

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ХИМИКО-
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



ЛЕВШУКОВА ПОЛИНА ОЛЕГОВНА

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К СИНТЕЗУ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,5-ТРИАЗИНА**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук, доцент
Куваева Елена Владимировна

Санкт-Петербург

2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Методы синтеза производных 1,3,5-триазины.....	12
1.2. Биологическая активность производных 1,3,5-триазины.....	21
1.2.1 Противовоспалительная активность	21
1.2.2 Противомикробная активность	22
1.2.3 Противовирусная активность	25
1.2.4 Ингибиторы карбоангидразы	26
1.2.5 Противоопухолевая активность	27
Глава 2. СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,5-ТРИАЗИНА	32
2.1. Синтез 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов	32
2.2. Синтез новых производных 1,3,5-триазины	32
2.3. Строение синтезированных производных 1,3,5-триазины	39
2.3.1. Строение продуктов реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3- оксазин-6-онов с ацетамидином	40
2.3.2. Строение продуктов реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3- оксазин-6-онов с бензамидином	44
2.3.3. Строение продуктов реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3- оксазин-6-онов с S-метилизотиомочевинной.....	48
Глава 3. ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ	75
3.1. Прогнозирование спектра биологической активности	75
3.2. Прогнозирование острой токсичности	76
3.3. Острая токсичность.....	78
3.4. Изучение противомикробной активности	80
3.5. Изучение противогрибковой активности	82
3.6. Изучение диуретической активности	84
3.7. Изучение противоопухолевой активности	89
Глава 4. ПАРАМЕТРЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ 2-ФЕНИЛ-4-(4- ХЛОРФЕНИЛ)-6-ЭТИЛ-1,3,5-ТРИАЗИНА	92

4.1. Получение первичного стандартного образца 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина	92
4.2. Подтверждение структуры	92
4.3. Определение воды	96
4.4. Подтверждение чистоты первичного стандартного образца	97
4.4.1. Остаточные органические растворители	97
4.4.2. Неорганические примеси	102
4.4.3. Родственные примеси	103
4.5. Количественное содержание 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина	105
Глава 5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	117
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	118
ПРИЛОЖЕНИЯ	130

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Производные 1,3,5-триазина важный класс гетероциклических соединений, на основе которых созданы и создаются новые лекарственные препараты. Среди них известны противомикробные средства (поназурил), стимуляторы дыхания (алмитрин), недеполяризующие миорелаксанты (изоциурония бромид), антипротозойные средства (меларсомин). Следует отметить 1,3,5-триазины, обладающие противоопухолевой активностью, которые нашли свое применение в медицинской практике за счет своей эффективности и низкой токсичности: алтретамин, использующийся при лечении рака яичников; азациитидин и децитабин, применяющиеся для лечения больных с миелодиспластическим синдромом, хроническим миеломоноцитарным лейкозом и острым миелолейкозом.

Ряд производных 1,3,5-триазина широко используется в сельском хозяйстве ввиду своих гербицидных и фунгицидных свойств (прометрин, атразин).

Известные методы получения замещенных 1,3,5-триазинов базируются, в основном, на нуклеофильном замещении атома хлора [1] или трихлорметильной группы [2] в цианурхлориде. Эти подходы многостадийны и часто дают целевой продукт с невысоким выходом [3]. В литературе известны методы трансформации 5-членных и 6-членных гетероциклических систем, которые используют для получения производных 1,3,5-триазина с разными заместителями в положении 2,4,6 с наименьшим количеством стадий. Поэтому разработка новых подходов к получению 1,3,5-триазинового цикла с разными заместителями в положениях 2,4,6, на наш взгляд, является актуальным и перспективным направлением. Фармакологические исследования новых производных обсуждаемых триазинов открывают новые горизонты в создании эффективных и безопасных лекарственных средств [4].

Степень разработанности темы исследования

Ранее в работах [5-11] Яковлева И.П., Комарова А.В., Препьялова А.В., Захса В.Э., Лалаева Б.Ю. и др. было показано, что взаимодействие 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с гидразином, метилгидразином и фенилгидразином в среде абсолютного метанола, при комнатной температуре протекает с расщеплением связи С²-О оксазинового цикла с последующей циклизацией образующихся промежуточных ациклических продуктов в 2-(1,3-дизамещенные-1,2,4-триазол-5-ил)алкановые кислоты. Черновым Н.М. [12] было впервые показано, что расщепление 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов гуанидином в присутствии эквимольного количества метилата натрия в метаноле при комнатной температуре приводит к получению производных 1,3,5-триазина. Способы получения 2,4,6-тризамещенных-1,3,5-триазинов путём рециклизации 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов двуцентровыми 1,3-бинуклеофильными компонентами: алкил- и арилимидамидами, S-метилизотиомочевинной - не описаны. Нет литературных данных и об их биологической активности.

Цель и задачи исследования

Целью работы является получение новых производных 1,3,5-триазина на основе реакции 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с алкил- и арилимидамидами, S-метилизотиомочевинной, доказательство строения полученных соединений, изучение их биологической активности. Для этого предстояло решить следующие основные задачи:

1. Разработать лабораторные способы получения новых производных 1,3,5-триазина путем рециклизации 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов двуцентровыми 1,3-бинуклеофильными реагентами: алкил- и арилимидамидами, S-метилизотиомочевинной.

2. Доказать строение и индивидуальность синтезированных соединений с помощью современных методов анализа: ЯМР-спектроскопии (¹Н и ¹³С), масс-спектрометрии, ИК-спектроскопии, элементного анализа, тонкослойной хроматографии (ТСХ).

3. Установить потенциал биологической активности полученных соединений путем компьютерного анализа с помощью программ GUSAR и PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances).

