_{\text{пл.}} = 220\text{--}221\text{ }^\circ\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}$. %: Cl 13,8, N 8,16. Знайдено, %: Cl 13,5, N 8,24. ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6), δ (ppm): 1.92 (m, 2H, CH_2), 2.07 (m, 2H, CH_2), 2.41 (s, 3H, CH_3), 2.49 (t, 2H, CH_2), 3.95 (t, 2H, CH_2), 7.37 (s, 1H, NH), 7.32 і 7.46 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=7.8$ Hz), 7.45 and 7.53 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.3$ Hz), 7.51 та 7.61 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=8.6$ Hz), 7.89 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.9).

Рис. 3.9. ^1H ЯМР спектр для 8 і.

(3,4-Дихлорфеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 j.

Вихід 2,08 г (87% з пропанолу-2). $T_{пл.} = 228-229\text{ }^{\circ}\text{C}$. Аналітичний розрахунок для $\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}$. %: Cl 13,8, N 8,16. Знайдено, %: Cl 13,5, N 8,24. **^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6), δ (м.д.):** 1.89 (m, 2H, CH_2), 2.03 (m, 2H, CH_2), 2.39 (s, 3H, CH_3), 2.51 (t, 2H, CH_2), 3.93 (t, 2H, CH_2), 7.48 (s, 1H, NH), 7.34 і 7.56 (d-d, 4H, C_6H_4 , $J=7.8\text{ Hz}$), 6.97 – 7.79 (m, 7H, $\text{C}_6\text{H}_4+\text{C}_6\text{H}_3$), 7.81 (s, 1H, 3-CH) (рис. 3.10).

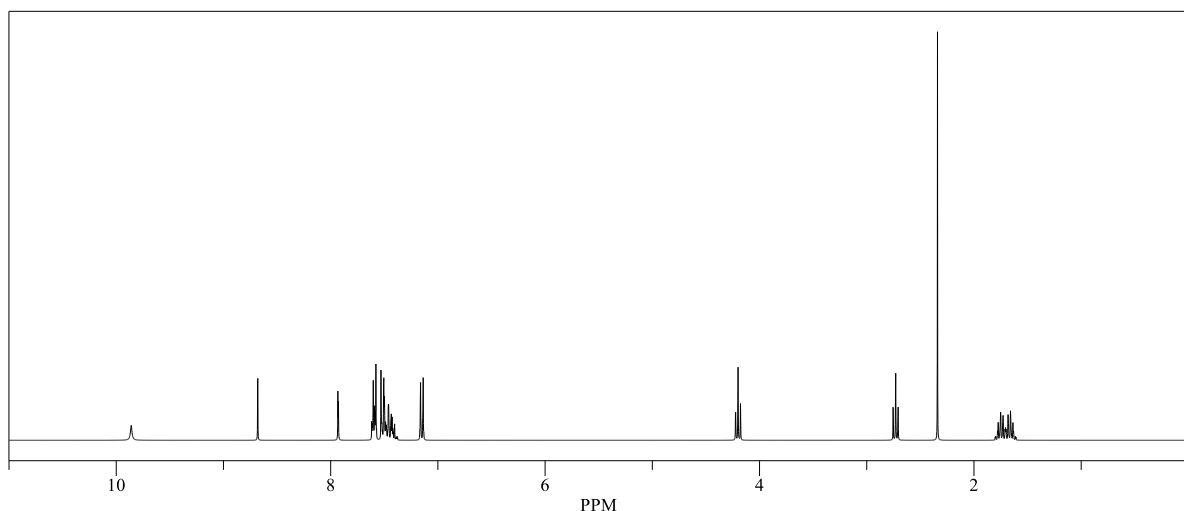


Рис. 3.10. ^1H ЯМР спектр для 8 j.

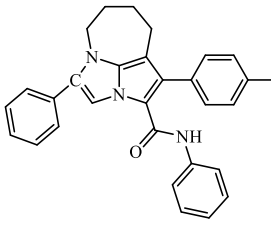
3.2 Дослідження біологічних властивостей похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[*cd*]азулену

Дослідження біологічної активності синтезованих речовин відбувалося за допомогою комп'ютерного докінгу для білка 3CLpro, а прогнозування фізіологічної активності за допомогою програми PASS.

