

**О.М. Волощук¹, Ю.В. Короткий², О.А. Смертенко²,
С.Л. Рибалко³, Ю.І. Порва⁴, В.П. Ширококов¹**

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, бульвар Т. Шевченка, 13, Київ, 01004, Україна, e-mail: nauka@ntmu.edu.ua;

²Інститут органічної хімії НАН України, вул. Мурманська, 5, Київ, 02660, Україна, e-mail: iochkiev@ukrpack.net;

³Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В. Громашевського, вул. Миколи Амосова, 5, Київ, 03038, Україна, e-mail: epidemics@ukr.net

⁴ТОВ «Український лікувально-діагностичний центр», вул. Микільсько-Слобідська, 6-Д, оф. 6, Київ, 02002, тел./факс: +38044 492-3483, e-mail: lab@uldc.com.ua

АНТИВІРУСНА ДІЯ ПОХІДНИХ АМІНОПРОПАНОЛУ-2 НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ ВІРУСУ ГЕПАТИТУ С

Мета роботи – дослідити антивірусну дію нових сполук амінопропанолу-2 до вірусу бичачої вірусної діареї (BVDV) та в експериментальній продукувальній моделі вірусу гепатиту С (HCV). **Методи.** Антивірусну дію визначали у 7 похідних амінопропанолу-2, серед яких: норборніл вмісна речовина (сполука 51), речовина з циклічним замісником в алкоксигрупі (сполука 48), та речовини з аліциклічними замісниками в алкоксигрупі (сполуки 46, 47, 49, 50 і 52). Оцінку антивірусної дії досліджуваних речовин проводили *in vitro* за показниками їх хіміотерапевтичних індексів (ХТІ) та методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в експериментальній продукувальній моделі HCV. **Результати.** Встановлено, що сполуки 50 і 52 пригнічують репродукцію BVDV на 2 lg ID₅₀ в концентраціях 3,125 і 6,25 мкг/мл відповідно та мають високі показники ХТІ, що характеризують ці речовини як ефективні пригнічувачі репродукції BVDV. Антивірусну дію сполуки 50 було підтверджено за даними ПЛР на моделі продукувальної культури HCV та показано дозозалежний вплив цієї речовини на репродукцію вірусу гепатиту С. **Висновки.** Серед досліджених похідних амінопропанолу-2 в групі речовин з аліциклічними замісниками в алкоксигрупі ідентифіковано сполуку з вираженими протівірусними властивостями: 1-трет-бутоксигруп-3-(2,2,6,6-тетраметил-4-гідроксипіперидино)-2-пропанол (речовина 50). Отримані результати можуть бути використані для цілеспрямованого синтезу активних молекул з заданими властивостями та будуть корисними при вивченні закономірних взаємозв'язків «структура-активність».

Ключові слова: похідні амінопропанолу-2, антивірусна дія, експериментальна модель вірусу гепатиту С.

Інфекції з парентеральним механізмом передачі, до яких належить і гепатит С (HCV), становлять серйозну медичну та соціальну проблему. HCV-інфекція небезпечна для людини у зв'язку із хронічним перебігом і можливим розвитком цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми [11].

© О.М. Волощук¹, Ю.В. Короткий², О.А. Смертенко², С.Л. Рибалко³, Ю.І. Порва⁴, В.П. Ширококов¹



За оцінками експертів ВООЗ, в нашій Державі спостерігається одна з найбільших епідемій у Європі, – більше 3% населення України інфіковано HCV, це приблизно 1,3 млн людей [9]. Загалом, у світі на хронічний гепатит С страждає близько 150 млн осіб, а 350 тисяч щорічно помирає внаслідок вище зазначених тяжких захворювань печінки, спричинених даним вірусом. Захворюваність та летальність внаслідок гепатиту С прогресивно збільшується на планеті та, за даними експертів, подвоїться до 2015–2020 рр. [10].