4. Определить острую токсичность и провести изучение некоторых видов биологической активности синтезированных веществ *in vitro* и *in vivo*.

5. Для соединения с наиболее оптимальным соотношением активности и безопасности – разработать параметры аттестации для первичного стандартного образца.

Научная новизна

Разработаны лабораторные методы синтеза новых производных 1,3,5-триазина. Доказано их строение и индивидуальность. Изучена острая токсичность, противомикробная, противогрибковая, диуретическая и противоопухолевая активность.

Впервые показано, что:

➤ Взаимодействие 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с 1,3-бинуклеофильными реагентами в среде пропанола в присутствии пропилата натрия, в течение 4-8 ч., приводит к получению производных 1,3,5-триазина с выходом 43-88% в пересчете на соответствующий 2,5-дизамещенный-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-он.

➤ Рециклизация 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов 1,3-бинуклеофильными реагентами в среде диметилсульфоксида (ДМСО) при температуре 95-98 °С позволила сократить время реакции до 1.0-3.5 ч. и получить целевые продукты с выходом 51-80% в пересчете на соответствующий 2,5-дизамещенный-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-он.

➤ С помощью программ GUSAR и PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) определен потенциал биологической активности полученных триазинов *in silico*: с высокой долей вероятности ($P_a \geq 0,5$) для них прогнозируется противомикробная, противогрибковая, диуретическая и противоопухолевая активность.

➤ Прогноз острой токсичности производных 1,3,5-триазинов *in silico* коррелирует с данными эксперимента *in vivo*. Полученные соединения относятся к 4 и 5 классам токсичности – малотоксичны или практически нетоксичны.

➤ 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазин обладает противоопухолевой активностью в отношении карциномы легкого человека, которая сравнима с современными эталонными лекарственными препаратами.

Теоретическая и практическая значимость

Разработаны лабораторные методы синтеза, доказано строение и индивидуальность ранее неописанных производных 1,3,5-триазина.

По результатам компьютерного скрининга, исследований *in vitro* и *in vivo* ряда синтезированных 1,3,5-триазина отобрано соединение с оптимальным соотношением активности и безопасности – 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазин, которое проявило выраженную противоопухолевую, умеренную противогрибковую и диуретическую активности. Для 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазины разработаны параметры аттестации для первичного стандартного образца.

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 29.03.2024). Результаты диссертационного исследования использованы в научно-исследовательской деятельности кафедры органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (акт внедрения от 07.05.2024).

Получено два патента: патент **2812149 С1** Российская Федерация, МПК С07D 251/24 (2006.01) А61К 31/53 (2006.01) А61Р 31/10 (2006.01). 2,4-диарил-6-алкил-1,3,5-триазины и способ их получения / П.О. Левшукова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Л.А. Тунгускова, Г.В. Ксенофонтова, Е.Н. Кириллова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2023114893; заявл. 06.06.2023; опубл. 23.01.2024; патент **2825131 С1** Российская Федерация, МПК С07D 251/24 (2006.01) А61К 31/53 (2006.01) А61Р 31/10 (2006.01). Производные 1,3,5-триазина и способ их получения / П.О. Левшукова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Л.А. Тунгускова, Т.Л. Семакова, М.В. Сопова, И.И. Тернинко; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. - № 2023114891; заявл. 06.06.2023; опубл. 21.08.2024.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось в период с 2021 по 2024 гг. Базовыми объектами являлись производные 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-оны, алкил- и арилимидамы, S-метилизотиомочевина. Теоретическую основу исследования составляли труды зарубежных и отечественных ученых по синтезу и свойствам производных 1,3,5-триазина. Методология исследования заключалась в получении ранее неописанных производных 1,3,5-триазинов, изучении их строения и биологической активности.

При проведении исследования был использован комплекс химических, биологических методов и статистическая обработка результатов.

Для доказательства строения и индивидуальности полученных в ходе исследования соединений, использованы современные физико-химические методы анализа: ИК, ЯМР-спектроскопия на ядрах ^1H , ^{13}C , масс-спектрометрия, элементный анализ, ТСХ.

Положения, выносимые на защиту

➤ Разработка лабораторных методов синтеза новых производных 1,3,5-триазина.

- Доказательство строения и индивидуальности синтезированных соединений с помощью ИК, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа, ТСХ.
- Прогноз биологической активности и токсичности полученных триазинов *in silico*.
- Изучение острой токсичности, противомикробной, противогрибковой, диуретической и противоопухолевой активностей целевых 1,3,5-триазинов *in vitro* и *in vivo*.
- Разработка первичного стандартного образца и параметров аттестации для 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина.

Личный вклад автора

Основная часть работы выполнена лично автором (не менее 95% общего объема), а именно: сбор, анализ и систематизация литературных данных; постановка цели и задач исследования; химический синтез целевых соединений; обработка и интерпретация спектральных (ИК, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии) данных; изучение острой токсичности, биологической активности; статистическая обработка полученных результатов, их обобщение и формулирование выводов; оформление патентов, написание статей, и представление докладов по теме диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: пункту 1 – Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ; пункту 2 – Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств.

Степень достоверности и апробация работы

Результаты работы представлены на II Международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент, 2021); XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2022); III Международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент, 2022); Научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы химической безопасности в сфере фармацевтической и медицинской науки и практики», посвященной 50-летию кафедры токсикологической химии (Пермь, 2022); XIII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2023); XIV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2024).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций, а также 1 статьи в издании, включенном в международные наукометрические базы данных Scopus и Web of science. Получено 2 патента РФ на изобретение.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в рамках тематики

государственного задания «Синтез, изучение строения, фармакологического действия новых биологических активных веществ или модифицированных субстанций, препаратов и разработка валидированных методик их стандартизации» (номер государственной регистрации 01201252028).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, включает 27 таблиц, иллюстрирована 71 рисунком и состоит из введения, обзора литературы по теме исследования и 4 глав собственных исследований, экспериментальной части, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложения. Список литературы включает 80 источников, в том числе 62 на иностранных языках.

