

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ «ЛЬВІВСЬКА ПОЛІТЕХНІКА»
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Поліш Наталія Володимирівна

УДК 661.17/661.77+604.2:661.185(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ
БІОТЕХНОЛОГІЯ КОМПОЗИЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ
НОВИХ N-ВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ
1,4-НАФТОХІНОНУ ТА БІОСУРФАКТАНТІВ, ВЛАСТИВОСТІ І
ЗАСТОСУВАННЯ

Спеціальність 162 – Біотехнології та біоінженерія

Галузь знань 16 – Хімічна та біоінженерія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Поліш Н.В.

Наукові керівники: Карпенко Олена Володимирівна, доктор технічних наук, професор
Марінцова Наталія Геннадіївна, кандидат хімічних наук, доцент

Львів 2022

АНОТАЦІЯ

Поліш Н.В. Біотехнологія композиційних препаратів на основі нових N-аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів, властивості і застосування.– Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія. – Національний університет «Львівська політехніка», Міністерства освіти та науки України, Львів, 2022.

Натепер пріоритетним напрямком біотехнології є створення перспективних продуктів з широким спектром біологічної активності, низькою токсичністю, безпекою для довкілля та невисокою ціною. У дисертаційній роботі представлені результати досліджень, присвячених розробці технології нових композиційних препаратів на основі біогенних поверхнево-активних речовин мікробного походження (біосурфактантів, біоПАР) з гетероциклічними амінопохідними нафтохінонів, їх властивостям, перспективам застосування та перевагам щодо наявних препаратів.

У роботі використано спектральні методи (ІЧ-, УФ-, ^1H і ^{13}C ЯМР- та хроматомас-спектроскопія), прогнозування біологічної активності, фізико-хімічні та біологічні методи (антимікробна, антиоксидантна, антидепресивна, протисудомна активності), методи статистичної обробки результатів.

Основною ідеєю сумісного використання біосурфактантів з новими аміновмісними похідними 1,4-нафтохінону є підвищення їх біодоступності та зменшення терапевтичної дози. Для розроблення композиційних препаратів із похідними 1,4-нафтохінону було обрано рамноліпіди і трегалозоліпіди, що обумовлено їх унікальними фізико-хімічними і біологічними властивостями.

Для одержання композицій з біосурфактантами було синтезовано 52 нові біологічно активні сполуки, структура яких містить фрагменти 1,4-нафтохінону та амінопіразолу (амінопіримідину, 1,2,4-триазину, 1,2,4-триазолу). Так, низку аміновмісних гетероциклічних похідних на основі 1,4-нафтохінону з амінопіразолами (амінопіримідинами) одержано реакцією нуклеофільного заміщення, визначено оптимальні умови синтезу – для амінопіразольних похідних

з використанням Na_2CO_3 в етанолі, для амінопіримідинових похідних – з K_2CO_3 в ДМФА. Вперше шляхом взаємодії 1,4-нафтохінону з похідними 1,2,4-триазину і 1,2,4-триазолу (за аза-реакцією Міхаеля) отримано 2-((2-(6-арил-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтalen-1,4-діони та 2-((2-(3-арил-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)феніл)аміно)нафтalen-1,4-діони лінійної будови.

При взаємодії 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону з 2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)анілінами і 2-(3-R-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)анілінами одержано 2-((2-(3-(4-R)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-6-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтalen-1,4-діони та 2-гідрокси-3-((2-(5-R-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)феніл)аміно)нафтalen-1,4-діони відповідно реакцією нуклеофільного заміщення по аніліновій аміногрупі гетероциклів. Структури синтезованих сполук підтверджено спектральними характеристиками: хроматомас-, ІЧ- і ^1H -ЯМР спектрами.

Для одержаних речовин проведено *in silico* скринінг за програмами PASS *Online* та GUSAR. За результатами прогнозування, амінопіразольні похідні 1,4-нафтохінону мають широкий спектр біологічної активності: протипухлинну, анальгетичну, антипаркінсонічну, протисудомну, антинеуродегенеративну, протимікробну активності, а також можуть бути інгібіторами низки ферментів.

Вперше, нові N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону використано для створення композиційних препаратів на основі біосурфактантів. Розроблено біотехнологію отримання композиційних препаратів та оптимізовано умови їх отримання.

Досліджено фізико-хімічні властивості одержаних композиційних препаратів: визначено поверхневий натяг, гідродинамічні розміри міцелоподібних структур, проаналізовано УФ-спектри. Показано, що у композиціях амінопіразольних, 1,2,4-триазинових і 1,2,4-тріазольних похідних 1,4-нафтохінону з рамноліпідами спостерігається зниження поверхневого натягу від 46–62 мН/м до 37–45 мН/м порівняно з розчинами індивідуальних сполук.

За результатами досліджень методом динамічного розсіювання світла (ДРС) встановлені гідродинамічні розміри самоорганізованих міцелоподібних структур N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінонів та їх композицій з

біосурфактантами. Показано, що вони різняться залежно від структури біосурфактантів та похідних 1,4-нафтохінону. Так, композиції рамноліпідів з амінопіразольними похідними 1,4-нафтохінону містять переважно фракцію частинок розміром 220-223 нм, а композиції рамноліпідів і 1,2,4-триазольних похідних 1,4-нафтохінону – фракції 280-283 нм. Їх подібність можна пояснити присутністю триазольного фрагменту у структурі. Композиція рамноліпідів з етил-4-((3-хлор-1,4-діоксо-1,4)-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1*H*-піразол-3-карбоксилатом містить частинки розмірами близько 68 нм, ймовірно, за рахунок наявності у структурі естерної групи. Це може свідчити про компактизацію гідрофобного фрагменту в міцелах.

За даними УФ-спектрів для композицій рамноліпідів з 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол)-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діоном та 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діоном у діапазоні 200-700 нм, спостерігається гіпсохромний зсув на 20 та 40 нм відповідно. Для композиційних препаратів рамноліпідів з етил-4-((3-хлор-1,4-діоксо-1,4-дигідронафталін-2-іл)аміно)-1-феніл-1*H*-піразол-3-карбоксилатом і 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол)-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діоном зареєстровано нові піки з максимумами 343 і 391 нм відповідно. Це може вказувати на утворення міжмолекулярних зв'язків між рамноліпідами і з похідними 1,4-нафтохінонів.

Здійснено фармакологічні дослідження нових препаратів на дослідних тваринах. Протисудомну активність гетероциклічних амінопохідних 1,4-нафтохінону та їх композицій з рамноліпідами і трегалозоліпідами визначено на моделі гострих генералізованих судом з реєстрацією мінімальних ефективних доз коразолу, що спричиняє клоніко-тонічні судоми і тонічну екстензію у експериментальних тварин при внутрішньовенній інфузії. Протисудомну активність визначали в інтервалі 3-24 год після перорального введення коразолу (100 мг/кг). Через 3 год по введенню такої дози протисудомна активність амінопіразольних похідних 1,4-нафтохінону становила у середньому 231% і 207% щодо стандарту – вальпроєвої кислоти. Активність 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону та 2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-

3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів становила 150% , 2-(2-(3-арил-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів – 142% і 152%; для 1,2,4-триазини і 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону – 161% і 176% відповідно щодо стандарту. Це свідчить про значний протисудомний ефект синтезованих сполук, який виявляється на коротких інтервалах часу.

Для 2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону протисудомна активність становила 239 % (щодо стандарту), а за використання композиції з рамноліпідами – 244%. Це, ймовірно, пов'язано з підвищенням проникності клітинних мембран за дії рамноліпідів, покращенням біодоступності, а відтак – їх фармакологічної дії. Для композиційних препаратів трегалозоліпідів з синтезованими сполуками не спостерігалось суттєвого підсилення активності.

Визначено також антидепресивну дію одержаних препаратів з використанням тесту на примусове плавання. Як свідчать результати, через 3 год після перорального введення дослідним тваринам найкращу антидепресивну активність показано для 2-хлоро-3-(1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону – тривалість плавання збільшилась до 16,0 с в порівнянні з контролем амітриптиліном. Для 2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів активність була на рівні контролю – 10,7 с і 12.3 с. Одержані результати вказують на комбіновану та пролонговану дію синтезованих сполук на центральну нервову систему.

Встановлено протимікробну активність *N*-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону. Так, 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно) нафтален-1,4-діон виявив значну активність проти тестових грибів *Candida tenuis*: (МІК<0,9 мкг/мл, МФК<0,9 мкг/мл), бактерій *Staphylococcus aureus* і *Mycobacterium luteum* (МІК=7,8 мкг/мл, МБК=15,6 мкг/мл). Показано активність 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону щодо *C. tenuis*: МІК=15,6 мкг/мл, МФК=31,2 мкг/мл; для *M. luteum* – МІК=7,8 мкг/мл, МБК=15,6 мкг/мл відповідно. Препарати на основі 1,2,4-триазинових і 1,2,4-триазолових похідних 1,4-нафтохінону не виявляли суттєвої протимікробної активності щодо обраних тестових культур.

Антимікробна активність щодо культури *M. luteum* для композиції рамноліпідів і 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону (споввідношення 1:1) становила: МІК =7,8:7,8 мкг/мл і МБК =15,6:15,6 мкг/мл. Для грибів *A. niger* за дії композиції 2-хлоро-3-((1-метил-1*H*-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону з рамноліпідами (1:1) суттєво знизилась. МІК і МФК: для індивідуальної сполуки становив: МІК=31,2 мкг/мл і МБК=62,5 мкг/мл, для композиції: МІК=7,8:7,8 мкг/мл і МБК=15,6:15,6 мкг/мл. Це свідчить про підвищення активності композиції. Також підвищилась фунгіцидна активність композиції 2-хлоро-3-((1-метил-1*H*-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону з трегалозоліпідами щодо *C. tenuis*: МІК=7,8:7,8 мкг/мл, МФК=15,6:15,6 мкг/мл.

Важливою біологічною характеристикою 1,4-нафтохінонів та їх композицій є антиоксидантна активність, яку визначали на гомогенаті печінки щура. У процесах пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), а також окисної модифікації білків (ОМБ) виявлено антиоксидантну дію синтезованих речовин та їх композицій з рамноліпідами та трегалозоліпідами. Для амінопіразольних похідних та композиції з рамноліпідами вміст вторинних продуктів ПОЛ (ТБК-активних продуктів) знизився на 30-35% порівняно з контролем. Для 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону кількість ТБК-активних продуктів зменшилась на 16 %, тоді як для його композиції з рамноліпідами – на 50 %. Вміст додаткових карбонільних груп (КГ) для цих сполук і композиційних препаратів знизився на 36% і 40% відповідно (щодо контролю).

Композиція 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діон з рамноліпідами показала високу антиоксидантну активність у процесах ПОЛ та ОМБ. При порівнянні дії композиції із відомим антиоксидантом – кверцетином вміст ТБК-активних продуктів був більшим на 2,3%, а вміст КГ знизився на 40,7%. Показано, що самі біосурфактанти мають прооксидантну дію (особливо трегалозоліпідні ПАР), натомість у композиціях з гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону вони підсилюють антиоксидантну активність. Отже, встановлено високу активність одержаних похідних 1,4-

нафтохінонів та синергічну дію їх композицій з біосурфактантами, зокрема антиоксидантних, антидепресивних та протисудомних властивостей.

Важливим показником нових потенційних фармпрепаратів є токсикологічні параметри, зокрема гостра токсичність (при пероральному введенні тваринам). Визначено, що середньо летальна доза ЛД₅₀ через 3 год по введенню аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композицій з біосурфактантами перевищує 1000 мг/кг. Це означає, що за існуючою класифікацією, отримані сполуки відповідають III класу токсичності – помірно небезпечні.

Розроблено біотехнологію композиційного препарату рамноліпідів та обраної перспективної сполуки 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону. Здійснено матеріальні, технологічні, економічні розрахунки, розроблено принципову технологічну та апаратурно-технологічну схеми процесу отримання композиційного препарату.

Для оцінки доцільності використання нових композиційних препаратів (на прикладі композиції рамноліпідів з 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діоном) здійснено їх порівняльний аналіз з існуючими на ринку препаратами та SWOT-аналіз. Виявлено сильні, слабкі сторони, перспективи розроблених композиційних препаратів.

Сильними сторонами (перевагами) нових препаратів є комбінована і пролонгована дія на ЦНС, активність за низьких концентрацій, низька токсичність, екологічність.

Слабкими сторонами технологій композиційних препаратів є значні витрати на впровадження та обмеженість ринкових досліджень.

Можливості, які з'являються при реалізації даної технології: забезпечення потреб сучасного ринку у продуктах нового покоління – ефективних й екологічно безпечних, в яких біосурфактанти використано на заміну синтетичних ПАР.

Загрози пов'язані з недостатньою інформованістю споживачів про досвід виробництва, властивості і галузі застосування, переваги композиційних препаратів на основі гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону з біосурфактантами.

Розроблена композиція на основі 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно) нафтален-1,4-діону та рамноліпідів завдяки своїй фармакологічній активності, комбінованій і пролонгованій дії та безпечності може бути цілком конкурентоспроможною на сучасному ринку фармацевтичних препаратів, з комбінованою дією на центральну нервову систему.

Таким чином, розроблені раціональні біотехнології композиційних препаратів біосурфактантів з N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону, широкий спектр їх біологічної активності будуть вагомим внеском у розвиток біотехнології нових ефективних й екологічно безпечних фармацевтичних препаратів.

За результатами досліджень опубліковано 27 наукових праць, у тому числі 6 статей (з них 3 статті у фахових журналах, 3 статті представлено у міжнародних наукометричних базах даних Scopus), 1 розділ міжнародної монографії, 20 тез доповідей та 1 патент України на корисну модель.

Ключові слова: біосурфактанти, рамноліпіди, трегалозоліпіди, N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону, композиційні препарати, фізико-хімічні і фармакологічні властивості.

ANNOTATION

Polish N.V. "Biotechnology of composite preparations based on new N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone and biosurfactants, properties and applications" is a qualifying scientific work, manuscript.

Dissertation for obtaining the educational and scientific degree for Doctor of Philosophy in specialty 162 Biotechnologies and bioengineering. - Lviv Polytechnic National University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Lviv, 2022.

Currently, the priority direction of biotechnology is the creation of promising products with a wide spectrum of biological activity, low toxicity, safety for the environment and a low price. The dissertation presents the research results of the technology development of new composite preparations based on biogenic surface-active substances of microbial origin (biosurfactants) with heterocyclic amino derivatives of 1,4-naphthoquinones, their properties, application prospects and advantages over existing preparations.

There are spectral methods (IR-, UV-, ¹H and ¹³C NMR- and chromatomasspectroscopy), prediction of biological activity, physico-chemical and biological methods (antimicrobial, antioxidant, antidepressant, anticonvulsant activity), statistical processing of results are used in the work.

The main idea of the combined use of biosurfactants with new amino-containing derivatives of 1,4-naphthoquinone is to increase their bioavailability and reduce therapeutic doses. Rhamnolipids and trehalolipids were chosen for the development of composite preparations with 1,4-naphthoquinone derivatives due to their unique physicochemical and biological properties.

To obtain compositions with biosurfactants, 52 new biologically active compounds were synthesized, the structure of which contains fragments of 1,4-naphthoquinone and aminopyrazole (aminopyrimidine, 1,2,4-triazine, 1,2,4-triazole). Thus, a number of amino-containing heterocyclic derivatives based on 1,4-naphthoquinone with aminopyrazoles (aminopyrimidines) were obtained by nucleophilic substitution reaction, the optimal synthesis conditions were determined – for aminopyrazole

derivatives using Na_2CO_3 in ethanol, for aminopyrimidine derivatives – with K_2CO_3 in DMFA. For the first time, 2-(6-phenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl)amino)naphthalene-1,4-diones and 2-((2-(3-aryl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)phenyl)amino)naphthalene-1,4-diones of linear structure were obtained.

The 1,2,4-triazin-6-yl)phenyl)amino)naphthalene-1,4-diones and 1,2,4-triazol-3-yl)phenyl)amino-3-hydroxynaphthalene-1,4-diones were obtained via reaction of nucleophilic substitution on the aniline amino group of heterocycles. The structures of the synthesized compounds were confirmed by spectral characteristics: mass chromat-, IR and $^1\text{H-NMR}$ spectra.

For the obtained substances, *in silico* screening was carried out using the PASS Online and Gusar programs. According to the prediction results, aminopyrazole derivatives of 1,4-naphthoquinone have a wide range of biological activity: antitumor, analgesic, antiparkinsonian, anticonvulsant, antineurodegenerative antimicrobial activity, and can be as inhibitors of various enzymes.

For the first time, biosurfactants were used to create composite preparations with new N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone. The biotechnology of obtaining compositions was developed and the conditions of their obtaining were optimized.

The physicochemical properties of the obtained composite preparations were studied: the surface tension, hydrodynamic dimensions of micelle-like structures were determined, and UV-spectra were analyzed. It is shown to decrease of surface tension from that in the compositions of aminopyrazole, 1,2,4-triazine and 1,2,4-triazole derivatives of 1,4-naphthoquinone with rhamnolipids, from 46–62 mN/m to 37–45 mN/m compared to solutions of individual compounds.

According to the results of the studies, the hydrodynamic dimensions of the self-organized micelle-like structures of N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinones and their compositions with biosurfactants were determined by the method of dynamic light scattering (DLS). It was shown that they differ depending on the structure of biosurfactants and 1,4-naphthoquinone derivatives. Thus, compositions of rhamnolipids with aminopyrazole derivatives of 1,4-naphthoquinone mainly contain

a fraction of particles with a size of 220-223 nm, and compositions of rhamnolipids and 1,2,4-triazole derivatives of 1,4-naphthoquinone - fractions of 280-283 nm. Their similarity can be explained by the presence of a triazole fragment in the structure. The composition of rhamnolipids with ethyl 4-((3-chloro-1,4-dioxo-1,4)-dihydronaphthalene-2-yl)amino)-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxylate contains particles with a size of about 68 nm, probably due to the presence of an ester group in the structure. This may indicate the compaction of the hydrophobic fragment in the micelles.

According to UV spectra for rhamnolipid compositions with 2-((2-(5-(2-bromophenyl)-1H-1,2,4-triazol)-3-yl)phenyl)amino)-3-hydroxynaphthalene-1,4-dione and 2-chloro-3-((1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)naphthalene-1,4-dione in the range of 200-700 nm, a hypsochromic shift of 20 and 40 nm is observed. For composite preparations of rhamnolipids with ethyl-4-((3-chloro-1,4-dioxo-1,4-dihydronaphthalen-2-yl)amino)-1-phenyl-1H-pyrazole-3-carboxylate and 2-((2-(5-(2-bromophenyl)-1H-1,2,4-triazol)-3-yl)phenyl)amino)-3-hydroxynaphthalene-1,4-dione new peaks with maxima of 343 and 391 nm, respectively, were registered, which may indicate the formation of intermolecular bonds between rhamnolipids and with derivatives 1,4-naphthoquinones.

Pharmacological tests of new drugs on laboratory animals were carried out. The anticonvulsant activity of heterocyclic amino derivatives of 1,4-naphthoquinone and their compositions with rhamnolipids and trehalolipids was determined on the model of acute generalized convulsions with registration of minimum effective doses of corazol, which causes clonic-tonic convulsions and tonic extension in experimental animals during intravenous infusion. Anticonvulsant activity was determined in the interval 3-24 h after oral administration of corazol (100 mg/kg). 3 hours after the administration of such a dose, the anticonvulsant activity of aminopyrazole derivatives of 1,4-naphthoquinone averaged 231% and 207% compared to the standard - valproic acid. The activity of 2-chloro-3-((3-(*p*-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione was 156%; 2-(6-phenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl)amino)naphthalene-1,4-diones – 159%, 2-(2-(3-aryl-1H-1,2,4-triazol-5-yl)phenyl)amino)naphthalene-1,4-diones –

142% and 152%; for 1,2,4-triazino and 1,2,4-triazole-containing derivatives of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone – 161% and 176%, respectively, relative to the standard. This indicates a significant anticonvulsant effect of the synthesized compounds, which is manifested at short time intervals.

For 2-chloro-3-(3-(3-(*p*-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione, the anticonvulsant activity was 239% (relative to the standard), and when using the composition with rhamnolipids - 244%. This is probably due to an increase in the permeability of cell membranes under the action of rhamnolipids, an improvement in bioavailability, and therefore their pharmacological effects. No significant enhancement of activity was observed for composite preparations of trehalosolipids with synthesized compounds.

The antidepressant effect of the obtained drugs was also determined using the forced swimming test. According to the results, 3 hours after oral administration to experimental animals, the best antidepressant activity was shown for 2-chloro-3-(1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)naphthalene-1,4-dione – the duration of swimming increased to 16.0 s compared to the amitriptyline control. For (2-(6-phenyl)-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl)amino)naphthalene-1,4-diones, the activity was at the level of the control - 10,7 s and 12.3 s. The obtained results indicate a combined and prolonged effect of the synthesized compounds on the central nervous system.

The antimicrobial activity of N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone was established. Thus, 2-chloro-3-((3-(*p*-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione showed significant activity against the test fungi *Candida tenuis*: (MIC<0.9 µg/ml, MFC< 0.9 µg/ml), bacteria *Staphylococcus aureus* and *Mycobacterium luteum* (MIC=7.8 µg/ml, MBC=15.6 µg/ml). The activity of 1-methyl-1H-pyrazol-4-amine against *C. tenuis* was shown: MIC=15.6 µg/ml, MFC=31.2 µg/ml; for *M. luteum* – MIC=7.8 µg/ml, MBC=15.6 µg/ml, respectively. Preparations based on 1,2,4-triazine and 1,2,4-triazole derivatives of 1,4-naphthoquinone did not show significant antimicrobial activity against the selected test cultures.

Antimicrobial activity against the culture of *M. luteum* for the composition of rhamnolipids and 2-chloro-3-((3-(*p*-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione

(ratio 1:1) was: MIC =7, 8:7.8 µg/ml and MBC =15.6:15.6 µg/ml. For *A. niger* fungi, under the influence of the composition of 2-chloro-3-((1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)naphthalene-1,4-dione with rhamnolipids (1:1) significantly decreased. MIC and MBC: for the individual compound was: MIC=31.2 µg/ml and MBC=62.5 µg/ml, for the composition: MIC=7.8:7.8 µg/ml and MBC=15.6:15.6 µg/ml. This indicates an increase in the activity of the composition. The fungicidal activity of the composition of 2-chloro-3-((1-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)naphthalene-1,4-dione with trehalolipids against *C. tenuis* also increased: MIC=7.8:7.8 µg/ml, MFC=15.6:15.6 µg/ml.

An important biological characteristic of 1,4-naphthoquinones and their compositions is antioxidant activity, which was determined on a rat liver homogenate. The antioxidant effect of synthesized substances and their compositions with rhamnolipids and trehalosolipids was revealed in the processes of peroxidative oxidation of lipids (LPO) and oxidative proteins modification (POM). For aminopyrazole derivatives and compositions with rhamnolipids, the content of secondary LPO products (TBA-active products) decreased by 30-35% compared to the control. For 2-[(6-(4-fluorophenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl)amino]naphthalene-1,4-dione, the amount of TBA-active products decreased by 16%, while for its composition with rhamnolipids – by 50%. The content of additional carbonyl groups (CG) for these compounds and composite preparations decreased by 36% and 40%, respectively (relative to the control).

The composition of 2-[(6-(4-fluorophenyl-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl)amino]naphthalene-1,4-dione with rhamnolipids showed high antioxidant activity in processes of LPO and POM. When comparing the effect of the composition with the well-known antioxidant - quercetin, the content of TBA-active products was 2.3% higher, and the content of CG decreased by 40.7%. It was shown that the biosurfactants themselves have a pro-oxidant effect (especially trehalolipid surfactants), on the other hand, in compositions with heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone, they enhance antioxidant activity. Therefore, the high activity of the obtained 1,4-naphthoquinone derivatives and the synergistic effect of their compositions with

biosurfactants, in particular antioxidant, antidepressant and anticonvulsant properties, were established.

An important indicator of new potential pharmaceuticals are toxicological parameters, in particular acute toxicity (when administered orally to animals). It was determined that the average lethal dose LD_{50} after 3 hours after administration of N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone and their compositions with biosurfactants exceeds 1000 mg/kg. This means that according to the existing classification, the obtained compounds correspond to the III class of toxicity – moderately dangerous.

The biotechnology of the composite preparation of rhamnolipids and the selected promising compound 2-chloro-3-((3-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione was developed. Material, technological, economic calculations were carried out, a basic technological and equipment-technological scheme of the process of obtaining a composite preparation and N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone was developed.

In order to assess the feasibility of using new composite preparations (using the example of the composition of rhamnolipids with 2-chloro-3-((3-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione), their comparative analysis with existing drugs on the market and SWOT analysis. The strengths, weaknesses, and prospects of the developed composite drugs were identified.

The strengths (advantages) of the new drugs are the combined and prolonged effect on the central nervous system, activity at low concentrations, low toxicity, environmental friendliness.

Weaknesses of composite drug technologies are significant implementation costs and limited market research.

Possibilities arising from the implementation of this technology: meeting the needs of the modern market in new generation products - effective and environmentally safe, in which biosurfactants are used instead of synthetic surfactants.

Threats are associated with insufficient consumer awareness of production experience, properties and fields of application, advantages of composite preparations based on heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone with biosurfactants.

The developed composition based on rhamnolipids and 2-chloro-3-((3-(p-tolyl)-1H-pyrazol-5-yl)amino)naphthalene-1,4-dione due to its pharmacological activity, combined and prolonged action and safety can be quite competitive in the modern market of pharmaceutical preparations, with a combined effect on the central nervous system.

Thus, the developed rational biotechnologies of composite preparations of biosurfactants with N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone, a wide range of their biological activity will be a significant contribution to the development of biotechnology of new effective and environmentally safe pharmaceuticals.

Based on the results of the research, 27 scientific works, including 6 articles (of which 3 articles were published in professional journals, 3 articles were presented in international scientometric databases Scopus), 1 chapter of an international monograph, 20 theses of reports and 1 patent of Ukraine were published.

Key words: biosurfactants, rhamnolipids, trehalolipids, N-containing heterocyclic derivatives of 1,4-naphthoquinone, aminopyrazoles, aminopyridines, 1,2,4-triazoles, 1,2,4-triazines, composite drugs, physicochemical and pharmacological properties.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті

1. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Новіков В.П., Вовк М.В. (2019). Синтез та прогнозування біологічної активності нових гетероциклічних N-похідних нафтохінону. *Хімія, технологія речовин та їх застосування.*, 2(1), 69–75. doi:10.23939/ctas2019.01.069. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).
2. Polish, N., Voitsakhivska, O., Marintsova, N., Zhurakhivska, L., Novikov, V., & Bohza, S. (2019). Primary screening of the biological activity of heterocyclic aminoderivatives of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 6(22), 37-42. doi:10.15587/2519-4852.2019.188127. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).
3. Polish, N., Nesterkina, M., Marintsova, N., Karkhut, A., Kravchenko, I., Novikov, V., & Khairulin, A. (2020). Synthesis and evaluation on anticonvulsant and antidepressant activities of naphthoquinone derivatives containing pyrazole and pyrimidine fragments. *Acta Chimica Slovenica*, 67(3), 934-939. <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2020.5938>. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).
4. Поліш Н.В., Марінцова Н. Г., Кархут А.І., Журахівська Л.Р., Конечна Р.Т., Новіков В.П., Воскобойнік О.Ю., Коваленко С. І. (2020). Синтез нових 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону як перспективних біологічно активних сполук. *Питання хімії та хімічної технології*, 5 (132), 73–80. doi:10.32434/0321-4095-2020-132-5-73-80. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).
5. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Кархут А.І., Яремкевич О.С., Карпенко О.В. (2021). Антиоксидантна активність гетероциклічних аміновмісних похідних нафтохінону та їх композицій з поверхнево-активними рамноліпідами. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*, 4(1), 109-115. doi:10.23939/ctas2021.01.109.

(Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).

6. Polish N.V., Nesterkina M.V., Protunkevych M.S., Karkhut A.I., Marintsova N.G., Polovkovych S.V., Kravchenko I.A., Voskoboinik O.Y., Kovalenko S.I., Karpenko O.V. (2021). Synthesis and pharmacological evaluation of novel naphthoquinone derivatives containing 1,2,4-triazine and 1,2,4-triazole moieties. *Питання хімії та хімічної технології*, 5(138), 97–104. doi:10.32434/0321-4095-2021-138-5-97-104. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та проведенні дослідження, обробці результатів, оформленні статті).

Монографії

7. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г. (2021). Біогенні поверхнево-активні речовини як перспективні екологічно безпечні засоби для використання в агропромисловості та медицині. *Actual problems of natural sciences: modern scientific discussion: collective monograph*. Riga: Baltija Publishing, 265-282. Розділ колективної монографії. (Особистий внесок – написання розділу монографії).

Тези доповідей

8. Поліш Н.В., Новіков В.П., Марінцова Н.Г. Взаємодія похідного амінопіразолу з 1,4-дихлорнафтохіноном. *Проблеми та перспективи сучасної науки: матеріали ІХ міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, м. Дніпро, Україна, 28 вересня 2018 р. с. 45–48. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

9. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Новіков В.П. Синтез нових похідних амінооксазолів та дихлорнафтохінону. *Хімічні проблеми сьогодення: матеріали ІІ Міжнародної (ХІІ Української) наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених*, м. Вінниця, Україна, 19–21 березня 2019 р. с. 97. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

10. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Болібрух Л.Д., Журахівська Л.Р., Новіков В.П., Богза С.Л. Синтез N- та S- похідних нафтохінону. *Матеріали ІІІ Всеукраїнської наукової конференції «Актуальні задачі хімії»*, м. Житомир,

Україна, Квітня 17, 2019; с. 366. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

11. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Новіков В.П., Богза С. Синтез нових гетероциклічних N-похідних нафтохінону. *Матеріали XVII Наукової конференції «Львівські хімічні читання»*, м. Львів, Україна, Червня 2–5, 2019; с. 377. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

12. Polish N., Marintsova N., Zhurakhivska L., Novikov V., Vovk M. Prediction of the biological activity of naphthoquinone N-derivatives on the basis of virtual screening and drug-like characteristics. *Proceedings of The 2nd International scientific conference «Chemical technology and engineering»*, Lviv, Ukraine, June 24–28th, 2019, p.38–39. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

13. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Кричківська А.М., Журахівська Л.Р., Новіков В.П., Вовк М.В. Синтез та біологічна активність нітрогеновмісних гетероциклічних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону. *Матеріали XXV Української конференції з органічної та біоорганічної хімії*. м. Луцьк, Україна, Вересень 16–20, 2019, с.116. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

14. Marintsova N., Polish N., Novikov V., Brankiewicz W., Serocki M., Milewski S., Bagiński M. Novel aminopyrazolonaphthoquinones as potential anti-cancer drugs in breast cancer treatment. *Program and abstracts of 31st International Association for breast cancer research conference «Exploring the molecular mechanisms of breast cancer»*, Egmond aan Zee, The Netherlands. April 15–18, 2019, p. 67. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

15. Поліш Н.В. Антимікробна активність нітрогеновмісних гетероциклічних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону. *Materials of the International scientific-practical conference "Development of modern technologies and scientific potential of the world" ΛΟΓΟΣ NGO «European Scientific Platform»*, London, Great Britain, July 29, 2019, p. 67–68. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

16. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Богза С.Л., Вовк М.В., Новіков В.П. Первинний скринінг протимікробної активності амінопіразольних похідних нафтохінону. *Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 80-річчю кафедри хімії ХНУМГ ім. О. М. Бекетова «Актуальні питання хімії та інтегрованих технологій»*. м. Харків, Україна, Листопад 7–8, 2019, с. 52. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

17. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Новіков В.П., Вовк М.В., Швеба П. Дослідження протимікробної та фунгіцидної активності гетероциклічних амінопохідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону. *Матеріали VIII Міжнародної науково-практичної конференції "Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології"*. Україна, Листопад 7–8, 2019, с.383–385. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

18. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Богза С.Л., Хайрулін А., Бранкевич В., Серокі М., Новіков В.П. Нові гетероциклічні похідні нафтохінону та їх протиракова активність. *Матеріали IV Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»*, 14–15 листопада 2019 р., м. Харків, Україна, с.146–147. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

19. Marintsova N., Polish N., Brankiewicz W., Serocki M., Milewski S., Bagiński M., Novikov V. Aminopyrazolonaphthoquinones: novel small molecules as a potential anti-cancer drugs. *«Heterogeneity and evolution in cancer : CNIO - "la caixa" frontiers meetings»*, Madrid, Spaine, September 23–25, 2019, p. 96. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

20. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Кархут А.І., Половкович С.В., Новіков В.П. Синтез та прогнозування біологічної активності (1Н-1,2,4-триазол-5-іл) анілін похідних нафтохінону. *Матеріали XII Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання»*, м. Харків,

Україна, Квітень 21–23, 2020, с. 95–96. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

21. Поліш Н.В., Курило О.П., Кархут А.І. Марінцова Н.Г., Новіков В.П. Синтез нових 1,2,4-триазиновмісних похідних нафтохінону. *Матеріали IV Всеукраїнської наукової конференції «Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи»*, м. Житомир, Україна, Квітень 29, с.211. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

22. Поліш Н.В., Курило О.П., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Кархут А.І. Синтез нових похідних 1,2,4-триазолу та 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону. *Матеріали XXI Міжнародної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Сучасні проблеми хімії»*, м. Київ, Україна, Травень 20-22, 2020, с.168. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

23. Полиш Н.В., Маринцова Н.Г., Журахивская Л.Р., Кархут А.И., Новиков В.П. Виртуальный скрининг биологической активности 1,2,4-триазолопроизводных 1,4-нафтохинона. *Материали Республиканской конференции с международным участием, посвященной 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной «Физико-химическая биология как основа современной медицины»*, Минск, Мая 29, 2020, с.136–137. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

24. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Кархут А.І., Богза С.Л., Новіков В.П., Хайрулін А.Р. Первинний скринінг біологічної активності гетероциклічних амінопіразольних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону. *Матеріали науково-практичної дистанційної конференції з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії»*, м. Харків, Україна, Жовтень 2, 2020, с. 34. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

25. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Воляннюк К.А., Карпенко О.В. Дослідження антиоксидантної активності композиційних препаратів гетероциклічних N-похідних нафтохінону та біоПАР. *Матеріали I Міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної*

біотехнології», м. Харків, Україна, Березень 25, 2021, с. 282–283. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

26. Polish N.V., Yaremkevych O.S., Karkhut A.I., Polovkovych S.V., Marintsova N.G., Zhurakhivska L.R., Karpenko O.V. Antioxidant activity of compositions based on aminopyrazole derivatives of naphthoquinone and biosurfactants. *Матеріали Міжнародної наукової конференції, посвяченої 75-літтю со дня рождення професора Е. В. Барковського «Фізико-хімічна біологія як основа сучасної медицини»*, г.Мінськ, Май 21, 2021, с. 214–216. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

27. Polish N., Kurylo O., Karkhut A., Zhurakhivska L., Marintsova N. Computer prediction of biological activity of 1,2,4-triazole derivatives of 1,4-naphthoquinone. *Materials 3rd International scientific conference “Chemical technology and engineering”*, Lviv, Ukraine, June 21-24th, 2021, p.32-34. (Особистий внесок - участь у постановці завдань та оформленні тез доповіді).

Патенти

28. Патент України на корисну модель № 147566 від 20.05.2021. Спосіб одержання гетероциклічних амінопохідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону, що проявляють протисудомну та антидепресивну активність. Поліш Н. В., Марінцова Н. Г., Кархут А. І., Журахівська Л. Р., Нестеркіна М. В., Кравченко І. А., Богза С. Л., Новіков В. П.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	26
ВСТУП	27
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	32
1.1. Композиційні препарати на основі біоПАР.....	32
1.2. Одержання та фізико-хімічні властивості біогенних поверхнево-активних речовин.....	35
1.2.1. Поверхнево-активні сполуки бактерій роду <i>Pseudomonas</i> і <i>Rhodococcus</i>	36
1.2.2. Галузі застосування біосурфактантів.....	39
1.3. Властивості, застосування та особливості синтезу N-вмісних гетероциклів на основі 1,4-нафтохінонів, амінопіразолів, 1,2,4-триазинів і 1,2,4-триазолів.....	41
1.3.1. Представники 1,4-нафтохінону, їх властивості та застосування.....	41
1.3.2. Амінопіразольні похідні, їх властивості та застосування.....	43
1.3.3. Властивості та застосування 1,2,4-триазолів та 1,2,4-триазинів.....	44
1.3.4. Основні підходи одержання нових аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінонів.....	46
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	50
2.1. Біосинтез рамноліпідів.....	51
2.1.1. Опис технологічного процесу одержання ПАР штаму <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17	
2.2.1. Загальна методика синтезу амінопіразольних похідних нафтохінону (3.6–3.8, 3.11).....	55
2.2.2. Загальна методика синтезу амінопіримідинових похідних нафтохінону (3.9–3.10).....	55
2.2.3. Загальна методика синтезу 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону.....	56
2.2.4. Загальна методика синтезу 2-(6-феніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів (3.14-3.15).....	56
2.2.5. Загальна методика синтезу 2-[2-(3-арил-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів (3.31-3.37).....	57

2.3. Приготування композиційного препарату на основі рамноліпідів і трегалозоліпідів з N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону	57
2.4. Хімічні аналізи	58
2.4.1. Хроматографія	58
2.4.2. Спектральні методи аналізу	58
2.5. Фізико-хімічні методи	59
2.5.1. Поверхневий натяг композицій	59
2.5.2. Вимірювання гідродинамічних розмірів міцелярних структур	60
2.5.3. Елементний аналіз	60
2.6. Біологічні методи	60
2.6.1. Дослідження на експериментальних тваринах	60
2.6.2. Визначення порогу чутливості до коразолу	61
2.6.3. Визначення антидепресивної активності N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композиційних препаратів з біосурфактантами	
2.6.4. Дослідження гострої токсичності сполук	62
2.6.5. Визначення протимікробної активності	62
2.6.6. Визначення антиоксидантної активності	63
2.6.7. Статистичний аналіз	65
РОЗДІЛ 3. СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РАМНОЛІПІДІВ, N-ВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ	66
3.1. Синтез похідних амінопіразольних та амінопіримідинових похідних 1,4-нафтохінону	66
3.2. Синтез хінонів з біноклеофілами	67
3.2.1. Синтез амінопіразоло-, 1,2,4-триазино- і 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (3.11, 3.14-3.25)	67
3.3.1. Синтез 2-[2-(6-арил)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів	70
3.3.2. Синтез 2-((2-(6-арил-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів та 2-((2-(3-арил-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів	72

3.4. Фізико-хімічні властивості композицій рамноліпідних біоПАР з аміновмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону.....	75
3.4.1. Дослідження властивостей біосурфактантів.....	75
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ КОМПОЗИЦІЙ РАМНОЛІПІДІВ З АМІНОВМІСНИМИ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИМИ ПОХІДНИМИ 1,4-НАФТОХІНОНУ.....	82
4.1. Матеріальні розрахунки одержання 2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону.....	83
4.2. Матеріальні розрахунки одержання композиційного препарату на основі рамноліпідів та 2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону.....	101
4.3. Опис технологічного процесу одержання композиційного препарату рамноліпідів з 2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діоном	109
4.3.1. Опис технологічного процесу одержання 2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (3.11).....	110
4.3.2. Опис технологічного процесу одержання композиційного препарату на основі рамноліпідів та 2-хлоро-3-((3-(<i>p</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону.....	112
4.4. Економічна ефективність технології отримання композиційного препарату.....	112
4.4.1. Розрахунок економічної ефективності технології отримання ПАР <i>Pseudomonas</i> sp. PS-17.....	113
4.4.2. Розрахунок економічної ефективності отримання 2-хлоро-3-((3-(<i>p</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону.....	116
4.4.3. Розрахунок економічної ефективності розробленої технології композиційного препарату на основі рамноліпідів та 2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону.....	121
4.5. SWOT-аналіз та порівняльні характеристики нового протисудомного композиційного препарату на основі амінопіразольних похідних нафтохінону та рамноліпідів з існуючими на ринку.....	124

РОЗДІЛ 5. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СИНТЕЗОВАНИХ АМІНОВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ ТА КОМПОЗИЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ З

БІОСУРФАКТАНТАМИ.....	127
5.1. In silico скринінг синтезованих сполук.....	127
5.1.1. Прогнозування біологічної активності синтезованих сполук програмою PASS.....	127
5.1.2. Прогнозована гостра токсичність синтезованих сполук	128
5.2. Фармакологічні властивості синтезованих сполук.....	131
5.2.1. Антидепресивна активність амінопіразоло-, 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону (3.6-3.11, 3.26-3.27, 3.31-3.35).....	131
5.2.2. Протисудомна активність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону.....	133
5.2.3. Протисудомна активність композиційних препаратів на основі вибраних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів.....	136
5.3. Протимікробна активність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону.....	139
5.3.1. Протимікробна активність композицій біосурфактантів та обраних 1,4-нафтохінонів	141
5.4. Гостра токсичність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композиційних препаратів з рамноліпідами.....	145
5.5. Антиоксидантна активність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композицій з біосурфактантами.....	146
ВИСНОВКИ.....	152
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	154
ДОДАТКИ.....	176
ДОДАТОК А.....	177
ДОДАТОК Б.....	182
ДОДАТОК В.....	199

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

in silico – комп'ютерне моделювання

LD - летальна доза

PASS - Prediction of Activity Spectra for Substances (прогнозування спектру активностей для сполук)

η – коефіцієнт корисної дії

ДКТС – доза, що викликає клоніко-тонічні судоми

ДТЕ – доза, що викликає тонічну екстензію

ДХНХ - 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінон

ДМФА - диметилформаїд

ДМСО - диметилсульфоксид

ДФПГ - 2,2-дифенілпікрілгідразил

ККМ – критична концентрація міцелоутворення

МБК - мінімальна бактерицидна концентрація

МІК – мінімальна інгібувальна концентрація

МФК - мінімальна фунгіцидна концентрація

НАД - нікотинаміддинуклеотид

ОМБ - окисна модифікація білка

ПН – поверхневий натяг

ПОЛ - перекисне окиснення ліпідів

РЛ - рафноліпіди

РПА - радикал-поглинаюча активність

ТЛ – трегалозоліпідні поверхнево-активні речовини

ТШХ - тонкошарова хроматографія

ЯМР - ядерний магнітний резонанс

ВСТУП

Актуальність теми. У наш час актуальним завданням біотехнології є створення нових перспективних речовин з широким спектром біологічної активності, безпечних для довкілля, економічно вигідних та конкурентноспроможних.

Відомо, що біосурфактанти, які володіють унікальними фізико-хімічними і біологічними властивостями, у композиціях з різними біологічно активними сполуками покращують їх розчинність у воді, біодоступність, підсилюючи їх терапевтичну дію. Розробка нових композиційних препаратів із поліфункціональними характеристиками на основі біосурфактантів спрямована на створення високоефективних, низько токсичних, екологічно безпечних препаратів. Завдяки здатності біосурфактантів до підвищення проникності клітинних мембран, змочування поверхонь та солюбілізації малорозчинних речовин, їх сумісне використання з синтетичними похідними нафтохінону дасть змогу підсилити дію і зменшити терапевтичну дозу.

З метою створення композиційних препаратів з біосурфактантами синтезовано нові N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону. До складу лікарських засобів входять ~ 80% п'ятичленних і шестичленних азотовмісних гетероциклічних систем. Вони мають широкий спектр фармакологічної дії – антимікробної, протипухлинної, антивірусної, протизапальної та регенеруючої, відтак займають важливе місце у розробці лікарських субстанцій. Проте, похідні 1,4-нафтохінонів є мало розчинними у воді, що лімітує їх біодоступність, а відтак ефективність. У дисертаційній роботі для розроблення композицій обрано гліколіпідні біосурфактанти – рамноліпіди і трегалозоліпіди через їх особливі фізико-хімічні та біологічні властивості.

Отже, актуальним завданням є розробка біотехнології отримання нових біологічно активних та екологічно безпечних композиційних препаратів на основі біосурфактантів та N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону,

дослідження їх функціональних властивостей, а також визначення напрямків їх застосування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є частиною фундаментальних досліджень кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» та виконувалась в рамках держбюджетної теми «Тромбоцит» (№ держреєстрації 516-3-10 від 11.02.2020). Автор дисертаційної роботи є одним із виконавців теми.

Мета та завдання дослідження. Розроблення нових методів біотехнології композиційних препаратів на основі біосурфактантів та гетероциклічних амінопохідних нафтохінону, дослідження їх фізико-хімічних і біологічних властивостей, а також визначення потенціалу практичного застосування.

Для реалізації поставленої мети передбачалось вирішення наступних завдань:

- Синтез та встановлення хімічної структури нових похідних на основі 1,4-нафтохінону та 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону з піразоло-, піридино- та 1,2,4-тризино-, 1,2,4-триазоловмісними гетероциклами шляхом проведення реакцій нуклеофільного заміщення, приєднання за Міхаелем, циклоконденсації та циклоприєднання.
- Визначення фізико-хімічних характеристик одержаних сполук, їх прогнозованої біологічної активності, вибір перспективних для створення композиційних препаратів з біосурфактантами.
- Розроблення композиційних препаратів на основі біосурфактантів (рамноліпідів, трегалозоліпідів) і гетероциклічних амінопохідних 1,4-нафтохінону;
- Опрацювання раціональної технології нових композиційних препаратів біосурфактантів з гетероциклічними аміновмісними похідними 1,4-нафтохінону;
- Дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей, потенціалу практичного застосування композиційних препаратів у біотехнології та фармації.

Об'єкт дослідження – композиції на основі біосурфактантів з малорозчинними біологічно активними сполуками.

Предмет дослідження – біотехнологія композицій рамноліпідів, трегалозоліпідів з похідними 1,4-нафтохінону, їх функціональні властивості та перспективи застосування.

Методи досліджень – органічний синтез, хроматографія, спектральні методи, *in silico* визначення біологічної активності, біотехнологічні, хімічні, фізико-хімічні, спектральні, математичні методи.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше розроблено композиційні препарати на основі речовин з різними механізмами дії – біосурфактантів і нових гетероциклічних амінопохідних 1,4-нафтохінону з високою біологічною активністю.

Вперше розроблено методи синтезу, встановлено закономірності перебігу взаємодії 1,4-нафтохінону, 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону у реакціях нуклеофільного та електрофільного заміщення, циклоприєднання із піразольними, 1,2,4- триазольними, 1,2,4- триазиновими та піридиновими фрагментами.

Одержано та охарактеризовано низку нових амінопіразоло-, 1,2,4-триазоло-, 1,2,4-триазиновмісних похідних нафтохінонів.

Проведено *in silico*, *in vitro* та *in vivo* дослідження біологічної активності синтезованих сполук, визначено їх антимікробну, антиоксидантну, антидепресивну, протисудомну активності.

Визначено фізико-хімічні властивості композиційних препаратів на основі біосурфактантів і нових гетероциклічних аміновмісних похідних 1,4-нафтохінонів (поверхневий натяг, гідродинамічні розміри міцелоподібних структур).

Вперше встановлено антимікробну, антиоксидантну, антидепресивну, протисудомну дії композицій біосурфактантів з синтезованими похідними 1,4-нафтохінонів.

Уточнено ефективність композицій гетероциклічних аміновмісних похідних 1,4-нафтохінонів різної структури з біоПАР, механізмів їх впливу на клітини.

Практичне значення одержаних результатів.

Запропоновано методики одержання похідних 1,4-нафтохінонів з різними біологічно активними фрагментами.

Розроблено технологію виробництва композиційних препаратів рамноліпідних і трегалозоліпідних біосурфактантів з біологічно активними гетероциклічними аміновмісними похідними 1,4-нафтохінону, апаратурно-технологічні схеми, здійснено економічні розрахунки.

Результати роботи використовуються у навчальному процесі і науковій роботі кафедри фармації та технології органічних речовин Українського державного хіміко-технологічного університету і кафедри технології біологічно активних сполук, фармації і біотехнології НУ «Львівська політехніка». Практична цінність одержаних результатів дослідження підтверджена патентом України на корисну модель № 147566 від 20.05.2021 та засвідчена відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Дисертанткою самостійно здійснено налітичний огляд наукової літератури, проведено експериментальні роботи з синтезу і встановлення будови нових сполук, обробка результатів. Постановку завдань, планування, аналіз та обговорення результатів, висновків роботи проводились з науковими керівниками – д.т.н., проф. Карпенко О.В. і к.х.н, доц. Н.Г. Марінцовою. ІЧ- та УФ-спектроскопічні дослідження проведено спільно із ст.викл., к.х.н. Хом'яком С.В. (НУ «Львівська політехніка»), дослідження антиоксидантної активності – із к.б.н., доц. Яремкевич О.С. (НУ «Львівська політехніка»), протимікробної активності здійснювались сумісно із групою мікробіологів к.х.н., доц. Комаровської-Порохнявець О.З. (НУ «Львівська політехніка»). Визначення протисудомної, антидепресивної дії та гострої токсичності новостворених композиційних препаратів проведено спільно із д.б.н., Кравченко І.А. та доц., к.б.н. Нестеркіною М.В. (НУ «Одеська політехніка») Нестеркіною М.В. Консультації за темою роботи – зав. каф. ТБСФБ Лубенець В.І. Рамноліпід *Pseudomonas sp. PS-17* та трегалозоліпід *Rhodococcus erythropolis AU-1* одержано у Відділенні фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М.

Литвиненка НАН України н.с., к.т.н. Покинсьбродою Т.Я., м.н.с., к.т.н. Корецькою Н.І. Авторка висловлює подяку всім, хто сприяв виконанню роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи представлено у Матеріалах II Міжнародної (XII Української) наукової конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Проблеми та перспективи сучасної науки» (Вінниця, 2019 р.), of the 2nd International scientific conference «Chemical technology and engineering» (Lviv, Ukraine 2019), IV Міжнародної науково-практичної конференції, присвяченої 15-річчю кафедри біотехнології Національного авіаційного університету (Київ, 2020 р.), Республиканской конференции с международным участием, посвященной 80-летию со дня рождения Т. С. Морозкиной «Физико-химическая биология как основа современной медицины» (Минск, 2020 г.), I Міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2021р.), Международной научной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского «Физико-химическая биология как основа современной медицины» (Минск, 2021 г.), the 3rd International scientific conference «Chemical technology and engineering», (Lviv, Ukraine, 2021).

Публікації. За результатами роботи опубліковано 27 наукових праць, у тому числі 6 статей, серед яких 1 – у науковому виданні країн Європейського Союзу (міжнародна індексація Scopus); 2 – у наукових фахових виданнях України за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія; 2 статті у журналах бази даних Scopus, категорії «А»; 1 – у інших наукових виданнях України, 2 розділи у закордонних монографіях; 20 теза доповідей – опублікованих у вітчизняних та закордонних науково-практичних конференціях, одержано 1 патент України на корисну модель.

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Композиційні препарати на основі біоПАР

Важливим завданням біотехнології сьогодення є створення нових, низькотоксичних, з оптимальним складом та високою біологічною активністю композиційних препаратів на основі біоПАР з біоцидами, біополімерами, синтетичними ПАР, біологічно активними речовинами тощо [1-2]. Як відомо, біоПАР, мають здатність покращувати проникність клітинних мембран та збільшувати біодоступність малорозчинних препаратів [2], також є низько токсичними та екологічно безпечними.

На сьогоднішній день все більшої актуальності набувають біоцидні препарати, які володіють високою активністю проти шкідливих мікроорганізмів, є доступними, відносно недорогими та безпечними для довкілля. Існуючі на ринку біоциди часто є малоефективними через виникнення резистентності до них мікроорганізмів. Так, науковою групою проф. Лубенець В.І. створені нові антимікробні препарати сульфуровмісні сполуки – тіосульфонати, що за структурою є аналогами такого біоциду як аліцину [3-4]. Зважаючи на низьку водорозчинність і біодоступність, можливості їх практичного використання можна підвищити шляхом формування композицій тіосульфонатів з біоПАР [5]. В інших роботах досліджено рістрегулювальну активність і підібрано співвідношення композицій, розроблених на основі тіосульфонатів та біосурфактанту, що можуть використовуватись у агротехнологіях вирощування рослин. Результати свідчать про ефективність використання композиції АТС і РБК зі співвідношенням (1:1) при утворенні нових безпечних препаратів, які є зручними для використання стабільних комплексів, що володіють рістрегулюючою активністю. Зважаючи на біоцидні властивості [4], їх можна застосовувати для захисту рослин від хвороб. Визначена ефективність використання комплексів алілтіосульфанілату з біосурфактантом–рамноліпідним біокомплексом у співвідношенні (1:1) щодо покращення ростових показників гарбуза звичайного. Виявлено ефективність отриманої композиції, яка утворює стабільну

емульсію з гідрофобними речовинами, що свідчить про перспективу її використання в екологічно безпечних композиціях для високоефективних комплексних агробіопрепаратів для захисту рослин родини Гарбузових [5-6]. Додавання біоПАР у композиції з тіосульфатами сприяє зниженню мінімальних інгібувальних й біоцидних концентрацій алілтіосульфанілату: за дії на *Mycobacterium luteum* МІК зменшується на 50%, МБК – у 4 рази, що пояснюється збільшенням проникності клітинних мембран мікроорганізмів під дією біоПАР [5-6].

Також науковою групою відділу ХБГК Відділення ФХГК ІнФОВ створені і проходять випробування композиційні препарати на основі трегалозоліпідних ПАР та біоцидів-тіоестерів (ЕТС, АТС) для тваринництва і ветеринарії (зокрема для розведення рідкісних, цінних риб). Залежно від потреб конкретної галузі, пропонуються композиції у пастоподібній або рідкій формах. До складу нового пастоподібного препарату входить біомаса і каротиноїди культури *Gordonia rubripertincta*, що забезпечує його поживну й протекторну (протимікробну) функції.