3.2.1 Комп'ютерне прогнозування біологічної активності нових похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[*cd*]азулену

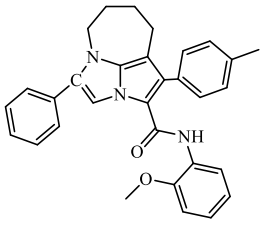
PASS-прогнозування для **Феніламід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 а** (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

	Pa	Pi	Activity
	0,444	0,035	Heat shock protein 27 antagonist
	0,424	0,090	Alopecia treatment

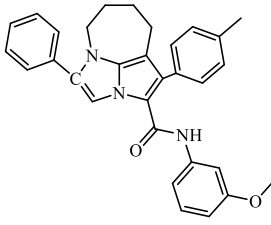
PASS-прогнозування для (2²-метоксифеніл)-аміду 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[сd] азулен-2-карбонової кислоти **8 b** (таблиця 3.2).

Таблиця 3.2

	Pa	Pi	Activity
	0,431	0,043	Heat shock protein 27 antagonist
	0,477	0,221	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor
	0,410	0,031	Transcription factor STAT3 inhibitor
	0,401	0,045	Transcription factor STAT inhibitor

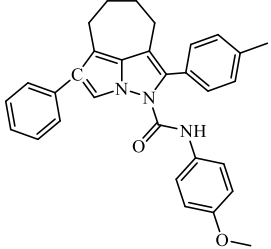
PASS-прогнозування для (3²-метоксифеніл)-аміду 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти **8 c** (таблиця 3.3).

Таблиця 3.3

	Pa	Pi	Activity
	0,451	0,032	Heat shock protein 27 antagonist
	0,519	0,185	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor
	0,403	0,170	Calcium channel (voltage-sensitive) activator

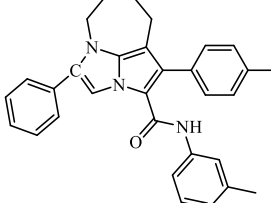
PASS-прогнозування для (4²-метоксифеніл)-аміду 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти **8 d** (таблиця 3.4).

Таблиця 3.4

	Pa	Pi	Activity
	0,506	0,025	Analgesic, non-opioid
	0,497	0,038	Analgesic
	0,426	0,046	Heat shock protein 27 antagonist
0,514	0,190	Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor	

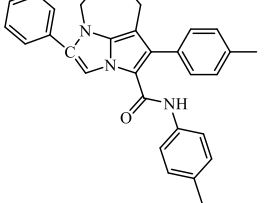
PASS-прогнозування для (3²-метилфеніл)-аміду 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти **8 e** (таблиця 3.5).

Таблиця 3.5

	Pa	Pi	Activity
	0,435	0,040	Heat shock protein 27 antagonist
	0,428	0,057	Platelet derived growth factor receptor kinase inhibitor

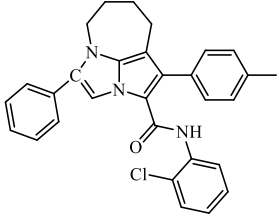
PASS-прогнозування для (4²-метилфеніл)-аміду 4-феніл-4-(пара-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти **8 f** (таблиця 3.6).

Таблиця 3.6

	Pa	Pi	Activity
	0,444	0,035	Heat shock protein 27 antagonist
	0,424	0,090	Alopecia treatment

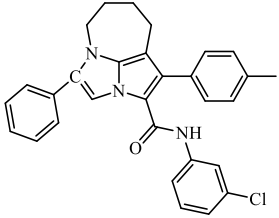
PASS-прогнозування для (2²-хлорфеніл)-аміду 4-феніл-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазацікло-пента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 g (таблиця 3.7).

Таблиця 3.7

	Pa	Pi	Activity
	0,376	0,090	Heat shock protein 27 antagonist

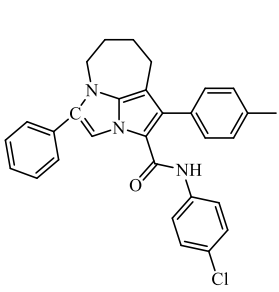
PASS-прогнозування для (3²-хлорфеніл)-аміду 4-феніл-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 h (таблиця 3.8).