До недавнього часу HCV-інфекція вважалася невиліковною, а її терапія в основному проводилася препаратами інтерферону (ІФН), які при тривалому застосуванні спричинювали негативні побічні ефекти на організм, а ефективність такої терапії складала 48% [9]. Вже декілька років, з появою препаратів прямої дії на HCV, ця інфекція може бути виліковна. Сьогодні у світі традиційну схему лікування вірусного гепатиту С замінюють безінтерфероною терапією з використанням новітніх препаратів прямої противірусної дії (наприклад, софосбувір, ледіпасвір), завдяки чому курс лікування триває всього 3 місяці, а шанси остаточно вилікуватися зростають до 90% [8]. Нагальна потреба таких препаратів, з одного боку, обмежена їх кількістю, з іншого, спонукає дослідників до подальшого пошуку активних сполук стосовно вірусу гепатиту С.

Одними з перспективних в фармакологічному плані для одержання високоактивних сполук є аміноспирти: два реакційні центри дозволяють легко модифікувати ці речовини різноманітними формакофорами з одержанням великої кількості похідних. Різноманітна біологічна активність аміноспиртів та продуктів їх заміщення по аміно- та гідроксильним групам [1] дає підстави розглядати ці сполуки, як джерело отримання високоактивних молекул.

Метою нашої роботи було дослідити антивірусну дію нових сполук амінопропанолу-2 до *BVDV* та в експериментальній продукувальній моделі HCV.

Матеріали і методи

Синтезовані сполуки. Було досліджено сім сполук амінопропанолу-2, серед яких: одна сполука з норборнілом в алкоксигрупі та амінним радикалом 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидином (№ 51); одна сполука з циклопентилом в алкоксигрупі та амінним радикалом 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидином (48); та п'ять речовин з аліциклічними замісниками в алкоксигрупі (46, 47, 49, 50 і 52). Сполука 46 мала аліциклічний замісник 3-метил-1-пентин та амінний радикал 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидин. У сполук 47 та 49 з однаковим аліциклічним замісником третамілом амінні радикали були 2,6-діметил-піперидин та 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидин відповідно. У сполук 50 та 52 з однаковим амінним радикалом 2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидином були аліциклічні замісники трет-бутил та 2-метил-3-бутен відповідно. Ці сполуки були синтезовані в Інституті органічної хімії НАН України за розробленими методиками [2]. Сполуки являють собою безбарвні кристалічні речовини без запаху, у різному ступені розчинні у воді та 96% спирті. Матричний розчин сполук з концентрацією 1 мг/мл робили в середовищі для культур клітин без сироватки і стерилізували за допомогою нітроцелюлозного фільтру з діаметром пор 0,22 мкм. До використання розчин зберігали в стерильних пробірках при -20 °С.



Вірус та культура клітин. Відомо, що для вірусу гепатиту С ще не знайдено культур клітин, в яких вони здатні розмножуватися. Тому, як модель вірусу гепатиту С, в наших дослідженнях ми використали споріднений до нього вірус бичачої вірусної діареї (*BVDV*). Обидва ці віруси належать до однієї родини *Flaviviridae* та мають дуже близьку молекулярно-генетичну структуру, їх геном складається із одного позитивного ланцюга РНК [7]. Вірусний матеріал *BVDV* на четвертому пасажі був наданий Державним науково-дослідним інститутом з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи у місті Києві. В дослідженні також, використали чутливі до *BVDV* перещеплювані культури клітин *MDBK* (клітини нирки теляти *Madin Darbi*), одержані з колекції музею культур тканин Інституту вірусології імені Д.І. Івановського (РАМН, Москва). Клітини вирощували в 96-лункових плашках (Nunclon, Surface, Данія) в ростовому живильному середовищі, яке готували на основі середовища RPMI-1640 з додаванням 10% ембріональної сироватки (Sigma, США), пеніциліну 100 Од/мл та стрептоміцину 100 мкг/мл («Артеріум», Україна). Середовище підтримки (СП) росту було аналогічного складу без додавання сироватки. Інфекційний титр вірусу після десяти проведених пасажів в культурі клітини *MDBK* складав 6-7 lg ID₅₀. Розрахунок інфекційного титру вірусу проводили за методом Кербера [4] і виражали в логарифмах 50% цитотоксичної дози (lg ID₅₀).