Біогенні ПАР завдяки своїм фізико-хімічним та біологічним властивостям мають перспективу широкого використання у різних технологіях, в тому числі у фармації [3]. Поєднання біоПАР та антимікробних препаратів спричиняє сильний синергетичний ефект при зниженій бактерицидній і фунгіцидній концентраціях протимікробних препаратів [7, 8]. Біосурфактанти можуть бути використані як протизапальні, імуномодулюючі агенти та засоби, що впливають на клітинне диференціювання [9], підвищення біодоступності малорозчинних ліків, для створення фармпрепаратів [10]. У складі косметичних засобів та шампуней рамноліпіди підсилюють дію біологічно активних речовин, вони також використовуються у композиціях для лікування дерматологічних захворювань [11-12]. Як відомо, рамноліпідами можна замінити синтетичні ПАР в композиціях з добривами, у препаратах для позакореневого живлення, що покращує поглинання поживних речовин і стимулює ріст рослин, в якості кормової добавки для кращого емульгування поживних речовин і поглинання їх у тонкому кишківнику тварин [13]. БіоПАР можуть використовуватися у препаратах для

підсилення дії стимуляторів росту рослин [14]. Рамноліпіди можуть виконувати функцію абсорбента-підсилювача для перорального використання. У кількості 20-1000 мг/л вони значно покращують поглинання ліків, швидкість поглинання збільшується в 0,03-10 разів [15]. В композиції з біоцидами натаміцином та нізином рамноліпіди покращують ефективність препаратів [16]. Такий самий ефект отримано в композиції рамноліпідів з рамопланином, який використовують для боротьби з бактеріальною суперстійкою інфекцією [17]. Рамноліпіди з трегалозоліпідами і софорозоліпідами можна використовувати для емульгування кормів для водних тварин, оскільки вони не утворюють залишків в водних продуктах і не впливають на якість води. Крім того біоПАР як емульгатор може значно покращити засвоєння кормового жиру [18]. Композиції з біоПАР можна використовувати як у вигляді дисперсій або емульсій, лікарських форм для місцевого або трансдермального введення (порошки, спреї, мазі, пасти, креми, лосьйони, гелі, розчини) [19].

Цікавим та дуже перспективним напрямком створення дезінфекційних засобів є застосування біоПАР в «зеленому» синтезі наночастинок металів. Вони можуть бути одночасно, як редукуючими агентами, так і стабілізаторами. Наночастинки срібла ефективно використовуються у різних галузях техніки, промисловості, косметики, побутової хімії, а також у медицині, ветеринарії та фармації [3]. Основною вимогою до дезінфекційних препаратів є нетоксичність, седиментаційна та хімічна стійкість. Метод синтезу наночастинок металів у зворотних міцелах є досить популярним на сьогоднішній день [20]. Проте, ПАРи, що застосовуються при синтезі є синтетичними, тобто, токсичними для довкілля. Саме тому актуальним завданням сучасної нанобіотехнології є розроблення нових способів одержання наночастинок срібла з використанням біоПАР як стабілізатора та редукуючого агента [3, 20].

На основі фізико-хімічних характеристик поверхнево-активних продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та його композицій з допоміжними речовинами розроблено рецептури мийних засобів і шампуню, які характеризуються високим піноутворюванням і стійкістю піни (у тому числі в твердій воді), а також

рецептури кремів для рук і ніг. У відділі ХБГК ВФХГК ІнФОВ спільно з галузевими інститутами розробляються рецептури шампунів та рідини для посуду. Супернатант культуральної рідини або його водні розчини в різних пропорціях застосовували в якості основи мийних засобів та шампунів.

Отже, біоПАР є перспективними біотехнологічними продуктами, їх застосування у композиційних препаратах на заміну синтетичним ПАР зможе забезпечити високий рівень специфічності та ефективності у багатьох сферах промисловості та сільського господарства [11, 21].

1.2. Одержання та фізико-хімічні властивості біогенних поверхнево-активних речовин

Біосурфактанти (біоПАР) є поверхнево-активними речовинами, що синтезуються мікроорганізмами та знижують поверхневий натяг розчинів, мають емульгувальну здатність, збільшують проникність клітинних мембран, підсилюють дію інших речовин при сумісному використанні, а також є низькотоксичними, мають стабільні фізико-хімічні властивості у широкому діапазоні рН, температури тощо. Досліджено різні штами мікроорганізмів, які здатні синтезувати біосурфактанти з різноманітною хімічною структурою та властивостями [22-23].

Біосурфактанти класифікують переважно за хімічною будовою і мікробним походженням. Залежно від будови молекули їх поділяють на: гліколіпіди (рамноліпіди, софороліпіди, трегалоліпіди, сфінголіпіди), ліпопептиди (сурфактин, ліхенізин, фенгіцин, серветин), жирні кислоти, фосфоліпіди, нейтральні ліпіди, полімерні біоПАР (емульсан, аласан, біодиспезан, ліпосан) [23-24]. Ліпофільний фрагмент біоПАР зазвичай є вуглеводневим ланцюгом, похідним жирних кислот або пептидом із бічними гідрофобними ланцюгами, гідрофільний – пептид, вуглевод тощо.

Найважливішою групою низькомолекулярних біоПАР є гліколіпіди, які містять моно- або олігосахариди, а також ліпідні фрагменти. Сахаридна частина – глюкоза, маноза, галактоза, галактозосульфат, глюкуронова кислота, рамноза тощо. Ліпідна

частина – складається з насиченої або ненасиченої жирної кислоти, оксикислоти, жирного спирту.

Із літератури відомо про застосування біоПАР як самостійних реагентів, а також у складі композицій з іншими біологічно активними речовинами. За їх участі можна як отримати цілком нові, так і видозмінити й вдосконалити вже існуючі препарати.

Завдяки широкому спектру біологічних властивостей – антимікробній, фунгіцидній, противірусній, протипухлинній, антиадгезивній, емульгуючій – біосурфактанти є перспективними сполуками для одержання нових високоефективних й низькотоксичних лікарських та косметичних засобів [24-25] .

1.2.1. Поверхнево-активні сполуки бактерій роду *Pseudomonas* і *Rhodococcus*

Серед важливих біосурфактантів привертають увагу метаболіти бактерій роду *Pseudomonas* – рамноліпіди. На сьогоднішній день відомо 28 гомологів рамноліпідів (РЛ) [26], в яких моносахарид рамнозу приєднано глікозидним зв'язком до жирнокислотного хвоста, найбільш поширеними є:

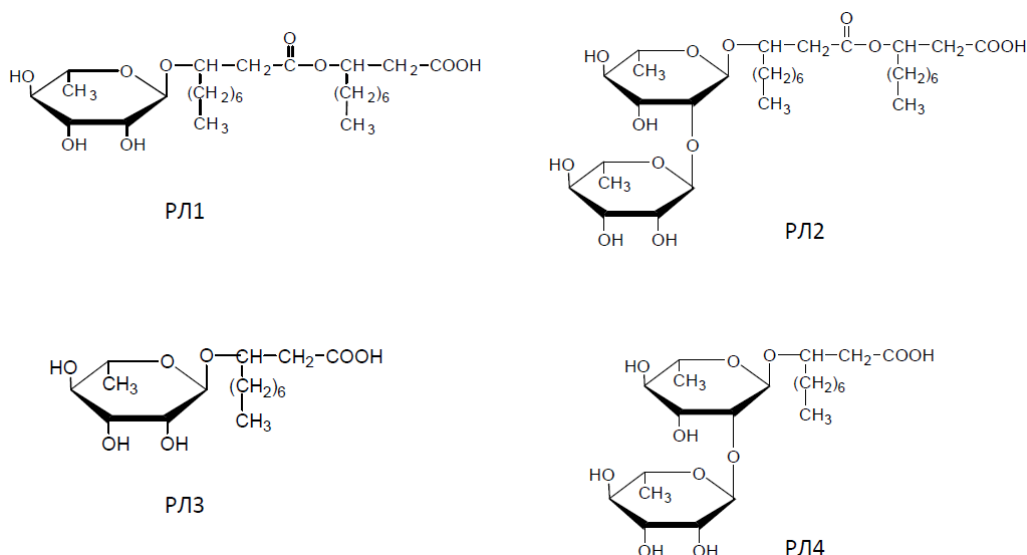


Рис. 1.1. Структурні формули найбільш поширених рамноліпідів

Рамноліпіди складаються із гідрофільної “голови” – одна або дві молекули рамнози – та гідрофобного “хвоста”, що містить один або два ланцюги жирних кислот. Така будова є визначальною щодо поверхнево-активних властивостей

рамноліпідів (емульгування жирів та вуглеводнів, змочування поверхонь, зниження поверхневого натягу, покращення проникності клітинних мембран [27-29].

Однією з найбільш важливих характеристик поверхнево-активних речовин, зокрема біогенних також, є міцелоутворення, що має вплив на цілий спектр функціональних властивостей цих сполук [30-31]. Так, у водній фазі гідрофільні частини утворюють зовнішній шар, а гідрофобні (хвіст) розташовані всередині; у гідрофобному середовищі може бути сформована "зворотна міцела": хвости – на поверхні сфери, а голови розміщені всередині. Біосурфактанти утворюють міцели за концентрації вище ККМ [32]. В залежності від розміру та йонної сили гідрофільної і гідрофобної груп міняється розмір і форма міцел. При зміні рН міцели мають різну морфологію. Цю властивість біосурфактантів можна застосовувати для доставки ліків або інших сполук, з метою їх контрольованого вивільнення. У процесі біоремедіації, вплив рН на міцели вважається важливим параметром для ефективності використання біоПАР. Здатність до піноутворення є важливою характеристикою біосурфактантів. Ще однією важливою характеристикою біосурфактантів є здатність до піноутворення. Піна виникає при розміщенні молекул поверхнево-активних речовин на границі повітря – рідина [31]. Товщина плівок у пінах, їх поверхневі електричні властивості та стійкість у рамноліпідних сумішах залежить від співвідношення монорамноліпідів до дирамноліпідів у рамноліпідній суміші, яке в свою чергу залежить від штаму та субстрату, який застосовується при культивуванні [33]. Рамноліпідні біосурфактанти здатні спричиняти значне зниження поверхневого та міжфазного натягу до значень 27,5 – 29,8 та 0,04 – 0,07 мН/м відповідно їх критичні концентрації міцелоутворення ККМ (20-80 мг/л). Значну роль відіграє також емульгувальна здатність біосурфактантів, що свідчать про їх високу поверхневу активність [34] – вони утворюють стабільні високодисперсні емульсії рослинних олій, вуглеводнів, жирів тощо [34].

Зменшити витрати на виробництво біосурфактантів можна, використовуючи недорогі субстрати, наприклад, субстрати з відновлюваних джерел, а саме: рослинні олії (кокосова і кукурудзяна [35], достатньо дешеві соняшникова,

ріпакова та соєва олії [35-36]), відпрацьовані олії (відходи смаження та рафінування олій [36]), відходи нафтової промисловості, молочнокислого, спиртового виробництв, агропромислового комплексу. Для виробництва рамноліпідних ПАР *P.aeruginosa* як джерела вуглецю й азоту застосовують патоку, кукурудзяний екстракт, відходи молочної промисловості та сирної сироватки (відходи виробництва сиру), відходи переробки оливкової, соняшnikової олії, жирних кислот [37] тощо.

Трегалозоліпіди які синтезуюється бактеріями родів *Mycobacterium*, *Arthrobacter* і *Rhodococcus*, *Gordonia*, належать до класу гліколіпідів, що містять у структурі дисахарид трегалозу, що зв'язаний естерним зв'язком із довголанцюговими жирними кислотами – α -розгалуженими- β -гідроксикислотами – міколовими кислотами [38,39]. До складу біосурфактантів бактерій *Rhodococcus erythropolis* входять трегалозо-6-монокоріноміколат, трегалозо-6,6'-диацилат (3-оксо-2-алкіл алканової кислоти) і трегалозо-6-ацилат [40, 41]. Структурні формули деяких трегалозоліпідів, які синтезують бактерії роду *Rhodococcus*, представлено:

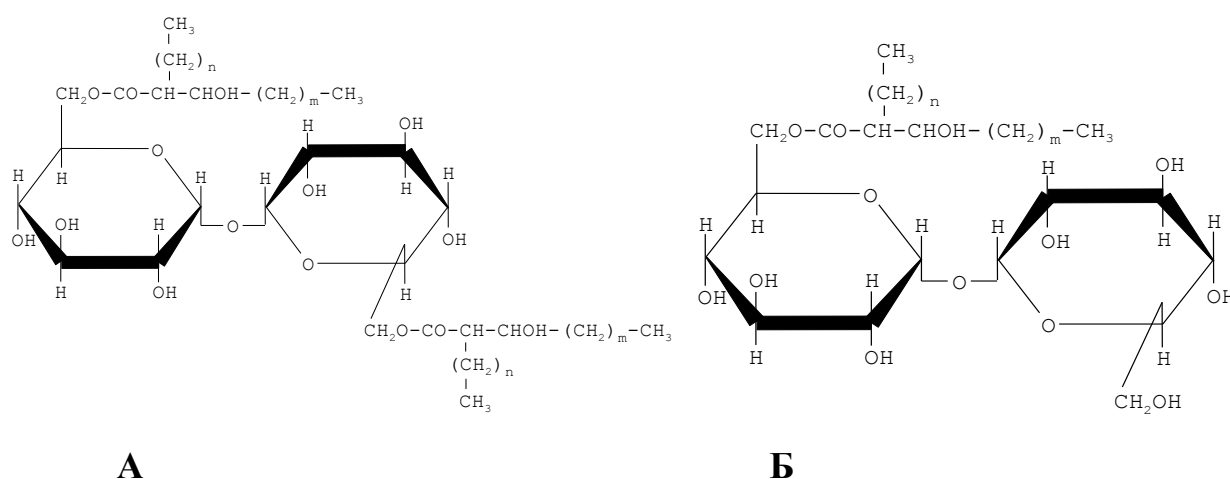


Рис. 1.2. Структурні формули деяких трегалозоліпідів, де А – 6,6'-трегалозодиміколат; Б – 6-трегалозомономіколат; $m+n=27-31$ [42]

Найбільш поширеним методом отримання ТЛ є відділення біомаси з подальшою екстракцією біосурфактантів. Методом екстракції отримують сирий екстракт трегалозоліпідних ПАР. Для застосування в галузях з вимогами високої

чистоти (медична, косметологія, фармація, тощо), отримані ТЛ очищають методом колонкової хроматографії [43].

Таким чином, біосурфактанти є перспективними екологічно безпечними речовинами для практичного застосування, зважаючи на їх унікальні поліфункціональні властивості.

1.2.2. Галузі застосування біосурфактантів

Біосурфактанти, завдяки своїм властивостям, використовуються у сільському господарстві, харчовій, фармацевтичній промисловості, при виробництві косметики та миючих засобів, нафтовій промисловості.

Біосурфактанти можуть бути використані у сільському господарстві для створення агропрепаратів, для кращого засвоєння добрив [44-45], а також для сприяння деградації важких металів і пестицидів. Також, вони можуть застосовуватись в якості носіїв для активних агентів в пестицидних, інсектицидних і гербіцидних препаратах. Перспективними препаратами у рослинництві є природні фітогормони мікробного походження через простоту їх отримання, порівняну дешевизну та високу здатність їх до детоксикації в рослинному організмі, та зв'язування в клітині і катаболізму [46].

Відомі деякі лікарські препарати мікробного походження (антибіотики, фунгіциди, гемолітичні та антимікробні речовини), які вже давно з успіхом використовуються в медичній практиці. Наприклад, антибіотик Граміцидин С, який продукується *Bacillus brevis* [47], поліпептидний антибіотик Поліміксин В продукований *Paenibacillus polymyxa*, Ліхенізін, Пумілацидин, що продукуються *Bacillus Licheniformis* і *Bacillus pumilus* відповідно. Циклоспорин – продукт життєдіяльності грибка *Tolypocladium inflatum* та Даптоміцин – природний антибіотик, виділений з *Streptomyces roseosporus*, застосовуються у лікуванні інфекційно-запальних захворювань різного генезису [48].

Натепер рамноліпіди мало застосовуються в медицині, але є реальні позитивні результати, які дають підстави розглядати їх як перспективні екологічно безпечні та ефективні лікарські засоби завдяки широкому спектру їх біологічних властивостей, а саме: антимікробної, противірусної й антиадгезивної.

Рамноліпіди були досліджені як потенційні терапевтичні засоби для лікування раку, псоріазу, як протимікробні засоби, а також як складові системи доставки ліків, що сприяло відкриттю нових напрямків для створення та дослідження нових комплексних препаратів на основі рамноліпідів [50]. Спектр потенційного промислового застосування рамноліпідів включає: стабілізацію і дестабілізацію емульсій; очистку води і ґрунтів від нафтових забруднень та створення нових мийних засобів, підвищення нафтовидобутку [48-49].

Для рамноліпідів було доведено також протимікробну дію, антифітовірусний ефект та зооспорицидну активність.

Такі властивості рамноліпідів, як стимуляція утворення іонних каналів та підвищення електропровідності в ліпідних мембранах, вплив на АТФазу, посилення імунної відповіді, дають можливість використання їх у біології для вивчення будови і функції біліпідних мембран, адаптивних механізмів та енергетичних процесів у клітинах, імунологічних реакцій, а також у лабораторній практиці при створенні гібридом.

Встановлено, що рамноліпіди впливають на культури фібробластів. Зовсім недавно для рамноліпідів було описано властивості, що нагадують ендотоксини. Рамноліпіди є ефективними при загоєнні ран та лікуванні псоріазу.

Дослідження показали, що рамноліпіди можуть діяти як протипухлинні сполуки, що перешкоджають прогресуванню деяких форм онкозахворювань [52].

Існують дані про те, що рамноліпіди можуть бути потенційними засобами для лікування захворювань ясен та регенерації пародонту, лікування виразки тощо. Є дані, що рамноліпіди були ефективними при загоєванні ран та лікуванні променевого опіку, лікуванні зморшок і ознак старіння. В нанотехнологіях рамноліпіди можуть входити у рецептуру мікроемульсій та синтезу наночастинок, а також як системи доставки ліків.

Відоме використання трегалозоліпідів як терапевтичних засобів [53]. Так, було показано, що ліпіди трегалози ефективно пригнічують диференціацію клітин лейкозу людини, їх ріст та активність. Вони також пригнічують активність фосфоліпідів і кальцій-залежної протеїнкінази С клітин HL60 та виявляють

імуномодулюючу активність [54]. Зокрема, встановлено ефективність щодо пухлинних клітин та механізм протипухлинної дії трегалозоліпідів *Rhodococcus wratislaviensis* BN38 [55]. Використання біосурфактантів у системах зворотних міцел для відновлення антибіотиків, ферментів та білків є відносно новим, але вказує на перспективність для масштабного виробництва [56].

1.3. Властивості, застосування та особливості синтезу N-вмісних гетероциклів на основі 1,4-нафтохінонів, амінопіразолів, 1,2,4-триазинів і 1,2,4-триазолів

1.3.1. Представники 1,4-нафтохінону, їх властивості та застосування

Неможливо не відзначити на сьогоднішній день особливу цінність для науки та медицини похідних 1,4-нафтохінону як природного так і синтетичного походження [57-58]. Завдяки широкому спектру біологічних активностей: протимікробної [59-62], протипухлинної [62-66], в'язучої [58,67], протизапальної [68], антиоксидантної [69], антипротозойної та протималярійної [70-72], вони знаходять своє застосування як для виробництва барвників [73-74], лікарських засобів [75-78], так і агрохімікатів та фунгіцидів [79-80].

Застосування природних нафтохінонів таких як: юглон [81-83], лаусон [84-85], плюмбагін [86-87], лапахол [83], шиконін [88-90], відоме ще у традиційній індійській медицині. Вже протягом тривалого часу вони не втрачають своєї актуальності. Так, юглон володіє антигельмінтною та протипухлинною активністю [84], плюмбагін застосовується для лікування шкірних захворювань, прокази, різноманітних висипок та володіє протипухлинною активністю [86-87]. Лапахол та шиконін володіють імуностимулюючим, протиалергічним, антибактеріальним, противірусним та протипухлинним ефектами [88-90]. Такі природні похідні 1,4-нафтохінонів як ехінохроми і спинохроми (пігменти тваринного походження), що містяться в голках морських їжаків (*Stomopneustes variolaris* і *Diademasetosum*), застосовуються в медицині як ранозагоювальні, антиоксидантні засоби, а також для запобігання розвитку катаракти [91].

Важливими представниками є похідні 2-метил-1,4-нафтохінону (вітаміни групи К): ефективні коагулянти крові, протимікробні та протигрибкові засоби, що також беруть участь у формуванні, відновленні кісток та попереджають розвиток остеопорозу. Відомо, що похідні хінонів, які були отримані з культур *Streptomyces*, *Fusarium solani* і *Fusarium monilliforme*, проявляють властивості антибіотиків [92-93].

На даний час в лікарській практиці широко застосовуються препарати на основі похідних 1,4-нафтохінону для лікування розладів функцій головного мозку (атеросклерозу, крововиливів та церебрального інфаркту) з антиоксидантною, цитолітичною та цитостатичною активностями [65,69]. Одним із яскравих представників похідних 1,4-нафтохінону є Даунорубіцин, виділений з *Streptomyces peucetius*, який застосовується для лікування гострої мієлоїдної лейкемії, а також є основою для синтезу таких сполук антрациклінового ряду як: доксорубіцин, епірубіцин, ідарубіцин та зорубіцин [93-95].

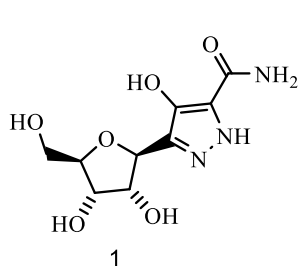
Отже, при поєднанні в одній молекулярній структурі хіноїдного і гетероциклічного фрагментів є можливість одержати нові сполуки з високою біологічною активністю. Така потреба у створенні нових за хімічною будовою, малотоксичних, високоефективних лікарських субстанцій викликана високим рівнем резистентності до відомих лікарських засобів.

На сьогодні відома велика кількість синтезованих хіноїдних сполук з аміновмісними гетероциклами. Проте, даних про піразоло-, 1,2,4-триазоло- та 1,2,4-триазиновмісні похідні 1,4-нафтохінону у науковій літературі є досить мало.

1.3.2. Амінопіразольні похідні, їх властивості та застосування

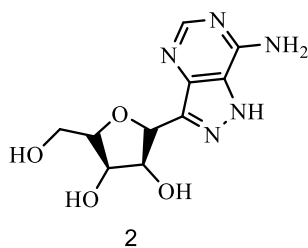
В ряді N-вмісних гетероциклів важлива роль належить сполукам піразолу, які є основою багатьох високоефективних лікарських засобів, зокрема, нестероїдних протизапальних засобів Бутадіон, Лозанолак та Целекоксіб як високоефективних інгібіторів синтезу циклооксигенази – попередника простагландинів [96-100]. Типовим представником похідних піразол-3-карбонової кислоти з широким спектром противірусної активності є Піразофурин (нуклеотидний антибіотик), отриманий із грибів *Streptomyces candidas* [101].

Окрім цього, похідні 4-амінопіразол-5-карбонових кислот є попередниками при отриманні антибіотика форміцину [96,102], фомепізолу – інгібітора алкогольдегідрогенази та селективного інгібітора 5cGMPфосфодіестерази сілденафілу (віагри) [103].



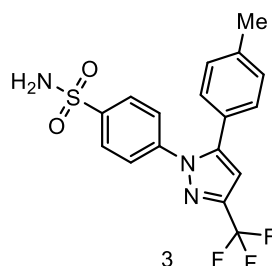
1

Піразофурин



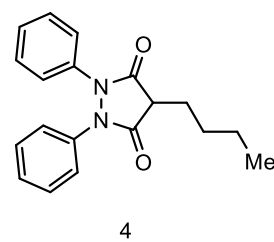
2

Форміцин



3

Целекоксіб



4

Фенілбутазон

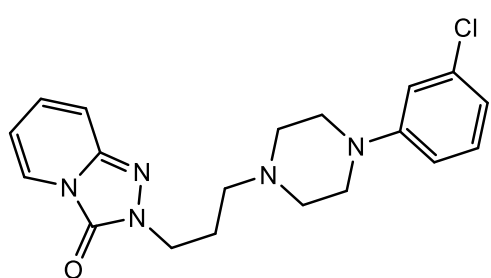
Відоме використання в агрохімії похідних піразолу як дієвих фунгіцидів: Флуксопіраксад, Біксафен, Седоксан, Ізопіразам, Боксалід тощо [96,104-105].

Багатофункціональні піразольні фрагменти є фактично ключовими об'єктами для конструювання нових біологічно активних сполук.

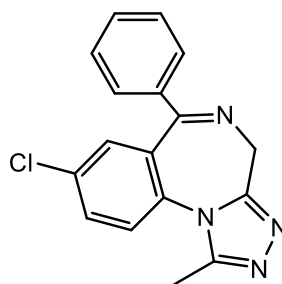
Піразольні похідні застосовуються у фармацевтичному синтезі через їх здатність вступати в реакції електрофільного заміщення. В залежності від природи реагента та умов проведення реакції електрофільне заміщення відбувається по-різному. Отже, зважаючи на вищесказане, доцільною є модифікація сполук піразолу як перспективних субстанцій для створення нових фармпрепаратів різного призначення.

1.3.3. Властивості та застосування 1,2,4-триазолів та 1,2,4-триазинів

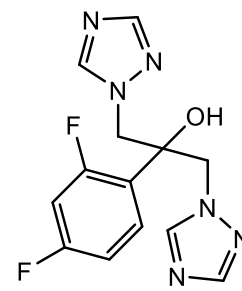
Важливе місце в сучасній медицині також займають похідні 1,2,4-триазолу, які проявляють фунгіцидну, протимікробну, протипухлинну, анксиолітичну, гіпотензивну, спазмолітичну, протівірусну дію тощо [106-109]. З огляду літератури відомо, що такі лікарські препарати як Ворозол, Летрозол і Анастрозол, які містять у своїй структурі 1,2,4-триазольне кільце, в даний час використовуються при лікуванні раку молочної залози [109-110]. Ядро 1,2,4-триазолу є структурним фрагментом дієвих лікарських препаратів з антидепресивним (анксиолітик тразодон, альпразолам(8-хлор-1-метил-6-феніл-4*H*-триазоло[4,3-*a*][1,4]бензодіазепін) [111]), гепатопротекторним (тіотриазолін) [112], протигрибковим (флуконазол, ітроканазол) [113], протівірусним (рибавірин), протираковим та ранозагоювальним ефектами [114-115]. Відомо, що похідні 1,2,4-триазолу інгібують ферменти, відповідальні за ріст пухлин, таких як ароматаза та тубулінова полімераза [115].



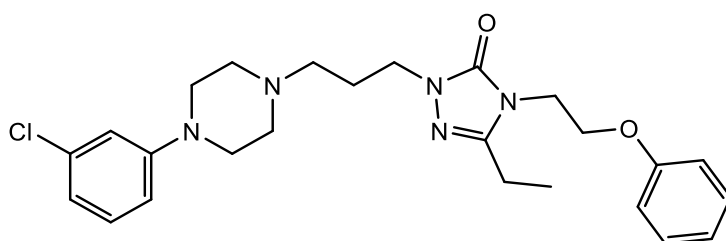
Тразодон



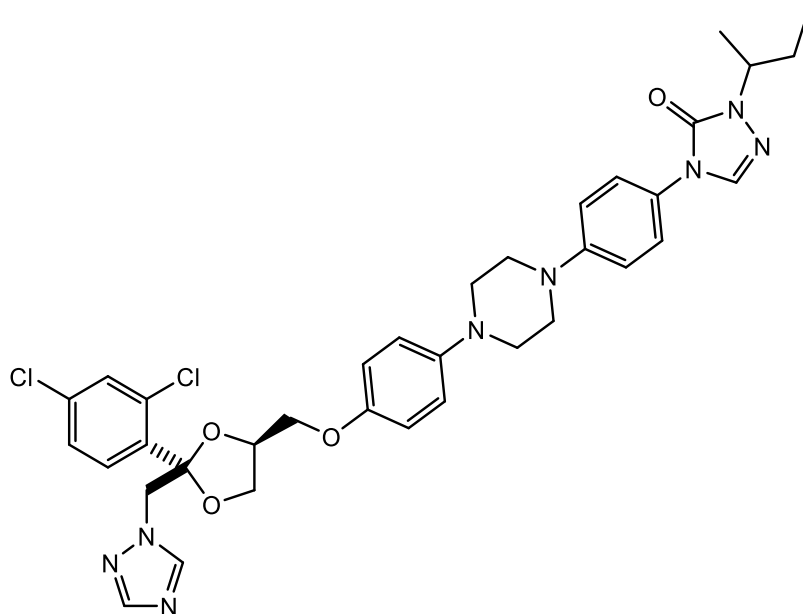
Альпразолам



Флуконазол



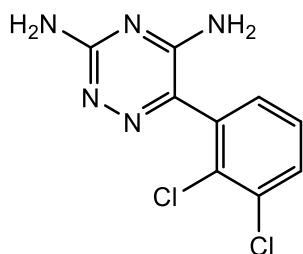
Нефазодон



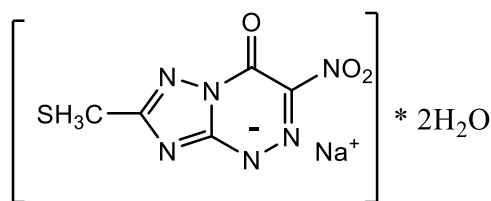
Ітроканазол

Похідні 1,2,4-триазину є недостатньо вивченими, але досить перспективними гетероциклами щодо пошуку серед них нових біологічно активних речовин. Зацікавленість похідними 1,2,4-триазину зумовлена схожістю їх будови з нуклеїновими основами, у зв'язку з чим для них характерна протівірусна, протизапальна [116-117], антиоксидантна, протипухлинна [118-119] та протисудомна дії [119-120].

Одним із ефективних протисудомних препаратів синтетичного походження є Ламотриджин, який є похідним фенілтриазину, застосовується для лікування епілепсії та психічних розладів [120-122]. Нефазодон та Тразодон є антидепресантами [123-124].



Ламотриджин



Тріазавірін

Одним із сильнодіючих протівірусних препаратів на основі триазинів є Тріазавірін. Він ефективний проти 15 видів грипу, включаючи вірус А/Н1N1(свинячого грипу) та Н5N1 (пташиного грипу) на будь-якій стадії хвороби

та використовується при лікуванні COVID-19 [125-126]. Є синтетичним аналогом пуринових нуклеозидів (гуаніну).

Відомо, що 5,6-діарил-1,2,4-триазин-3-тіоли використовуються для лікування нейродегенеративних захворювань [127].

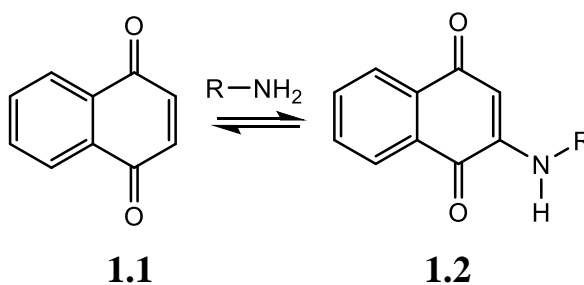
Також відоме застосування сполук ряду 1,2,4-триазину як пестицидів, фунгіцидів, інсектицидів, рістрегулюючих засобів [128-129].

У зв'язку з особливою цінністю хінонів, піразолів, 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних сполук з'являється зацікавлення дослідженнями синтезу сполук, котрі мають у своїй структурі як піразоловий, 1,2,4-триазиновий або 1,2,4-триазоловий фрагмент так і хіноїдну систему зв'язків. Зважаючи на потребу у нових ефективних, малотоксичних, протисудомних препаратах комбінованої дії, дослідження біологічної активності новосинтезованих сполук є нагальною потребою сьогодення.

1.3.4. Основні підходи одержання нових аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінонів

Як відомо, 1,4-нафтохінони є акцепторами Міхаеля, оскільки вони володіють електрофільністю α , β -ненасиченої карбонільної системи та можливістю створювати ковалентні зв'язки із нуклеофільними групами у біологічно активних молекулах. Так, 1,4-нафтохінони можуть приймати участь в реакціях арилювання з нуклеофілами в біологічних молекулах [130].

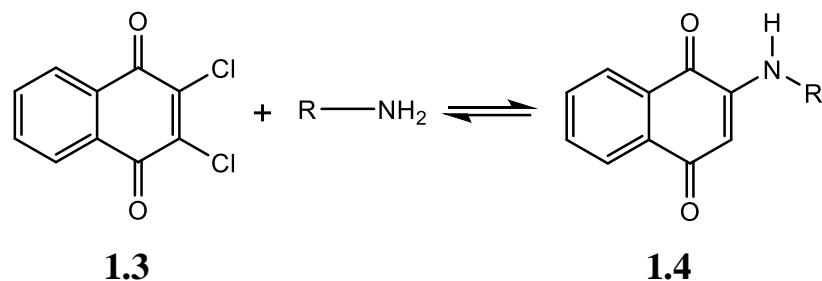
Реакція приєднання за Міхаелем між хіноїдним кільцем **1.1** та аміносполукою, із утворенням 2-аміно-1,4-нафтохінону **1.2** [131]:



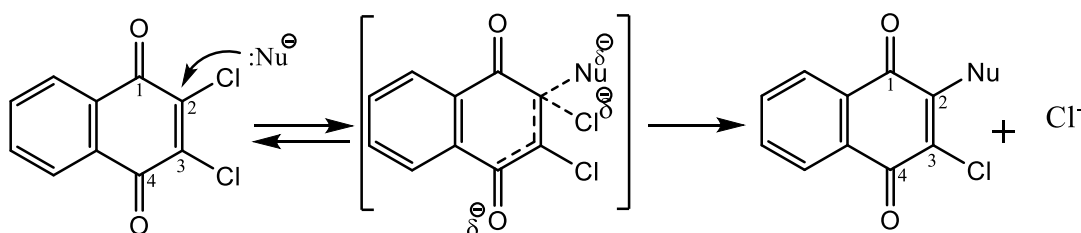
Реакції нуклеофільного заміщення та приєднання найчастіше використовуються при синтезі нових сполук 1,4-нафтохінону. Їхніми перевагами є

простота методу, проведення перетворень у так званих «зелених» розчинниках, короткий час проведення реакції з високими виходами очікуваних продуктів.

Реакція нуклеофільного заміщення між аміносполукою та галогенопохідних 1,4-нафтохінону **1.3** [132].



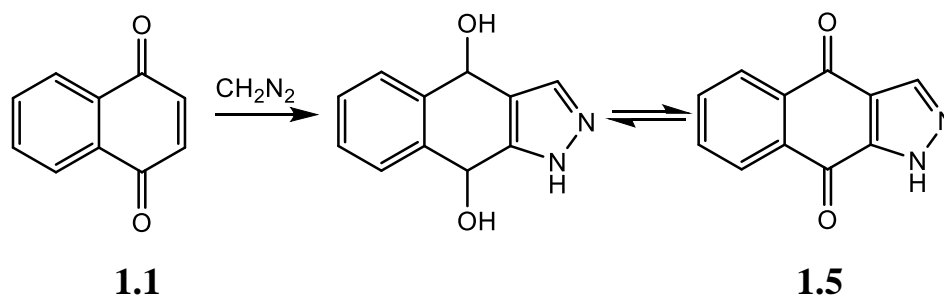
Механізм реакції заміщення в 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноні розпочинається з нуклеофільної атаки на атом C₂ або C₃, отримуючи оксианіон 2 як тетраедричний проміжний продукт або σ-комплекс [133-134]. Потім, карбонільна група регенерується і аніон хлору відщеплюється [135]. Відомо, що такі процеси приєднання/елімінації відбуваються у двоступеневому одностадійному механізмі [136]



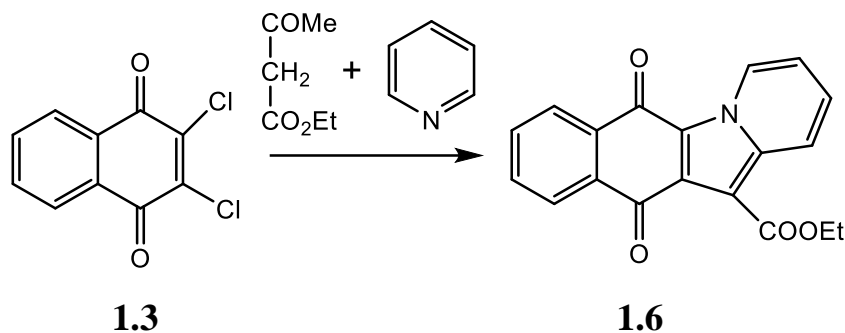
Після першого заміщення та утворення похідного 2- (заміщеного) - 3-хлор-1,4-нафтохінону, заміщення другого атома хлору може відбуватися залежно від електронного ефекту заступника в ядрі хінону. Якщо електроно-насичена група, така як амін, зв'язана з атомом C₂, реакційна здатність монозаміщеного виду знижується, і друге заміщення може відбуватися лише у випадку атаки електрононасиченого нуклеофілу [137-138].

Відомі такі основні типи реакцій циклоприєднання: 1,3-диполярне циклоприєднання, гетерореакція Дільса-Альдера, [3+2]-циклоприєднання та хелетропні реакції [139-141].

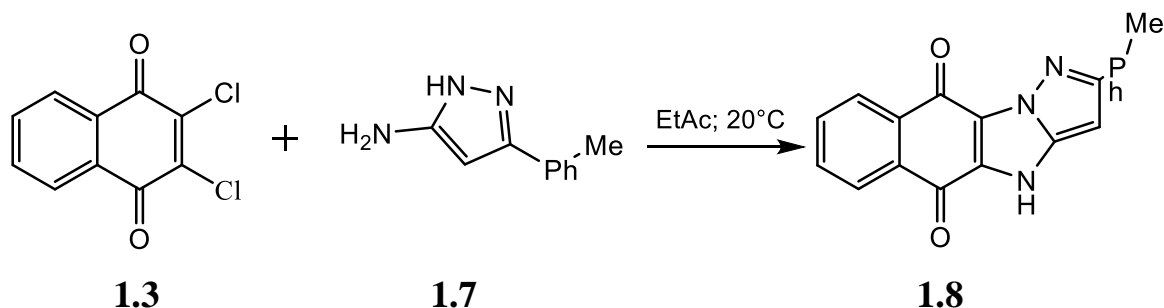
Прикладом реакції приєднання діазосполук до 1,4-нафтохінону є, взаємодія 1,4-нафтохінону **1.18** з діазометаном **1.23** здійснюється через сполуку, яка потім окиснюється до піразолонафтохінону **1.24** [142].



Реакція заміщення, яка була вперше описана Міхаелем : взаємодія 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону **1.3** з піридином, що забезпечує утворення цікавого нафтохінону **1.6** з високим виходом [139].



Єгипетські вчені Алай Хасан, Наср К. Мухаммед та ін. досліджували методи синтезу похідних амінопіразолу 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону (ДХНХ). Відповідно до процедури, описаної [132], взаємодія ДХНХ з амінопіразолом відбувалася по двох нуклеофільних центрах хінонів:



Зважаючи на стратегію спрямованого пошуку біологічно активних сполук нами було поставлено за мету одержати та дослідити біологічну активність нових похідних нафтохінону, що містять фрагменти піразолу, триазолу та триазину.

Висновки до розділу 1

Завдяки своїй біологічній активності, стійкості у широких діапазонах температури, рН, високій ефективності, біодеградабельності та низькій токсичності, біосурфактанти володіють широким спектром застосувань у галузі фармації, харчової, косметичної промисловості, сільського господарства. Вони корисні як антибактеріальні, протигрибкові та противірусні засоби, у вакцинах і є перспективними для подальших досліджень як протипухлинні препарати та для систем доставки ліків.

Біосурфактанти можуть бути використані також для одержання композиційних препаратів із удосконаленими функціональними характеристиками завдяки своїм фізико-хімічним і біологічним властивостям. Вони перспективні для агропромисловості (для стимулювання росту і захисту рослин, на заміну синтетичним). Цікаві особливості біосурфактантів сприяють широкому спектру потенційного застосування у фармації, біомедицині, косметології тощо.

Аналіз літературних даних щодо одержання композиційних препаратів біологічно активних сполук із біосурфактантами, їх властивостей, перспектив використання свідчать про їх значний потенціал для подальших досліджень – створення перспективних екологічно безпечних композиційних препаратів широкого спектру застосування у сучасних технологіях.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Отримання біологічно активних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та одержання композиційних препаратів на їх основі, а також дослідження протимікробної та антиоксидантної активності проводили на кафедрі ТБСФБ НУ «Львівська політехніка». Протисудомну та антидепресивну активність досліджували в Національному університеті «Одеська політехніка».

Структурну схему дисертаційних досліджень можна поділити на три основних етапи:

1. Підбір біосурфактантів рамноліпідів та трегалозоліпідів[143]
2. Синтез біологічно активних сполук на основі 1,4-нафтохінону, 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону і амінопіразолів, 1,2,4-триазинів та 1,2,4-триазолів. а
3. Одержання композиційних препаратів рамноліпідів з синтезованими N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону та визначення їх фізико-хімічних властивостей, біологічної активності (*in vitro* та *in vivo*).

Основні етапи досліджень, спрямованих на розроблення біотехнології композиційних препаратів на основі біосурфактантів та N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону, послідовність їх виконання представлено на схемі (рис. 2.1):

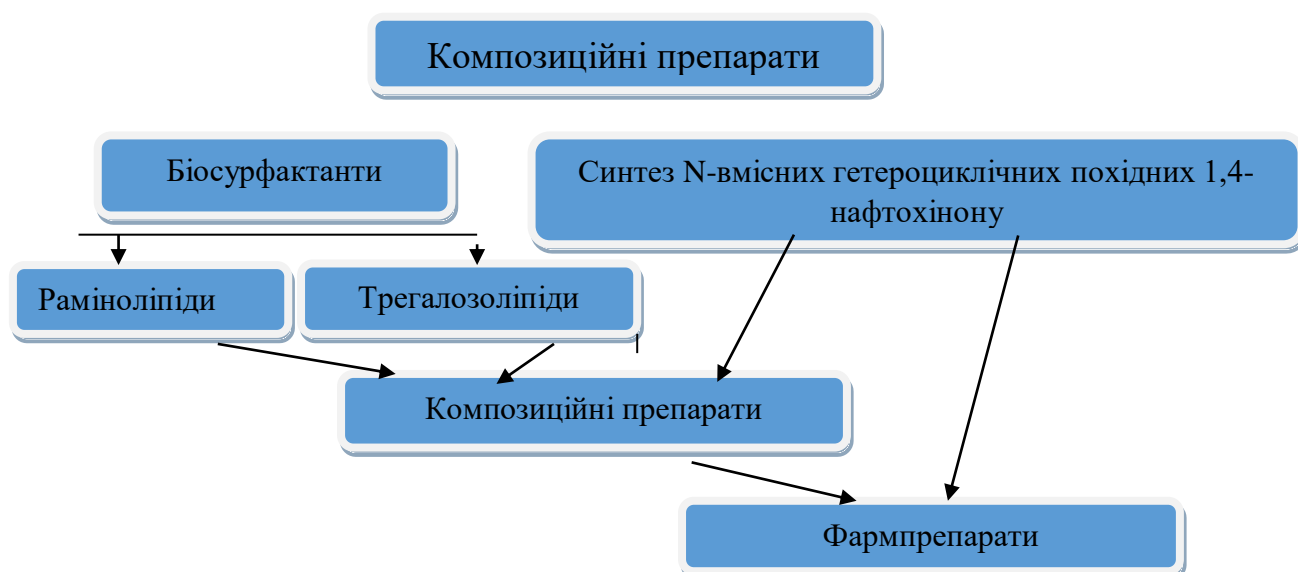


Рис.2.1. – Структурна схема виконання роботи

2.1. Біосинтез рамноліпідів. Рамноліпіди і трегалозоліпіди одержано у Відділенні фізико-хімії горючих копалин ІнФОВ ім. Л.М. Литвиненка НАН України. Використано штам *Pseudomonas* sp. PS-17 (з колекції ВФХГК); тестові мікроорганізми з колекції кафедри ТБСФБ НУ «Львівська Політехніка».

Мікроорганізми культивували у качалочних колбах на ротаційному шейкері (Electronic, Poland) при 220 об/хв, 28-30°C у поживному середовищі (г/л): NaNO₃ – 4,0; K₂HPO₄×3H₂O – 2,1; KH₂PO₄ – 1,3; MgSO₄×7H₂O – 0,5; натрій цитрат – 5,0; дистильована вода – до 1 л [143]. Джерело вуглецю ріпакова олія (20-30 г/л). Інокулят – культура (24-год) з титром клітин 5×10⁸ КУО/мл), 10% щодо середовища росту. Культивування вели за аеробних умов.

2.1.1. Опис технологічного процесу одержання ПАР штаму *Pseudomonas* sp. PS-17

Технологічний процес ґрунтується на використанні ферментера з вихровою системою аерації, який може бути сконструйований на основі реактора з нижньопривідною мішалкою [144]. Ферментер такої конструкції є особливо ефективним при малотонажному виробництві, оскільки коефіцієнт масопереносу за киснем для нього значно вищий, ніж у реакторах з барботажною аерацією. Це забезпечує зменшення витрат кисню для заданого рівня аерації, відтак знижуються й енерговитрати. Технологічна лінія виробництва може бути сконструйована на основі стандартного біотехнологічного обладнання.

Технологічний процес виробництва ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 складається із стандартних стадій (рис. 3.1.):

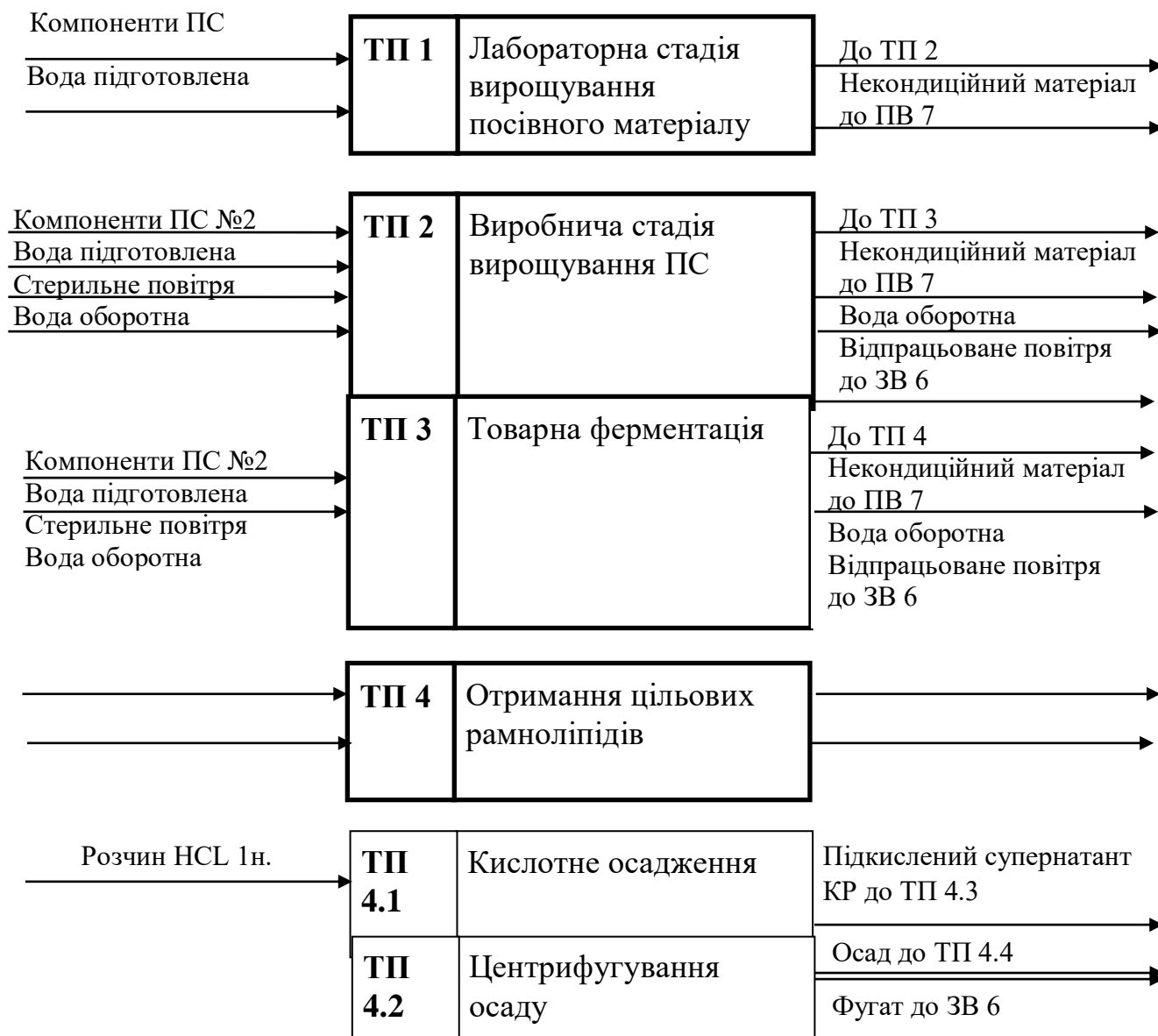
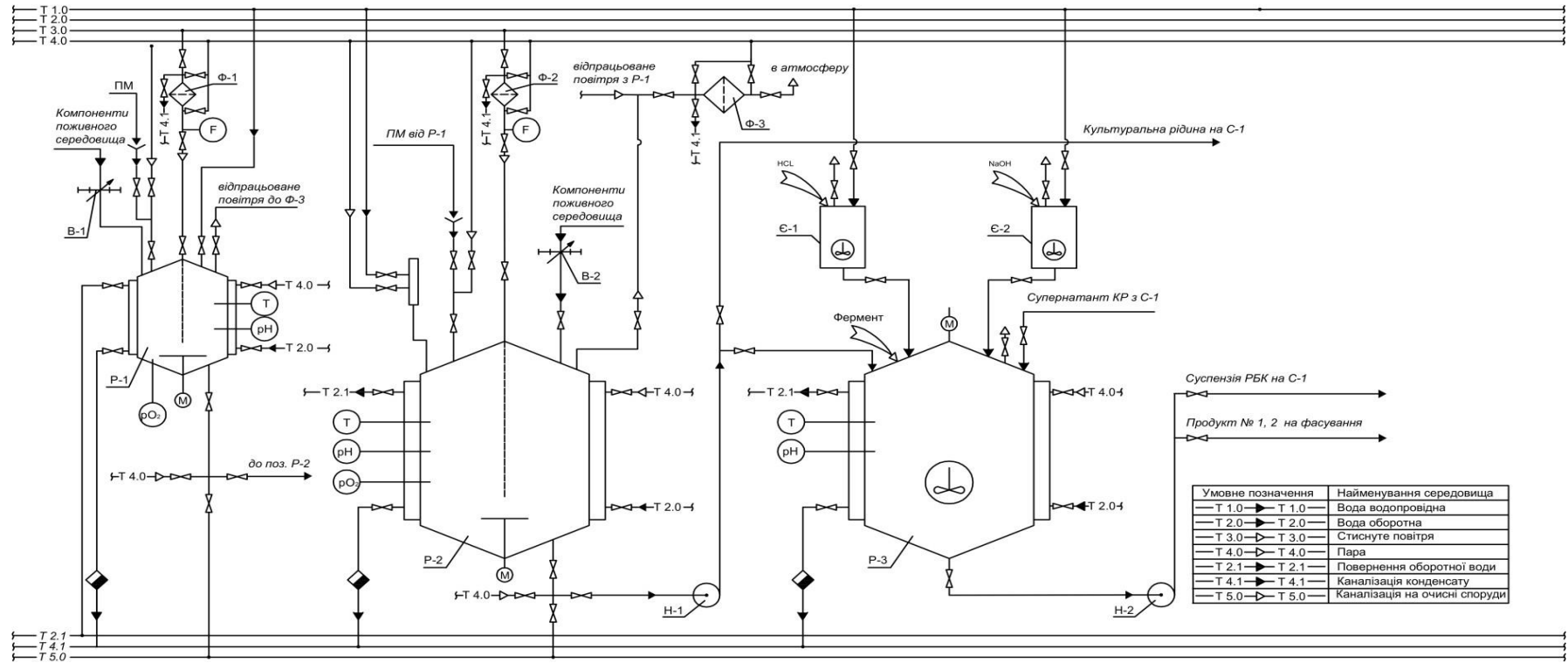


Рис. 2.2 – Технологічна схема одержання ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17

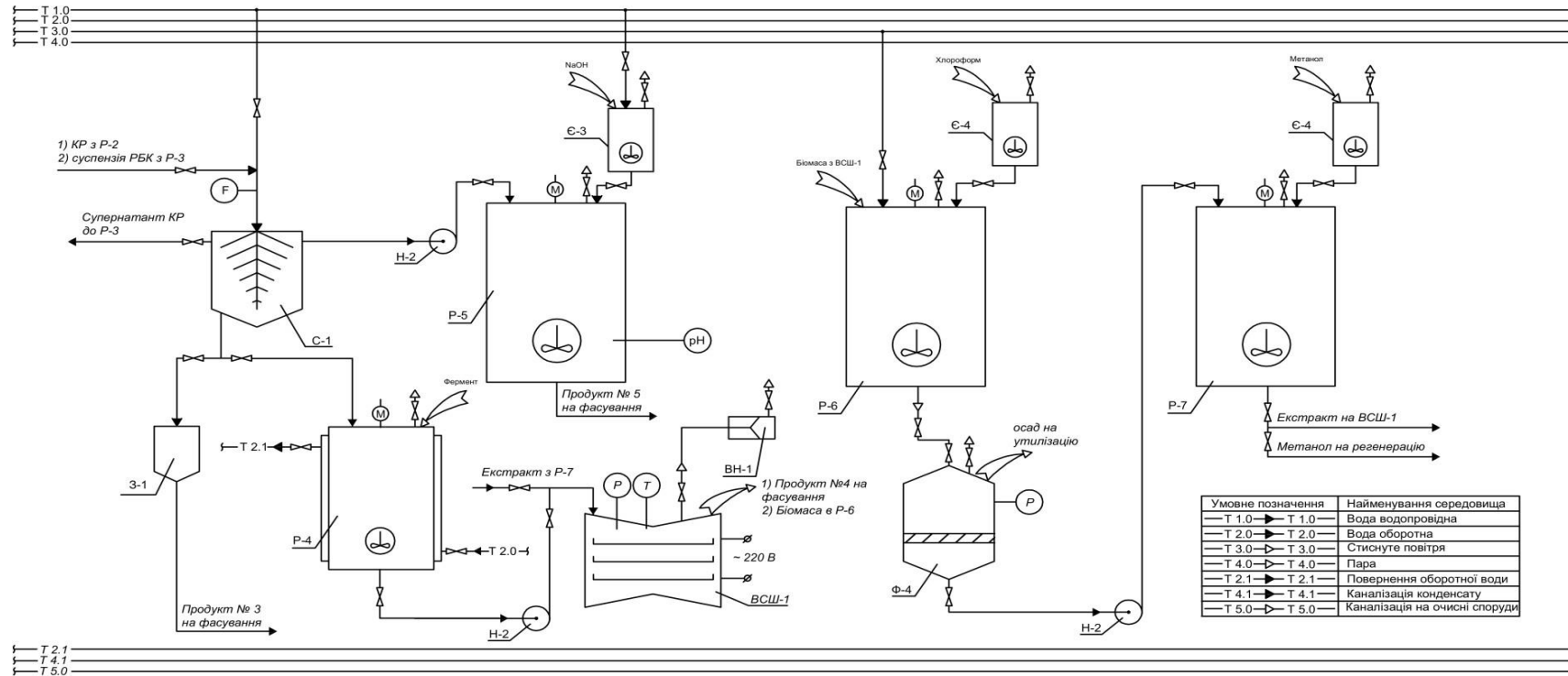
Для вирощування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у виробничому ферментері використовують поживне середовище №2 наступного складу: гліцерин – 30; натрію цитрат – 4,0; NaNO_3 – 4,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 2,0; KH_2PO_4 – 1,2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 [143].