Таблиця 3.8

	Pa	Pi	Activity
	0,388	0,077	Heat shock protein 27 antagonist

PASS-прогнозування для (4²-хлорфеніл)-аміду 4-феніл-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти 8 i (Таблиця 3.9).

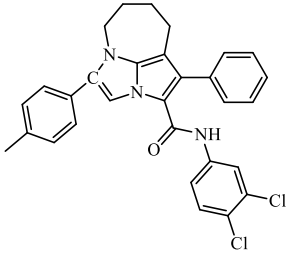
Таблиця 3.9

	Pa	Pi	Activity
	0,397	0,068	Heat shock protein 27 antagonist
	0,387	0,081	Platelet derived growth factor receptor kinase inhibitor

PASS-прогнозування для (3,4-дихлорфеніл)-аміду 4-феніл-4-(*пара*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазацікло-пента[*cd*]азулен-2-карбонової

кислоти **8 j** (таблиця 3.10).

Таблиця 3.10

	Pa	Pi	Activity
	0,388	0,077	Heat shock protein 27 antagonist

Найбільший відсотковий показник імовірної активності показала Gluconate 2-dehydrogenase (acceptor) inhibitor, але тільки для 3 з 10 сполук. Напротивагу цьому, найбільш розповсюдженими є Heat shock protein 27 antagonist та Nicotinic alpha4beta4 receptor agonist, з досить високим відсотком ймовірності, а на другому місці - Platelet derived growth factor receptor kinase inhibitor та Calcium channel (voltage-sensitive) activator, теж з непоганим показником активності.

3.2.2 Дослідження протівірусної активності похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[cd]азулену

Був здійснений комп'ютерний докінг на мішень 3CLpro вірусу SARS-CoV-2. Дане дослідження було проведено за співучастю dr. Candida Manelfi (Computational Chemist R&D Platforms & Services) [71].

Як було зазначено раніше, 3CLpro являє собою 3-хімотрипсин-подібну цистеїнову протеазу, що має здатність контролювати реплікацію коронавірусу, а також є важливим для його життєвого циклу. Вона грає особливу роль в переробці поліпротеїнів, що мають транслюватися з вірусної РНК [72].

Синтезований (4²-метилфеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазаціклопента[cd]азулен-2-карбонової кислоти **8 f** показав високий рівень взаємозв'язку з мішенню вірусу SARS-CoV-2 [73].

У результаті проведеного молекулярного докінгу **8 f** з 3CLpro вірусу SARS-CoV-2 було показано високу енергію зв'язку, що складає 6,41 ккал/моль.

Як наслідок роботи, ми одержали сполуку, яка має можливий значний вплив на переробку поліпротеїнів, що транслюються з вірусної РНК, а конкретно через порушення процесу нормального функціонування протеази 3CLpro [74, 75].

(4²-Метилфеніл)-амід 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти **8 f** може виявитись перспективним білдинг-блоком для створення ефективних препаратів для лікування хвороби COVID-19, що спричинена вірусом SARS-CoV-2 [76].