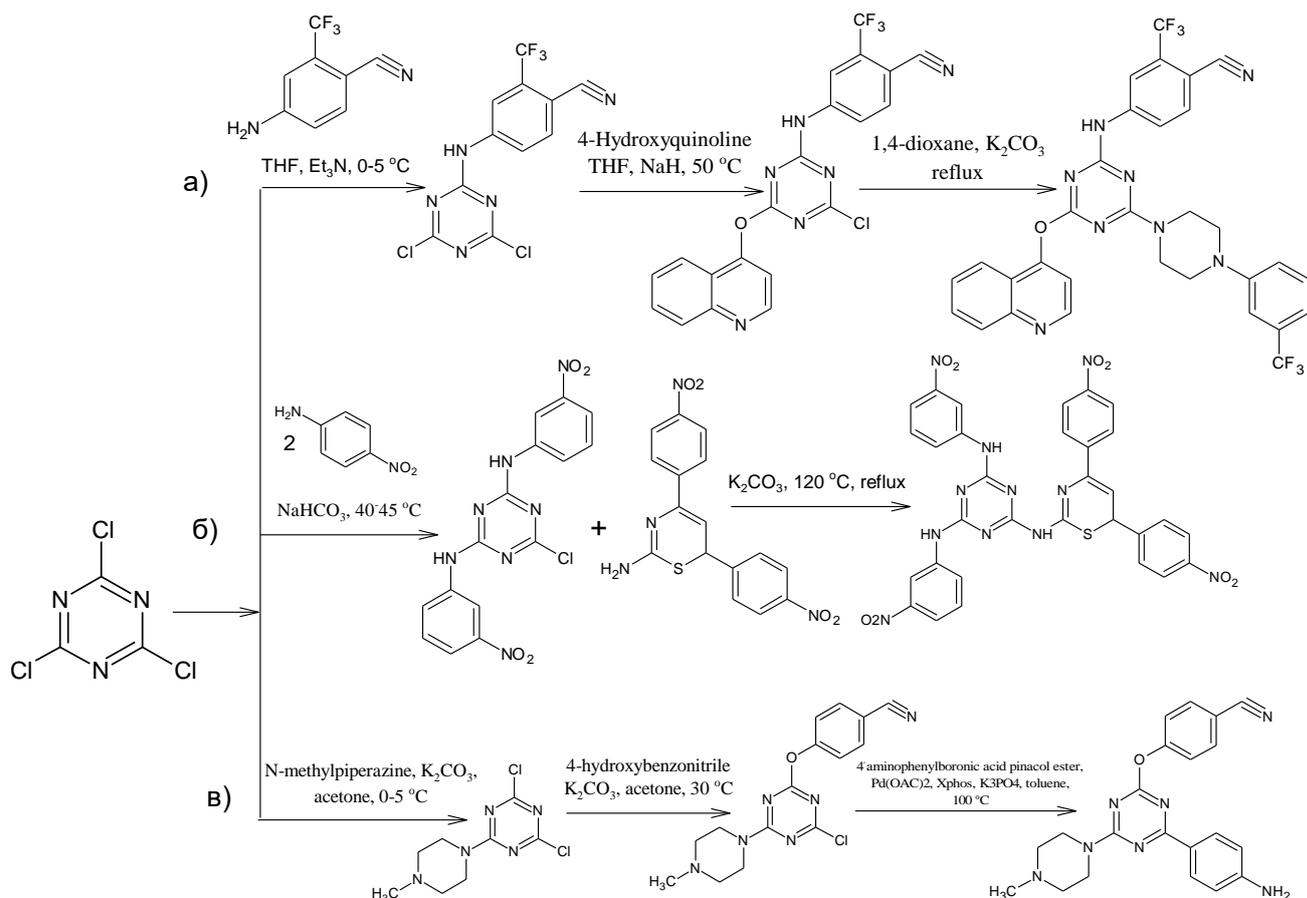


Рисунок 2. Схемы синтеза новых производных 1,3,5-триазина из цианурхлорида

Desai и др. [16] синтезировали 4-(4-(арил)амино)-6-(пиперидин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-иламино)-N-(пиримидин-2-ил) бензолсульфонамиды из цианурхлорида в три стадии. Последовательность реакций, используемая для получения целевых соединений показана на рисунке 3, схема а. На первой стадии реакция цианурхлорида с, выступающим в качестве нуклеофила 4-амино-N-(пиримидин-2-ил)бензолсульфонамидом в ацетоне, при температуре 0-5 °С в присутствии 4 % NaOH приводила к 4-(4,6-дихлор-1,3,5-триазин-2-иламино)-N-(пиримидин-2-ил)бензолсульфонамиду.

Bhat с сотр. [17] получили N-(4,6-бис((4-фторфенил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)-2-(7-хлорхиолин-4-ил)гидразинкарботиоамид. Очередность реакций, используемая для его получения, показана на рисунке 3, схема б.