Ф-1,2 – фільтри для стерилізації повітря; Ф-3 – фільтр відпрацьованого повітря; В-1,2 – ваги; Р-1 – інокулятор; Р-2 – виробничий ферментер; Н-1,2 – відцентрові насоси; Р-3 – реактор для прогрівання КР та супернатанту КР; С-1 – сепаратор; Є-1 – ємність для приготування розчинів; З-1,2 – збірники; Р-4 – реактор для екстракції; Ф-4 – друк-фільтр;

Рисунок 3.2 – Апаратурно-технологічна схема одержання продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17

Рис. 2.3 – Апаратурно-технологічна схема одержання ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17



Ф-1,2 – фільтри для стерилізації повітря; Ф-3 – фільтр відпрацьованого повітря; В-1,2 – ваги; Р-1 – інокулятор; Р-2 – виробничий ферментер; Н-1,2 – відцентрові насоси; Р-3 – реактор для прогрівання КР та супернатанту КР; С-1 – сепаратор; Е-1 – ємність для приготування розчинів; З-1,2 – збірники; Р-4 – реактор для екстракції; Ф-4 – друк-фільтр; Рисунок 5.3 – Апаратурно-технологічна схема одержання рамноліпідів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 (продовження)

Рис. 2.4 – Апаратурно-технологічна схема одержання ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17 (продовження)

2.2.1. Загальна методика синтезу амінопіразольних похідних нафтохінону (3.6–3.8, 3.11)

До розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону **1.3** (0,68 г, 0,3 ммоль) в етанолі (50 мл), при постійному перемішуванні, додавали розчин амінопіразолу **1.7, 3.1-3.3** (0,6 г, 0,3 ммоль) у етанолі (20 мл). Реакцію проводили при 78° С у присутності еквівалентної кількості Na₂CO₃ (0,32 г, 0,3 ммоль) при постійному перемішуванні протягом 3 год. Завершення реакції контролювали за оцінкою за допомогою аналізу ТШХ. Після охолодження реакційної суміші осад, що утворився, фільтрували, промивали кілька разів водою (30 мл) і сушили. Після цього осад суспендували в 20 мл етанолу, нагрівали до кипіння, фільтрували від домішок, фільтрат охолоджували льодом до 0 ° С, кристали, що утворилися фільтрували, сушили у вакуумі над CaCl₂ і отримували сполуки **3.6-3.8** червоного і **3.11** – помаранчевого кольорів. Вміст продуктів у реакційній суміші контролювали, оцінюючи методом LC-MS.

2.2.2. Загальна методика синтезу амінопіримідинових похідних нафтохінону (3.9–3.10)

До розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону **1.3** (0,27 г, 0,1 ммоль) у ДМФ (15 мл), при перемішуванні, додавали розчин амінопіримідину **3.4-3.5** (0,35 г, 0,1 ммоль). Реакцію проводили при 65°С у присутності еквівалентної кількості K₂CO₃ (0,14 г, 0,1 ммоль) при перемішуванні 4 год. Завершення реакції контролювали за допомогою аналізу ТШХ. Суміш охолоджувалася до температури 25°С, після чого її розводили водою (30 мл), підкислювали 5% HCl до рН 6-7, утворювався осад, який відфільтровували. Після фільтрування осад суспендували в 20 мл етанолу, нагрівали до кипіння, фільтрували від домішок, фільтрат охолоджували льодом до 0° С, кристали, що випали, фільтрували і сушили у вакуумі над CaCl₂. Вміст продуктів у реакційній суміші контролювали, оцінюючи методом LC-MS.

2.2.3. Загальна методика синтезу 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону

До розчину (1 ммоль) відповідного 1,2,4-триазин- або 1,2,4-триазоловмісного похідного **3.16-3.20** у 10 мл ДМСО при постійному перемішуванні 0,17 г (1,5 ммоль) додавали 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону **1.3** і витримували при 70 ° С при перемішуванні протягом 12 год у присутності 0,27 г (2 ммоль) K₂CO₃. Завершення реакції контролювали за допомогою ТШХ (EtOAc: ацетон 1: 1). Реакційну суміш осаджували водою (50 мл), підкислювали 5% HCl (водн.) До рН 4-5 і екстрагували 3x20 мл DCM. Об'єднані органічні шари екстрагували 3x20 мл 5% NaOH, водну фазу підкислювали 20% HCl до рН 3-4, утворений осад фільтрували, промивали водою, сушили у вакуумі над CaCl₂, перекристалізовували з EtOAc і сушили у вакуумі. Продукти - жовто-оранжеві кристалічні речовини, які є добре розчинні у органічних розчинниках та слабо розчинні у воді, які легко утворюють водорозчинні солі в лужному середовищі [145].

2.2.4. Загальна методика синтезу

2-(6-феніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів (3.14-3.15)

До розчину (0,5 ммоль) відповідного (2-(6-феніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діону **3.12, 3.13** в 10 мл льодяної ацетатної кислоти при постійному перемішуванні додали **3.12, 3.13** 0,16 г (1 ммоль) 1,4-нафтохінону, витримували при температурі 25° С протягом 8 годин. Завершення реакції відстежували за допомогою ТШХ-аналізу. Кількісний склад продукту у реакційній суміші аналізували, використовуючи метод LC-MS. Реакційну суміш висаджували водою (30 мл), фільтрували, промивали водою та сушили отриманий осад. Після цього осад суспендували в 20 мл бутилацетату, нагрівали до кипіння, фільтрували від домішок, фільтрат охолоджували до кімнатної температури, осаджені кристали фільтрували, висушували у вакуумі при 80°С. Отримали кристали оранжевого (сполука **3.14**) і жовтого (**3.15**) кольорів [145]

2.2.5. Загальна методика синтезу 2-[2-(3-арил-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів 3.31-3.37)

До 0,5 ммоль відповідного 2-(3-арил-1H-1,2,4-триазол-5-іл)аніліну (**3.16-3.20, 3.29-3.30**) в 10 мл льодяної ацетатної кислоти при постійному перемішуванні за кімнатної температури додали 0,16 г (1 ммоль) 1,4-нафтохінону, витримували протягом 12 годин. Завершення реакції відстежували за допомогою ТШХ-аналізу. Кількісний склад реакційної суміші аналізували, використовуючи метод LC-MS. Реакційну суміш висаджували водою (30 мл), фільтрували, промивали водою та сушили отриманий осад. Після цього осад суспендували в 25 мл бутилацетату, нагрівали до кипіння, фільтрували від домішок, фільтрат охолоджували до кімнатної температури, осаджені кристали фільтрували, висушували у вакуумі при 80°C [167].

2.3. Приготування композиційного препарату на основі рамноліпідів і трегалозоліпідів з N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону

Для приготування композицій рамноліпідів (РЛ) з відповідним гетероциклічним аміновмісним похідним 1,4-нафтохінону брали 0,01 г гетероциклічного аміновмісного похідного 1,4-нафтохінону **3.6-3.8, 3.11, 3.26, 3.34** розчиняли у 1 мл диметилсульфоксиду (ДМСО). Окремо готували розчин рамноліпідів: 0,01 г РЛ розчиняли в 48,88 мл дистильованої води за рН 7, температури 20°-25°C при постійному перемішуванні та контролі рН, невеликими порціями додавали розчин відповідного аміновмісного похідного нафтохінону. Отримали стабільні за кімнатної температури комплекси [146].

Для приготування композицій трегалозоліпідних поверхнево-активних речовин (ТЛ) з відповідним N-вмісним гетероциклічним похідним 1,4-нафтохінону [146] з брали еквімолярні кількості (по 0,005 г) відповідного гетероциклічного аміновмісного похідного нафтохінону **3.6-3.8, 3.11, 3.26, 3.34** та ТЛ, розтирали в ступці до однорідної маси, додавали 1 мл етанолу (C₂H₅OH) та 50 мл дистильованої води при постійному перемішуванні. Отриману суміш ставили

на ультразвукову баню на 15-20 хв. Отримали стабільні за кімнатної температури комплекси.

2.4. Хімічні аналізи

2.4.1. Хроматографія

Тонкошарова хроматографія

Хроматографування проводили на пластинках „Silufol UV-254”, як елюент для ідентифікації амінопіразольних, амінопіримідинових та 1,2,4-триазинових, 1,2,4-триазольних похідних 1,4-нафтохінону та використовували систему гексан-ацетон (3:2) та візуалізували у йодній камері протягом 5 хв.

Ідентифікацію 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону методом ТШХ проводили у системі розчинників EtOAc: ацетон 1: 1, візуалізували у йодній камері протягом 5 хв.

Колонкова хроматографія

Для колонкової хроматографії використовували силікагель Merck розмір частинок 0,040–0,063 мм, середній розмір пор 6 ± 1 нм та питомою поверхнею 500 ± 50 м²/г.

Температуру плавлення визначали на апараті Büchi для капілярного визначення точки плавлення. Під час визначення температури плавлення сполук поправка на виступаючий стовпчик ртуті не проводилася.

2.4.2. Спектральні методи аналізу

Інфрачервона спектроскопія

ІЧ-спектри реєстрували на інтерференційному Фур'є-спектрофотометрі “Thermo scientific Nicolet iZ10”, з використанням алмазних віконць, з діапазоном спектра 4000–525 см⁻¹ за таких умов:

- діапазон хвильових чисел від 4000 см⁻¹ до 525 см⁻¹;
- роздільна здатність 4 см⁻¹;
- відстань між сусідніми точками вимірювання 1 см⁻¹;
- підсилення 8;
- число сканів – 32.

З допомогою програмного забезпечення спектрофотометра «Thermo scientific Nicolet iZ10» проводилась обробка та ідентифікація спектрограми.

Ядерний магнітний резонанс

ЯМР-спектри були записані за допомогою спектрометра Bruker Advance 400 NMR (Bruker Biospin Corporation, США), що працює на частоті 100 МГц при температурі 25°C шляхом розчинення полімерного зразка в дейтерованому хлороформі (CDCl₃) за концентрації 25 мг/дм³, використовуючи тетраметилсилан ((CH₃)₄Si) як внутрішній стандарт. Спектри ¹H ЯМР (400 MHz) записані на спектрометрі “Varian-Mercury 400” (DMSO-d₆, хімічні зсуви ¹H виражені у δ-шкалі щодо внутрішнього стандарту – ТМС, а інтегральні інтенсивності відповідають зробленим віднесенням).

Ультрафіолетова спектроскопія

УФ-спектри реєстрували на спектрофотометрі ULAB 108UV у стандартних к'юветах.

Хроматомас-спектроскопія. Хроматомаспектри реєстрували на приладі “Agilent 1100 LC/MSD” з мобільною фазою: А-Н₂О+0.1%НСООН; В-МеСН+0.1%НСООН. Роздільна колона: Rapid Resolution HT Cartige 4.6x30mm, MassQuad G1956B (MSD1-Pos, MSD2-Neg) 1.8-Micron, Zorbax SB C-18.

2.5. Фізико-хімічні методи

2.5.1. Поверхневий натяг композицій вимірювали методом, що базується на визначенні максимального тиску в бульбашці на приладі ППНЛ-1 [147]. Вимірювання поверхневого натягу здійснювали наступним способом: готували водні розчини гетероциклічних аміновмісних похідних нафтохінону, попередньо розчинених у 1 мл ДМСО, в діапазоні концентрацій 10⁻⁴ – 10⁻² г/мл та витримували їх 24 години за кімнатної температури. Значення максимального тиску в середині бульбашки фіксували в часовій точці 5±1 с від утворення бульбашки [147]. Значення граничної адсорбції A_∞ (моль/м²) та площі, що припадає на одну молекулу в насиченому адсорбційному шарі (S_∞, Å²) розраховували за формулами:

$$a = R \cdot T \cdot \tilde{A}_\infty$$

$$S_\infty = \frac{1}{\tilde{A}_\infty \cdot N_A}$$

де R – універсальна газова стала; $R = 8,31$ Дж/(моль·К); T – температура розчину, К; N_A – стала Авогадро ($N_A = 6,022 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹).

2.5.2. Вимірювання гідродинамічних розмірів міцелярних структур проводили методом динамічного світлорозсіювання на приладі DynaProNanoStar (Wyatt Technology, USA) з використання технології неінвазивного зворотного світлорозсіювання при температурі 298К. Було виміряно розміри міцелярних структур утворених амфифільними полімерами у водному середовищі. Концентрація зразків змінювалась в діапазоні 0,5 – 50 мг/мл. Для кожного зразка робились паралельно 3 виміри.

2.5.3. Елементний аналіз проводився на стандартній апаратурі для мікроаналізу.

2.6. Біологічні методи

2.6.1. Дослідження на експериментальних тваринах

Дослідження проводились на білих безпородних мишах вагою 18-22 г та білих щурах лінії Вістар, вагою 150-180 г [148]. Експериментальні тварини отримані з віварію Одеського національного медичного університету, утримувалися в умовах вільного доступу до їжі та води при 12-годинному світловому режимі. Експерименти на тваринах проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях» (Страсбург, Франція, 1986) [148].

2.6.2. Визначення порогу чутливості до коразолу

Протисудомний ефект похідних 1,4-нафтохінону та композицій на основі сполук-лідерів та біосурфактантів оцінювався методом визначення мінімальних ефективних доз коразолу (пентилентетразолу), що викликають клоніко-тонічні судоми (ДКТС) і тонічну екстензію (ДТЕ) у експериментальних тварин при внутрішньовенній інфузії. Так як обидва ефекти є оборотними та концентраційно-залежними, вони коректно показують вміст речовини, що потрапляє в організм [149].

Групам тварин (5 особин у кожній групі) перорально вводили водний розчин синтезованих сполук у твіновій емульсії у дозі 100 мг/кг. Група контрольних тварин отримувала еквівалентний об'єм твінової емульсії, яка не містила досліджувані сполуки. Через 3 та 24 год після введення оцінювали протисудомну активність речовин, шляхом введення судомного агенту (коразолу) тваринам у вигляді 1%-ого водного розчину внутрішньовенно (у хвостову вену) із швидкістю 0,01 мл/сек [149]. Вальпроєва кислота (VPA, 400 мг/кг перорально) застосовувалась як препарат порівняння. Мінімальні ефективні дози (МЕД) судомного агенту, що викликають клоніко-тонічні судоми (ДКТС) та тонічну екстензію (ДТЕ), визначали за формулою:

$$\text{МЕД (\%)} = \frac{V}{m} \times 10^4,2$$

де МЕД – мінімальна ефективна доза коразолу, що викликає КТС чи ТЕ; V – об'єм розчину коразолу, мл; m – маса тварини, г [149].

2.6.3. Визначення антидепресивної активності N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композиційних препаратів з біосурфактантами

Для визначення антидепресивної активності досліджуваних сполук та композицій на основі сполук-лідерів та біосурфактантів застосовували тест на примусове плавання (FST) згідно процедури [150]. Мишей індивідуально поміщали у скляний резервуар, наповнений водою (24 ± 3 °C) і визначали загальну тривалість їх нерухомості протягом 5 хвилин. Tween 80/водна емульсія

була використана як контроль (100 мг/кг), амітриптилін (20 мг/кг, пероорально) застосовували як препарат порівняння.

2.6.4. Дослідження гострої токсичності сполук

Дослідження гострої токсичності синтезованих сполук проводили на білих безпородних мишах обох статей вагою 18-22 г [151]. Середньолетальні дози ЛД₅₀ визначали після одноразового перорального чи внутрішньовенного введення речовин у вигляді тонкодисперсної водної емульсії, стабілізованої твіном-80. Група контрольних тварин отримувала еквівалентний об'єм твінової емульсії, яка не містила досліджувані сполуки. Оцінку результатів проводили через 24 години після введення сполук, кожна група містила 10 експериментальних тварин. Клас токсичності сполук в умовах перорального введення визначали відповідно до класифікації [150]. Визначення класу токсичності сполук при внутрішньовенному введенні проводили відповідно до класифікації К.К. Сидорова [152].

2.6.5. Визначення протимікробної активності

Протимікробну активність визначали на кафедрі технології біоактивних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» сумісно з групою доцента кафедри Комаровської О.З.

Дослідження проводили на тест-культурах бактерій: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* та грибів: *Candida tenuis*, *Aspergillus niger* [153].

Метод 1. Визначення протимікробної активності методом дифузії речовини в агар

Протимікробну активність вивчали шляхом дифузії в агар на твердому поживному середовищі (м'ясопептонний агар для бактерій, сусло-агар для грибів). Для всіх досліджених мікроорганізмів використовувалися чашки Петрі, що містять 20 мл живильного середовища. Тривалість інкубації бактерій становила 24 год при 35°C і інкубації грибів 48-72 год при 28-30°C [154]. Протимікробний ефект та ступінь активності досліджуваних речовин оцінювали

шляхом вимірювання діаметрів зон пригнічення росту мікроорганізмів. Кожен експеримент повторювали тричі.

Метод 2. Визначення протимікробної активності методом серійних розведень

Визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) або мінімальної інгібувальної концентрації (МІК) проводили таким чином: досліджувану речовину розчиняли у ДМСО для досягнення необхідної концентрації. Далі певний об'єм розчину речовини вносили у поживне середовище (м'ясо-пептонний бульон для бактерій та неохмелене пивне сусло для грибів). У поживне середовище інокулювали посівний матеріал бактерій і грибів (мікробне навантаження 10^6 клітин (спор)/1 мл). Засіяні пробірки витримували в термостаті при відповідній температурі (37°C для бактерій; 30°C для грибів) протягом 24-72 год. Оцінювання результатів проводили за ступенем мутності поживного середовища.

2.6.6. Визначення антиоксидантної активності

Антиоксидантну активність композицій та сполук-лідерів, синтезованих N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4- нафтохінону у дослідах *in vitro* визначали згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України з використанням методу неферментативного ініціювання ПОЛ на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» спільно з доцентом кафедри Яремкевич О.С. Так, було встановлено АОА сполук та визначено напрямки їх практичного застосування.

Метод 1. Метод, заснований на взаємодії досліджуваної сполуки зі стабільним хромоген-радикалом 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилом (ДФПГ) [155]. ДФПГ є органічна структура темного кольору, котра складається з стабільних вільно-радикальних молекул [156]. Реакція радикала ДФПГ з антирадикальною сполукою – це так звана модель взаємодії антиоксиданта із нестабільними радикалами, котрі зумовлюють перекисне окислення ліпідів, через те, що ці реакції засновані на відриві найбільш рухомого атома водню від молекули донора та його переносі на радикал [157].

Антиоксидантну активність досліджували *in vitro*, визначаючи зміну концентрації вільного радикалу методом поглинання радикалу ДФПГ з початковою концентрацією його у розчині $1,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Етанольні розчини досліджуваних сполук готували в концентрації $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Для проведення реакції змішували 2,7 мл розчину ДФПГ вихідної концентрації та 0,3 мл розчину досліджуваної сполуки при кімнатній температурі протягом 30 хв. Потім вимірювали оптичну густину при 517 нм на фотоколориметрі ULAB 108UV. Вимірювання проводили тричі з незалежними аліквотами [158-159].

Як контроль змішували 2,7 мл розчину ДФПГ та 0,3 мл етанолу. Іонол брали як стандарт ($C=1 \cdot 10^{-3}$ моль/л) [159]. Радикал-поглинальну активність обчислювали за формулою:

$$RPA = \frac{A_{ДФПГ} - A_s}{A_{ДФПГ}} \times 100\%$$

Метод 2. Так як розчини досліджуваних сполук були забарвленими, то для визначення зміни оптичної густини зразка порівняльну кювету УФ-спектрофотометра заповняли метанольним розчином досліджуваної сполуки (0,5 мл розчину речовини концентрацією 10^{-4} М/л + 1,5 мл етанолу).

Для досліджень впливу комплексів та N-вмісних похідних 1,4-нафтохінону на процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та окисної модифікації білків (ОМБ) брали їх спиртові розчини (етанол : вода, 1:3) у концентрації 10^{-6} М [160] та гомогенат печінки щура. Вміст ТБК-активних продуктів визначали у зразках реакцією малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Гомогенат суспендували у калій-фосфатному буфері у співвідношенні 1:10 (маса: об'єм). Обидва показники визначали в одній пробі. Кількість білка у пробах визначали за методом Лоурі [161]. Як контроль було використано розчин ДМСО. Результати обробляли статистично [162].

Для визначення вмісту КГ білків до одержаних осадів, після центрифугування гомогенатів, додавали 1 мл 1% розчину 2,4-динітрофенілгідразину на 2 М НСІ. Суміш розтирали і інкубували 1 год при кімнатній температурі, після чого центрифугували (10 хв, 5000 g). Осад тричі промивали 1 мл суміші етанолу та етилацетату (1:1) і

центрифугували в попередньому режимі. Промитий осад розчиняли протягом 45 хв в 3 мл 50 % розчині сечовини. Нерозчинений матеріал відділяли центрифугуванням у попередньому режимі. Вміст КГ білків визначали на спектрофотометрі ULAB 108UV при довжині хвилі $\lambda = 370$ нм.

2.6.7. Статистичний аналіз

Повторність всіх мікробіологічних досліджень 3-х кратна. Статистичний аналіз достовірності експериментальних даних проводили методами варіаційної статистики (Лакин, 1990), програму Excel, для прогнозування біологічної активності – комп'ютерну програму PASS та GUSAR для прогнозування токсичності сполук. За необхідності отримані експериментальні результати перевіряли на наявність відхилень, використовуючи критерій Стьюдента.

Висновки до розділу 2

Отже, у Розділі 2 описані об'єкти досліджень, а також методи, методики проведення експериментів, використані матеріали та обладнання, котрі були спрямовані на вирішення мети і завдань, поставлених у дисертаційній роботі.

РОЗДІЛ 3. СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РАМНОЛІПІДІВ, N-ВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ 1,4- НАФТОХІНОНУ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ

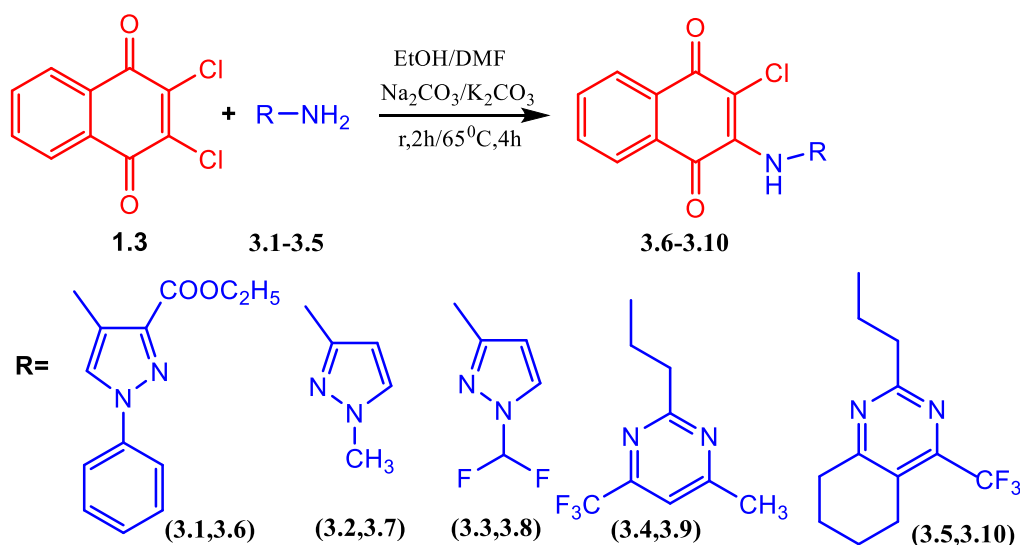
3.1. Синтез похідних амінопіразольних та амінопіримідинових похідних 1,4-нафтохінону

Другим етапом дисертаційної роботи є синтез біологічно активних хімічних субстанцій.

Відомо, що 1,4-нафтохінони проявляють широкий спектр біологічної активності. Також загальновідомим фактом є те, що амінопіразоли є основою багатьох високоефективних лікарських засобів. Натепер інформація про одержання похідних 1,4-нафтохінону з фрагментами амінопіразолу або амінопіримідину є обмеженою. Тому синтез сполук, які містять фрагменти нафтохінону з амінопіразолом і амінопіримідином, представляє інтерес на сьогодні.

Для одержання нових сполук обрано такі амінопіразольні й амінопіримідинові похідні як етил-4-аміно-1-феніл-1*H*-піразол-3-карбоксилат (**3.1**), 1-метил-1*H*-піразол-4-амін (**3.2**), 1-(дифторметил)-1*H*-піразол-3-амін (**3.3**), 2-(4-метил-6-(трифторметил)піримідин-2-іл)етан-1-амін (**3.4**) та 2-(4-(трифторметил)-5,6,7,8-тетрагідрохіназолін-2-іл)етан-1-амін (**3.5**).

Реакцією нуклеофільного заміщення, за методикою [163] отримано похідні 1,4-нафтохінону. Для оптимізації умов реакції взаємодію дихлоронафтохінону з амінопіразольними і амінопіримідиновими похідними проводили з використанням різних розчинників: етилацетату, етанолу, ацетону, ДМСО та ДМФА та в якості основи Na_2CO_3 або K_2CO_3 , з нагріванням або за кімнатної температури (Схема 3.1). Виявлено, що оптимальними умовами для амінопіразольних похідних є застосування етанолу і основи Na_2CO_3 , а ДМФА і K_2CO_3 для амінопіримідинових.



Змішуванням еквімолярних кількостей 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з гетероциклічними амінами (**3.1-3.5**) в етанолі з подальшим перемішуванням із зворотним холодильником 2 год за присутності Na_2CO_3 або з ДМФА в якості розчинника і K_2CO_3 при постійному перемішуванні при 65°C протягом 4 год [164]. Були одержані гетероциклічні N-похідні нафтохінону (**3.6-3.10**) з виходами 42–78% у вигляді осадів червоного або помаранчевого кольору. Структури сполук (**3.6-3.10**) було підтверджено спектральними та аналітичними даними (Додаток Б, Табл. Б1, Б2). Спектри FTIR мали піки поглинання при $3200\text{--}3659\text{ cm}^{-1}$ (NH), $1652\text{--}1712\text{ cm}^{-1}$ (C = O), $2895\text{--}2980\text{ cm}^{-1}$ (аліфатичний), $717\text{--}720\text{ cm}^{-1}$ (C-Cl) та $1059\text{--}1144\text{ cm}^{-1}$ (C-F). ^1H -ЯМР-спектри нафтохінону **3.6-3.10** містять резонансні сигнали, описано їх хімічний зсув, інтеграція та множинність, які узгоджуються з молекулярними формулами (Додаток Б, Рис. Б5) [164].

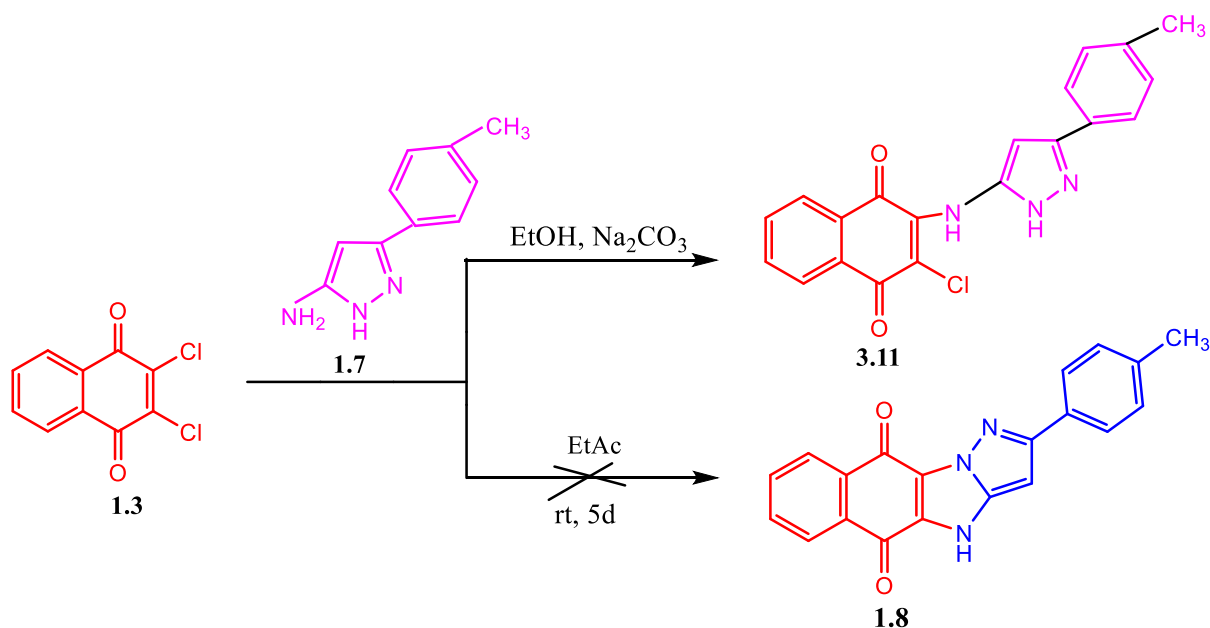
3.2. Синтез хінонів з біноклеофілами

3.2.1. Синтез амінопіразоло-, 1,2,4-триазино- і 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (3.11, 3.14-3.25)

Для одержання амінопіразоло-, 1,2,4-триазино- і 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону **1.3** як біноклеофіли обрано: 3-(*p*-толіл)-1*H*-піразол-5-амін (**1.7**), 3-(2-амінофеніл)-6-(4-фторфеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-он

(**3.12**), 3-(2-амінофеніл)-6-(4-ізопропілфеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-он (**3.13**), 2-(3-(4-(трифторметил)феніл)-1*H*-1,2,4-триазол-5-іл)анілін (**3.16**), 2-(3-(3-фторфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол-5-іл)анілін (**3.17**), 2-(3-(2-хлорофеніл)-1*H*-1,2,4-триазол-5-іл)анілін (**3.18**) та 2-(3-(2-бромфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол-5-іл)анілін (**3.19**) та 2-(3-(3-бромфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол-5-іл)анілін (**3.20**). Взаємодію проводили за методикою, описаною Хассаном і співав. [165] згідно якої очікувалось одержання продукту заміщення за двома атомами хлору.

Схема 3.2

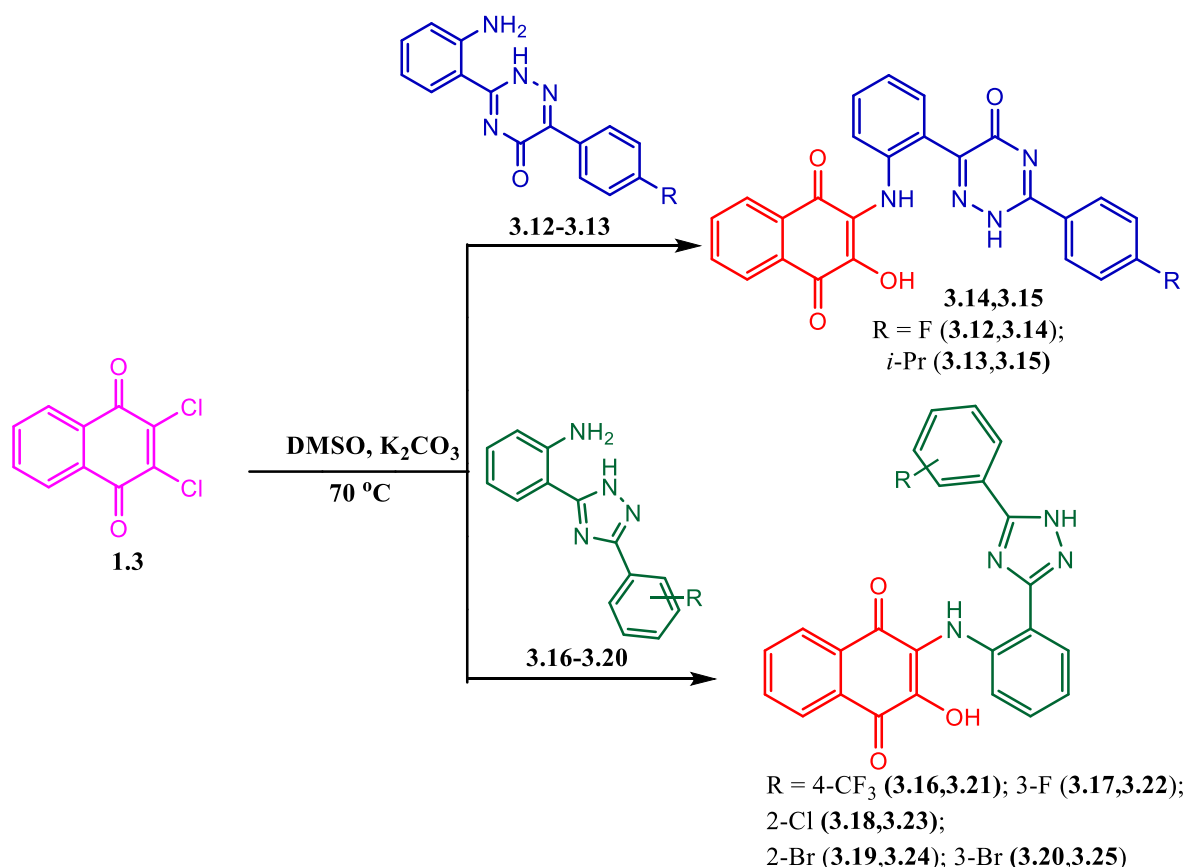


Реакцією нуклеофільного заміщення отримано 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діон **3.11**. Структура сполуки підтверджена мас-спектрами та елементним аналізом (Додаток Б).

Проте, за проведення реакції в ацетонітрилі за температури кипіння (основа – калій карбонат) конверсія вихідних реагентів дуже низька. Лише в жорстких умовах (120 °С, мікрохвильове опромінення, основа – калій карбонат) на мас-спектрі зареєстровано іон, що відповідає заміщенню одного атому хлору 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (**1.3**) аміногрупою гетероциклів (**3.12-3.13**, **3.16-3.20**). Паралельно спостерігались побічні реакції, зокрема розклад вихідних гетероциклів, тому одержати продукт заміщення з препаративним виходом не вдалось. Натомість у сильно полярних апротонних розчинниках (ДМФА, ДМСО), у присутності калій карбонату реакція відбувається у м'якших умовах, з

препаративним виходом виділено речовини, молекулярні маси яких відповідають очікуваним продуктам циклоконденсації, а на ^1H -ЯМР спектрах яких відсутні сигнали протонів NH-груп. Однак детальний аналіз ізотопного розщеплення сигналів мас-спектрів продуктів та результати ^{13}C -ЯМР спектроскопії та елементного аналізу показали, що реакція відбувається з паралельним гідролізом другого атому хлору з утворенням продуктів (**3.14-3.15**, **3.21-3.25**), продукту заміщення одного атому хлору, так само як і продукту циклоконденсації не було виявлено взагалі. Найкращі виходи одержано за 1,5 кратного надлишку нафтохінону, двократного надлишку калій карбонату, зта використання ДМСО (схема 3.2). У ДМФА спостерігається утворення побічного продукту заміщення атому хлору 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону **1.3** диметиламіном [145]. Наявність у молекулах продуктів (**3.12-3.13**, **3.16-3.20**) солетворних груп OH і NH дозволяє виділяти їх з реакційної маси кислотно-основною екстракцією.

На ^1H -ЯМР спектрах **3.14-3.15**, **3.21-3.25** спостерігаються сигнали двох ABCD систем, що відповідають хіноїдному та аніліновому фрагменту, а також сигнали протонів відповідного ароматичного замісника, однак відсутні сигнали, що відповідають протонам OH та NH групам. Це можна пояснити рухливістю їх атомів гідрогену та здатністю утворювати водневі зв'язки, на що вказує сильне зміщення сигналу води. Останнє підтверджується також результатами ІЧ-спектроскопії – значне уширення сигналів валентних коливань OH та NH. В ІЧ-спектрах сполук **3.14-3.15**, **3.21-3.25** відсутні інтенсивні смуги коливання NH_2 -групи при $3550\text{-}3474\text{ см}^{-1}$ характерні для амінопохідних та присутні смуги коливання («амід-II») при $1626\text{-}1574\text{ см}^{-1}$, що відповідає змішаним валентно-деформаційним коливанням зв'язків C-N, NH (Додаток Б) [145]. Це підтверджує перебіг нуклеофільного заміщення саме по аніліновій аміногрупі гетероциклів (**3.14-3.15**, **3.21-3.25**).



Коливання ν_{CO} -груп зафіксовано при $1738\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$. Для сполук **3.14-3.15**, **3.21-3.25** характерні слабоінтенсивні смуги при $1510\text{--}1466\text{ cm}^{-1}$, що відповідають коливанням $\nu_{C=C}$ -зв'язку. Для отриманих продуктів характерні коливання при $1610\text{--}1585\text{ cm}^{-1}$ смуги, поглинання яких відповідає валентно-деформаційним коливанням $C=N$ зв'язків гетероциклічних фрагментів. Підтвердженням наявності у **3.14-3.15**, **3.21-3.25** гідроксильної групи є смуги поглинання асоційованих валентних коливань ν_{OH} при $3510\text{--}3430\text{ cm}^{-1}$. Смуга валентних коливань $\nu_{(C=O)}$ карбонільної групи зміщується в область $1740\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$. У ^{13}C -ЯМР спектрі сполуки **3.24** спостерігалось два сигнали 182 і 177 ppm , що свідчить про наявність двох карбонільних хіноїдних груп, відсутність анільної групи [145].

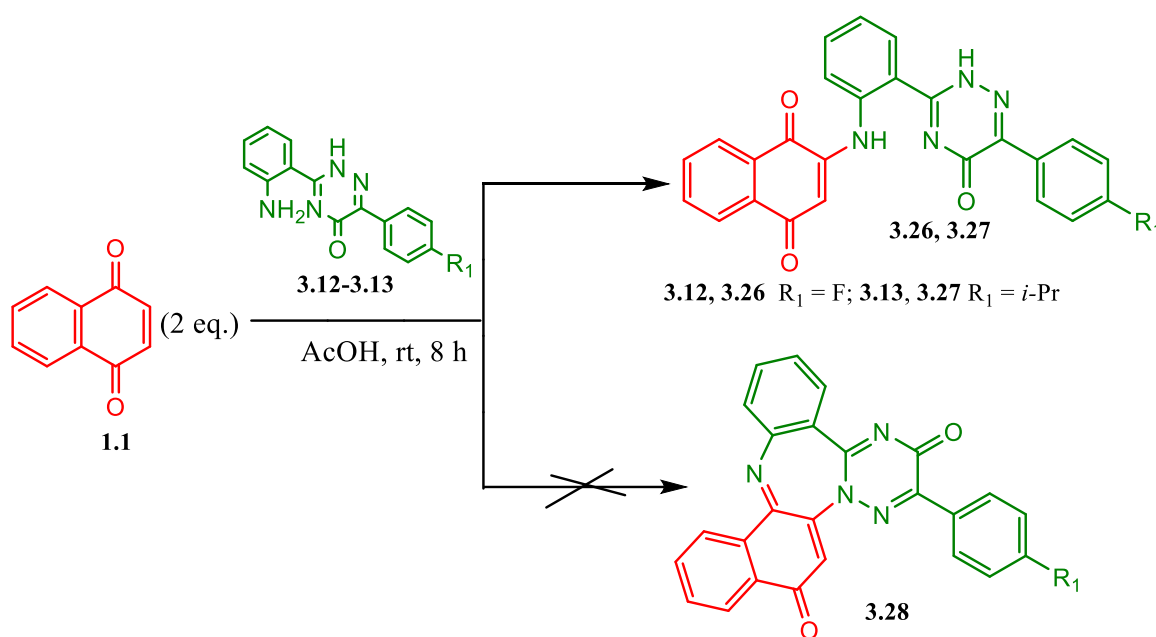
3.3.1. Синтез 2-[2-(6-арил)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл]феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів

Як відомо, 1,4-нафтохінони є циклічними дикетонами, що у своїй структурі мають електронодефіцитний ненасичений зв'язок та дві спряжені з ним

карбонільні групи. Зважаючи на це, вони здатні вступати в реакцію приєднання нуклеофільних реагентів до подвійного зв'язку або до карбонільних груп. Ще однією їх особливістю є здатність проявляти окисні властивості, відновлюючись до гідрокінонів [166]. В свою чергу 2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)аніліни є класичними 1,3-бінуклеофільними реагентами, що можуть реагувати з нуклеофільними центрами 1,4-нафтохінону з утворенням конденсованих або неконденсованих гетероциклічних систем [167].

Зважаючи на літературні дані [167], при взаємодії 1,4-нафтохінону з відповідними 2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)анілінами (2) ми очікували одержати продукти гетероциклізації. Але за даних умов виділено тільки хіноїдні продукти лінійної будови, утворені *aza*-реакцією Міхаеля по 1 нуклеофільному центру з наступним окисненням проміжного 1,4-діолу (схема 3.4).

Схема 3.4



Це зумовлено тим, що спочатку в реакцію з C=C зв'язком нафтохінону вступає NH₂-група, а не NH-група 1,2,4-триазинового циклу, тому унеможливується (просторова недоступність) наступна циклізація продукту за участю хіноїдної кето-групи з відщепленням води. Не дивлячись на те, що після окислення проміжного 1,4-діолу знову утворюється 1,4-нафтохіноїдна система, її подвійний зв'язок дезактивований електронодонорною аміногрупою, що унеможливує наступне приєднання за *aza*-реакцією Міхаеля, тому циклізація

продуктів за таким механізмом також не відбувається. Отже, шляхом *аза*-реакції Міхаеля було отримано ряд 2-(6-феніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів (**3.26-3.27**) взаємодією 1,4-нафтохінону (**1.1**) з похідними 1,2,4-триазину (**3.12-3.13**).

Синтез проводили в різних умовах: при кімнатній температурі та нагріванні до 65-90°C, в розчинниках (AcOH, ДМСО, ацетонітрил, ДМФА) [168]. При взаємодії 1,4-нафтохінону та відповідного похідного 1,2,4-триазину (1:1) за кімнатної температури, навіть після 20 годин перемішування, в реакційній суміші окрім продукту залишається 30% відповідного вихідного 1,2,4-триазину, натомість 1,4-нафтохінон повністю вичерпався. Це пояснюється тим, що другий еквівалент вихідного нафтохінону витрачається на окислення заміщеного гідрохінону, утвореного при приєднанні нуклеофілу до C=C зв'язку та відновленні ароматичності. Барботування повітря крізь реакційну суміш незначно покращило конверсію, натомість найефективнішим виявилось використання надлишку 1,4-нафтохінону. Утворений при його відновленні нафтален-1,4-діол добре відділяється від продукту при промивці великою кількістю води та подальшій перекристалізації. Так, за реакції 1 ммоль 2-кратного надлишку 1,4-нафтохінону з 0,5 ммоль 1,2,4-триазинового похідного (**3.12-3.13**) за результатами LC-MS, спостерігається повна конверсію вихідної сполуки.

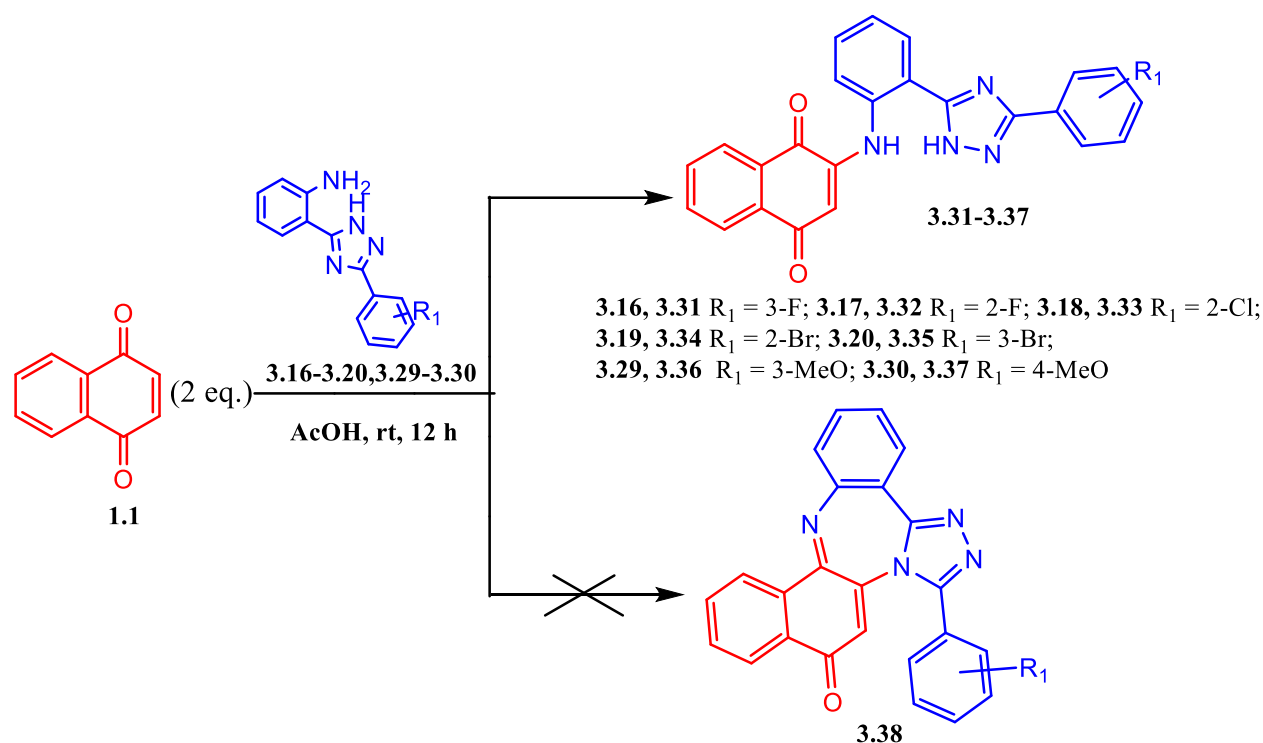
Отже, оптимальними умовами реакції є середовище льодяної ацетатної кислоти за 25°C і присутності 2-кратного надлишку 1,4-нафтохінону як окисника. Після осадження водою і перекристалізації з бутилацетату виділені кристалічні продукти (**3.26-3.27**), нерозчинні у воді й слабо розчинні в органічних розчинниках, розчинні у ДМФА і ДМСО.

3.3.2. Синтез 2-((2-(6-арил-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів та 2-((2-(3-арил-1*H*-1,2,4-тріазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів

За взаємодії 1,4-нафтохінону з (3-*R*-1*H*-1,2,4-тріазол-5-іл)анілінами очікувався продукт циклізації, як у [167]. Реакція взаємодії 1,4-нафтохінону (1) з (3-*R*-1*H*-1,2,4-тріазол-5-іл)анілінами (**3.31-3.37**) так само відбувалась за механізмом *аза*-реакції

Міхаеля (по 1 нуклеофільному центру) з наступним окисненням 1,4-діольного інтермедіату:

Схема 3.5



Синтез проводили в різних розчинниках (AcOH, ДМСО, ацетонітрил, ДМФА) та температурних умовах (25-90 °С). Найвищі виходи отримували в льодяній оцтовій кислоті при кімнатній температурі у присутності двократного надлишку 1,4-нафтохінону як окисника. Після осадження та промивання водою одержані продукти кристалізували з ацетатної кислоти або бутилацетату [168]. Кристалізація з бутилацетату дає змогу одержати значно чистіші (до 99% за результатами LC-MS) продукти. Отримано високоплавкі ($T_{\text{пл.}} > 250^\circ\text{C}$) кристалічні сполуки (3.26-3.27, 3.31-3.37) яскравих, насичених кольорів, нерозчинні у воді, малорозчинні у більшості органічних розчинниках, розчинні у ДМФА та ДМСО. Будова одержаних сполук підтверджена ^1H ЯМР, ІЧ та хромато-мас-спектроскопією. Дві NH-групи сполук (2-(6-феніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів 3.26-3.27 та (1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діонів 3.31-3.37 у ^1H ЯМР спектрах спостерігаються у області 15.0 – 14.3 та 11.7 – 10.3 м.ч.

У спектрах сполук **3.34-3.35**, **3.37** відбувається розщеплення сигналів обох NH-груп на два уширені синглети різних інтегральних інтенсивностей з сумою рівною одиниці, що свідчить про існування молекул у розчині у вигляді двох таутомерів. При цьому сигнали ABCD системи ароматичного ядра 1,4-нафтохінону у області 8.1 – 7.8 м.ч. та синглет СН хіноїдного циклу при 6.3 – 6.6 м.ч. залишаються чіткими, а сигнали протонів ароматичних циклів гетероциклічної частини сильно уширюються. У ЯМР спектрах сполук **3.31** та **3.36** виявляється лише сигнал NH-групи 2-аміно-1,4-нафтохіноїдного фрагменту поблизу 11.5 м.ч., що імовірно також пояснюється таутомерними переходами триазолу. Такі таутомерні перетворення відомі і описані для вихідних сполук [169], авторами проведено DFT моделювання та порівняння передбачених та одержаних спектральних характеристик.

У ІЧ спектрах продуктів спостерігаються смуги поглинання валентних коливань NH-груп при 3649 – 3656 cm^{-1} та ряд смуг СН при 3000 – 3100 cm^{-1} . Наявність карбонільних груп підтверджує смуга поглинання при 1673 – 1683 cm^{-1} . Присутні також численні смуги поглинань, що відповідають валентним та деформаційним коливанням ароматичних циклів (Додаток Б.) [168].

В хромато-мас-спектрах синтезованих сполук **3.26-3.27**, **3.31-3.37** реєструються високоінтенсивні піки молекулярного іону $[M+1]$, які відповідають запропонованій розрахунковій молекулярній масі, однозначно доводять їх будову та індивідуальність(Додаток Б.).

3.4. Фізико-хімічні властивості композицій рамноліпідних біоПАР з аміновмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону

3.4.1. Дослідження властивостей біосурфактантів

Відповідно до завдань роботи розроблено композиції біосурфактантів (рамноліпідів, трегалозоліпідів) з обраними перспективними сполуками з ряду синтезованих аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону. Враховуючи їх прогнозовану біологічну активність, відібрано 6 сполук: етил-4-((3-хлоро-1,4-діоксо-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилат (**3.6**), 2-хлоро-3-((1-метил-1Н-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діон (**3.7**), 2-хлоро-3-((3-(*p*-толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діон (**3.11**), 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діон (**3.24**), 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-тріазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діон (**3.26**) та 2-((2-(3-(3-бромфеніл)-1Н-1,2,4-тріазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діон (**3.35**).

Для з'ясування механізму впливу рамноліпідів і трегалозоліпідів на активність нафтохінонів проведено спектральні дослідження індивідуальних речовин – аміновмісних гетероциклів, поверхнево-активних продуктів штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 – РЛ, ТЛ та композицій на їх основі.

Одержання комплексів рамноліпідів з N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону підтверджується зміною поверхневого натягу (ПН) комплексів при порівнянні із розчинами їх компонентів у однаковій концентрації та гідродинамічними радіусами композиційних препаратів (табл. 3.1). ПН зменшується зі збільшенням концентрації поверхнево-активної речовини у водному середовищі до критичної концентрації міцелоутворення (ККМ). Вона визначається як концентрація ПАР, при якій у розчині виникає велике число міцел, що перебувають у термодинамічній рівновазі з молекулами (йонами), та різко змінюються його властивості (електропровідність, поверхневий натяг, в'язкість, світлорозсіювання). За концентрацій, вищих ККМ, молекули біосурфактантів утворюють міцели [170].

Таблиця 3.1

Поверхневий натяг композиційних препаратів

Варіанти композицій	Поверхневий натяг, мН/м
РЛ	28,0±0,9
3.6	47,15±0,74
3.6 - РЛ	39,53±4,07
3.7	46,88±3,02
3.7- РЛ	37,75±5,77
3.11	46,65±2,0
3.11 - РЛ	39,25±4,16
3.24	53,98±2,17
3.24 -РЛ	41,63±7,67
3.26	62,07±0,98
3.26 - РЛ	45,61±2,29
3.35	59,32±1,56
3.35 - РЛ	43,67±2,18

У композиціях гетероциклічних похідних нафтохінону з рамноліпідами **3.6-РЛ**, **3.7-РЛ**, **3.11-РЛ**, **3.24-РЛ**, **3.26-РЛ** та **3.35-РЛ**, в порівнянні з розчинами сполук **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24**, **3.26** та **3.35** спостерігається поверхневий натяг знижується від 59-62 до 40-47 мН/м відповідно, що може свідчити про утворення їх комплексів з рамноліпідами (рис. 3.7-3.9)[146].

