

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 103 сторінки, 24 рисунки, 5 схем, 23 таблиць, 66 бібліографічних посилань, 2 додатки.

Магістерська дисертація на здобуття ступеня магістра з хімічної технології та інженерії за спеціальністю – хімічні технології косметичних засобів та харчових добавок. Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Київ, 2018.

Робота присвячена синтезу та дослідженню властивостей ряду нових N-ацил похідних антранілової кислоти а саме: 2-(4-октилбензамідо)бензойної кислоти, 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойної кислоти та 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойної кислоти.

Актуальність роботи полягає в тому, що через явище резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів, з часом вони стають все менш ефективними і виникає постійна необхідність у пошуку нових сполук, активних до патогенних форм. Похідні антранілової кислоти різної хімічної будови, як природного походження, так і синтетичні, привертають увагу дослідників через широкий спектр активності стосовно багатьох грам-позитивних та грам-негативних мікроорганізмів (в тому числі стосовно штамів резистентних до більшості інших антимікробних сполук). Тому ціленаправлений синтез нових сполук шляхом модифікації антранілової кислоти введенням функціональних замісників різної природи та подальше вивчення властивостей й біологічної активності є перспективним напрямком сучасних досліджень.

Склад та будову синтезованих сполук встановлено з використанням ЯМР ^1H , інфрачервоної, мас-спектрометрії та електронної мікроскопії.

Крім того, проведено визначення чутливості різних морфологічних форм *Candida albicans* до всіх синтезованих похідних. Показано, що досліджувані синтетичні похідні є більш активними щодо клітин у складі біоплівки, яка складається з дріжджоподібної форми *C. albicans*, ніж тих клітин, які утворюють біоплівку гіфального типу.

Отримані сполуки є перспективними для подальших додаткових мікробіологічних та фармакологічних досліджень.

Апробація результатів:

Oksana Slobodianiuk, Oleksandra Berezhnytska Synthesis of new antimicrobial drugs on the basis of N-acyl derivatives of the anthranilic acid // 11-th International Conference "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials" (ICEPOM-11). – Ivano-Frankivsk, Ukraine. –21 - 25 May, 2018 – P.193

Публікації:

Слободянюк О.Д., Бережницька О.С., Русакова М.Ю. Синтез та властивості нових N-ацил похідних антранілової кислоти. УХЖ, 2018, №11. С.

Ключові слова:

АНТРАНИЛАТИ, ПОХІДНІ *o*-АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ, ПРОТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ, АНТИМІКОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ, CANDIDA ALBICANS.

ABSTRACT

Explanatory note: 103 pages, 24 figures, 5 schemes, 23 tables, 66 bibliographic references, 2 appendixes.

Master's thesis for obtaining a master's degree in chemical technology and engineering in specialty - chemical technologies of cosmetics facilities and food additives. National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute", Kyiv, 2018.

The work is devoted to synthesis of novel N-acyl derivatives of anthranilic acid, namely 2-(4-octylbenzamido) benzoic acid, 2-(4-(heptyloxy)benzamido) benzoic acid and 2-(4-(heptylsulfanyl)benzamido) benzoic acid.

The relevance of the work centered around the fact that due to the phenomenon of bacterial resistance to antimicrobial drugs, eventually, antibiotics become less and less effective. This fact is a cause for the constant need of new compounds which are active to pathogenic forms. The anthranilic acid derivatives of various chemical structures, both natural and synthetic, attract researchers' attention through a wide spectrum of activity in relation to many gram-positive and gram-negative microorganisms (including strains resistant to most other antimicrobial compounds). Therefore, the obtainment of new potent compounds through introduction of various functional substituents into anthranilic acid and further study of properties and biological activity is a promising direction in modern research.

The structure of synthesized compounds was determined by ^1H NMR, IR, mass spectrometry and electron microscopy methods of analysis.

In addition, various morphological forms of *Candida albicans* were tested for its immunity to all synthesized derivatives. It has been shown that the synthetic derivatives studied are more active in relation to cells of the biofilm composition, which consists of the yeast-like form of *C. albicans*, than those cells that form a hyphal type biofilm.

The obtained compounds are promising for further additional microbiological and pharmacological studies.

Presentation of results:

Oksana Slobodianiuk, Oleksandra Berezhnytska Synthesis of new antimicrobial drugs on the basis of N-acyl derivatives of the anthranilic acid // 11-th International Conference "Electronic Processes in Organic and Inorganic Materials" (ICEPOM-11). – Ivano-Frankivsk, Ukraine. –21 - 25 May, 2018 – P.193

Publications:

Слободянюк О.Д., Бережницька О.С., Русакова М.Ю. Синтез та властивості нових N-ацил похідних антранілової кислоти. УХЖ, 2018, №11. С.

Keywords:

ANTRANILATES, DERIVATIVE *o*-AMINOBENZOIC ACIDS, ANTIMICROBIAL PROPERTIES, ANTIMICOTIC PROPERTIES, CANDIDA ALBICANS.

ЗМІСТ

Вступ.....	11
Розділ 1 Огляд літератури	14
1.1 Протимікробні речовини та їх застосування.....	14
1.1.1 Протимікробні речовин, як консервантів	14
1.1.2 Протимікробні речовин, як функціональний компонент у лікувальній косметиці.....	17
1.1.3 Протимікробні речовин, як функціональний компонент у складі лікарських засобів	17
1.2 Антранілати: загальні властивості та застосування	18
1.2.1 Антранілати у складі лікарських препаратів.....	20
1.2.2 Дослідження протимікробних властивостей антранілатів	24
1.3 Узагальнення результатів літературного обзору	27
Розділ 2 Опис шляху синтезу бажаних сполук	29
Розділ 3 Результати досліджень.....	32
3.1 Синтез ряду нових N-ацил похідних антранілової кислоти	32
3.1.1 Одержання 2-(4-октилбензамідо)бензойної кислоти	32
3.1.2 Одержання 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойної кислоти	34
3.1.3 Одержання 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойної кислоти.....	36
3.2 Дослідження синтезованих сполук методом ІЧ-спектроскопії.....	37
3.3 Дослідження сполук методом скануючої електронної мікроскопії.....	42
3.4 Антимікотичні властивості синтезованих похідних антранілової кислоти.....	46
3.5 Узагальнення до експериментальної частини.....	55
Розділ 4 Розроблення стартап-проекту	56
4.1 Загальна характеристика розробки.....	56
4.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища стартапу	61
4.3 Визначення ключових факторів успіху проекту	66
4.4 Визначення потенційних споживачів	68

4.5 Оцінка джерел фінансування	72
4.6 Розрахунок ціни інноваційної пропозиції на ринку	72
4.7 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту	78
4.8 Оцінка ризиків та страхування розробки.....	81
4.9 Узагальнення до розроблення стартап-проекту.....	82
Висновки	84
Список використаних джерел	85
Додаток А Спектри ^1H ЯМР.....	92
Додаток Б Анкета для споживачів.....	103

ВСТУП

Актуальність теми. На сьогоднішній день протимікробні препарати широко застосовується як харчові добавки та складові компоненти косметичних засобів. При правильному використанні вони не впливають на основні властивості готового продукту, такі як: колір, запах, смак, поживна цінність (для харчових продуктів) та функціональні властивості (наприклад миюча здатність мила та шампунів). Але, тим не менше, вони є одними з найважливіших та незамінних добавок в харчовій та косметичній промисловості. Саме протимікробні засоби дозволяють подовжити термін придатності риби, м'яса, молочних продуктів, різноманітних консервів (які є ідеальним середовищем для росту патогенних мікроорганізмів) з максимальним збереженням поживних речовин, що руйнуються при термічній обробці. Для косметичних засобів наявність сторонніх мікроорганізмів також має негативний вплив – значно скорочується термін можливого застосування засобу, необхідні більш жорсткі умови зберігання (відсутність світла, низькі температури), можливість потрапляння мікроорганізмів на шкіру людини з подальшим розвитком багатьох хвороб. Таким чином, протимікробні засоби призначені не лише для зберігання харчових продуктів та косметичних засобів від псування, але й перш за все, допомагають зробити їх безпечними для здоров'я людини.

Незважаючи на велику кількість вже відомих антимікробних засобів, постійно виникає потреба в нових високоефективних препаратах широкого спектру дії. Це пов'язано з тим, що активність антимікробних препаратів знижується з часом, що зумовлено формуванням у мікробів медикаментозної резистентності. Така стійкість є закономірним біологічним явищем, і уникнути її практично неможливо. Відома, що антранілова кислота та її синтетичні похідні проявляють антимікробні властивості. Недавні дослідження показують, що антранілати (похідні антранілової або о-амінобензойної кислоти) володіють антибактеріальною активністю стосовно ряду мікроорганізмів: *Pseudomonas aeruginos*, *Vibrio vulnificus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica*, *Serovar*

Typhimurium, та *Staphylococcus aureus* [1, 2, 3]. Тому синтез нових похідних антранілової кислоти та дослідження їх протимікробних властивостей є актуальною задачею дослідницької роботи. У зв'язку з цим важливим напрямом розвитку сучасної хімії є розробка та удосконалення методів синтезу нових біологічно активних сполук, похідних антранілової кислоти, дослідження їх будови та властивостей, встановлення взаємозв'язку між ними, з метою вивчення подальших шляхів їх застосування в різних галузях промисловості та медицини.

Мета і задачі дослідження: розробка зручного та препаративного методу синтезу ряду N-ацил похідних антранілової кислоти та подальше дослідження їх протимікробних властивостей для визначення можливості застосування речовин **1-4** як функціональних добавок до косметичних засобів та складових компонентів лікарських засобів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- аналіз основних методів синтезу похідних (*o*-амінобензойної) антранілової кислоти, вибір оптимальних методик та об'єктів дослідження;
- синтез ряду N-ацил похідних антранілової кислоти (2-(4-октилбензамідо)бензойна кислота, 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислота, 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота, 2-(4-(гептиламіно)бензамідо)бензойна кислота);
- встановлення складу синтезованих сполук;
- дослідження будови та морфології одержаних похідних антранілової кислоти;
- визначення чутливості різних морфологічних форм *Candida albicans* до синтезованих похідних антранілової кислоти.

Об'єкти дослідження є нові N-ацил похідні антранілової кислоти, як потенційні протимікробні препарати для використання в косметичних засобах, а саме (рис.1):

2-(4-октилбензамідо)бензойна кислота **1**;

2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислота **2**;

2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота **3**;

2-(4-(гептиламіно)бензамідо)бензойна кислота **4**.

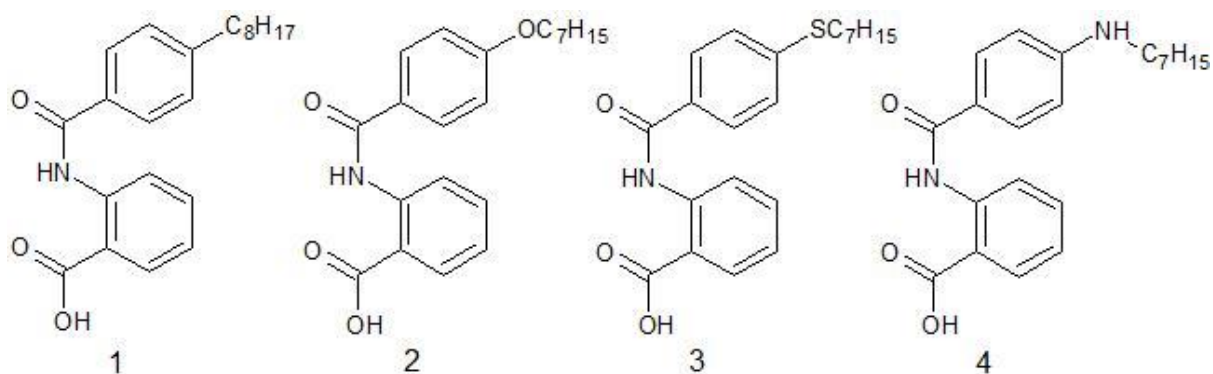


Рис. 1. Нові N-ацил похідні антранілової кислоти, що заплановано синтезувати

Предмет дослідження: можливі шляхи та умови синтезу ряду нових похідних антранілової кислоти, встановлення їх складу та будови, визначення антимікробних властивостей синтезованих похідних антранілової кислоти, дослідження морфології.

Наукова новизна отриманих результатів: синтезовано та виділено в твердому стані 4 нових N-ацил похідних антранілової кислоти. З використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу встановлено їх склад, будову та морфологію, досліджено їх антимікробні властивості.

Практичне значення одержаних результатів: Вдосконалено та відпрацьовано стандартні методики синтезу N-ацил похідних антранілової кислоти, що дозволило одержати речовини високої чистоти. Дослідження протимікробних властивостей показали, що синтезовані сполуки проявляють антибактеріальну активність до різних морфологічних форм *Candida albicans*.

РОЗДІЛ 1

Огляд літератури

1.1 Протимікробні речовини та їх застосування

Варто зазначити, що протимікробні засоби - це речовини, що пригнічують ріст і розмноження або викликають загибель різноманітних видів мікроорганізмів - бактерій, хламідій, грибів, найпростіших, спірохет, вірусів і т.п. Вони класифікують за спрямованістю дії (антибіотики, протигрибкові, противірусні засоби), по області застосування (антисептичні засоби, дезінфікуючі засоби), за способами отримання (природні, синтетичні препарати, продукти життєдіяльності мікроорганізмів і їх напівсинтетичні похідні) [1].

1.1.1 Протимікробні речовини, як консервантів

Незважаючи на відмінності вимог, які необхідно виконувати для забезпечення збереженості косметики, фармацевтичних препаратів, харчової продукції, побутових, промислових і сільськогосподарських хімікатів, є ряд загальних підходів, якими керуються при розробці рецептур таких продуктів. Так, забезпечення стабільності і мікробіологічної чистоти будь-якого продукту - це може бути лосьйон, мазь для зовнішнього застосування, засіб для миття посуду, емульсійна фарба або препарат для обробки сільгоспугідь - є дуже важливим компонентом технології, умовою його безпечності в процесі зберігання і практичного застосування, а в кінцевому рахунку, і успішного просування на ринку [1].

Для цих цілей використовують таку широку групу речовин як консерванти. Технічним регламентом (ЄС) № 1223/2009 щодо безпечності косметичної продукції, консерванти визначені як хімічні речовини природного

і/або синтетичного походження, що забезпечують стійкість парфюмерно-косметичної продукції до мікробного забруднення протягом всього терміну придатності. Схоже визначення наводиться й у технічному регламенті (ЄС) № 1333/2008 щодо харчових добавок: консерванти - речовини, які подовжують термін придатності харчових продуктів, захищаючи їх від псування, що викликається мікроорганізмами і/або які запобігають ріст патогенних мікроорганізмів [2, 3].

Необхідність використання консервантів пов'язана з тим, що більшість харчових продуктів, засобів косметичного, лікарського та іншого призначення містять білкові та ліпідні компоненти, цукри і натуральні екстракти, які є ідеальним поживним середовищем для розвитку бактерій і грибків. Їх забруднення мікроорганізмами може мати місце в процесі виробництва, при застосуванні та зберіганні [4, 6].

Згідно з чинним законодавством, косметичні засоби повинні зберігатися, щонайменше, протягом 30 місяців, у всіх інших випадках на них повинен бути вказаний термін придатності. Нерідко споживачі продовжують використовувати засоби протягом багатьох місяців з моменту відкриття упаковки. Особливо критично слід ставитися до кремів в банках. Кожен раз, коли крем набирають з банки кінчиками пальців, в банку може потрапити до 10^6 - 10^7 мікроорганізмів. Все ж передбачається, що навіть в таких екстремальних умовах продукти повинні місяцями зберігати бездоганні гігієнічні якості. Цього можна досягти тільки за допомогою дуже ефективних консервантів [7, 8].

Косметика може псуватися під впливом самих різних мікроорганізмів. Молочнокислі бактерії (лактобактерії) можуть викликати утворення піни і розбухання упаковки. Цвіль розростається в колонії, видимі неозброєним оком. *Pseudomonas* виділяють слиз, *Enterobacteriaceae* викликають фазовий поділ, а дріжджоподібні грибки при бродінні виділяють дуже неприємний запах [7].

Але проблема полягає не лише в тому, що косметичний засіб зіпсований мікроорганізмами втрачає свої функціональні властивості або набуває неприємного запаху та зовнішнього вигляду. Деякі з таких мікроорганізмів є

потенційно патогенними для людини. *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* викликають появу гною при проникненні в пори шкіри, особливо при наявності на її поверхні мікротравм. Нерідко вони стають також причиною кон'юнктивіту при потраплянні в очі. *Candida albicans* можуть селитися на шкірі і викликати різноманітні грибкові захворювання. Цвіль продукує канцерогенні токсини [8].

Консерванти, що вводяться до складу косметичних засобів, пригнічують темпи росту і розвитку бактерії, грибків і дріжджів, знижують швидкість їх обміну речовин, або знищують мікроорганізми. При введенні консерванту в косметичний продукт мікроорганізми можуть загинути повністю або частково – на це впливає кількість (концентрація) консерванту в продукті та час його дії. Додавання консервантів в косметичні продукти доцільне лише в тому випадку, якщо вони використовуються в достатній концентрації і на лінійній (початковій) стадії розмноження мікроорганізмів [9, 10].

Антимікробна активність консервантів визначається їх впливом на ряд процесів в живій клітині мікроорганізмів: на механізми транспорту речовин; на клітинні оболонки або мембрани; на ферментну активність; на синтез білків; на процеси за участю ДНК [10].

Від консервантів слід відрізняти **бактерициди** (біоциди) - речовини, що служать для знищення хвороботворних мікроорганізмів. Сюди входять дезінфікуючі препарати, антисептики, а також медичні антибіотики. Бактерициди діють сильніше в порівнянні з консервантами і зазвичай мають свою специфіку в хімічному плані, хоча іноді консервант від бактерициду відрізняє лише доза. У функціональному плані бактерициди можуть використовуватися як знезаражувальні дезінфектанти і забезпечувати антимікробні властивості (як, наприклад, сполуки з активним киснем або хлором в миючих засобах, для обробки виробничого обладнання та приміщень). Діють як бактерициди, часом в досить високих концентраціях, нижчі спирти, більшість кислот, солі і луги [1].

Недавні дослідження показали, як швидко можуть псуватися косметичні засоби: з 500 кремів, що містять недостатні кількості консервантів і пройшли після виробництва контроль якості методом «flying colours» в гігієнічно чистих умовах, в 422 були виявлені мікроорганізми вже через 14 днів використання, в 164 виявили високу концентрацію мікроорганізмів (більше 1000 КУО на 1 г крему), чотири продукти прийшли в стан повної непридатності, а вісім зразків містили патогенні мікроорганізми [7].

1.1.2 Протимікробні речовин, як функціональний компонент у лікувальній косметиці

Протимікробні добавки вводять у склад косметичних засобів не лише у якості консервантів. Останнім часом набирає популярності лікувальна косметика, яку використовують для профілактики та подолання легких форм шкірних хвороб бактеріальної та грибкової природи (акне, себорея, фолікуліт, кандидоз та ін.). У таких продуктах концентрація протимікробних компонентів значно вища, ніж при використанні їх як звичайних консервантів [11].

1.1.3 Протимікробні речовин, як функціональний компонент у складі лікарських засобів

Найбільш важливе застосування протимікробні речовини знаходять у складі лікарських препаратів зовнішнього та внутрішнього використання.

Лікування і профілактика різних інфекційно-запальних, паразитарних і вірусних захворювань є актуальною проблемою для всіх областей практичної медицини. Досягнення сучасної фармакології привели до появи широкого

арсеналу протимікробних засобів, число класів яких безперервно збільшується [12].

1.2 Антранілати: загальні властивості та застосування

Антранілова кислота (*o*-амінобензойна кислота) – ароматична амінокислота, яку іноді називають вітаміном L₁. Безбарвна кристалічна речовина, що має солодкий смак [13].

В природі, антранілова кислота є попередником в біосинтезі індолу і протеїногенної амінокислоти триптофану по так званому шикматному шляху (схема 1.2.1) [14].

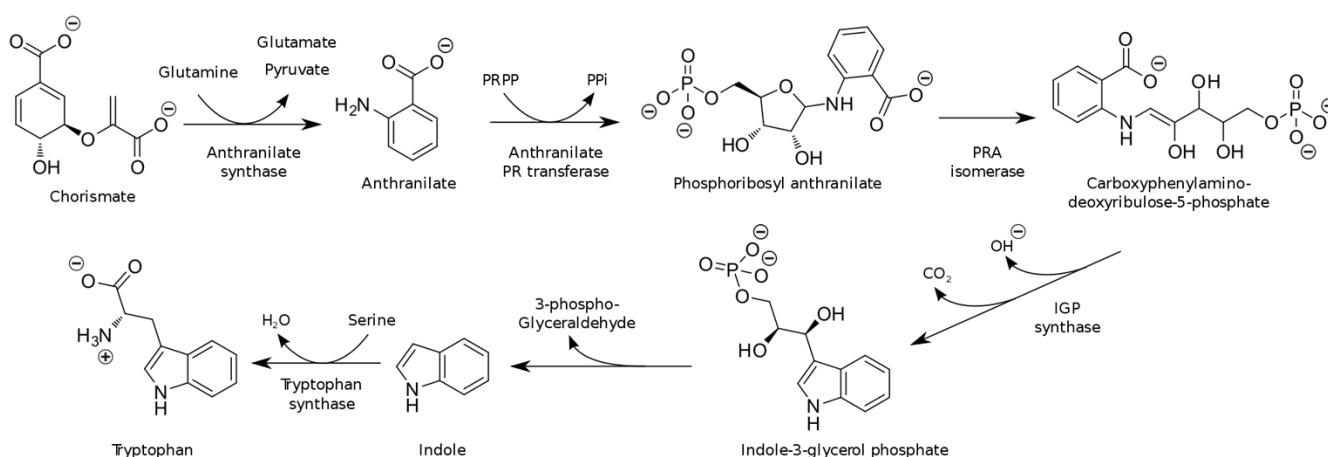


Схема 1.2.1. Біосинтез триптофану через антранілову кислоту

За цією схемою антранілат синтезується з хоризмата ферментом антранілатсинтазою (КФ 4.1.3.27). Донором аміногрупи виступає амідний азот глютаміну або амоній [14].

В промисловості антранілову кислоту отримують:

1) дією водного розчину NH₃ на фталевий ангідрид (рН 7,5-8,5; 40 °С) і подальшою взаємодією отриманої Na-солі фталамінової кислоти з розчином NaOCl при 60 °С (розщеплення по Гофману), схема 1.2.2.

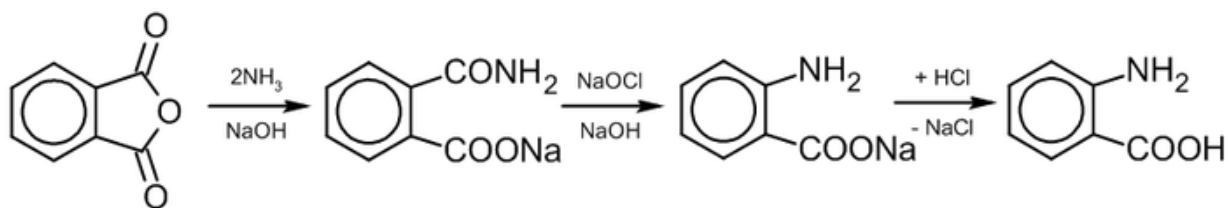


Схема 1.2.2. Промисловий метод синтезу антранілової кислоти

2) дією на лужний розчин фталіміду NaOCl або NaOBr . Кислоту виділяють розбавленим розчином HCl ($40\text{-}50^\circ\text{C}$); вихід 84% [15].

Процес може бути здійснений періодичним або безперервним способом.

В промисловості антранілова кислота є проміжною сполукою при виробництві азобарвників (наприклад, індиго) і сахарину.

Дуже широко застосовуються складні ефіри антранілової кислоти. Наприклад, в парфумерії та в якості харчових віддушек часто використовують метил- та етилантранілат, які володіють ароматом жасмину та квітів апельсинового дерева [16].

Репеленти на основі антранілів є безпечною альтернативою ДЕТА (N,N -діетил-*мета*-толуамід). До їх складу можуть входити метилантранілат, N,N -діметилантранілова кислота (DMA), етилантранілат (EA) і бутілантранілат (BA). DMA та EA відлякують комах від людей, тоді як EA разом з BA дозволяють запобігти відкладанню комарами яєць поблизу водойм [17].

Деякі похідні використовують як ультрафіолетові поглиначі, а також як інгібітори корозії металів та інгібітори цвілі.

Широко відомі антранілати і в якості фармацевтичних препаратів з загальною назвою «фенамати». Це цілий клас сполук з дуже різноманітною біологічною активністю (детальніше в розділі 1.2.1).

1.2.1 Антранілати у складі лікарських препаратів

На даний час, саме серед лікарських засобів антранілати знаходять найбільше поширення, і це не лише препарати протимікробної дії. Похідні антранілової кислоти широко застосовують в засобах різного клінічного призначення:

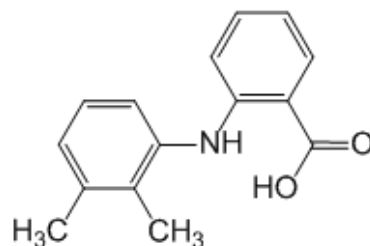
- 1) для лікування гострих і хронічних гепатитів різного генезису, в тому числі вірусної етіології, і цирозів печінки;
- 2) як речовини, що проявляють виражену протизапальну дію;
- 3) в якості потужних анальгетиків;
- 4) в препаратах з діуретичною дією [18];
- 5) протигрибкові та антимікробні препарати, з високою бактеріостатичною активністю по відношенню до грам-позитивних і грам-негативних мікроорганізмів при низькій токсичності [19, 20];
- 6) як оригінальні синтетичні субстанції антиоксидантної, мембраностабілізуючої та кардіопротекторної дії [19].

В даному розділі описані лише найбільш поширені та ефективні препарати на основі похідних антранілової кислоти.