ВИСНОВКИ

1. Здійснено огляд наукової літератури з теми кваліфікаційної роботи.
2. Розроблені методики синтезу 10 нових сполук, похідних 1,4-діарил-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазациклопента[*cd*]азулену.
3. За допомогою програми PAAS було розглянуто можливість пошуку серед синтезованих сполук фармакологічно активних речовин.
4. Здійснено молекулярний докінг синтезованого (4²-метилфеніл)-аміду 4-феніл-4-(*para*-толіл)-5,6,7,8-тетрагідро-2,2а-діазациклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти **8 f**. Встановлено, що він показав високий рівень взаємодії з мішенню вірусу SARS-CoV-2;
5. Матеріали кваліфікаційної роботи обговорені та оприлюднені на Міжнародних та Всеукраїнських науково-практичних конференціях.
6. Отримані результати досліджень можуть бути використані для проведення занять з хімії у закладах загальної та вищої освіти.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Andersen F.A. Final report on the safety assessment of azulene. *Int J Toxicol.* 1999. Vol. 18. P. 27–32.
2. Matěnová M., Lorelei Horhoiu V., Dang F.X. Energy transfer in aggregates of bacteriochlorophyll c self-assembled with azulene derivatives. *Phys Chem Chem Phys.* 2014. Vol. 16. P. 16755–16764.
3. Bakun P., Czarczynska-Goslinska B., Goslinski T., et. al. In vitro and in vivo biological activities of azulene derivatives with potential applications in medicine. *Medicinal Chemistry Research: International Journal for Rapid Communications on Design and Mechanisms of Action of Biologically Active Agents.* 2021. Vol. 30. P. 834–846.
4. Achatz J., Fischer C., Salbeck J., et. al. Functionalized photochromics for molecular switching: the multistabilities of a dihydroazulene–anthraquinone system. *J Chem Soc Chem Commun.* 1991. P. 504–507.
5. Buica G.O., Lazar I.G., Birzan L. Azulene-ethylenediaminetetraacetic acid: a versatile molecule for colorimetric and electrochemical sensors for metal ions. *J. Electrochim Acta.* 2018. Vol. 263. P. 382–390.
6. Zieliński T., Kędziorek M., Jurczak J. The azulene moiety as a chromogenic building block for anion receptors. *J. Tetrahedron Lett.* 2005. Vol. 46. P. 6231–6234.
7. Dong J.X., Zhang H.L. Azulene-based organic functional molecules for optoelectronics. *J. Chin Chem Lett.* 2016. Vol. 27. P. 1097–1104.
8. Xin H., Ge C., Jiao X. Incorporation of 2,6-connected azulene units into the backbone of conjugated polymers: towards high-performance organic optoelectronic. *J. Mater Angew Chem Int Ed.* 2018. Vol. 57 P. 1322–1326.
9. Cowper P., Pockett A., Kociok-Köhn G. Azulene—thiophene—cyanoacrylic acid dyes with donor- π -acceptor structures. Synthesis, characterisation and evaluation in dye-sensitized solar cells. *J. Tetrahedron.* 2018. Vol. 74. P. 2775–2786.

10. Nishimura H., Ishida N., Shimazaki A. Hole-transporting materials with a two-dimensionally expanded π -system around an azulene core for efficient perovskite solar cells. *J. Am Chem Soc.* 2015. Vol. 137. P. 15656–15659.
11. Carret, Sébastien, Blanc, et. al. Approach to the Blues: A Highly Flexible Route to the Azulenes. *J. Angewandte Chemie International Edition.* 2005. Vol. 44. P. 5130–5133.
12. Leino T.O., Turku A., Yli-Kauhaluoma J. Azulene-based compounds for targeting orexin receptors. *Eur J Med Chem.* 2018. Vol. 157. P. 88–100.
13. Salter, Carl; Foresman, James B. Naphthalene and Azulene I: Semimicro Bomb Calorimetry and Quantum Mechanical Calculations. *Journal of Chemical Education.* 1998. Vol. 75. P. 1341.
14. Азулени : URL : <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/> (дата звернення: 26.05.2020).
15. Lemal, David M.; Goldman, Glenn D. Synthesis of azulene, a blue hydrocarbon. *Journal of Chemical Education.* 1988. Vol. 65 P. 923.
16. Churchill, Melvyn R. Transition Metal Complexes of Azulene and Related Ligands. *J. Progress in Inorganic Chemistry.* 2007. P. 53–98.
17. Asao, Toyonobu; Shunji Ito; Noboru Morita. 1-Hydroxyazulene and 3-hydroxyguaiazulene: Synthesis and their properties. *J. Tetrahedron Letters.* 1989. Vol. 30. P. 6693–6696.
18. Yamamura, Kimiaki; Kawabata, Shizuka; Kimura, Takatomo; et. al. Novel Synthesis of Benzalacetone Analogues of Naphth[a]azulenes by Intramolecular Tropylium Ion-Mediated Furan Ring-Opening Reaction and X-ray Investigation of a Naphth[1,2-a]azulene Derivative. *The Journal of Organic Chemistry.* Vol. 70. P. 8902–8906.
19. Азулени : URL : <https://znaimo.com.ua/> (дата звернення: 29.05.2020).
20. Хамазулен : URL : <https://extract.market/handbook/raw/hamazulen/> (дата звернення: 29.05.2020).
21. Азулены (Azulene) : URL : <https://www.korolevpharm.ru/> (дата звернення: 29.05.2020).