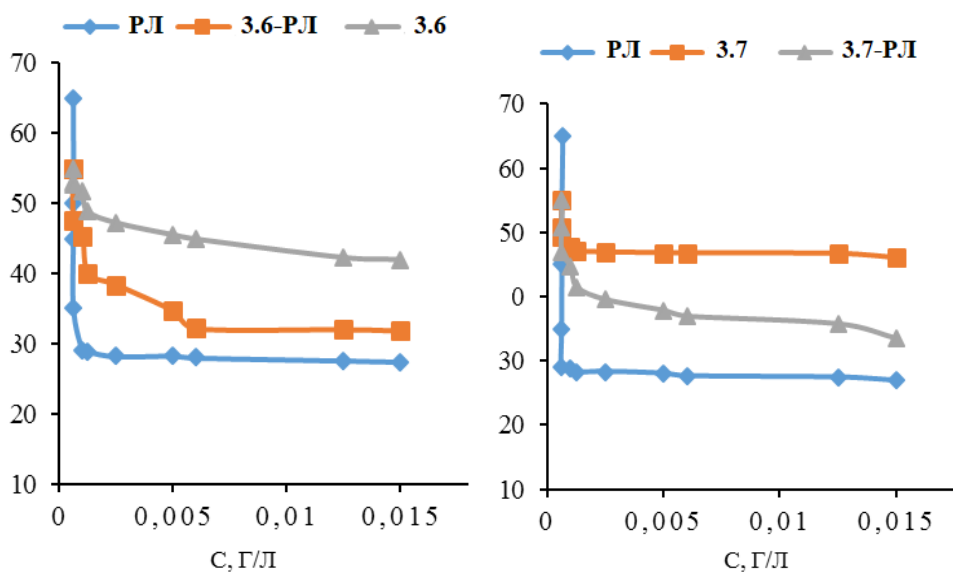


Рис. 3.7. Ізотерми поверхневого натягу розчинів рамноліпідів (РЛ), етил-4-((3-хлоро-1,4-діоксо-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-

карбоксилату (3.6), 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.7) та композиційних препаратів 3.6-РЛ і 3.7-РЛ, рН=7

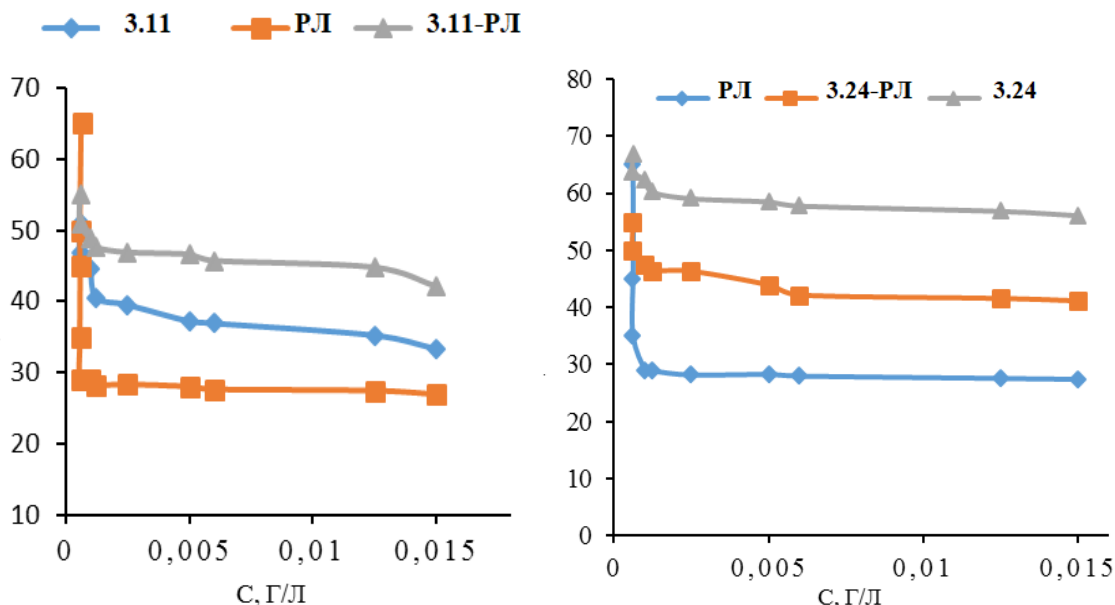


Рис.3.8. Ізотерми поверхневого натягу розчинів рамноліпідів (РЛ), 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діон (3.11), 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діону (3.24).

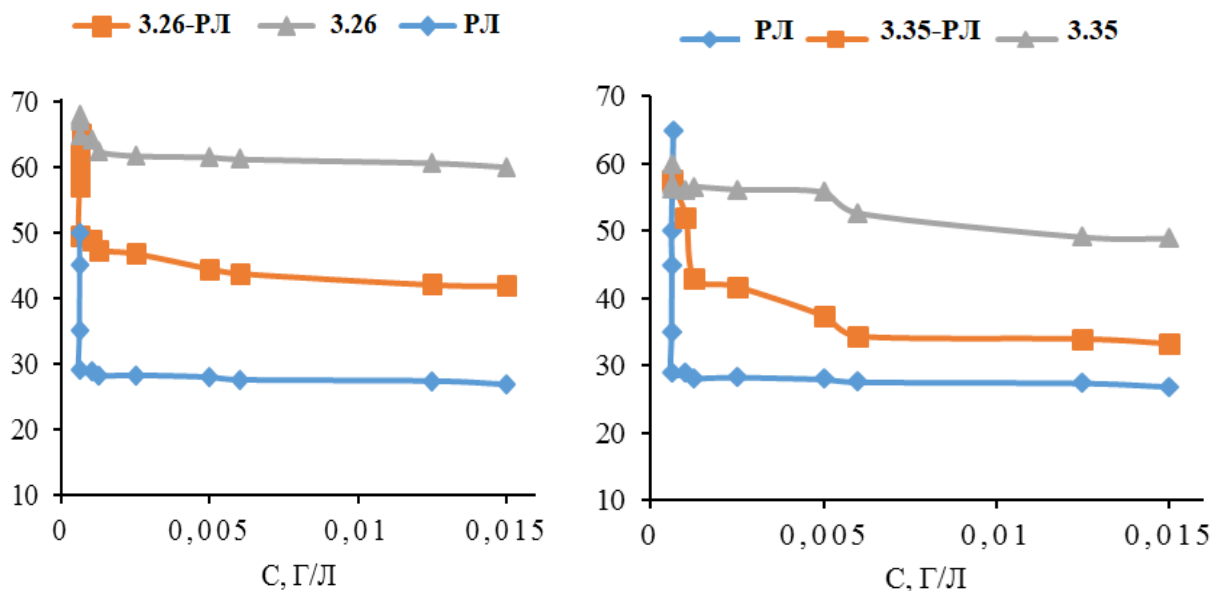


Рис. 3.9. Ізотерми поверхневого натягу розчинів РЛ, 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5дигідро-1,2,4-тріазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (3.26), 2-((2-(3-(3-бромфеніл)-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.35) та композиційних препаратів 3.26-РЛ, 3.35 –РЛ, рН=7

Як видно з рисунків 3.7-3.9, у композиціях гетероциклічних аміновмісних похідних 1,4-нафтохінону з рамноліпідами **3.6-РЛ**, **3.7-РЛ**, **3.11-РЛ**, **3.24-РЛ**, **3.26-РЛ** та **3.35-РЛ** порівняно з розчинами сполук **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24**, **3.26** та **3.35** спостерігається зниження поверхневого натягу від 59-65 до 40-47 мН/м відповідно, що свідчить про утворення комплексів між сполуками **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24**, **3.26** та **3.35** та рамноліпідним біосурфактантом.

Значення площі, яку займає поверхнево-активна речовина молекули підтверджує існування самоорганізованих міцелоподібних структур різного розміру в розчині залежно від структури мікробних ПАР.

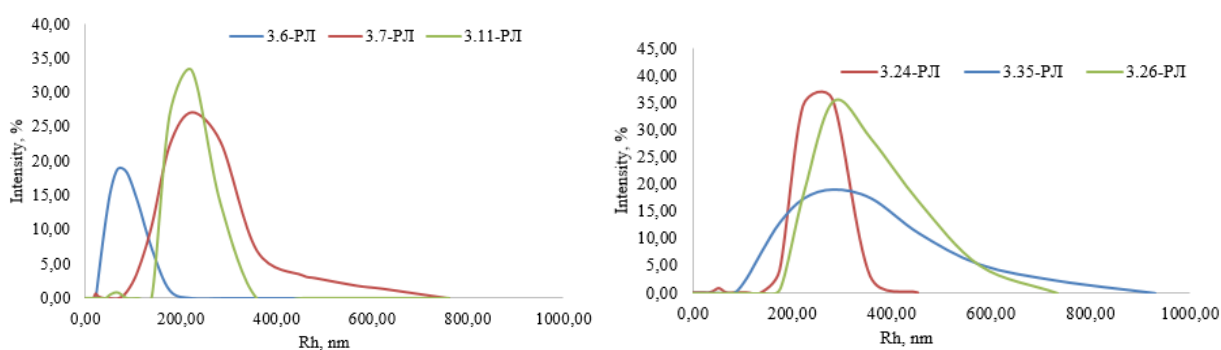


Рисунок 3.10. Гідродинамічні розміри міцелоподібних структур розчинів композицій рамноліпідів з етил-4-((3-хлоро-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1*H*-піразол-3-карбоксилатом (**3.6**), 2-хлоро-3-((1-метил-1*H*-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діоном (**3.7**), 2-хлоро-3-(3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діоном (**3.11**), 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діоном (**3.24**), 2-((2-(3-(3-(3-бромфеніл)-1*H*-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діоном (**3.35**), 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діоном (**3.26**).

Значення гідродинамічних розмірів (рис. 3.10) підтверджують існування в розчині самоорганізованих міцелоподібних структур різного розміру залежно від структури мікробних ПАР.

Таблиця 3.2

Гідродинамічні розміри міцелоподібних структур (МПС) композицій 3.6-РЛ, 3.7-РЛ, 3.11-РЛ, 3.24-РЛ та 3.26-РЛ, 3.35-РЛ

Варіанти композиційних препаратів	d, nm
3.6-РЛ	68
3.7-РЛ	220
3.11-РЛ	223
3.24-РЛ	276
3.26-РЛ	283
3.35-РЛ	280

На розміри частинок МПС (табл.3.2) впливає структура відповідного N-вмісного гетероциклічного похідного 1,4-нафтохінону. МПС на основі композицій **3.6-РЛ**, що містить естерну групу, має найменші розміри в діапазоні від 68 нм. Це може свідчити про компактизацію гідрофобного фрагмента у складі МПС. МПС на основі **3.11-РЛ** містить 1 фракцію частинок розміром 223 нм, МПС на основі композиційного препарату **3.7-РЛ** містить частинки 220 нм. Це означає, що у водному середовищі сформувалась структура більшого розміру, а, отже, макромолекулі важче утворити компактнішу структуру, за рахунок високої жорсткості піразольного фрагменту **3.24-РЛ**, **3.26-РЛ** та **3.35-РЛ** та містять фракції з розмірами 276, 283 і 280 нм відповідно. Їх схожість можна пояснити наявністю триазольного фрагменту. Для зразку **3.6** характерна менша полідисперсність в порівнянні з **3.11**: 0,28 і 0,47 відповідно.

Визначено фізико-хімічні властивості композицій: УФ-спектри (рис.3.11-3.13), поверхневий натяг, солюбілізація, радіуси міцел (табл. 3.2). УФ-спектри у діапазоні від 210 до 720 нм рамноліпідів, амінопіразольного похідного 1,4-нафтохінону та композиційних препаратів на їх основі.

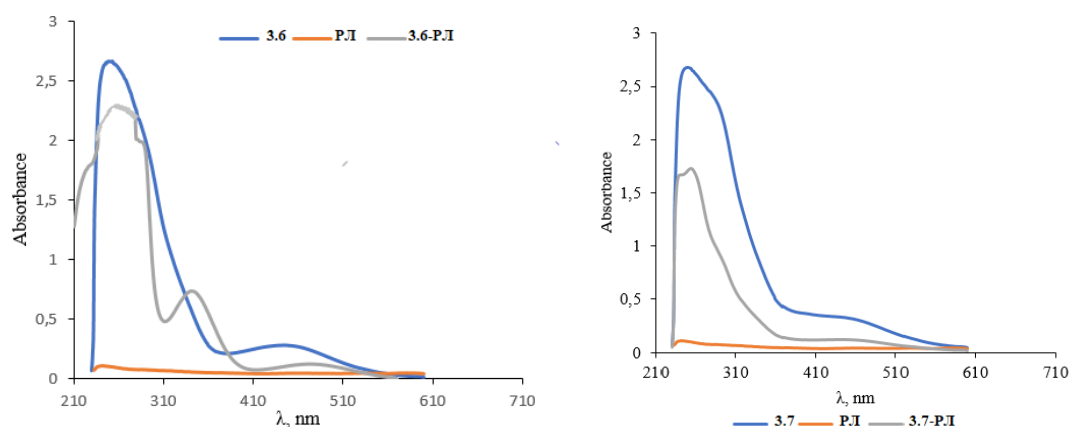


Рис. 3.11. УФ-спектри, 200 - 700 нм за концентрації 0,01 г/л рамноліпідних композицій: 3.6- РЛ, 3.7 – РЛ, етил-4-((3-хлоро-1,4-діоксо-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилату (3.6), 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.7) та рамноліпиду РЛ у воді.

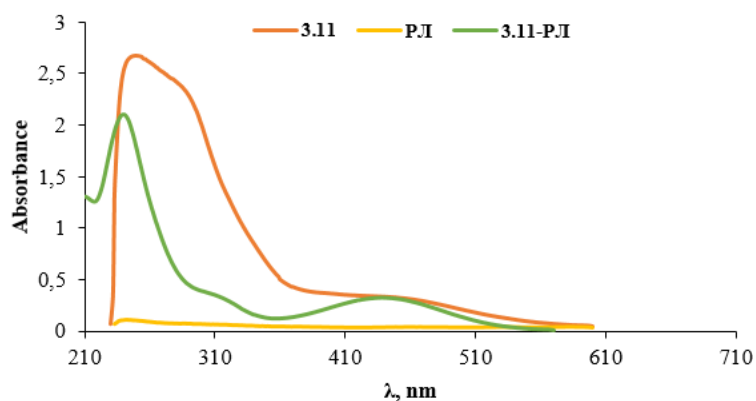


Рис. 3.12. УФ-спектри, 200 - 700 нм за концентрації 0,01 г/л рамноліпідних композицій: 3.11-РЛ, 2-хлоро-3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.11) та рамноліпиду РЛ у воді.

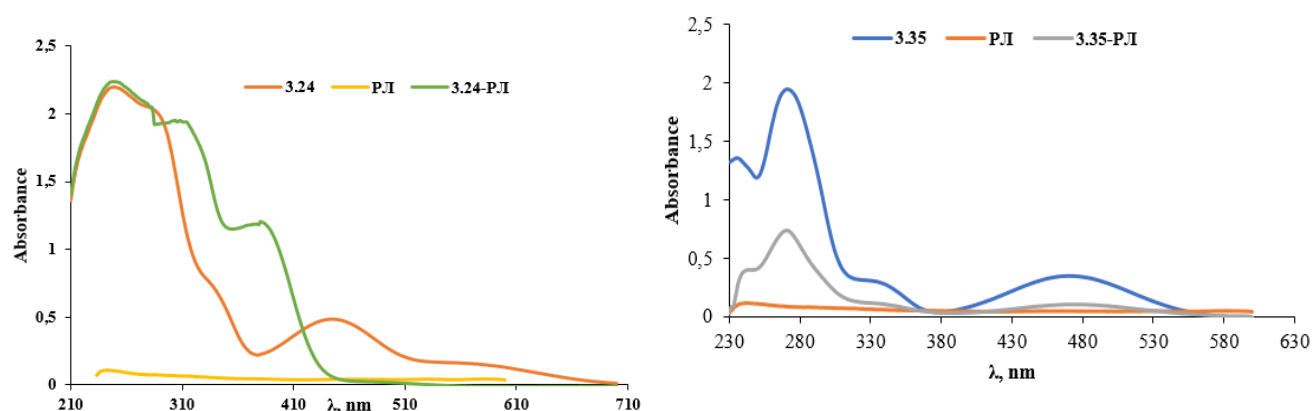


Рис.3.13. УФ – спектри у діапазоні 200 - 700 нм за концентрації 0,01 г/л рамноліпідних комплексів, 3.24–РЛ, 3.35 – РЛ, 2-((2-(5-(2-бромофеніл)-1H-1,2,4-

триазол-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діону (3.24), 2-((2-(3-(3-бромфеніл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.35) та рамноліпиду РЛ у дистильованій воді.

Як свідчать результати УФ – спектрів у діапазоні 200 - 700 нм (рис.), аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону – етил-4-((3-хлоро-1,4-діоксо-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1H-піразол-3-карбоксилату (3.6), 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.7), 2-хлоро-3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.11), 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діону (3.24), 2-((2-(3-(3-бромфеніл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діону (3.35) характеризуються смугами поглинання за 252-274 нм. Для спектрів рамноліпідів (РЛ) в цій УФ-області піків не зареєстровано. На спектрах композиційних препаратів 2-((2-(5-(2-бромфеніл)-1H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)аміно)-3-гідроксинафтален-1,4-діону 3.24 – РЛ та 2-хлоро-3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону 3.11 – РЛ з рамноліпідами, спостерігається гіпсохромний зсув приблизно на 20 та 40 нм відповідно. Для 3.6– РЛ та 3.24 – РЛ відбувається утворення нових піків з максимумом 343 нм, 391 нм відповідно, що може вказувати на утворення міжмолекулярних зв'язків між цими сполуками.

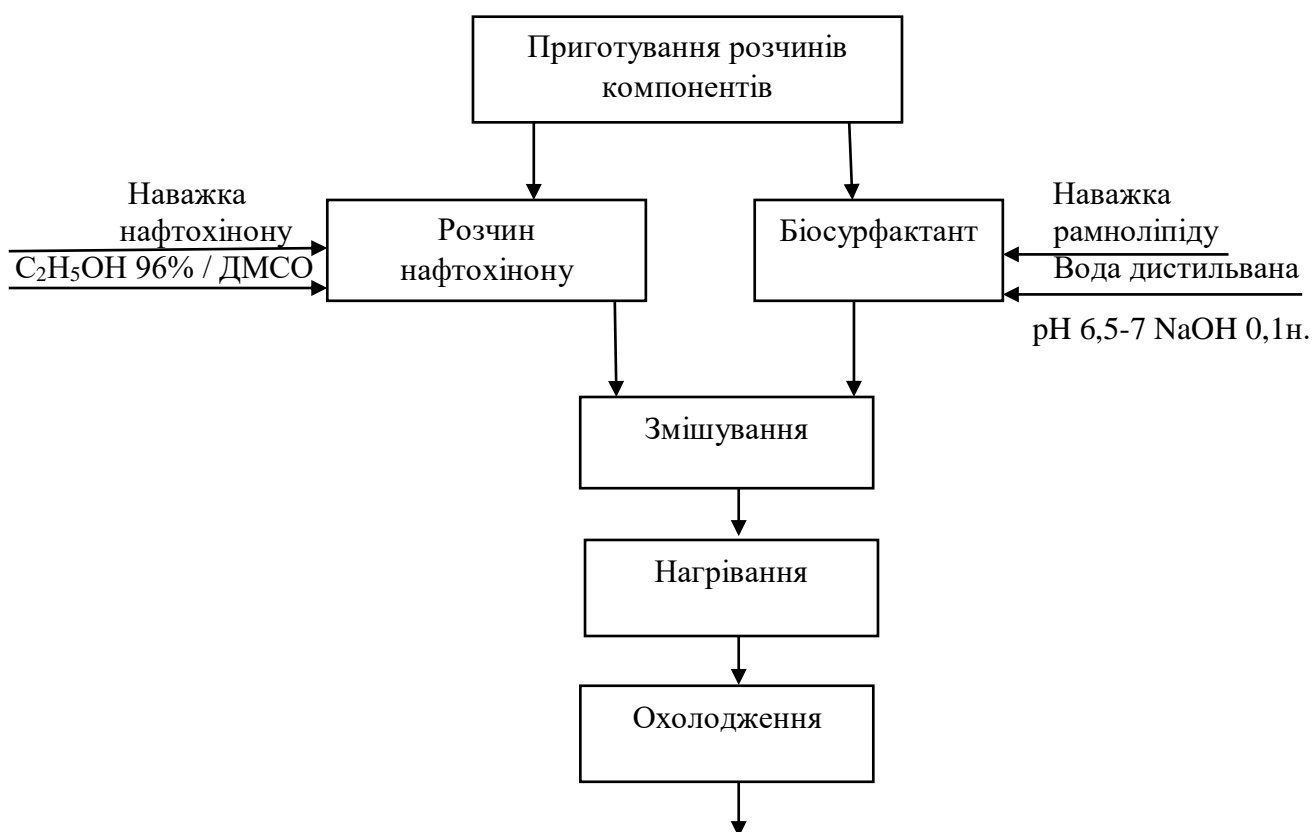
Висновки до Розділу 3.

Вперше синтезовано амінопіразольні, амінопіримідинові, 1,2,4-триазино- і 1,2,4-триазоловмісні похідні 1,4-нафтохінону та 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону. Структуру підтверджено спектральними характеристиками. Розроблено композиції біосурфактантів (рамноліпідів, трегалозоліпідів) з 6 обраними перспективними сполуками з ряду синтезованих аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та визначено їх фізико-хімічні характеристики.

РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ КОМПОЗИЦІЙ РАМНОЛІПІДІВ З N-ВМІСНИМИ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИМИ ПОХІДНИМИ 1,4-НАФТОХІНОНУ

Розроблено технологію виробництва композицій рамноліпідів з гетероциклічними аміновмісними похідними 1,4-нафтохінону, новизною яких є використання нових гетероциклічних аміновмісних похідних нафтохінону та біосурфактантів рамноліпідів (РЛ). Технологічний процес одержання композиційних препаратів складається з допоміжних стадій: приготування розчинів компонентів та рамноліпиду, стадій основного технологічного процесу (змішування, нагрівання та охолодження) та стадій пакування і маркування готового продукту. Виробництво можна реалізувати, використовуючи стандартне біотехнологічне обладнання.

На рис. 4.1 наведено принципову блок-схема процесу отримання композицій на основі біоПАР та гетероциклічних аміновмісних похідних нафтохінону. Дана схема може бути реалізована на стандартному біотехнологічному обладнанні.



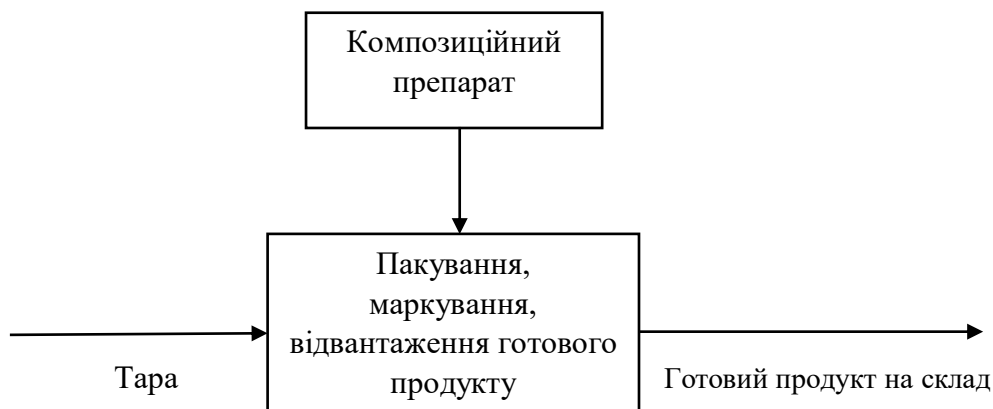
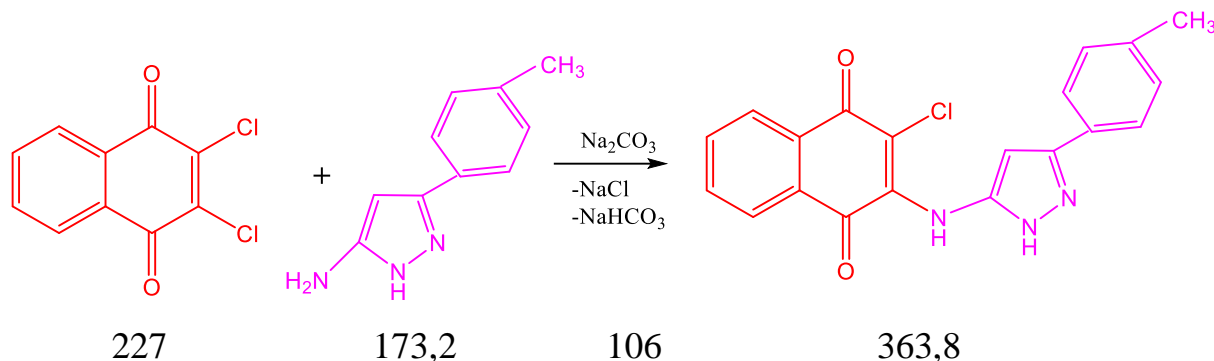


Рис. 4.1. Принципова блок-схема процесу отримання композицій на основі біоПАР та 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону **3.11**.

4.1. Матеріальні розрахунки одержання 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону

Матеріальний баланс процесу

Хімізм процесу:



Стадії синтезу:

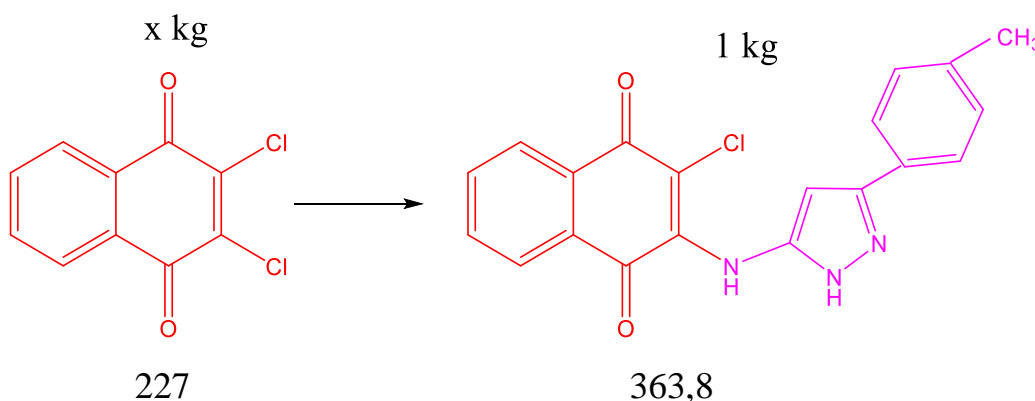
1. Хімічна взаємодія. $\eta=0,884$
2. Осадження. $\eta=0,979$
3. Фільтрація $\eta=0,97$
4. Промивка водою $\eta = 0,97$
5. Сушіння $\eta=0,95$

$$\eta_{\text{заг}} = 0,884 * 0,979 * 0,97 * 0,97 * 0,95 = 0,773$$

Розрахунок проводимо на 1 кг 100% готового продукту – амінопіразольного похідного 1,4-нафтохінону.

4.1. Розрахунок витрати вихідної сировини 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону для отримання 1 кг готової продукції

Утворення амінопіразольного похідного 1,4-нафтохінону з 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону відповідає такому стехіометричному співвідношенню:



Витрата 100%-го 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону на 1 кг 100%-го 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діону становить:

$$x = 227 \cdot 1 / 363,8 = 0,6239 \text{ кг}$$

Витрати 100%-го 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з урахуванням загального коефіцієнту виходу:

$$0,6239 / \eta_{\text{заг}} = 0,6239 / 0,773 = 0,8071 \text{ кг}$$

Витрати технічного 98 %-го 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону складає:

$$0,8071 / 0,98 = 0,8235 \text{ кг, в тому числі:}$$

а) 100%- го 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону – 0,8071 кг

б) органічних домішок – $0,8235 - 0,8071 = 0,0164$ кг

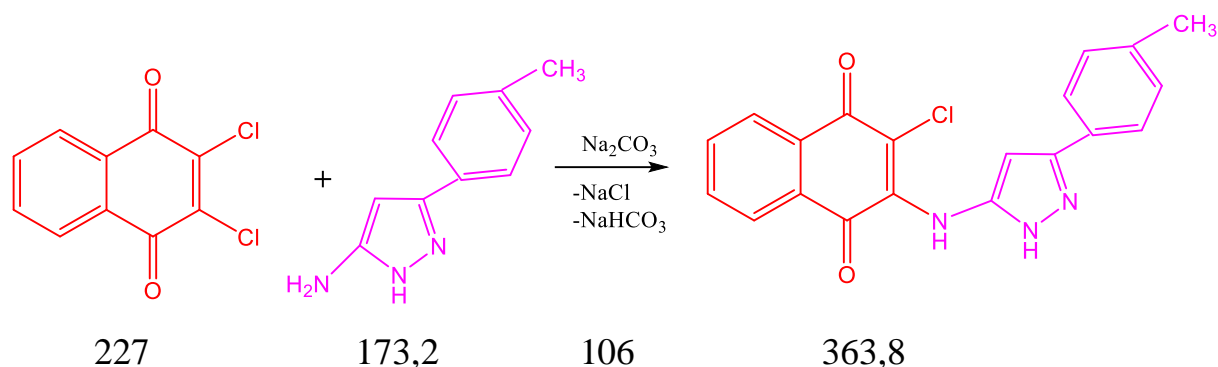
Перерахунковий коефіцієнт від операційного завантаження до завантаження на 1 кг 100%-го 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону :

$$K = G_{\text{техн.}} / G_{\text{опер.}}$$

$$K = 0,8235 / 0,00068 = 1211,029$$

4.1.1. Стадія 1. Хімічна взаємодія $\eta_1=0,884$

Хімізм процесу:



Згідно з методикою операційні завантаження на даній стадії:

- а) 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону 0,00068 кг
- б) 3-(*n*-толil)-1H-піразол –5-аміну 0,000519 кг
- в) натрій карбонат 0,000318 кг
- г) етанол 0,03945 кг

Завантажено:

1. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону (98%) – 0,8235 кг;
В тому числі 100% - 0,807 кг, органічних домішок – 0,0165 кг.
2. 3-(*n*-толil)-1H-піразол –5-аміну 99 %:

$$G = G_{\text{опер.}} \cdot K$$

$$G = 0,000519 \cdot 1211,029 = 0,6285 \text{ кг}$$

$$\text{В тому числі } 100\% - 0,6285 \cdot 0,99 = 0,6222 \text{ кг}$$

Органічні домішки: 0,0063 кг.

3. Натрій карбонат 99,5%

$$0,000318 \cdot 1211,029 = 0,3851 \text{ кг}$$

В тому числі 100% - 0,3832 кг, неорганічних домішок – 0,0019 кг.

4. Етанол 96%

$$0,03945 \cdot 1211,029 = 47,775 \text{ кг}$$

В тому числі 100% - 45,864 кг, вода – 1,911 кг.

Одержано:

1. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толil)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діон:

а) при 100%-му виході утворилася цільова сполука:

$$0,8071 * 363,8 / 227 = 1,2935 \text{ кг}$$

б) враховуючи коефіцієнт виходу на даній стадії утворилося:

$$1,2935 * 0,884 = 1,1434 \text{ кг}$$

2. Натрій хлорид

$$1,1434 * 58,5 / 363,8 = 0,1838 \text{ кг}$$

3. Натрій гідрокарбонат :

$$1,1434 * 84 / 363,8 = 0,2640 \text{ кг}$$

Вода – 1,911 кг

4. Невикористаний 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон :

а) використано в результаті реакції:

$$1,1434 * 227 / 363,8 = 0,7135 \text{ кг}$$

б) залишилось невикористаного:

$$0,8071 - 0,7135 = 0,0936 \text{ кг}$$

5. Невикористаний 3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін :

а) використано в результаті реакції:

$$1,1434 * 173,2 / 363,8 = 0,5446 \text{ кг}$$

б) залишилось невикористаного:

$$0,6222 - 0,5446 = 0,0776 \text{ кг}$$

6. Органічні домішки: $0,0165 + 0,0063 = 0,0228 \text{ кг}$

7. Неорганічні домішки - $0,0019 \text{ кг}$.

8. Невикористаний натрій карбонат :

а) використано в результаті реакції:

$$1,1434 * 106 / 363,8 = 0,3332 \text{ кг}$$

б) залишилось невикористаного:

$$0,3832 - 0,3332 = 0,05 \text{ кг}$$

9. Етанол - $45,864 \text{ кг}$

Матеріальний баланс стадії 1

Завантажено:

Таблиця 4.1

<i>№ n/n</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Конц., %</i>	<i>Маса 100% - го продукту, кг</i>	<i>Маса технічного продукту, кг</i>
1.	2,3-дихлор-1,4- нафтохінон	98	0,807	0,8235
2.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол – 5-амін	99	0,6222	0,6285
3.	натрій карбонат	99,5	0,3832	0,3851
4.	етанол	96	45,864	47,775
	Чистого продукту		47,6764	
	В тому числі домішки		0,0247	
	Вода		1,911	
	Всього		49,6121	49,6121

Одержано:

Таблиця 4.2

<i>№ n/n</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,1434
2.	Натрій хлорид	0,1838
3.	Натрій гідрокарбонат	0,2640
4.	Вода	1,911
5.	Невикористаний 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,0936
6.	Органічні домішки	0,0228
7.	Неорганічні домішки	0,0019

8.	Невикористаний 3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,0776
9.	Етанол	45,864
10.	Невикористаний натрій карбонат	0,05
	<i>Всього</i>	49,6121

4.1.2. Стадія 2. Осадження осаду. $\eta=0,979$

Завантажено:

1. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон 1,1434 кг
 2. Натрій хлорид 0,1838 кг
 3. Вода 1,911 кг
- Вода для осадження $0,02 \cdot 1211,029 = 24,2206$ кг
- $1,911 + 24,2206 = 26,1316$ кг
4. Натрій гідрокарбонат 0,2640 кг
 5. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон 0,0936 кг
 6. Органічні домішки 0,0228 кг
 7. Неорганічні домішки 0,0019 кг
 8. 3-(*n*-толіл)-1Н-піразол –5-амін 0,0776 кг
 9. Етанол 45,864 кг
 10. Натрій карбонат 0,05 кг

Одержано:

I. Тверда фаза

1. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон $1,1434 \cdot 0,979 = 1,1193$ кг
2. Органічні домішки $0,0228 \cdot 0,979 = 0,0223$ кг

II. Рідка фаза

1. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон $1,1434 - 1,1193 = 0,0241$ кг
2. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон 0,0936 кг
3. Натрій хлорид 0,1838 кг

4. Натрій гідрокарбонат 0,2640 кг
5. Вода 26,1316 кг
6. Неорганічні домішки 0,0019 кг
7. Органічні домішки 0,0228 - 0,0223 = 0,0005 кг
8. 3-(*p*-толіл)-1Н-піразол –5-амін 0,0776 кг
9. Етанол 45,864 кг
10. Натрій карбонат 0,05 кг

Матеріальний баланс стадії 2

Завантажено:

Таблиця 4.3

№ п/п	Назва продукту	Маса 100%-го продукту, кг
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,1434
2.	Натрій хлорид	0,1838
3.	Натрій гідрокарбонат	0,2640
4.	Вода	26,1316
5.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,0936
6.	Органічні домішки	0,0228
7.	Неорганічні домішки	0,0019
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,0776
9.	Етанол	45,864
10.	Натрій карбонат	0,05
	Всього	73,8327

Одержано:

Таблиця 4.4

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
I. Тверда фаза		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,1193
2.	Органічні домішки	0,0223
	<i>Всього:</i>	1,1416
II. Рідка фаза		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,0241
2.	Натрій хлорид	0,1838
3.	Натрій гідрокарбонат	0,2640
4.	Вода	26,1316
5.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон	0,0936
6.	Органічні домішки	0,0005
7.	Неорганічні домішки	0,0019
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,0776
9.	Етанол	45,864
10.	Натрій карбонат	0,05
	<i>Всього</i>	72,6911
	<i>Сума:</i>	73,8327

4.3.1. Стадія 3. Фільтрування.

$$\eta_3 = 0,97$$

Завантажено:

На дану стадію поступає суспензія наступного складу :

I. Тверда фаза

1. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон 1,1193 кг
2. Органічні домішки 0,0223 кг

II. Рідка фаза

3. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон 0,0241 кг
4. Натрій хлорид 0,1838 кг

5. Натрій гідрокарбонат 0,2640 кг
6. Вода 26,1316 кг
7. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон 0,0936 кг
8. Органічні домішки 0,0005 кг
9. Неорганічні домішки 0,0019 кг
10. 3-(*n*-толіл)-1Н-піразол –5-амін 0,0776 кг
11. Етанол 45,864 кг.
12. Натрію карбонат 0,05 кг

Одержано:

Знаходимо склад осаду:

I. На фільтрі:

1. 2-Хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон:

$1,1193 \cdot 0,97 = 1,0857$ кг

2. Органічні домішки $0,0223 \cdot 0,97 = 0,0216$ кг

1) Маса сухого осаду: $1,0857 + 0,0216 = 1,1073$ кг

2) Маса вологого осаду: $1,1073 / 0,7 = 1,5818$ кг

3) Маса рідкої фази в осаді: $1,5818 - 1,1073 = 0,4745$ кг

4) Відсотковий склад рідкої фази до фільтрування:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

0,0241 кг – 0,0331 %

Вода: 26,1316 кг – 35,9493 %

Натрій хлорид 0,1838 кг – 0,2528 %

Натрій гідрокарбонат 0,2640 кг – 0,3631 %

2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон 0,0936 кг – 0,1287 %

Органічні домішки 0,0005 кг – 0,0007 %

Неорганічні домішки 0,0019 кг – 0,0026 %

3-(*n*-толіл)-1Н-піразол –5-амін 0,0776 кг – 0,1067 %

Етанол 45,864 кг – 63,0943 %

Натрій карбонат 0,05 кг – 0,0687 %

72,6911 кг – 100%

5) Ваговий склад розчину в вологому осаді:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

0,0331 % – 0,0001 кг

Вода 35,9493 % - 0,17079 кг

Натрій хлорид 0,2528 % - 0,0012 кг

Натрій гідрокарбонат 0,3631 % - 0,0017 кг

2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон 0,1287 % – 0,0006 кг

Органічні домішки 0,0007 %

Неорганічні домішки 0,0026 %

Всього домішок: 0,0033% - 0,00001 кг

3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін 0,1067 % - 0,0005 кг

Етанол 63,0943 % - 0,2993 кг

Натрій карбонат 0,0687 % - 0,0003 кг

100% - 0,4745 кг

6) Склад фільтрату:

Вода 26,1316 - 0,17079 = 25,96081 кг

Натрій хлорид 0,1838 - 0,0012 = 0,1826 кг

Натрій гідрокарбонат 0,2640 - 0,0017 = 0,2623 кг

2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон 0,0936 – 0,0006 = 0,093 кг

Домішки 0,0024- 0,00001= 0,00239 кг

3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін 0,0776 - 0,0005 = 0,0771 кг

Етанол 45,864 - 0,2993 = 45,5647 кг

Натрій карбонат 0,05 - 0,0003 = 0,0497 кг

2-Хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

0,0241 - 0,0001= 0,024 кг

1,1193-1,0857+0,024=00576 кг

Матеріальний баланс стадії 3:

Завантажено :

Таблиця 4.5

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
I. Тверда фаза		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,1193
2.	Органічні домішки	0,0223 кг
	<i>Всього</i>	<i>1,1416</i>
II. Рідка фаза		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,0241
2.	Натрій хлорид	0,1838
3.	Натрій гідрокарбонат	0,2640
4.	Вода	26,1316
5.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,0936
6.	Органічні домішки	0,0005
7.	Неорганічні домішки	0,0019
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,0776
9.	Етанол	45,864
10.	Натрій карбонат	0,05
	<i>Всього</i>	<i>72,6911</i>
	<i>Сума:</i>	<i>73,8327</i>

Одержано:

Таблиця 4.6

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
I. Склад вологого осаду		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно) нафтален-1,4-діон невикор.	1,0857
2.	домішки	0,02161
3.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-	0,0001

	1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон невикор.	
4.	Вода	0,17079
5.	Натрій хлорид	0,0012
6.	Натрій гідрокарбонат	0,0017
7.	2,3-дихлор-1,4- нафтохінон	0,0006
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол – 5-амін	0,0005
9.	Етанол	0,2993
10.	Натрій карбонат	0,0003
	Всього	1,5818
II.		
Фільтрат		
1.	2-Хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)- 1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,0576
2.	2,3-дихлор-1,4- нафтохінон	0,093
3.	Вода	25,96081
4.	Натрій хлорид	0,1826
5.	Натрій гідрокарбонат	0,2623
7.	Домішки	0,00239
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол – 5-амін	0,0771
9.	Етанол	45,5647
10.	Натрій карбонат	0,0497
	<i>Всього</i>	72,2507
	Сума:	73,8327

4.1.4. Стадія 4. Промивка водою.

$$\eta_4 = 0,97$$

На дану стадію надходить вологий осад із стадії 3, $m = 1,5818$ кг

Склад вологого осаду:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон невик. 1,0857 кг

Домішки 0,02161 кг

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон 0,0001 кг

Вода 0,17079 кг

Натрій хлорид 0,0012 кг

Натрій гідрокарбонат 0,0017 кг

2,3-дихлор-1,4-нафтохінон 0,0006 кг

3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін 0,0005 кг

Етанол 0,2993 кг

Натрій карбонат 0,0003 кг

На дану стадію подається вода $m = 1,000$ кг

Одержано:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон невик.

$1,0857 * 0,97 = 1,053$ кг

Домішки $0,02161 * 0,97 = 0,0209$ кг

Отже, маса сухого осаду становить – 1,0739 кг, а маса вологого осаду становить – $1,0739 / 0,7 = 1,534$ кг (вологівміст 30%).

Маса рідкої фази в осаді становить: $1,534 - 1,0739 = 0,4601$ кг

Знаходимо ваговий та відсотковий склад рідкої фази:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

0,0001 – 0,0068 %

Вода 0,17079 кг – 11,5838 %

Натрій хлорид 0,0012 кг – 0,0813 %

Натрій гідрокарбонат 0,0017 кг – 0,1152 %

2,3-дихлор-1,4-нафтохінон 0,0006 кг – 0,0407 %

3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін 0,0005 кг – 0,0339 %

Етанол 0,2993 кг – 20,298 %

Натрій карбонат 0,0003 кг – 0,0203 %

Вода для промивки 1 кг – 67,82 %

1,4745 кг – 100 %

Склад розчину:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

0,0068 % – 0,00003 кг

Вода 11,5838 % – 0,0539 кг

Натрій хлорид 0,0813 % – 0,0003 кг

Натрій гідрокарбонат 0,1152 % – 0,0005 кг

2,3-дихлор-1,4-нафтохінон 0,0407 % – 0,00017 кг

3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін 0,0339 % – 0,0001 кг

Етанол 20,298 % – 0,093 кг

Натрій карбонат 0,0203% – 0,0001 кг

Вода для промивки 67,82 % – 0,312 кг

100 % – 0,4601 кг

Знаходимо склад рідкої фази:

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон невик.

1,0857 – 1,053 = 0,0327 кг

Домішки 0,02161 – 0,0209 = 0,0005 кг

2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діон

0,0001 – 0,00003 = 0,00007 кг

Вода 0,17079 – 0,0539 = 0,1169 кг

Натрій хлорид 0,0017 – 0,0003 = 0,0014 кг

Натрій гідрокарбонат 0,0024 – 0,0005 = 0,0019 кг

2,3-дихлор-1,4-нафтохінон 0,0006 – 0,00017 = 0,0004 кг

3-(*n*-толіл)-1H-піразол –5-амін 0,0005 – 0,0001 = 0,0004 кг

Етанол 0,2993 – 0,093 = 0,2063 кг

Натрій карбонат 0,0003 – 0,0001 = 0,0002 кг

Вода для промивки 1,000 – 0,312 = 0,688 кг

Завантажено :

Таблиця 4.7

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
I. Склад вологого осаду		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,0857
2.	Органічні домішки	0,02161
	<i>Всього</i>	<i>1,10731</i>
II. Склад рідкої фази		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,0001
2.	Натрій хлорид	0,0012
3.	Натрій гідрокарбонат	0,0017
4.	Вода	0,17079
5.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,0006
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол –5-амін	0,0005
9.	Етанол	0,2993
10.	Натрій карбонат	0,0003
	Вода для промивки	1,000
	<i>Всього</i>	<i>1,47449</i>
	Сума:	2,5818

Одержано:

Таблиця 4.8

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
I. Склад вологого осаду		
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,053

2.	Органічні домішки	0,0209
3.	2-хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон неосадж.	0,00003
4.	Вода	0,3659
5.	Натрій хлорид	0,0003
6.	Натрій гідрокарбонат	0,0005
7.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,00017
10.	3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол –5-амін	0,0001
11.	Етанол	0,093 кг
12.	Натрій карбонат	0,0001
	<i>Всього</i>	1,534
II. Фільтрат		
1.	2-Хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,0327
	Домішки	0,0005
2.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,0004
3.	Вода	0,804
4.	Натрій хлорид	0,0014
5.	Натрій гідрокарбонат	0,0019
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1H-піразол –5-амін	0,0004
9.	Етанол	0,2063
10.	Натрій карбонат	0,0002
	<i>Всього</i>	<i>1,0478</i>
	<i>Сума:</i>	2,5818

4.1.6. Стадія 5. Сушіння . $\eta_3 = 0,95$

Завантажено:

На дану стадію поступає осад із стадії 4, $m = 1,534$ кг наступного складу :

1. 2-Хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон: 1,0531 кг
2. Натрій хлорид 0,0003 кг
3. Вода 0,3659 кг
4. Натрій гідрокарбонат 0,0005 кг
5. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон 0,00017 кг
6. Органічні домішки 0,0209 кг
7. Етанол 0,093 кг
8. 3-(*n*-толіл)-1Н-піразол –5-амін 0,0001 кг
9. Натрій карбонат 0,0001 кг

Вологовміст готового продукту складає 0,5 %.

Знаходимо масу сухого осаду:

Одержано:

1. 2-Хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон
 $1,0531 * 0,95 = 1,0004$ кг
2. Органічні домішки $0,0209 * 0,95 = 0,0198$ кг
3. Натрій хлорид $0,0003 * 0,95 = 0,00028$ кг
4. Натрій гідрокарбонат $0,0005 * 0,95 = 0,00047$ кг
5. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінонон $0,00017 * 0,95 = 0,00016$ кг
8. 3-(*n*-толіл)-1Н-піразол –5-амін $0,0001 * 0,95 = 0,000095$ кг
9. Натрій карбонат $0,0001 * 0,95 = 0,000095$ кг

Знаходимо масу води у сухому осаді: $1,0213 / 0,995 = 1,0264$ кг

Маса води: $1,0264 - 1,0213 = 0,0051$ кг

Випарувалось при сушці:

1. 2-Хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон
 $1,0531 - 1,0004 = 0,0527$ кг
2. Органічні домішки $0,0209 - 0,0198 = 0,0011$ кг

3. Натрій хлорид $0,0003 - 0,00028 = 0,00002$ кг
 4. Натрій гідрокарбонат $0,0005 - 0,00047 = 0,00003$ кг
 5. 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон $0,00017 - 0,00016 = 0,00001$ кг
 7. Етанол 0,093 кг
 8. 3-(*n*-толіл)-1Н-піразол –5-амін $0,0001 - 0,000095 = 0,000005$ кг
 9. Натрій карбонат $0,0001 - 0,000095 = 0,000005$ кг
 10. Вода $0,3659 - 0,0051 = 0,3608$ кг

Матеріальний баланс стадії 5:

Завантажено :

Таблиця 4.9

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
1.	2-Хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,0531
2.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,00017
3.	Вода	0,3659
4.	Натрій хлорид	0,0003
5.	Натрій гідрокарбонат	0,0005
6.	домішки	0,0209
8.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,0001
9.	Етанол	0,093
10.	Натрій карбонат	0,0001
	<i>Всього</i>	1,534

Одержано:

Таблиця 4.10

<i>№ п/п</i>	<i>Назва продукту</i>	<i>Маса 100%-го продукту, кг</i>
I. Осад складу		
1.	2-Хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	1,0004

2.	Органічні домішки	0,0198
3.	Натрій хлорид	0,00028
4.	Натрій гідрокарбонат	0,00047
5.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,00016
7.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,000095
8.	Вода	0,0051
9.	Натрій карбонат	0,000095
	<i>Всього</i>	1,0264
II. Випарувалося при сушці		
1.	2-Хлоро-3-((3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,0527
2.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,00001
3.	Вода	0,3608
4.	Натрій хлорид	0,00002
5.	Натрій гідрокарбонат	0,00003
5.	Органічні домішки	0,0011
	Етанол	0,093
7.	3-(<i>n</i> -толіл)-1Н-піразол –5-амін	0,000005
8.	Натрій карбонат	0,000005
	<i>Всього</i>	0,5076
	<i>Всього</i>	1,534

4.2. Матеріальні розрахунки одержання композиційного препарату на основі рамноліпідів та 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону

Матеріальний баланс процесу

$$\begin{array}{rclcl} \text{НХ} & + & \text{РЛ} & = & \text{РЛ-НХ} \\ 363,8 & & 653 & & 1016,8 \end{array}$$

Стадії синтезу:

1. Приготування розчину амінопіразольного похідного 1,4-нафтохінону $\eta_1 = 0,98$
2. Приготування розчину рамноліпиду $\eta_2 = 0,97$
3. Приготування композиційного препарату $\eta_3 = 0,99$

$$\eta_{\text{заг}} = \eta_1 * \eta_2 * \eta_3 = 0,98 * 0,97 * 0,99 = 0,941$$

Розрахунок витрати вихідного продукту 2-хлоро-3-((3-(п-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону та рамноліпідів на 1 кг 100%-го препарату

Утворення композиційного препарату відповідає такому стехіометричному співвідношенню:

$$\begin{array}{rcl} \text{х кг} & & 1 \text{ кг} \\ \text{РЛ} & = & \text{РЛ-НХ} \\ 653 & & 1016,8 \end{array}$$

Витрата 100%-го рамноліпиду для одержання 1 кг 100% композиції складе:

$$x = 653 * 1 / 1016,8 = 0,6422 \text{ г}$$

Витрата 100%-го рамноліпиду з урахуванням загального коефіцієнта виходу:

$$x = \frac{0,6422}{\eta_{\text{заг}}} = \frac{0,6422}{0,941 * 0,98 * 0,97} = 0,7179 \text{ кг}$$

Витрата 98%-го технічного рамноліпиду складає:

$$\frac{0,7179}{0,98} = 0,7325 \text{ кг, в тому числі:}$$

а) 100%-го рамноліпиду – 0,7179 кг

б) органічних домішок – 0,0146 кг

Згідно методики операційне завантаження рамноліпиду складає

$$\text{РЛ } 0,01 \text{ г} = 0,00001 \text{ кг}$$

Перерахунковий коефіцієнт від операційного завантаження до завантаження на 1 кг розчину комплексу (готового препарату):

$$K = \frac{0,7325}{0,00001} = 73250,0$$

Витрата 100%-го 2-хлоро-3-((3-(п-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону для одержання 1 кг 100% композиції складе:

$$363,8 - 1016,8$$

$$y - 1$$

$$y = \frac{363,8}{1016,8} = 0,3578 \text{ кг}$$

Витрата 100%-го 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону для 1 кг продукту з урахуванням загального коефіцієнта виходу ($\eta_{\text{заг}} = 0,9603$):

$$\frac{0,3578}{0,941 \cdot 0,98} = 0,388 \text{ кг}$$

Витрата технічного 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону рівна (97,5 % - чистої речовини і 2,5 % - органічних домішок):

$$\frac{0,388}{0,975} = 0,3979 \text{ кг}$$

Органічні домішки: 0,008 кг

Згідно експерименту операційне завантаження 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (НХ) складає 0,01 г = 0,00001 кг

Перерахунковий коефіцієнт від операційного завантаження до завантаження на 1 кг готового продукту:

$$K1 = \frac{0,3979}{0,00001} = 39790,0$$

4.2.1. Стадія 1. Приготування розчину амінопіразольного похідного 1,4-нафтохінону ($\eta_1 = 0,98$)

Згідно експерименту операційні завантаження на даній стадії такі:

а) рамноліпиду РЛ 0,01 г = 0,00001 кг

б) 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (НХ) складає 0,01 г = 0,00001 кг

в) ДМСО ($\rho = 1,1 \text{ г/см}^3$) 1 мл = 1,1 г = 0,0011 кг

$$m = V \cdot \rho$$

г) H₂O 48,8 мл = 48,8 г = 0,0488 кг

Завантажено:

1. 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (97,5 %) – 0,00001 * 39790,0 = 0,3979 кг

В тому числі 100% – 0,3979 * 0,975 = 0,3879 кг,

органічних домішок – 0,01 кг

2. ДМСО 99%

0,0011 * 39790,0 = 43,769 кг

В тому числі 100% - 43,3313 кг, вода – 0,4377 кг

Одержано:

Розчин 2-хлоро-3-((3-(*p*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (НХ) складу:

1. Розчинений 2-хлоро-3-((3-(*p*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

$0,3879 \cdot 0,98 = 0,3801$ кг

2. ДМСО 43,3313 кг

3. Вода 0,4377 кг

4. Органічні домішки 0,01 кг

5. Нерозчинений 2-хлоро-3-((3-(*p*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон

$0,3879 - 0,3801 = 0,0078$ кг

*Матеріальний баланс стадії одержання розчину 2-хлоро-3-((3-(*p*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон*

Таблиця 4.11

Завантажено:

№ п/п	Назва продукту	Маса технічного продукту, кг	Концентрація, %	Маса 100%-го продукту, кг
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>p</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,3979	97,5	0,3879
2.	ДМСО	43,769	99	43,3313
	Всього	44,1669		

Таблиця 4.12

Одержано:

№ п/п	Назва продукту	Маса 100%-го продукту, кг
	Розчин 2-хлоро-3-((3-(p-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону:	
1.	2-хлоро-3-((3-(p-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,3801
2.	ДМСО	43,3313
	Вода	0,4377
3.	Органічні домішки	0,01
4.	Нерозчинений амінопіразол	0,0078
	Всього	44,1669

4.2.2 Стадія 2. Одержання розчину рамноліпиду ($\eta=0,97$)

Згідно експерименту операційні завантаження на даній стадії:

1. Рамноліпід 98%: 0,00001 кг

2. Вода 0,0488 кг

Завантажено:

1. Рамноліпід 98 %: $0,00001 * 73250,0 = 0,7325$ кг

В тому числі: 100% рамноліпід $0,7325 * 0,98 = 0,7178$ кг

Органічні домішки: 0,0147 кг

2. Вода очищена: $0,0488 * 73250,0 = 3574,6$ кг

Одержано:

Розчин рамноліпиду складу:

1. Розчинений рамноліпід $0,7178 * 0,97 = 0,6963$ кг

2. Вода 3574,6 кг

3. Органічні домішки 0,0147 кг

4. Нерозчинений рамноліпід $0,7178 - 0,6963 = 0,0215$ кг

Матеріальний баланс стадії одержання розчину рамноліпиду

Таблиця 4.13

Завантажено:

№ п/п	Назва продукту	Маса техніч- ного продукту, кг	Концен- трація, %	Маса 100%-го продукту, кг
1.	Рамноліпід	0,7325	98	0,7178
2.	Вода	3574,6	100	3574,6
	Всього	3575,3325		

Таблиця 4.14

Одержано:

№ п/п	Назва продукту	Маса 100%-го продукту, кг
	Розчин рамноліпиду:	
1.	Рамноліпід розчинений	0,6963
2.	Вода очищена	3574,6
	Осад складу:	
3.	Нерозчинний рамноліпід	0,0215
4.	Органічні домішки	0,0147
	Всього	3575,3325

Стадія 3. Приготування композиційного препарату $\eta_3 = 0,99$

Завантажено:

1. Розчин 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону:
44,1669 кг

2. Розчин рамноліпиду 3575,3325 кг

Одержано:

Реакційна маса:

1. Амінопіразол – рамноліпід $(0,3801+0,6963)*0,99 = 1,0656$ кг

2. Вода $3574,6 + 0,4377 = 3575,0377$ кг

3. Нерозчинний рамноліпід $0,1*0,6963=0,06963$ кг

4. Амінопіразол непрореагований $0,1*0,3801 = 0,038$ кг

5. Нерозчинний амінопіразол 0,0078 кг

6. ДМСО 43,3313 кг

7. Органічні домішки 0,01 кг

Матеріальний баланс стадії приготування композиційного препарату

Таблиця 4.15

Завантажено:

№ п/п	Назва продукту	Маса технічного продукту, кг
1.	Розчин амінопіразолу	44,1669
2.	Розчин рамноліпиду	3575,3325
	Всього	3619,50

Таблиця 4.16

Одержано:

№ п/п	Назва продукту	Маса 100%-го Продукту, кг
	Склад рідкої фази:	
1.	Амінопіразол – рамноліпід	1,0656
2.	Вода	3575,0377
3.	Непрореагований рамноліпід	0,06963
4.	ДМСО	43,3313
	Всього:	3619,50
	Склад осаду:	

5.	Амінопіразол непрореагований	0,038
6.	Нерозчинний амінопіразол	0,0078
7.	Органічні домішки	0,01
	Всього:	0,0558

4.3. Опис технологічного процесу одержання композиційного препарату рамноліпідів з 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діоном

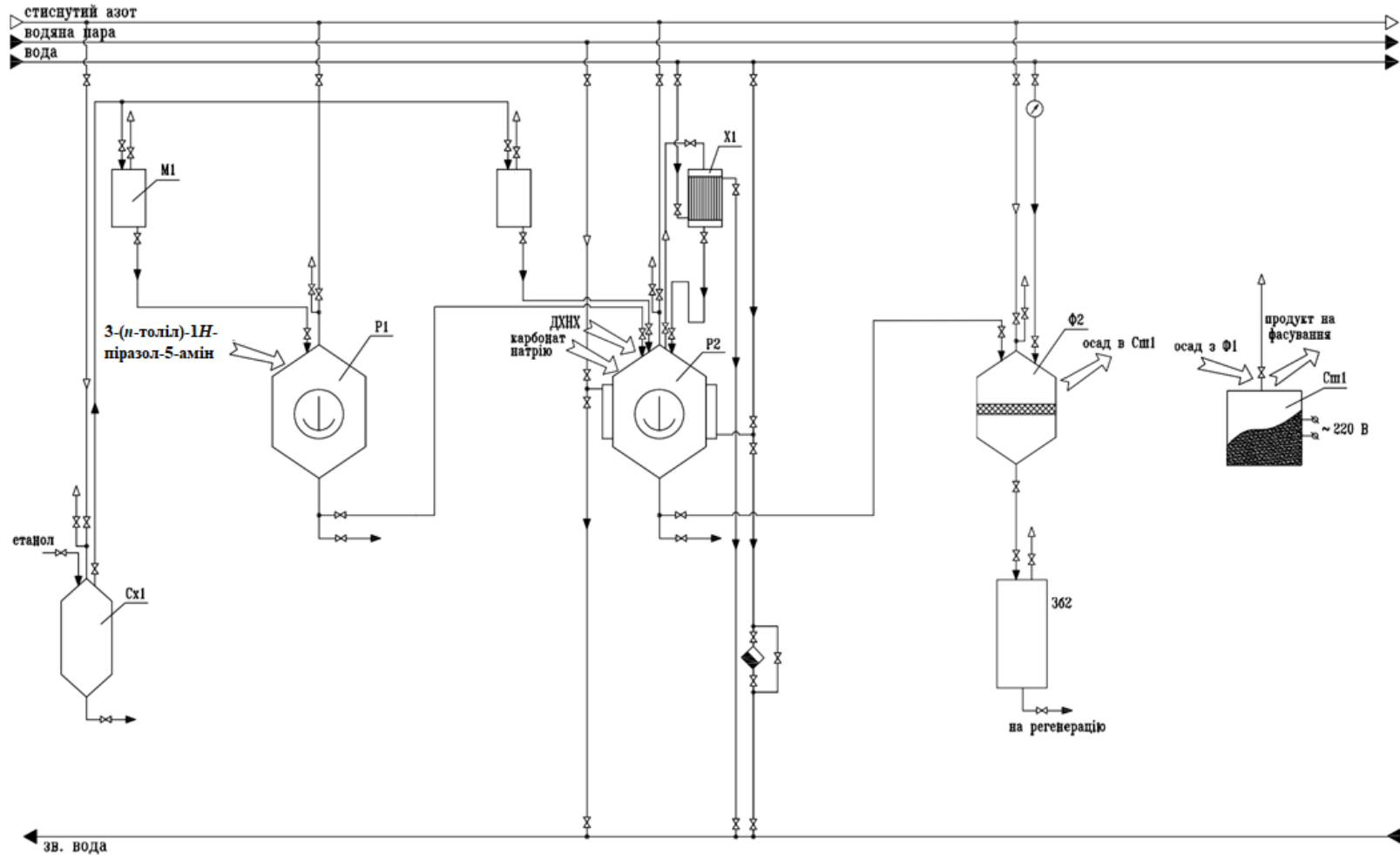


Рис.4.1. Принципова технологічна схема процесу одержання 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону

4.3.1. Опис технологічного процесу одержання 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (3.11)

У реактор Р1, оснащений якірною мішалкою зі сховища Сх1 через мірник М1 за допомогою стисненого азоту подається етанол. Через люк у реактор Р1 завантажують амінопіразол. У реактор Р2, оснащений сорочкою, якірною мішалкою і зворотним холодильником зі сховища Сх1 через мірник М1 подають етанол і через люк завантажують ДХНХ і натрій карбонат. До реакційної суміші у реактор Р2 з реактора Р1 подають спиртовий розчин амінопіразолу. Подачею пари в сорочку реактора Р2 реакційну масу нагрівають до 78 °С і витримують при такій температурі 4 години. Після цього охолоджують до кімнатної температури подачею холодної води в сорочку реактора. Осад, що утворився подають на друк-фільтр ДФ і через лічильник промивають холодною водою. З друк-фільтра осад подають у сушильну шафу.