Також, в дослідженні була використана експериментальна продукувальна модель вірусу гепатиту С, а саме культура клітин МТ-4, отримана методом трансфекції кДНК *HCV*, синтезованої на РНК, виділеної із крові хворих на гепатит С [3]. Для виділення РНК використовували комплект реагентів «РИБО-сорб» (ФДУН «ЦНДІЕ», Росія), додаючи до проб сироватки лізуючий розчин і сорбент згідно з інструкцією фірми-виробника. Для отримання кДНК *HCV* проводили реакцію зворотної транскрипції РНК, виділеної на попередньому етапі, із застосуванням комплекту реагентів «Реверта-Л» (ФДУН «ЦНДІЕ», Росія), де реакційна суміш містила DDT ліофілізований, розчин RT-mix та ревертазу MMLv. Трансфекцію культур суспензійних клітин МТ-4 проводили кальцій-фосфатним методом. Трансфеговані культури інкубували при температурі 37 °С з подачею 5% CO₂ та на другому і п'ятому пасажах проводили тестування щодо здатності продукувати вірус гепатиту С. Кількість РНК *HCV*, або вірусне навантаження в культурі клітин МТ-4, визначали методом ПЛР в режимі «реального часу» з використанням реагентів «АмпліСенс HCV-Монітор-FRT» (ФДУН «ЦНДІЕ», Росія) та приладу Rotor-Gen 3000/6000 («Corbett Research», Австралія).

Вірусологічні дослідження in vitro. Антивірусну дію досліджуваних сполук до *BVDV* оцінювали за показниками їх хіміотерапевтичних індексів (ХТІ), які визначали за співвідношенням максимально толерантної дози (МТД) до мінімально активної концентрації (МАК) речовин, у відповідності до методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [5]. МТД визначали наступним шляхом: суспензію клітин *MDBK* у ростовому живильному середовищі у посівній концентрації 5x10⁵ кл/мл вносили у лунки 96-лункового планшету і вирощували в термостаті у присутності 5% CO₂ при 37 °С. Через 48 годин після утворення суцільного моношару клітин



ростове середовище із лунок планшету повністю видаляли. На сформовані клітинні моношари (по 10 для кожної концентрації) наносили по 200 мкл різних концентрацій досліджуваних речовин, отриманих шляхом послідовних розведень сполук у СП, де передбачувана кількість активної речовини відповідала концентраціям: 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78 мкг/мл. Максимальне розведення речовин, яке не спричинювало цитопатичної дії (ЦПД) в жодному з оброблених ними клітинних моношарів впродовж 72 годин експозиції за даними прижиттєвого цитологічного дослідження відповідало значенню МТD.

МАК сполук визначали мікрометодом за зниженням інфекційного титру *BVDV* в культурі клітин *MDBK*. З цією метою культуру клітин обробляли різними концентраціями речовин і через 30 хвилин додавали *BVDV* у дозі 100 ТЦД₅₀/0,1 мл. Діапазон досліджуваних концентрацій становив від 0,78 мкг/мл до 12,5 мкг/мл. На кожну концентрацію речовини використовували три лунки з культурою клітин. Оброблені клітини інкубували в термостаті з подачею 5% CO₂ при 37 °С до специфічної ЦПД в контролі вірусу, після чого порівняльно визначали інфекційний титр вірусу в культуральному середовищі різних розведень сполук і в контролі. Різниця інфекційних титрів в досліді порівняно з контролем давала змогу встановити МАК речовин.

Визначення антивірусної дії досліджуваних сполук в трансфекованій культурі клітин МТ-4 проводили наступним чином. Досліджувані речовини у певних концентраціях додавали до трансфекованої культури клітин МТ-4 на першу та третю добу від початку експерименту, після чого методом ПЛР визначали вірусне навантаження (в геном/еквівалент на об'єм аналіту) РНК *HCV* в досліді і контролі та робили висновок про ефективність пригнічення репродукції *HCV*. На кожну концентрацію речовини використовували не менше, ніж 3 лунки. Вірусне навантаження відповідало середньому значенню з трьох дослідів. Оскільки вірусне навантаження відображає інфекційний титр вірусу, визначення ефективності пригнічення проводили за формулою для підрахунку зниження врожаю вірусу [5]:

(К – Д): $K \times 100 = \% \text{ зниження врожаю вірусу}$, де

К – вірусне навантаження в контролі;

Д – вірусне навантаження в досліді.