Мефенамінова кислота **5** – один з найвідоміших представників класу похідних антранілової кислоти. Це нестероїдний протизапальний препарат з групи фенаматів, має знеболюючу, протизапальну та жарознижувальну дію; часто застосовується при менструальному синдромі, і іноді використовується для профілактики мігрені, пов'язаних з менструацією. Як і у більшості інших нестероїдних протизапальних засобів, фармакологічні властивості мефенамінової кислоти обумовлені пригніченням ферменту циклооксигенази. У готових лікарських формах може використовуватися як сама кислота, так і її натрієва сіль [18].

Назва речовини походить від її систематичного найменування, - диметилфеніламінобензойної кислоти. Препарат був відкритий та виведений на

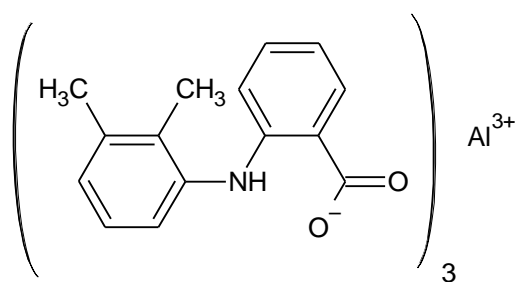
ринок корпорацією Parke-Davis у 1960-х роках. З початку 1980-х років доступний у всьому світі під багатьма торговельними марками [21].



5

Рис. 1.2.1. Мефенамінова кислота

Антраль **6** (алюмінієва соль мефенамінової кислоти) — синтетичний лікарський препарат, що застосовується як гепатопротектор, та, згідно даних вітчизняних клінічних досліджень, має антиоксидантну, мембраностабілізуючу, ангіопротекторну, імуномодулюючу, противірусну та регенеративну дію. За своїм хімічним складом антраль є комплексною сполукою алюмінію з N-(2,3-диметил)-фенілантраніловою (мефенаміновою) кислотою. Антраль розроблений у Інституті фармакології і токсикології АМН України, та застосовується у клінічній практиці з 1994 року [22].



6

Рис. 1.2.2. Антраль

Згідно даних клінічних досліджень, антраль не має імунотоксичної, місцевоподразнювальної, алергенної, ульцерогенної, ембріотоксичної і тератогенної дії [23].

Меклофенамінова кислота (та меклофенамат натрію) – препарат відомий під торговою назвою Мекломен, що застосовується при запаленнях суглобів,

м'язовому болі, артриті та дисменореї. Був відкритий групою вчених під керівництвом Клода Уіндера (корпорація Parke-Davis, США) у 1964 р [21].

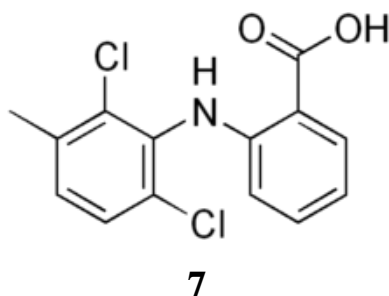


Рис. 1.2.3. Меклофенамінова кислота

Толфенамінова кислота **8** - це нестероїдний протизапальний препарат та інгібітор циклооксигенази. Фармакологічний ефект толфенамінової кислоти подібний до аспірину. Відкрита вченими фармацевтичної компанії Medica у Фінляндії [25].

На даний час проводяться активні дослідження на собаках щодо використання толфенамінової кислоти як протиракового препарату. Повідомляють про використання толфенамінової кислоти *in vitro* на собачих остеосаркомах, карциномі молочної залози та клітинах меланом. Також ця кислота є затвердженим ветеринарним препаратом у багатьох країнах світу [26].

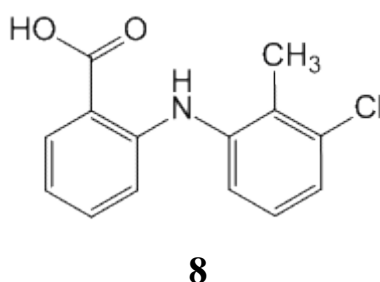
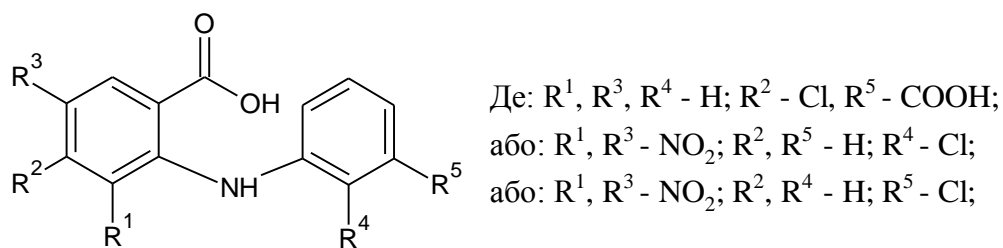


Рис. 1.2.4. Толфенамінова кислота

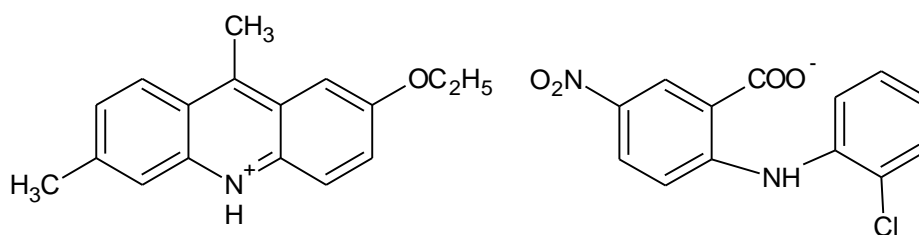
Взагалі, хлор- та нітрозаміщені N-фенілантранілової кислоти **9** – субстанції, що проявляють високу протизапальну і анальгетическую активність і за широтою терапевтичної дії перевершують диклофенак натрію в 5-6 разів, а анальгін в 5,5-8,8 рази [27].



9

Рис. 1.2.5. N-фенілантранілові кислоти

2-Етоксі-6,9-діаміноакридиній-3-нітро-2-N-(4'-метилфеніл) антранілат **10** – речовина, що проявляє антимікробну активність, високу бактеріостатичну активність по відношенню до грам-позитивних і грам-негативних мікроорганізмів при низькій токсичності. Субстанція перевершує по бактеріостатичній дії стрептоцид, етазол, фталазол і етакридина лактат [28].

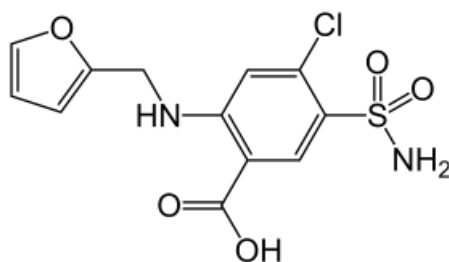


10

Рис. 1.2.6. Антарнілат, з потужними протимікробними властивостями

Фуросемід **11** є препаратом, що використовується для лікування набряків (підвищення вмісту міжтканинної рідини) викликаних через серцеву недостатність, захворювання нирок та печінки, в тому числі набряків при опіках. Він також може бути використаний для лікування високого кров'яного тиску [29].

Він знаходиться в переліку найважливіших лікарських засобів Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я, як один з найбільш ефективних і безпечних препаратів в своєму функціональному класі [30].



11

Рис. 1.2.7. Фуросемід

Хоча фуросемід сам по собі не є допінгом, він застосовується у спортивній медицині для виведення заборонених речовин і як наслідок цього сам прирівняний до допінгових препаратів і заборонений до застосування у спортсменів Всесвітнім Антидопінговим Агентством (ВАДА). Крім того, в деяких несилових видах спорту, таких як художня гімнастика або синхронне плавання, де є принциповою вага спортсмена, фуросемід використовується як засіб для швидкого схуднення, що теж розцінюється як застосування допінгу [31].

1.2.2 Дослідження протимікробних властивостей антранілатів

Останнім часом з'явилося багато нових досліджень щодо протимікробних властивостей різноманітних похідних антранілової кислоти.

Варто зазначити, що і сама антранілова кислота проявляє досить високу активність. Згідно даних досліджень за останній рік, повідомляється, що вона інгібує утворення біоплівки *Pseudomonas aeruginos*, *Vibrio vulnificus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica*, серотип *Typhimurium*, та *Staphylococcus aureus*, а також ефективно діє на вже утворені попередньо плівки [32, 33].

Американськими вченими у 2008 році було синтезовано ряд нових N-ацил похідних антранілової кислоти, деякі з яких представлені на рисунку 1.2.8 (сполуки **12-14**).

Зустрічаються й антранілати природного походження з потужними антибактеріальними властивостями. Чагарник або низькоросле дерево *Geijera parviflora* (сімейство *Rutaceae*), відоме також як вільга, є ендемічним видом, що росте виключно у внутрішніх районах Східної Австралії [36]. Ароматне листя цієї рослини завжди використовувалось австралійськими аборигенами для полегшення болю, в тому числі зубного, а також для швидкого загоєння ран [37]. Саме тому місцевими вченими було проведено ряд досліджень, в ході яких з екстракту вільги було виділено п'ять нових похідних антранілової кислоти **16-20** (рис. 1.2.10). З них сполука **20** (гексадеканоїл антранілова кислота) виявила найкращу антибактеріальну активність стосовно ряду грам-позитивних штамів, а саме *Staphylococcus aureus* (в тому числі проти метицилін-стійкого штаму), *Staphylococcus epidermidis* та *Staphylococcus haemolyticus* [38].

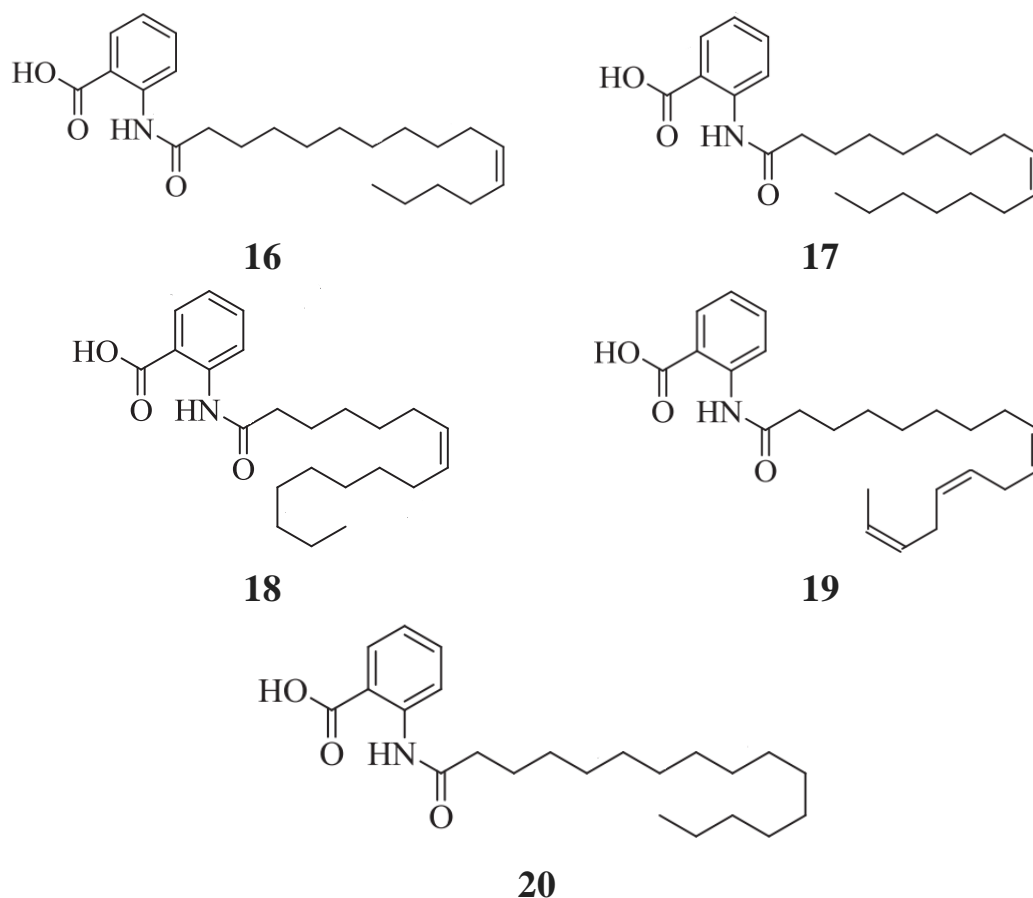


Рис. 1.2.10. Антранілати, що було отримано з екстракту австралійської вільги

Високу біологічну активність виявляють 4-заміщені бензолсульфонаміди антранілової кислоти **21-24**.

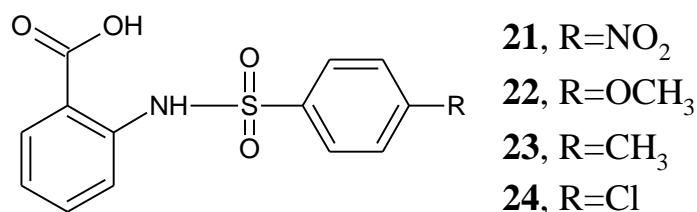


Рис. 1.2.11. 4-заміщені бензолсульфонаміди антранілової кислоти

Результати показали, що всі вони проявляють селективну протигрибкову активність проти *Candida albicans* при концентрації 4 мкг/мл, але найкращий результат показала сполука **24** (50% інгібування). Цікаво, що сполуки **22** та **24** демонструють також і антиоксидантну активність.

Перспективним для подальших медичних досліджень є те, що всі сульфанілами, крім **22**, проявляють селективні цитотоксичні ефекти до клітин MOLT-3 (ракові клітини гострого лімфобластного лейкозу) [39].

1.3 Узагальнення результатів літературного огляду

З проведеного аналізу літературних джерел можна побачити, що протимікробні речовини мають дуже важливе значення не лише для медичної, а й для косметичної сфери, в якості консервантів та активних компонентів (у лінійці лікувальних та профілактичних засобів).

Через виникнення явища резистентності мікроорганізмів до протимікробних сполук, що використовують протягом певного часу, пошук нових речовин з антибактеріальними та протигрибковими властивостями завжди є затребуваним та актуальним.

Також, огляд літератури виявив, що антранілова кислота та її похідні різної хімічної будови мають широкий спектр біологічної активності. Деякі з них

вже використовуються у фармацевтиці, але ще більша кількість перебуває на стадії додаткових випробувань, як перспективні антибіотичні, знеболюючі, гепапротекторні, діуретичні та протиракові препарати.

Проводиться багато досліджень стосовно й протимікробної активності антранілатів. Найбільше увагу вчених привертають сульфамідні та різноманітні N-ацил похідні антранілової кислоти, що також вказує на актуальність обраної теми.

РОЗДІЛ 2

Опис шляху синтезу бажаних сполук

Було синтезовано ряд N-ацил похідних антраніової кислоти, а саме: 2-(4-октилбензамідо)бензойна кислота (**30**), 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислота (**36**) та 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота (**41**).

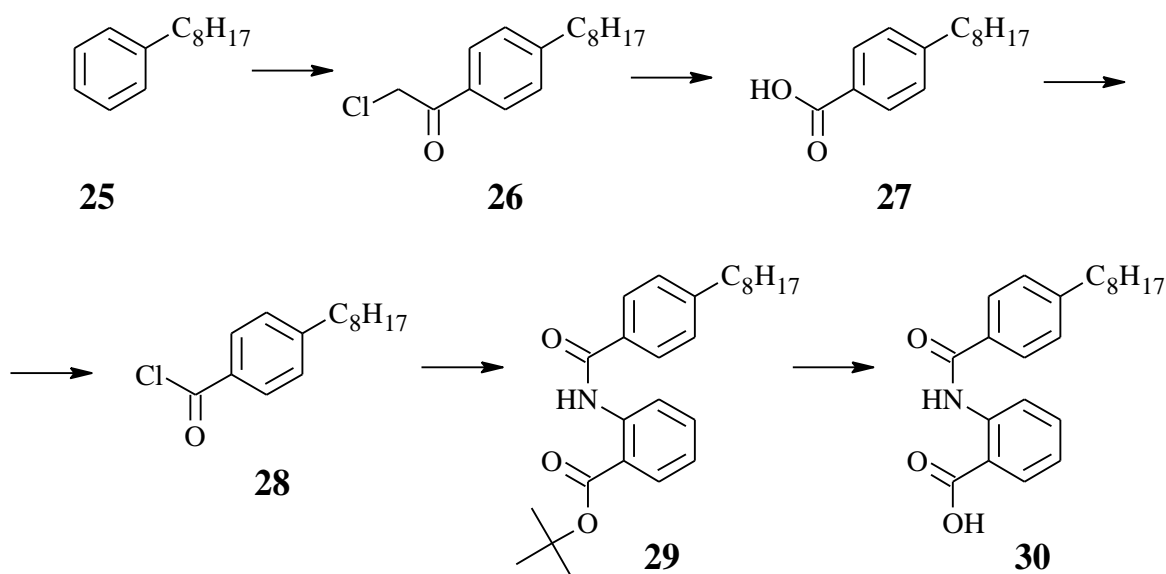


Схема 2.1. Синтез 2-(4-октилбензамідо)бензойної кислоти

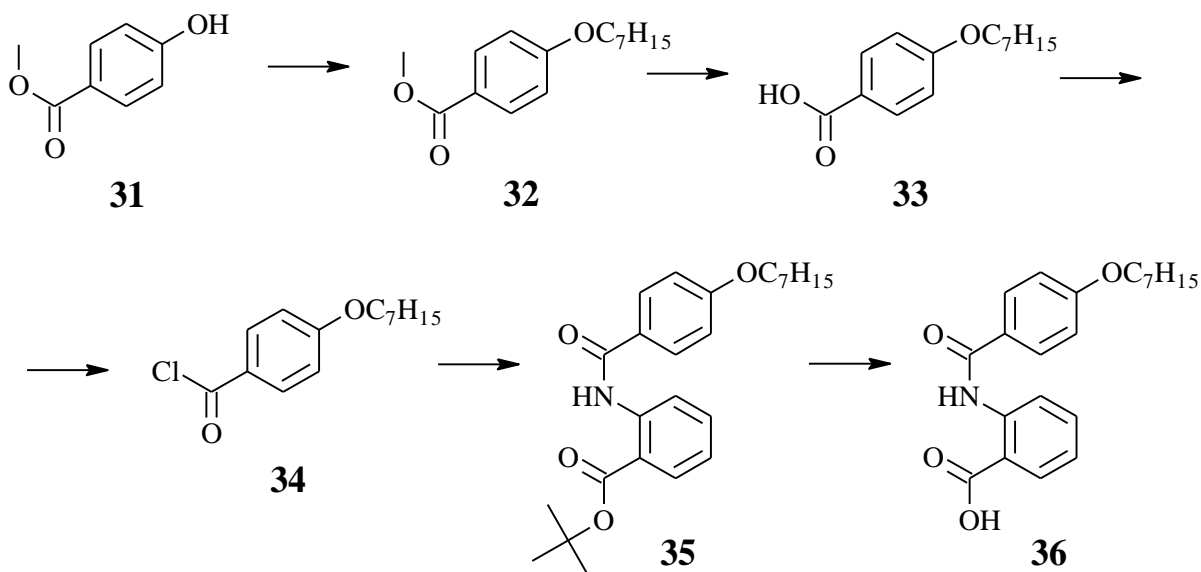


Схема 2.2. Синтез 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойної кислоти

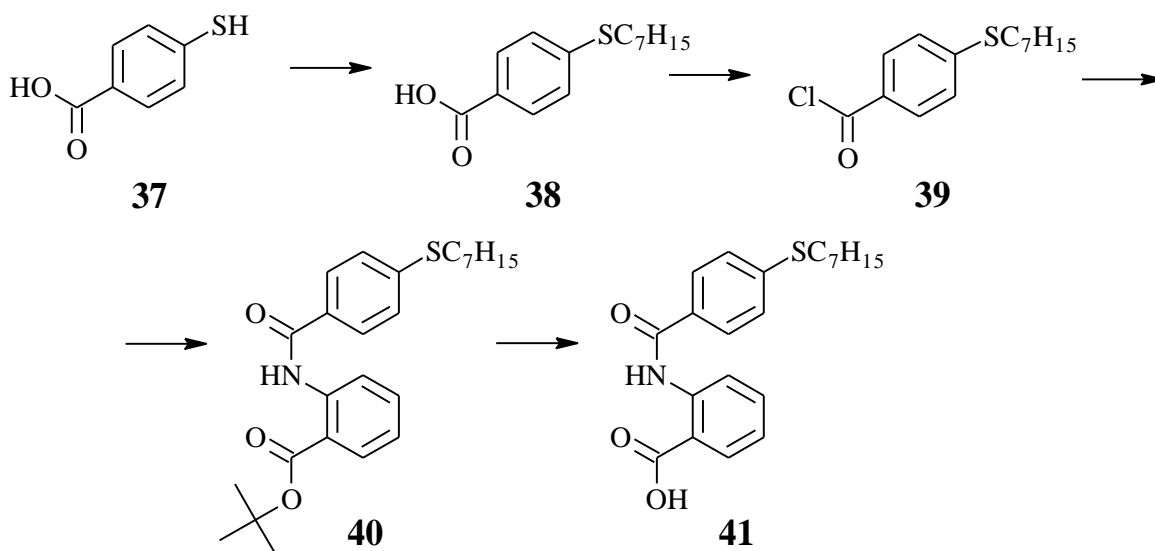


Схема 2.3. 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота

Вибір загальних схем синтезу проводився з урахуванням комерційної доступності реагентів.

Сполуку **30** було синтезовано у п'ять стадій за схемою 2.1 з октилбензолу, який спочатку ацилювали хлорангідридом хлороцтової кислоти за реакцією Фрідея-Крафтса. Реакцію проводили у дихлорметані при температурі 0 °С з виходом 89 % [44]. Подібні реакції також проводять в сірковуглеці або в толуолі при кип'ятінні, але зі значно гіршими виходами (35-70 %) [45-46].

Перетворення хлорметильного похідного **26** на 4-октилбензойну кислоту (**27**) проводилось у дві стадії: на першій – сполуку 2-хлоро-1-(4-октилфеніл)етанон кип'ятили у піридині, на другій – нагрівали у водному розчині луку з утворенням натрієвої солі та потім переводили у кислоту додаванням надлишку HCl [47-49].

Сполуку **36** одержували у декілька етапів за схемою 2.2 з метилового естеру *n*-гідроксибензойної кислоти (**31**), яку на першій стадії алкілували 1-бромгептаном в ацетонітрилі з карбонатом калію та каталітичною кількістю йодиду натрію при нагріванні [60]. Також було спробовано провести дане перетворення у диметилформаміді з гідроксидом калію при нагріванні [51, 52], але реакція пройшла з малим виходом (27 %).

На наступній стадії, проводили гідроліз естерної групи гідроксидом натрію у системі метанол/вода (1:1), з подальшим переведенням отриманої солі у 4-(гептилокси)бензойну кислоту (**33**) [53-55].

Синтез сполуки **41** відбувався за схемою 3 з *n*-сульфанілбензойної кислоти (**37**), яку на першій стадії також алкілували 1-бромгептаном, але в системі етанол/вода з гідроксидом натрію [16].

Хлорангідриди кислот **28**, **34** та **39** одержували за однією методикою – реакцією кислот **27**, **33** та **38** з хлористим тіонілом у бензолі.

Подальше ацилування *трет*-бутилового естеру антранілової кислоти утвореними хлорангідридами проводили: для одержання **29** у піридині при нагріванні [57, 58], а для **35** та **40** у дихлорметані з триетиламіном (в якості основи), та диметиламінопіридином (каталізатор) [59, 60].

На останній стадії, відбувався гідроліз *трет*-бутилових естерів **29**, **35** та **40** трифтороцетовою кислотою у дихлорметані з утворенням кінцевих сполук **30**, **36** та **41** [61, 62].

РОЗДІЛ 3

Результати досліджень

3.1 Синтез ряду нових N-ацил похідних антранілової кислоти

Розчинники очищали відповідно до стандартних процедур [25]. Всі вихідні речовини були придбані з комерційних джерел. Спектри ^1H ЯМР реєстрували на спектрометрі Bruker 170 Avance 500 (при 499,9 МГц) та спектрометрі Varian Unity Plus 400 (при 400,4 МГц). Хімічні зсуви наведені в мільйонних частках щодо ТМС як внутрішнього стандарту.

3.1.1 Одержання 2-(4-октилбензамідо)бензойної кислоти

Синтез 2-хлоро-1-(4-октилфеніл)етанону (**26**).

3,9 г (29,25 ммоль) безводного AlCl_3 суспендували в 100 мл сухого дихлорметану, при температурі 0 °С додавали 2,3 мл (29,25 ммоль) хлорацетилхлориду та через 15 хвилин вкапували 5 г (26,6 ммоль) октилбензолу. Реакційну суміш залишали при перемішуванні на ніч, після чого виливали на лід, розбавляли водою та відділяли органічний шар, який додатково 2 рази мили водою, висушували над безводним Na_2SO_4 та упарювали при зниженому тиску. Залишок кристалізували у гексані, отримавши (**26**) у вигляді світло-жовтої кристалічної речовини (6,3 г; 89 %).

^1H ЯМР (400 MHz, CDCl_3) δ = 0.88 (t, 3H), 1.27 (m, 6H), 1.31 (m, 4H), 1.64 (m, 2H), 2.68 (t, 2H), 4.70 (s, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.88 (d, 2H).

Синтез 4-октилбензойної кислоти (**27**).

На першій стадій, розчин 6,3 г (26,6 ммоль) 2-хлоро-1-(4-октилфеніл)етанону (**26**) у 100 мл піридину нагрівали (90 °С) при перемішуванні

протягом 3 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та висаджували сухим МТБЕ. Випадав золотисто-червоний осад, який відфільтровували та підсушували.

Далі, цей осад розчиняли в 70 мл 2,5 N розчину NaOH та знов нагрівали до температури 90 °C при перемішуванні протягом 3 годин. Після цього, суміш охолоджували до температури 0 - 5 °C та підкислювали 3 N розчином HCl до pH=2. Випадав жовтий дрібнокристалічний осад, який відділяли фільтруванням, отримавши 5,04 г (81 %) 4-октилбензойної кислоти (**27**).

¹H ЯМР (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.85 (t, 3H), 1.26 (m, 10H), 1.58 (t, 2H), 2.63 (t, 2H), 7.30 (d, 2H), 7.85 (d, 2H), 12.73 (s, 1H).

Синтез 4-октилбензолкарбоніл хлориду (**28**).