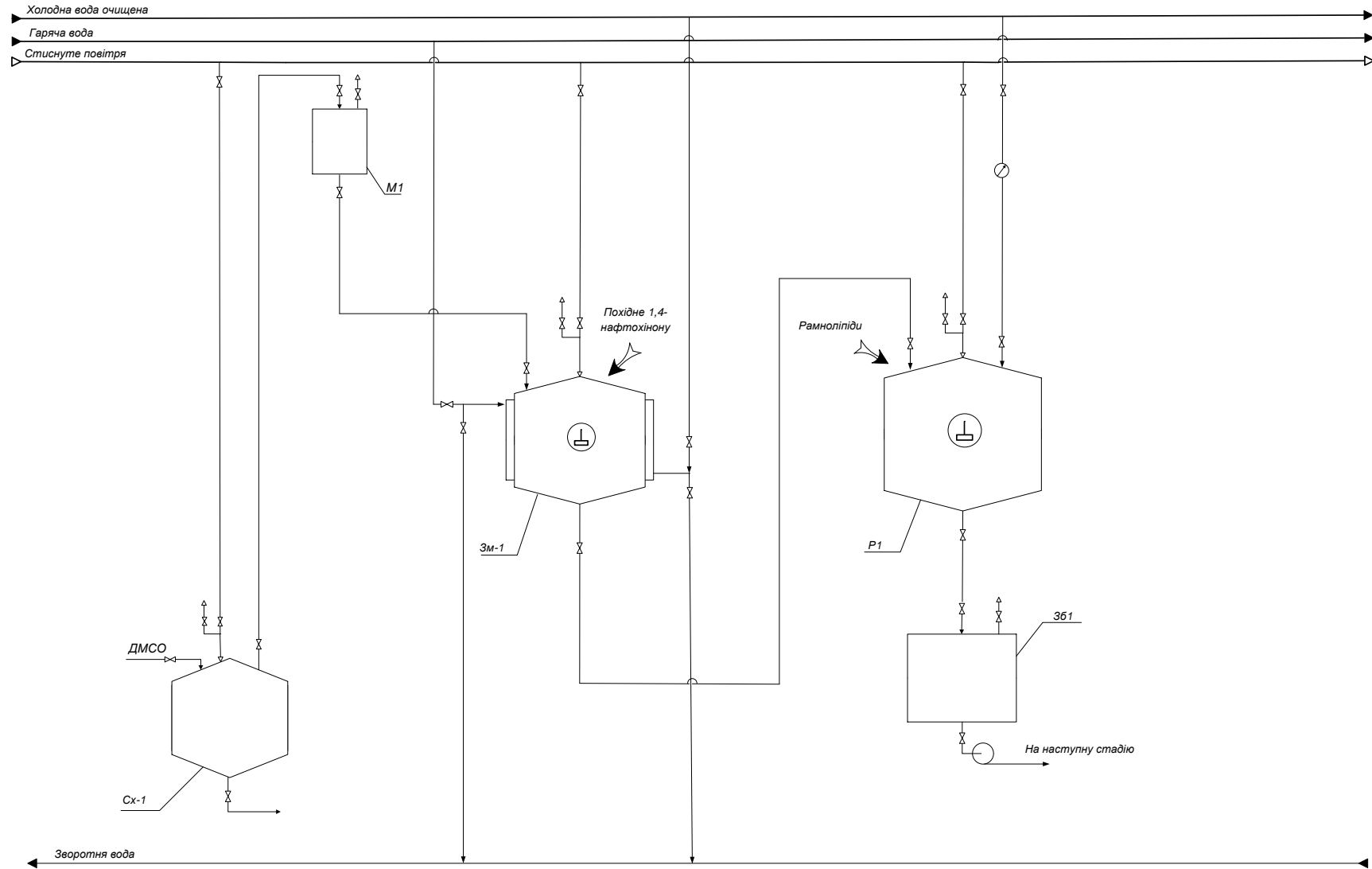


Рис.4.2. Принципова технологічна схема процесу одержання композиційного препарату на основі 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтаден-1,4-діону та рамноліпіду

4.3.2. Опис технологічного процесу одержання композиційного препарату на основі рамнолініду та 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону

В реактор Р1, оснащений сорочкою і мішалкою, із сховища Сх1 через мірник М1 подають диметилсульфоксид. Через люк в реактор Р1 завантажують 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон. Пуском гарячої води в сорочку реактора реакційну масу нагрівають до 40°C і витримують при перемішуванні і такій температурі 2 год.

В реактор Р2 через витратомір подають воду очищену і через люк завантажують рамноліпіди. При перемішуванні з реактора Р1 в реактор Р2 поступово подають розчин 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону в ДМСО і витримують при кімнатній температурі 1 год. Одержаний композиційного препарату 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону з рамноліпідами подають у збірник Зб1.

4.4. Економічна ефективність технології отримання композиційного препарату

Для визначення економічної доцільності технології нового продукту проводиться оцінка її собівартості, котра є грошовим виразом витрат підприємства як на виробництво та і на реалізацію цієї продукції [171]. Як правило, у промисловості користуються калькуляційними статтями витрат:

Таблиця 4.1

Назва витрат	Формула	Значення величин формул
Вартість сировини і матеріалів	$M_c = N_p * C * A$	M_c - вартість сировини і матеріалів, грн.; N_p - норма витрат на одиницю продукції по кожному з компонентів, кг; C - ціна на сировину і матеріали; A - об'єм продукції.
Собівартість продукції	$C = (M/Y) * 100$	C - собівартість продукції;

		<p>М- затрати на сировину і матеріали, грн.;</p> <p>У- питома вага затрат на сировину і матеріали в собівартості продукції.</p>
Ціна продукції	$C=C*(1+P/100)$	<p>Ц- ціна продукції;</p> <p>Р- рентабельність, Р=20%;</p> <p>С- собівартість продукції.</p>
Вартість електроенергії	$E_c=W*\Phi_c*T_p$	<p>E_c- вартість спожитої електроенергії;</p> <p>W-потужність електродвигунів по використаному обладнанню;</p> <p>Φ_c- годинний фонд часу досліджень, год;</p> <p>T_p- тариф кВт/год, грн.</p>
Фонд заробітної плати	$\Phi=\Phi_{\text{заг}}+\Phi_{\text{від}}$	<p>$\Phi_{\text{заг}}$- загальний фонд заробітної плати;</p> <p>$\Phi_{\text{від}}$-відрахування на соціальний фонд(22% від $\Phi_{\text{заг}}$), грн.</p>
Загальний фонд заробітної плати	$\Phi_{\text{заг}}=t*\Sigma O_{\text{пр}}$	<p>t- час досліджень, місяць;</p> <p>$t*\Sigma O_{\text{пр}}$- оклади працівників, які приймають участь у розробці, грн..</p>
Амортизаційні відрахування за обладнанням	$A=(C*N_a*K)/(100*T_{\text{еф}})$	<p>A-амортизаційні відрахування;</p> <p>С- повна вартість обладнання;</p> <p>N_a- норма амортизаційних відрахувань, $N_a= 25\%$;</p> <p>K- кількість днів використання,</p> <p>$T_{\text{еф}}$- ефективний фонд робочого часу, дні.</p>
Орендна плата за приміщення	$Z_c=F*O_c*T_{\text{пр}}$	<p>F- площа приміщення, м²;</p> <p>O_c- вартість оренди приміщення за 1м²;</p> <p>$T_{\text{пр}}$- термін оренди, міс.</p>

4.4.1. Розрахунок економічної ефективності технології отримання ПАР *Pseudomonas* sp. PS-17

Розрахунок проводили за методикою вказаною у [143]. Для здешевлення та модифікації виробництва використовували ріпакову олію в кількості 30 г/л та гліцерин 20 г/л.

Витрати на сировину і матеріали розраховуються як сума добутків норм витрачання різних видів сировини й матеріалів та вартості одиниці відповідних видів сировини й матеріалів:

$$V_m = \sum P_i \cdot C_i \quad (4.7)$$

де P_i – витрата i -того виду матеріальних ресурсів, кг;

C_i – ціна i -того виду матеріальних ресурсів, грн./кг.

В якості сировини - компоненти ПС для культивування *Pseudomonas* sp. PS-17

(ціни з каталогу реактивів https://www.systopt.com.ua/prodcutcategory/reaktyvy_ta_khimichna_syrovana/neorhanichni_rechovyny та із каталогу SigmaAldrich (<https://www.sigmaaldrich.com/UA/en/product>), <https://www.sfera.com.ua>).

Вартість компонентів для отримання 1 м³ ПС – у табл.

Таблиця 4.2

Вартість сировини для отримання 1 м³ поживного середовища для культивування штаму *Pseudomonas* sp. PS-17

№	Компоненти поживного середовища	Кількість сировини, витрачена на 1 м ³ ПС, кг	Вартість сировини, грн./кг	Вартість сировини, грн. грн./м ³ ПС	Вартість реактиву на 1 кг ПАР, грн./кг
1.	C ₃ H ₈ O ₃	30,0	69,60	2088,00	122,82
2.	Ріпакова олія	20,0	34,0	680,00	40,00
3.	NaNO ₃	4,0	36,00	144,00	8,47
4.	KH ₂ PO ₄	1,2	108,00	129,60	7,62
5.	K ₂ HPO ₄ *3H ₂ O	2,0	156,0	312,00	18,35
6.	MgSO ₄ *7H ₂ O	0,5	9,0	4,50	0,26
7.	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ *2H ₂ O	5,0	129,0	645,00	37,94
8.	Дріждж.екстракт	0,5	1100,0	550,00	32,35
Всього:				5173,10	267,81

Витрати на електроенергію визначаються за формулою:

$$E_c = \sum W_i \cdot \Phi_{ci} \cdot T_{pi}, \quad (4.8)$$

де W_i – потужність електроспоживачів, кВт;

Φ_{ci} – фонд роботи електричного обладнання, год;

T_{pi} – тариф, грн/кВт·год. (4,8 грн./кВт·год.).

При культивуванні штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 у ферментері з вихровою системою використовується наступне електрообладнання (дис.Карпенко): перемішувач (3,0 кВт), компресор повітря (3,0 кВт) та термостат (2,0 кВт). Цикл роботи вихрового ферментера становить 96 год.

Таблиця 4.3

Вартість сировини для отримання 1 кг рамноліпідів *Pseudomonas* sp. PS-17

Умови культивування	Вихід РЛ, кг/м ³	Час ферментації, год.	Вартість ПС, грн.		Вартість електроенергії, грн.		Собівартість 1 кг РЛ, грн/кг.
			за 1 цикл	на 1 кг РЛ	за 1 цикл	на 1 кг РЛ	
У ферментері з вихровою системою аерації	17,0	96	2418,32	267,81	3686,4	408,23	676,04

Розрахунок економічної ефективності проводили по перших двох статтях витрат (приблизно 20 % собівартості продукції), повна собівартість 1 кг рамноліпідів становить $676,04/0,2=3380,2$ грн./кг.

4.4.2. Розрахунок економічної ефективності отримання 2-хлоро-3-((3-(p-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону

Вартість сировини і матеріалів

Вартість сировини і матеріалів, що використано підчас проведення досліджень, визначається за формулою:

$$M_c = N_p * C * A$$

де M_c — вартість сировини і матеріалів, грн.

N_p — норма витрат на одиницю продукції по компонентах, кг.

C — ціна одиниці сировини або матеріалів, грн.

A — об'єм продукції, $A=1000$ г.

Ціни на основні та допоміжні матеріали взяті з інтернет сторінки <https://sfera.com.ua/> та із каталогу SigmaAldrich (<https://www.sigmaaldrich.com/UA/en/product>). Вартість сировини та матеріалів, необхідних для проведення досліджень, наведена у таблиці.

Таблиця 4.4

Вартість сировини

№ п/п.	Найменування Матеріалів	Витратний коефіцієнт кг/1кг	Ціна 1 кг, грн.	Загальна сума, грн.	Питома вага затрат по матеріалах, %
1.	2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	0,807	1134,00	915,14	16,87
2.	3-(p-толіл)-1H-піразол –5-амін	0,6222	2680,00	1667,50	30,75
3.	натрій карбонат	0,3832	25,00	9,58	0,18
4.	етанол	45,864	61,5	2820,63	52,01
5.	Вода очищена	1,911	5,4	10,30	0,19
Всього				5423,15	100,000

$$M_c = 5423,15 \text{ грн.}$$

Визначення собівартості та цін продукції

Собівартість продукції визначається за формулою:

$$C = (M/Y) * 100,$$

де С – собівартість продукції, грн.;

М - затрати на сировину і матеріали, грн.

У — питома вага затрат на сировину і матеріали в собівартості продукції. У = 71,8%

$$C = (5423,15/71,8) * 100 = 7553,13 \text{ грн.}$$

Ціна продукції визначається за формулою:

$$Ц = C * (1 + P/100),$$

де Р - рентабельність, Р = 20% приймаємо на початок впровадження препарату у виробництво;

$$Ц = 7553,13 * (1 + 20/100) = 9063,75 \text{ грн.}$$

Розрахунок вартості спожитої електроенергії

Розрахунок вартості спожитої електроенергії для технологічних цілей визначається за формулою:

$$E_c = W * \Phi_c * T_p,$$

де E_c — вартість спожитої електроенергії, грн.

W — потужність електродвигунів використаного електрообладнання;

Φ_c — годинний фонд часу досліджень, год.

T_p — тариф кВт/год., грн.

Таблиця 4.5

Вартість електроенергії

№	Прилади і обладнання	Кількість використаної електроенергії		Тариф за кВт/год., грн.	Сума затрат на електроенергію, грн.
		кількість, год	витрата, кВт/год		
1	Шафа витяжна	12	4	4,8	230,40
2	Сушильна шафа	35	2	4,8	336,00

3	Магнітна мішалка	30	0,14	4,8	20,16
4	Аналітичні ваги	2	0,05	4,8	0,49
Всього					587,05

Розрахунок фонду заробітної плати

У розробці даної наукової роботи приймали участь:

1. Аспірант з розміром стипендії — 6705,00 грн/місяць;
2. Науковий керівник з окладом — 90 грн/год. На консультації відведено 50 год.

Термін проведення робіт становить 3 місяці.

Загальний фонд заробітної плати становить:

$$\Phi_{\text{заг}} = 6705,00 * 3 + 90 * 50 = 24615,00 \text{ грн.}$$

Єдиний соціальний внесок складає 22 % від загального фонду заробітної плати:

$$\Phi_{\text{від}} = 90 * 50 * 0,22 = 990,00 \text{ грн.}$$

Загальний фонд заробітної плати сумарно з відрахуванням становить:

$$\Phi_{\text{заг+від}} = 24615,00 + 990,00 = 25605,00 \text{ грн.}$$

Визначення вартості основних фондів і амортизаційних відрахувань

Таблиця 4.6

Вартість апаратури

<i>№</i>	<i>Назва апаратури</i>	<i>Кількість, шт.</i>	<i>Ціна одиниці апаратури, грн.</i>	<i>Загальна вартість апаратури, грн.</i>
1.	Сушильна шафа	1	9500,00	9500,00
2.	Магнітна мішалка	1	4250,00	4250,00
3.	Аналітичні ваги	1	4200,00	4200,00
Разом:				17950,00
4.	Невраховані витрати на апаратуру (15%)			2692,50
Всього:				20642,50

Таблиця 4.7

Вартість лабораторного посуду

<i>№</i>	<i>Назва посуду</i>	<i>Кількість, шт.</i>	<i>Ціна однієї шт., грн.</i>	<i>Загальна вартість посуду, грн.</i>
1.	Термостійка колбі зі шліфом на 500 мл	2	190,00	380,00
2.	Холодильник спіральний із зовнішнім і внутрішнім охолодженням	2	300,00	600,00
3.	Циліндр мірний 250 мл	2	120,00	240,00
4.	Пробірки на 25 мл	10	10,00	100,00
5.	Фільтрувальний папір 1 кг	0,25	150,00	37,50
6.	Склянка хімічна з міткою	4	113,40	453,6
7.	Чашка Петрі	10	33,00	330,00
8.	Шпатель металевий	2	20,00	40,00
9.	Скляна паличка	2	10,00	20,00
10.	Лапка	2	260,00	520,00
11.	Тіло обертання	2	150,00	300,00
12.	Штатив лабораторний	2	420,00	840,00
Всього:				3861,10

Амортизаційні відрахування розраховуються за формулою:

$$A = (C * N_a * K) / (100 * T_{\text{еф}}), \text{ де}$$

A- амортизаційні відрахування;

C- повна вартість обладнання;

N_a - норма амортизаційних відрахувань, $N_a = 25\%$;

K- кількість днів використання, $K = 60$;

$T_{\text{еф}}$ - ефективний фонд робочого часу, дні

$$A = (24503,60 * 25 * 60) / (100 * 250) = 1470,20 \text{ грн.}$$

Розрахунок орендної плати за приміщення

Таблиця 3.20

Вартість оренди

<i>Призначення приміщення</i>	<i>Площа, м²</i>	<i>Вартість оренди за 1 м² за рік, грн.</i>	<i>Вартість оренди приміщення за рік, грн.</i>	<i>Вартість оренди приміщення за 3 міс.</i>
Лабораторія	25	500,00	12500,00	3125,00

Таблиця 4.9

Загальна вартість досліджень

<i>№</i>	<i>Витрати</i>	<i>Сума, грн.</i>
1	Вартість сировини і матеріалів	5423,15
2	Вартість електроенергії	587,05
3	Фонд заробітної плати	25605,00
4	Амортизаційні відрахування	1470,20
5	Витрати лабораторний посуд та обладнання	3861,10
6	Витрати на апаратуру	20642,50
7	Орендна плата за приміщення	3125,00
	Разом	60714,00
	Накладні витрати (20% від прямих)	12142,80
	Всього:	72856,80

Висновки: затрати на отримання 1 кг 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону у лабораторних умовах становлять 72856,80 грн. Зважаючи на можливість створення на його основі кількох лікарських форм та композиційних препаратів можна стверджувати, що впровадження його отримання у промисловості є перспективним та забезпечить високі показники економічної рентабельності.

4.4.3. Розрахунок економічної ефективності розробленої технології композиційного препарату на основі рамноліпідів та 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону

Таблиця 4.10

Вартість сировини

№ п/п	Найменування матеріалів	Витратний коефіцієнт кг/100 г	Ціна 1 кг, грн.	Загальна сума, грн.	Питома вага затрат по матеріалах, %
1.	2-хлоро-3-((3-(<i>p</i> -толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон	0,03726	5423,15	202,1	0,92
2.	Рамноліпід	0,06686	3380,2	226,0	1,01
3.	ДМСО	7,50647	495,00	3715,7	16,65
4.	Вода очищена	3364,54	5,4	18168,51	81,42
Всього				22312,31	100,000

Розрахунок вартості спожитої силової та технологічної електроенергії

Розрахунок вартості спожитої електроенергії для технологічних цілей визначається за формулою :

Таблиця 4.11

Вартість електроенергії

№ п/п	Прилади і обладнання	Кількість використаної електроенергії		Тариф за кВт/год, грн	Сума затрат на електроенергію, грн.
		Кількість, год	Витрата, кВт/год		

1	Магнітна мішалка	15	0,14	2,4	5,04
2	Аналітичні ваги	2	0,05		0,24
3	Шафа витяжна	6	4		57,60
Всього					62,88

Розрахунок фонду заробітної плати

У розробці даної наукової роботи приймали участь:

3. Аспірант з розміром стипендії — 6705,00 грн/місяць;

4. Науковий керівник з окладом — 90 грн/год. На консультації відведено 20 год.

Термін проведення робіт становить 2 місяців.

Загальний фонд заробітної плати становить:

$$\Phi_{\text{заг}} = 3200 \cdot 2 + 90 \cdot 20 = 8200,00 \text{ грн.}$$

Єдиний соціальний внесок складає 22 % від загального фонду заробітної плати:

$$\Phi_{\text{від}} = 90 \cdot 20 \cdot 0,22 = 396,00 \text{ грн.}$$

Загальний фонд заробітної плати сумарно з відрахуванням становить:

$$\Phi_{\text{заг+від}} = 8200,00 + 396,00 = 8596,00 \text{ грн.}$$

Визначення вартості основних фондів і амортизаційних відрахувань

Таблиця 4.12

Вартість апаратури

<i>№</i>	<i>Назва апаратури</i>	<i>Кількість, шт.</i>	<i>Ціна одиниці апаратури, грн.</i>	<i>Загальна вартість апаратури, грн.</i>
1.	Магнітна мішалка	1	2150,00	2150,00
2.	Аналітичні ваги	1	4200,00	4200,00
<i>Разом:</i>				<i>6350,00</i>
<i>Невраховані витрати на апаратуру (15%)</i>				<i>952,50</i>
<i>Всього:</i>				<i>7302,50</i>

Таблиця 4.13

Вартість лабораторного посуду та обладнання

<i>№</i>	<i>Назва посуду</i>	<i>Кількість, шт.</i>	<i>Ціна однієї шт., грн.</i>	<i>Загальна вартість посуду, грн.</i>
1.	Колба мірна з корком	2	71,00	142,00
3.	Циліндр мірний 100 мл	1	52,00	52,00
4.	Лійка лабораторна	1	43,00	43,00
5.	Фільтрувальний папір 1 кг	0,25	37,00	9,25
6.	Колба конічна 100 мл	2	60,00	120,00
8.	Шпатель металевий	2	10,00	20
9.	Скляна паличка	2	10,00	20
10.	Лапка	1	260,00	260,00
11.	Тіло обертання	1	150,00	150,00
12.	Штатив лабораторний	1	275,00	275,00
	Всього:			1091,25

Амортизаційні відрахування розраховували за формулою ()

$$A = ((6350,00 + 1091,25) * 25 * 42) / (100 * 250) = 312,53 \text{ грн.}$$

Розрахунок орендної плати за приміщення

Таблиця 4.14

Вартість оренди

<i>Призначення приміщення</i>	<i>Площа, м²</i>	<i>Вартість оренди за 1 м² за рік, грн.</i>	<i>Вартість оренди приміщення за рік, грн.</i>	<i>Вартість оренди приміщення за 2 міс.</i>
Лабораторія	25	300,00	7500,00	1250,00

Загальна вартість досліджень

Таблиця 4.15

Загальна вартість досліджень

<i>№</i>	<i>Витрати</i>	<i>Сума, грн.</i>
1	Вартість сировини і матеріалів	22312,31
2	Вартість електроенергії	62,88
3	Фонд заробітної плати	8596,00
4	Амортизаційні відрахування	312,53
5	Витрати лабораторний посуд	1091,25
6	Витрати на апаратуру	7302,50
7	Орендна плата за приміщення	1250,00
Разом		40927,47
	Накладні витрати (20% від прямих)	8185,49
Всього:		49112,96

Висновки: затрати на отримання 1 кг композиційного препарату у лабораторних умовах становлять 49112,96 грн. Зважаючи на можливість застосування композиційного препарату як перспективного протисудомного засобу можна стверджувати, що впровадження його отримання у промисловості є перспективним та забезпечить високі показники економічної рентабельності.

4.5. SWOT-аналіз та порівняльні характеристики нового протисудомного композиційного препарату на основі амінопіразольних похідних 1,4-нафтохінону та рамноліпиду з існуючими на ринку

З метою формування ринкового потенціалу композиційного препарату комбінованої дії з протисудомними властивостями задіяна низка інструментів, підходів і маркетингових рішень. Визначено поетапність його просування на ринку діючих протисудомних засобів (рис. 4.2):

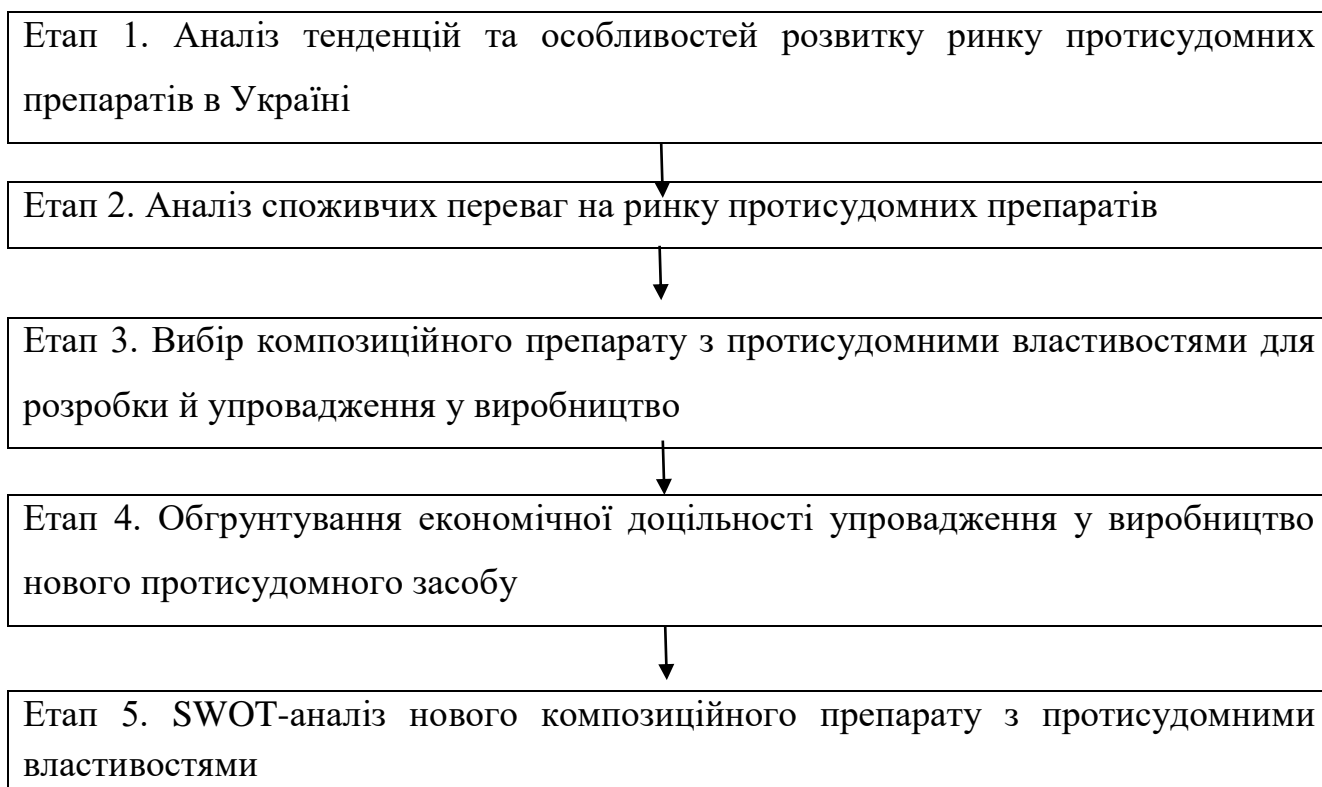


Рис.4.2. Поетапність просування нового протисудомного композиційного препарату на основі амінопіразольних похідних нафтохінону та рамноліпиду на ринку діючих протисудомних засобів

Одними із важливих етапів є обґрунтування доцільності розробки і виведення на ринок нового лікарського засобу та SWOT-аналіз.

Як відомо, при впровадженні нових продуктів чи технологій, при стратегічному плануванні застосовується універсальна методика стратегічного менеджменту, так званий метод SWOT- аналізу [172].

Завдяки аналізу з'ясовують сильні і слабкі сторони суб'єкта господарювання із подальшим виявленням загроз і можливостей, пов'язаних з його функціонуванням. При цьому аналіз враховує стан як внутрішнього, так і зовнішнього середовища суб'єкта.

Умови, що впливають, поділяють на такі чотири категорії як: **Сильними** сторонами (переваги) композиційних препаратів у порівнянні з синтетичними лікарськими засобами, що є на ринку, є комбінована та пролонгована дія на ЦНС, активність за низьких концентрацій, низька токсичність, екологічність. Як відомо,

препарати вальпроєвої кислоти такі як: Депакін Хроно, Вальпроком Хроно, Конвулекс, Конвульсофін, є діючими препаратами на ринку, які володіють протисудомною активністю [173-175] Проте, у пацієнтів з епілепсією супутньою патологією є депресія. Тому, зазвичай, для лікування застосовують в комплексі препарати з антидепресивною активністю. Типовим трициклічним антидепресантом є амітриптилін [176]. Проте, як відомо, трициклічні антидепресанти зумовлюють низку побічних ефектів, а саме: антихолінергічний, антигістамінний та кардіотоксичний ефекти [177-178]. Новий композиційний препарат демонструє антидепресивну та протисудомну активність, що зменшить вищезазначені побічні ефекти.

Слабкими сторонами технологій композиційних препаратів є значні витрати на впровадження та обмеженість ринкових досліджень.

Можливості, котрі з'являються при реалізації даної технології: поєднуючи фізико-хімічні, біологічні властивості та низьку токсичність біосурфактантів в комбінації з N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону забезпечать потреби сучасного ринку у продуктах нового покоління, ефективних й екологічно безпечних на заміну синтетичних ПАР та інших застосувань.

Недостатньо інформації про досвід виробництва та застосування комбінованих препаратів на основі N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів, а також, низький рівень інформованості споживачів про їх властивості, галузі застосування, переваги біоПАР у сучасних технологіях становлять **загрози**, пов'язані з здійсненням даної технології.

Висновки до Розділу 4. На основі отриманих результатів розроблено технологію одержання 2-хлоро-3-((3-(n-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону та його композиційного препарату з рамноліпідами. Проведено економічний розрахунок орієнтовної ціни та SWOT-аналіз композиційного препарату на основі рамноліпіду та 2-хлоро-3-((3-(n-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону та їх матеріальний баланс. Встановлено, що завдяки своїй комплексній дії, пролонгованості та екологічності розроблений композиційний препарат є цілком конкурентноспроможним на сучасному ринку протисудомних препаратів.

РОЗДІЛ 5. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СИНТЕЗОВАНИХ АМІНОВМІСНИХ ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ ПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ ТА КОМПОЗИЦІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ З БІОСУРФАКТАНТАМИ

5.1. *In silico* скринінг синтезованих сполук

Зважаючи на трудоемкість та на витратність процесу пошуку нових перспективних біологічно активних сполук, більшість науковців на початковому етапі користуються методами комп'ютерного прогнозування *in silico*. За допомогою комп'ютерного прогнозу спектру біологічної активності можна планувати експериментальні біологічні дослідження, хімічний синтез, пришвидшити пошук та розробку нових препаратів. Також можна спрогнозувати токсичність синтезованих сполук, що є важливим для прийняття рішення про їх поральшу роботу з ними.

5.1.1. Прогнозування біологічної активності синтезованих сполук програмою PASS

Для ефективного пошуку нових сполук з біологічною активністю необхідний їх старанний відбір на стадії планування синтезу. Користуючись програмою PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [<http://www.ibmh.msk.su/PASS>] [179-180] та маючи лише структурну формулу сполуки, можна спрогнозувати усі можливі типи та напрямки її біологічної активності [180]. Так, структура сполук, що досліджуються в програмі PASS є у вигляді дескрипторів MNA (Multilevel Neighbourhoods of Atoms), котрі є універсальними і з досить високою точністю відображають залежності “структура–властивість” та мають середню точність прогнозу понад 85 %.

Результатами *in silico* розрахунків є такі два показники як:

- Pa (ймовірність біологічної “активності”) дає оцінку імовірної приналежності досліджуваної структури до підкласу активних сполук;
- Pi (ймовірність біологічної “неактивності”) дає оцінку імовірної приналежності досліджуваної структури до підкласу так званих неактивних речовин.

Проведено *in silico* скринінг біологічної активності для одержаних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону 3.6-3.11, 3.26-3.27, 3.31-3.37 та 3.35 відповідно. Одержані результати наведено у додатку В.

Так, за результатами прогнозування активності амінопіразолів з хіноновим фрагментом (3.6-3.8, 3.11), виявлено, протипухлинну, анальгетичну, антипаркінсонічну, протисудомну, антинейродегенеративну активності, та потенціал як інгібіторів деяких ферментів (Додаток В, Табл. В1)[163, 168].

Проаналізувавши отримані результати прогнозованої активності 1,2,4-триазино та 1,2,4-триазоловмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону можна зробити висновок, що усі речовини, окрім **3.27**, з імовірністю $P_a > 0,7$ володіють протираковою активністю. 1,2,4-Триазоловмісні похідні нафтохінону (**3.31-3.37**) з імовірністю $P_a > 0,8$ є інгібіторами гістидинкінази і можуть бути перспективними протимікробними препаратами. Також є перспектива дослідження використання синтезованих сполук як інгібіторів протеїнкінази у комплексній терапії раку.

Результати проведених *in silico* досліджень продуктів **3.14-3.15**, **3.21-3.25**. вказують на доцільність вивчення їх протиракової ($P_a > 0,6$) та протисудомної активності ($P_a > 0,4$), а також можливість інгібування ферментів групи кіназ у експериментальних дослідженнях.

Отже, за результатами *in silico* скринінгу ($P_a > 0,4$) досліджуваних сполук можна стверджувати про перспективність їх експериментальних біологічних досліджень.

5.1.2. Прогнозована гостра токсичність синтезованих сполук

Однією із значущих характеристик для створення нових лікарських препаратів є оцінка гострої токсичності, здійснена на гризунах. З етичних міркувань та зважаючи на доволі високу ціну таких експериментів, ми скористались безкоштовним методом моделювання гострої токсичності для гризунів QSAR, реалізований в програмному забезпеченні GUSAR (<http://www.pharmaexpert.ru/GUSAR/AcuToxPredict/>). На основі цієї програми можна створювати моделі QSAR [181]. Гостра токсичність є шкідливим ефектом

(або смертю), що виникає через короткий проміжок часу після початку дії речовини після введення однієї дози. Значення LD₅₀ - важлива характеристика гострої токсичності, доза якої зумовлює 50 % смертності за 24 год після введення сполуки. Прогнозування гострої токсичності гетероциклічних аміновмісних похідних 1,4-нафтохінону для щурів здійснювали за допомогою внутрішньочеревного, внутрішньовенного, орального та підшкірного введення сполук.

Таблиця 5.1

Прогнозована гостра токсичність синтезованих гетероциклічних аміновмісних похідних 1,4-нафтохінону для щурів

№ сполуки	Внутрішньочеревний шлях введення		Внутрішньовенний шлях введення		Оральний шлях введення		Підшкірний шлях введення	
	LD ₅₀ (мг/кг)	Класифікація токсичності речовини*	LD ₅₀ (мг/кг)	Класифікація токсичності речовини*	LD ₅₀ (мг/кг)	Класифікація токсичності речовини*	LD ₅₀ (мг/кг)	Класифікація токсичності речовини*
3.6	760,600	Class 5	113,600	Class 4	672,200	Class 4	753,600	Class 4
3.7	1282,000	Non Toxic	86,480	Class 4	1479,000	Class 4	536,500	Class 4
3.8	1095,000	Class 5	94,950	Class 4	1537,000	Class 4	2590,00	Non Toxic
3.9	289,800	Class 4	105,500	Class 4	587,300	Class 4	863,700	Class 4
3.10	395,400	Class 4	52,700	Class 4	381,800	Class 4	1205,000	Class 5
3.11	675,300	Class 5	108,700	Class 4	730,700	Class 4	727,300	Class 4
3.14	947,600	Class 5	284,500	Class 4	1334,000	Class 4	766,300	Class 4
3.15	653,200	Class 5	191,500	Class 4	945,100	Class 4	612,800	Class 4
3.21	1137,000	Class 5	161,400	Class 4	2483,000	Class 5	1374,000	Class 5
3.22	955,600	Class 5	223,800	Class 4	1954,000	Class 4	580,600	Class 4
3.23	1527,000	Non	163,100	Class 4	2262,000	Class 5	1064,000	Class 5

		Toxic						
3.24	1634,000	Non Toxic	203,700	Class 4	2061,000	Class 5	1204,000	Class 5
3.25	364,700	Class 4	153,400	Class 4	999,000	Class 4	333,600	Class 4
3.26	727,200	Class 5	215,600	Class 4	1879,000	Class 4	1024,000	Class 5
3.27	712,000	Class 5	126,900	Class 4	1268,000	Class 4	892,300	Class 4
3.31	861,600	Class 5	159,900	Class 4	2320,000	Class 5	1102,000	Class 5
3.32	857,100	Class 5	132,700	Class 4	2653,000	Class 5	1374,000	Class 5
3.33	985,300	Class 5	118,900	Class 4	2579,000	Class 5	1200,000	Class 5
3.34	1536,000	Non Toxic	120,400	Class 4	3213,000	Class 5	1909,000	Class 5
3.35	1579,000	Non Toxic	131,000	Class 4	2783,000	Class 5	2263,000	Class 5
3.36	861,700	Class 5	115,300	Class 4	1664,000	Class 4	1821,000	Class 5
3.37	811,100	Class 5	145,500	Class 4	3306,000	Class 5	1691,000	Class 5
3.36	770,800	Class 5	209,300	Class 4	298,600	Class 3	537,500	Class 4

Примітка: * Класифікація гострої токсичності для гризунів за проектом ОЕСР (Організації економічного співробітництва та розвитку).

Отримані результати прогнозу гострої токсичності синтезованих амінопіразольних та амінопіридинових похідних 1,4-нафтохінону **3.6-3.11** (табл. 5.1) дають підстави стверджувати, що, очевидно, їх можна зарахувати до малотоксичних препаратів (4, 5 клас токсичності). А також отримані прогнозовані дані вказують на те, що сполука **3.7** при внутрішньочеревному шляху введення є нетоксичною, а сполука **3.8** нетоксична при підшкірному шляху введення.

Аналіз прогнозування гострої токсичності синтезованих 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону **3.26-3.27, 3.31-3.35** (табл. 5.1) дає підстави заявляти, що, імовірно, їх можна зарахувати до малотоксичних препаратів (4, 5 клас токсичності). У свою чергу, сполуки **3.34** та **3.35** при внутрішньочеревному шляху введення, ймовірно є нетоксичними.

Обміркувавши результати прогнозованої гострої токсичності сполук **3.14-3.15, 3.21-3.25**, можна стверджувати про їх ймовірну малотоксичність (4, 5 клас) та ймовірну нетоксичність **3.23** та **3.24** при внутрішньочеревному введенні.

Отже, проведені первинний скринінг біологічної активності та токсичності синтезованих сполук свідчать про високу доцільність подальших експериментальних доклінічних досліджень з метою пошуку в цьому ряді нових ефективних лікарських субстанцій.

5.2. Фармакологічні властивості синтезованих сполук

Пошук нових нейротропних засобів є одним із найважливіших 5 напрямків медицини. Відомо, що таке захворювання центральної нервової системи (ЦНС), як депресія, є супутньою патологією у пацієнтів з епілепсією. Антидепресанти збільшують ризик виникнення судом [175]. Тому пошук нових синтетичних сполук, які б демонстрували антидепресивну та протисудомну активність, що зменшить вищезазначені побічні ефекти, мають комбіновану і пролонговану дію на центральну нервову систему є актуальною проблемою сучасної фармакології.

Відомим аналогом сполук за фармакологічною дією (антидепресивною) є типовий трициклічний антидепресант – амітриптилін [178]. Проте, як відомо, трициклічні антидепресанти зумовлюють низку побічних ефектів, а саме: антихолінергічний, антигістамінний та кардіотоксичний ефекти [182].

5.2.1. Антидепресивна активність амінопіразоло-, 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону

(3.6-3.11, 3.26-3.27, 3.31-3.35)

При дослідженні антидепресивної активності новосинтезованих амінопіразоло-, 1,2,4-триазино-, 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону (**3.6-3.11, 3.26-3.27, 3.31-3.35**) виявлено, що середній період нерухомості через 3 год після перорального прийому знижувався як у тварин, що отримували амітриптилін (контроль), так і отримані сполуки (**3.6-3.11, 3.26-3.27, 3.31-3.35**). Антидепресивна активність сполук етил-4-((3-хлоро-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилату **3.6**, 2-((2-(6-(4-ізопропілфеніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно) нафтален-1,4-діону **3.27**, 2-((2-(3-(3-фторофеніл)-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діону **3.31** не перевищувала результати контрольного препарату (табл. 5.2). Однак, через 24 год після введення амітриптиліну не було статистично значущої різниці в часі нерухомості тварин щодо контрольних груп. Натомість, всі досліджені гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінонів виявили суттєвий антидепресивний ефект ($p < 0,01$ порівняно з амітриптиліном), що вказує на значну пролонгованість їх дії [145, 164].

Таблиця 5.2

Антидепресивна дія досліджуваних сполук

Час зависання, с		
Контроль	95.0 ± 8.7	
Сполука	3 год після введення	24 год після введення
3.6	16.0 ± 6.7	39.3 ± 8.7**
3.7	51.7 ± 7.8	34.7 ± 4.9**
3.8	70.7 ± 5.2	20.0 ± 4.5**
3.9	39.0 ± 4.4	45.7 ± 4.7**
3.10	27.3 ± 3.7	47.7 ± 3.0**
3.11	46.3 ± 7.8	53.7 ± 3.2**
3.26	10.7 ± 0.7**	11.3 ± 2.8**
3.27	12.3 ± 1.2**	13.7 ± 4.4**
3.31	23.0 ± 4.4	10.3 ± 2.3**
3.32	67.7 ± 1.2	12.0 ± 4.0**
3.33	50.0 ± 4.2	23.3 ± 2.3**
3.34	33.3 ± 3.3	12.3 ± 1.5**
3.35	68.3 ± 9.4	12.7 ± 1.3**
Амітриптилін	25.7 ± 3.5	93.7 ± 4.4

Примітка: Усі значення виражаються як середнє значення ± SEM; n = 5 мишей; для всіх дослідних груп p < 0,01 порівняно з контрольною; ** p < 0,01 у порівнянні з амітриптиліном.

Як видно з таблиці 5.2 найкраща антидепресивна активність після трьох годинного введення зареєстрована для сполук етил-4-((3-хлоро-1,4-дигідронафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилату **3.6** - 16.0 ± 6.7 с, 2-((2-(6-(4-фторофеніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно)нафтален-1,4-діону **3.26** - 10.7 ± 0.7 с, 2-((2-(6-(4-ізопропілфеніл)-5-оксо-2,5-

дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно) нафтален-1,4-діону **3.27** - 12.3 ± 1.2 с. По 24 год після введення – усі пропоновані сполуки дають високий ефект порівняно з амітриптиліном. Так, антидепресивна активність сполук **3.6-3.7**, **3.8** перевищує амітриптилін у 2,5 рази, а для сполук **3.26**, **3.27**, **3.31**, **3.32**, **3.34** і **3.35** у 5 рази вищій, ніж у амітриптиліну .

5.2.2. Протисудомна активність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону

Аналогами за протисудомною активністю є відомі препарати вальпроєвої кислоти (VPA) [174]. Розробка нових сполук, що володіють комбінованою дією на центральну нервову систему (ЦНС), є важливим завданням сьогодення.

При аналізі даних дослідження протисудомного ефекту визначено, що амінопохідні 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (**3.6-3.11**) в інтервалі вищесказаних доз виявляють дозозалежний ефект. Так, при пероральному введенні синтезованих похідних нафтохінону (100 мг/кг) через 3 год показники ДКТС та ДТЕ в середньому склали 231% та 207%, відповідно, у порівнянні із контролем (100%), що свідчить про наявність протисудомного ефекту у нових сполук, який проявляється на коротких проміжках часу (рис.5.1) [164]. Найбільш активною сполукою в даному часовому періоді є 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діон **3.7**.

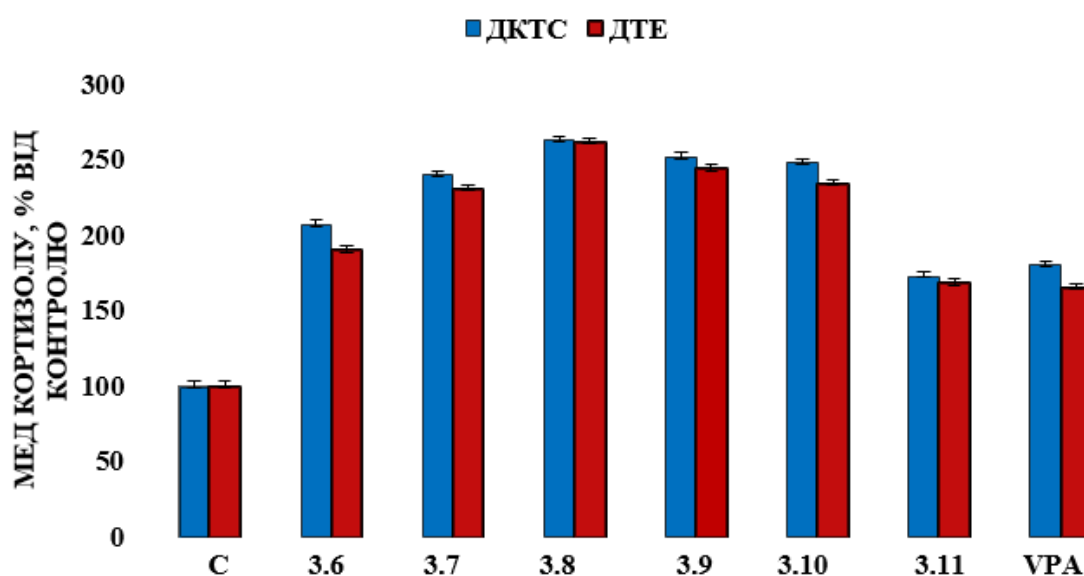


Рисунок 5.1 – Протисудомна активність сполук **3.7-3.11** через 3 години після перорального введення. Значення наведені як середнє значення \pm СЕМ, $n = 5$ мишей; для усіх груп $p < 0,01$ порівняно з контролем (С); * $p < 0,05$ і ** $p < 0,01$ порівняно з VPA

Протисудомна активність амінопіразольних похідних 1,4-нафтохінону визначалась і на довгих проміжках часу (24 години) рис.5.2.:

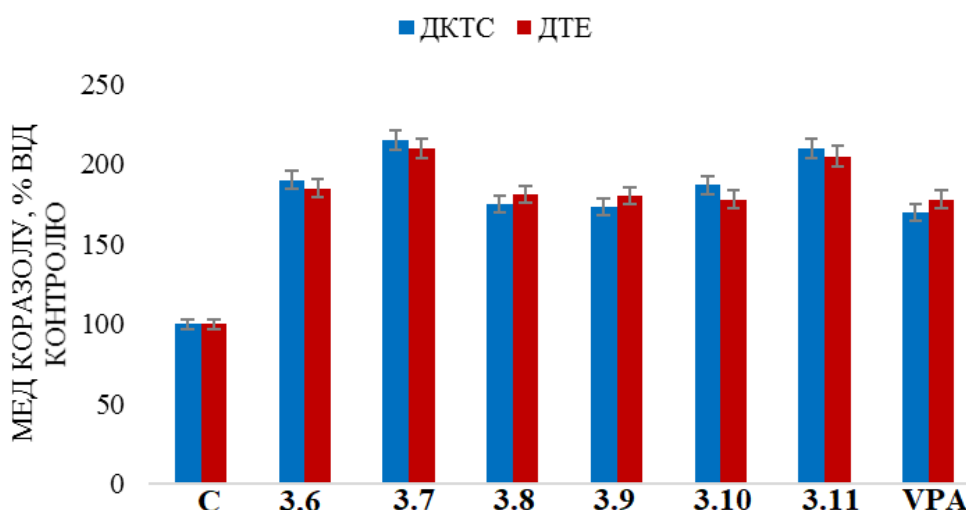


Рисунок 5.2 – Протисудомна активність сполук **3.6-3.11** через 24 години після перорального введення. Значення наведені як середнє значення \pm СЕМ, $n = 5$ мишей; для усіх груп $p < 0,01$ порівняно з контролем (С); * $p < 0,05$ і ** $p < 0,01$ порівняно з VPA

Аналіз результатів показав, що сполуки **3.26-3.27, 3.31-3.35** (100 мг/кг) продемонстрували протисудомну дію, в порівнянні з вальпроєвою кислотою в PTZ-тесті, і запобігли загибелі 100% мишей на моделі MES через 3 год та 24 год після перорального прийому. Більше того, ці похідні показали тривалу дію, подібну антидепресантам, значно зменшували час нерухомості порівняно з референтним препаратом амітриптиліном [168].