22. Азулены : URL : http://viness.narod.ru/3_1_3_9_1_sesquiterp_azul/ (дата звернення: 29.05.2020).
23. Hutchings M.I., Truman A.W., Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *J. Curr Opin Microbiol.* 2019. Vol. 51. P. 72–80.
24. Wenhao Dai, Bing Zhang, Haixia Su, Jian Li. Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *J. Science.* 2020. Vol. 368. P. 1331–1335.
25. Vijay Kumar Bhardwaj, Rahul Singh, Pralay Das, Rituraj Purohit Evaluation of acridinedione analogs as potential SARS-CoV-2 main protease inhibitors and their comparison with repurposed anti-viral drugs. *J. Comput Biol Med.* 2021. Vol. 128. № 104117.
26. Yunjeong Kim, Scott Lovell, Kok-Chuan Tiew, et. al. Antivirals against 3C or 3C-Like Proteases of Picornaviruses, Noroviruses, and Coronaviruses. *J Virol.* 2021. Vol. 86. P. 11754–11762.
27. John Ziebuhr, Sonja Bayer, Jeff A. Cowley, et. al. The 3C-Like Proteinase of an Invertebrate Nidovirus Links Coronavirus and Potyvirus Homologs. *J Virol.* 2003. Vol. 77. P. 1415–1426.
28. Cynthia Liu, Qiongqiong Zhou, Yingzhu Li, Linda V. Garner Research and Development on Therapeutic Agents and Vaccines for COVID-19 and Related Human Coronavirus Diseases. *J. ACS Cent Sci.* 2020. Vol. 6. P. 315–331.
29. Jared S. Morse, Tyler Lalonde, Dr. Shiqing Xu, Prof. Dr. Wenshe Ray Liu Learning from the Past: Possible Urgent Prevention and Treatment Options for Severe Acute Respiratory Infections Caused by 2019-nCoV. *J. Chembiochem.* 2020. Vol. 21. P. 730–738.
30. Muhammad Tahir ul Qamar, Safar M. Alqahtani, Mubarak A. Alamri, et. al. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 2020. Vol. 10. P. 313–319.
31. Ran Yu, Liang Chen, Rong Lan, et. al. Computational screening of antagonists against the SARS-CoV-2 (COVID-19) coronavirus by molecular

docking. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020. Vol. 56.

32. Yulong Shi, Xinben Zhang, Kaijie Mu, et. al. D3Targets-2019-nCoV: a webserver for predicting drug targets and for multi-target and multi-site based virtual screening against COVID-19. *J. Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2020. Vol. 10. P. 1239–1248.

33. Lin Ang, Hye Won Lee, Jun Yong Choi, et. al. Herbal medicine and pattern identification for treating COVID-19: a rapid review of guidelines. *J. Integrative Medicine Research*. 2020. Vol. 9. № 100407.

34. Bhumi Shah, Palmi Modi, Sneha R. Sagar. In silico studies on therapeutic agents for COVID-19: Drug repurposing approach. *J. Life Sciences*. 2020. Vol. 252. № 117652.

35. K. Abraham Peele, Chandrasai Potla Durthi, T. Srihansa, et. al. Molecular docking and dynamic simulations for antiviral compounds against SARS-CoV-2: A computational study. *J. Informatics in Medicine Unlocked*. 2020. Vol. 19. № 100345.

36. Bo Ram Beck, Bonggun Shin, Yoonjung Choi, et. al. Predicting commercially available antiviral drugs that may act on the novel coronavirus (SARS-CoV-2) through a drug-target interaction deep learning model. *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2020. Vol. 18. P. 784–790.

37. Robert N. Kirchdoerfer, Andrew B. Ward. Structure of the SARS-CoV nsp12 polymerase bound to nsp7 and nsp8 co-factors. *J. Nature Communications*. 2019. Vol. 10. № 2342.

38. Hauke S. Hillen, Goran Kokic, Lucas Farnung, et. al. Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase. *J. Nature*. 21 May 2020. Vol. 584. P. 154–156.

39. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *J. Nature Microbiology*. 2020. Vol. 5. P. 536–544.