До розчину 5,04 г (21,5 ммоль) 4-октилбензойної кислоти (**27**) у 50 мл сухого бензолу вкапували 2,4 мл (32,3 ммоль) хлористого тіонілу та кип'ятили до тих пір, поки виділявся газ (3 години, 85 °C). Після цього реакційну суміш упарювали при зниженому тиску, 2 рази доливали по 50 мл дихлорметану та знов упарювали. Залишок - 4-октилбензолкарбоніл хлорид (**28**) (5,4 г, 98 %), відразу запускали на наступну стадію.

Синтез *трет*-бутил 2-(4-октилбензамідо)бензоату (**29**).

2,50 г (9,9 ммоль) 4-октилбензолкарбоніл хлориду (**28**) розчиняли у 25 мл сухого піридину та додавали 1,91 г (9,9 ммоль) *трет*-бутилового естеру антранілової кислоти (*трет*-бутил 2-амінобензоат). Суміш залишали перемішуватись при температурі 85 °C на ніч. Після цього, реакційну масу упарювали при зниженому тиску, додавали 50 мл дихлорметану тамили по 2 рази водними розчинами NaHSO₄ та K₂CO₃. Органічний шар висушували над безводним Na₂SO₄ та упарювали при зниженому тиску. Залишок перекристалізовували з сухого ацетонітрилу, отримавши 3,2 г (79 %) *трет*-бутил 2-((4-октилбензамідо)бензоату (**29**) у вигляді бурої кристалічної речовини.

^1H ЯМР (500 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.84 (t, 3H), 1.25 (m, 10H), 1.55 (s, 9H), 1.59 (t, 2H), 2.65 (t, 2H), 7.21 (t, 1H), 7.40 (d, 2H), 7.64 (t, 1H), 7.87 (d, 2H), 7.96 (dd, 1H), 8.5 (d, 1H), 11.57 (s, 1H).

Синтез 2-(4-октилбензамідо)бензойної кислоти (**30**).

До розчину 3,2 г (7,8 ммоль) естеру (**29**) у 50 мл сухого дихлорметану вкапували 3,00 мл (39 ммоль) трифтороцетової кислоти при 0 °С. Суміш залишали на 3 години, потім упарювали при зниженому тиску. Залишок перекристалізовували з сухого ацетонітрилу, отримавши 2,26 г (82 %) 2-(4-октилбензамідо) бензойну кислоту (**30**) у вигляді світло-коричневої кристалічної речовини.

^1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.84 (t, 3H), 1.26 (m, 10H), 1.59 (t, 2H), 2.65 (t, 2H), 7.20 (t, 1H), 7.40 (d, 2H), 7.65 (t, 1H), 7.87 (d, 2H), 8.06 (dd, 1H), 8.72 (d, 1H), 12.16 (s, 1H), 13.78 (s, 1H).

3.1.2 Одержання 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойної кислоти

Синтез метил 4-(гептилокси)бензоату (**32**).

Суміш 5 г (32,89 ммоль) метил 4-гідроксибензоату (**31**), 6,48 г (36,18 ммоль) 1-бромгептану, 6,82 г (49,33 ммоль) карбонату калію та каталітичну кількість йодиду натрію в 100 мл сухого ацетонітрилу кип'ятили при перемішуванні одну ніч. Потім реакційну суміш упарювали при зниженому тиску, додавали 50мл дихлорметану та мили водним розчином NaOH (3р x 15 мл). Органічний шар висушували над безводним Na₂SO₄ та упарювали при зниженому тиску, отримавши 7,89 г (96 %) метил 4-(гептокси)бензоату (**32**) у вигляді білої кристалічної речовини.

^1H ЯМР (400 MHz, CDCl₃) δ = 0.89 (t, 3H), 1.31 (m, 6H), 1.46 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 3.88 (s, 3H), 4.00 (t, 2H), 6.90 (d, 2H), 7.98 (d, 2H).

Синтез 4-(гептилокси)бензойної кислоти (**33**).

Розчиняли 7,89 г (31,56 ммоль) метил 4-(гептокси)бензоату (**32**) в 50 мл метанолу та додавали розчин 1,89 г (4,34 ммоль) NaOH у 10 мл дистильованої води. Суміш залишали кип'ятитися при 90 °С на 5 годин. Після цього, основну частину метанолу упарювали при зниженому тиску. Суміш охолоджували та додавали порціями 1,5 N HCl до встановлення рН=2, та залишали при перемішуванні за кімнатною температурою ще на 30 хв, поки не сформувався осад. Осад відфільтровували, декілька раз промивали дистильованою водою та висушували під вакуумом. Після перекристалізації з ацетонітрилу, отримали 6,82 г (91,7 %) 4-(гептилокси)бензойної кислоти у вигляді білої дрібнокристалічної речовини.

^1H ЯМР (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 0.85 (t, 3H), 1.28 (m, 6H), 1.39 (m, 2H), 1.71 (p, 2H), 4.01 (t, 2H), 6.99 (d, 2H), 7.86 (d, 2H), 12.56 (s, 1H).

Синтез 4-(гептилокси)бензилкарбоніл хлориду (**34**).

4-(гептилокси)бензилкарбоніл хлорид (**34**) було синтезовано аналогічно методиці, описаній для речовини **28**. Вихід – 7,12 г (97 %).

Синтез *трет*-бутил 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензоату (**35**).

До розчину *трет*-бутилового естеру антранілової кислоти (2,5 г; 12,93 ммоль), триетиламіну (11,25 мл; 14,23 ммоль) та каталітичної кількості диметиламінопіридину у сухому дихлорметані (100 мл) при 0 °С, поступово додавали 4-(гептилокси)бензилкарбоніл хлорид (**34**) (3,28 г; 12,93 ммоль). Суміш залишали при перемішуванні на ніч, після чого упарювали при зниженому тиску, додавали 50 мл дихлорметану,мили водним розчином NaHSO₄ (2р x 5 мл) та ще додатково водним розчином K₂CO₃ (2р x 5 мл). Органічний шар відділяли, висушували над безводним Na₂SO₄ та упарювали при зниженому тиску. Після перекристалізації з ацетонітрилу, отримали 4,64 г (87,2 %) трет-

бутил 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензоат (**35**) у вигляді білої дрібнокристалічної речовини.

^1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.86 (t, 3H), 1.28 (m, 6H), 1.40 (m, 2H), 1.54 (s, 9H) 1.73 (p, 2H), 4.06 (t, 2H), 7.11 (d, 2H), 7.20 (t, 1H), 7.63 (t, 1H), 7.90 (d, 2H), 7.94 (dd, 1H), 8.48 (d, 1H), 11.51 (s, 1H).

Синтез 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойної кислоти (**36**).

Кислоту **36** було отримано шляхом гідролізу естеру **35** трифтороцетовою кислотою аналогічно методиці, описаній для речовини **30**. Вихід сполуки **36** – 3,39 г (84,6%) у вигляді білої дрібнокристалічної речовини.

^1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.87 (t, 3H), 1.29 (m, 6H), 1.42 (m, 2H), 1.74 (p, 2H), 4.06 (t, 2H), 7.11 (d, 2H), 7.18 (t, 1H), 7.65 (t, 1H), 7.90 (d, 2H), 8.05 (d, 1H), 8.71 (d, 1H), 12.10 (s, 1H).

3.1.3 Одержання 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойної кислоти

Синтез 4-(гептилсульфаніл)бензойної кислоти (**38**).

До розчину NaOH (3,90 г; 97,40 ммоль) в 50 мл дистильованої води та 50 мл етанолу додавали 5 г (32,47 ммоль) *n*-сульфанілбензойної кислоти (**37**) та порціями вкапували 1-бромгептан (6,39 г; 35,72 ммоль). Під час проходження реакції випадав жовтий осад. Залишали перемішуватись 3 години при кімнатній температурі, після чого суміш в 2-3 рази розбавляли холодною водою з льодом та підкисляли розчином 2N HCl до pH=2. Осад відфільтровували, промивали водою, а потім гексаном. Залишок підсушували під вакуумом, та після перекристалізації за ацетонітрилу отримали 7,7 г (94 %) 4-(гептилсульфаніл)бензойної кислоти (**38**).

^1H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.84 (t, 3H), 1.25 (m, 6H), 1.40 (m, 2H), 1.60 (p, 2H), 3.03 (t, 2H), 7,36 (d, 2H), 7.83 (d, 2H), 12.81 (s, 1H).

Синтез 4-(гептилсульфаніл)бензилкарбоніл хлориду (**39**).

4-(гептилокси)бензилкарбоніл хлорид (**39**) було синтезовано аналогічно методиці, описаній для речовини **28**. Вихід – 3,46 г (97 %).

Синтез *трет*-бутил 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензоату (**40**).

Трет-бутил 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензоат (**40**) було отримано з **39** за методикою, наведеною для сполуки **35**. Вихід – 5,13 г (94,1 %).

¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.85 (t, 3H), 1.25 (m, 6H), 1.40 (m, 2H), 1.54 (s, 9H) 1.62 (p, 2H), 3.06 (t, 2H), 7.22 (t, 1H), 7.47 (d, 2H), 7.63 (t, 1H), 7.87 (d, 2H), 7.94 (dd, 1H), 8.45 (d, 1H), 11.53 (s, 1H).

Синтез 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойної кислоти (**41**).

Кислоту **41** було отримано шляхом гідролізу естеру **40** трифтороцетовою кислотою аналогічно методиці, описаній для речовини **30**. Вихід сполуки **41** – 3,89 г (87,2 %) у вигляді білої дрібнокристалічної речовини.

¹H ЯМР (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 0.84 (t, 3H), 1.23 (m, 6H), 1.41 (m, 2H), 1.63 (p, 2H), 3.06 (t, 2H), 7.22 (t, 1H), 7.45 (d, 2H), 7.64 (t, 1H), 7.80 (d, 2H), 7.83 (dd, 1H), 8.65 (d, 1H), 11.93 (s, 1H).

3.2 Дослідження синтезованих сполук методом ІЧ-спектроскопії

В ІЧ-спектрах синтезованих сполук присутні характеристичні частоти карбоксильної та аміногруп, валентні коливання водневих зв'язків, площинні та позаплощинні деформаційні коливання.

В області 500-1000см⁻¹, так званій області «відбитка пальців» спостерігаються ідентифікаційні смуги, що дозволяють підтвердити будову синтезованих сполук. Як видно з рис. 3.1 та табл. 3.1 положення смуг в цій області для синтезованих сполук практично не відрізняється, що обумовлено їх

практично однаковою будовою. Для антранілової кислоти у діапазоні вказаних частот положення та форма смуг суттєво відрізняються, а деякі смуги взагалі відсутні (табл. 3.1). Це обумовлено суттєвою відмінністю будові, а саме відсутністю $O=C-N$ групи, яка присутня в усіх синтезованих сполуках, як наслідок в області $700-600\text{cm}^{-1}$ деформаційні коливання $\delta_{CC}+\delta(O=C-N)$ груп для антранілової кислоти взагалі відсутні. Деформаційні коливання карбоксильної групи, які для синтезованих сполук накладаються на торсійні коливання аміногрупи зазнають зміщення порівняно з антраніловою кислотою в область високих частот, що обумовлено різною природою аміногрупи. Насиченість спектральними лініями в даному діапазоні пов'язана зі значною кількістю деформаційних коливань, зокрема віяльних, маятникових та крутильних, а також основних обертонів.. Суттєве зміщення площинного деформаційного коливання гідроксогрупи також зазнають довгохвильового зміщення, та розщеплення порівняно з кислотою. Загалом незначні зміщення практично усіх смуг у даній області свідчать зміну перерозподілу електронної густини, внаслідок модифікації сполук по аміногрупі, та наявності, у випадку сполук **2** та **3** гетероатома.

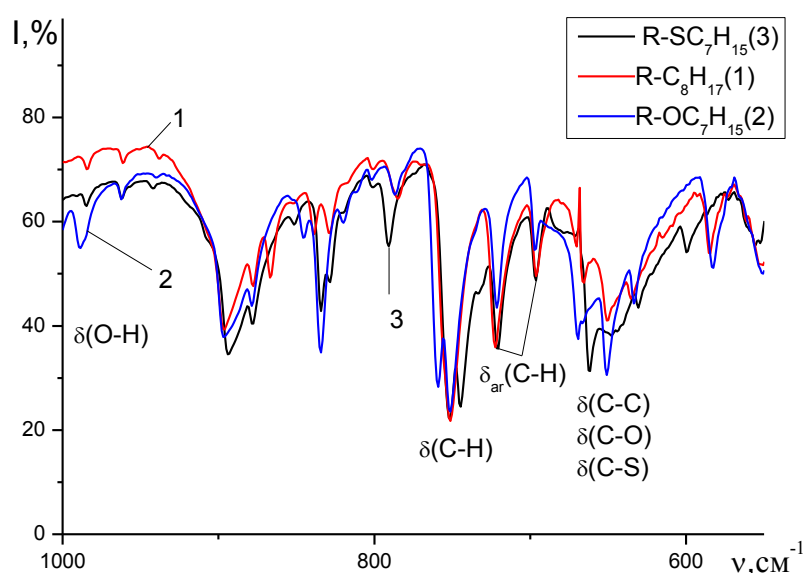


Рис. 3.1. Фрагмент ІЧ-спектру синтезованих похідних антранілової кислоти в діапазоні $1000 - 500 \text{ cm}^{-1}$

Таблиця 3.1 - Віднесення характеристичних частот в ІЧ-спектрах синтезованих сполук у порівнянні з антраніловою кислотою

Коливання	Антранілова кислота	R-C ₈ H ₁₇	R-OC ₇ H ₁₅	R-SC ₇ H ₁₅
$\nu(\text{NH})$	3390	3328	3336	3332
$\nu(\text{CH}) + \nu(\text{OH})$	3037	2944, 2919, 2850, 2845	2943, 2918, 2866, 2850	2945, 2922, 2852, 2446
$\nu(\text{OH}) + \nu(\text{COH}) + \nu(\text{O-H} \cdots \text{O})$	2707, 2642, 2567, 2536	2726, 2651, 2642, 2563, 2502	2723, 2652, 2631, 2562, 2500	2722, 2652, 2635, 2565, 2500
обертон		2094, 1923	2092, 1922	2098, 1922
$\nu(\text{C=O})$	1707, 1680	1670	1664, 1651	1664
$\nu_{\text{as}}\text{COO}^- + \nu_{\text{ph}}$	1617, 1591	1605, 1584	1604, 1583	1607, 1593
$\nu_{\text{as}}\text{COO}^- + \delta_{\text{as}}\text{NH}$	1561	1555, 1532	1556, 1536	1555, 1532
$\nu_{\text{as}}\text{COO}^- + \delta_{\text{as}}\text{NH}$	1488	1507	1507	1493
$\nu_{\text{as}}\text{CN}$	1471, 1466	1468, 1450	1474, 1468, 1450	1466, 1450
$\nu_{\text{s}}\text{COO}^- + \delta\text{CH}_2$	1418	1416, 1403	1413, 1420	1416, 1397
$\nu_{\text{s}}\text{CN} + \delta\text{CH}_2$	1320	1376, 1360	1376, 1361	1373, 1365
δOH	1300	1315	1310	1318
$\nu_{\text{as}}(\text{COC}) +$	1271, 1244	1254, 1264	1242, 1250	1250, 12600 $\nu_{\text{as}}(\text{CSC})$
$\nu_{\text{C}_{\text{ph}}\text{N}} + \delta\text{OH}$	1181, 1162	1181, 1160	1176, 1160	1196, 1182
$\nu_{\text{s}}(\text{COC})$	1118	1108	1111	1109
$\nu(\text{CO})$	-	1079	1082	1094 $\nu_{\text{s}}(\text{CSC})$
$\nu(\text{CO})$	1027	1044, 1019	1045, 1035, 1010	1044, 1012
$\delta(\text{OH})$	916	983, 938	988, 940	984, 942
$\delta(\text{NH}) + \delta_{\text{ar}}(\text{CH}) + \delta(\text{CC})$	855	897, 877, 838, 828	897, 878, 853, 845, 834, 820	894, 878, 851, 834, 828
$\delta\text{CH} + \delta\text{COH} + \delta\text{NH}_{\text{BT}}$	-	785, 752, 720	786, 759, 751, 720	790, 752, 744, 721
$\delta\text{CC} + \delta(\text{O=C-N})$	-	665, 650, 634,	650, 669, 696	630, 647, 662, 696
$\delta\text{COO} + \delta(\text{NH})_{\text{T}}$	568	585	582	585, 552

В діапазоні $1000-2000\text{cm}^{-1}$, присутні симетричні ($1400-1420\text{cm}^{-1}$) та асиметричні ($1610-1550\text{cm}^{-1}$) валентні коливання карбоксильної групи, валентні коливання карбонільної групи (1670cm^{-1}), в діапазоні ($1600-1500\text{cm}^{-1}$) знаходиться смуга скелетних коливань бензольного кільця, тому у спектрах спостерігаємо 2 досить інтенсивні лінії з частотою наведеною в табл. 3.1., коливання оксо та тіо-заміщених фрагментів ($1100-1200\text{cm}^{-1}$), площинні деформаційні коливання аміногрупи ($1580-1550\text{cm}^{-1}$) деформаційні коливання гідроксогрупи, та валентні коливання CN зв'язку (рис. 3.2).

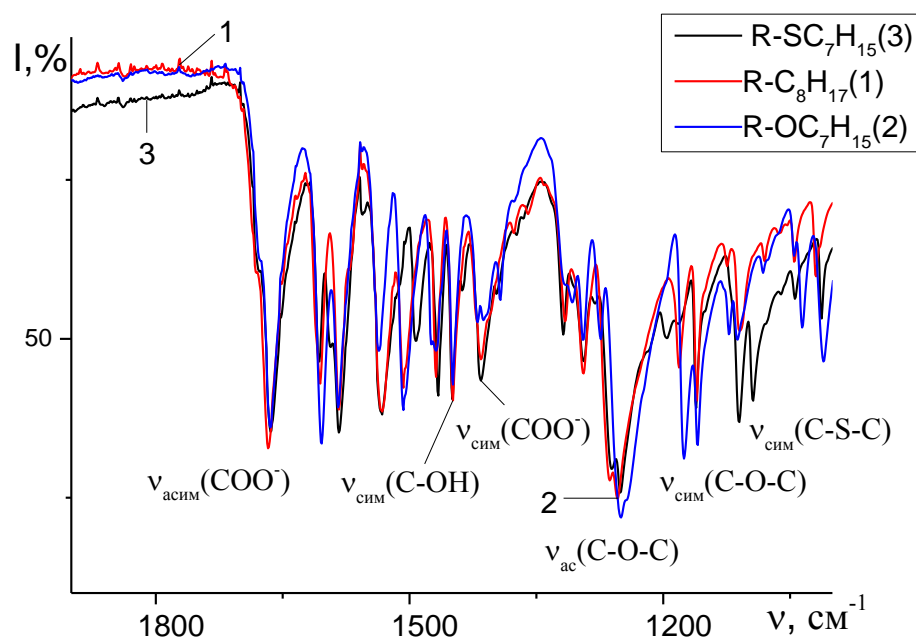


Рис. 3.2. Фрагмент ІЧ-спектру синтезованих похідних антранілової кислоти в діапазоні $1800-1000\text{cm}^{-1}$

Порівнюючи форму та положення спектральних ліній похідних антранілової кислоти та самої *o*-амінобензойної кислоти спостерігаємо відсутність смуга поглинання валентних коливань карбонільної групи карбоксилу при 1707cm^{-1} та спостерігаємо зміщення смуги 1680 (невелике плече до основної смуги 1707cm^{-1} у кислоти), в низькочастотну область що свідчить про утворення водневого зв'язку, та накладання кількох характеристичних частот в одному спектральному діапазоні. Інтенсивні смуги в області $1180-1197$

cm^{-1} є результатом коливань зв'язків атому нітрогену вторинної аміногрупи з фенільним замісником.

У високочастотній ділянці спектру ($2200 - 3400 \text{ cm}^{-1}$) рис. 3.3 присутня одинарна смуга валентного коливання аміногрупи. Зниження частоти коливання аміногрупи на 60 cm^{-1} порівняно з антраніловою кислотою свідчить про заміну протона аміногрупи, а як наслідок і зміну природи аміногрупи, розширення смуги порівняно з антраніловою кислотою, характерно для валентних коливань вторинної аміногрупи (NH-), що обумовлено її участю в утворенні міжмолекулярного водневого зв'язку. В діапазоні $2700 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ присутні валентні коливання CH, OH груп та водневого зв'язку. Невисока інтенсивність даних смуг свідчить про низьку енергію водневих зв'язків.

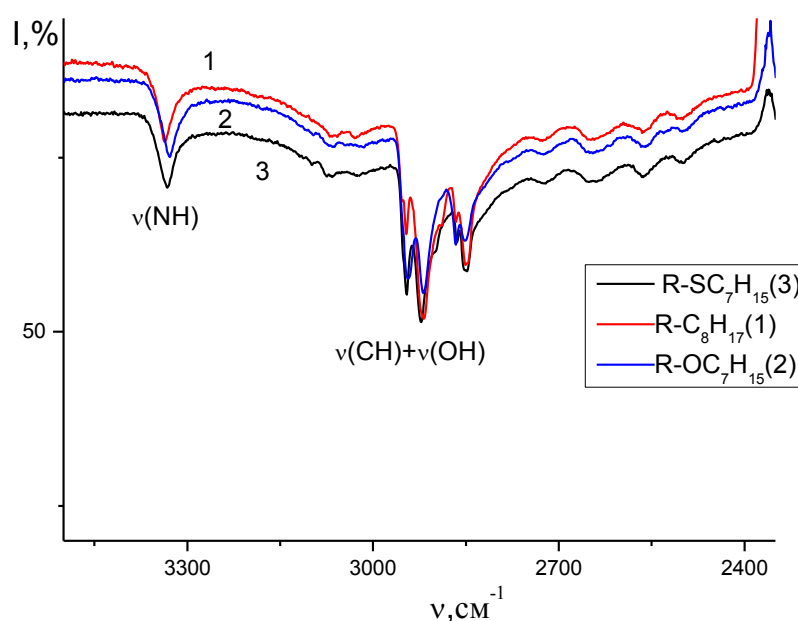


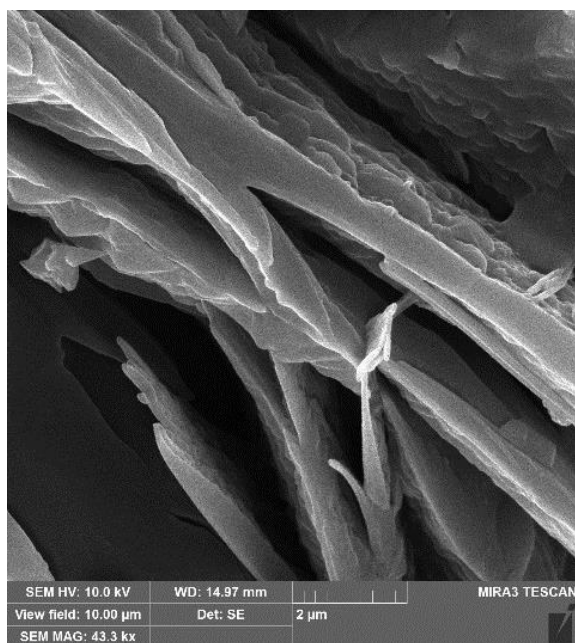
Рис. 3.3. Фрагмент ІЧ-спектру синтезованих похідних антранілової кислоти в діапазоні $3400-2200 \text{ cm}^{-1}$

Таким чином незначна відмінність у формі, інтенсивності та положенні смуг сполук 1-3 у порівнянні з антраніловою кислотою обумовлено різною природою заміщених груп, наявністю вторинної аміногрупи, додаткового ароматичного фрагменту та різної природи замісників у пара-положенні до аміногрупи та як наслідок, перерозподілом електронної густини в молекулі.

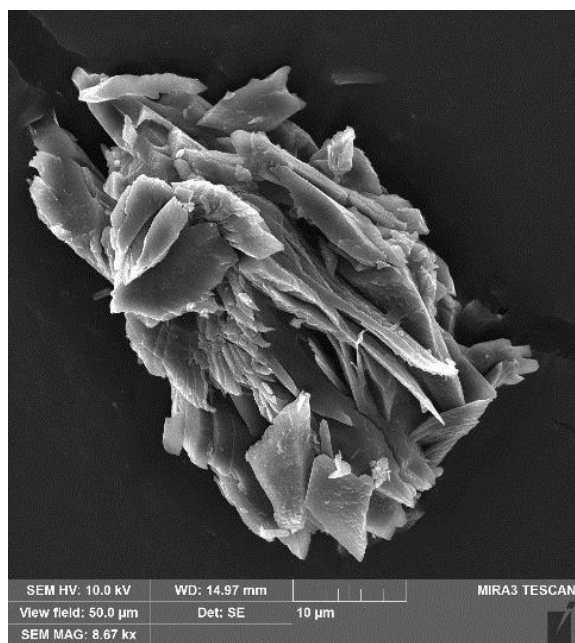
3.3 Дослідження сполук методом скануючої електронної мікроскопії

Метод електронної мікроскопії використовують для встановлення морфології, форми та розміру частинок як на поверхні матеріалу так і самого матеріалу. Використання методу електронної мікроскопії для органічних прекурсорів дещо обмежено, що часто обумовлено низькою провідністю останніх. Проте навіть за таких умов та при правильній підготовці зразка все ж вдається реєструвати мікрофотографії, ще й неабиякої розподільчої здатності. Виникає запитання, навіщо досліджувати органічні прекурсори на нанодисперсність. Останнім часом на піку всіх наукових досліджень є наносистеми та створення на їх основі нових речовин та матеріалів з заданими властивостями. Відомо, що наносистеми термодинамічно нестійкі, що дозволяє змінюючи розчинник, середовище, температуру впливати на розмір, а отже і на властивості таких систем. В фармацевтичній промисловості все більшого застосування набувають суспензії та емульсії, які проявляють в десятки разів вищу ефективність ніж розчини чи макросистеми. У зв'язку з тим, що синтезовані у роботі похідні антранілової кислоти можуть бути використані, як прекурсори медичних препаратів виникає необхідність дослідження їх розміру та морфології.