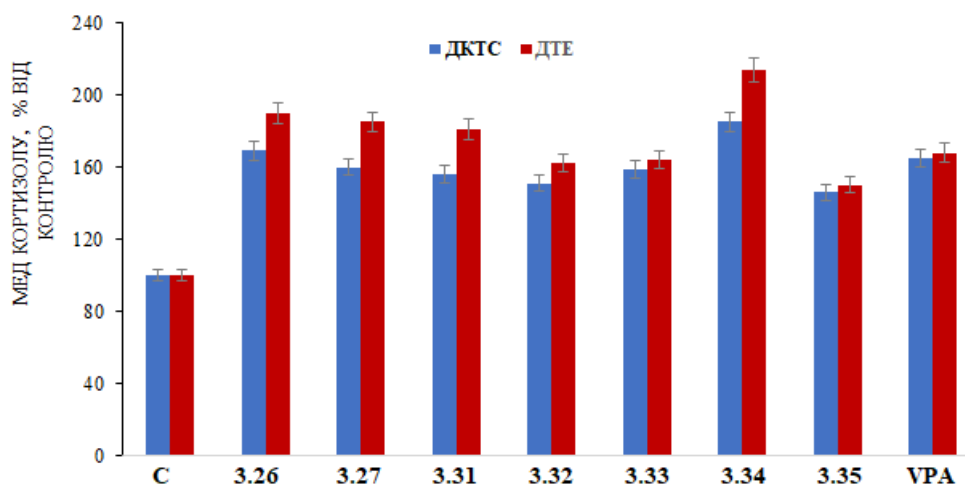


Рисунок 5.3 – протисудомна активність сполук **3.26-3.27, 3.31-3.35** через 3 години після перорального введення. Значення наведені як середнє значення \pm СЕМ, n=5 мишей; для усіх груп $p < 0,01$ порівняно з контролем (С).

Зважаючи на високу ліпофільність похідних нафтохінону **3.26-3.27, 3.31-3.35** (діапазон $\log P$ від 5,01 до 6,25; програмне забезпечення ACD / Labs), їх додатково досліджували на тривалий протисудомний ефект – через 24 год після перорального прийому (рис. 5.4) . Згідно з даними усі сполуки зберігали свою активність із середніми значеннями ДКТС і ДТЕ 142% та 152% відповідно, статистично не відрізнялись від контролю – VPA (164% ДКТС та 166% ДТЕ).

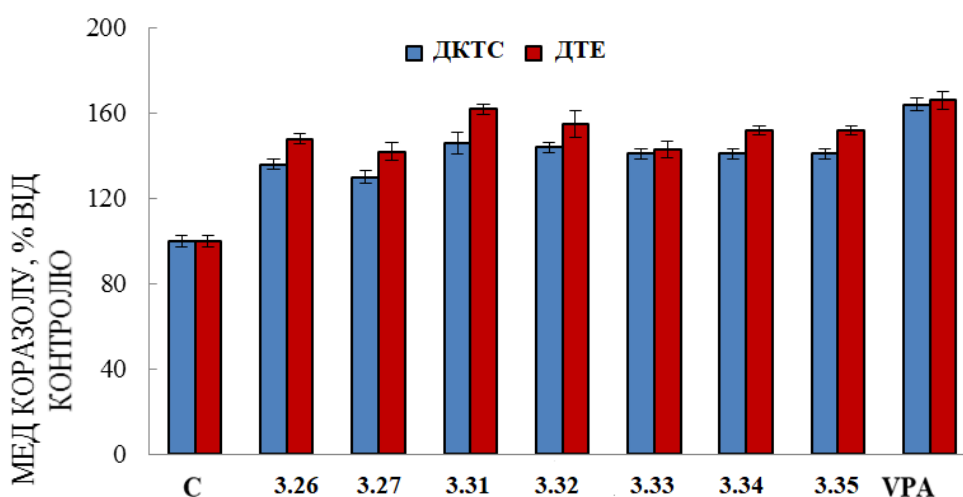


Рисунок 5.4 – Протисудомна активність сполук **3.26-3.27, 3.31-3.35** через 24 години після перорального введення. Значення наведені як середнє значення \pm СЕМ, n=5 мишей; для усіх груп $p < 0,01$ порівняно з контролем (С).

Сполуки 2-[2-(6-Арил)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діони та 2-[2-(3-арил-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діони (3.26-3.27, 3.31-3.35) також аналізували на протисудомну дію за методом MES і виявляли як перспективні протисудомні засоби. У цьому тесті клоніко-тонічні судоми викликаються електричним подразником (50 мА) з подальшим визначенням рівня смертності (Löscher W 2011). Миші, оброблені синтезованими сполуками, були повністю захищені від смертності протягом 24 год після одноразового перорального прийому – 100% (таблиця 5.3). Проте, виявлено, що електричні подразники в тесті MES індукують жорстке розгинання задніх кінцівок у всіх тварин контрольної групи. Щодо позитивного контролю (VPA), він запобігає судомам у експериментальних тварин із 80% та 60% через 3 години та 24 години після перорального лікування, відповідно.

Таблиця 5.3

Протисудомний ефект сполук 3.26-3.27, 3.31-3.35 проти максимальних судом (MES) спричинених електрошоком у мишей

Сполука	3.26	3.27	3.31	3.32	3.33	3.34	3.35	VPA	Контроль
Через 3 год після одноразового перорального прийому									
% Захист від смертності	100	100	100	100	100	100	100	80	0
Через 24 год після одноразового перорального прийому									
% Захист від смертності	100	100	100	100	100	100	100	60	0

Отже, досліджувані N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону проявляють протисудомну активність на довгих проміжках часу.

5.2.3. Протисудомна активність композиційних препаратів на основі вибраних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів

Так як результати проведених досліджень протисудомної активності N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону показали, що досліджувані

сполуки володіють високою активністю, проведено ряд аналогічних досліджень композицій сполук-лідерів з біосурфактантами.

Як відомо біосурфактанти мають здатність до синергізму та, відповідно, до зменшення концентрації діючої речовини у композиції, що веде до зниження токсичності композиційного препарату.

Вплив рамноліпиду на підвищення проникності сполук **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24** та **3.35** через біологічні мембрани оцінювали опосередковано шляхом дослідження протисудомної активності. Для цього похідні 1,4-нафтохінону **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24** та **3.35** відповідно (100 мг/кг) об'єднували з рамноліпідом і вводили мишам перорально [183] Для оцінки протисудомної дії пентилентетразолом (PTZ) застосована модель епілептичних нападів. У цьому дослідженні була використана техніка внутрішньовенної інфузії PTZ (i.v.PTZ), при якій хіміоконвульсант вводять у хвостову вену мишам із постійною швидкістю потоку (0,01 мл/с). Зареєстровано дози PTZ, що провокують клоніко-тонічні судоми (ДКТС) та тонічні розширення (ДТЕ). Як показано на рис. 5.5, було виявлено, що усі досліджувані гетероциклічні сполуки мають протисудомний ефект через 24 години після їх введення, що підтверджується збільшенням значень ДКТС та ДТЕ ($p < 0,01$ щодо контролю).

Похідні 1,4-нафтохінону **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24** та **3.35** в цей момент продемонстрували протисудомний ефект із середніми значеннями ДКТС і ДТЕ на 215% і 224% відповідно, тоді як сполука **3.11** була нижчою за активністю (156% для ДКТС і 159% для ДТЕ). При одночасному застосуванні з похідними рамноліпідів **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24** та **3.35** мали подібну активність порівняно з такою, типовою для чистих сполук, що вказує на відсутність значного впливу рамноліпиду на проникнення мембрани. Навпаки, було виявлено, що спільне застосування (2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону **3.11** з рамноліпідом посилює захист від судом, спричинених PTZ, у експериментальних тварин, що призводить до збільшення ДКТС та ДТЕ (на 239% і 244% відповідно). Отримані результати можна пояснити тим, що утворення

комплексу з рамноліпідом сполукою **3.11**, призвело до поліпшення проникності крізь мембрани і, у свою чергу, до посилення фармакологічних властивостей.

Протисудомні властивості досліджуваних композиційних препаратів визначали при пероральному прийомі досліджуваних похідних 1,4-нафтохінону та композицій на їх основі (100 мг/кг) через 24 год після прийому. Показники ДКТС і ДТЕ для **3.6**, **3.7**, **3.24** та **3.35** становили в середньому 215% і 224%, для **3.11** 156%, 159% відповідно, порівняно з контролем (100%), що свідчить про наявність протисудомної дії у синтезованих сполук, що проявляється на довгих проміжках часу. Одночасне застосування сполуки **3.11** (2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діон) у комбінації з рамноліпідом виявило значне збільшення в протисудомному ефекті ДКТС і ДТЕ становили в середньому 239% і 244% відповідно), ймовірно, завдяки покращенню проникності мембрани і, в свою чергу, покращенню фармакологічних властивостей.

При сумісному введенні сполуки **3.11** із РЛ спостерігається суттєве посилення протисудомної активності вказаної сполуки. Натомість, наявність РЛ не вплинула на крізьмембранну проникність сполук **3.6**, **3.27** та **3.35**. При додаванні РЛ до сполуки **3.24** її активність, навпаки, знижувалась.

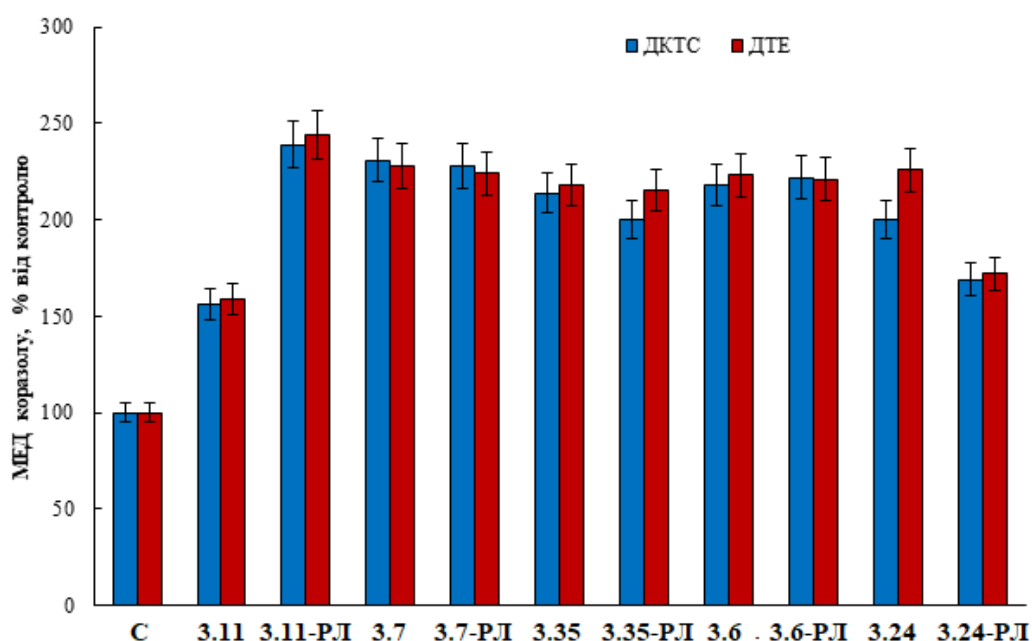


Рисунок 5.5 – Протисудомна активність сполук **3.6**, **3.7**, **3.11**, **3.24** та **3.35** з рамноліпідом через 24 години після перорального введення. Значення наведено як середнє \pm SEM, $n = 5$ мишей; для всіх груп $p < 0,01$ порівняно з контролем. ** $p < 0,01$ для 1b проти 1b при одночасному застосуванні з рамноліпідом.

ДКТС–доза коразолу, яка викликає клоніко-тонічні судоми;

ДТЕ – доза коразолу, ка викликає тонічну екстензію;

МЕД – мінімальна ефективна доза коразолу;

С – контроль (control)

5.3. Протимікробна активність *N*-вмісних гетероциклічних похідних

1,4-нафтохінону

Експериментальну антимікробну активність досліджували для новосинтезованих амінопіразольних (**3.6-3.11**), 1,2,4-триазинових (**3.26-3.27**, **3.31-3.37**), 1,2,4-триазольних похідних 1,4-нафтохінону (**3.14-3.15**, **3.21-3.25**) з метою порівняння їх біологічної активності та вибору серед них найбільш активних сполук одержання композиційних препаратів з рамноліпідами 3.11-РЛ (1:1), 3.11-РЛ (2:1), 3.11-ТЛ (1:1), 3.11-ТЛ (2:1), 3.1.2-ТЛ (1:1) на їх основі.

При аналізі даних дослідження протимікробної активності синтезованих аміновмісних піразольних та піримідинових похідних 1,4-нафтохінону **3.6-3.11** встановлено, що сполуки проявляють антимікробну активність, про що свідчать дані Додатку В (таблиця В2). Основні результати дослідження фунгібактерицидної активності сполук **3.6-3.11** методом дифузії речовини в агар наведені у Додатку В.

Встановлено, що грам-негативна культура бактерій *E. coli* є стійкою до дії синтезованих сполук **3.6-3.9**, **3.11** у досліджуваній концентрації. Найбільш активними сполуками проти *C.tenuis*, ідентифікованими методом серійних розведень, є сполуки 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діон **3.11** (МІК=0,9 мкг/мл, МФК=1,9 мкг/мл) та 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону **3.7** (МІК=7,8 мкг/мл, МФК=15,6 мкг/мл) (Таблиця 4.3). Діаметри зон пригнічення росту культури *C.tenuis* для даних сполук в

концентрації 0,5% становили 24,0 мм та 25,0 мм відповідно, що свідчить про високу чутливість даної культури бактерій до дії цих сполук. Цей показник є вищий, ніж у препарату Ністатину. Сполуки **3.7**, **3.8**, **3.11** проявляли помірну активність проти бактерій штаму *A.niger* та *S.aureus*. При порівнянні з Ванкоміцином, сполука **3.11** в концентрації 0,5% проявляла таку ж активність щодо *S.aureus*. Решта сполук **3.6-3.9** є менш активними.

Також виявлено, що усі досліджувані нами сполуки **3.6–3.9**, **3.11** проявляли помірну активність проти бактерій штаму *M. luteum*. Результати первинних експериментальних мікробіологічних досліджень свідчать про вибірккову бактеріо- і фунгістатичну активності синтезованих сполук (Додаток В).

Як видно з результатів дослідження методом серійних розведень тест-культури бактерій *Escherichia coli* та *S.aureus* виявились нечутливими до 2-[2-(6-арил)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів та 2-[2-(3-арил-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]-нафтален-1,4-діонів **3.26-3.27**, **3.31-3.37** у діапазоні досліджуваних концентрацій (Додаток В, таблиця В4).

Незначна активність сполук **3.14**, **3.33**, **3.34** та **3.37** проти *Staphylococcus aureus*, була ідентифікована методом серійних розведень, де для **3.31** (МІК=125,0 мкг/мл, МБК=250 мкг/мл), а для **3.33**, **3.34** та **3.37** (МІК=250,0 мкг/мл, МБК=500,0 мкг/мл). Діаметри зон пригнічення росту культури *C.tenuis* для сполук **3.26** та **3.32** в концентрації 0,5% становили 8,0 мм та 10,0 мм відповідно, що свідчить про чутливість даної культури бактерій до дії цих сполук. Ці показники є нижчими аніж у Ністатину у 2 рази. Також сполука **3.26** в концентрації 0,5% є активною по відношенню до *M.luteum* та *A.niger*, діаметри зон пригнічення їх росту 13,0 мм і 6,0 мм відповідно. Методом серійних розведень виявлено, що сполуки **3.26** та **3.37** проявляють незначну активність по відношенню до *Mycobacterium luteum* (МІК=125,0 мкг/мл, МБК=250,0 мкг/мл). Сполуки **3.27** та **3.31** у досліджуваних концентраціях не впливали на ріст тест-культур *C.tenuis*, *M.luteum* та *A.niger*. Помірна активність сполуки **3.32** проти *C.tenuis*, була ідентифікована методом серійних розведень (Метод Б), де (МІК=31,2 мкг/мл, МБК=62,5 мкг/мл). Сполуки

3.26, 3.31, 3.36 та **3.37** також проявили незначну активність щодо *C.tenuis* (Додаток В, таблиці В4, В5).

Таким чином, визначення протимікробної активності піразоло-, піримідино-, триазиновмісних та тіазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону встановлено, що лише частина сполук виявили антимікробну активність. Виявлено сполуки-лідери 2-хлоро-3-((1-метил-1Н-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діон **3.7** та 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно)нафтален-1,4-діон **3.11**, які проявили бактеріо- та фунгістатичну активність щодо обраних мікроорганізмів.

5.3.1. Протимікробна активність композицій біосурфактантів та обраних 1,4-нафтохінонів

Для визначення можливості застосування отриманих композицій на основі гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів, як антимікробних засобів, вивчено їх активність щодо різноманітних бактерій і грибів, зокрема, щодо *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium luteum* та грибів: *Candida tenuis*, *Aspergillus niger*.

Провівши дослідження ряду синтезованих піразоловмісних, 1,2,4-триазино-, 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону, обрано для подальших досліджень сполуки-лідери, які показали найкращі результати по відношенню до тест-культур досліджуваних мікроорганізмів. Так, високою протимікробною активністю володіють сполуки 2-хлор-3-(3-(3-(*p*-толіл)-1Н-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діон **3.11** та 2-хлоро-3-((1-метил-1Н-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діон **3.7**.

Таблиця 5.4.

Протимікробна активність досліджуваних сполук та їх комплексних препаратів з рамноліпідами і трегалозоліпідами (метод А)

Код сполуки	Концентрація, %	Діаметр зон пригнічення росту мікроорганізмів, мм				
		<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>M.luteum</i>	<i>C.tenuis</i>	<i>A.niger</i>
РЛ-3.7	0,25:0,25	0	20,0	18,0	0	18,0
	0,05:0,05	0	18,0	12,0	0	0
ТЛ-3.7	0,25:0,25	0	10,0	17,0	18,0	6,0
	0,05:0,05	0	0	0	0	0
РЛ	0,5	0	0	12,0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
ТЛ	0,5	0	0	0	0	0
	0,1	0	0	0	0	0
3.7	0,5	0	20,0	17,0	21,0	7,0
	0,1	0	18,0	12,0	0	0
3.11	0,5	0	20,0	25,0	>40,0	12,0
	0,1	0	12,0	10,0	>40,0	0
РЛ-3.11	0,5 : 0,25	0	10,0	17,0	10,0	10,0
	0,1 : 0,05	0	0	9,0	10,0	0
РЛ-3.11	0,5: 0,5	0	15,0	20,0	>40,0	11,0

Встановлено протимікробну активність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону. Так, 2-хлор-3-(3-(3-(*p*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діон **3.11** проявляє значну активність проти тестових грибів *Candida tenuis*: (МІК<0,9 мкг/мл, МФК<0,9 мкг/мл), проти бактерій *Staphylococcus aureus* та *Mycobacterium luteum* (МІК=7,8 мкг/мл, МБК=15,6 мкг/мл). Показано активність

1-метил-1Н-піразол-4-аміну щодо *C. tenuis*: МІК=15,6 мкг/мл, МФК=31,2 мкг/мл, для *M. luteum* – МІК=7,8 мкг/мл, МБК=15,6 мкг/мл відповідно. Препарати на основі 1,2,4-триазинових і 1,2,4-триазолових похідних 1,4-нафтохінону не виявляли суттєвої протимікробної активності щодо обраних тестових культур.

Таблиця 5.5.

Показники мінімальної інгібуючої (МІК) і мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) сполук методом серійних розведень

Код сполуки	Культури бактерій					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Mycobacterium luteum</i>	
	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
РЛ-3.7	+	+	62,5:62,5	125,0:125,0	15,6:15,6	31,2:31,2
ТЛ-3.7	+	+	31,2:31,2	62,5 : 62,5	15,6: 15,6	31,2:31,2
РЛ	+	+	+	+	62,5	125,0
3.7	+	+	15,6	62,5	7,8	15,6
3.11	+	+	7,8	15,6	7,8	15,6
РЛ-3.11	500,0 : 500,0	*	31,2:31,2	62,5:62,5	7,8:7,8	15,6:15,6
РЛ-3.11	+	+	62,5:31,2	125,0:62,5	15,6:7,8	31,2:15,6

Позначення: «+» - в досліджуваних концентраціях бактери- або фунгіцидного ефекту не спостерігалось (спостерігався ріст мікроорганізму);

«*» - в досліджуваних концентраціях показники бактери- або фунгіцидного ефекту не встановлено

Таблиця 5.6

Показники мінімальної інгібувальної (МІК) і мінімальної фунгіцидної концентрацій (МФК) сполук методом серійних розведень

Код сполуки	Культури грибів			
	<i>Candida tenuis</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
РЛ-3.7	+	+	62,5:62,5	250,0:250,0
ТЛ-3.7	7,8:7,8	15,6:15,6	125,0:125,0	*
РЛ	+	+	250,0	*
3.7	15,6	31,2	62,5	*
3.11	<0,9	<0,9	31,2	62,5
РЛ-3.11	3,9:1,9	250,0:125,0	15,6:7,8	62,5:31,2
РЛ-3.11	<0,9:0,9	<0,9:0,9	7,8:7,8	15,6:15,6

Позначення: «+» - в досліджуваних концентраціях бактери- або фунгіцидного ефекту не спостерігалось (спостерігався ріст мікроорганізму);

«*» - в досліджуваних концентраціях показники бактери- або фунгіцидного ефекту не встановлено

Антимікробна активність щодо культури *M. luteum* для композиції рамноліпідів і 2-хлор-3-(3-(3-(*p*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону (споввідношення 1:1) становила: МІК =7,8:7,8 мкг/мл і МБК =15,6:15,6 мкг/мл; для грибів *A.niger* МІК і МФК: для індивідуальної сполуки становив: МІК=31,2 мкг/мл і МБК=62,5 мкг/мл, для композиції: МІК=7,8:7,8 мкг/мл і МБК=15,6:15,6 мкг/мл. Це свідчить про підвищення активності композиції. Також підвищилась фунгіцидна активність щодо *C. tenuis* сполуки 2-хлоро-3-((1-метил-1*H*-піразол-3-іл)аміно)нафтален1,4-діон **3.7** у композиції з трегалозоліпідами: МІК=7,8:7,8 мкг/мл, МФК=15,6:15,6 мкг/мл.

Отже, виявлено, що антимікробна активність композиційних препаратів 2-хлор-3-(3-(3-(*p*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону **3.11** та 2-хлоро-3-((1-метил-1*H*-піразол-3-іл)аміно)нафтален1,4-діону **3.7** з рамноліпідами та трегалозоліпідами підвищилась в порівнянні з синтезованими препаратами.

1995.4. Гостра токсичність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композиційних препаратів з рамноліпідами

Важливим показником потенційних фармпрепаратів є їхні токсикологічні параметри, зокрема гостра токсичність (ЛД₅₀) при пероральному введенні тваринам. Визначено, що середньо летальна доза через 3 год після введення досліджуваних аміновмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону **3.6-3.7, 3.11, 3.24, 3.26, 3.35** та їх композиційних препаратів з рамноліпідами перевищує 1000 мг/кг, що за існуючою класифікацією відповідає III класу токсичності (помірно небезпечні).

5.5. Антиоксидантна активність N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та їх композицій з біосурфактантами

Відомо, що вільно-радикальне окиснення провокує розвиток багатьох захворювань: атеросклероз, гіпертензія, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона[2], рак, артрит, нейро-дегенеративні розлади, діабет тощо [3]. Протидіяти оксидативному стресу можуть антиоксиданти (АО), котрі здатні гальмувати розвиток вільно-радикальних реакцій, попереджаючи утворення пероксидів, котрі пошкоджують клітинні та субклітинні мембрани організму [4].

Отже, потреба пошуку нових антиоксидантів, які були б ефективними в боротьбі з низкою захворювань, є важливим завданням науковців сьогодення.

Для дослідження антиоксидантної активності обрано новостворені рамноліпідні і трегалозоліпідні комплекси з гетероциклічними аміновмісними похідними 1,4-нафтохінону.

Таблиця 5.7

Результати визначення радикал-поглинальної активності композиційних препаратів гетероциклічних похідних нафтохінону та рамноліпідів (**3.6-3.7, 3.11, 3.26**)

№ сполуки	Значення оптичної густини при 517 нм (А)	Радикал-поглинальна активність, %

Контроль (ДФПГ)	0.1632± 0.020	---
РЛ	0.1620±0.002	0.7
3.11	0.1549± 0.010	5.1
3.11-РЛ	0.1565±0.020	4.1
3.6	0.1583± 0.010	3.6
3.6-РЛ	0.1613±0.007	5.6
3.7	0.1583±0.001	3.0
3.7-РЛ	0.1574± 0.001	1.2
3.26	0.1394± 0.001	14.6
3.26-РЛ	0.1506±0.020	7.7

Примітка: Кожне значення являє собою середнє (\pm) стандартне відхилення трьох тестованих зразків

Таблиця 5.8

Результати визначення радикал-поглинальної активності композиційних препаратів гетероциклічних похідних нафтохінону та трегалозоліпідів (**3.6-3.7, 3.11, 3.26**)

№ сполуки	Значення оптичної густини при 517 нм (А)
Контроль (ДФПГ)	0.1632± 0.020
ТЛ	0.9942± 0.003
3.11	0.1549± 0.010
3.11-ТЛ	0.9527± 0.008
3.6	0.1583± 0.010
3.6-ТЛ	0.9930± 0.002
3.7	0.1583±0.001
3.7-ТЛ	0.9751± 0.020
3.26	0.1394± 0.001
3.26-ТЛ	0.9160± 0.006

Примітка: Кожне значення являє собою середнє (\pm) стандартне відхилення трьох тестованих зразків

Отже, при порівнянні радикал-поглинальної активності композицій біосурфактантів з аміновмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону та еталонної речовини – аскорбінової кислоти (РПА = 21,5%), визначено, що досліджувані сполуки визначають невелику радикал-поглинальну активність. Так, найкращі результати радикал-поглинальної активності виявляють 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діон (**3.26**) та його комплекс з рамноліпідом (**3.26-РЛ**). Так, 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діон (**3.26**) взаємодіючи з ДФПГ призводить до нейтралізації вільно-радикального центру ДФПГ на 14,6%, в комплексі з рамноліпідами (**3.26-РЛ**) становить 7,7 %, тобто зменшується у два рази. Таким чином, здатність до інгібування збільшується вдвічі (**3.7** – 3,6%, **3.7-РЛ** – 5,6%) у композиції з рамноліпідами сполуки **3.7**.

Для визначення антиоксидантної активності досліджуваних композиційних препаратів використовувались показники оксидативного стресу: пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) через визначення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації – тіобарбітурактивних (ТБК-активних) продуктів та окисної модифікації білка (ОМБ) через кількість утворених додаткових карбонільних груп (КГ) у бічних ланцюгах білків [155]. Як препарат порівняння – кверцетин.

Дослідження окисної модифікації білка за показником вмісту КГ у гомогенаті печінки щура за умови впливу досліджуваних композиційних препаратів дозволило встановити, що усі досліджувані речовини, виявляють антиоксидантну активність у процесах ПОЛ, через зниження вмісту ТБК-активних продуктів: на 30 ± 35 % для сполуки **3.11**, **3.6**, **3.7** та їхні композиції з рамноліпідом, сполук **3.26** на 16 %, рамноліпідів з **3.26** приблизно на 50 % відповідно. Так, комплекс рамноліпідів з **3.26** (рис.5.2) активно перешкоджає виникненню вільнорадикальних процесів у білках, що пояснюється покращенням біодоступності речовини та її проникності у клітинних мембранах печінки щура. Композиція **3.26-ТЛ** проявляє значну

антиоксидантну активність в процесах ОМБ, вміст КГ знизився відносно контролю на 36.6 %.

За дії РЛ, ТЛ та 3.6-ТЛ відбулося підвищення вмісту вторинних продуктів ліпопероксидації відносно контролю на 3,4 %, 55,2 % та 23,1 % відповідно, тобто вони чинять прооксидантну дію. ТЛ та композиція 3.6-ТЛ проявила значну прооксидантну активність у процесах ПОЛ.

Отже, N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону виявили вплив на процеси ОМБ (рис. 5.3). Так, високу антиоксидантну активність показала речовина 3.26 та її комплекс з рамноліпідом, через, те що вміст КГ знижується щодо контролю на 36% і 40% відповідно. Сполуки **3.11**, **3.6**, **3.7** та їх комплекси з рамноліпідами виявляють меншу антиоксидантну активність в процесах ОМБ за рахунок зниження вмісту КГ щодо контролю на 25% і 20% відповідно. Отже, комплекс рамноліпідів з **3.26** проявив високу антиоксидантну активність у процесах ПОЛ та ОМБ.

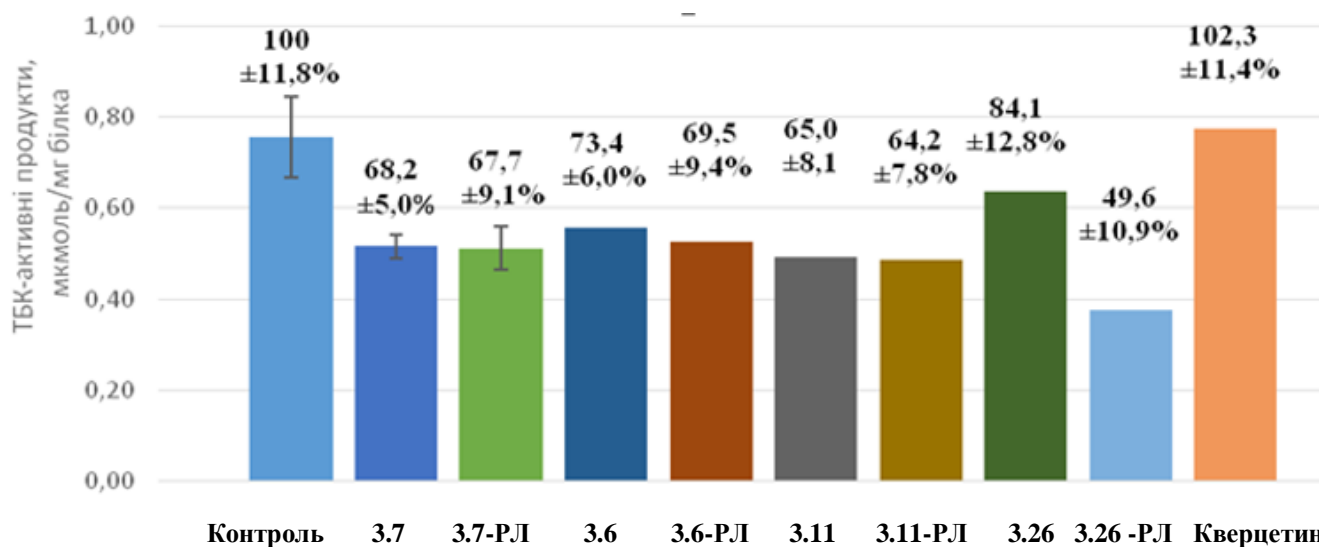


Рисунок 5.6 – Вміст ТБК-активних продуктів у гомогенаті печінки щура за умови дії **3.11**, **3.6**, **3.7**, **3.26** та **3.11-РЛ**, **3.6-РЛ**, **3.7-РЛ**, **3.26-РЛ**

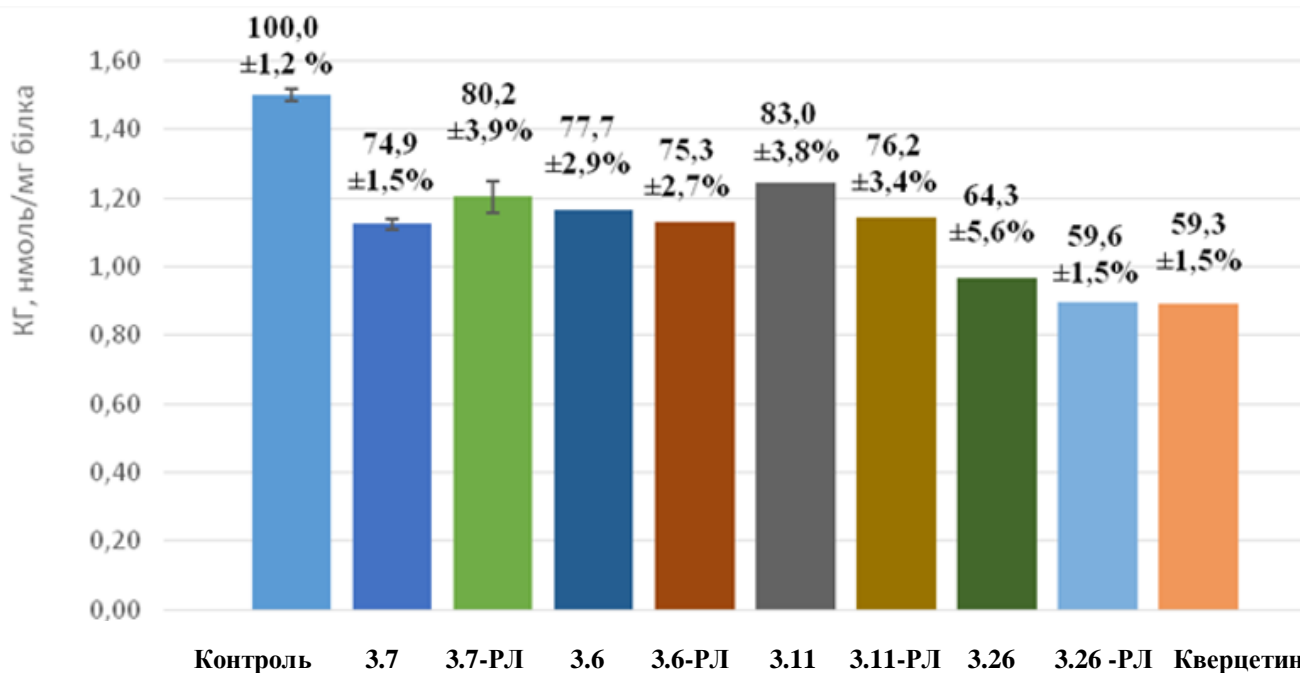


Рисунок 5.7 – Вміст КГ у гомогенаті печінки щура за умови дії **3.11**, **3.6**, **3.7**, **3.26** та **3.11-РЛ**, **3.6-РЛ**, **3.7-РЛ**, **3.26-РЛ**

Проводили також порівняння досліджуваних сполук та їх композицій з рамноліпідами із відомим антиоксидантом – кверцетином. Так, при впливі кверцетину вміст ТБК-активних продуктів зріс на 2,3%, а у процесах ОМБ вміст КГ знизився на 40,7%. Композиційний препарат рамноліпідів з **3.26** проявляє таку ж антиоксидантну активність у процесах ОМБ, як і кверцетин, тим самим підтверджуються його антиоксидантні властивості.

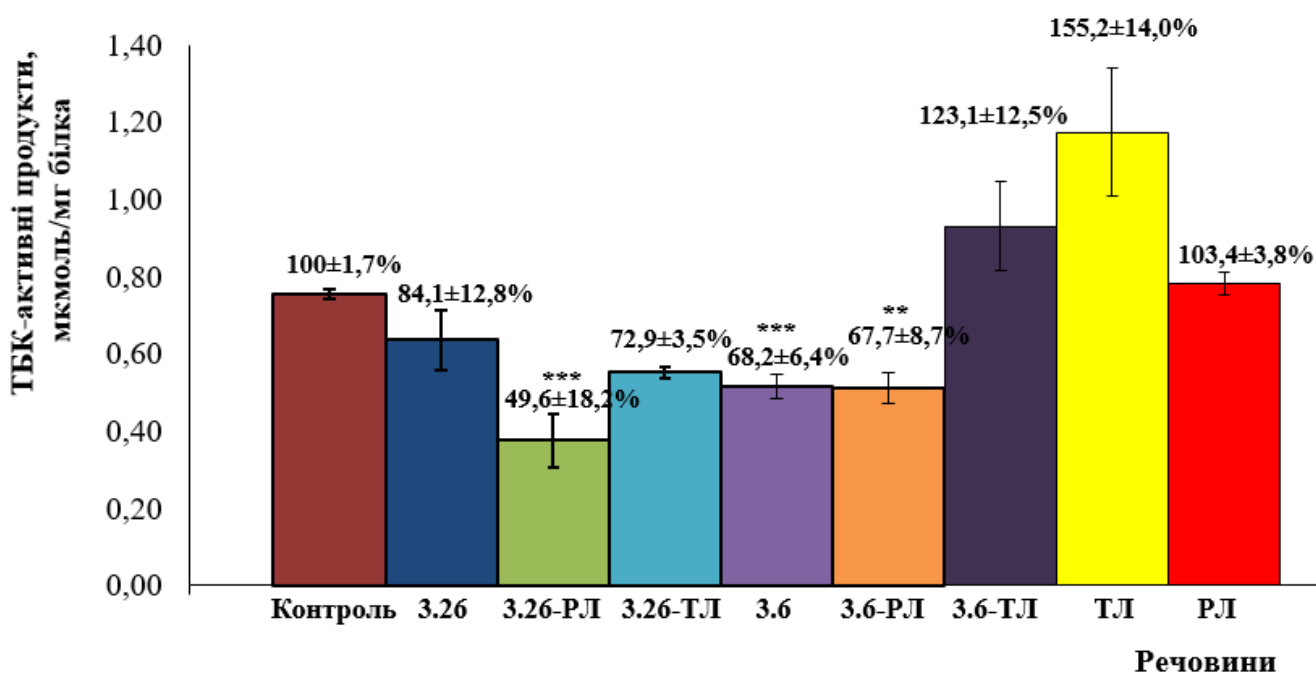


Рисунок 5.4 – Вміст ТБК-активних продуктів у гомогенаті печінки щура за умови дії 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (**3.26**), етил-4-((3-хлоро-1,4-діоксо-1,4-дигідро-нафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилату (**3.6**), рамноліпиду (РЛ), трегалозоліпиду (ТЛ) та композиційних препаратів на їх основі 3.6-РЛ, 3.26-ТЛ, 3.1.4-РЛ та 3.1.4-ТЛ

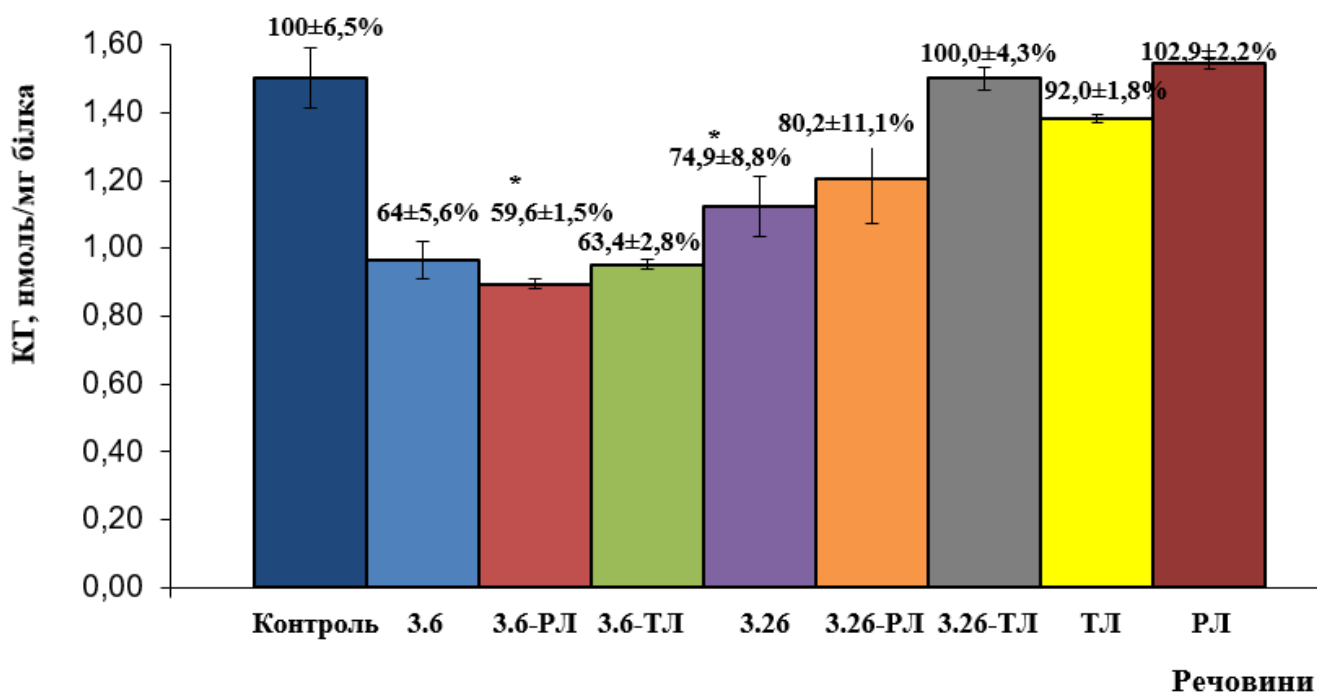


Рисунок 5.5 – Вміст КГ у гомогенаті печінки щура за умови дії 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (**3.26**), етил-4-((3-хлоро-1,4-діоксо-1,4-дигідро-нафтален-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилату (**3.6**), рамноліпиду (РЛ), трегалозоліпиду (ТЛ) та композиційних препаратів на їх основі **3.26-РЛ**, **3.26-ТЛ**, **3.6-РЛ** та **3.6-ТЛ**.

Основною метою одночасного використання синтетичних похідних нафтохінону та ПАР зменшення терапевтичної дози (інгібуючої концентрації) препарату. Визначено, що за дії одних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону зростає вміст продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів та білків, інтенсифікуються процеси ПОЛ та ОМБ, що, скоріше за все, може призвести до істотних порушення клітинного метаболізму. Спостерігається певне зменшення рівня ТБК-активних продуктів та утворення КГ у порівнянні з контролем, що підтверджує зниження інтенсивності процесів ПОЛ та ОМБ та

показує їх антиоксидантну активність. Що пояснюється впливом біосурфактантів на проникність клітинних мембран мікроорганізмів та солюбілізаційною здатністю поганорозчинних у воді сполук.

Висновки до Розділу 5.

Встановлено протисудомну активність композиційних препаратів на основі обраних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та рамноліпідів і трегалозоліпідів. Виявлено, що одночасне застосування сполуки (2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діон) у комбінації з рамноліпідом виявило значне збільшення в протисудомному ефекті ДКТС і ДТЕ становили в середньому 239% і 244% відповідно), ймовірно, завдяки покращенню проникності мембрани.

Визначено, що композиційні препарати 2-хлор-3-(3-(3-(*p*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону та 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален-1,4-діону з рамноліпідами та трегалозоліпідами показали підвищену протимікробну активність по відношенню до тест-культур *C. tenuis*, *M. luteum* та *A. niger* в порівнянні з вихідними сполуками.

Встановлено антиоксидантну активність чотирьох композиційних препаратів на основі N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів в порівнянні з вихідними сполуками. Визначено, що композиція 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл) феніл)аміно]нафтален-1,4-діону з рамноліпідами показала високу антиоксидантну активність у процесах ПОЛ та ОМБ.

Виявлено, що трегалозоліпіди проявляють прооксидантну активність, у процесах ОМБ, в той же час у комплексі з N-вмісними гетероциклічними похідними 1,4-нафтохінону антиоксидантну активність.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі обґрунтовано і практично розв'язано важливе науково-технологічне завдання – розроблення біотехнології композиційних препаратів біосурфактантів з новими аміновмісними піразольними, піримідиновими, 1,2,4-триазольними, 1,2,4-триазиновими похідними на основі 1,4-нафтохінону, досліджено їх властивості та визначено напрямки практичного застосування.

1. Обрано на основі аналізу наукових публікацій рамноліпід штаму *Pseudomonas* sp. PS-17 та трегалозоліпід штаму *R. erythropolis* Au-1 як перспективні компоненти для композиційних препаратів.

2. Одержано нові перспективні біосурфактанти та N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону з піразоловими, піримідиновими, 1,2,4-триазоло- та 1,2,4-триазиновими фрагментами; розроблено нові методи та препаративні методики їх синтезу. Виявлено, за результатами фармакологічної активності синтезованих сполук, що усі досліджені N-вмісні гетероциклічні похідні 1,4-нафтохінону проявляють пролонговану протисудомну дію: середні значення ДКТС та ДТЕ складають 150% через 24 год після їх перорального введення. Вибрано сполуки-лідери за результатами їх експериментального біологічного скринінгу.

3. Розроблено композиційні препарати на основі нових синтезованих N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону з перспективними біосурфактантами. Охарактеризовано фізико-хімічні властивості N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та створених композиційних препаратів: поверхневий натяг, гідродинамічні розміри міцелоподібних структур та УФ-спектри.

4. Встановлено протисудомну, антимікробну та антиоксидантну дії композиційних препаратів на основі 2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1*H*-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону та біосурфактантів в порівнянні з вихідними сполуками. Виявлено, при дослідженні протисудомної активності композиційних препаратів N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону з

рамноліпідами, значне збільшення протисудомного ефекту 2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону у комбінації з рамноліпідом: ДКТС і ДТЕ становили в середньому 239% і 244% відповідно (ДКТС і ДТЕ для 2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону 156%, 159%) через 24 год після перорального введення, ймовірно, завдяки покращенню проникності мембрани. Показано, що композиційний препарат 2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону у комбінації з рамноліпідом та трегалозоліпідом проявляє виражену антимікробну дію щодо *C. tenuis*, *S. aureus* та *M. luteum*. Встановлено антиоксидантну дію синтезованих нових сполук та композиційних препаратів з рамноліпідами та трегалозоліпідами. Виявлено, що композиційний препарат на основі 2-[(6-(4-фторофеніл-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону та рамноліпідів проявляє високу антиоксидантну активність.

5. Встановлено, на основі даних токсикологічних досліджень, що середньолетальна доза (ЛД₅₀) при пероральному введенні для досліджуваних N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та композиційних препаратів з рамноліпідами перевищує 1000 мг/кг, що дозволяє віднести дані сполуки до III класу токсичності – помірно токсичні.

6. Показано, що композиційний препарат на основі 2-хлор-3-(3-(3-(*n*-толіл)-1H-піразол-5-іл)аміно)нафталін-1,4-діону та рамноліпідів проявляє широкий спектр біологічної активності. Розроблено технології та запропоновано апаратурно-технологічну схему промислового виробництва діючих субстанцій та композиційного препарату на їх основі. Проведено економічні розрахунки щодо доцільності практичного впровадження нового композиційного препарату з протисудомними властивостями, які базуються на SWOT-аналізі.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Salihu, A., Abdulkadir, I., & Almustapha, M. N. (2009). An investigation for potential development on biosurfactants. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 4(5), 111-117.
2. Naughton, P. J., Marchant, R., Naughton, V., & Banat, I. M. (2019). Microbial biosurfactants: current trends and applications in agricultural and biomedical industries. *Journal of applied microbiology*, 127(1), 12-28. doi:10.1111/jam.14243.
3. Banat, I. M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M. G., Fracchia, L., ... & Marchant, R. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied microbiology and biotechnology*. 87(2), 427-444. doi: 10.1007/s00253-010-2589-0.
4. Швець, В. В., Карпенко, О. В., Карпенко, І. В., Новіков, В. П., & Лубенець, В. І. (2017). Антимікробна активність композицій на основі тіосульфонатів та біогенних поверхнево-активних речовин щодо фітопатогенів. *Innovative biosystems & bioengineering*, 1(1), 43-48. doi: 10.20535/1810-0546.2017.3.96283.
5. Yaremkevych, O., Fihurka, O., Banya, A., Shvets, V., Nakonechna, A., Karpenko, O., ... & Lubenets, V. (2020). Effect of thiosulfonate-biosurfactant compositions on plants grown in oil polluted soil. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 19(11).
6. Швець, В. В., Карпенко, О. В., Баня, А. Р., Наконечна, А. В., & Лубенець, В. І. (2017). Рістрегулююча активність композицій на основі алілтіосульфанілату та біоПАР щодо гарбуза звичайного. *Вісник Національного університету «Львівська політехніка» серія «Хімія, технологія речовин та їх застосування»*. Львів, (868), 229-234.
7. Gudiña, E. J., Rangarajan, V., Sen, R., & Rodrigues, L. R. (2013). Potential therapeutic applications of biosurfactants. *Trends in pharmacological sciences*, 34(12), 667-675. doi:10.1016/j.tips.2013.10.002.
8. Bhadoriya, S. S., Madoriya, N., Shukla, K., & Parihar, M. S. (2013). Biosurfactants: A new pharmaceutical additive for solubility enhancement and pharmaceutical development. *Biochem Pharmacol Open Access*, 2(113), 2167-0501.

9. Lourith, N., & Kanlayavattanakul, M. (2009). Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids. *International journal of cosmetic science*, 31(4), 255-261. doi:10.1111/j.1468-2494.2009.00493.x.
10. Campos, J. M., Montenegro Stamford, T. L., Sarubbo, L. A., de Luna, J. M., Rufino, R. D., & Banat, I. M. (2013). Microbial biosurfactants as additives for food industries. *Biotechnology progress*, 29(5), 1097-1108. doi:10.1002/btpr.1796.
11. Markande, A. R., Patel, D., & Varjani, S. (2021). A review on biosurfactants: properties, applications and current developments. *Bioresource Technology*, 330, 124963. doi:10.1016/j.biortech.2021.124963.
12. Piljac et al]. USE OF RHAMNOLIPIDS IN WOUND HEALING, TREATING BURN SHOCK, ATHEROSCLEROSIS, ORGAN TRANSPLANTS, DEPRESSION, SCHIZOPHRENIA AND COSMETICS. № US007262171B1.2007
13. Drakontis, C. E., & Amin, S. (2020). Biosurfactants: Formulations, properties, and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 77-90. doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.013.
14. Salam M. Awada, Mohamed Awada, Rex S. Spendlove. (2016). Biosurfactant compositions and methods for providing plant nutrients. US 20160278373A1.
15. El Enshasy, H. A. (2021). Biosurfactant Mediated Synthesis of Nanoparticles and their Applications. *Microbial Surfactants: Volume I: Production and Applications*, 287.
16. Takemoto, J. Y., Bensaci, M., De Lucca, A. J., Cleveland, T. E., Gandhi, N. R., & Skebba, V. P. (2010). Inhibition of fungi from diseased grape by syringomycin E-rhamnolipid mixture. *American journal of enology and viticulture*, 61(1), 120-124. doi:10.1007/s00253-010-2498-2.
17. Yin, Xihou. Formulations combining ramoplanin and rhamnolipids for combating bacterial infection. U.S. Patent Application 14/201,633. US20140294925. 2014-10-02.
18. Ibrahim M. Banat, Rengathavasi Thavasi. (2019). Microbial Biosurfactants and their Environmental and Industrial Application. 380. CRC Press.

19. Rawat, G., Dhasmana, A., & Kumar, V. (2020). Biosurfactants: The next generation biomolecules for diverse applications. *Environmental Sustainability*, 3(4), 353-369.
20. Покинсьброда, Т. Я. (2018). Біотехнологія поверхнево-активних продуктів бактерій роду *Pseudomonas*, їх властивості та застосування.
21. Drakontis, C. E., & Amin, S. (2020). Biosurfactants: Formulations, properties, and applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 77-90. doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.013.
22. Deleu, M.; Paquot, M. (2004). From renewable vegetablesresources to microorganisms: new trends in surfactants. *Comptes Rendus Chimie*, 7 (6-7), 641-646. doi:10.1016/j.crci.2004.04.002.
22. Abdel-Mawgoud, A. M.; Stephanopoulos, G. (2017). Simple glycolipids of microbes: Chemistry, biological activity and metabolic engineering. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 3 (1), 3-19. doi:10.1016/j.synbio.2017.12.001.
23. Muthusamy, K., Gopalakrishnan, S., Ravi, T. K., & Sivachidambaram, P. (2008). Biosurfactants: properties, commercial production and application. *Current science*, 736-747.
24. Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G. A., Piotrowska-Seget, Z., Cameotra, S. S. (2011). Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int. J. Mol. Sci.*, 12 (1), 633–654. doi:10.3390/ijms12010633.
25. Reiling, H. E., Thanei-Wyss, U., Guerra-Santos, L. H., Hirt, R., Käppeli, O., & Fiechter, A. (1986). Pilot plant production of rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 51(5), 985-989. doi:10.1128/aem.51.5.985-989.1986.
26. Gutnick, D., Minas. W. (1996). Perspectives on microbial surfactants. *Resources, conservation and Recycling.*, 18, 41-57.
27. Guerra-Santos, L., Kopeli, O., Fiechter. A. (1984). Process development for the production biosurfactants. *Proc.3 Eur. Conf. Biotechnol.*, 79-83.
28. Chong H, Li Q. (2017). Microbial production of rhamnolipids: opportunities, challenges and strategies. *Microbial cell factories.*, 16 (1), 137. doi:10.1186/s12934-

017-0753-2.

29. Eliora, R., Rosenberg. E. (2001). Natural roles of biosurfactants. *Env. Microbiology.*, 3(4), 229–236. doi:10.1046/j.1462-2920.2001.00190.x.

30. Banat I. M., Franzetti I., Gandol A. (2010). Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, 427–444. doi:10.1007/s00253-010-2589-0.

31. Стрельцова О. О. (2021). Самоорганізовані структури. Ліофільні колоїдні системи : навч. посіб. *Одеса : Одес. нац. ун-т ім.І. І. Мечникова*, 146.

32. Khoshdast, H., Abbasi, H., Sam, A., & Noghabi, K. A. (2012). Frothability and surface behavior of a rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* MA01. *Biochemical Engineering Journal*, 60, 127-134. doi:10.1016/j.bej.2011.10.015.

33. Lotfabad, T. B., Abassi, H., Ahmadkhaniha, R., Roostaazad, R., Masoomi, F., Zahiri, H. S., ... & Noghabi, K. A. (2010). Structural characterization of a rhamnolipid-type biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* MR01: enhancement of di-rhamnolipid proportion using gamma irradiation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 81(2), 397-405. doi:10.1016/j.colsurfb.2010.06.026.

34. Banat I.M., Franzetti I.A., Gandolfi G., Bestetti M.G., Martinotti L., Fracchia T.J., Smyth R., Marchant R. (2010). Microbial biosurfactants production, applications. *Applied Microbiology Biotechnology*. 87, 427–444. doi:10.1007/s00253-010-2589-0.