Результати та їх обговорення

Критерієм первинної оцінки в системах *in vitro* антивірусної активності речовин є ХТІ. Для його визначення необхідно встановити МТD та МАК сполук. З огляду на те, що як сурогатний вірус гепатиту С в дослідженні використали вірус бичачої вірусної діареї (*BVDV*), МТD визначали в чутливій до нього перещеплюваній культурі клітин *MDBK* за описаними вище методиками [5]. Згідно отриманих результатів сполуки 48, 49, 50 та 52 не спричинили цитопатичної дії на культуру клітин *MDBK* у всіх досліджених концентраціях, в той час, як речовини 51 та 47 викликали такий ефект на культуру клітин *MDBK* в концентрації 12,5 мкг/мл. Визначені показники МТD для сполук 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 наведені в таблиці 1.



Таблиця 1

Максимально толерантні дози похідних амінопропанолу-2 в культурі клітин *MDBK*

Table 1

Maximum tolerate doses of aminopropanol-2 derivatives in *MDBK* cells culture

Сполука	Наявність ЦПД в лунках при відповідних концентраціях сполук					
	100 мкг/мл	50 мкг/мл	25 мкг/мл	12,5 мкг/мл	6,25 мкг/мл	3,125 мкг/мл
51	10/10	10/10	10/10	-	-	-
48	-	-	-	-	-	-
46	10/10	-	-	-	-	-
47	10/10	10/10	10/10	-	-	-
49	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-
52	-	-	-	-	-	-
Контроль клітин	-	-	-	-	-	-

Примітка: 51 – норборніл вмісна сполука; 48 – сполука з циклічним замісником в алкоксигрупі; 46, 47, 49, 50, 52 – сполуки з аліциклічними замісниками в алкоксигрупі.

Note: 51 – norbornyl-containing substance; № 48 – substance with a cyclic substituent in the alkoxy group; 46, 47, 49, 50 and 52 – substances with alicyclic substituents in the alkoxy group.

Визначення концентрацій речовин, які пригнічують репродукцію *BVDV* порівняно з контролем, дало змогу встановити показники МАК досліджуваних сполук (табл. 2).

Таблиця 2

Репродукція *BVDV* (інфекційний титр в $\lg ID_{50}$) під впливом похідних амінопропанолу-2

Table 2

BVDV reproduction (infection titer in $\lg ID_{50}$) under the action of aminopropanol-2 derivatives

Розведення	Концентрація, мкг/мл	Сполука						
		46	47	48	49	50	51	52
1:80	12,5	6,0	-	5,0	5,0	4,0	-	4,0
1:160	6,25	6,0	6,0	4,0	5,0	5,0	2,0	4,0
1:320	3,125	6,0	6,0	5,0	5,0	4,0	4,0	5,0
1:640	1,56	6,0	6,0	4,0	5,0	5,0	5,0	5,0
1:1280	0,78		6,0	-	-	-	5,0	-
Контроль вірусу	-	6,0	6,0	4,0	6,0	6,0	6,0	6,0



У відповідності до методичних рекомендацій [5] перспективними для подальших досліджень є сполуки, для яких показник МАК відповідає концентрації речовини, що знижує інфекційний титр вірусу на $1,25-2 \lg ID_{50}$ порівняно з титром вірусу в контролі без додавання сполуки. Відповідно до отриманих результатів, сполуки 50 та 51 зменшують інфекційний титр вірусу на $2,0 \lg ID_{50}$ в концентраціях 3,125 мкг/мл, а речовина 52 – в концентрації 6,25 мкг/мл. Також, із наведених в таблиці 2 даних видно, що речовини 46, 47, 48 та 49 у всіх досліджених концентраціях не призводять до зниження інфекційного титру вірусу *BVDV* в межах $1,25-2,0 \lg ID_{50}$.