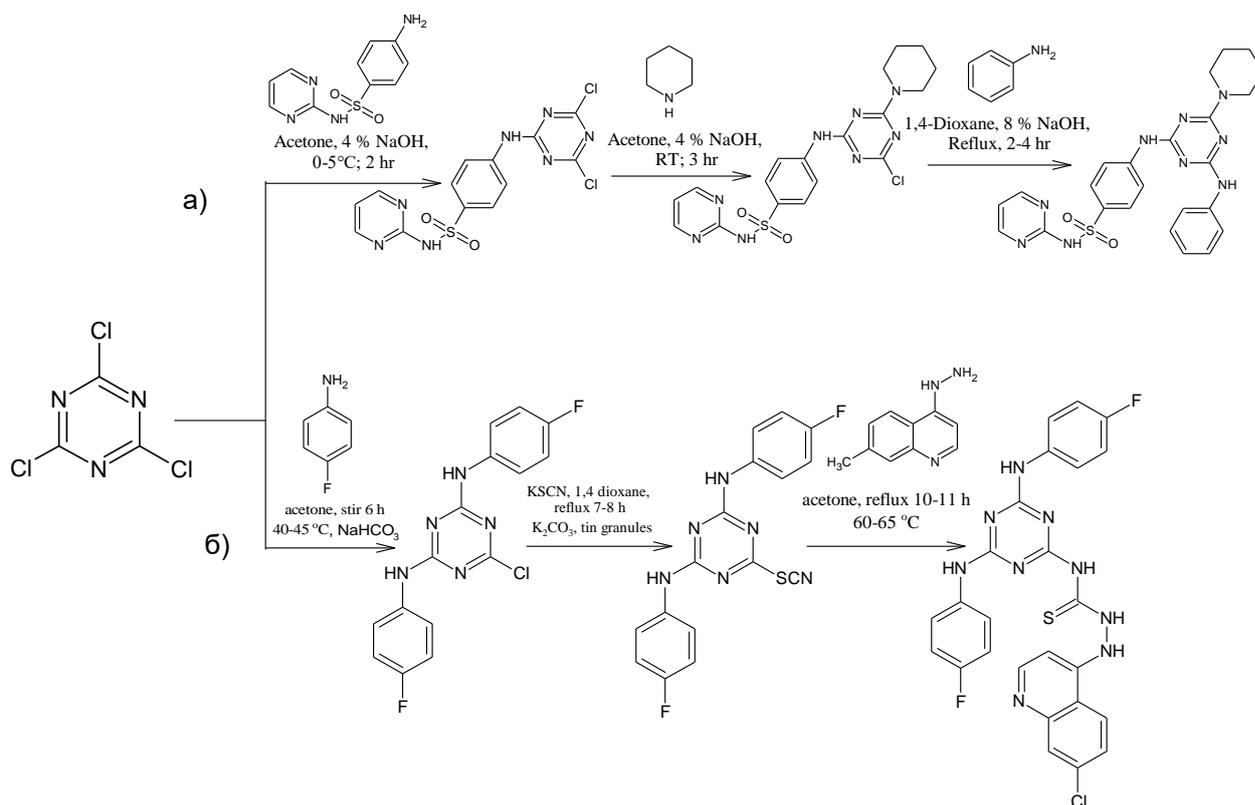


Рисунок 3. Схемы синтеза 4-(4-(арил)амино)-6-(пиперидин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-иламино)-N-(пиримидин-2-ил) бензолсульфонамида и N-(4,6-бис((4-фторфенил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)-2-(7-хлорхинолин-4-ил) гидразинкарботиоамида

Надо отметить, что данные подходы к синтезу производных 1,3,5-триазина многостадийны и часто дают конечный продукт с невысоким выходом [3].

В литературе известны методы трансформации 5-членных и 6-членных гетероциклических систем, которые используют для получения производных 1,3,5-триазина с разными заместителями в положении 2,4,6 с наименьшим количеством стадий.

Описан синтез 1,3,5-триазин-2,4-диаминов из 2-(цианоимино)-3-(диметоксиметил)тиазолидина и вторичных аминов в среде кипящего толуола в течение 46-72 часов приводящий к получению 1,3,5-триазин-2,4-диаминов и 4-метокси-1,3,5-триазин-2-амин (рисунок 4) [18].

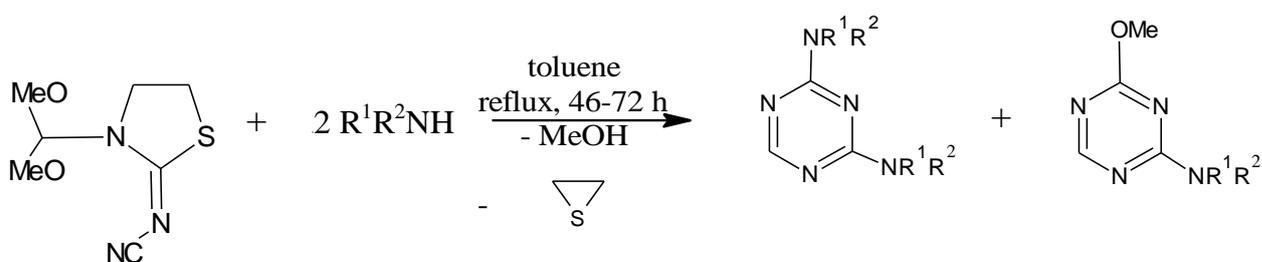


Рисунок 4. Схема синтеза 1,3,5-триазин-2,4-диамина и 4-метокси-1,3,5-триазин-2-амина

Возможно получение 1,3,5-триазинов из замещенных имидазолов. Первый метод предполагает депротонирование 2,4,5-трифенил-1H-имидазола метиллитием с последующей обработкой промежуточной соли двумя эквивалентами тозилзида в кипящем тетрагидрофуране в течение 12 часов. Выход основного продукта, 2,4,6-трифенил-1,3,5-триазина, составляет 48% (рисунок 5) [19].