35. Abouseouda, M., Maachi, R., Amranec. A. (2008). Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. *Desalination*, 223, 143– 151. doi:10.1016/j.desal.2007.01.198

36. Pekin, G., Vardar-Sukan, F., & Kosaric, N. (2005). Production of sophorolipids from *Candida bombicola* ATCC 22214 using Turkish corn oil and honey. *Engineering in Life Sciences*, 5(4), 357-362. doi:10.1002/elsc.200520086.

37. Rahman, P., Rahman, T., McClean. S. (2002). Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low-cost raw materials *Biotechnology Progress*, 18, 1277 – 1281. doi:10.1021/bp020071x.

38. George, S.; Jayachandran. K. (2013). Production and characterization of rhamnolipid biosurfactant from waste frying coconut oil using a novel *Pseudomonas aeruginosa* D. *Journal of Applied Microbiology*, 14, 373–383. doi:10.1111/jam.12069.
39. Pirog, T. P., Konon, A. D., Beregovaya, K. A., & Shulyakova, M. A. (2014). Antiadhesive properties of the surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405. *Microbiology*, 83(6), 732-739.
40. Kretschmer, A., Bock, H., & Wagner, F. (1982). Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Applied and environmental microbiology*, 44(4), 864-870.
41. Tokumoto, Y., Nomura, N., Uchiyama, H., Imura. T., Morita, T., Fukuoka, T., Kitamoto, D. (2009). Structural characterization and surface-active properties of a succinoyl trehalose lipid produced by *Rhodococcus* sp. SD-74. *J Oleo Sci.* 58 (2), 97-102. doi:10.5650/jos.58.97.
42. Rapp, P., Bock, H., Wray, V., Wagner, F. (1979). Formation, isolation and characterisation of trehalose dimycolates from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Journal of General Microbiology*, 115(12), 491-503. doi:10.1099/00221287-115-2-491.
43. Smyth, T., Perfumo, A., Marchant, R., & Banat, I. (2010). Isolation and Analysis of Low Molecular Weight Microbial Glycolipids. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*, 3705-3723. Springer. doi:10.1007/978-3-77587-4_291.
44. Stanghellini, M. E., & Miller, R. M. (1997). Biosurfactants: their identity and potential efficacy in the biological control of zoosporic plant pathogens. *Plant disease*, 81(1), 4-12. doi: 10.1094/PDIS.1997.81.1.4.
45. Mani D., Kumar C. (2014). Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special reference to phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 3, 843–872. doi:10.1007/s13762-013-0299-8.

46. Reguera, M., Peleg, Z., Abdel-Tawab, Y. M., Tumimbang, E. B., Delatorre, C. A., & Blumwald, E. (2013). Stress-induced cytokinin synthesis increases drought tolerance through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in rice. *Plant Physiology*, *163*(4), 1609-1622. doi:10.1104/pp.113.227702.
47. Haddad, N. I., Wang, J., & Mu, B. (2008). Isolation and characterization of a biosurfactant producing strain, *Brevibacillus brevis* HOB1. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *35*(12), 1597-1604. doi: 10.1007 / s10295-008-0403-0.
48. Makkar, R. S., Cameotra, S. S., & Banat, I. M. (2011). Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production. *AMB express*, *1*(1), 1-19.
49. Rahimi K., Lotfabad T. B., Jabeen F., Ganji S. M. (2019). Cytotoxic effects of mono-and di-rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* MR01 on MCF-7 human breast cancer cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *181*. 943-952. doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.06.058.
50. Christova N., Tuleva B., Kril A. (2013). Chemical Structure and In Vitro Antitumor Activity of Rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* BN10. *Applied Biochemistry and Biotechnolog*, *170*, 676–689. doi: 10.1007/s12010-013-0225-z.
51. Abalos, A., Pinazo, A., Infante, M. R., Casals, M., Garcia, F., & Manresa, A. (2001). Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. *Langmuir*, *17*(5), 1367-1371. doi: 10.1021/la0011735.
52. Jiang, L., Shen, C., Long, X., Zhang, G., & Meng, Q. (2014). Rhamnolipids elicit the same cytotoxic sensitivity between cancer cell and normal cell by reducing surface tension of culture medium. *Applied microbiology and biotechnology*, *98*(24), 10187-10196. doi: 10.1007/s00253-014-6065-0.
53. Akbari, S., Abdurahman, N. H., Yunus, R. M., Fayaz, F., Alara, O. R. (2018). Biosurfactants – a new frontier for social and environmental safety: a mini review. *Biotechnol Res Innov.*, *2* (1), 81-90. doi:10.1016/j.biori.2018.09.001.
54. Куюкина, М. С., Ившина, И. Б., Гейн, С. В., Баева, Т. А., & Черешнев, В. А. (2007). In vitro иммуномодулирующая активность биосурфактантного

гликолипидного комплекса из *Rhodococcus ruber*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 144(9), 301-306.

55. Nikolova, M. P., & Chavali, M. S. (2020). Metal oxide nanoparticles as biomedical materials. *Biomimetics*, 5(2), 27. doi:10.3390/biomimetics5020027.

56. Chuo, S. C., Abd-Talib, N., Mohd-Setapar, S. H., Hassan, H., Nasir, H. M., Ahmad, A., ... & Ashraf, G. M. (2018). Reverse micelle extraction of antibiotics using an eco-friendly sophorolipids biosurfactant. *Scientific reports*, 8(1). doi:10.1038/s41598-017-18279-w.

57. Ravichandiran, P., Kannan, R., Ramasubbu, A., Muthusubramanian, S., & Samuel, V. K. (2016). Green synthesis of 1,4-quinone derivatives and evaluation of their fluorescent and electrochemical properties. *Journal of Saudi Chemical Society*, 20, S93-S99. doi:10.1016/j.jscs.2012.09.011.

58. Aminin, D.; & Polonik, S. (2020). 1,4-Naphthoquinones: Some Biological Properties and Application. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 68(1), 46–57. doi:10.1248/cpb.c19-00911.

59. Coyle, M. B. (2005). *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. American Society for Microbiology. Washington: *American Society for Microbiology*, 236.

60. Shakh, Y.U., Romanenko, I., Slesarchuk, M., Syngaevsky, V., Kovalchuk, O., Bolibrukh, K., et al. (2017). Synthesis and antimicrobial activity of 1,4-naphthoquinones derivatives with [1,2,4]-triazole-3-thione substitution. *Indian J. Pharm. Sci.*, 79 (4), 650-654. doi:10.4172/pharmaceutical-sciences.1000275.

61. Janeczko, M., Demchuk, O. M., Strzelecka, D., Kubiński, K., & Masłyk, M. (2016). New family of antimicrobial agents derived from 1, 4-naphthoquinone. *European journal of medicinal chemistry*, 124, 1019-1025. doi:10.1016/j.ejmech.2016.10.034.

62. Wellington, K. W., Kolesnikova, N. I., Nyoka, N. B., & McGaw, L. J. (2019). Investigation of the antimicrobial and anticancer activity of aminonaphthoquinones. *Drug development research*, 80(1), 138-146. doi:10.1002/ddr.21477.

63. Ravichandiran, P., Subramaniyan, S. A., Kim, S. Y., Kim, J. S., Park, B. H., Shim, K. S., & Yoo, D. J. (2019). Synthesis and Anticancer Evaluation of

1,4-Naphthoquinone Derivatives Containing a Phenylaminosulfanyl Moiety. *ChemMedChem.*, 14(5), 532-544. doi:10.1002/cmdc.201800749.

64. Xu, K., Xiao, Z., Tang, Y. B., Huang, L., Chen, C. H., Ohkoshi, E., & Lee, K. H. (2012). Design and synthesis of naphthoquinone derivatives as antiproliferative agents and 20S proteasome inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(8), 2772-2774. doi:10.1016/j.bmcl.2012.02.086.

65. de Moraes, T., Filha, M., Camara, C., Silva, T., Soares, B., Bomfim, I., ... & Silva, V. (2014). Synthesis and cytotoxic evaluation of a series of 2-amino-naphthoquinones against human cancer cells. *Molecules*, 19(9), 13188-13199. doi:10.3390/molecules190913188.

66. Wellington, K. W. (2015). Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones—a review. *RSC Advances*, 5(26), 20309-20338. doi:10.1039/C4RA13547D.

67. Ortiz-Pérez, E.; Rivera, G., Salas, C. O., Zarate-Ramos, J. J., Trofymchuk, O. S., Hernandez-Soberanis, L.,... & Vázquez, K. (2021). Natural and synthetic naphthoquinones as potential anti-infective agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(22), 2046-2069. doi:10.2174/1568026621666210915121348.

68. Mahmoud, I. S., Hatmal, M. M., Abuarqoub, D., Esawi, E., Zalloum, H., Wehaibi, S., ... & Alshaer, W. (2021). 1, 4-Naphthoquinone Is a Potent Inhibitor of IRAK1 Kinases and the Production of Inflammatory Cytokines in THP-1 Differentiated Macrophages. *ACS omega*, 6(39), 25299-25310. doi:10.1021/acsomega.1c03081.

69. Silakari, P., & Piplani, P. (2020). p-Benzoquinone as a privileged scaffold of pharmacological significance: A Review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(16), 1586-1609. doi:10.2174/1389557520666200429101451.

70. Kadela-Tomanek, M., Jastrzębska, M., Marciniak, K., Chrobak, E., Bębenek, E., Latocha, M., ... Boryczka, S. (2021). Design, synthesis and biological activity of 1,4-quinone moiety attached to betulin derivatives as potent DT-diaphorase substrate. *Bioorganic Chemistry*, 106, 104478. doi:10.1016/j.bioorg.2020.104478.

71. Schuck, D. C., Ferreira, S. B., Cruz, L. N., Da Rocha, D. R., Moraes, M. S.,

Nakabashi, M., ... & Garcia, C. R. (2013). Biological evaluation of hydroxynaphthoquinones as anti-malarials. *Malaria Journal*, *12*(1), 1-6.

72. Etukudoh, N. S., Opeyemi, O. O., Kunle-Alabi, O. T., & Adeyombo, F. B. (2019). Naphthoquinone impairs reproductive functions in plasmodium berghei berghei-infected male swiss mice. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, *8*, 1-4.

73. Lebeau, J., Petit, T., Clerc, P., Dufossé, L., & Caro, Y. (2019). Isolation of two novel purple naphthoquinone pigments concomitant with the bioactive red bikaverin and derivatives thereof produced by *Fusarium oxysporum*. *Biotechnology Progress*, *35*(1), 2738. doi:10.1002/btpr.2738.

74. Hook, I., Mills, C. & Sheridan, H. (2014). Bioactive naphthoquinones from higher plants. *Studies in natural products chemistry*, *41*, 119-160. doi:10.1016/B978-0-444-63294-4.00005-X.

75. Rahmoun, N. M., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Benabdallah, M., Villemin, D., & Choukchou-Braham, N. (2012), Antibacterial and antifungal activity of lawsone and novel naphthoquinone derivatives. *Medecine et maladies infectieuses*, *42*(6), 270-275. doi:10.1016/j.medmal.2012.05.002.

76. Rahmoun, N. M., Boucherit-Atmani, Z., Benabdallah, M., Boucherit, K., Villemin, D., & Choukchou-Braham, N. (2013). Antimicrobial activities of the henna extract and some synthetic naphthoquinones derivatives. *Am J Med Biol Res.*, *1*(1), 16-22. doi:10.12691/ajmbr-1-1-3.

77. Christiansen, J. V., Isbrandt, T., Petersen, C., Sondergaard, T. E., Nielsen, M. R., Pedersen, T. B., ... & Frisvad, J. C. (2021). Fungal quinones: diversity, producers, and applications of quinones from *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces*, *Fusarium*, and *Arthrimum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *105*(21), 8157-8193. doi:10.1007/s00253-021-11597-0.

78. Ortiz-Pérez, E., Rivera, G., Salas, C. O., Zarate-Ramos, J. J., Trofymchuk, O. S., Hernandez-Soberanis, L., ... & Vázquez, K. (2021). Natural and synthetic naphthoquinones as potential anti-infective agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *21*(22), 2046-2069. doi:10.2174/1568026621666210915121348.

79. Zhang, G., Pedersen, D.K., Phillips, D.V., Bradley, C.A. (2012). Sensitivity of *Cercospora sojina* isolates to quinone outside inhibitor fungicides. *Crop Protection*, 40, 63-68. doi: 10.1016/j.cropro.2012.04.025.
80. Taksonyi, P., Kocsis, L., Mátyás, K.K., Taller, J. (2013). The effect of quinone outside inhibitor fungicides on powdery mildew in a grape vineyard in Hungary. *Scientia Horticulturae*, 161, 233-238. doi: 10.1016/j.scienta.2013.06.031.
81. Karki, N., Aggarwal, S., Laine, R. A., Greenway, F., & Losso, J. N. (2020). Cytotoxicity of juglone and thymoquinone against pancreatic cancer cells. *Chemico-biological interactions*, 327, 109142. doi:10.1016/j.cbi.2020.109142.
82. Liu, F. (2012). Synthesis of natural products and small molecules using quinones., doi:10.31274/etd-180810-2332.
83. Ahmadi, E. S., Tajbakhsh, A., Iranshahy, M., Asili, J., Kretschmer, N., Shakeri, A., & Sahebkar, A. (2020). Naphthoquinone derivatives isolated from plants: recent advances in biological activity. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 20(19), 2019-2035. doi:10.2174/1389557520666200818212020.
84. López López, L. I., Flores, N., Daniel, S., Silva Belmares, S. Y., & SÁENZ GALINDO, A. (2014). Naphthoquinones: biological properties and synthesis of lawsone and derivatives-a structured review. *Vitae*, 21(3), 248-258.
85. Oramas-Royo, S., Torrejon, C., Cuadrado et al. (2013). Synthesis and cytotoxic activity of metallic complexes of lawsone. *Bioorg. Med. Chem.*, 21(9), 2471–2477. doi:10.1016/j.bmc.2013.03.002s.
86. Padhye, S., Dandawate, P., Yusufi M. et al. (2012). Perspectives on medicinal properties of plumbagin and its analogs. *Med. Res. Rev.*, 32, 1131–1158. doi:10.1002/med.20235.
87. Yin, Z.; Zhang, J., Chen, L., Guo, Q., Yang, B., Zhang, W., & Kang, W. (2020). Anticancer effects and mechanisms of action of plumbagin: Review of research advances. *BioMed Research International*, doi:10.1155/2020/6940953.
88. Andújar, I., Ríos, J., Giner, R., & Recio, M. (2013). Pharmacological Properties of Shikonin – A Review of Literature since 2002. *Planta Medica*, 79(18), 1685–1697. doi:10.1055/s-0033-1350934.

89. Guo, C., He, J., Song, X., Tan, L., Wang, M., Jiang, P., ... Peng, C. (2019). *Pharmacological Properties and Derivatives of Shikonin-A Review in Recent Years. Pharmacological Research.*, 149, 104463. doi:10.1016/j.phrs.2019.104463.
90. Sun, Qiang, Gong, Ting, Liu, Maolun, Ren, Shan, Yang, Han, Zeng, Sha, Zhao, Hui, Chen, Li, Ming, Tianqi, Meng, Xianli, et al. Shikonin, a naphthalene ingredient: Therapeutic actions, pharmacokinetics, toxicology, clinical trials and pharmaceutical researches. *Phytomedicine*, 2022, 94, 153805, doi:10.1016/j.phymed.2021.153805.
91. Widhalm, J. R., & Rhodes, D. (2016). Biosynthesis and molecular actions of specialized 1, 4-naphthoquinone natural products produced by horticultural plants. *Horticulture Research*, 3. doi:10.1038/hortres.2016.46.
92. Bergeron, F., Klarskov, K., Hunting, D.J., Wagner, J.R. (2007). Near-UV photolysis of 2-methyl-1,4-naphthoquinone-DNA duplexes: characterization of reversible and stable interstrand cross-links between quinones and adenine moieties. *Chem. Res. Toxicol.*, 20 (5), 745-756. doi:10.1021/tx6002968.
93. Capelôa, T., Benyahia, Z., Zampieri, L. X., Blackman, M. C., & Sonveaux, P. (2020). Metabolic and non-metabolic pathways that control cancer resistance to anthracyclines. *Seminars in cell & developmental biology*, 98, 181-191. doi:10.1016/j.semcd.2019.05.006.
94. L. Zhu, X. Cao, W. Chen, G. Zhang, D. Sun, P.G. Wang. (2005). Syntheses and biological activities of daunorubicin analogs with uncommon sugars. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(23), 6381-6387. doi:10.1016/j.bmc.2005.06.053.
95. Ibis, C., Sahinler Ayla, S., & Yavuz, S. (2019). Reactions of quinones with some aryl phenols and synthesis of new quinone derivatives. *Synthetic Communications*, 49(2), 202-211. doi:10.1080/00397911.2018.1546403.
96. Polish N., Marintsova N., Konechna R., Krychkovska A., Zayarnyuk N., Novikov V. (2020). Pyrazole-based drugs in correcting medical and biological problems of human health., 7-23.
97. Saxena, P., Sharma, P. K., & Purohit, P. (2020). A journey of celecoxib from pain to cancer. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 147, 106379. doi:10.1016/j.prostaglandins.2019.106379.

98. Zhang, A., Yue, Y., Yang, J., Shi, J., Tao, K., Jin, H., & Hou, T. (2019). Design, synthesis, and antifungal activities of novel aromatic carboxamides containing a diphenylamine scaffold. *Journal of agricultural and food chemistry*, 67(17), 5008-5016. doi:10.1021/acs.jafc.9b00151.
99. Alam, Md Jahangir, et al. (2015). A review on pyrazole chemical entity and biological activity. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1433-1442.
100. Zhou, S., Zou, H., Chen, G., & Huang, G. (2019). Synthesis and Biological Activities of Chemical Drugs for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Topics in Current Chemistry*, 377(5). doi:10.1007/s41061-019-0252-5.
101. Hosoya, M., Honda, Y., Ishii, T., Suzuki, H., Mori, S., & Shigeta, S. (1995). Comparative Inhibitory Effects of Ribavirin, Pyrazofurin, and EICAR on Measles (SSPE) Virus Replication In Vitro and In Vivo. *Antiviral Research*, 26(3), A351-A351.
102. Collins, F. W., O'Connor, P. M., O'Sullivan, O., Rea, M. C., Hill, C., & Ross, R. P. (2016). Formicin—a novel broad-spectrum two-component lantibiotic produced by *Bacillus paralicheniformis* APC 1576. *Microbiology*, 162(9), 1662-1671. doi:10.1099/mic.0.000340.
103. Dhir, N., Jain, A., Mahendru, D., Prakash, A., & Medhi, B. (2020). Drug repurposing and orphan disease therapeutics. *Drug Repurposing-Hypothesis, Molecular Aspects and Therapeutic Applications*, 1-17, doi:10.5772/intechopen.91941.
104. Rizk, H. F., Ibrahim, S. A., & El-Borai, M. A. (2015). Synthesis, fastness properties, color assessment and antimicrobial activity of some azo reactive dyes having pyrazole moiety. *Dyes and Pigments*, 112, 86-92. doi:10.1016/j.dyepig.2014.06.026.
105. Ansari, Anam, Abad Ali; Mohd Asif. biologically active pyrazole derivatives. (2017). *New Journal of Chemistry*, 16-41. doi:10.1039/C6NJ03181A.
106. Saadaoui, I., Krichen, F., Salah, B. B., Mansour, R. B., Miled, N., Bougatef, A., & Kossentini, M. (2019). Design, synthesis and biological evaluation of Schiff bases

of 4-amino-1,2,4-triazole derivatives as potent angiotensin converting enzyme inhibitors and antioxidant activities, *Journal of Molecular Structure*, 1180, 344-354. doi:10.1016/j.molstruc.2018.12.008.

107. El-Reedy A.A.M.; Soliman N.K. (2020). Synthesis, biological activity and molecular modeling study of novel 1,2,4-triazolo-[4,3-b][1,2,4,5]tetrazines and 1,2,4-triazolo[4,3-b][1,2,4]triazines. *Scientific reports*, 10(1), 1-18. doi:10.1038/s41598-020-62977-x.

108. El-Sherief, H. A., Youssif, B. G., Bukhari, S. N. A., Abdel-Aziz, M., & Abdel-Rahman, H. M. (2018). Novel 1,2,4-triazole derivatives as potential anticancer agents: Design, synthesis, molecular docking and mechanistic studies. *Bioorganic chemistry*, 76, 314-325. doi:10.1016/j.bioorg.2017.12.013.

109. Plech T., Luszczki J. J., Wujec M., Flieger J., & Pizoń M. (2013). Synthesis, characterization and preliminary anticonvulsant evaluation of some 4-alkyl-1, 2, 4-triazoles. *European journal of medicinal chemistry*, 60, 208-215. doi:10.1016/j.ejmech.2012.11.026.

110. Gomez-Lopez, A. (2020). Antifungal therapeutic drug monitoring: focus on drugs without a clear recommendation. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(11), 1481-1487. doi:10.1016/j.cmi.2020.05.037.

111. Sangshetti J. N., Jaiprakash N., Shinde D. B., Devanand B. (2010). One pot synthesis and SAR of some novel 3-substituted 5, 6-diphenyl-1,2,4-triazines as antifungal agents. *Bioorg. Med. Chem. Letters*, 20(2), 742-745. doi:10.1016/j.bmcl.2009.11.048.

112. Voskoboynik, O. Y., Shishkina, S. V., & Kovalenko, S. I. (2018). [1,2,4]Triazino[2,3-c]quinazolines 3*. Structure and anticancer activity of products obtained from reaction of 3-(2-aminophenyl)-6-R-1,2,4-triazin-5(2H)-ones with aryl iso(thio)cyanates. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 54, 717-728. doi:10.1007/s10593-018-2338-3.

113. Abd El-Moneim M., Hasanen J. A., El-Deen I. M., Abd El-Fattah W. (2015). Synthesis of fused 1,2,4-triazines as potential antimicrobial and antitumor agents. *Res. Chem. Intermed.*, 6, 3543-3561. doi:10.1007/s11164-013-1470-z.

114. Sieveking, I.; Thomas, P.; Estévez, J. C.; Quiñones, N.; Cuéllar, M. A.; Villena,

- J.; ... & López-Muñoz, R. (2014). 2-Phenylaminonaphthoquinones and related compounds: Synthesis, trypanocidal and cytotoxic activities. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 22(17), 4609-4620. doi:10.1016/j.bmc.2014.07.030.
115. López-Arredondo, D., Leyva-González, M., Alatorre-Cobos, F., Herrera-Estrella, L. (2013). Biotechnology of nutrient uptake and assimilation in plants. *Int. J. Dev. Biol.*, 57 (6-8), 595–610. doi:10.1387/ijdb.130268lh.
116. Časar, Z. (2016). Topics in Heterocyclic Chemistry. *Synthesis of heterocycles in contemporary medicinal chemistry*, 44. doi:10.1080/10426507.2017.1333508.
117. Anjomshoa, M., Fatemi, S. J., Torkzadeh-Mahani, M., & Hadadzadeh, H. (2014). DNA-and BSA-binding studies and anticancer activity against human breast cancer cells (MCF-7) of the zinc (II) complex coordinated by 5, 6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 127, 511-520. doi:10.1016/j.saa.2014.02.048.
118. Cascioferro, S., Parrino, B., Spano, V., Carbone, A., Montalbano, A., Barraja, P., ... & Cirrincione, G. (2017). An overview on the recent developments of 1,2,4-triazine derivatives as anticancer compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 142, 328-37. doi:10.1016/j.ejmech.2017.08.009.
119. Ahuja, P., & Siddiqui, N. (2014). Anticonvulsant evaluation of clubbed indole-1,2,4-triazine derivatives: A synthetic approach. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 80, 509-522. doi:10.1016/j.ejmech.2014.04.043.
120. Wang X., Wang B. H., Zhang X., Yu S., Huang X., Zhang J., Tian C., Lang S. (2015). Lamotrigine induced DIHS/DRESS: Manifestations, treatment, and outcome in 57 patients. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 138. 1–7. doi:10.1016/j.clineuro.2015.07.008.
121. Chuan-Chia Chang, I-Shin Shiah, Chin-Bin Yeh, Tzong-Shi Wang, Hsin-An Chang. (2006). Lamotrigine-associated anticonvulsant hypersensitivity syndrome in bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 4, 741-744. doi:10.1016/j.pnpbp.2005.11.033.
122. de Moraes Costa, G., Ziegelmann, P. K., Zanatta, F. B., Martins, C. C., de Moraes Costa, P., & Mello, C. F. (2022). Efficacy, acceptability, and tolerability of

antidepressants for sleep quality disturbances in post-traumatic stress disorder: A systematic review and network meta-analysis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 117, 110557. doi:10.1016/j.pnpbp.2022.110557.

123. Irannejada H., Sharifzadeh M., Shafiee A., Aminia M., Khodagholib F., Ansaria N., Khoramian S. (2010). Synthesis and in vitro evaluation of novel 1,2,4-triazine derivatives as neuroprotective agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2, 4224–4230. doi:10.1016/j.bmc.2010.04.097.

124. Kaushik, D., Khan, S. A., & Chawla, G. (2010). Design & synthesis of 2-(substituted aryloxy)-5-(substituted benzyldiene)-3-phenyl-2,5-dihydro-1H-[1,2,4] triazin-6-one as potential anticonvulsant agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(9), 3960–3969. doi:10.1016/j.ejmech.2010.05.051.

125. Shestakova, T. S., Deev, S. L., Khalymbadzha, I. A., Rusinov, V. L., Paramonov, A. S., Arseniev, A. S., ... & Chupakhin, O. N. (2021). Antiviral drug Triazavirin, selectively labeled with ²H, ¹³C, and ¹⁵N stable isotopes. Synthesis and properties. *Chemistry of heterocyclic compounds*, 57(4), 479-482.

126. Karpenko, I., Deev, S., Kiselev, O., Charushin, V., Rusinov, V., Ulomsky, E., ... & Kukhanova, M. (2010). Antiviral properties, metabolism, and pharmacokinetics of a novel azolo-1, 2, 4-triazine-derived inhibitor of influenza A and B virus replication. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(5), 2017-2022.

127. Irannejad H.; Nadri H.; Naderi N.; Rezaeian S. (2015). Anticonvulsant activity of 1,2,4- triazine derivatives with pyridyl side chain: synthesis, biological, and computational study. *Med. Chem. Res.*, 6, 2505-2513. doi:10.1007/s00044-014-1315-3.

128. Aqlan, F.M., Makki, M.S. and Abdel-Rahman, R.M. (2016). Synthesis, Spectroscopic Studies of Fluorinated Pyrimido-1,2,4-Triazines: Protective Effect against Some Plant Pathogenic Fungi. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 53, 1310-1317. doi:10.1002/jhet.2386.

129. Belen'kii, L. I., Gazieva, G. A., Evdokimenkova, Y. B., & Soboleva, N. O. (2020). The literature of heterocyclic chemistry, part XVIII, 2018. *Advances in*

Heterocyclic Chemistry, 132, 385-468. Academic Press, doi:10.1016/bs.aihch.2020.01.002.

130. Zhang, X., Chen, Y. H., & Tan, B. (2018). Organocatalytic enantioselective transformations involving quinone derivatives as reaction partners. *Tetrahedron Letters*, 59(6), 473-486. doi:10.1016/j.tetlet.2017.12.055.

131. Finley, K. T. (1974). The addition and substitution chemistry of quinones. *Quinonoid Compounds*, 2(2), 877-1144. doi:10.1002/9780470771303.ch6.

132. Neelgund, G. M., & Budni, M. L. (2005). Interaction of 2, 3-dichloro-1, 4-naphthoquinone with n-butylamine in halocarbon solvents. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 61(8), 1729-1735. doi:10.1016/j.saa.2004.07.003.

133. Domingo, L. R., Saéz, J. A., Zaragozá, R. J., & Arnó, M. (2008). Understanding the participation of quadricyclane as nucleophile in polar $[2\sigma^+ 2\sigma^+ 2\pi]$ cycloadditions toward electrophilic π molecules. *The Journal of organic chemistry*, 73(22), 8791-8799. doi:10.1021/jo801575g.

134. Delarmelina, M., Greco, S. J., & Carneiro, J. W. D. M. (2017). Single step mechanism for nucleophilic substitution of 2,3-dichloro naphthoquinone using nitrogen, oxygen and sulfur nucleophiles: A DFT approach. *Tetrahedron*, 73(30), 4363-4370. doi:10.1016/j.tet.2017.05.095.

135. da S. M. Forezi, Luana, F. C. Cardoso, Mariana, C. S. Costa, Dora, de C. da Silva, Fernando, F. Ferreira, Vitor. (2017). 2,3-Dichloro-1,4-Naphthoquinone in Organic Synthesis: Recent Advances. Bentham Science Publishers, Mini-Reviews in Organic Chemistry, 14(5), 375-390.

136. Bagheri, I., Mohammadi, L., Zadsirjan, V., & Heravi, M. M. (2021). Organocatalyzed asymmetric Mannich reaction: an update. *ChemistrySelect*, 6(5), 1008-1066. doi:10.1002/slct.202003034.

137. Shi, Y., Wang, Q., & Gao, S. (2018). Recent advances in the intramolecular Mannich reaction in natural products total synthesis. *Organic Chemistry Frontiers*, 5(6), 1049-1066. doi:10.1039/C7QO01079F.

138. Carruthers, W. (2013). *Cycloaddition reactions in organic synthesis*. Elsevier.

139. Сингаєвський, В. О., Слесарчук, М. С., Кудрінецька, А. В., Болібрух, Х. Б., & Половкович, С. В. (2018). Реакція [3+2] циклоприєднання у синтезі нових похідних 1,4-нафтохінону, *Вісник національного університету "Львівська політехніка"*. Серія: Хімія, технологія речовин та їх застосування, 886, 146-157.
140. Dumanska, Y., Shakh, Y., Konechna, R., Kurka, M., Kovalchuk, O., Karhut, A., ... & Novikov, V. (2015). Influence of substituents 5-substituted 1, 4-naphthoquinones on regioselectivity of Diels-Alder reaction. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(8), 697-702.
141. Hassan, A. A., Ibrahim, Y. R., Semida, A. A., & Mourad, A. F. E. (1994). Chemical Interactions of Thiosemicarbazides with 1,4-Benzo-and 1,4-Naphthoquinones. *Liebigs Annalen der Chemie*, 1994(10), 989-992. doi:10.1002/jlac.199419941006.
142. Syldatk C., Lang S., Matulovic U., Wagner F. (1985). Production of Four Interfacial Active Rhamnolipids from *i*-Alkanes or Glycerol by Resting Cells of *Pseudomonas* species DSM 2874. *Zeitschrift für Naturforschung*, 1, 61–67.
143. Карпенко, О. В. (2015). Наукові засади створення біотехнологій поверхнево-активних речовин з поліфункціональними властивостями. Автореф. дис. ... д-ра техн. наук : спец. 03.00.20 «Біотехнологія». Київ, 46.
144. Карпенко, О. В., Єрохін, В. А., Пристай, М. В., & Шульга, О. М. (2012). Застосування вихрового ферментера для одержання продуктів мікробного синтезу. *Вопросы химии и химической технологии*, (2), 34-39.
145. Polish, N.V., Nesterkina, M.V., Protunkevych, M.S., Karkhut, A.I., Marintsova, N.G., Polovkovych, S.V., Kravchenko, I.A., Voskoboinik, O. Y., Kovalenko, S. I., & Karpenko, O.V. (2021). Synthesis and pharmacological evaluation of novel naphthoquinone derivatives containing 1,2,4-triazine and 1,2,4-triazole moieties. *Voprosy khimii i khimicheskoi tekhnologii*, 5(138), 97–104. doi:10.32434/0321-4095-2021-138-5-97-104.
146. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Кархут А.І., Яремкевич О.С., Карпенко О.В. (2021). Антиоксидантна активність гетероциклічних аміновмісних похідних

нафтохінону та їх композицій з поверхнево-активними рамноліпідами. *Chemistry, Technology and Application of Substances = Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 4(1), 109–115.

147. Fainerman, V. B., & Miller, R. (2011). Maximum bubble pressure tensiometry: theory, analysis of experimental constrains and applications. *Bubble and drop interfaces*, 75-118.

148. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Specific Purposes, Strasbourg, Council of Europe. (1986). 123, 51.

149. Кравченко И. А. (2000). Трансдермальное введение лекарственных препаратов. Одесса : Астропринт, 174.

150. Gupta, G., Jia Jia, T., Yee Woon, L., Kumar Chellappan, D., Candasamy, M., & Dua, K. (2015). Pharmacological evaluation of antidepressant-like effect of genistein and its combination with amitriptyline: an acute and chronic study. *Advances in pharmacological sciences*, 2015. doi:10.1155/2015/164943.

151. Švarc-Gajić J. (2010). General toxicology. New York: Nova Science Publishers, Inc., 287.

152. Сидоров К. К. (1973). О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных веществ*. 13, 47–51.

153. Лабинская А.С. (1972). Микробиология с техникой микробиологических исследований. М.: Медицина, 91-93.

154. Polish N., Voitsakhivska O., Marintsova N., Zhurakhivska L., Novikov V., Bohza S. (2019). Primary screening of the biological activity of heterocyclic aminoderivatives of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 6(22), 37–42.

155. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

156. Om P. Sharma, Tej K. Bhat. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205.

157. Волков В.А., Пахомов П.М. (2008). Кінетика взаємодія радикала ДФПГ с екстрактивними речовинами рослин в різних середовищах. *Ползуновський вестник*, 3, 309-313.
158. Davies M.J. (2000). Electron Paramagnetic Resonance. *Royal Society of Chemistry*, 178.
159. Charles P. (1996). Poole Electron spin resonance: a comprehensive treatise on experimental techniques. *Courier Dover Publications*, 443 .
160. Lowry, O. H., Rosebrough, N. G., Farr, A. L., & Randall, R. C. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193(1), 265–275.
161. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.
162. Michiels, C., & Remacle, J. (1991). Cytotoxicity of linoleic acid peroxide, malondialdehyde and 4-hydroxynonenal towards human fibroblasts. *Toxicology*, 66(2), 225–234. doi:10.1016/0300-483X(91)90221-L
163. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Новіков В.П., Вовк М.В. (2019). Синтез та прогнозування біологічної активності нових гетероциклічних N-похідних нафтохінону. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2(1), 69–75.
164. Polish, N., Nesterkina, M., Marintsova, N., Karkhut, A., Kravchenko, I., Novikov, V., & Khairulin, A. (2020). Synthesis and evaluation on anticonvulsant and antidepressant activities of naphthoquinone derivatives containing pyrazole and pyrimidine fragments. *Acta Chimica Slovenica*, 67(3), 934-939. <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2020.5938>.
165. Hassan, A. A., Mohamed, N. K., Ibrahim, Y. R., & Mourad, A. F. E. (1993). Chemical Interactions between Aminopyrazoles and 2, 3-Dicyano-1, 4-naphthoquinone. *Liebigs Annalen der Chemie*, 1993(6), 695-697. doi:0.1002/jlac.1993199301112.

166. Ibis, C., Tuyun, A. F., Bahar, H., Ayla, S. S., Stasevych, M. V., Musyanovych, R. Y., ... & Novikov, V. (2014). Nucleophilic substitution reactions of 1, 4-naphthoquinone and biologic properties of novel S-, S, S-, N-, and N, S-substituted 1, 4-naphthoquinone derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 23(4), 2140-2149.
167. Воскобойник, А. Ю., Коломоец, А. С., Коваленко, С. И., Шишкина, С. В., Воскобойник, О. Ю., Коломоець, О. С., & Коваленко, С. І. (2017). [1,2,4] Триазино [2,3-с] хиначолины. 1. Методы получения и спектральные характеристики замещенных 3-R1-6-R3-6,7-дигидро-2Н-[1,2,4] триазино [2,3-с] хиначолин-2-онов.
168. Поліш Н.В., Марінцова Н. Г., Кархут А.І., Журахівська Л.Р., Конечна Р.Т., Новіков В.П., Воскобойник О.Ю., Коваленко С. І. (2020). Синтез нових 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону як перспективних біологічно активних сполук. *Питання хімії та хімічної технології*, 5 (132), р.73–80. doi:10.32434/0321-4095-2020-132-5-73-80.
169. Sergeieva, T., Bilichenko, M., Holodnyak, S., Monaykina, Y. V., Okovytyu, S. I., Kovalenko, S. I., ... & Leszczynski, J. (2016). Origin of substituent effect on tautomeric behavior of 1, 2, 4-triazole derivatives: Combined spectroscopic and theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 120(51), 10116-10122. doi:10.1021/acs.jpca.6b08317.
170. Cortis, A., & Ghezzehei, T. A. (2007). On the transport of emulsions in porous media. *Journal of Colloid and Interface Science*, 313(1), 1-4. doi:10.1016/j.jcis.2007.04.021.
171. Посылкина, О. В., Доровской, О. В., Деренская, Я. Н., Сагайдак-Нікітюк, Р. В., Светличная, К. С., Кубасова, А. В., ... & Кубасова, Г. В. (2016). Економіка, планування та організація хіміко-фармацевтичного виробництва.
172. Benzaghta, M. A., Elwalda, A., Mousa, M. M., Erkan, I., & Rahman, M. (2021). SWOT analysis applications: An integrative literature review. *Journal of Global Business Insights*, 6(1), 55-73. doi:10.5038/2640-6489.6.1.1148.
173. Машковський М.Д. (2006). Лекарственные средства. М.: ООО "Издательство Новая Волна". 15-е изд., 125-128.

174. Vigo, D. V., & Baldessarini, R. J. (2009). Anticonvulsants in the treatment of major depressive disorder: an overview. *Harvard Review of Psychiatry*, *17*(4), 231-241.
175. Baldessarini, R. J., & Tarazi, F. I. (2006). Pharmacotherapy of psychosis and mania. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*, *11*, 461-500. doi:10.1036/0071422803.
176. Hasin, D. S., Goodwin, R. D., Stinson, F. S., & Grant, B. F. (2005). Epidemiology of major depressive disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcoholism and Related Conditions. *Archives of general psychiatry*, *62*(10), 1097-1106. doi:10.1001/archpsyc.62.10.1097.
177. Mathers, C. D., & Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS medicine*, *3*(11), e442. doi:10.1371/journal.pmed.0030442.
178. Evans, D. L., Charney, D. S., Lewis, L., Golden, R. N., Gorman, J. M., Krishnan, K. R. R., ... & Valvo, W. J. (2005). Mood disorders in the medically ill: scientific review and recommendations. *Biological psychiatry*, *58*(3), 175-189. doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.05.001.
179. Lagunin, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2010). Multi-targeted natural products evaluation based on biological activity prediction with PASS. *Current Pharmaceutical Design*, *16*(15), 1703-1717. doi:10.2174/138161210791164063.
180. Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Glorizova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., & Poroikov, V. V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, *50*(3), 444-457.
181. Lagunin, A., Zakharov, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2011). QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction. *Molecular informatics*, *30*(2-3), 241-250. doi:10.1002/minf.201000151.
182. Bhalerao, A., Sivandzade, F., Archie, S. R., Chowdhury, E. A., Noorani, B., & Cucullo, L. (2020). In vitro modeling of the neurovascular unit: advances in the field. *Fluids and Barriers of the CNS*, *17*(1), 1-20. doi:10.1186/s12987-020-00183-7.

183. Bansal, M., Goel, B., Shukla, S., & Srivastava, R. S. (2013). Synthesis, characterization & anticonvulsant activity of amide derivatives of 4-amino-1, 2-naphthoquinone. *Medicinal Chemistry Research*, 22(11), 5349-5355. doi:10.1007/s00044-013-0531-6.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ



Товариство з обмеженою відповідальністю
“Компанія універсальні технології”
LTD. “UTC”

Юридична адреса: 82500, Україна, м. Турка,
 вул. І. Франка, 33 Турківський р-н, Львівської обл.
 Тел./факс: (+38 032) 245-81-91, 245-81-92
 Р/р UA08305299000026008041004598 АТКБ
 Приватбанк” м. Львова МФО 305299
 ЄДРНОУ 31147826

Поштова адреса: 79024 м. Львів
 вул. Б. Хмельницького 106

e-mail: kut ltd@ukr.net

Затверджую
 Директор
 ТОВ «Компанія універсальні технології»
 Ігнацевич Н.Б.
 «06» червня 2022 р.

Акт

**про перспективи впровадження результатів дисертаційної роботи ПОЛІШ
 Наталії Володимирівни**

ТзОВ «Компанія універсальні технології», надалі – підприємство, зацікавлено у розвитку і впровадженні нових перспективних продуктів і технологій. Тому тему дисертації Наталі Поліш «Біотехнологія композиційних препаратів на основі нових N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біосурфактантів, властивості і застосування» (Кафедра ТБСФБ, НУ «Львівська політехніка») ми вважаємо актуальною. У дисертації представлені нові цікаві результати, присвячені розробці технології нових композиційних препаратів на основі гетероциклічних похідних нафтохінону і біогенних поверхнево-активних сполук мікробного походження – біосурфактантів, вивченню їх властивостей і практичному потенціалу.

Для цього автором синтезована значна кількість біологічно активних сполук (понад 50) – похідних 1,4-нафтохінону, найбільш перспективні обрано для композицій з біосурфактантами. Багатовекторними дослідженнями визначено цікаві фармакологічні властивості нових препаратів: антиоксидантну, протисудомну, антимікробну активність тощо. Результати дисертації вказують на їх перспективність як нових лікарських засобів з широким спектром біологічної активності, низькою токсичністю, екобезпечністю.

Наше підприємство зацікавлене у випуску експериментальних партій препаратів тіоестерів і біосурфактантів, а також їх композицій.

Директор ТзОВ

«Компанія універсальні технології»



Н.Б. Ігнацевич


«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Національного університету
 «Львівська політехніка»
 Давидчак О.Р.
 « » 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Дослідження антиоксидантної активності композиційних препаратів на основі N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біоПАР.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
 Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
 Національний університет «Львівська політехніка»
 д.т.н., проф. Карпенко О.В., к.х.н. доц. Марінцова Н.Г., аспірант Поліш Н.В.

3. Джерела інформації:

1. Поліш Н. В., Марінцова Н. Г., Кархут А. І., Яремкевич О. С., Карпенко О. В. Антиоксидантна активність гетероциклічних аміновмісних похідних нафтохінону та їх композицій з поверхнево-активними рамноліпідами. *Хімія, технологія речовин та їх застосування*. 2021. Vol. 4, № 1. Р. 109–115.2.
2. Поліш Н. В., Марінцова Н. Г., Журахівська Л. Р., Волянчук К. А., Карпенко О. В. Дослідження антиоксидантної активності композиційних препаратів гетероциклічних N-похідних нафтохінону та біоПАР. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : I Міжнародна науково-практична Інтернет-конференція, 25 березня 2021. Харків 2021. С. 282–283.
3. Polish N., Kurylo O., Karkhut A., Zhurakhivska L., Marintsova N. Computer prediction of biological activity of 1,2,4-triazole derivatives of 1,4-naphthoquinone. *Chemical technology and engineering* : proceedings of the 3rd International scientific conference , June 21–24th, 2021, Lviv, Ukraine. 2021. С. 32–34.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. Термін впровадження з 01.10.2021 р.


6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень антиоксидантної активності композиційних препаратів на основі N-вмісних гетероциклічних похідних 1,4-нафтохінону та біоПАР, які наведені у вищевказаних джерелах, впроваджені у навчальний процес при вивченні дисципліни «Основи фармацевтичної біотехнології» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри біологічно активних
 сполук, фармації та біотехнології, д.х.н., професор


 В.І. Лубенець

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного університету
«Львівська політехніка»

Давидчак О.Р.
2022 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозицій для впровадження:

Дослідження біогенних поверхнево-активних речовин та композиційних препаратів на їх основі.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12
Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»
д.т.н., проф. Карпенко О.В., к.х.н. доц. Марінцова Н.Г., аспірант Поліш Н.В.

3. Джерела інформації:

1. Поліш, Н. В., Марінцова, Н. Г. Біогенні поверхнево-активні речовини як перспективні екологічно безпечні засоби для використання в агропромисловості та медицині. In *Actual problems of natural sciences: modern scientific discussion*. Riga: Baltija Publishing. 2021. С. 265-282.
2. Polish N. V., Yaremkevych O. S., Karkhut A. I., Polovkovych S. V., Marintsova N. G., Zhurakhivska L. R., Karpenko O. V. Antioxidant activity of compositions based on aminopyrazole derivatives of naphthoquinone and biosurfactants. *Физико-химическая биология как основа современной медицины : тезисы докладов участников Международной научной конференции, посвященной 75-летию со дня рождения профессора Е. В. Барковского*. Минск, 21 мая 2021 г. 2021. С. 214–216.
3. Polish N., Marintsova N., Zhurakhivska L., Novikov V., Vovk M. Prediction of the biological activity of naphthoquinone N-derivatives on the basis of virtual screening and drug-like characteristics. *Chemical technology and engineering : proceedings of the 2nd International scientific conference, June 24–28th, 2019, Lviv, Ukraine*. 2019. P.38–39.

4. Впроваджено: у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка».

5. Термін впровадження з 01.10.2021 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень біогенних поверхнево-активних речовин та композиційних препаратів на їх основі, які наведені у вищевказаних джерелах, впроваджені у навчальний процес при вивченні дисципліни «Загальна біотехнологія» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія».

7. Зауваження, пропозиції – немає.

Завідувач кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології, д.х.н., професор

 Лубенець В.І.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор ДВНЗ «Українського
державного хіміко-технологічного
університету»
д-р техн. н., проф.



Олександр ЗАЙЧУК

05 / 2022 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження:

Дослідження синтезу нових 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону як перспективних біологічно активних сполук.

2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:

м. Львів, вул. С. Бандери, 12

Кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
Національний університет «Львівська політехніка»

д-р техн. н., проф. Карпенко О.В., канд. хім. н. доц. Марінцова Н.Г., аспірант Поліш Н.В.

3. Джерела інформації:

1. Поліш Н.В., Марінцова Н. Г., Кархут А.І., Журахівська Л.Р., Конечна Р.Т., Новіков В.П., Воскобойнік О.Ю., Коваленко С. І. Синтез нових 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону як перспективних біологічно активних сполук. *Питання хімії та хімічної технології*. 2020. 5 (132). С.73–80.

2. Поліш Н.В., Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Кархут А.І., Половкович С.В., Новіков В.П. Синтез та прогнозування біологічної активності (1Н-1,2,4-триазол-5-іл) анілін похідних нафтохінону. Хімічні Каразінські читання – 2020 : тези доповідей XII Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів, 21–23 квітня 2020 року, Харків. С.95–96.

3. Поліш Н. В., Курило О. П., Кархут А. І., Марінцова Н. Г., Новіков В. П. Синтез нових 1,2,4-триазиновмісних похідних нафтохінону. Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи : збірник матеріалів IV Всеукраїнської наукової конференції, 29 квітня 2020 р., м. Житомир. – 2020. С. 211.

4. **Впроваджено:** до використання у науково-дослідній та навчальній роботі кафедри фармації та технології органічних речовин ДВНЗ «Українського державного хіміко-технологічного університету».

5. **Термін впровадження з** 2022 р.

6. Ефективність впровадження:

Результати досліджень синтезу нових 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону як перспективних біологічно активних сполук, впроваджені у науково-дослідній та навчальній роботі кафедри фармації та технології органічних речовин ДВНЗ «Українського державного хіміко-технологічного університету».

7. **Зауваження, пропозиції** – немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації
та технології органічних речовин
д-р хім. н., проф.

Олександр ХАРЧЕНКО

ПАТЕНТ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ



ДОДАТОК Б

Таблиця Б1

Фізико-хімічні характеристики отриманих амінопіразольних та амінопіримідинових похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону
(3.6-3.11)

Сполука	Вихід, %	T _{пл} , °C	Елементний аналіз						Брутто формула
			Знайдено			Розраховано			
			С	Н	N	С	Н	N	
3.6	76	162-165	62.35	3.71	9.85	62.64	3.83	9.96	C ₂₂ H ₁₆ ClN ₃ O ₄
3.7	78	215-217	58.30	3.42	14.50	58.45	3.50	14.61	C ₁₄ H ₁₀ ClN ₃ O ₂
3.8	42	123-125	58.32	3.40	14.50	58.45	3.50	14.61	C ₁₄ H ₁₀ ClN ₃ O ₂
3.9	73	121-123	54.36	3.19	10.50	54.63	3.30	10.62	C ₁₈ H ₁₃ ClF ₃ N ₃ O ₂
3.10	53	118-120	56.89	3.89	9.58	57.87	3.93	9.65	C ₂₁ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₂
3.11	56	238-240	65.62	3.77	11.25	66.03	3.88	11.55	C ₂₀ H ₁₄ ClN ₃ O ₂

Таблиця Б 2

Спектральні дані амінопіразольних та амінопіримідинових похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (3.6-3.11)

№сп.	HPLC, t_{r} , хв	^1H ЯМР ДМСО- d_6 , δ , м.ч.	C^{13} ЯМР δ , м.ч.	ІЧ, KBr, ν , cm^{-1}
3.6	1.059	9.38 (br.s, 1H, NH), 8.12 (s, 1H, CH pyraz.), 7.98–8.06 (m, 2H, CH quin.), 7.89 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH quin.), 7.82 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, CH quin.), 7.66 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H, CH Ph), 7.51 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H, CH Ph), 7.42 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H, CH Ph), 4.04 (q, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3 , 2H), 1.02 (t, $J = 7.1$ Hz, CH_2CH_3 , 3H)	180.2 (C), 176.9 (C), 161.9 (C), 149.3 (C), 147.5 (C), 140.9 (C), 133.2 (CH), 133.1 (CH), 131.1 (C), 131.0 (C), 130.8 (CH), 130.0 (2CH), 127.1 (CH), 125.7 (CH), 125.3 (CH), 118.2 (2CH), 106.1 (C), 96.8 (C), 59.5 (CH_2), 14.3 (CH_3)	3300 (N-H), 1712 (C=O), 1676, 1652 (C=O), 1604-1576 (C=C), 720 (C-Cl).
3.7	0.961	9.03 (s, 1H, NH), 7.96–8.07 (m, 2H, CH quin.), 7.71–7.91 (m, 2H, CH quin.), 7.60 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH pyraz.), 6.04 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH pyraz.), 3.76 (s, 3H, CH_3).	180.1 (C), 177.1 (C), 149.2 (C), 147.5 (C), 133.3 (CH), 133.2 (CH), 132.2 (CH), 131.2 (C), 130.8 (C), 125.0 (CH), 124.8 (CH), 106.7 (C), 92.7 (CH), 37.7 (CH_3).	3200 (N-H); 1680, 1652 (C=O), 2967, 2894 ($\text{CH}_{\text{aliphatic}}$), 717 (C-Cl).
3.8	0.879	9.01 (s, 1H, NH), 7.93–8.05 (m, 2H, CH quin.), 7.69–7.90 (m, 2H, CH quin.), 7.72 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH pyraz.), 7.14 (t, $J = 59.1$ Hz, 1H, CHF_2), 6.17 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, CH pyraz.)	180.03 (C), 176.9 (C), 149.1 (C), 147.9 (C), 133.1 (CH), 133.2 (CH), 131.0 (CH), 130.6 (C), 129.1 (C), 123.9 (CH), 123.8 (CH), 114.7 (CH), 106.1 (C), 94.8 (CH).	3642 (N-H), 2968, 2895 ($\text{CH}_{\text{aliphatic}}$), 1681 (C=O), 1059, 1083 (C-F).
3.9	1.090	9.16 (br.s, 1H, NH), 7.91–7.99 (m, 2H, CH quin.), 7.86–7.71 (m, 2H, CH quin.), 7.54 (br.s, 1H, CH pyrimidine), 4.21 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_2), 3.28 (t, $J = 6.8$	180.2 (C), 177.2 (C), 168.1 (C), 166.7 (C), 149.6 (C), 139.5 (C), 133.4 (CH), 133.3 (CH), 131.8 (C), 130.4 (C), 123.1 (CH),	3656 (N-H), 2981, 2889 ($\text{CH}_{\text{aliphatic}}$), 1677 (C=O), 1138 (C-F)

		Hz, 2H, CH ₂), 2.53 (s, 3H, CH ₃)	122.7 (CH), 122.0 (C), 112.5 (CH), 107.8 (C), 42.9 (CH ₂), 31.8 (CH ₂), 21.3 (CH ₃)	
3.10	1.199	9.18 (br.s, 1H, NH), 8.04–7.67 (m, 4H, CH quin.), 4.19 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H, CH ₂), 3.20 (t, <i>J</i> = 6.7 Hz, 2H, CH ₂), 2.62–2.93 (m, 4H, 2CH ₂), 1.90–1.65 (m, 4H, 2CH ₂).	180.6 (C), 177.1 (C), 168.1 (C), 165.9 (C), 153.0 (C), 139.8 (C), 133.2 (CH), 133.1 (CH), 131.3 (C), 130.7 (C), 122.8 (CH), 122.3 (CH), 121.7 (C), 119.8 (C), 106.9 (C), 42.8 (CH ₂), 32.1 (CH ₂), 30.8 (CH ₂), 23.7 (CH ₂), 22.5 (CH ₂), 22.8 (CH ₂)	3659 (N-H), 2980, 2889 (CH _{aliphatic}), 1679 (C=O), 1144, 1123 (C-F)
3.11	1.389	12.95 (s, 1H, NH), 9.07 (s, 1H, NH), 7.97–8.06 (m, 2H, CH quin.), 7.86 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H, CH quin.), 7.79 (t, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H, CH quin.), 7.63 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H, CH tolyl), 7.26 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 2H, CH tolyl), 6.49 (s, 1H, CH pyraz.), 2.33 (s, 3H, CH ₃)	179.9 (C), 176.8 (C), 148.2 (C), 144.3 (C), 142.1 (C), 138.1 (C), 132.9 (CH), 132.8 (CH), 131.2 (C), 131.1 (C), 129.8 (2CH), 125.9 (2CH), 125.6 (CH), 125.2 (CH), 124.9 (C), 105.3 (C), 94.2 (CH), 22.0 (CH ₃)	3500 (N-H), 1672 (C=O), 1600-1572 (C=C), 720 (C-Cl).