На рис. 3.4 наведено мікрофотографії похідного з алкільним замісником $R-C_8H_{17}$, поверхня перерізу частинок свідчить про шаровату будову (4а), а розмір самої частинки є досить. З рис.4б видно, що частинки можуть утворювати гроноподібні структурні угруповання, що може свідчити про наявність дальнього порядку, а відповідно і здатність даної речовини до кристалізації, бо місцями (рис.4в) мають місце голкоподібні частинки, схожі за формою до ромбічних кристалів. Поверхня частинок однорідна, а наявність на поверхні макротіл обумовлена чистотою зйомки (зразки попередньо не перекристалізували).



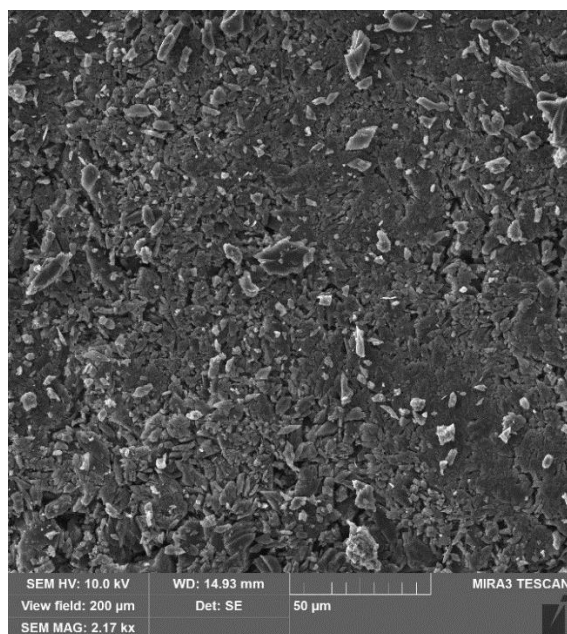
4a



4б



4в



4г

Рис. 3.4. Мікрофотографії R-C₈H₁₇. Масштабна мітка а- 2мкм, б,в-10мкм, г-50мкм

Частинки, зображені на рис. 3.5 мають неправильну форму та розмір, нагадують нанодропи, проте за розміром вони значно ближче до макросистем ніж до наносистем, оскільки є одновимірними об'єктами. Розмір частинок щоправда менший ніж у випадку алкілзаміщеного похідного, що може бути обумовлено наявністю гетероатома у структурі, різною довжиною алкільного замісника, та, як наслідок різною полярністю..

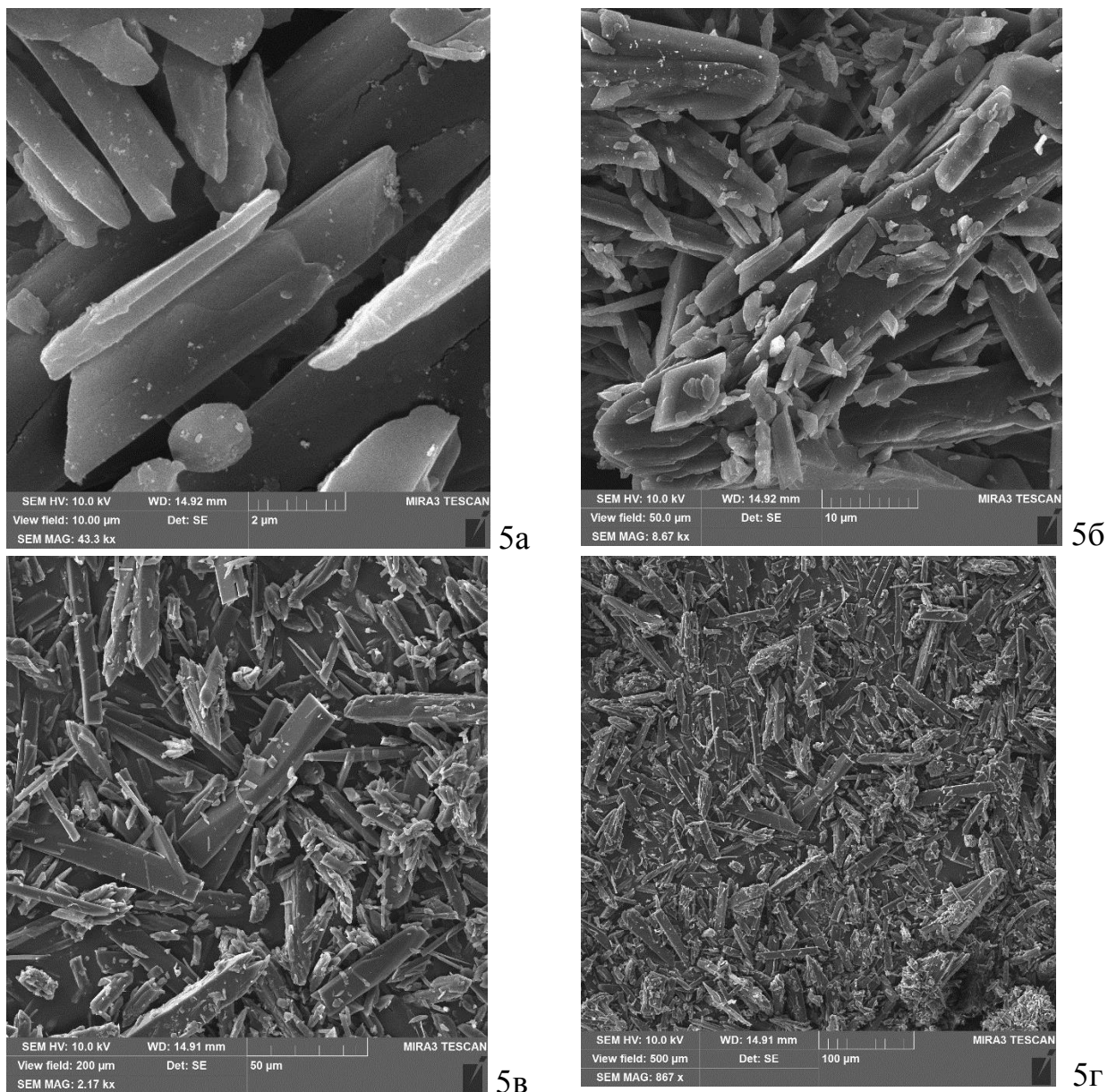
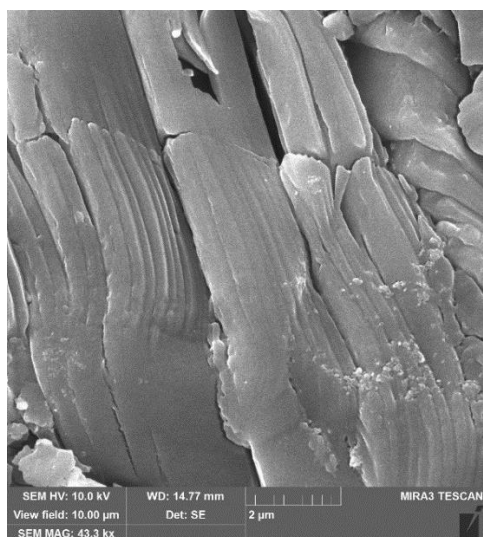
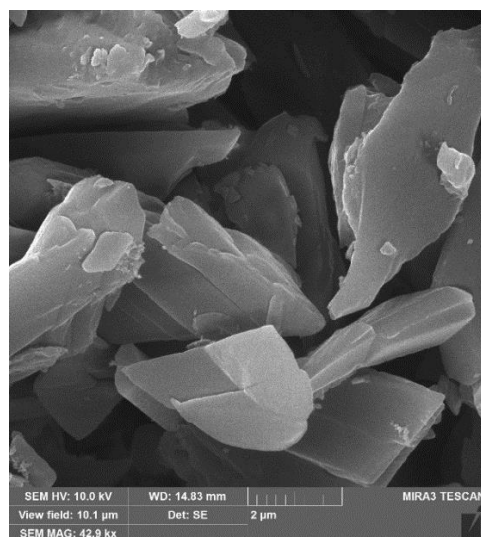


Рис. 3.5. Мікрофотографії R-OC₇H₁₅. Масштабна мітка а - 2мкм; б, в - 10мкм; г - 50мкм

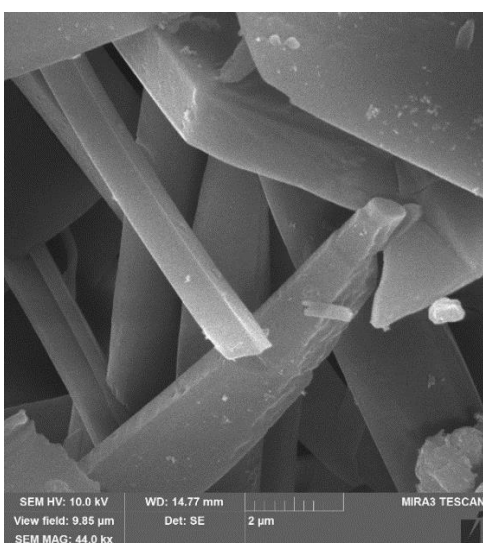
Мікрофотографії третього зразка (рис 3.6) подібні до попередніх, проте структура поверхні частинок є губчасто-шаруватою. Розмір частинок досить різний поруч з нанодротоми та нановолокнами, місцями зустрічаються макротіла. Така структура поверхні та розмір частинок характерний для органічних систем, проте наявність навіть незначної кількості наночасток, робить дослідження даних систем актуальним.



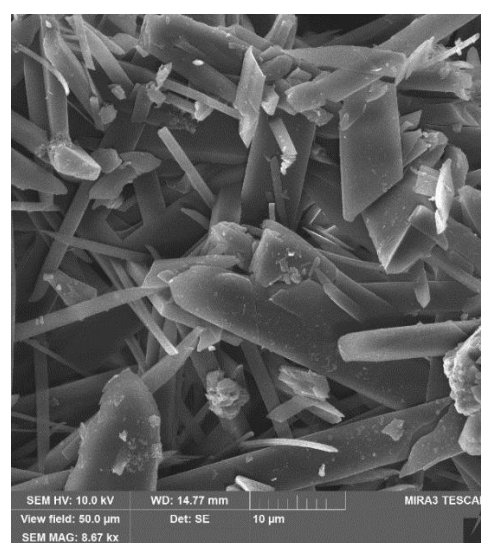
бa



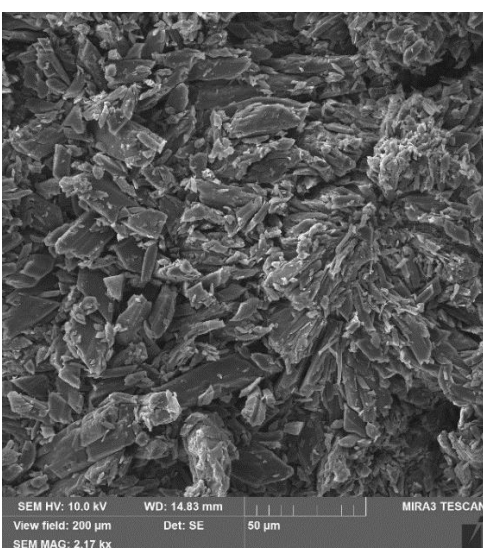
бб



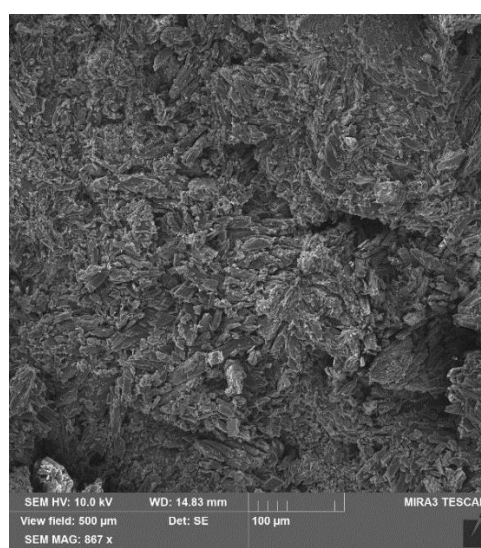
бв



бг



бд



бе

Рис. 3.6. Мікрофотографії R-SC₇H₁₅. Масштабна мітка: а, б, в - 2 мкм; г - 10 мкм; д-50 мкм; е-60 мкм

Аналіз мікрофотографії свідчить про подібну морфологію всіх синтезованих сполук. Структура поверхні є однорідною, що свідчить про високу чистоту синтезованих сполук. Має місце шарувата структура. Частинки є одномірними та нульвимірними нанооб'єктами, що являють собою нанодропи, наночастиці та макротіла. Одновимірні об'єкти мають лише один з параметрів менший ніж 100нм, а нульвимірні це макротіла, але зважаючи на однорідність поверхні, високу чистоту одержаних речовин при правильному підборі середовища та пробопідготовці дані системи можуть виступати прекурсорами при створенні нових наносистем в фармакології.

3.4 Антимікотичні властивості синтезованих похідних антранілової кислоти

Розвиток *Candida albicans in vivo* може проходити у вигляді трьох різних морфологічних форм: у вигляді дріжджів, що брунькуються, псевдогіфів і істинних гіфів. «Перемикання» з дріжджеподібної форми на утворення гіфів індукується різними факторами, зокрема насамперед, складом поживного середовища. Незважаючи на те, що останні дослідження показали, що перехід «дріжджі-гіфи» не завжди відбувається при розвитку системних кандидозів, подібний диморфізм досі розглядають в якості одного з факторів патогенності *C. albicans*. Крім того, утворення гіфів необхідно *C. albicans* для уникнення фагоцитозу, проникнення в тканини організму, а також для колонізації медичних пристроїв шляхом формування біоплівки [63].

Утворення *C. albicans* біоплівки при розвитку відповідного інфекційного захворювання або на імплантованому медичному обладнанні (наприклад, катетерах, штучних клапанах серця, лінзах тощо) спричинює різкому підвищенню резистентності до антибіотичних препаратів, що надзвичайно ускладнює проведення терапевтичних заходів. Так, було зафіксовано, що

клітини *C. albicans* у складі біоплівки є резистентними до дії таких антимікотичних сполук, як амфотерицин В, ністатин, хлоргексидин та флуконазол. На відміну від цього планктонна форма розвитку грибів даного виду є чутливою до їх дії [64].

Останнім часом відбувається інтенсивне дослідження факторів розвитку стійкості *C. albicans* при утворенні біоплівки, а також шляхів її подолання. Сьогодні дію всіх механізмів стійкості клітин даного виду, що розвиваються на межі розділу фаз, можна звести до одного явища – запобігання взаємодії антибіотика з його мішенню [65].

Пошук нових сполук, а також з'ясування механізмів розвитку резистентності *C. albicans* впродовж утворювання біоплівки, є одним з найбільш актуальних напрямів дослідження, які значно підвищують успішність протибактеріальної терапії [64].

Метою роботи було визначення чутливості різних морфологічних форм *Candida albicans* до низки синтетичних похідних антранілової кислоти.

Роботу було виконано на базі кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології і Біотехнологічного науково-навчального центру ОНУ імені І. І. Мечникова.

Штам *Candida albicans* ATCC 18804, отриманий з музею культур мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ОНУ імені І. І. Мечникова, було використано для перевірки антифунгальних властивостей досліджуваних сполук. Попередню підготовку та культивування штаму *Candida albicans* ATCC 18804 здійснювали з використанням декстрозного агару Сабуро за стандартною методикою.

Діапазон концентрацій досліджуваних сполук складав 0,01, 0,1 та 1 мкМ. Вихідні розчини готувались з використанням суміші вода-етанол (2-4 % етанолу), після чого автоклавувались при 0,5 атм.

Для отримання суспензії мікроорганізмів змивали стерильним фізіологічним розчином та стандартизували до 0,5 одиниць за стандартом МакФарланда.

Для стимуляції змін у морфогенезі та формування специфічних клітинних форм *C. albicans*, зокрема гіфів, паралельно з рідким варіантом середовища Сабуро було використано середовище Спайдер, яке містило манітол [66].

Рідке поживне середовище Сабуро містило пептон 10 г/л, глюкозу 40 г/л, дріжджовий екстракт 5 г/л. Склад середовища Спайдер з доданням манітолу відповідає наступному: м'ясо-пептонний бульйон 20 г, манітол 20 г, K_2HPO_4 4 г, дистильована вода 1 л.

Культуру мікроорганізму по 0,05 мл вносили у лунки стерильного планшету, що містили по 1,0 мл варіантів рідких поживних середовищ Сабуро та Спайдер, а також відповідні розчини досліджуваних сполук.

Культивування мікроорганізмів відбувалось впродовж 24-48 год при температурі 37 °С, після чого з лунок акуратно відбирали культуральну рідину, яка містила «суспензійну» культуру *C. albicans*.

Визначення кількості клітин у рідкому середовищі проводили з використанням спектрофотометру « μ Quant» BioTek при довжині хвилі 540 нм, перераховуючи значення оптичної густини у КУО/мл за допомогою відповідної калібрувальної кривої. За контроль правили культури тест-мікроорганізму, вирощені в аналогічних умовах без додавання досліджуваних сполук.

Після цього лунки планшетів промивали фізіологічним розчином та заливали 1,0 мл 96 %-го етилового спирту, який фіксував біоплівку, утворену *C. albicans*. За 10 хв спирт відбирали та залишали планшет сохнути на повітрі. Для забарвлення клітин, що входять до складу біоплівки, використовували 0,1 %-ий водний розчин кристалічного фіолетового, який заливали у лунки планшету та залишали на 10-20 хв. Для кількісного аналізу інтенсивності утворення біоплівки виділяли барвник, який поглинули клітини, та визначали оптичну густину отриманого розчину. Для лізису клітин використовували водний розчин, який містив додецил-сульфат та гідроксид натрію. Лізис клітин проводили впродовж 60 хв. Облік результатів проводили за допомогою спектрофотометру « μ Quant» BioTek при довжині хвилі 592 нм [66].

Для отримання достовірних результатів всі досліди проводили у 5 повторах. При порівняльному аналізі результатів досліджень використовувався t- критерій Ст'юдента. Достовірною вважалася різниця при показнику $p \leq 0,05$.

Утворення біоплівки на поверхні полістиролового планшету – складний комплексний динамічний процес, що складається з декількох етапів: адгезії клітин до поверхні відбувається в результаті фізико-хімічних взаємодій між поверхневими структурами клітин і самого субстрату. Наступним етапом є перерозподіл клітинної маси; активне ділення клітин для створення клітинних кластерів; утворення екзополімерного слизового матриксу.

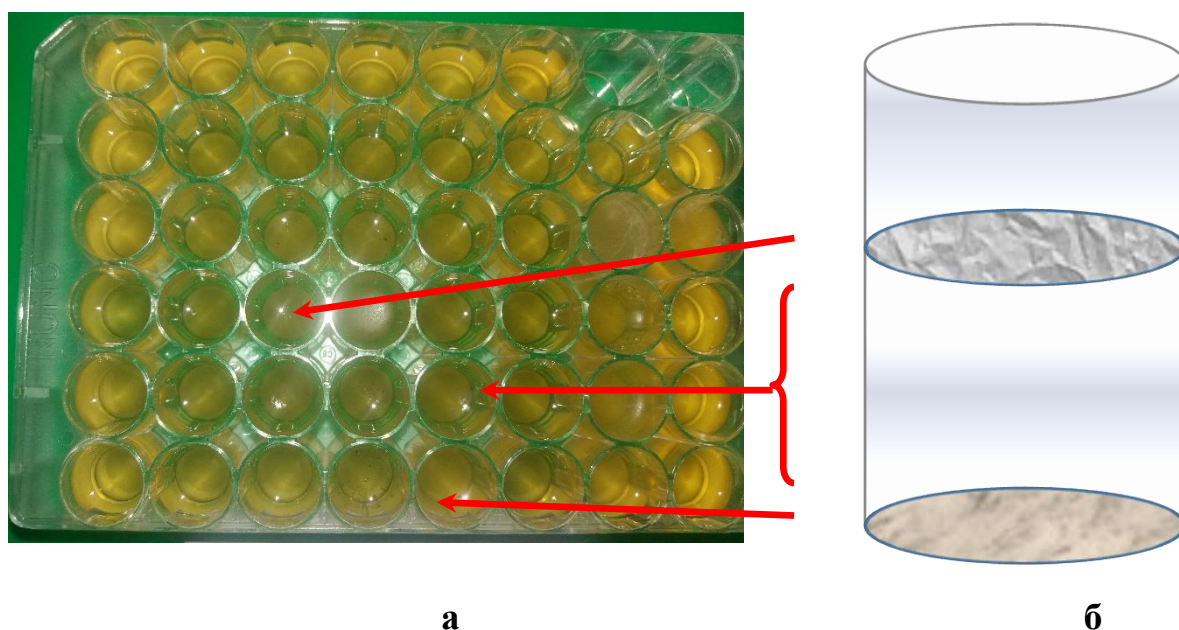


Рис. 3.7. Загальний вигляд планшету, в якому відбувалось культивування *Candida albicans* (середовище Сабуро або Спайдер): а – полістироловий планшет; б – схематичне розташування клітин під час культивування.

Початкове прикріплення мікробної клітини до поверхні субстрату здійснюється за рахунок дії електростатичних, гідрофобних сил, сил Ван-дер-Вальса, неспецифічної адгезії. Таким чином на ранніх стадіях формування біоплівки мала вигляд окремих колоній, але зі збільшенням товщини біоплівки формувались її специфічні структури – порожнини, вирости, пори і канали, які згодом починали утворювати суцільний сітчастий шар. Такий вид біоплівок у

біологічних системах утворюється на поверхні імплантованих медичних пристроїв [63].

Вільно флотуючі клітини в товщі поживного середовища мали заокруглену дріжджоподібну форму. Така форма існування притаманна грибам при поширенні з кровотоком, що полегшує розповсюдження збудника кандидозу по організму хазяїна [64].

Відмічають, що *C. albicans* у формі гіф має більш високий інвазивний потенціал, ніж у вигляді дріжджів. Але з іншого боку відзначають, що чим менша форма клітин, тим легше та швидше відбувається поширення гриба, зокрема в організмі людини [63]. Крім того, формування гіф полегшує міграцію *C. albicans* через пошкоджені тканини.

Інвазія в тканинній структурі здійснюється завдяки механічним і ферментним факторам і супроводжується морфологічною трансформацією з дріжджової в гіфальную форму. Подібна трансформація може бути віднесена до факторів патогенності, оскільки спостерігається тільки при активній кандидозній інфекції. На морфогенез *C. albicans* впливає температурний режим. Так, діапазон від 37 до 40 °C сприяє утворенню гіфальних форм [65].

Хоча *C. albicans* може перебувати у двох морфологічних формах, але зазвичай в природі та при системних кандидозах перебуває у дріжджовій формі. Ця форма клітин характеризує вихідний рівень чутливості до будь-яких антимікотичних засобів, так як проникнення препарату відбувається безпосередньо в клітини на відміно від захищених матриксом клітин в складі біоплівки [64].

Вплив досліджуваних речовин на клітини дріжджоподібного гриба визначався впродовж 24-48 годин з використанням поживних середовищ Сабуро та Спайдер з доданням манітолу.

У порівнянні з вже відомим впливом «контролю» сполуки (антранілової кислоти) на клітини *C. albicans* вирощених в поживному середовищі Сабуро впродовж 24 годин досліджувані сполуки були більш дієвими на всіх стадіях культивування (рис. 3.8).

Найбільш активна речовина III в концентрації 1 мкМ, яка пригнічувала в чотири рази ріст клітин *C. albicans* в суспензійній культурі у порівнянні з контрольним значенням. Менші концентрації цієї ж речовини мали більш слабку антимікотичну дію. Інші досліджувані сполуки виявили пригнічуючу активність близько 50-55 % порівняно з контролем. При подальшому культивуванні всі сполуки ослаблювали дію, що призводило до збільшення кількості клітин гриба в суспензії.

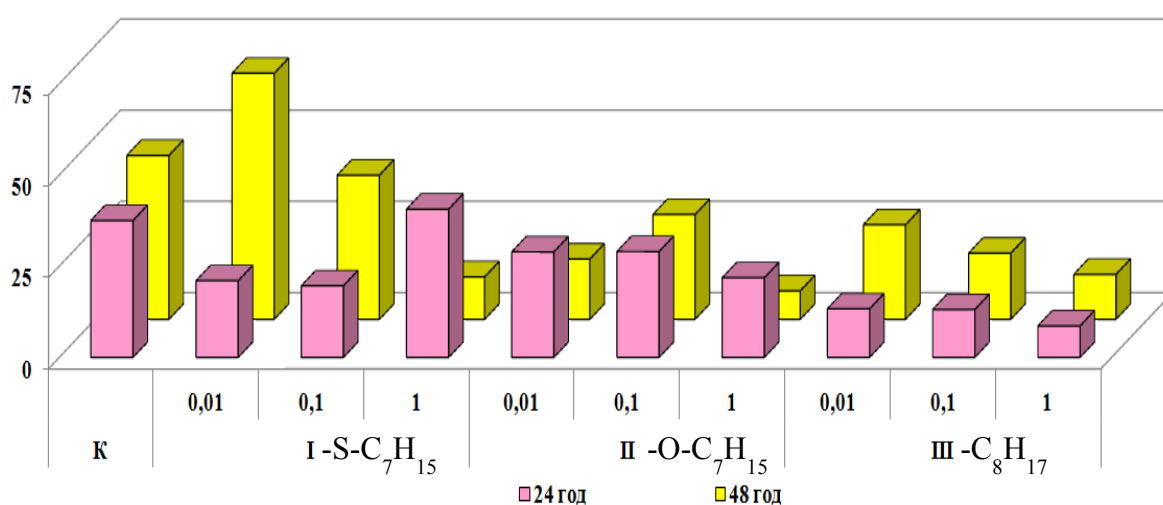


Рис. 3.8. Рівень активності досліджуваних сполук щодо клітин *Candida albicans*, які знаходяться у планктонній культурі (середовище Сабуро): за віссю абсцис – концентрація досліджуваних сполук, мкМ; за віссю ординат – кількість клітин у суспензії, $\cdot 10^9$ КУО/мл; * – різниця вірогідна у порівнянні зі значенням контролю

У поживному середовищі Спайдер, яке стимулювало утворення гіфальної форми існування *C. albicans* дія антранілових похідних була досить низькою (рис. 3.9). З продовженням культивування до 48 годин зовсім зникла, тоді як дія досліджуваних сполук з часом тільки зростала і в середньому становила близько 35 – 50 % від контрольного значення.