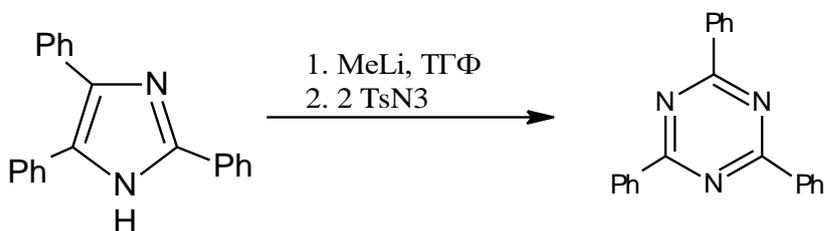


Рисунок 5. Схема синтеза 2,4,6-трифенил-1,3,5-триазина

Вторым методом расширения имидазольного кольца является превращение 4-нитрозо-2,5-дифенил-1H-имидазола, находящегося в таутомерном равновесии с оксимом, в 2-хлор-4,6-дифенил-1,3,5-триазин обработкой его пентахлоридом фосфора в среде хлороформа при температуре 0°C в течение 10 часов. Выход составляет 70% (рисунок 6) [20].

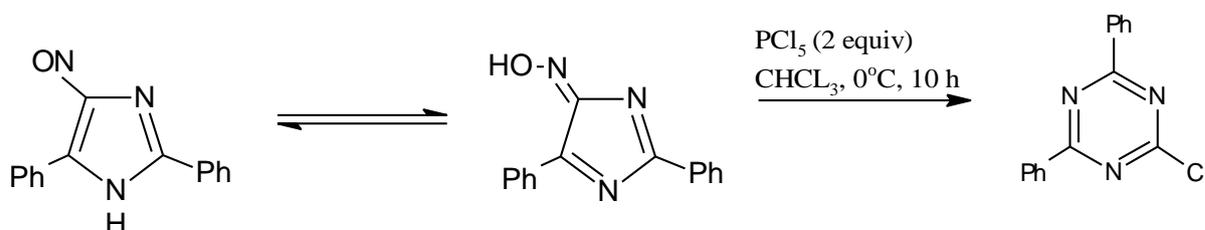


Рисунок 6. Схема синтеза 2-хлор-4,6-дифенил-1,3,5-триазина

Furukawa, M. et al. [21, 22] показали, что при обработке 3-замещенных-1-(4,5-диоксоимидазолидин-2-илиден)гуанидинов спиртами, щелочами или аминами получают производные 4,6-диамино-1,3,5-триазин-2-карбоновой кислоты с выходом 30-65% (рисунок 7).

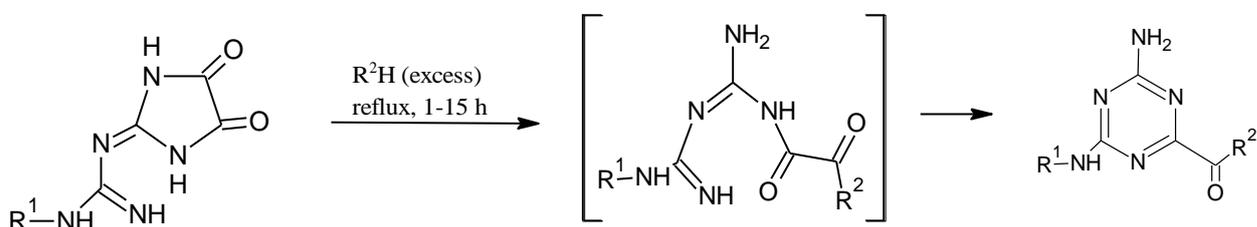
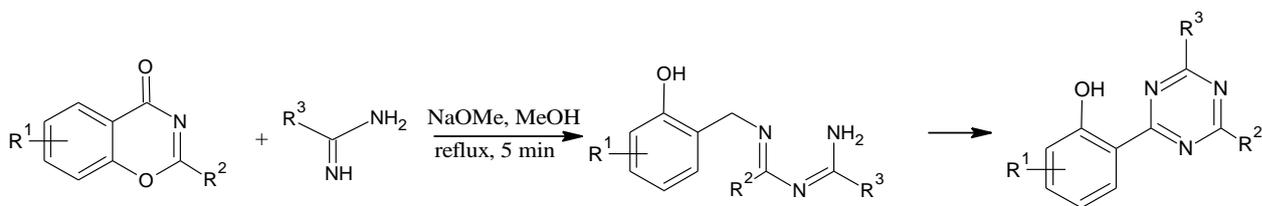


Рисунок 7. Схема синтеза производных 4,6-диамино-1,3,5-триазин-2-карбоновой кислоты

Brunetti, H. и Luethi, C. E. [23] были синтезированы 2-(2-гидроксифенил)-1,3,5-триазины, с различными заместителями в 4- и 6-положении реакцией 2-замещенных 4Н-1,3-бензоксазин-4-онов с амидинами. Реакционную массу выдерживали с обратным холодильником в среде кипящего метанола, в присутствии метилата натрия, в течение 5 минут (рисунок 8).



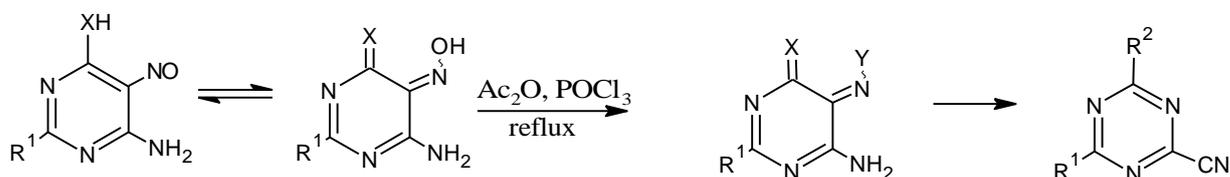
где $R_1 = \text{H}, 3\text{-Me}, 6\text{-Cl}, 5\text{-OMe}$

$R_2 = \text{OMe}, 2\text{-OH}\text{C}_6\text{H}_4, \text{H}$

$R_3 = \text{OMe}, \text{Ph}, \text{Me}, \text{Et}, \text{SMe}, \text{CH}_2\text{Cl}$

Рисунок 8. Схема синтеза (2-гидроксифенил)-1,3,5-триазинов

Примером превращения пиримидинов в триазины является реакция 5-нитропириимидин-4-аминов с хлоридами или ангидридами кислот с получением 1,3,5-триазин-2-карбонитрилов [24]. Ангидриды вступают в реакцию с таутомерной оксимной формой исходного пиримидина с образованием целевого 2-карбонитрила по следующей схеме (рисунок 9).