При первинному відборі потенційних антивірусних засобів вираховують ХТІ сполуки, який визначають при порівнянні цитотоксичності сполуки та її антивірусної дії. Перспективними є сполуки, які проявляють виражену антивірусну активність у концентраціях, вже нетоксичних для клітин. Речовини, величина ХТІ яких дорівнює 16, або вище, і які знижують титр інфекційного вірусу за умов одноциклового досліду на $1,25-2,0 \lg TID_{50}$, вважаються високоактивними та перспективними для подальшого дослідження на тваринах [5].

Визначені в попередніх дослідах показники МТД та МАК дозволили встановити ХТІ сполук 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 по відношенню до *BVDV* (табл. 3).

Таблиця 3

Хіміотерапевтичні індекси похідних амінопропанолу-2 по відношенню до *BVDV*

Table 3

Chemical therapeutic indexes for aminopropanol-2 derivatives in relation to *BVDV*

Сполуки	МТД, мкг/мл	МАК, мкг/мл	ХТІ
46	50,0	0	-
47	12,5	0	-
48	<100	0	-
49	<100	0	-
50	<100	3,125	32
51	12,5	3,125	4
52	<100	6,25	16

Відповідно до показників ХТІ, наведених в таблиці 3, серед усіх досліджених похідних амінопропанолу-2 тільки сполуки 50, 51 і 52 виявляють антивірусну дію до сурогатного вірусу *HCV*: вони пригнічують репродукцію *BVDV* в концентраціях від 3,125 до 6,25 мкг/мл. Найактивнішими виявилися речовини 50 та 52, ХТІ яких дорівнював 32 і 16, відповідно. За хімічною структурою речовини 50 і 52 споріднені: вони містять однаковий амінний фрагмент (2,2,6,6-тетраметил-4-оксипіперидин), але аліциклічні замісники в алкоксигрупі у них різні: трет-бутил (у речовини 50) і 2-метил-3 бутин (у речовини 52). З огляду на спорідненість хімічної структури сполук 50 та 52, для вивчення антивірусної активності в експериментальній продукувальній моделі вірусу гепатиту С, а саме в культурах клітин МТ-4, було обрано сполуку з найвищим показником ХТІ за результатами попереднього досліду.



Це речовина 50 (1-трет-бутокси-3-(2,2,6,6-тетраметил-4-гідроксипіперидино)-2-пропанол), ХТІ якої виявився найбільшим і становив 32. Антивірусна активність сполуки 50 в експериментальній продукувальній моделі вірусу гепатиту С, визначалася наступним чином. Сполуку 50 у концентраціях 20 мкг/мл та 25 мкг/мл (в 5 та 4 рази нижчих за МПК відповідно) додавали до трансфекованої культури клітини МТ-4 на першу та третю добу від початку експерименту. Контрольні продукувальні клітини культивували без додавання досліджуваної речовини відповідно до варіанту досліджу. По закінченні терміну впливу методом ПЛР визначали вірусне навантаження (геном/еквівалент на об'єм аналізу) РНК *HCV* в досліді і контролі та обчислювали ефективність пригнічення репродукції *HCV*. Результати цих досліджень представлені в таблиці 4.

Таблиця 4

Вплив 1-третбутокси-3-(2,2,6,6-тетраметил-4-гідроксипіперидино)-2-пропанолу на репродукцію *HCV* в культурі клітин МТ-4

Table 4

Influence of 1-tret-butoxy-3-(2,2,6,6-tetramethyl-4-hydroxypiperidino)-2-propanol on *HCV* reproduction in MT-4 cells culture

Варіант досліджу	Термін введення (доба)	Концентрація (мкг/мл)	Вірусне навантаження, геном/екв	Пригнічення, %
HCV+сполука 50	1	25	1092	44,6
	1	20	1346	32
	3	25	-	100
	3	20	287	80
Контроль HCV	1	-	1971	-
	3	-	1430	-