Досліджувана сполука III на 48 годину культивування *C. albicans* повністю пригнічували його ріст при найменшій концентрації 0,01 мкМ.

Отже, у ході дослідження було виявлено, що чутливість клітин, які перебувають у суспензійній культурі, є більшою до мінімальних концентрацій сполук. Очевидно, це обумовлено характером взаємодії заряджених молекул з клітинами мікроорганізмів.

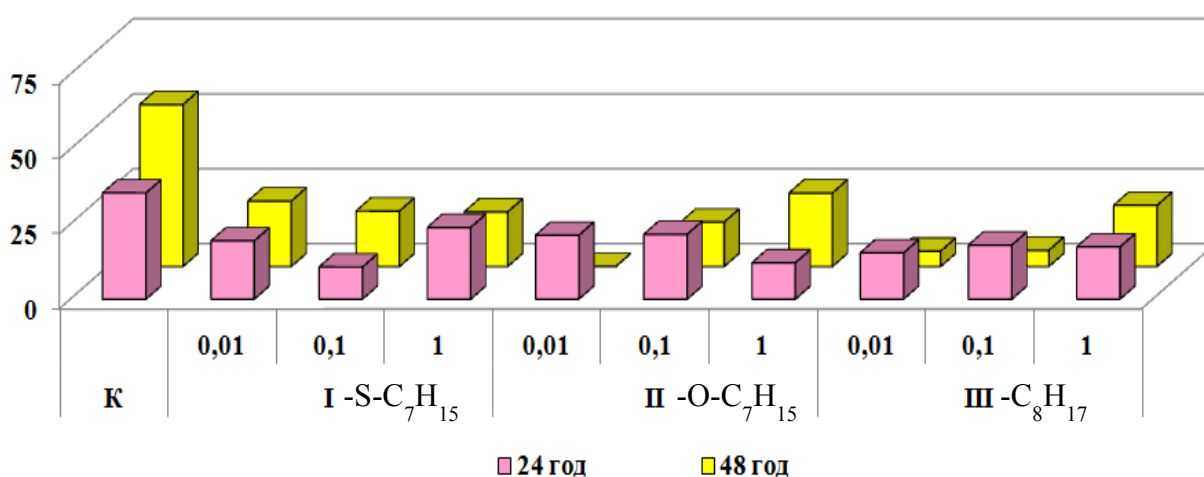


Рис. 3.9. Рівень активності досліджуваних сполук щодо клітин *Candida albicans*, які знаходяться у планктонній культурі (середовище Спайдер): за віссю абсцис – концентрація досліджуваних сполук, мкМ; за віссю ординат – кількість клітин у суспензії, •10⁹ КУО/мл; * – різниця вірогідна у порівнянні зі значенням контролю

Утворення мікробних біоплівки є багатостадійним процесом, що включає фізичні, хімічні та біологічні клітинні зміни. Це вимагає створення особливих умов *in vitro* для ініціації окремих напрямків розвитку гриба та відповідно формування біоплівки специфічної морфології. Використання поживного середовища Сабуро стимулює розвиток гриба в дріжджовій формі існування, тоді як Спайдер навпаки стимулює витягування клітин та утворення псевдоміцелію.

Клітини *C. albicans* у складі біоплівки є менш чутливими до дії антимікотичних препаратів порівняно з окремими клітинами планктону. Так вже відома антранілова кислота практично не виявляв фунгіцидної дії у поживному середовищі Сабуро (рис. 3.10). В середовищі Спайдер контрольна сполука мала більш успішні результати порівняно з дією на клітини вирощені в Сабуро, але знову ж таки не значні та не стійкі в часі (рис. 3.11).

Досліджувані синтетичні препарати призводили до 95 % загибелі клітин порівняно з контролем. Найбільш активними була сполука II. Сполука I проявила нестабільні результати, але загалом її дія була незначною відносно контролю.

При продовженні культивування до 48 годин речовина II втрачала свої антимікотичні властивості.

Досліджувані сполуки на гіфи мали дещо менший вплив, ніж на клітини планктону, пригнічуючи ріст до 45 % порівняно з контролем. Найбільш активними були високі концентрації речовин II та III.

Що стосується антранілової кислоти, то на ранніх стадіях проявляла, навпаки, стимуляцію росту до 115 % порівняно з контролем.

При використанні всіх препаратів на ранніх стадіях культивування спостерігався спочатку сплеск росту мікроорганізму, який переходив на другу добу культивування у незначне пригнічення.

Тобто, досліджувані синтетичні похідні є більш активними щодо клітин у складі біоплівки, яка складається з дріжджоподібної форми *C. albicans*, ніж тих клітин, які утворюють біоплівку гіфального типу.

Отже, дріжджоподібна форма клітини *Candida albicans*, характеризувались чутливістю до синтетичних похідних, рівень якої у 4-6 разів був вищим, ніж чутливість до порівняльної речовини – антранілової кислоти. Гіфальні елементи виявились більш чутливими до дії досліджуваних сполук, ніж дріжджоподібні клітини *Candida albicans*. Щодо дріжджоподібних елементів антифунгальна активність досліджуваних сполук спостерігалась на початку формування біоплівки на відміну від гіфальних форм, які виявились більш чутливими у складі асоціацій.

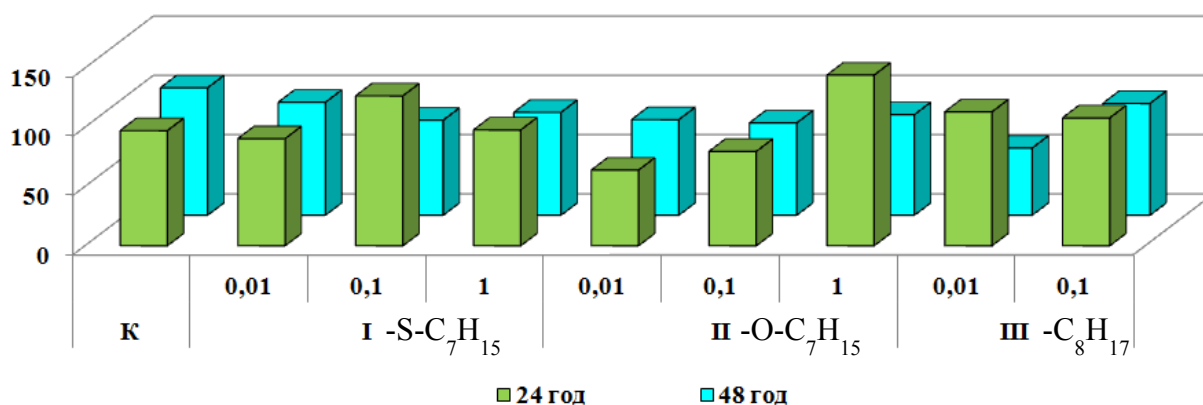


Рис. 3.10. Рівень активності досліджуваних сполук щодо клітин дріжджоподібної форми *Candida albicans*, які знаходяться у складі біоплівки (середовище Сабуру): за віссю абсцис – концентрація досліджуваних сполук, мкМ; за віссю ординат – кількість клітин у складі біоплівки, % від контрольного значення (біоплівка, яка була сформована за відсутності досліджуваних сполук)

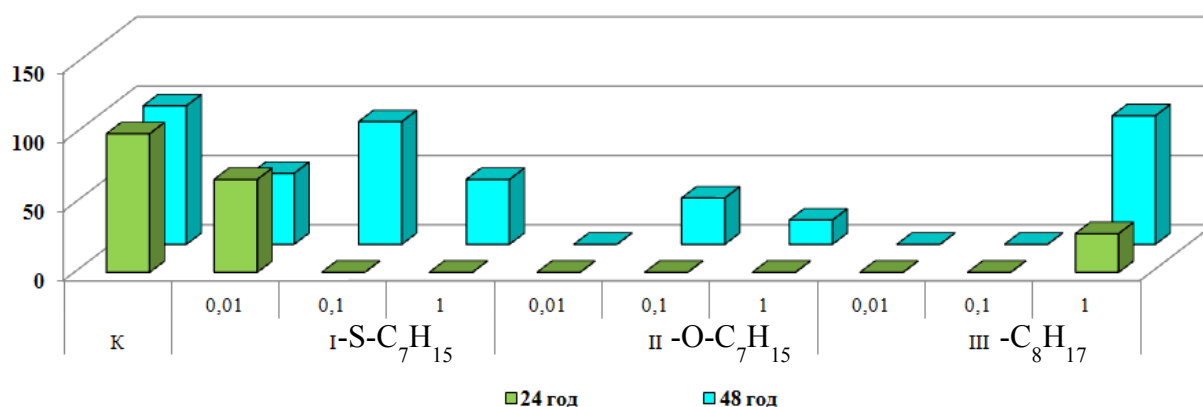


Рис. 3.11. Рівень активності досліджуваних сполук щодо гіфальних елементів *Candida albicans*, які знаходяться у складі біоплівки (середовище Спайдер): за віссю абсцис – концентрація досліджуваних сполук, мкМ; за віссю ординат – кількість клітин у складі біоплівки, % від контрольного значення (біоплівка, яка була сформована за відсутності досліджуваних сполук)

3.5 Узагальнення до експериментальної частини

1. Вперше синтезовано та виділено 3 нові N-ацил похідні антранілової кислоти:

2-(4-октилбензамідо)бензойна кислота,

2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислота;

2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота.

2. З використанням ЯМР, ІЧ- спектроскопії та масс спектрометрії встановлено склад та будову одержаних сполук.

3. Методом електронної мікроскопії досліджено морфологію поверхні частинок, встановлено, що поверхня частинок є шаруватою, а досліджувані системи є одноміоними та нульмірними об'єктами, що являють собою нанодроти та макротіла.

4. Встановлено, що найвищу антимікотичну активність проявляє 2-(4-октилбензамідо)бензойна та 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислоти щодо клітин *Candida albicans*, які знаходяться у планктонній та гіфальній формі

5. Показано, що синтезовані речовини можуть виступати як прекурсори (вихідні речовини) протимікробних препаратів в мікробіології та фармацевтиці.

РОЗДІЛ 4

Розроблення стартап-проекту

4.1 Загальна характеристика розробки

Загальна характеристика розробки та основні техніко-економічні показники наведено в табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Резюме стартап проекту

Показник	Характеристика
1	2
Сутність ідеї	Виробництво нового високоефективного консерванту для косметичних продуктів
Наявність аналогів або прототипів ідеї	На сучасному ринку є багато різноманітних консервантів, але немає аналогічного за хімічним складом та функціональними властивостями
Основна потреба яку задовольнить реалізований стартап	Стартап задовольнить потребу виробників косметики в високоефективному консерванті з широким спектром мікробіологічної активності
Ступень розробленості технології реалізації	Повністю розроблена лабораторна схема виробництва консерванту
Класифікація продукту стартапу за міжнародною класифікацією товарів	Клас 1 (Хімікати, призначені для використання в промисловості, науці та фотографії, а також у сільському господарстві, плідівництві та лісівництві)
КВЕД, до якого може належати дане виробництво	Секція С (Переробна промисловість), клас 20.14 (Виробництво інших основних органічних хімічних речовин)
Очікувана потужність стартапу	Мале підприємство
За масштабом виробництва	Серійне
За рівнем спеціалізації	Вузькопрофільне
За ресурсами, що споживатимуться	Матеріаломістке

Продовж. табл. 4.1

1	2
За чисельністю персоналу	Мале
Органи управління при реалізації стартапу	Національні
Бажане географічне розташування	Великі міста (Київ, Одеса, Дніпр) або їх пригороди
Місце ідеї у ланцюжку цінностей інноваційного процесу	Впровадження технології у виробництво
Бізнес-модель стартапу	B2B
Конкуренти вітчизняні	В Україні в основному виробляються харчові консерванти, деякі з яких можуть застосовуватись в косметичці, але в них зовсім інша активність, діюча концентрація та спектр активності, тому їх важко порівнювати.
Конкуренти іноземні	Косметичні консерванти виробляє багато Європейських та Азійських підприємств. Ціна дуже варіюється в залежності від якісних показників (від 10 до 50 грн за 10 г). Перевагою деяких є використання лише безпечних природних компонентів (як правило, в них низька активність) або висока ефективність (такі не завжди безпечні)
Ключові фактори успіху стартапу	Запропонований продукт не має аналогів за своїм хімічним складом. Володіє високою мікробіологічною активністю та безпечністю для людини. Потенційно може використовуватись у фармацевтичній розробці а також у сільському господарстві.
Споживачі (основні на етапі впровадження, групи, орієнтовна чисельність)	3-5 виробників косметичної продукції з сумарним випуском до 500 000 одиниць продукції у місяць
Планова кількість продукту розробки для першого етапу реалізації	30 кг/місяць

1	2
Споживачі на етапі розвитку	Більша кількість (5-15) виробників косметики + початок співпраці з представниками інших сфер виробництва
Споживачі на етапі зрілості	Виробники косметики, фармацевтична галузь, сільське господарство
Конкурентна ціна на продукт стартапу	29 000 грн/кг
Плановий рівень рентабельності	30 %
Капіталовкладення в проект	8 407 031 грн
Строк окупності проекту	3,5 років
Основні компоненти продукції стартапу	Ряд органічних та неорганічних реагентів, стандартні органічні розчинники. Вся сировина комерційно доступна.
Потенційні постачальники складових компонентів розробки	Оскільки для виробництва використовується загалом близько 20 різних найменувань реагентів та розчинників, придбати їх всі окремо доволі складно. Тому відкриття виробництва планується при існуючому підприємстві, що спеціалізується на органічному синтезі та займається поставкою всього спектру реагентів та розчинників в Україні (наприклад, компанія Енамін, Укрогсинтез, Оттава)
Планове місце реалізації результату розробки	Планується особистий продаж підприємствам (80 %) та продаж через платформу prom.ua (20 %). При подальшому розширенні асортименту продукції, можливе створення сайту та продаж через нього.
Наявність посередників при реалізації	Без посередників
Методи просування результатів розробки на ринок	Особистий продаж

Тема: виробництво нового консерванту для косметичної продукції під назвою «Антралік-N».

Даний консервант було розроблено на основі N-ацил похідних антранілової кислоти. Проведенні дослідження підтвердили його високу ефективність стосовно ряду мікроорганізмів та низьку токсичність для людини. Все це робить консервант «Антралік-N» гарною функціональною добавкою при виробництві широкого ряду косметичних продуктів.

Оскільки концентрація консервантів у готових продуктах дуже низька на 100 000 одиниць косметичної продукції необхідно лише приблизно 2,5 кг діючої речовини. Такі об'єми на перших етапах зможе забезпечити звичайна хімічна лабораторія, що виключає необхідність в будівництві повномасштабного та доволі складного органічного виробництва.

На сьогоднішній день більшість консервантів, що використовуються при виробництві косметичних засобів в нашій країні, імпортуються з Китаю та Індії і вони не завжди відповідають нашим стандартам якості та безпеки. Багато з виробників прагнуть перейти повністю на вітчизняну сировину, тому шукають можливості придбання високоякісних консервантів в Україні. Крім цього, деякі з таких виробників навіть готові активно фінансувати у подібні розробки. Це вказує на високий потенціал та перспективність виробництва власних консервантів.

Суб'єкт замовлення – підприємства, що виробляють різноманітні косметичні засоби.

Об'єкт дослідження – технологія виробництва нового консерванту органічної природи на основі N-ацил похідних антранілової кислоти.

Мета проекту: задовільнити потребу виробників косметики в якісному консерванті вітчизняного виробництва.

Цінність даної розробки полягає в тому, що речовини, які входять до складу консерванту «Антралік-N» володіють високою протимікробною активністю та малою активною концентрацією, що дозволить підвищити термін зберігання косметичних продуктів та зробити їх більш безпечними для користувачів.

Продуктом являється новий консервант для косметичних засобів на основі N-ацил похідних антранілової кислоти. Це органічна речовина у вигляді білого дрібнокристалічного порошку, що добре розчинна у спиртах та багатьох інших полярних розчинниках. Володіє протимікробною активністю та може бути використана не лише у якості консерванту, а також і у якості антибіотика в лікувальній косметиці та медичних препаратах (для впровадження в фармацевтику необхідні додаткові біологічні та клінічні дослідження). Також подібні речовини знаходять застосування у сільському господарстві та ветеринарії.

Сировиною виступають органічні реагенти та розчинники, доступні з комерційних джерел.

За міжнародною класифікацією товарів, даний консервант можна віднести до 1 класу (хімікати, призначені для використання в промисловості, науці та фотографії, а також у сільському господарстві, плідівництві та лісівництві).

Для реалізації даного проекту необхідно організувати роботу лабораторії органічної хімії, в якій буде за розробленою методикою синтезуватися консервант на замовлення споживачів (виробників косметики).

Конкурентними перевагами даного продукту (на даних етапах дослідження його властивостей) є: широкий спектр мікробіологічної активності; низька діюча концентрація; мала токсичність для людини; можливість використання в широкому спектрі косметичних засобів.

В інноваційному ланцюжку цінностей даний проект знаходиться на етапі впровадження технології у виробництво.

Функціонування розробленого підприємства планується за моделлю B2B (бізнес для бізнесу), оскільки основним клієнтом виступають інші підприємства – виробники косметичної продукції.

Необхідні капіталовкладення для запуску проекту:

$$K = 8\,407\,231 \text{ грн.}$$

Ринкова ціна продукту:

$$Ц = 29\ 000 \text{ грн/кг.}$$

Планова рентабельність:

$$P = 30 \text{ \%}.$$

Плановий випуск консерванту:

$$B = 30 \text{ кг/місяць.}$$

Період повернення капіталовкладень:

$$T_{нов} = 3,5 \text{ років.}$$

4.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища старту

Середовище діяльності будь-якого підприємства можна охарактеризувати за допомогою наступної схеми (рис. 4.1):



Рис. 4.1. Зовнішнє, зовнішнє оперативне і внутрішнє середовище підприємства

Представлена схема є зручною для оцінки потенційних можливостей, що надає зовнішнє середовище, а також загроз, які можна від нього чекати.

Зовнішнє середовище безпосередньо не впливає на підприємство, але формує загрози і можливості цього підприємства. До факторів зовнішнього середовища відносять політику, економіку, географію, демографію, культуру, науково-технічний прогрес (табл. 4.2).

Таблиця 4.2 – Аналіз загроз та можливостей зовнішнього середовища

Фактор зовнішнього середовища	Можливості	Загрози
Політика	Євроінтеграція може сприяти появі на нашому ринку сировини, яка необхідна для виробництва консерванту та допоможе зробити процес пошуку постачальника простішим та зменшити витрати на поставку	Нестабільна політична ситуація може негативно відобразитись на попиті та виробництві в цілому
	Входження до ЄС та міжнародних торгових альянсів може відкрити закордонні ринки для продажу української продукції	Також Євроінтеграція може призвести до потрапляння на ринок більшої кількості європейських підприємств, що виробляють консерванти
		Законодавча заборона на використання певних груп речовин в якості консервантів або заборона використання консервантів в певних групах косметичної продукції (наприклад, в дитячій косметиці)
		Посилення контролю до стану навколишнього середовища може ввести обмеження в роботу підприємств хімічного профілю (особливо стосується органічної хімії)
Економіка	Стабільна економічна ситуація та допомога розвитку малого бізнесу позитивно відобразиться на роботі компанії, особливо на важких початкових етапах	Нестабільна економічна ситуація може негативно відобразитись на чистому прибутку компанії, і, як наслідок на подальшому розширенні та удосконаленні виробництва
Науково-технічний прогрес	Подальші дослідження речовин, що входять до складу даного консерванту, можуть дозволити використовувати їх в інших сферах	Подальші дослідження також можуть виявити негативні властивості даного консерванту, які поки що невідомі
	Можуть з'явитися прилади, технології та методики, при використанні яких буде легше та дешевше отримувати розроблений продукт	Можуть бути винайдені нові більш ефективні та перспективні речовини для використання у якості консервантів

До факторів зовнішнього оперативного середовища відносять конкурентів, постачальників, посередників, споживачів. Їх аналіз наведено у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 – Аналіз факторів зовнішнього оперативного середовища

Фактор зовнішнього середовища	Можливості	Загрози
1	2	3
Постачальники	Конкуренція між постачальниками, як можливість знизити ціну на сировину	Падіння якості кінцевого продукту, в випадку непередбаченого погіршення якості сировини
		Банкротство виробників сировини та подальші труднощі із налагодженням умов співпраці із новим постачальником
Споживач (виробники косметики)	Багато українських виробників косметики (близько 100 середніх та крупних підприємств + щороку з'являються нові)	Консервант може не підійти для деяких косметичних рецептур
	Зацікавленість виробників в придбанні переважно вітчизняної сировини	У більшості виробників вже є свої постійні постачальники всіх основних інгредієнтів та їм може бути важко з технологічної точки зору перейти на новий вид сировини
Кінцевий споживач косметики	Підвищення популярності серед кінцевих споживачів окремих косметичних продуктів для виробництва яких використовується наш консервант	Втрата популярності серед кінцевих споживачів окремих косметичних продуктів для виробництва яких використовується наш консервант
	Деякі групи косметично-гігієнічних товарів для яких можливо використання нашого консерванту завжди користуються попитом серед населення, як товари першої необхідності (мило, дезодоранти, шампуні)	

Продовж. табл. 4.3

1	2	3
Конкурент	Підвищення попиту за рахунок вигідної реклами на фоні гірших за певними характеристиками конкурентів	Розробка конкурентами більш ефективних та універсальних консервантів
Посередник	Можливість взаємовигідної співпраці із великими корпораціями	Втрати прибутку у випадку недобросовісності посередника
	Посередник може бути джерелом інформації щодо змін у середовищі ринку та вподобань покупця	Перепродаж посередником частини товару не узгодженим із фірмою-власником покупцям
	Звільнює від затрат, пов'язаних із численними дрібними поставками	Неоправдане підвищення цін посередником може негативно відобразитися на попиті

Аналіз впливу зацікавлених сторін на основі факторів зовнішнього середовища наведено у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4 – Аналіз впливу зацікавлених сторін

Зацікавлена сторона	Вплив її на реалізацію проекту	Цікавість її до проекту	Загальний коефіцієнт впливу на проект
1	2	3	4
Суб'єкти зовнішнього оперативного середовища			
Виробник (власне підприємство)	10	10	100 %
Постачальники:			
-реагентів	8	5	40 %
-розчинників	8	5	40 %
-витратних матеріалів	5	3	15 %
-пакувальних матеріалів	2	3	6 %
Споживачі (виробники косметики)	10	8	80 %
Посередники:			
-інтернет платформи (prom.ua та подібні)	4	5	20 %
-фірми що продають хімічну сировину	6	8	48 %

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
Зовнішнє середовище			
Політичні структури:			
-Кабінет міністрів	3	1	3 %
-Міністерство охорони здоров'я	5	5	25 %
-Міністерство екології та природних ресурсів	4	5	20 %
Структури економічного середовища:			
-підприємства-конкуренти	7	5	35 %
-банк	8	6	48 %
-податкова	5	6	30 %
Суб'єкти демографії:			
-населення (як споживач косметичних продуктів, для виробництва яких використовують консервант)	7	6	42 %
Суб'єкти НТП:			
-дослідницькі хім. лабораторії	6	5	30 %
-фармацевтична розробка	4	6	20 %

Внутрішнє середовище підприємства має не менший вплив на стабільність його роботи та розвиток. Його аналіз забезпечує визначення сильних та слабких сторін в процесі реалізації стартап-проекту, що саме буде сприяти забезпеченню розробки, впровадженню, а що створюватиме перешкоди (ризики) в розробці, впровадженні та реалізації ідеї стартап-проекту (табл. 4.5).

Таблиця 4.5 – Переваги та недоліки внутрішнього середовища підприємства

Складові внутрішнього середовища	Переваги	Недоліки
1	1	3
Маркетинг	Ефективна реклама, що базується на використанні ринкового підходу	Витрати на забезпечення конкурентоздатності у порівнянні із великими компаніями

Продовж. табл. 4.5

1	2	3
Фінанси	Достатні фінансові ресурси, що забезпечує кредит у банку та інвестиції від виробників косметики	Інфляційне знецінювання накопичень, обмежені інвестиційні можливості, відсотки на виплати
Виробництво	Можливість випускати в одній лабораторії декілька продуктів	Складність деяких стадії виробництва продукту
	Використання стандартного та відносно недорогого обладнання	
Персонал	Невелика база персоналу	Необхідність високої кваліфікації кадрів

4.3 Визначення ключових факторів успіху проекту

Для більш наочної оцінки конкурентоспроможності продукту було використано метод Шонфільда. Для цього виділені ключові фактори успіху проекту, які потім оцінені за п'ятибальною шкалою. Також враховується коефіцієнт значущості кожного показника.

З урахуванням коефіцієнту вагомості характеристики визначається бальна оцінка кожної характеристики для нашої продукції і для конкурентів (табл. 4.6, 4.7).

Таблиця 4.6 – Ключові фактори успіху проекту за методом Шонфільда

Показник	Коефіцієнт значущості	Оцінка за п'ятибальною шкалою		
		Антралік-N	Пресервасол	Фитонсит
1. Мікробіологічна активність консерванту	0.9	5	4	4
2. Ефективна концентрація	0.6	5	4	2
3. Універсальність для використання в різних косметичних продуктах	0.6	4	5	3
4. Безпечність	0.9	5	3	5
5. Вартість	0.8	4	4	3

Таблиця 4.7 – Ключові фактори успіху проекту за методом Шонфільда

Показник	Оцінка за п'ятибальною шкалою		
	Антралік-N	Пресервасол	Фитонсит
1. Мікробіологічна активність консерванту	$0,9 \cdot 5 = 4,5$	$0,9 \cdot 4 = 3,6$	$0,9 \cdot 4 = 3,6$
2. Ефективна концентрація	$0,6 \cdot 5 = 3$	$0,6 \cdot 4 = 2,4$	$0,6 \cdot 2 = 1,2$
3. Універсальність для використання в різних косметичних продуктах	$0,6 \cdot 4 = 2,4$	$0,6 \cdot 5 = 2$	$0,6 \cdot 3 = 1,8$
4. Безпечність	$0,9 \cdot 5 = 4,5$	$0,9 \cdot 3 = 2,7$	$0,9 \cdot 5 = 4,5$
5. Вартість	$0,8 \cdot 4 = 3,2$	$0,8 \cdot 4 = 3,2$	$0,8 \cdot 3 = 2,4$
Загальний бал	17,6	14,9	13,5

Як видно з таблиці та графіку (рис. 3.1), в порівнянні з двома можливими конкурентами, консервант «Антралік-N» є конкуренто спроможним. Найважливішим факторами успіху є висока мікробіологічна активність, низька ефективна концентрація та безпечність продукту.