40. CanrongWu, YangLiu, YueyingYang, et. al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods.

J. Acta Pharmaceutica Sinica B. May 2020. Vol. 10. P. 766-788.

41. Ben Hu, Hua Guo, Peng Zhou, Zheng-Li Shi. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *J. Nature Reviews Microbiology*. 2021. Vol. 19. P. 141–154.

42. Aronson J.K. Coronaviruses – a general introduction. *Centre for Evidence-Based Medicine, Nuffield Department of Primary Care Health Sciences, University of Oxford*. March 25, 2020. URL : <https://www.cebm.net/covid-19/coronaviruses-a-general-introduction/> (дата звернення: 26.05.2020).

43. Md. Arif Billah, Md. Mamun Miah, Md. Nuruzzaman Khan. Reproductive number of coronavirus: A systematic review and meta-analysis based on global level evidence. *J. PLoS One*. 2020. Vol. 15. №e0242128.

44. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) URL : <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/dashboards/> (дата звернення: 26.05.2020).

45. Novel coronavirus structure reveals targets for vaccines and treatments : National Institutes of Health (NIH) : March 3, 2020. URL : <https://www.nih.gov/news-events/nih-research-matters/novel-coronavirus-structure-reveals-targets-vaccines-treatments> (дата звернення: 26.05.2020).

46. Wen-Hsiang Chen, Ulrich Strych, Peter J Hotez, Maria Elena Bottazzi The SARS-CoV-2 Vaccine Pipeline. *J. an Overview Current Tropical Medicine Reports*. 2020. Vol. 7. P. 61–64.

47. Early Evidence of the Effect of SARS-CoV-2 Vaccine at One Medical Center. *The New England Journal of Medicine*. 2021. URL : <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMc2102153> (дата звернення: 26.05.2020).

48. Qiang Gao, Linlin Bao, Haiyan Mao, Lin Wang Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *J. Science*. 03 Jul 2020. Vol. 369. P. 77-81.

49. Dongwan Kim, Joo-Yeon Lee, Jeong-SunYang, et. al. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *J Cell Press*. 2020 Vol. 181. P. 914–921.

50. Heather M. Froggatt, Brook E. Heaton, Nicholas S. Heaton

Development of a Fluorescence-Based, High-Throughput SARS-CoV-2 3CLpro Reporter Assay. *J Virol.* 2020. Vol. 94. № e01265-20.

51. Olga Abian, David Ortega-Alarcon, Ana Jimenez-Alesanco, Laura Ceballos-Laita Structural stability of SARS-CoV-2 3CLpro and identification of quercetin as an inhibitor by experimental screening. *J. Macromolecules.* 2020. Vol. 164. P. 1693–1703.

52. Alessandro Grottesi, Neva Bešker, Andrew Emerson, et. al. Computational Studies of SARS-CoV-2 3CLpro: Insights from MD Simulations. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21. № 5346.

53. Microsoft 365 URL : <https://www.microsoft.com/uk-ua/microsoft-365> (дата звернення: 26.05.2020).

54. Microsoft Word URL : <https://www.microsoft.com/ru-ru/microsoft-365/word> (дата звернення: 26.05.2020).

55. ChemOffice URL : http://www.cambridgesoft.com/ Ensemble_for_Chemistry/ (дата звернення: 26.05.2020).

56. The Gold Standard for Communicating Chemistry Research URL : <https://perkinelmerinformatics.com/products/research/chemdraw/> (дата звернення: 26.05.2020).

57. PASS online URL : <http://way2drug.com/passonline/> дата звернення: 20.07.2020).

58. Applications URL : <http://way2drug.com/passonline/> (дата звернення: 20.07.2020).

59. ЯМР-спектроскопія URL : <https://inconsulting.com.ua/> (дата звернення: 20.07.2020).

60. Інфрачервона спектроскопія з перетворенням Фур'є URL : <https://inconsulting.com.ua/> (дата звернення: 20.07.2020).

61. Зефирова О.Н., Палюлин В.А. История QSAR. Ранние исследования количественной связи между структурой и биологической активностью органических соединений. *Изд. МГУ.* 2001. С. 60–73.

62. Филимонов Д.А., Поройков В.В., Караичева Е.И. и др.