где $R_1 = \text{SMe}, \text{Ph}, \text{NH}_2$

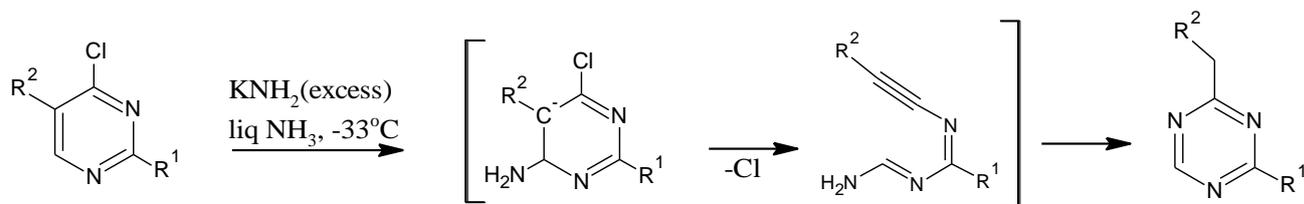
$R_2 = \text{NHAc}, \text{OH}, \text{Cl}$

$X = \text{NH}, \text{O}$

$Y = \text{OAc}, \text{OCOCF}_3, \text{Cl}$

Рисунок 9. Схема синтеза 1,3,5-триазин-2-карбонитрила

Описано получение 2-метил-1,3,5-триазинов обработкой амидом калия в жидком аммиаке соответствующих 2-замещенных 4-хлорпириимидинов при температуре -33°C (рисунок 10) [25-29].



$R^1 = \text{Me, Ph, NMe}_2, 2\text{-naphthyl}$

$R^2 = \text{H, Ph}$

Рисунок 10. Схема синтеза 2-метил-1,3,5-триазина

Schmidt R. R., Shibuya I., в своих работах [30] показали, что оксониевая или тиониевая группы в солях 2,4,6-триарил-1,3,5-оксадиазиния или 1,3,5-тиадиазиния легко замещаются азотом при обработке концентрированным аммиаком с образованием 2,4,6-триарил-1,3,5-триазинов с высоким выходом (рисунок 11).

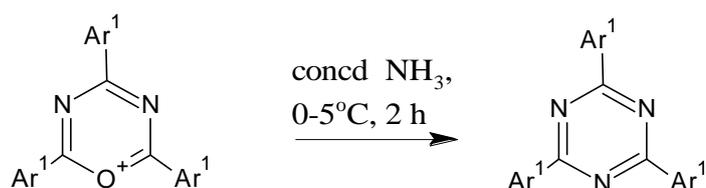


Рисунок 11. Схема синтеза 2,4,6-триарил-1,3,5-триазина путем аммонолиза солей 1,3,5-оксадиазиния

Shibuya I. [31] в дальнейшем получил 4,6-дифенил-1,3,5-триазин-2(1H)-он ($X = \text{O}$) и его тиоаналог ($X = \text{S}$) с приемлемым выходом плавлением смеси 2,4,6-трифенил-1,3,5-оксадиазиния перхлората и мочевины или тиомочевины (рисунок 12).

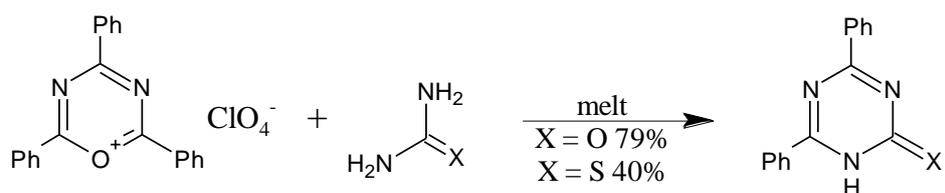


Рисунок 12. Схема синтеза 1,3,5-триазин-2(1H)-(ти)она

Перегруппировка 1,2,4-триазинов в изомерные 1,3,5-триазины происходит в условиях интенсивной термической обработки [32] или облучения [33], или требует добавления реагента, такого как амид калия [34], бензамидин [35] или цианамиды [36].

Figeys H. P., Mathy A. предложили новый способ получения 2,4,6-трифенил-1,3,5-триазина [35]. Метод основан на взаимодействии бензолкарбосимидамида с 5-фенил-1,2,4-триазином в среде кипящего толуола в течение 72-90 ч. Выход целевого продукта составил 66% (рисунок 13).