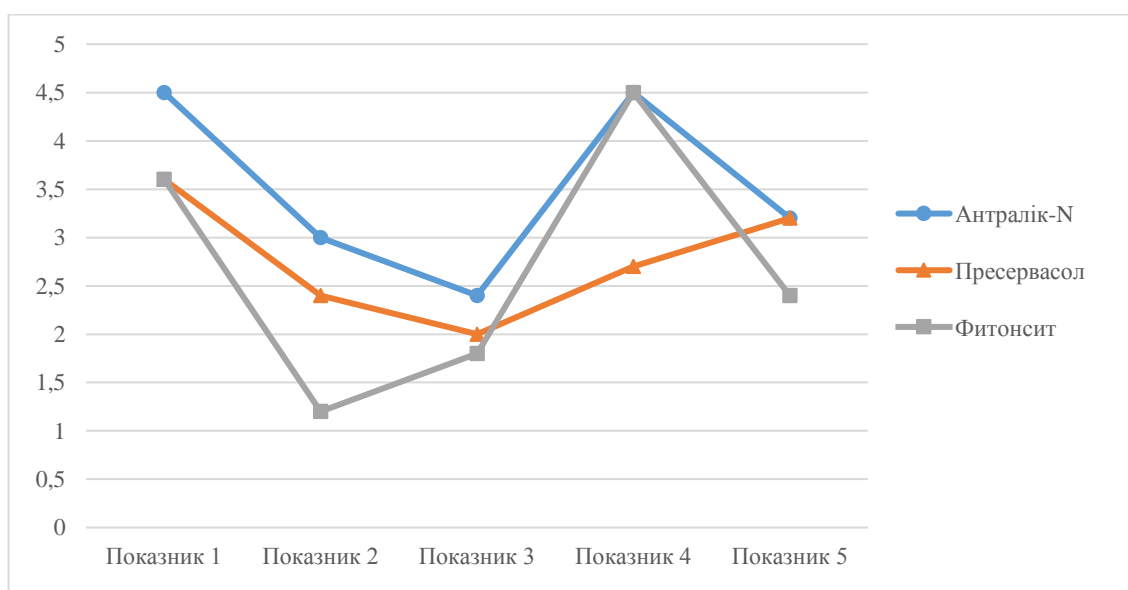


Рис. 4.2. Порівняння конкурентних переваг підприємства з конкурентами

4.4 Визначення потенційних споживачів

На першому етапі доцільно розробити класифікацію потенційних споживачів (таблиця 4.8).

Таблиця 4.8 – Класифікація потенційних споживачів (юридичних осіб)

Критерій	Значення
1. Форма власності	Переважно приватні
2. КВЕД	Секція С (Переробна промисловість), клас 20.42 (Виробництво парфумних і косметичних засобів)
3. За потужністю	Малі та середні
4. За масштабом виробництва	Переважно серійні
5. За рівнем спеціалізації	Вузько- та багатопрофільні
6. За ресурсами, що споживаються	Матеріаломісткі
7. За чисельністю персоналу	Малі та середні
8. За сферою діяльності	Виробничі
9. За приналежністю капіталу і контролю	Національні, іноземні або спільні
10. За географічним розташуванням	Найчастіше поблизу великих міст
11. За віддаленістю органів управління	Найчастіше національні та міжнародні
12. За характером господарської діяльності	Промислові
13. За рівнем технологічної цілісності	Провідні, філії
14. За долею іноземного капіталу	З іноземними інвестиціями
15. За формуванням статутного капіталу	Найчастіше унітарні
16. За організацією виробничих процесів	Переважно періодичні
17. За роботою протягом року	Позасезонні
18. За географічним розташуванням на території України	По всій території

Основними потенційними споживачами розробленого консерванту виступають виробники косметичних засобів. Для перевірки їх потреб було проведено опитування серед респондентів у кількості п'яти підприємств (анкету для споживачів наведено в Додатку Б). Отриманні дані для кращого сприйняття

сформовані у вигляді таблиці (табл. 4.9) та представлені у відсотковому співвідношенні.

Таблиця 4.9 – Дані результатів опитування

Питання	Варіант відповіді/відсоток респондентів		
	1. Чи задовольняє вас якість консервантів, які ви використовуєте?	а) так, по всіх параметрам 20 %	б) відносно задовольняє (є деякі скарги) 60 %
2. Якого походження консерванти, які ви закупляєте?	а) Україна 0 %	б) Європа 20 %	в) Азія 80 %
	3. Чи виникають проблеми з поставками, через географічне розташування постачальників?	а) ні, ніколи 0 %	б) так, іноді 60 %
4. Чи зацікавлені Ви в інвестуванні у проекти пов'язані зі сферою косметичного виробництва?	а) так, інвестуємо у перспективні проекти 20 %	б) так, але тільки якщо тематика проекту близька до нашого виробництва 40 %	в) ні 40 %

В загальному, опитування показало, що більшість виробників косметики зацікавлені в розробленому консерванті. Переважно це компанії, що спеціалізуються на виробництві кремів та гігієнічно-миючих засобах. За результатами опитування та аналізу ринку розроблено паспорт клієнта (таблиця 4.10).

Таблиця 4.10 – Паспорт потенційного клієнта

Критерій	Значення
1	2
Діяльність підприємства	Виробництво косметичної продукції
За платоспроможністю	Здатні до довготривалих інвестицій
За ставленням до товару	Зменшення ціни сировини (консервантів), підвищення її якості та малі строки доставки

Продовж. табл. 4.10

1	2
За інтенсивністю споживання товару	Багаторазове придбання
За інформованістю	Інформовані про останні наукові розробки в косметичній сфері та нові високоефективні добавки для косметичних засобів
За потужністю	Малі (так звані «домашні» виробники косметики), середні та великі
За рівнем спеціалізації (вузькопрофільні, багатопрофільні, комбіновані)	Вузькопрофільні (випускають один вид косметичної продукції) та багатопрофільні (декілька найменувань продукції)
За географічним розташуванням	Нема чіткої географії, але, як правило, ближче до великих міст (висококваліфіковані трудові ресурси, наукові центри)
Обсяги одиничного замовлення і річного споживання консервантів	Одиничне замовлення: 1-5 кг Річне споживання: 10-60 кг
Періодичність замовлення	Раз на місяць або раз у квартал

Оскільки кількість потенційних клієнтів є відносно обмеженою в силу специфіки продукту, а також клієнти є юридичними особами – підприємствами, то альтернативою анкетуванню може виступити презентація стартапу потенційним інвесторам.

Це можливо в рамках певних стартап-конференцій, або індивідуально за попередньою домовленістю.

Склад презентації:

1) Вступний опис основної ідеї проекту та демонстрація розрахунків рентабельності інвестицій. Мета – переконати потенційних інвесторів в доцільності вкладень коштів в цей проект та в перспективності виробництва власних консервантів для косметичних продуктів.

2) Демонстрація розрахунків та огляд по основним економічним показникам стартапу. Мета – переконати перспективного інвестора в серйозності підходу до проекту, чіткої визначеності, куди підуть отриманні інвестиції.

4.5 Оцінка джерел фінансування

Джерелами фінансування для стартап проекту по виробництву консерванту можуть виступати:

1. Виробники косметичної продукції (60 % від необхідного капіталу):

Зацікавлені в подібному продукту, оскільки надають перевагу сировині, що розташована ближче до їх виробництв. Також постійно шукають більш ефективні добавки та готові інвестувати в їх розробку.

2. Державні гранти (25 %):

Речовини, що входять до складу розробленого консерванту мають перспективи в фармацевтичній розробці як антибіотичні, гепапротекторні та анестетичні препарати. Також ці речовини можуть бути застосовані як промислові та сільськогосподарські протимікробні засоби.

3. Венчурні фонди (10 %):

Інвестують у підприємства, що знаходяться на ранніх стадіях свого розвитку і усвідомлено йдуть на ризик інвестування, оскільки є шанс отримати високі прибутки від відносно невеликих вкладень. Тим більше, що частина венчурних фондів закладають у схему роботи можливість повного або часткового списання вкладених коштів. В середньому термін венчурної інвестиції становить 3-5 років, що відповідає розрахованому терміну повернення капіталовкладень для даного стартапу.

3. Інші фізичні та юридичні особи, зацікавлені у розробці даного продукту (5 %).

4.6 Розрахунок ціни інноваційної пропозиції на ринку

Ціноутворення – це процес обґрунтування, затвердження та перегляду цін і тарифів, визначення їх рівня, співвідношення та структури.

Всі методи ціноутворення можна об'єднати в три базові моделі, що визначають цінову політику фірми:

1. Витратні методи ціноутворення.
2. Методи, що спираються на попит.
3. Методи з орієнтацією на конкуренцію .

Попередня планова ціна, яку було встановлено для продажу консерванту «Антранілік-N» – 29 000 грн/кг.

Плановий випуск – 30 кг/місяці.

1. Метод, орієнтований на витрати.

Розглянемо метод повних витрат. Ціна розраховується, виходячи із суми постійних і змінних витрат на одиницю продукції й запланованого прибутку з урахуванням нижнього порогу ціни.

$$Ц = C + П = 22\,244 + 6\,673,2 = 28\,917,2 \text{ грн/кг} \quad (4.1)$$

де $Ц$ – ціна одиниці товару, грн/кг;

C – очікувана собівартість одиниці товару, грн/кг;

$П$ – величина прибутку (30 %), яку бажає отримати підприємство від реалізації одиниці товару, грн/кг.

Для початку проведемо калькуляцію усіх витрат для запуску проекту.

2. Агрегатний метод застосовується для продукції, яка виробляється з окремих складових конструктивних елементів, ціна на як вже відома. Для консерванту «Антранілік-N» даний метод не може бути застосовано коректно, оскільки кінцева речовина отримується шляхом послідовних багатостадійних хімічних перетворень однієї вихідної речовини з використанням великої кількості допоміжних реагентів та розчинників, які не входять в кінцевий продукт але суттєво впливають на його собівартість.

3. Параметричний метод – враховує вагомість якісних параметрів товару і оцінку цих параметрів споживачем.

Бальну оцінку використаємо з розрахованої раніше в методі Шонфільда (табл. 4.7).

$$Ц_1 = Ц_2 \cdot (B_1 / B_2) = 25\,000 \cdot (17,6 / 14,9) = 29\,530 \text{ грн/кг} \quad (4.2)$$

C_1 – ціна консерванту «Антранілік-N», грн/кг;

C_2 – ціна відомого консерванту «Пресервасол», грн/кг;

B_1 – балова оцінка консерванту «Антранілік-N»;

B_2 – балова оцінка консерванту «Пресервасол».

4. Метод на основі аналізу точки беззбитковості – полягає в тому, що ціна виробу визначається на основі розрахунку найоптимальнішого обсягу виробництва, який дає змогу відшкодувати всі витрати підприємства за рахунок отриманих валових доходів виходячи з «точки беззбитковості»

а) ціна, при якій досягається точка беззбитковості (при плановому випуску)

$$П = Ц - С; \quad (4.3)$$

$$Ц = С, \text{ звідси } П = 0. \quad (4.4)$$

Плановий випуск (B) – 30 кг/місяць.

Знайдемо ціну, за якою необхідно продавати продукцію, щоб вийти на точку беззбитковості.

$$П = Ц_{од} \cdot B - (A + \text{ФОП} + \text{ОбФ} + \text{Оренда}) \quad (4.5)$$

Оскільки ФОП погодинна, то вона не залежить від випуску продукції.

Плановий випуск (B) – 30 кг/місяць.

$$Ц \cdot 30 - (5\,900 + 78\,080 + 553\,345 + 30\,000) = 0 \quad (4.6)$$

$$Ц = 22\,244 \text{ грн/кг.} \quad (4.7)$$

Отже, проаналізувавши усі методи формування ціни на ринку, можемо зробити висновок, що ціна, яку ми встановили 29 000 грн/ кг є доступною, що дозволить консерванту «Антранілік-N» бути конкурентоспроможними на ринку.

Для розрахунку загальної калькуляції на рік (табл. 4.16) було складено таблиці 4.13 – 4.15 з розрахунками витрат на основні фонди, оборотні фонди та фонд оплати праці.

Таблиця 4.13 – Основні фонди

№	Найменування	Постачальник	Вартість, грн	Амортизація грн/рік
1	Мішалка верхньопривідна (5 шт)	«ІКА», Германія	90 000	18 000
2	Електроплита нагрівальна (3 шт)	Завод «Маяк», Україна	18 000	3 600
3	Реактор на 8 л (5 шт)	ПАО «Склоприлад», Україна	45 000	9 000
4	Ротаційні випаровувачі (2 шт)	«ІКА», Німеччина	120 000	24 000
5	Фільтрувальні установки (2 шт)	ТОВ «Укроргсинтез», Україна	13 000	2 600
6	Ваги лабораторні (1 шт)	«KERN ltd», Німеччина	12 000	2 400
7	Термопари (3 шт)	«ІКА», Німеччина	4 500	900
8	Лабораторний посуд (склянки, колби та інше)	ПАО «Склоприлад», Україна	15 000	3 000
9	Інший лабораторний дрібний інвентар (шпателі, кроки, затискачі Кохера, скляні палички)	ТОВ «Укроргсинтез», Україна	10 000	2 000
10	Персональний комп'ютер (2 шт)	Інтернет-магазин «Rozetka»	24 000	4 800
11	Принтер (1 шт)	Інтернет-магазин «Rozetka»	2 500	500
12	Нематеріальні активи	-	15 000	3 000
	Загальна сума		354 000	70 800

Амортизацію основних фондів розраховано з планового періоду експлуатації для обладнання – 5 років.

Таблиця 4.14 – Заробітна плата персоналу

Посада	Чисельність, осіб	ЗП грн/місяць	ФОП, грн/рік
Завідуючий лабораторії	1	15 000	219 600
Хіміки-синтетики	4	10 000·4= 40 000	585 600
Менеджер зі збуту	1	9 000	131 760
Загальна сума	6	78 080	1 143 091

Таблиця 4.15 – Оборотні фонди

№	Найменування	Постачальник	грн/міс	грн/рік
1	Вихідні речовини (октилбензол, метиловий естер <i>n</i> -гідроксибензойної кислоти, <i>n</i> -сульфанілбензойна кислота, 1-бромгептан, <i>трет</i> -бутиловий естер антранілової кислоти, хлористий тіоніл, триетиламін, трифтороцетова кислота)	ТОВ «Укроргсинтез», Україна	450 000	5 400 000
2	Допоміжні реактиви, каталізатори (луг, кислоти, карбонат калію, йодид натрію, диметиламінопіридин)	ТОВ «Укроргсинтез», Україна	53 000	636 000
3	Розчинники (ацетонітрил, спирти, дихлорметан, піридин, бензол)	ТОВ «Укроргсинтез», Україна	47 000	564 000
4	Фільтроелементи (фільтри паперові)	ПАО «Склоприлад», Україна	300	3 600
5	Індикатори універсальний	ПАО «Склоприлад», Україна	45	540
6	Тара для фасування	ВАТ «Укрпластик», Україна	3 000	36 000
	Загалом		553 345	6 640 140

Таблиця 4.16 – Калькуляція витрат за рік

№	Статті калькуляції	Сума, грн/місяць	Сума, грн/рік
1	Оборотні фонди	553 345	6 640 140
2	ФОП	78 080	1 143 091
3	Відчислення на амортизацію	5 900	70 800
4	Оренда мебльованого лабораторного приміщення з урахуванням комунальних платежів	30 000	360 000
	Загалом	667 325	8 214 031

Основні техніко-економічні показники проекту розраховано та наведено в табл. 4.17.

Таблиця 4.17 – Розрахунок техніко-економічних показників

Параметр	Розрахунок
Річний випуск продукції	$B = 30 \cdot 12 = 360$ кг/рік
Чисельність персоналу за списком	$Ч_{сн} = 6$ осіб
Капіталовкладення на проект	$K = ОФ + ОбК = 354\,000 + 8\,053\,231 = 8\,407\,231$ грн
Собівартість продукції	$C = A + ОбК = 70\,800 + 8\,053\,231 = 8\,214\,031$ грн/рік $C_1 = C/B = 8\,214\,031 / 360 = 22\,244$ грн/кг
Ціна продукту	$Ц_1 = 29\,000$ грн/кг
Прибуток	$\Pi_1 = Ц_1 - C_1 = 29\,000 - 22\,244 = 6\,756$ грн/кг $\Pi = \Pi_1 \cdot B = 6\,756 \cdot 360 = 2\,432\,160$ грн/рік
Рентабельність	$P = \frac{\Pi}{C} \cdot 100\% = 2\,432\,160 / 8\,214\,031 \cdot 100\% = 29,6\%$
Коефіцієнт економічної ефективності	$E = \frac{\Pi}{K} = 2\,432\,160 / 8\,407\,231 = 0,29$
Період повернення капіталовкладень	$T_{нов} = \frac{K}{\Pi} = 8\,407\,231 / 2\,432\,160 = 3,5$ років
Фондовіддача ОФ	$\Phi B = (Ц \times B) / ОФ = (29\,000 \cdot 360) / 354\,000 = 29,5$ грн/грн
Фондоємність ОФ	$\Phi C = \frac{1}{\Phi B} = 1 / 29,5 = 0,034$ грн/грн

4.7 Концепція бізнес-моделі проекту та карта бізнес-процесів реалізації проекту

Продаж готового продукту планується здійснювати особисто підприємствам (80 %) та додатково через платформу prom.ua (20 %). При подальшому розширенні асортименту продукції, можливе створення сайту та продаж через нього.

Концепція бізнес-моделі проекту наведено у таблиці 4.18.

Таблиця 4.18 – Концепція бізнес-моделі проекту

Вигоди для клієнта		Конфігурація дій		Границі фірми			
Зв'язок і стосунки з клієнтами		Головна (базова) стратегія		Стратегічні засоби		Цінності мережі	
1. Залучення і утримання клієнтів; 2. Інформація і знання клієнта; 3. Динамічні стосунки з клієнтом; 4. Структура цін.		1. Місія, бізнес цілі; 2. Продукт; 3. Простір ринку.		1. Основні (базові) компетенції; 2. Стратегічні активи; 3. Основні (базові) процеси.		1. Постачальники; 2. Партнери.	
Ефективність		Унікальність		Внутрішня єдність		Генерація прибутку	

Також було складено карту бізнес-процесів виконання стартап проекту (табл. 4.19).

Таблиця 4.19 – Карта бізнес-процесів виконання стартап проекту

Стадія реалізації стартап проекту	Бізнес-процеси	Характеристики		
		Задіяні ресурси	Орієнтовна тривалість процесу	Верхня межа фінансових витрат
1	2	3	4	5
Розробка ідеї стартапу	1. Розробка ідеї	Людські, засоби пошуку інформації, фінансові	720 год	50 тис
	2. Аналіз ринку		24 год	10 тис
	4. Перевірка потреб споживача		120 год	5 тис

Продовж. табл. 4.20

1	2	3	4	5	6	7	8
Розробка ідеї	+						
Аналіз ринку	+	+					
Перевірка потреб споживача	+	+			+		
Розробка ТЗ	+	+					
Розробка бізнес-плану	+	+					
Створення ТОВ	+			+			
Оформлення, реєстрація підприємства	+			+			
Заклучення договору про намір з банком	+		+	+			
Заклучення договору про оренду приміщення;	+			+			
Заклучення договору з постачальниками	+			+			
Налагодження виробництва	+				+		
Виробництво продукту					+		
Контроль якості					+		
Заклучення договорів з клієнтами	+			+		+	+
Старт продажу через платформу prom.ua						+	+
Споживче тестування							+

4.8 Оцінка ризиків та страхування розробки

У даному розділі визначені найбільш імовірні ризики, які можуть виникнути при реалізації даного проекту. Оцінити ризики підприємницької діяльності можна на основі класифікації можливих ризиків.

Таблиця 4.21 – Оцінка ризиків.

Ризик	Ймовірність настання	Вплив на результат
1. Комерційні ризики:		
- конкуренти з нижчою ціною	50 %	70 %
- відсутність інформації про підприємство	60 %	90 %
- відсутність споживчого попиту на даний вид продукції	40%	100 %
- страхові витрати	40 %	40 %
2. Організаційні ризики:		
- складність із забезпеченням робочої групи кадрами необхідної кваліфікації	30 %	60 %
- проблеми своєчасного постачання матеріально-технічних ресурсів	60 %	90 %
- проблеми з організацією збутової мережі	70 %	95 %
3. Технічні ризики:		
- необхідність конструкторського доопрацювання елементів обладнання в процесі виробництва	40 %	80 %
- необхідність доопрацювання в процесі виробництва технології виготовлення продукції	35 %	90 %
4. Фінансові ризики:		
- інфляція	70 %	80 %
- ризик неплатоспроможності споживачів	20 %	30%
5. Форс-мажори	30 %	30%

З метою страхування або усунення зазначених ризиків пропонуються наступні заходи (таблиця 4.22).

Таблиця 4.22 – Заходи для усунення ризиків

Група ризиків	Заходи щодо усунення або попередження
Комерційні	Впровадження періодичних (сезонних, акційних тощо) знижок на продукцію
	Створення більш вигідних умов дилерам у разі тривалої співпраці
	Забезпечення жорсткого контролю над оновленнями продукту
Організаційні	Зацікавлення кваліфікованих робітників зарплатнею, умовами праці та соціальним забезпеченням
	Робота лише з перевіреними постачальниками
	Ретельний підхід до організації виробництва
Технічні	Придбання обладнання, яке максимально задовольняє потреби виробництва з урахуванням розширення підприємства
	Своєчасна заміна швидкозношуваних деталей обладнання
	Планові ремонти та профілактика обладнання
Фінансові	Чітко прописані умови укладання кредитного договору
	Закладання прогнозованого росту інфляції у фінансово-економічні розрахунки;
	Страхування майна
Форс-мажори	Створення фонду для покриття збитків у разі непередбачуваних ситуацій

4.9 Узагальнення до розроблення стартап-проекту

Було розроблено стартап-проект з запуску виробництва нового високоефективного консерванту «Антранілік-Н».

Потенційними клієнтами, на яких розрахований даний стартап, є виробники косметичної продукції (переважно кремів та гігієнічно-миючих засобів).

Основними перевагами даного консерванту для споживачів є висока мікробіологічна ефективність, значне збільшення терміну зберігання косметичних продуктів, низька діюча концентрація та безпечність для здоров'я людини.

Оскільки для виробництва 100 000 одиниць косметичної продукції необхідно лише в середньому 2,5 кг консерванту, планова ринкова ціна – 29 000 грн за 1 кг, є конкурентоспроможною.

Початкові капіталовкладення становлять 8 214 031 грн, рентабельність – 29,6 %, очікуваний прибуток у перший рік – 2 432 160 грн, а термін повернення капіталовкладень для даного стартапу – 3,5 років.

ВИСНОВКИ

В ході виконання магістерської дисертації було розроблено препаративний метод синтезу ряду нових N-ацил похідні антранілової кислоти, а саме:

2-(4-октилбензамідо)бензойна кислота;

2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислота;

2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота.

Будова отриманих сполук була доведена методами ЯМР ^1H та ІЧ-спектроскопії, а також методами газорідинної та рідинної хроматографії з мас-детектором.

За результатами мікробіологічних досліджень встановлено, що найвищу антимікотичну активність проявляє 2-(4-октилбензамідо)бензойна та 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислоти щодо клітин *Candida albicans*, які знаходяться у планктонній та гіфальній формі. Це вказує на те, що синтезовані речовини можуть виступати як прекурсори (вихідні речовини) протимікробних препаратів в мікробіології та фармацевтиці.

Методом електронної мікроскопії досліджено морфологію поверхні частинок, встановлено, що поверхня частинок є шаруватою, а досліджувані системи є одноміонними та нульмірними об'єктами, що являють собою нанодроти та макротіла.

Крім того, за результатами наукового дослідження було розроблено стартап-проект з організації лабораторного виробництва ряду нових N-ацил похідних антранілової кислоти в якості консерванту для косметичних продуктів, та прораховані його основні техніко-економічні показники.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Плетнёв М.Ю. Консерванты и современные способы защиты продукции. Учебно-справочное руководство. – Москва: Косметика и медицина, 2013. 478 с.
2. The Rules Governing Cosmetic Products in the European Union. Vol. 1: Cosmetics legislation, Cosmetic products, Europ. Commission, Enterprise Directorate-General/Pharmaceuticals and Cosmetics, 1999. 214 p.
3. Manual on the Scope of Application of the Cosmetics Directive 76/768/EEC (Art. 1 (1) Cosmet. Directive). Version 6.0, Oct. 2010. — 22 p.
4. Nowak G.A. Cosmetic Preparations. Vol. 1: Process Technology of Cosmetics, Microbiology, GMP, Preservation, Data on Skin, Special Active Agents and Adjuvants, Augsburg (FRG) / Verlag fur Chem. Industrie H. Ziolkowsky KG, 1985. P. 145-187.
5. Плетнев М.Ю. Косметико-гигиенические моющие средства. М.: Химия, 1990. С. 168-179.
6. Russell A. D., Hugo W.B., Ayliffe G.A.J. (Eds.) Principles and practice of disinfection, preservation, and sterilization. 3rd Edn. Oxford, UK / Blackwell Science, 1999. 826 p.
7. Кривова А.Ю., Паронян В.Х. Технология производства парфюмерно-косметических продуктов. М.: ДеЛи принт, 2009. 668 с.
8. Беликов О.Е., Пучкова Т.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. М.: Школа космет. химиков, 2003. 250 с.
9. Steinberg D.C. Preservatives in Cosmetics. 3rd Edn. Carol Stream, IL / Allured Publishing, 2012. 291 p.
10. Самуйлова Л.В., Пучкова Т.В. Косметическая химия. Часть 1. Ингредиенты. Учебное издание в 2 частях. — Школа косметических химиков, 2005. 336 с.