Компьютерное прогнозирование спектра биологической активности химических соединений по их структурной формуле: система PASS. *Журнал Экспериментальная клиническая фармакология*. 1995. № 2. С. 56–62.

63. Поройков В.В., Филимонов Д.А., Лагунин А.А. и др. Компьютерная оценка спектра биологической активности химических соединений с целью минимизации рисков их применения в медицине. *Проблемы оценки риска здоровью населения от воздействия факторов окружающей среды*. 2004. С. 167–169.

64. Филимонов Д.А., Поройков В.В. Прогноз спектров биологической активности органических соединений. *Российский химический журн.* 2006. № 2. С. 66–75.

65. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. *Журнал Медицина*. 2005. 700 с.

66. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. *М. Гриф и К.* 2012. 752 с.

67. Молекулярний докінг URL : <https://amp.uk.freejournal.org/1523086/1/molekulyarniy-doking.html> (дата звернення: 20.08.2020).

68. Молекулярний дизайн URL : <https://medchem.org.ua/uk/research/molecular-design> (дата звернення: 20.08.2020).

69. С. А. Демченко, Ю. А. Федченкова, В. В. Суховеев, О. С. Багреєва, А. М. Демченко. Синтез та противірусна активність похідних 1-(4-хлорофеніл)-4-(пара-толіл)-5,6,7,8 тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[сd]азулен-2-карбонової кислоти. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2019. Т. 17, С. 37–43.

70. Демченко А. М., Федченкова Ю. А. Пошук нових противірусних препаратів серед похідних азотовмісних гетероциклічних сполук. Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали ІV міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 12-13 березня 2020 року. Т. 2. С. 222-223.

71. S. Demchenko, Yu. Fedchenkova, O. Bagreeva, A. Demchenko.

Antiviral activity of 1-(4¹-chlorophenyl)-4-(4²-methylphenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2a,4a-diazacyclopenta[*cd*]azulene-2-carboxylic acid derivatives Italian Conference on AIDS and Antiviral Research: materials of the intern. scientific-practical conf., Italy, 12-16 October 2020.

72. Demchenko S. A., Bagreeva O. S., Sukhoveev V.V., Demchenko A.M. Searching for compounds active against SARS-CoV-2 virus among 4-(3,4-dichlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)-5,6,7,8-tetrahydro-2a,4a-diazacyclopenta[*cd*]azulene derivatives Technological and biopharmaceutical aspects of drugs developing with different orientation of action: materials of the intern. scientific-practical conf., Kharkiv, November 26, 2020. P. 587–589.

73. Bahrieieva Oksana, Demchenko Sergii. Synthesis 1-[4-(4¹-chlorophenyl)-1-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-2a,4a-diazacyclopenta[*cd*]azulene-2-yl]-propan-1-one and molecular docking with the 3Clpro protein of the SARS-CoV-2 virus Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine: materials of the V intern. scientific-practical conf., Kharkiv, 11-12 March, 2021. P. 23-24.

74. Bahrieieva Oksana, Demchenko Sergii. Synthesis of 1,4-diaryl-5,6,7,8-tetrahydro-2a,4a-diazacyclopenta[*cd*]azulene-2-carbothioic acid allylamide and molecular docking with the 3Clpro protein of the SARS-CoV-2 virus Modern aspects of drug development: theses add. 89 International scientific-practical distance conference dedicated to the 100th anniversary Department of Analytical Chemistry NUPh, Kharkiv, April 16, 2021. P. 7–8.

75. Багрєєва О.С., Демченко С.А. Синтез похідних 1-(4-метоксифеніл)-4-феніл-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[*cd*]азулену та їх комп'ютерний докінг на мішенях вірусу SARS-CoV-2 Youth Pharmacy Science: матеріали I Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 27-29 квітня 2021 р. С. 10–13.

76. Багрєєва О.С., Демченко С.А. Синтез та комп'ютерний докінг 1,4-біс-(4-метоксифеніл)-5,6,7,8-тетрагідро-2а,4а-діазаціклопента[*cd*]азулен-2-карбонової кислоти (2¹-метоксифеніл) аміду як перспективного блокатора

3СІpro мішені вірусу SARS-CoV-2 Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації: тези доповідей ІІІ науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 12 травня 2021 р. С. 30–31.