При інтерпретації показників, наведених в таблиці 4, брали до уваги, що процент пригнічення <40% свідчить про відсутність антивірусної дії сполуки, процент пригнічення >40% демонструє наявність антивірусної дії речовини, а у разі, якщо процент пригнічення >60% – сполука вважається активною [5]. Із даних, наведених в таблиці 4, видно, що сполука 50 пригнічує репродукцію *HCV* за даними ПЛР вірусного навантаження РНК *HCV* в геном/еквівалент при одноразовому введенні на 32% в концентрації 20 мкг/мл та на 44,6% в концентрації 25 мкг/мл. Тобто, в такому варіанті експерименту сполука 50 проявляє антивірусну дію лише в концентрації 25 мкг/мл. В той час, як повторне введення речовини на третю добу експерименту демонструє антивірусну активність сполуки в обох концентраціях. Згідно з отриманими результатами, сполука 50 у дозі 20 мкг/мл на третю добу знижувала вірусне навантаження *HCV* на 80%, а у дозі 25 мкг/мл – на 100%, тобто повністю гальмувала репродукцію *HCV*.

В результаті вивчення антивірусної дії нових сполук амінопропанолу-2 знайдена речовина 1-трет-бутокси-3-(2,2,6,6-тетраметил-4-гідроксипіперидино)-2-пропанол (сполука 50), яка ефективно пригнічує репродукцію сурогатного вірусу гепатиту С (*BVDV*) та має високий ХТІ до нього [6].



Антивірусну дію сполуки 50 було підтверджено на моделі продукувальної культури *HCV* та показано дозозалежний вплив цієї речовини на репродукцію вірусу гепатиту С.

Отримані результати в подальшому можуть бути використані для створення ліків антивірусної дії та для цілеспрямованого синтезу активних молекул з заданими властивостями.

**Е.М. Волощук¹, Ю. В. Короткий², Е.А.Смертенко²,
С. Л. Рыбалко³, Ю.І. Порва⁴, В. П. Ширококов¹**

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, бульвар Т. Шевченка, 13, Киев, 01004, Украина, e-mail: nauka@nmu.edu.ua;

²Институт органической химии НАН Украины, ул. Мурманская, 5, Киев, 02660, Украина, e-mail: iochkiev@ukrpack.net;

³Институт эпидемиологии и инфекционных болезней имени Л.В. Громашевского, ул. Николая Амосова, 5, Киев, 03038, Украина, e-mail: epidemics@ukr.net

⁴ТОВ «Український лічобно-діагностический центр», ул. Никольско-Слободская, 6-Д, оф. 6, Киев, 02002, тел. / Факс: +38044 492-3483, e-mail: lab@uldc.com.ua

АНТИВИРУСНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОИЗВОДНЫХ АМИНОПРОПАНОЛА-2 НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Реферат

Цель работы – изучить антивирусное действие новых соединений аминопропанола-2 к вирусу бычьей вирусной диареи (BVDV) и в экспериментальной продуцирующей модели вируса гепатита С (HCV). **Методы.** Антивирусное действие определяли у 7 производных аминопропанола-2, среди которых: норборнил содержащее вещество (соединение 51), вещество с циклическим заместителем в алкоксигруппе (соединение 48), и вещества с алициклическими заместителями в алкоксигруппе (соединения 46, 47, 49, 50 и 52). Оценку антивирусной активности исследуемых веществ проводили *in vitro* по показателям их химиотерапевтических индексов (ХТИ) и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в экспериментальной продуцирующей модели HCV. **Результаты.** Установлено, что соединения 50 и 52 подавляют репродукцию BVDV на $2 \lg ID_{50}$ в концентрациях 3,125 и 6,25 мкг/мл соответственно и имеют высокие показатели ХТИ, что характеризует эти вещества как эффективные ингибиторы репродукции BVDV. Антивирусное действие соединения 50 было подтверждено данными ПЦР на модели продуцируемой культуры HCV и показано дозозависимое действие этого вещества на репродукцию вируса гепатита С. **Выводы.** Среди исследованных производных аминопропанола-2 в группе веществ с алициклическими заместителями в алкоксигруппе выявлено соединение с выраженными антивирусными свойствами: 1 третбутокси-3-(2,2,6,6-тетраметил-4-гидроксипиперидино)-2-пропанол (вещество № 50). Полученные результаты могут быть использованы для целенаправленного синтеза активных молекул с заданными свойствами и будут полезны при изучении закономерных взаимосвязей «структура-активность».