11. Чижова С.К., Алферова Е.Г., Корчевая Т.А.. Особенности применения лечебной косметики при различных формах акне. *Экспериментальная и клиническая дерматокосметология*. 2008. №6. С. 72-79.
12. Вялов С.С., Противомикробная терапия: алгоритмы выбора практическое руководство, 3-е издание. М.: «МЕДпресс-информ», 2012. 198 с.
13. The Merck Index, 10th Edition / ed. by Rahway: Merck & Co. 1983, p. 62
14. Herrmann, K. M.; Weaver, L. M. The Shikimate Pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 1999. №50. P. 473–503.
15. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 4th Edition / ed. by V. S. Furniss et al., London: Longman. 1978. p. 666
16. Хейфиц Л. А., Дашунин В. М. Душистые вещества и другие продукты для парфюмерии. — М.: Химия, 1994. 375 с.
17. Kain, P.; Boyle, S. M.; Tharadra, S. K.; Guda, T.; Pham, C.; Dahanukar, A.; Ray, A. Odour receptors and neurons for DEET and new insect repellents. *Nature*. 2013. № 502. С 507–512.
18. Научные разработки Национального фармацевтического университета. Лекарственные средства: справочник. 1991–2010 / сост.: С.Н. Коваленко и др. Харьков : Золотые страницы, 2010. — 284 с.
19. Мохорт М. А., Фіалков Ю. А., Ліптуга М. І. та ін. 1,2- етилен-біс(N-метилкарбдецилоксиметил)-амоніюди[N-2,3диметилфеніл)антранілату]) етонію димефенамінат), який проявляє антимікробну та протизапальну активність, і спосіб його одержання. — Патент № 60500 Україна. — Опубл. 15.10.2003, Бюл. № 10.
20. Фармакологія: підручник / І.В. Нековаль, Т.В. Казанюк. — 4-е вид., виправл. К.: ВСВ «Медицина», 2011. 520 с.
21. Hamilton A., Richart L. Tarascon Pocket Pharmacopoeia 2015 Deluxe Lab-Coat Edition. Jones & Bartlett Learning. p. 315.
22. Віннікова Л.М. Ефективність комбінації Антралю та србісолу в лікуванні хронічних гепатитів. Пробл. еколог, та мед. генетики і клін. імунології, 5(31), 2000. с. 198-200.

23. Вовк А.Д., Татьяна Н.В., Ляшок О.В., Слободяник М.Я. Терапевтическая эффективность Антраля при вирусном гепатите В. В кн.: Перспективы создания синтетических гепатопротекторов в Украине. Тез. докл. рссн. науч.-практ. конф. Харьков, 1993. с. 13-14.

24. Зупанець І.А., Брунь Л.В., Павлій О.О. — №2003065589 ; заявл. 17.06.2003 ; опубл. 15.04.2004, Бюл. №4.

25. Pentikäinen PJ, et al Human pharmacokinetics of tolfenamic acid, a new anti-inflammatory agent. Eur J Clin Pharmacol. (1981) 19(5); p.359-65.

26. Wilson H., Chadalapaka G., Jutooru I., Sheppard S., Pfent C., Safe S. Effect of tolfenamic acid on canine cancer cell proliferation, specificity protein (sp) transcription factors, and sp-regulated proteins in canine osteosarcoma, mammary carcinoma, and melanoma cells. *J Vet Intern Med*, 2012. № 26(4); p.977-86

27. Хлор- та нітрозаміщені N-фенілантранілової кислоти, що проявляють протизапальну, анальгетичну активність. Патент України: : МПК С07С 229/58 (2007.01), А61К 31/196 (2007.01), А61Р 29/00 / Ісаєв С.Г. № 65875 А; заявл. 09.10.2009 ; опубл. 26.11.2009. Бюл. № 14

28. 2-Етоксі-6,9-діаміноакридиній-3-нітро-2-N-(4-метилфеніл) антранілат: патент 19286 Україна : МПК С07D 219/00, А61К 31/473, А61Р 31/04 (2007.01) / Ісаєв С.Г., Євдокімова О.С., Жилиєва Г.М., Зупанець І.А., Волкова Н.О., Дикий І.Л., Суров Ю.М., Купиць О.С., Трофімова Н.М. — №4855630/SU ; заявл. 15.06.1990 ; опубл. 25.12.1997, Бюл. №6.

29. The American Society of Health-System Pharmacists. URL: <https://www.drugs.com/monograph/furosemide.html> (дата звернення 04.12.2018)

30. Essential medicines. World Health Organization. 2015. URL: http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/18th_EML.pdf (дата звернення 04.12.2018)

31. Всемирный антидопинговый кодекс. Запрещенный список 2015. URL: <https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/wada-2015-code-ru.pdf> (дата звернення 04.12.2018)

32. Xi-Hui Li, Soo-Kyoung Kim. Anti-biofilm effects of anthranilate on a broad range of bacteria. *Scientific Reports* 7, № 8604; 2017.
33. Kim, S. K., Park, H. Y. & Lee, J. H. Anthranilate deteriorates the structure of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and antagonizes the biofilm-enhancing indole effect. *Applied and environmental microbiology*; vol 81. 2015. p.2328–2338.
34. Mott, John E.; Shaw, Bailin A. et al. Resistance mapping and mode of action of a novel class of antibacterial anthranilic acids: Evidence for disruption of cell wall biosynthesis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; vol. 62; № 4. 2008. p. 720 – 729
35. Mani Jayanthi, Perumal Rajakumar. Synthesis and antimicrobial activity of unsymmetrical dendrimers with indazole, salicylates and anthranilates as surface units. *J. Heterocyclic Chem.*, 2017. № 00 (00); DOI: 10.1002/jhet.2793
36. Harden G. Flora of New South Wales, vol. 2. Sydney: UNSW Press; 2002. 269 p.
37. Lassak EW, McCarthy T. Australian medicinal plants, Methuen, North Ryde NSW; 1983. 695 p.
38. Shou, Qingyao; Banbury, Linda K., et al. Antibacterial anthranilic acid derivatives from *Geijera parviflora*. *Fitoterapia*; vol. 93. 2014. p. 62 - 66
39. Xi-Hui Li, Soo-Kyoung Kim. Anti-biofilm effects of anthranilate on a broad range of bacteria. *Scientific Reports*. vol. 7, № 8604; 2017. P.458-469.
40. Kim, S. K., Park, H. Y. & Lee, J. H. Anthranilate deteriorates the structure of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and antagonizes the biofilm-enhancing indole effect. *Applied and environmental microbiology*. vol. 81. 2015. P.2328–2338.
41. Mott, John E.; Shaw, Bailin A.; Smith, James F.; Bonin, Paul D.; Romero, Donna L.; Marotti, Keith R.; Miller, Alita A. Resistance mapping and mode of action of a novel class of antibacterial anthranilic acids: Evidence for disruption of cell wall biosynthesis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*; vol. 62; № 4. 2008. P. 720 - 729
42. Shou, Qingyao; Banbury, Linda K.; Maccarone, Alan T.; Renshaw, Dane E.; Mon, Htwe; Griesser, Stefani; Griesser, Hans J.; Blanksby, Stephen J.; Smith,

Joshua E.; Wohlmuth, Hans. Antibacterial anthranilic acid derivatives from *Geijera parviflora*. *Fitoterapia*; vol. 93. 2014. P. 62 – 66

43. Vasconcelos, Ursula B.; Dalmolin, Emilene; Merlo, Aloir A. Synthesis and thermal behavior of new N-heterotolan liquid crystals. *Organic Letters*; vol. 7; № 6. 2005. P. 1027 – 1030

44. Li, Xingzhou; Zhou, Xinming; Zhang, Jing; Wang, Lili; Long, Long; Zheng, Zhibing; Li, Song; Zhong, Wu. Synthesis and biological evaluation of chromenylurea and chromanylurea derivatives as anti-TNF- α agents that target the p38 MPAK pathway. *Molecules*; vol. 19; № 2. 2014. P. 2004 – 2028

45. Rao Gupta; Arun Kumar. α -(4 -Nitro Phenoxy) Chalcones As Synthons for Cis-(\pm)-1,5-Benzothiazepines *Synthetic Communications*; vol. 30; № 15, 2000. P. 2763 – 2768

46. Wang, Yan; Damu, Guri L.V.; Lv, Jing-Song; Geng, Rong-Xia; Yang, Da-Cheng; Zhou, Cheng-He; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*; vol. 22; №. 17. 2012. P. 5363 – 5366

47. Kammasud, Naparat; Boonyarat, Chantana; Sanphanya, Kingkan; Utsintong, Maleeruk; Tsunoda, Satoshi; Sakurai, Hiroaki; Saiki, Ikuo; Andre, Isabelle; Grierson, David S.; Vajragupta, Opa; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*; vol. 19; №. 3. 2009. P. 745 – 750

48. Ogawa; Tamada; Fujioka; Teramoto; Kondo; Yamashita; Yabuuchi; Tominaga; Nakagawa; *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*; vol. 36; № 6. 1988. P. 2253 – 2258

49. Patent; Sugan, Inc.; US6878733; (2005); (B1) English

50. Lin, Shih-Chieh; Ho, Rong-Ming; Chang, Chin-Yen; Hsu, Chain-Shu; *Chemistry - A European Journal*; vol. 18; № 29. 2012. P. 9091 - 9098.

51. Yang, Hong; Lv, You-Jing; Lin, Bao-Ping; Zhang, Xue-Qin; Sun, Ying; Guo, Ling-Xiang; *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*; vol. 52; № 8. 2014. P. 1086 - 1098

52. Vasconcelos, Ursula B.; Dalmolin, Emilene; Merlo, Aloir A.; *Organic Letters*; vol. 7; № 6. 2005. P. 1027 – 1030

53. Belin, Florence; Barthelemy, Philippe; Ruiz, Karine; Lacombe, Jean Michel; Pucci, Bernard; *Helvetica Chimica Acta*; vol. 86; nb. 2; (2003); p. 247 – 265
54. Li, Chang-Wei; Dong, Hua-Jin; Cui, Cheng-Bin; *Molecules*; vol. 20; № 2. 2015. P. 2034 – 2060
55. Das, Manisit; Senapati, Kalyan; Panda, Sayak Subhra; Bhattacharya, Prabuddha; Jana, Saibal; Mandal, Santi M.; Basak, Amit; *RSC Advances*; vol. 6; № 88. 2016. P. 85254 – 85260
56. DeVries, Vern G.; Largis, Elwood E.; Miner, Thomas G.; Shepherd, Robert G.; Upešlācis, Janis; *Journal of Medicinal Chemistry*; vol. 26; № 10. 1983. P. 1411 - 1421
57. Patent; Sterix Limited; WO2007/3934; (2007); (A2) English
58. Kaiya; Fujiwara; Kohda; *Chemical Research in Toxicology*; vol. 13; № 10. 2000. P. 993 – 1001
59. Murphy, John A.; Rasheed, Faiza; Gastaldi, Stephane; Ravishanker; Lewis, Norman. Perkin Transactions 1. *Journal of the Chemical Society*. № 10; 1997. P. 1549 – 1558
60. Hewawasam, Piyasena; Tu, Yong; Hudyma, Thomas W.; Zhang, Xiaofan; Gentles, Robert G.; Kadow, John F.; Meanwell, Nicholas A.; *Tetrahedron Letters*; vol. 55; № 6. 2014. P. 1148 – 1153
61. Vijgen, Leen; Berke, Jan Martin; Dehertogh, Pascale; Fransen, Els; Cleiren, Erna; Van Der Helm, Liesbet; Fanning, Gregory; Van Emelen, Kristof; Nyanguile, Origene; Simmen, Kenny; Raboisson, Pierre; *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*; vol. 22; № 13. 2012. P. 4437 - 4443
62. Armarego, W. L. F.; Chai, C. Purification of laboratory chemicals, 5th Edition. Elsevier: Oxford. 2003. P. 1847-1854.
63. Смирнова Т. А., Диденко Л. В., Азизбеян Р. Р. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок. Микробиология. – 2010. Т. 79, № 4. С. 435 – 446.
64. Franzo L. V., Mayer H. G., Wilson D. J. Candida albicans pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013. Vol. 4, № 2. P. 119 – 128.

65. Jacobsen I. D., Wilson D., Wachtler B. *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. *Expert. Rev. Antiinfect. Ther.* 2012. Vol. 10. P. 85 – 93.

66. White T. C., Marr K. A., Bowden R. A. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008. Vol. 11. P. 382 – 402.

Додаток А

Спектри ^1H ЯМР

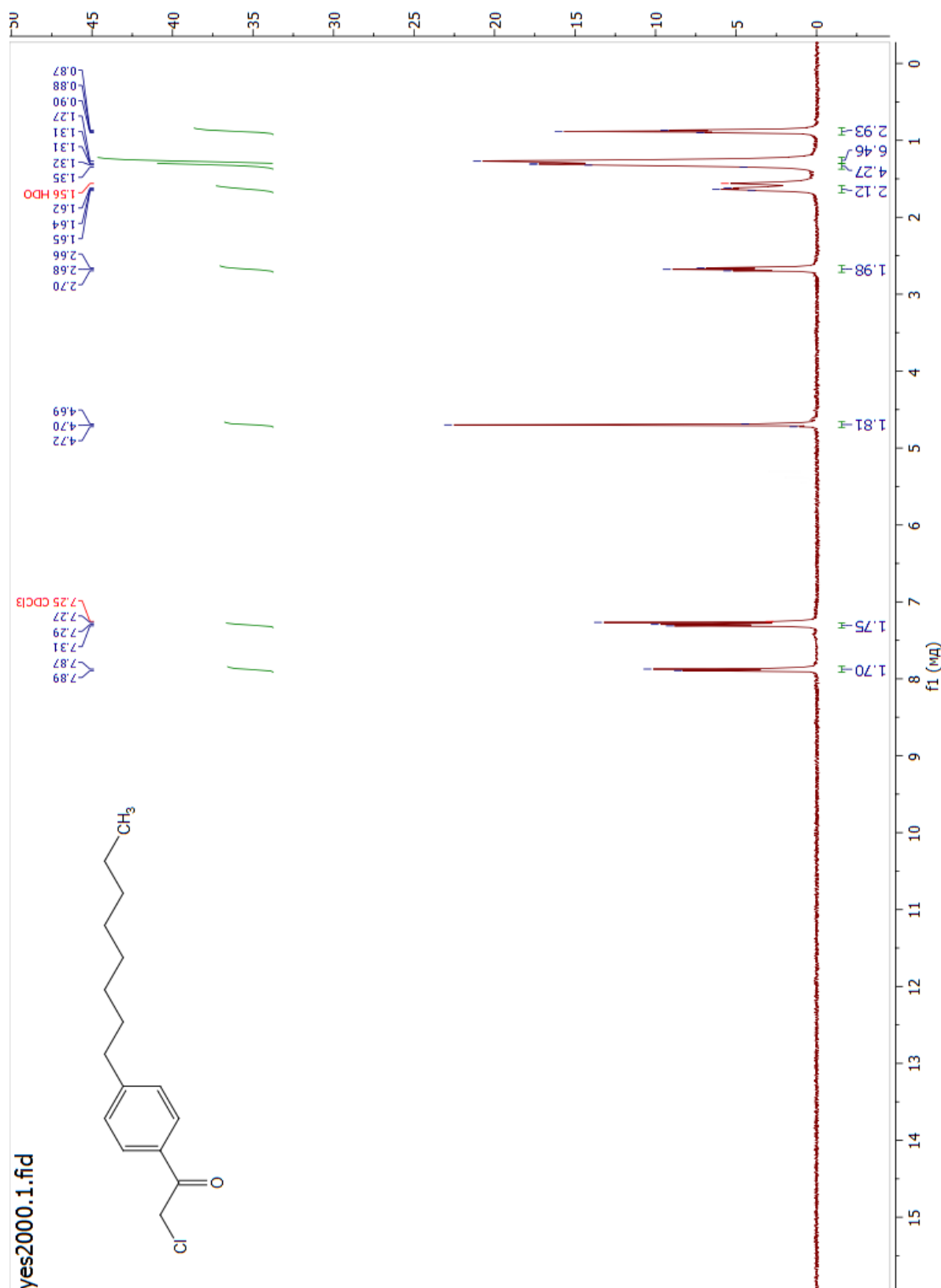


Рис. А.1 – 2-хлоро-1-(4-октилфеніл)етанон (26)

Продовження додатку А

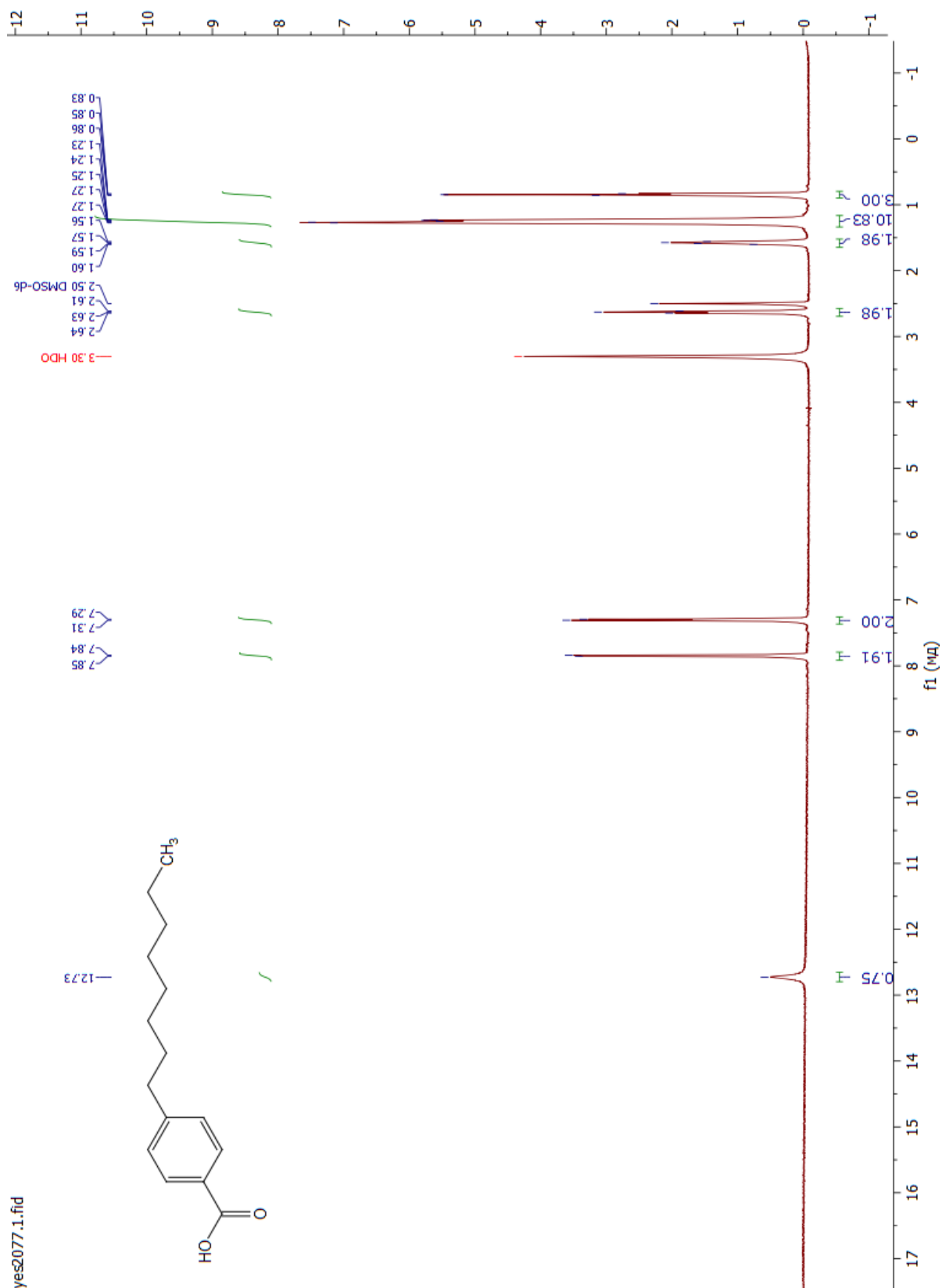


Рис. А.2. 4-октилбензойна кислота (27)

Продовження додатку А

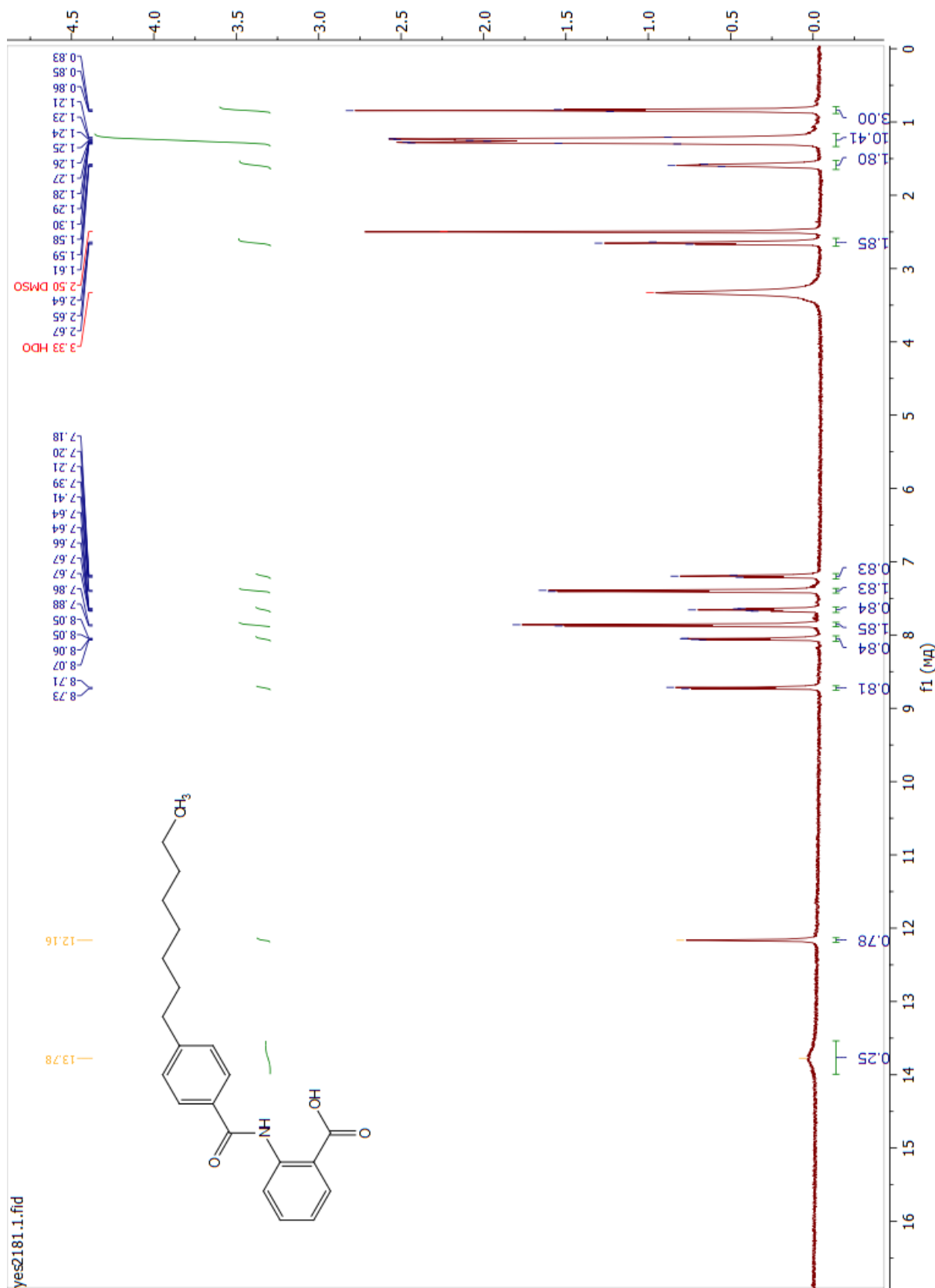


Рис. А.4. 2-(4-октилбензамідо)бензойна кислота (30)

Продовження додатку А

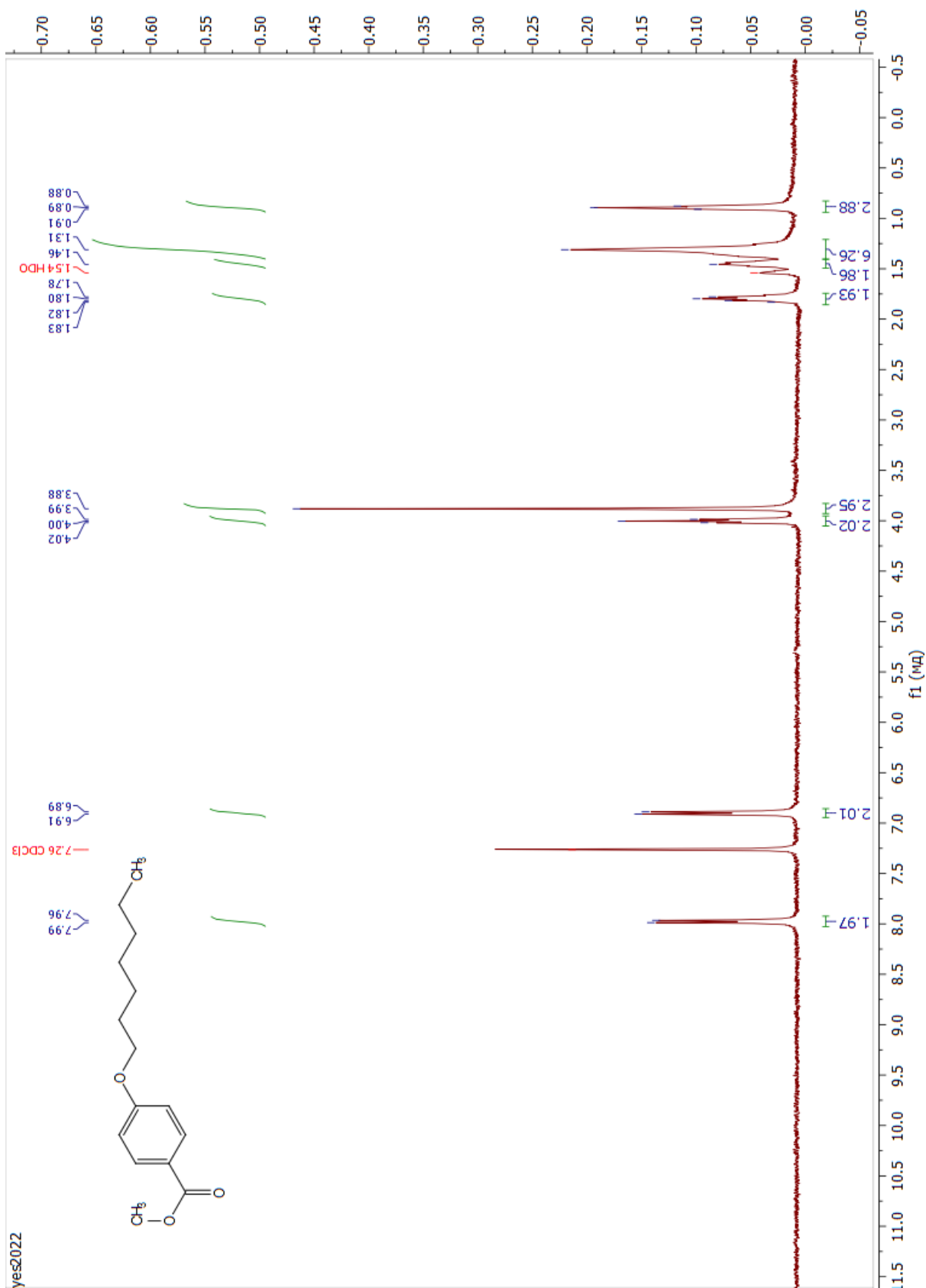


Рис. А.5. Метил 4-(гептилокси)бензоат (32)