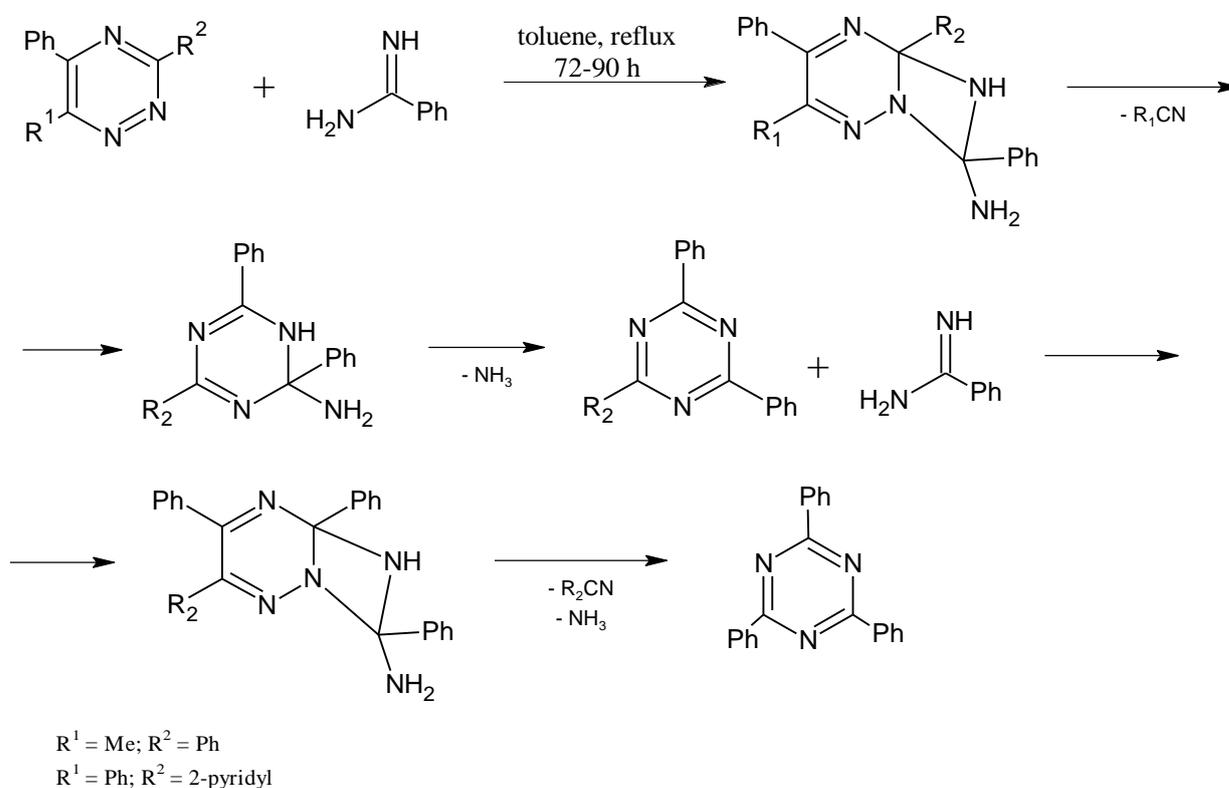


Рисунок 13. Схема синтеза 2,4,6-трифенил-1,3,5-триазина.

Описана рециклизация 4,6-диарил-1,2,3,5-оксатриазин-2,2-диоксидов амидинами, имидатами или родственными реагентами с образованием 2-замещенных 4,6-диарил-1,3,5-триазинов [37]. В ходе реакции фрагмент S—O в гетероцикле заменяется фрагментом C=N. Выход целевого продукта - 37-77% (рисунок 14).

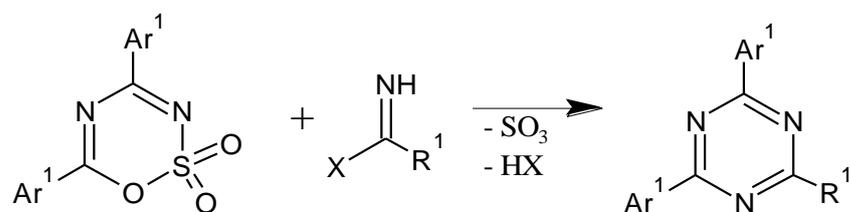


Рисунок 14. Рециклизация 4,6-диарил-1,2,3,5-оксатиадiazин-2,2-диоксидов амидинами

Одним из методов получения производных 1,3,5-триазина **2a,b** является рециклизация производных 1,3,5-оксадиазина **1a,b**, осуществляемая кипячением в метанольно-щелочном растворе. Выход составляет 82-88% (рисунок 15) [38].

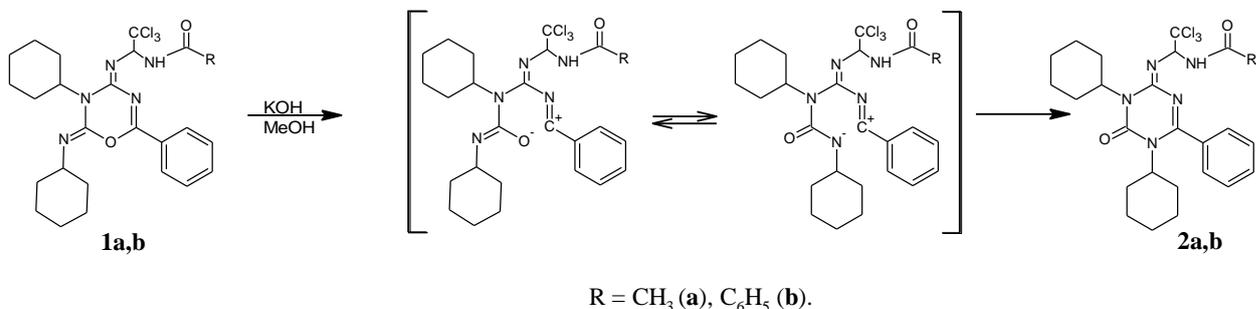


Рисунок 15. Схема синтеза производных 1,3,5-триазина из производных 1,3,5-оксадиазина

В научно-технической литературе описаны 2,4,6-тризамещенные-1,3,5-триазины, синтез которых осуществляли расщеплением 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов гуанидином гемисульфатом в присутствии эквимолярного количества метилата натрия в метаноле при комнатной температуре в течение 24–48 ч (рисунок 16) [12].