Ключевые слова: производные аминопропанола-2, антивирусное действие, тест-модель вирусного гепатита С.



**O.M. Voloshchuk¹, Yu.V. Korotkiy², O.A. Smertenko²,
S.L. Rybalko³, Yu.I. Porva⁴, V.P. Shyrobokov¹**

¹O.O. Bohomolets National Medical University Ministry of Health of Ukraine, 13, T. Shevchenka Boulevard, Kyiv, 1004, Ukraine, e-mail: nauka@nmu.edu.ua;

²Institute of Organic Chemistry of ANS Ukraine, 5, Murmanska Str., Kyiv, 02660, Ukraine, e-mail: iochkiev@ukrpack.net;

³SI «L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of AMS Ukraine», 5, Amosova Str., Kyiv, 03038, Ukraine, e-mail: epidemics@ukr.net

⁴TOV "Ukrainian Medical and Diagnostic Center", 6-D, Nikolsko-Slobidska str., of. 6, Kyiv, 02002, tel./fax: +38044 492-3483, e-mail: lab@uldc.com.ua

ANTIVIRAL ACTION OF AMINOPROPANOL-2 DERIVATIVES ON THE EXPERIMENTAL MODELS OF HEPATITIS C VIRUS

Summary

Aim. The purpose of the work is to investigate the antiviral action of new aminopropanol-2 compounds against bovine viral diarrhea virus (BVDV) and on the experimental hepatitis C virus (HCV) production model. **Methods.** Antiviral activity was determined in 7 aminopropanol-2 derivatives, among which there were: norbornyl-containing substance (compound № 51), a substance with a cyclic substituent in the alkoxy group (compound № 48), and the substances with alicyclic substituents in the alkoxy group (compounds №№ 46, 47, 49, 50 and 52). The evaluation of antiviral effect of the studied substances was conducted in vitro according to their chemo-therapeutic indices (HTI) and polymerase chain reaction (PCR) in the experimental HCV model. **Results.** It was found that compounds №№ 50 and 52 had high HTI and inhibited the reproduction of BVDV by 2 lg ID₅₀ at concentrations of 3,125 and 6.25 µg/ml, respectively, that characterizes these substances as the effective BVDV reproduction inhibitors. The antiviral activity of compound № 50 was confirmed by PCR data on the experimental hepatitis C virus (HCV) production model. There were also shown the dose-dependent effect of this substance on the reproduction of hepatitis C virus. **Conclusions.** Among the investigated aminopropanol-2 derivatives there were identified a compound with pronounced antiviral properties. This is 1-tret-butoxy-3-(2,2,6,6-tetramethyl-4-hydroxypiperidino)-2-propanol (substance №50) which belongs to the group of substances with alicyclic substituents in the alkoxy group. The obtained results can be used for a purposeful synthesis of active molecules with given properties and will be useful in studying the relationships of "structure-activity".

Key words: aminopropanol-2 derivatives, antiviral action, test-model of viral hepatitis C.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Касьян Л.И., Пальчиков В.А. Аминоспирты с каркасными фрагментами. Синтез, реакции и пути использования // Журн. Органической химии. – 2010. – Т. 46, (вып.1). – С. 7–43
2. Короткий Ю.В., Вринчану Н.О., Дронова М.Л., Суворова З.С., Смертенко О.А. Синтез, антибактеріальна та антифунгальна активність похідних 1|4 (1,1,3,3, тетраметилбутил) фенокси |3 діалкіламіно 2 пропанолу // Фармацевтичний журнал. – 2015. – № 1. – С. 56–62.



3. Порва Ю.И., Рыбалко С.Л., Дядюн С.Т., Завелевич М.П., Боровиков В.М., Старосила Д.Б., Алексеенко И.П., Дерабин О.Н. Культивирование вируса гепатита С с использованием метода трансфекции // Лабораторная диагностика. – 2010. – 1(51). – С. 20–23.