Продовження додатку А

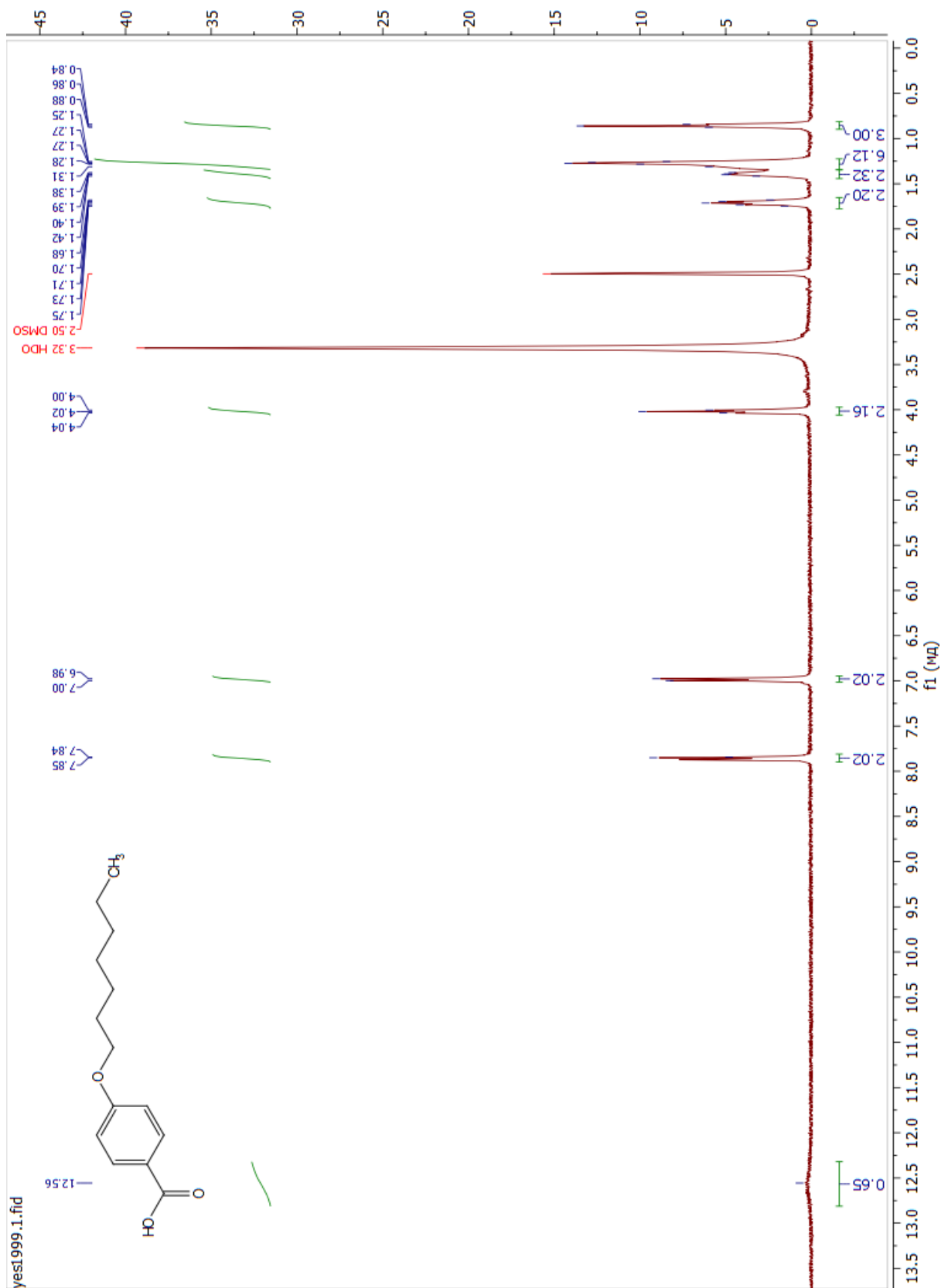


Рис. А.6. 4-(гептилокси)бензойна кислота (33)

Продовження додатку А

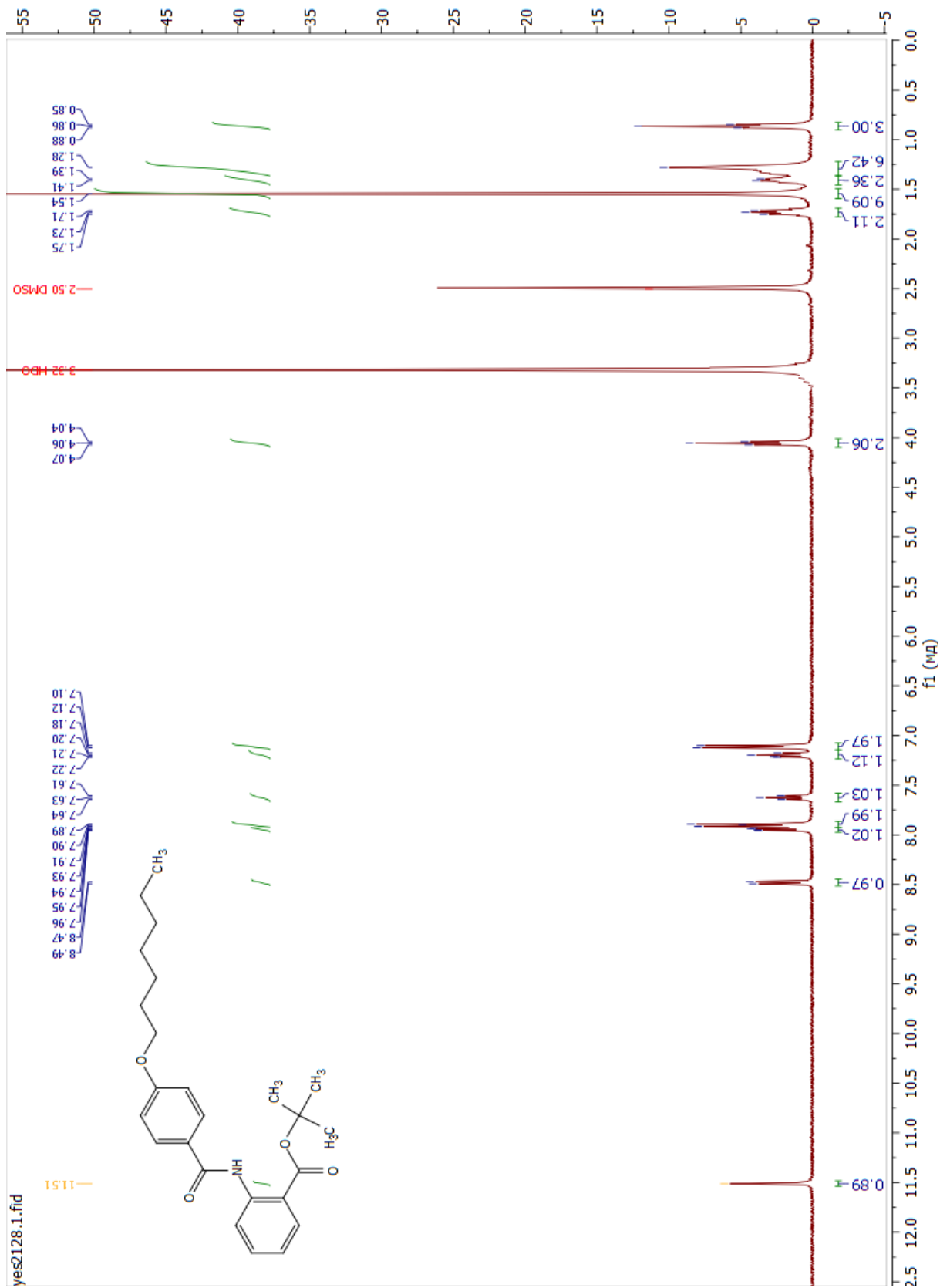


Рис. А.7. Трет-бутил 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензоат (35)

Продовження додатку А

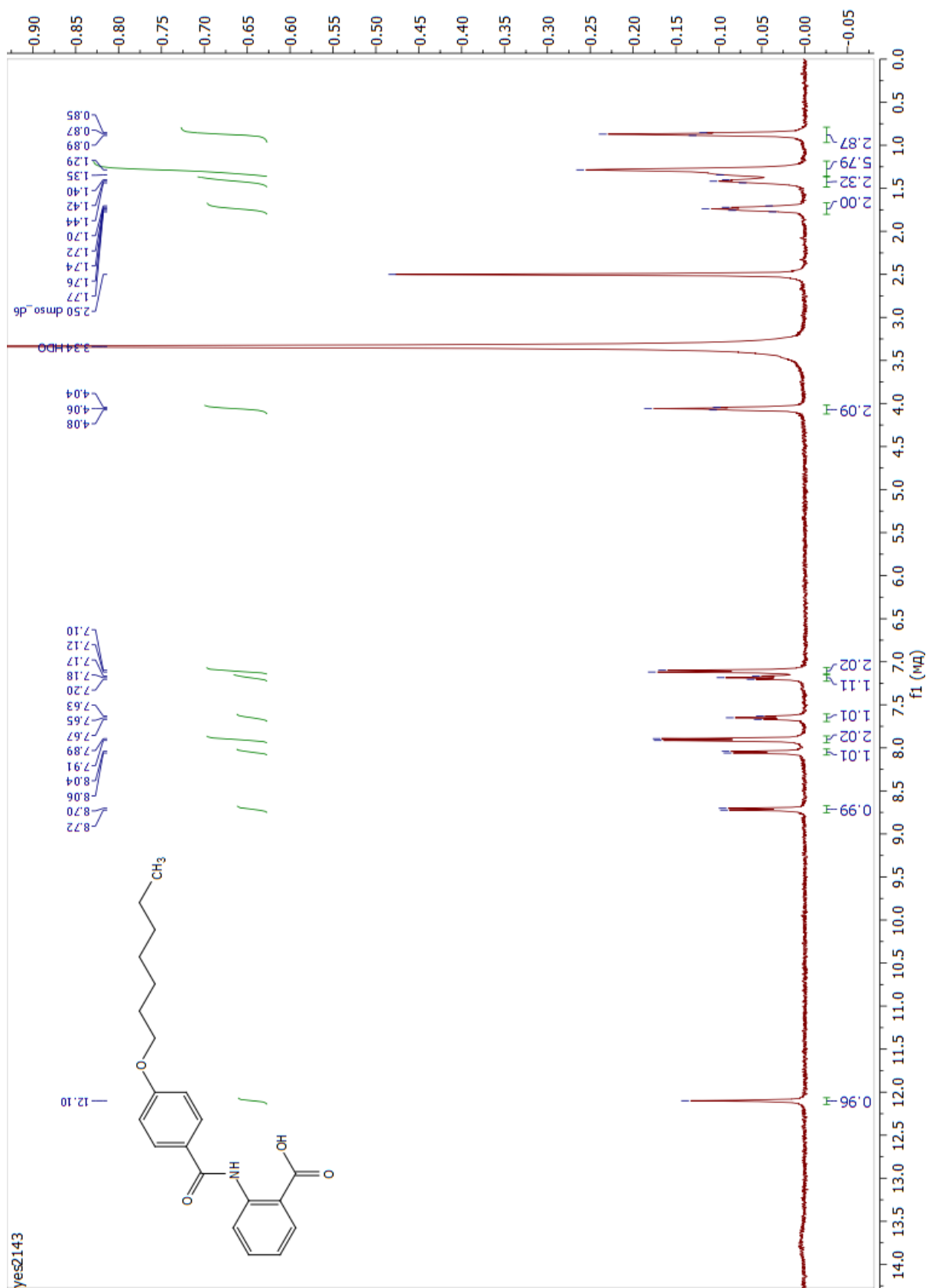


Рис. А.8. 2-(4-(гептилокси)бензамідо)бензойна кислота (36)

Продовження додатку А

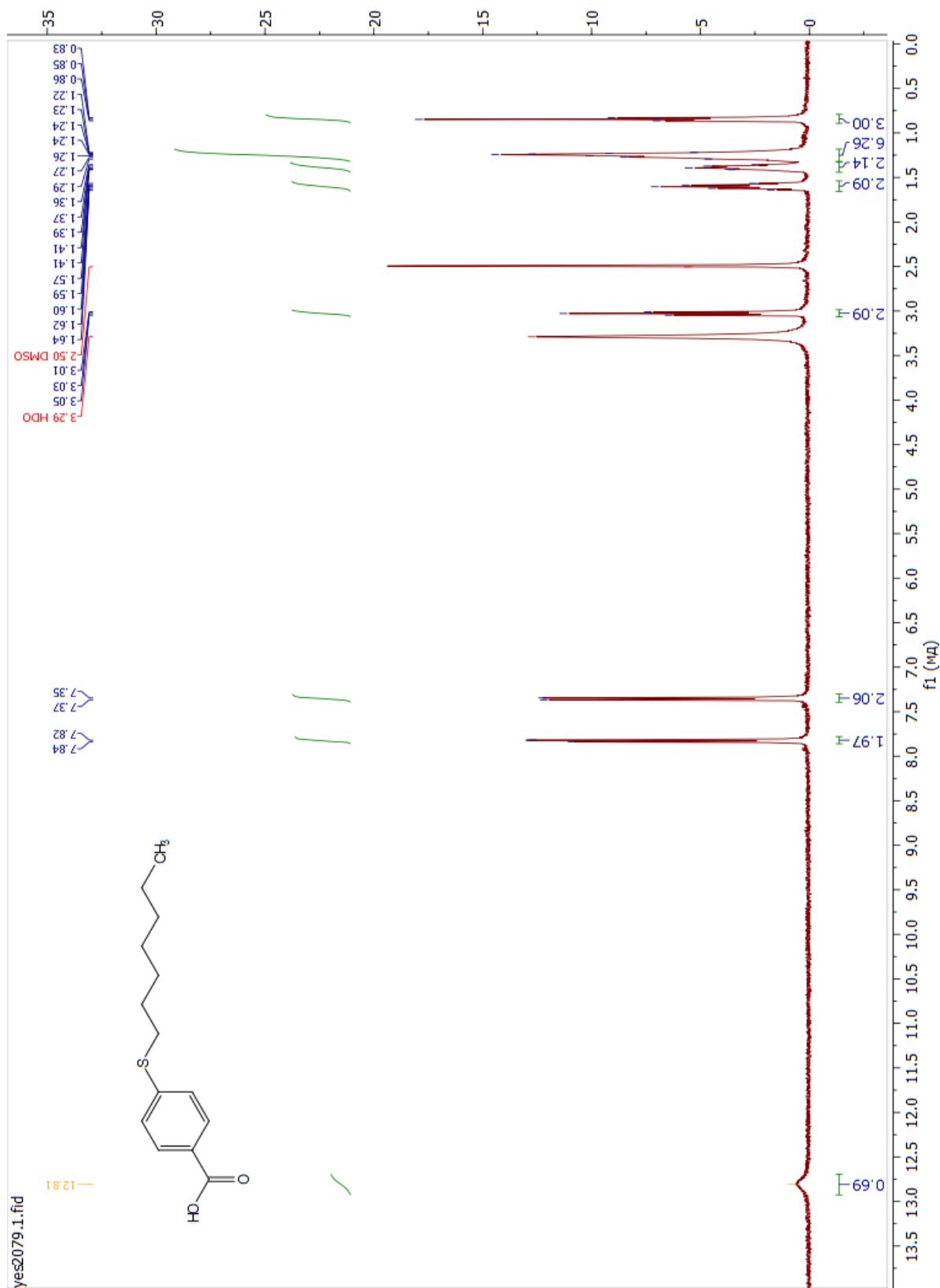


Рис. А.9. 4-(гептилсульфаніл)бензойна кислота (38)

Продовження додатку А

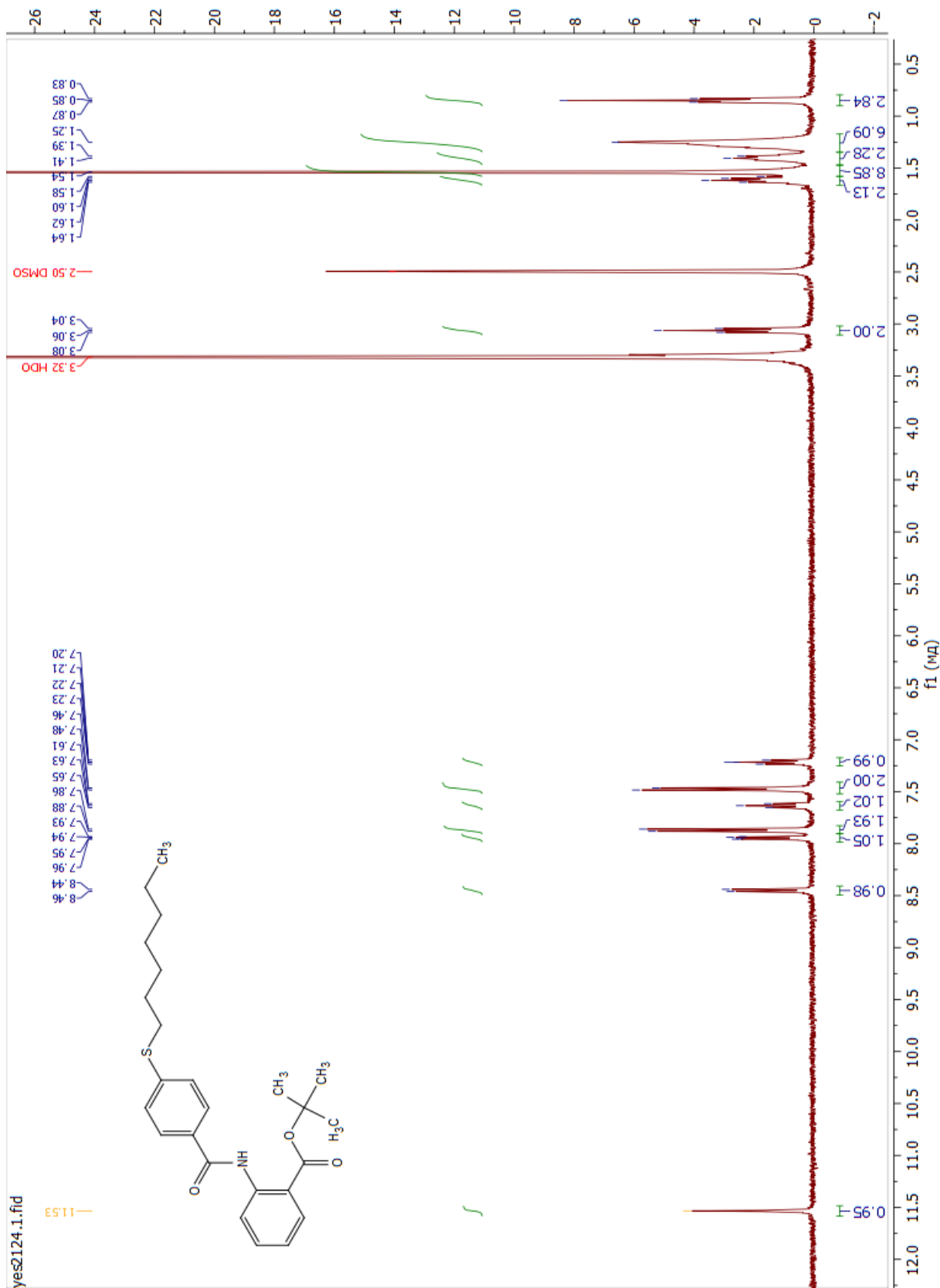


Рис. А.10. Трет-бутил 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензоат (40)

Продовження додатку А

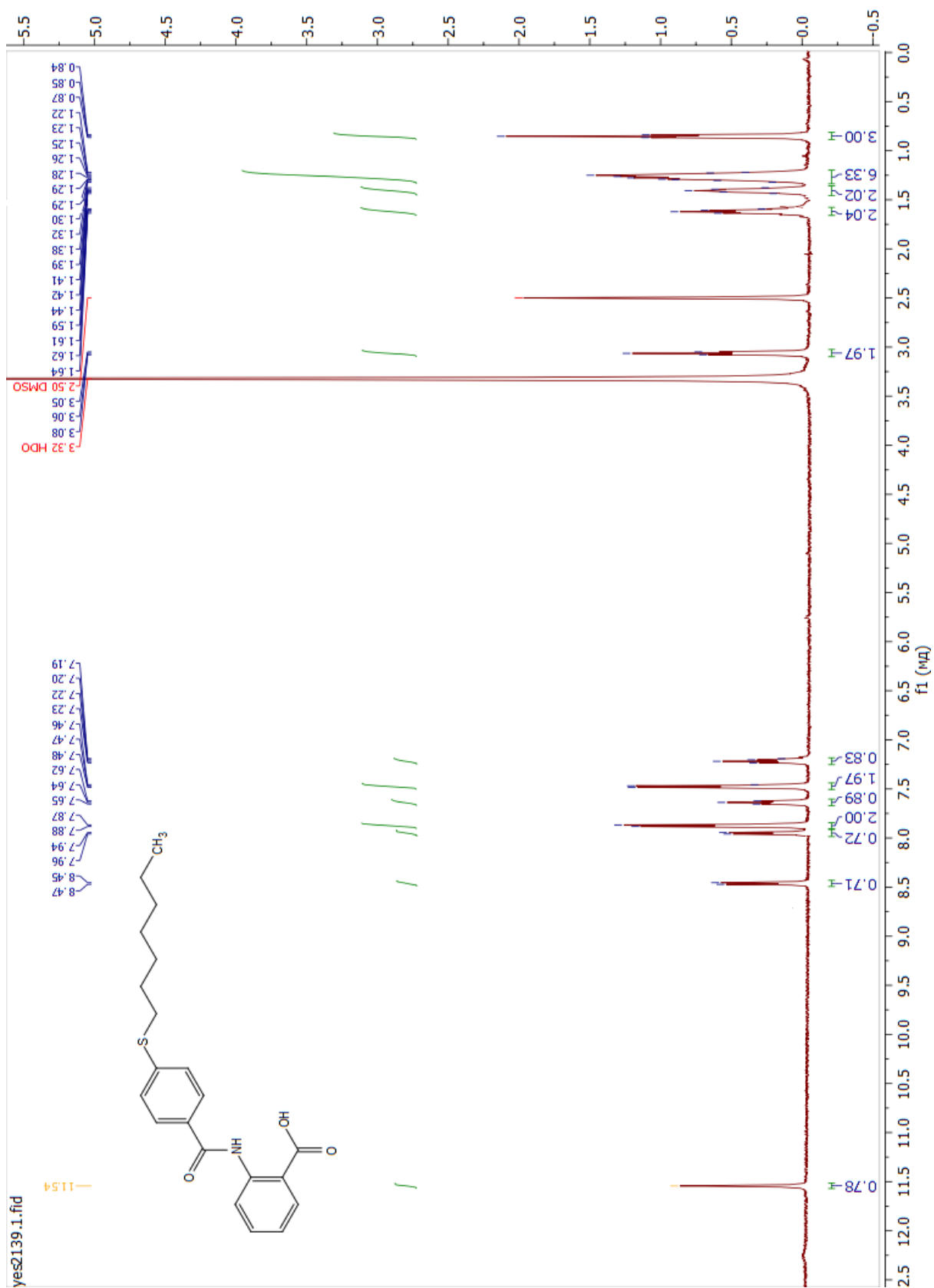


Рис. А.11. 2-(4-(гептилсульфаніл)бензамідо)бензойна кислота (41)

Додаток Б
Анкета для споживачів

Шановний споживач!

Компанія «Консервант» проводить опитування щодо визначення зацікавленості споживачів у нашій продукції. Вашій увазі пропонується відповісти на декілька запитань. Оберіть найбільш прийнятний для Вас варіант або запропонуйте власний.

Назва організації: _____

Адреса, телефон: _____

1. Чи задовольняє вас якість консервантів, які ви використовуєте?

- а) так, по всіх параметрах
- б) відносно задовольняє (є деякі скарги)
- в) ні, необхідно замінити консервант на інший

2. Якого походження консерванти, які ви закупаєте?

- а) Україна
- б) Європа
- в) Азія
- г) інші регіони

3. Чи виникають проблеми з поставками, через географічне розташування постачальників?

- а) ні, ніколи
- б) так, іноді
- в) так, доволі часто

4. Чи зацікавлені Ви в інвестуванні у проекти пов'язані зі сферою косметичного виробництва?

- а) так, інвестуємо у перспективні проекти
- б) так, але тільки якщо тематика проекту близька до нашого виробництва
- в) ні