Таблиця Б 3

Фізико-хімічні характеристики отриманих 2-[2-(6-арил)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів та 2-[2-(3-арил-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]-нафтален-1,4-діонів (3.26-3.27, 3.31-3.37)

Сполука	Вихід, %	T _{пл} , °C	Елементний аналіз						Брутто формула
			Знайдено			Розраховано			
			С	Н	N	С	Н	N	
3.26	85	>250	68,55	3,50	12,84	68,49	3,45	12,78	C ₂₅ H ₁₅ FN ₄ O ₃
3.27	84	>250	72,75	4,83	12,14	72,71	4,79	12,11	C ₂₈ H ₂₂ N ₄ O ₃
3.31	80	>250	70,28	3,72	13,69	70,24	3,68	13,65	C ₂₄ H ₁₅ FN ₄ O ₂
3.32	53	>250	70,21	3,65	13,62	70,24	3,68	13,65	C ₂₄ H ₁₅ FN ₄ O ₂
3.33	55	>250	67,48	3,49	13,08	67,53	3,54	13,13	C ₂₄ H ₁₅ ClN ₄ O ₂
3.34	57	>250	61,21	3,26	11,94	61,16	3,21	11,89	C ₂₄ H ₁₅ BrN ₄ O ₂
3.35	74	>250	61,21	3,26	11,94	61,16	3,21	11,89	C ₂₄ H ₁₅ BrN ₄ O ₂
3.36	76	>250	71,12	4,34	13,30	71,08	4,30	13,26	C ₂₅ H ₁₈ N ₄ O ₃
3.37	81	>250	71,04	4,26	13,22	71,08	4,30	13,26	C ₂₅ H ₁₈ N ₄ O ₃

Таблиця Б 4

Спектральні дані 2-[2-(6-арил)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діонів та 2-[2-(3-арил-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]-нафтален-1,4-діонів (**3.26-3.27, 3.31-3.37**)

№сп.	HPLC, t _{rt} , хв	¹ H ЯМР ДМСО-d ₆ , δ, м.ч.	ГЧ, КВг, ν, см ⁻¹
3.26	0.983	14.35 (уш.с, 1H, NH), 10.30 (уш.с, 1H, NH), 8.24 (уш.с, 2H), 8.06 (д, J = 7.4 Гц, 1H), 7.95 (д, J = 7.4 Гц, 1H), 7.9 – 7.83 (м, 2H), 7.80 (т, J = 7.4 Гц, 1H), 7.73 (д, J = 3.5 Гц, 2H), 7.43 (дт, J = 7.6, 3.8 Гц, 1H), 7.34 (т, J = 8.7 Гц, 2H), 6.26 (с, 1H, СН хінону)	3653, 3174, 3069, 2918, 2862, 1750, 1673, 1626, 1601, 1562, 1524, 1455, 1409, 1356, 1279, 1160, 1115, 989, 840, 770, 725, 581
3.27	1.086	14.29 (уш.с, 1H, NH), 10.35 (уш.с, 1H, NH), 8.13 – 8.03 (м, 3H), 7.95 (д, J = 7.5 Гц, 1H), 7.89 (д, J = 7.7 Гц, 1H), 7.86 (т, J = 7.5 Гц, 1H), 7.80 (т, J = 7.4 Гц, 1H), 7.76 – 7.67 (м, 2H), 7.46 – 7.39 (м, 1H), 7.37 (д, J = 8.0 Гц, 2H), 6.26 (с, 1H, СН хінону), 2.95 (гепт, J = 6.7 Гц, 1H, СН(CH ₃) ₂), 1.24 (д, J = 6.8 Гц, 6H, СН(CH ₃) ₂)	
3.31	1.157	11.46 (уш.с, 1H, NH), 8.21 – 8.08 (м, 3H), 7.97 (д, J = 7.3 Гц, 1H), 7.88 (т, J = 7.3 Гц, 1H), 7.83 (т, J = 7.2 Гц, 1H), 7.75 (д, J = 8.2 Гц, 1H), 7.68 – 7.55 (м, 2H), 7.37 (т, J = 8.5 Гц, 1H), 7.32 (т, J = 7.7 Гц, 1H), 6.56 (с, 1H, СН хінону)	3656, 3255, 2980, 2889, 1676, 1640, 1586, 1534, 1471, 1381, 1344, 1286, 1138, 1077, 988, 770, 741, 569, 543
3.32	1.144	14.71 (уш.с, 1H, NH), 11.12 (уш.с, 1H, NH), 8.45 (д, J =	3654, 3217, 3169, 3109, 3085, 2980, 1677, 1640, 1615,

		7.1 Гц, 1H), 8.29 – 8.08 (м, 2H), 8.02 – 7.68 (м, 4H), 7.66 – 7.50 (м, 3H), 7.46 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.33 (т, $J = 9.2$ Гц, 1H), 6.52 (с, 1H, СН хінону).	1586, 1538, 1485, 1428, 1345, 1286, 1246, 1164, 1138, 1104, 990, 815, 736, 686, 540
3.33	1.153	14.79 (уш.с, 1H, NH), 10.89 (уш.с, 1H, NH), 8.24 – 8.02 (м, 3H), 7.97 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.86 (т, $J = 7.6$ Гц, 1H), 7.80 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.73 (д, $J = 7.8$ Гц, 1H), 7.65 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.62 – 7.49 (м, 3H), 7.34 (т, $J = 7.9$ Гц, 1H), 6.48 (с, 1H, СН хінону).	
3.34	0.837	14.81 (уш.с, 1H, NH), 10.97 (уш.с, 0.4H, NH), 10.79 (уш.с, 0.6H, NH), 8.20 (уш.с, 1H), 8.08 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.97 (д, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.91 – 7.77 (м, 3H), 7.73 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.64 – 7.42 (м, 4H), 7.34 (ш.с, 1H), 6.47 (с, 1H, СН хінону)	3656, 3255, 2980, 2889, 1676, 1640, 1586, 1534, 1471, 1381, 1344, 1286, 1138, 1077, 988, 770, 741, 569, 543
3.35	1.220	15.03 (уш.с, 0.5H, NH), 14.85 (уш.с, 0.5H, NH), 11.65 (уш.с, 0.5H, NH), 11.35 (уш.с, 0.5H, NH), 8.63 (уш.с, 0.5H), 8.56 (уш.с, 0.5H), 8.24 (уш.с, 1.5H), 8.12 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H), 8.07 (уш.с, 0.5H), 7.95 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.86 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.81 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.73 (уш.с, 2H), 7.55 (уш.с, 2H), 7.30 (уш.с, 1H), 6.54 (с, 1H, СН хінону)	3655, 3165, 3083, 2980, 2890, 1677, 1610, 1587, 1537, 1456, 1434, 1358, 1282, 1151, 1126, 977, 740, 719, 679, 566
3.36	1.129	11.49 (уш.с, 1H, NH), 8.19 (д, $J = 7.6$ Гц, 1H), 8.03 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H), 8.00 – 7.92 (м, 2H), 7.91 – 7.76 (м, 3H), 7.72 (д, $J = 8.1$ Гц, 1H), 7.56 (т, $J = 7.5$ Гц, 1H), 7.47 (т, $J = 7.8$	3655, 3134, 3051, 2980, 2890, 1675, 1609, 1587, 1540, 1455, 1359, 1284, 1239, 1154, 1124, 978, 852, 743, 716, 685, 575

		Гц, 1H), 7.29 (т, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.07 (д, $J = 7.7$ Гц, 1H), 6.56 (с, 1H, СН хінону), 3.98 (с, 3H, OCH ₃)	
3.37	1.120	14.71 (уш.с, 0.65H, NH), 14.59 (уш.с, 0.35H, NH), 11.59 (уш.с, 0.35H, NH), 11.29 (уш.с, 0.65H, NH), 8.35 – 8.17 (м, 3H), 8.14 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H), 7.98 (д, $J = 7.4$ Гц, 1H), 7.88 (т, $J = 7.2$ Гц, 1H), 7.82 (т, $J = 7.3$ Гц, 1H), 7.76 – 7.67 (м, 1H), 7.55 (ш.с, 1H), 7.35 – 7.24 (м, 1H), 7.22 – 7.05 (м, 2H), 6.55 (с, 1H, СН хінону), 3.86 (с, 3H, OCH ₃)	

Таблиця Б 5

Фізико-хімічні характеристики отриманих 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних
2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (3.14-3.15, 3.21-3.25)

Сполука	Вихід, %	T _{пл} , °C	Елементний аналіз						Брутто формула
			Знайдено			Розраховано			
			С	Н	N	С	Н	N	
3.14	62	225-227	66.14	3.38	12.37	66.08	3.33	12.33	C ₂₅ H ₁₅ FN ₄ O ₄
3.15	68	230-232	70.33	4.68	11.67	70.28	4.63	11.71	C ₂₈ H ₂₂ N ₄ O ₄
3.21	78	.> 250	63.07	3.19	11.80	63.03	3.17	11.76	C ₂₅ H ₁₅ F ₃ N ₄ O ₃
3.22	80	208-210	67.64	3.57	13.17	67.60	3.55	13.14	C ₂₄ H ₁₅ FN ₄ O ₃

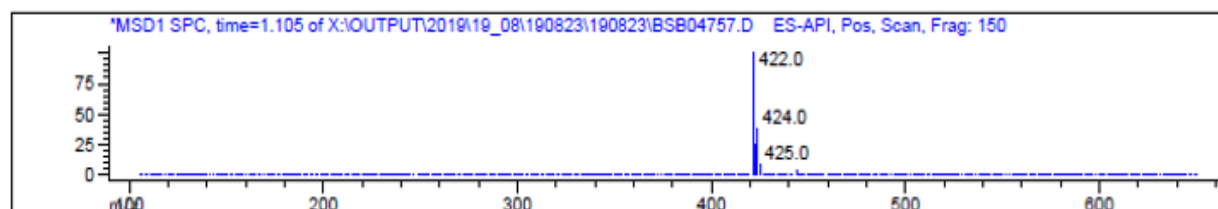
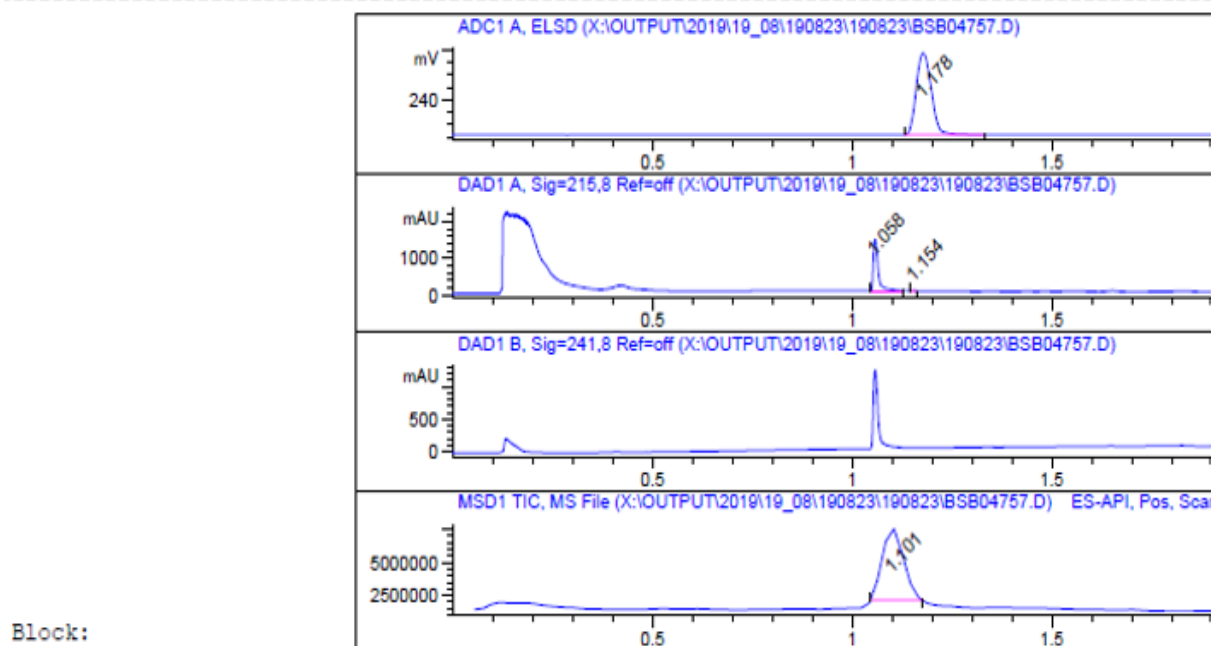
3.23	83	223-225	65.12	3.38	12.69	65.09	3.41	12.65	C ₂₄ H ₁₅ ClN ₄ O ₃
3.24	72	> 250	59.18	3.13	11.46	59.15	3.10	11.50	C ₂₄ H ₁₅ BrN ₄ O ₃
3.25	69	198-200	59.17	3.12	11.53	59.15	3.10	11.50	C ₂₄ H ₁₅ BrN ₄ O ₃

Таблиця Б 6

Спектральні дані 1,2,4-триазино- та 1,2,4-триазоловмісних похідних 2,3-дихлоро-1,4-нафтохінону (3.14-3.15, 3.21-3.25)

№сп.	HPLC, t _р , хВ	¹ H ЯМР ДМСО-d ₆ , δ, м.ч.	C ¹³ ЯМР δ, м.ч.
3.14	1.105	8.59 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 8.39 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 8.27 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 8.04-8.12 (m, 3H), 7.83 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 1H), 7.72 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 7.56 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 7.48 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 7.25 (br.t, <i>J</i> = 8,8 Hz, 2H)	175.4 (C), 164.0 (C), 163.8 (C), 156.8 (C), 149.2 (C), 146.6 (C), 145.1 (C), 141.0 (C), 133.8 (CH), 132.9 (C), 132.8 (C), 132.3 (CH), 132.0 (2CH), 130.2 (CH), 130.0 (CH), 129.2 (CH), 128.5 (C), 127.7 (CH), 126.1 (CH), 124.9 (CH), 123.8 (C), 116.9 (2CH), 108.2 (C)
3.15	1.035	8.51 (d, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1H), 8.34 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 8.29 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 8.22 (d, <i>J</i> = 8.3 Hz, 2H), 8.09 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1H), 7.83-7.55 (m, 6H), 2.94 (sept, <i>J</i> = 6.9 Hz, 1H), 1.23 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 6H)	175.2 (C), 164.3 (C), 159.8 (C), 159.0 (C), 151.3 (C), 147.1 (C), 145.0 (C), 141.3 (C), 133.9 (C), 132.9 (CH), 132.6 (CH), 131.9 (CH), 131.1 (CH), 130.2 (C), 130.0 (CH), 128.9 (2CH), 128.7 (C), 127.8 (2CH), 127.6 (CH), 126.3 (CH), 126.1 (CH), 123.5 (C), 108.7 (C), 34.19 (CH), 24.11 (2CH ₃)
3.21	0.983	8.65 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H), 8.48 (d, <i>J</i> = 8.1 Hz, 2H), 8.25 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 8.11 (d, <i>J</i> = 7.6 Hz, 1H), 7.81-7.92 (m, 3H), 7.59-7.73 (m, 3H), 7.45 (d, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1H).	175.2 (C), 164.8 (C), 154.5 (C), 151.3 (C), 148.9 (C), 134.7 (CH), 134.0 (CH), 131.5 (C), 131.1 (CH), 130.8 (C), 130.4 (C), 130.1 (CH), 129.9 (C), 128.9 (C), 127.5 (2CH), 127.3 (C), 126.9 (CH), 126.1 (CH), 125.4

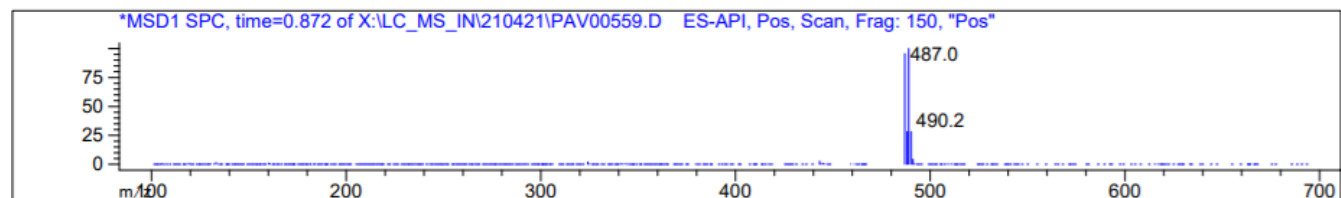
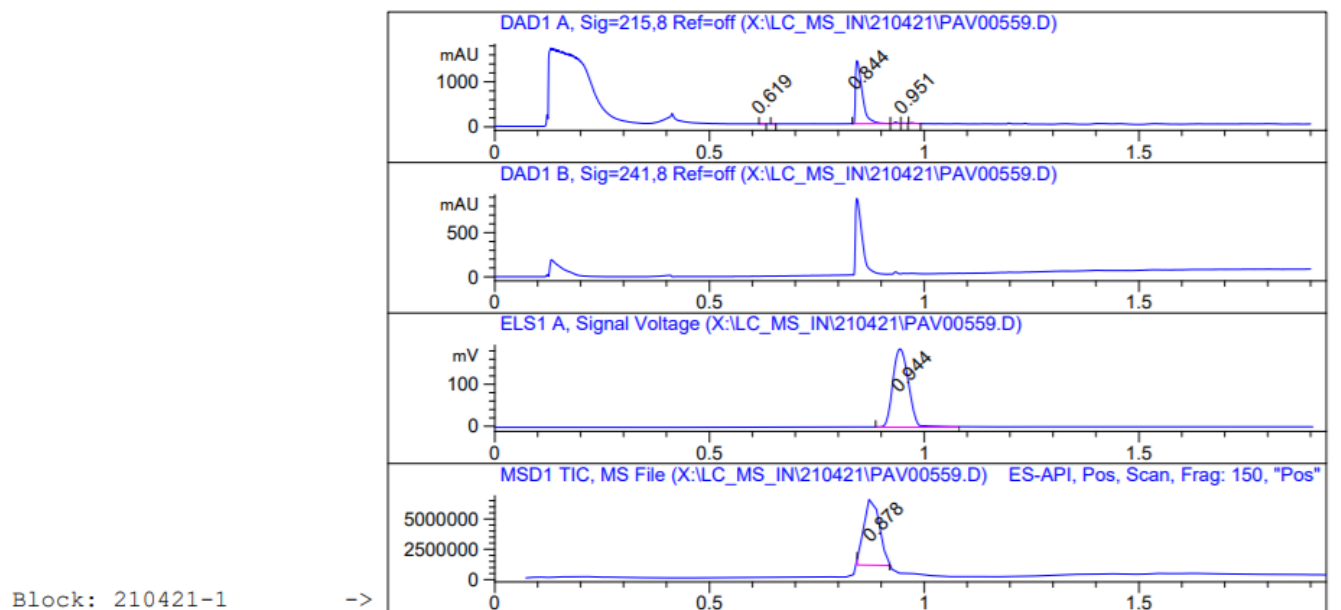
			(2CH), 125.3 (CH), 125.0 (CH), 123.3 (C), 122.0 (C).
3.22	0.785	8.63 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.36 (d, $J = 7.9$ Hz,1H), 8.22 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 8.01-8.13 (m, 2H), 7.82 (t, $J = 7.8$ Hz,1H), 7.64 (t, $J = 7.7$ Hz,1H), 7.47-7.62 (m,3H), 7.35 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.28 (t, $J = 8.5$ Hz, 1H	175.5 (C), 164.4 (C), 161.9 (C), 157.1 (C), 151.5 (C), 148.4 (C), 134.8 (CH), 134.1 (CH), 132.0 (C), 131.3 (CH), 130.9 (C), 130.5 (CH), 130.1 (CH), 129.3 (C), 128.9 (C), 128.1 (C), 126.9 (CH), 126.1 (CH), 125.6 (CH), 125.3 (CH), 124.9 (CH), 121.8 (C), 116.3 (CH), 112.9 (CH).
3.23	0.803	8.64 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.33 (d, $J = 7.6$ Hz,1H), 8.24 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 7.6$ Hz,1H), 7.88-7.97 (m,2H), 7.63-7.80 (m,5H), 7.35 (d, $J = 7.9$ Hz,1H).	175.2 (C), 164.0 (C), 157.3 (C), 151.2 (C), 148.9 (C), 134.3 (CH), 134.0 (CH), 132.9 (C), 132.1 (C), 131.4 (CH), 131.3 (CH), 131.1 (CH), 130.9 (C), 130.4 (CH), 130.0 (C), 129.8 (CH), 129.1 (C), 128.4 (CH), 127.8 (C), 126.9 (CH), 125.9 (CH), 125.4 (CH), 125.1 (CH), 121.6 (C).
3.24	0.799	8.63 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.25 (d, $J = 7.7$ Hz,1H), 8.12 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.79 (t, $J = 7.8$ Hz,1H), 7.51-7.72 (m, 5H), 7.39-7.48 (m, 2H).	175.6 (C), 164.5 (C), 158.3 (C), 151.0 (C), 148.5 (C), 134.2 (CH), 134.6 (CH), 134.1 (CH), 132.1 (CH), 132.0 (C), 131.5 (CH), 130.9 (CH), 130.7 (C), 130.6 (C), 130.3 (CH), 130.2 (CH), 129.1 (C), 128.7 (C), 126.3 (CH), 126.1 (CH), 125.4 (CH), 125.2 (CH), 122.9 (C), 122.1 (C).
3.25	0.795	8.65 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 8.38 (br.s,1H), 8.22-8-29 (m, 2H), 8.11 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.85-7.95 (m,2H), 7.76 (t, $J = 7.6$ Hz,1H), 7.55-7.64 (m, 2H), 7.20-7.37 (m, 2H)	175.4 (C), 164.7 (C), 159.7 (C), 151.0 (C), 148.6 (C), 134.2 (CH), 133.9 (CH), 133.8 (CH), 132.8 (CH), 131.6 (C), 131.5 (CH), 130.8 (C), 130.7 (CH), 130.6 (C), 130.1 (CH), 128.9 (C), 127.9 (C), 127.8 (CH), 126.9 (CH), 126.0 (CH), 125.4 (CH), 125.0 (CH), 122.1 (C), 121.8 (C)



#	Signal	R.Time	Area %
1	ADC1 A, ELSD	1.178	100.000

#	Signal	R.Time	Area %
1	DAD1 A, Sig=215,8 Ref=off	1.058	99.338
2		1.154	0.662

Рис. Б1. Спектр хроматомас етил-4-(3-хлор-1,4- діоксо-1,4-дигідронафталін-2-іл)аміно)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилату (**3.6**)



#	Signal	R.Time	Area %
1	DAD1 A, Sig=215,8 Ref=off	0.619	0.046
2		0.648	0.023
3		0.844	98.217
4		0.934	1.018
5		0.951	0.181
6		0.972	0.515

Ак
Что

Рис. Б2. Спектр хроматомас 2-[(2-(3-(2-Бромфеніл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (**3.24**)

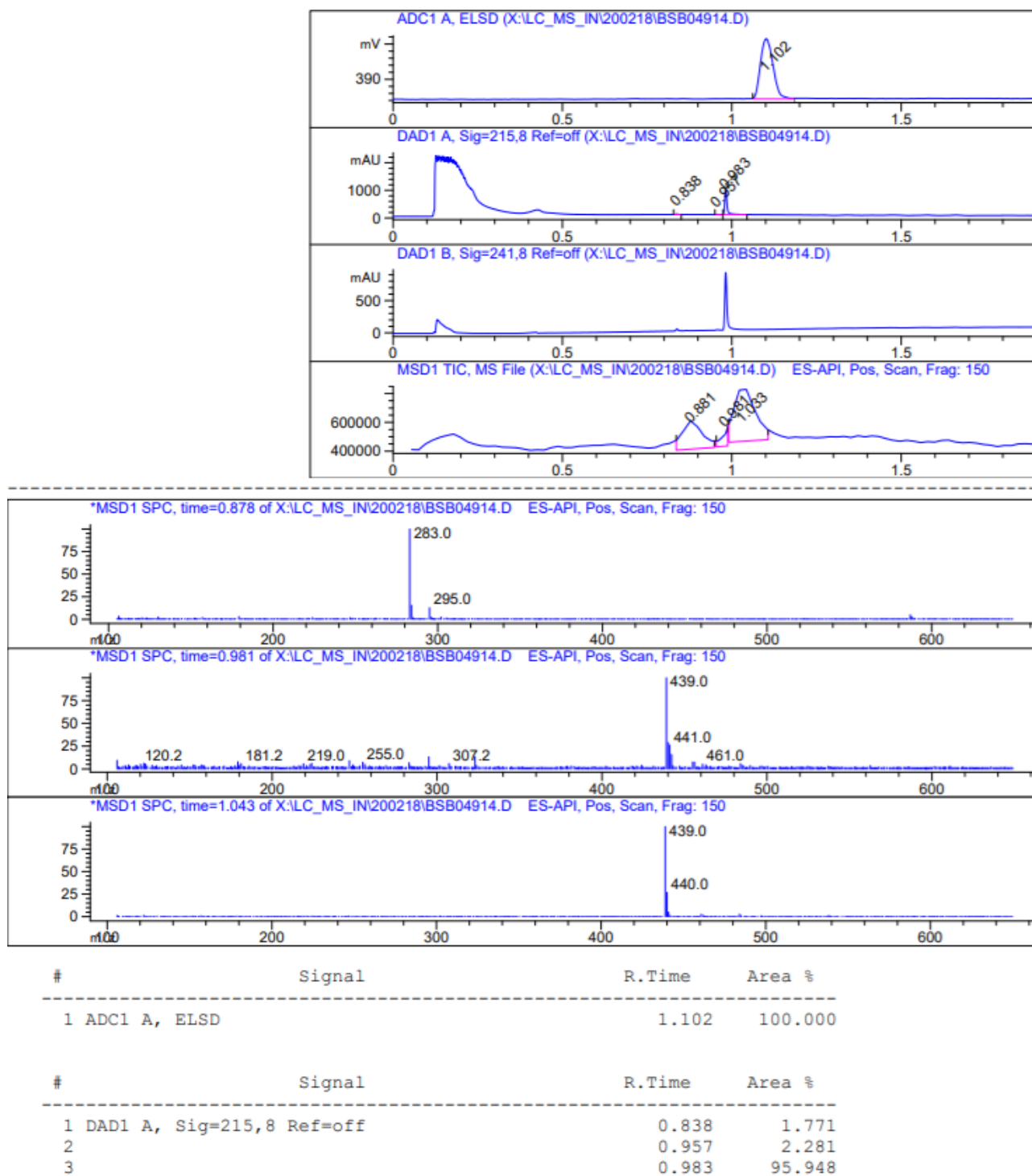
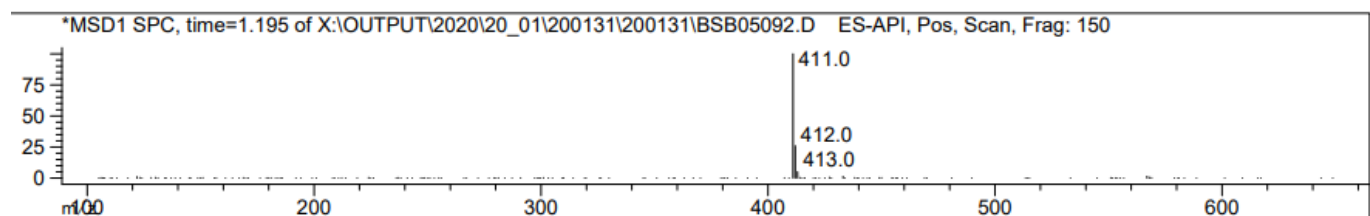
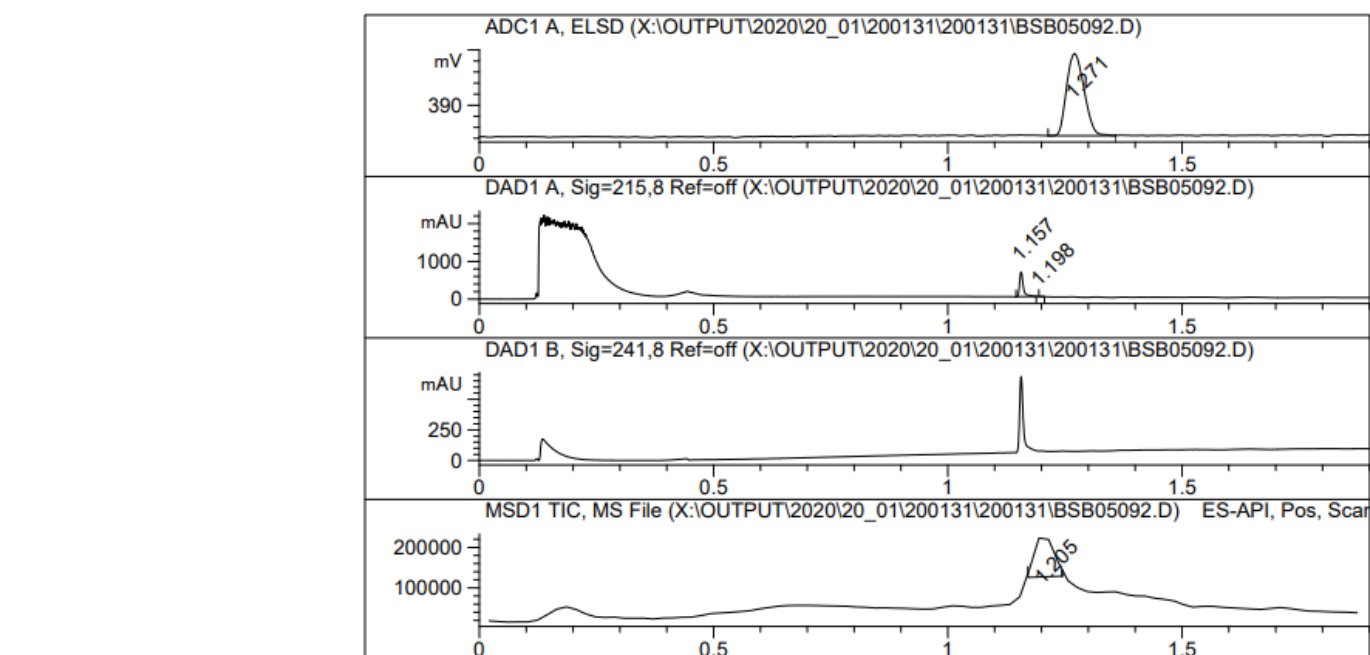


Рис. Б3. Спектр хроматомас 2-[(2-(6-(4-Фторофеніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (**3.26**).



#	Signal	R.Time	Area %
1	ADC1 A, ELSD	1.271	100.000

#	Signal	R.Time	Area %
1	DAD1 A, Sig=215,8 Ref=off	1.157	99.764
2		1.198	0.236

Рис. Б4. Спектр хроматомас 2-[(2-(3-(3-фторофеніл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (**3.31**) в ДМСО.

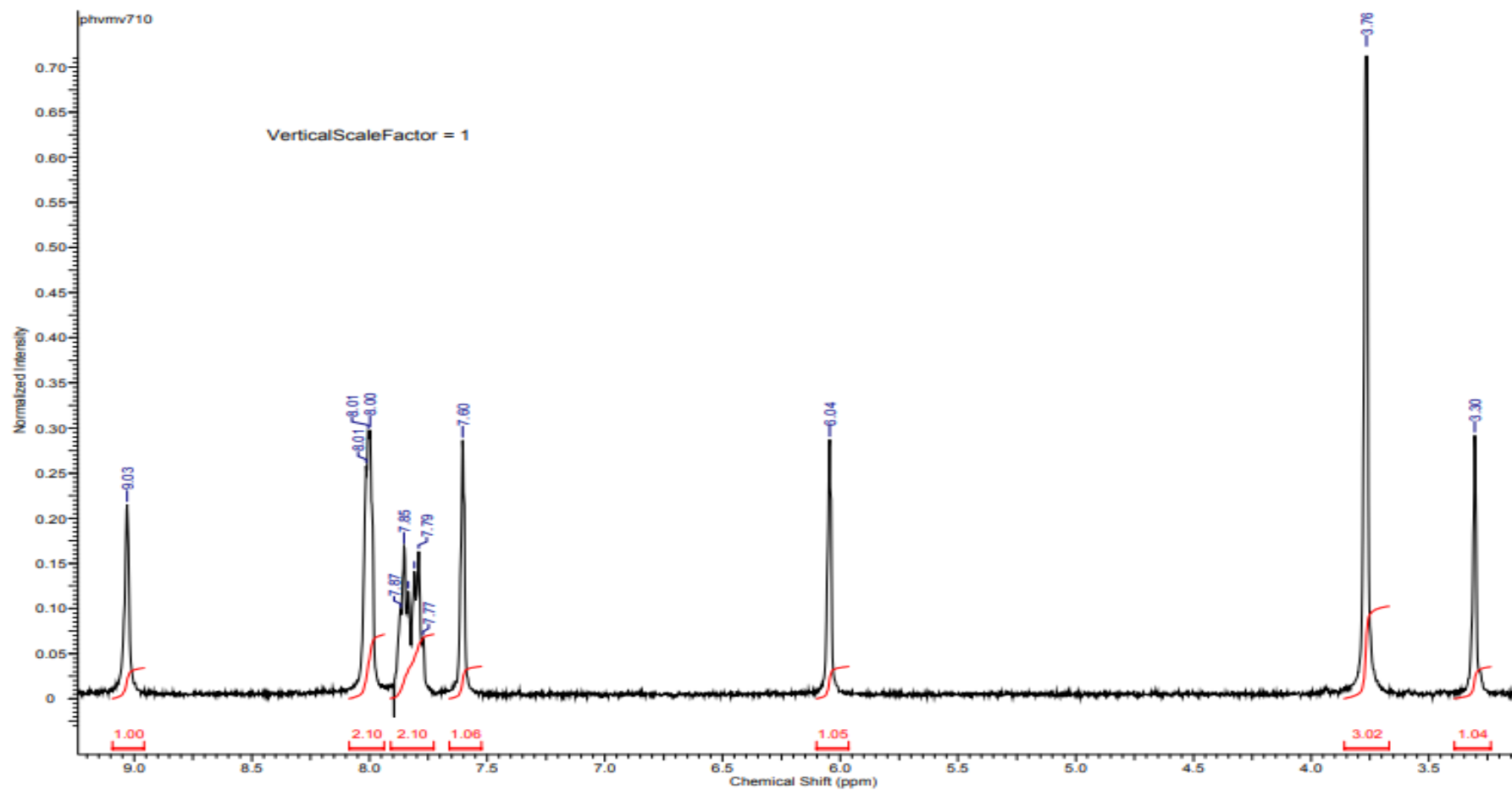


Рис. Б5. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) 2-хлоро-3-((1-метил-1H-піразол-3-іл)аміно)нафтален1,4-діону (3.7).

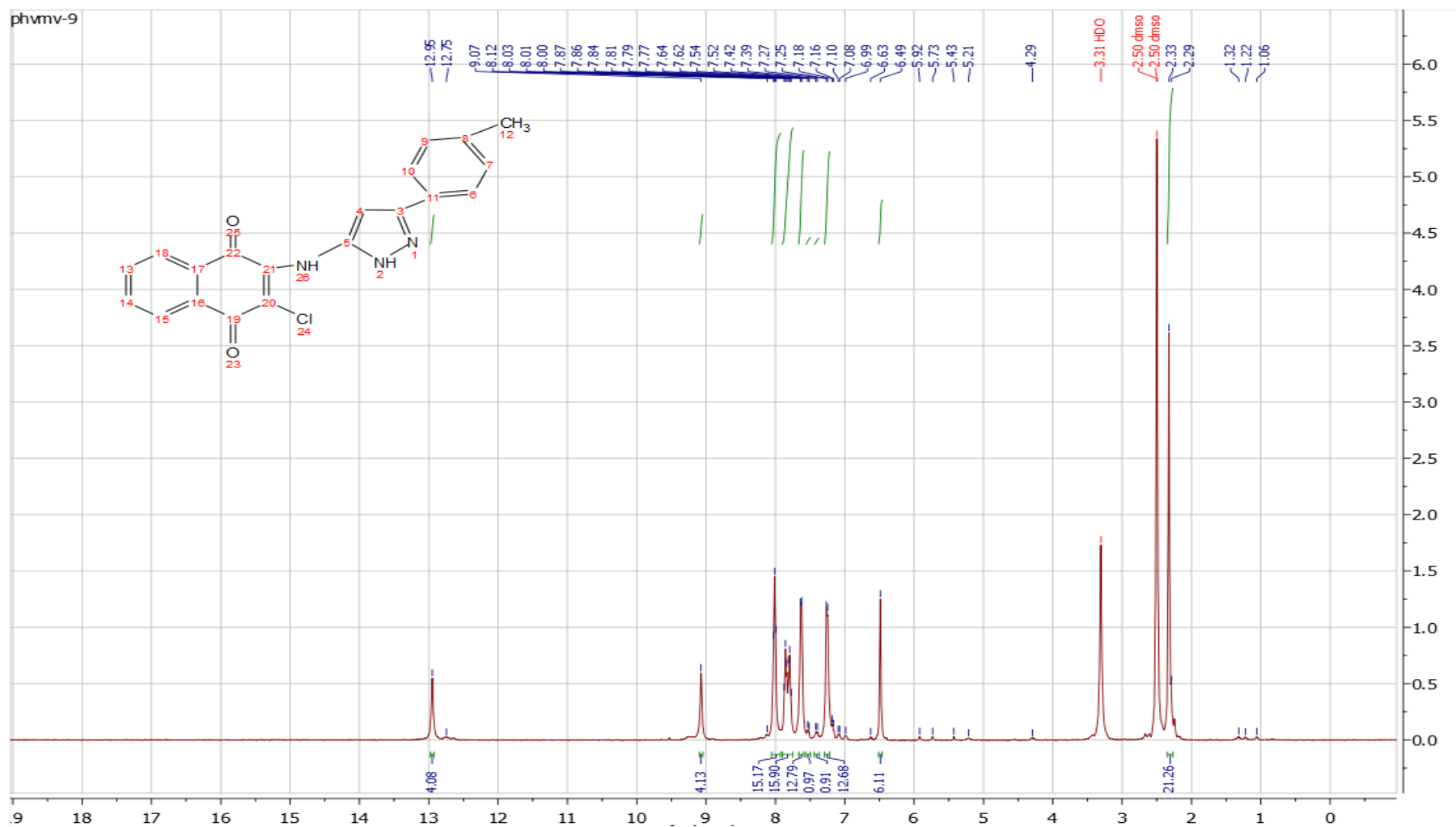


Рис. Б6. Спектр ЯМР ¹Н (ДМСО-*d*₆) 2-хлоро-3-((3-(*n*-толіл)-1Н-піразол-5-іл) аміно) нафтален-1,4-діону (3.11)

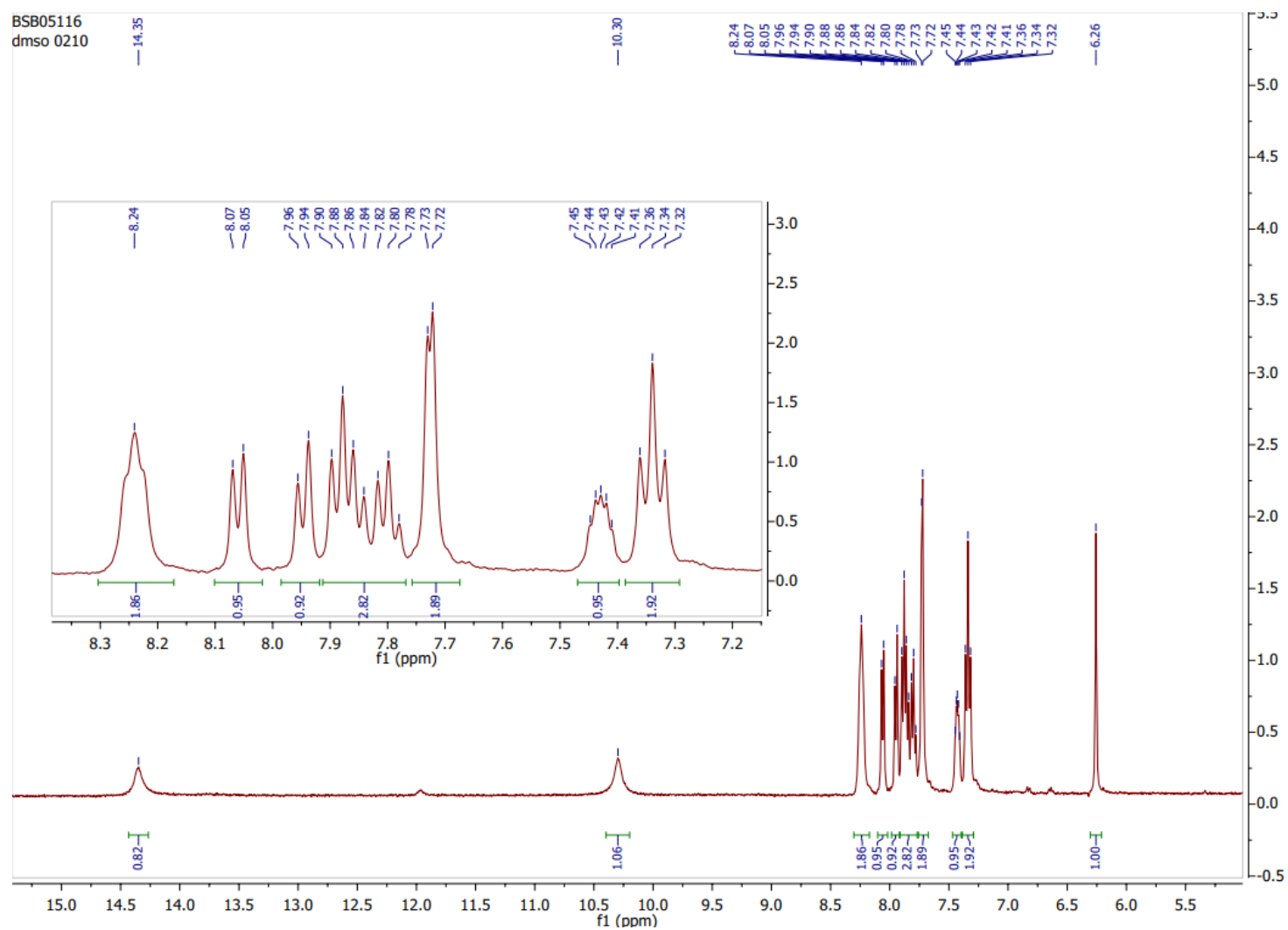


Рис. Б7. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) 2-[(2-(6-(4-фторофеніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (3.26).

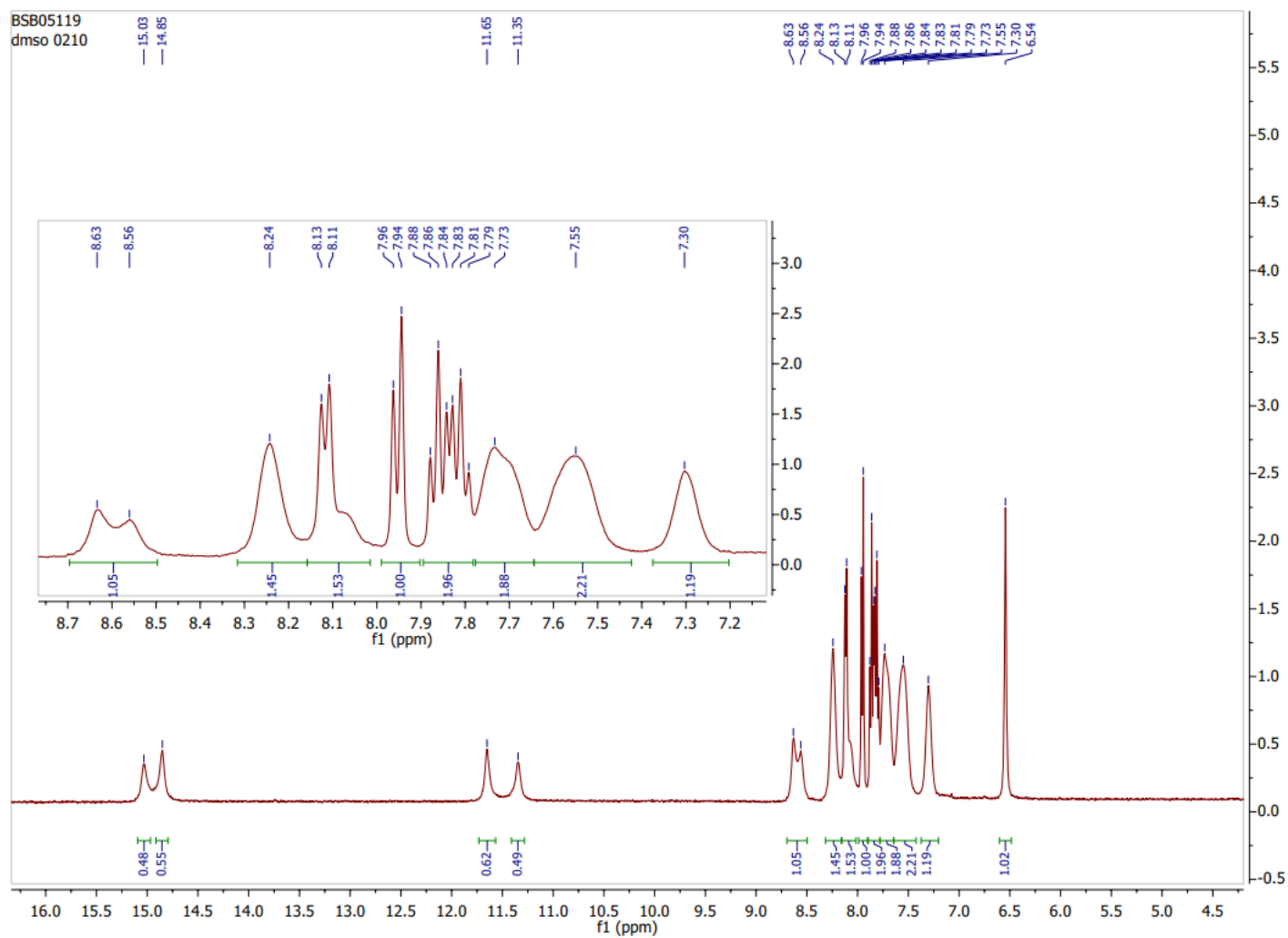


Рис. Б8. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6) 2-[(2-(3-(3-Бромфеніл)-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)феніл)аміно]нафтален-1,4-діону (**3.35**).

ДОДАТОК В

Таблиця В1

Результати прогнозування біологічної активності синтезованих сполук
програмою PASS

Сполука	P_a	Активність
3.6	0,584	Протипухлинна (рак шлунку)
	0,553	Протипухлинна (саркома)
	0,836	Протипухлинна
	0,548	Інгібітор протеїнкінази
	0,589	Протипухлинна (множинна мієлома)
	0,549	Субстрат СYP2A8
3.7	0,577	Протипухлинна (рак шлунку)
	0,561	Протипухлинна (саркома)
	0,861	Протипухлинна
	0,747	Інгібітор шляхів передачі сигналу
	0,597	Інгібітор протеїнкінази
	0,505	Протипухлинна (карцинома)
	0,532	Субстрат для СYP2J
3.8	0,688	Інгібітор 5-O- (4-кумароїл) -D-хінатної 3'-монооксигенази
	0,587	Анальгетик неопіодний
	0,567	Лікування розладів шлунково -кишкового тракту
	0,562	Протипухлинна (рак шлунку)
	0,573	Анальгетик
3.9	0,887	Інгібітор гістидинкінази
	0,670	Протипухлинна
	0,648	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,613	Блокатор хлоридних каналів
3.11	0,937	Інгібітор mTOR

	0,867	Інгібітор гамма-3-кінази фосфатидилінозиту
	0,787	Інгібітор дельта-3-кінази фосфатидилінозиту
	0,724	Інгібітор фосфатидилінозитол кінази
	0,721	Інгібітор фосфатидилінозиту 3-кінази
	0,648	Протизапальна
	0,538	Протипухлинна (рак шлунку)
	0,671	Протипухлинна
	0,518	Протипухлинна (множинна мієлома)
3.14	0,709	Інгібітор гістидинкінази
	0,638	Протипухлинна
	0,478	Інгібітор MAP3K5
3.15	0,678	Інгібітор гістидинкінази
	0,587	Протипухлинна
	0,501	Інгібітор проникності мембран
3.21	0,877	Інгібітор гістидинкінази
	0,632	Протипухлинна
	0,522	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,496	Блокатор хлоридних каналів
	0,487	Субстрат дл СУР2J2
3.22	0,870	Інгібітор гістидинкінази
	0,690	Протипухлинна
	0,589	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,502	Блокатор хлоридних каналів
3.23	0,863	Інгібітор гістидинкінази
	0,752	Протипухлинна
	0,548	Блокатор хлоридних каналів
3.24	0,867	Інгібітор гістидинкінази
	0,734	Протипухлинна
	0,526	Інгібітор шляхів передачі сигналу
	0,600	Блокатор хлоридних каналів
3.26	0,716	Протипухлинна
	0,625	Інгібітор гістидинкінази
	0,548	Інгібітор протеїнкінази
	0,552	Інгібітор передачі сигналу трансдукції

	0,453	Блокатор хлоридних каналів
3.27	0,668	Протипухлинна
	0,585	Інгібітор гістидинкінази
	0,451	Інгібітор альдегідоксидази
3.31	0,763	Протипухлинна
	0,867	Інгібітор гістидинкінази
	0,650	Інгібітор протеїнкінази
	0,566	Інгібітор передачі сигналу трансдукції
	0,480	Блокатор хлоридних каналів
	0,615	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,447	Інгібітор ангиогенезу
3.32	0,763	Протипухлинна
	0,862	Інгібітор гістидинкінази
	0,654	Інгібітор протеїнкінази
	0,637	Інгібітор передачі сигналу трансдукції
	0,478	Блокатор хлоридних каналів
	0,431	Інгібітор альдегідоксидази
	0,522	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,423	Інгібітор ангиогенезу
3.33	0,721	Протипухлинна
	0,875	Інгібітор гістидинкінази
	0,652	Інгібітор протеїнкінази
	0,528	Інгібітор передачі сигналу трансдукції
	0,472	Блокатор хлоридних каналів
	0,689	Інгібітор альдегідоксидази
	0,545	Регулятор метаболізму нуклеотидів
3.34	0,811	Протипухлинна
	0,858	Інгібітор гістидинкінази
	0,662	Інгібітор протеїнкінази
	0,606	Інгібітор передачі сигналу трансдукції
	0,534	Блокатор хлоридних каналів
3.35	0,796	Протипухлинна
	0,863	Інгібітор гістидинкінази
	0,649	Інгібітор протеїнкінази

	0,660	Інгібітор передачі сигналу трансдукції
	0,594	Блокатор хлоридних каналів
	0,507	Інгібітор ангіогенезу
3.36	0,801	Протипухлинна
	0,865	Інгібітор гістидинкінази
	0,547	Інгібітор протеїнкінази
	0,798	Інгібітор альдегідоксидази
	0,672	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,677	Інгібітор глюконат-2-дегідрогенази (акцептор)
3.37	0,799	Протипухлинна
	0,865	Інгібітор гістидинкінази
	0,549	Інгібітор протеїнкінази
	0,507	Інгібітор передачі сигналу трансдукції
	0,777	Інгібітор альдегідоксидази
	0,661	Регулятор метаболізму нуклеотидів
	0,636	Інгібітор глюконат-2-дегідрогенази (акцептор)

Таблиця В2

Показники мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) і мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) амінопіразольних та амінопіримідинових похідних 1,4-нафтохінону (**3.6-3.9, 3.11**) методом серійних розведень (метод Б)

№ п/п	Код сполуки	Культури бактерій					
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Mycobacterium luteum</i>	
		МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК мкг/мл	МБК мкг/мл
1.	3.6	+	+	125,0	250,0	15,6	31,2
2.	3.7	500,0	*	15,6	62,5	7,8	15,6
3.	3.8	250,0	*	7,8	15,6	15,6	31,2
4.	3.9	+	+	125,0	250,0	7,8	125,0
5.	3.11	+	+	7,8	15,6	7,8	15,6

Таблиця В3

Показники мінімальної фунгіцидної концентрації (МФК) і мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) амінопіразольних та амінопіримідинових похідних 1,4-нафтохінону (3.6-3.9, 3.11) методом серійних розведень (метод Б)

№ п/п	Код сполуки	Культури грибів			
		<i>Candida tenuis</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
		МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
1.	3.6	250,0	500,0	62,5	250,0
2.	3.7	15,6	62,5	250,0	500,0
3.	3.8	250,0	500,0	250,0	*
4.	3.9	15,6	31,2	62,5	*
5.	3.11	<0,9	<0,9	31,2	62,5

Позначення: «+» - в досліджуваних концентраціях біоцидного ефекту не спостерігалось (спостерігався ріст мікроорганізму).

«*» - в досліджуваних концентраціях показники біоцидного ефекту не встановлено

Таблиця В4

Показники мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) і мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) 1,2,4-триазино-, 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону (3.26-3.27, 3.31-3.37) методом серійних розведень (метод Б)

№	Код сполуки	Культури бактерій					
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Mycobacterium luteum</i>	
		МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБК, мкг/мл	МІК мкг/мл	МБК мкг/мл
1.	3.26	+	+	+	+	125,0	250,0
2.	3.27	+	+	+	+	+	+
3.	3.31	500,0	*	125,0	250,0	+	+
4.	3.32	+	+	+	+	+	+
5.	3.33	+	+	250,0	500,0	+	+
6.	3.34	+	+	250,0	500,0	+	+
7.	3.35	+	+	+	+	+	+
8.	3.36	+	+	+	+	+	+
9.	3.37	+	+	250,0	500,0	125,0	250,0

Позначення: «+» - в досліджуваних концентраціях біоцидного ефекту не спостерігалось (спостерігався ріст мікроорганізму).

«*» - в досліджуваних концентраціях показники біоцидного ефекту не встановлено

Таблиця В5

Показники мінімальної фунгіцидної концентрації (МФК) і мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) 1,2,4-триазино-, 1,2,4-триазоловмісних похідних 1,4-нафтохінону (3.26-3.27, 3.31-3.37) методом серійних розведень (метод Б)

№	Код сполуки	Культури грибів			
		<i>Candida tenuis</i>		<i>Aspergillus niger</i>	
		МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл	МІК, мкг/мл	МФК, мкг/мл
1.	3.26	250,0	500,0	+	+
2.	3.27	+	+	+	+
3.	3.31	250,0	500,0	+	+
4.	3.32	31,2	62,5	+	+
5.	3.33	+	+	+	+
6.	3.34	+	+	+	+
7.	3.35	+	+	+	+
8.	3.36	125,0	250,0	+	+
9.	3.37	125,0	250,0	+	+

Позначення: «+» - в досліджуваних концентраціях біоцидного ефекту не спостерігалось (спостерігався ріст мікроорганізму).

«*» - в досліджуваних концентраціях показники біоцидного ефекту не встановлено