4. Руководство по вирусологическим исследованиям полиомиелита / ВОЗ Женева, Москва 2005, 114 с.

5. Стефанов А.В. (ред.) Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. – Київ: Авіцена, 2001. – С. 371–396.

6. Патент України на корисну модель № 91886. МПК C07C 213/04 (2006.01). 1-трет-бутоксид-3-(2,2,6,6-тетраметил-4-гідрокси піперидино)-2-пропанол / Короткий Ю.В., Волощук О.М., Рыбалко С.В., Порва Ю.І., Смертенко О.А., Ширококов В.П. (Україна). – № 91886; заявл. 07.11.2013; опубл. 25.07.2014, Бюл. № 14.

7. Buckwold V.E., Beer B.E., Donis R.O. Bovine viral diarrhea virus as a surrogate model of hepatitis C virus for the evaluation of antiviral agents // Antiviral Res. – 2003. – V. 60, № 1. – P. 1–15.

8. Dhingra A., Kapoor S., Alqahtani S.A. Recent advances in the treatment of hepatitis C // Discov. Med. – 2014. – V. 18(99). – P. 203–208.

9. Dragomiretskaya N., Izha A., Kalinichenko N., et al. Use of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. // Open Medicine. – 2015. – V. 10(1). – P. 209–215.

10. Hope V.D., Eramova I., Capurro D., Donoghoe M.C. Prevalence and estimation of hepatitis B and C infections in the WHO European Region: a review of data focusing on the countries outside the European Union and the European Free Trade Association // Epidemiol. Infect. – 2014. – V. 142, № 2. – P. 270–286.

11. Mohd Hanafiah K., Groeger J., Flaxman A.D., Wiersma S.T. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. // Hepatology. – 2013. – V. 57, № 4. – P. 1333–1342.

References

1. Kasjan LI, Palchikov VA. Amino-alcohols with carcass fragments. Synthesis, reactions and ways of using. J. Org. Chem. 2010;46(1):7-43.

2. Korotkiy YuV, Vrinchanu NO, Dronova ML, Suvorova ZS, Smertenko OA. Synthesis, antibacterial and antifungal activity of derivatives of 1-(4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenoxy)propan-2-ol. Pharm. J. 2015;1:56-62.

3. Porva YuI, Rybalko SL, Dyadyun ST, Zavelevich MP, Borovikov VM, Starosila DB, Alekseenko IP, Derabin ON. Hepatitis C virus cultivation with using the transfection method. Laboratory diagnostics. 2010;1(51):20-23.

4. Guidelines of virological polio research. WHO Geneva, Moscow. 2005:114.

5. Stefanov AV (eds.). Pre-clinical research of medicines. Method. Recommendations. Kyiv, 2001:371-396.

6. Patent of Ukraine N 91886. MBI C07C 213/04 (2006.01). 1-tret-butoksi-3-(2,2,6,6-tetrametil-4-gidroksipiperidino)-2-propanol. Korotkiy YuV, Voloshchuk OM, Rybalko SV, Porva YuI, Smertenko OA. Shirbokov VP (UA). - N 91886; заявл. 07.11.2013; опубл. 25.07.2014, Бюл. N 14



7. Buckwold VE, Beer BE, Donis RO. Bovine viral diarrhea virus as a surrogate model of hepatitis C virus for the evaluation of antiviral agents. *Antiviral Res.* 2003;60(1):1-15.

8. Dhingra A, Kapoor S, Alqahtani SA. Recent advances in the treatment of hepatitis C. *Discov. Med.* 2014 Oct;18(99):203-8.

9. Dragomiretskaya N, Izha A, Kalinichenko N, et al. Use of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Open Medicine.* 2015;10(1):209-215.

10. Hope VD, Eramova I, Capurro D, Donoghoe MC. Prevalence and estimation of hepatitis B and C infections in the WHO European Region: a review of data focusing on the countries outside the European Union and the European Free Trade Association. *Epidemiol. Infect.* 2014;142(2):270-286.

11. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology.* 2013;57(4):1333-1342.

Стаття надійшла до редакції 30.06.2017 р.