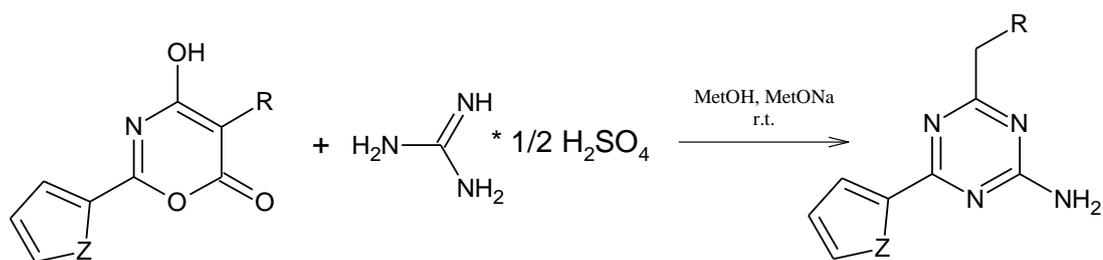


Рисунок 16. Схема синтеза 2,4,6-тризамещенных-1,3,5-триазинов

Где: R = CH₃, Z = O (4-(фуран-2-ил)-6-этил-1,3,5-триазин-2-амин);

R = CH₃, Z = N (4-(пиррол-2-ил)-6-этил-1,3,5-триазин-2-амин);

R = C₄H₉, Z = O (4-пентан-1-ил-6-(фуран-2-ил)-1,3,5-триазин-2-амин);

R = C₄H₉, Z = N (4-пентан-1-ил-6-(пиррол-2-ил)-1,3,5-триазин-2-амин);

R = C₆H₅, Z = O (4-бензил-6-(фуран-2-ил)-1,3,5-триазин-2-амин);

R = C₆H₅, Z = N (4-бензил-6-(пиррол-2-ил)-1,3,5-триазин-2-амин).

1.2. Биологическая активность производных 1,3,5-триазина

1.2.1. Противовоспалительная активность

Исследования Rainer Gewald et al. [39] показали, что 2-этил-2-{{4-(метиламино)-6-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил}амино}бутаннитрил (рисунок 17) проявил себя в качестве сильного и селективного ингибитора фосфодиэстеразы 4 типа (ФДЭ-4). Угнетение данного фермента способствует поддержанию высоких внутриклеточных уровней циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), снижается активность воспалительных функций клеток, что играет значительную роль при лечении хронической обструктивной болезни легких.

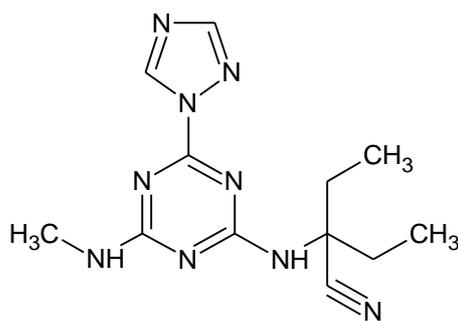


Рисунок 17. 2-этил-2-{{4-(метиламино)-6-(1H-1,2,4-триазол-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил}амино}бутаннитрил

Lawewska et al. [40] синтезировали 4-(4-метилпиперазин-1-ил)-6-(4-хлорфенил)-1,3,5-триазин-2-амин (рисунок 18), который проявлял противовоспалительную активность.

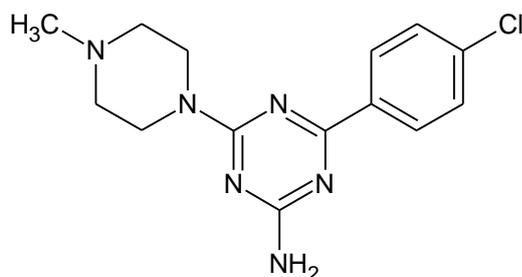


Рисунок 18. 4-(4-метилпиперазин-1-ил)-6-(4-хлорфенил)-1,3,5-триазин-2-амин

Guan В. и Jiang С. [41] описали 4-[4-(4-хлорфенил)пиперазин-1-ил]метил-N-(4-метил-6-((4-(тиазол-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)бензамид (рисунок 19), улучшающие двигательную функцию крыс в связи со снижением воспаления и отека в спинном мозге.

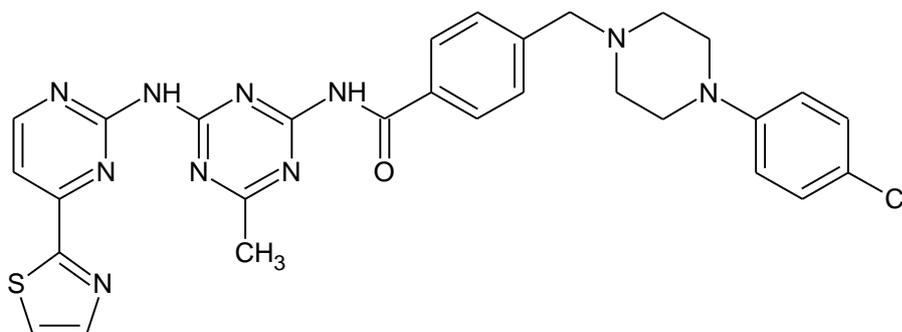


Рисунок 19. 4-[4-(4-хлорфенил)пиперазин-1-ил]метил-N-(4-метил-6-((4-(тиазол-2-ил)пиримидин-2-ил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)бензамид

1.2.2. Противомикробная активность

Singh et al. [42, 43] в своих работах изучали противогрибковую активность производных 1,3,5-триазина (рисунок 20) в отношении *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus neoformans* и *Aspergillus niger*. Авторы пришли к выводу, что введение в структуру диморфолинового заместителя приводило к значительному увеличению биологической активности.

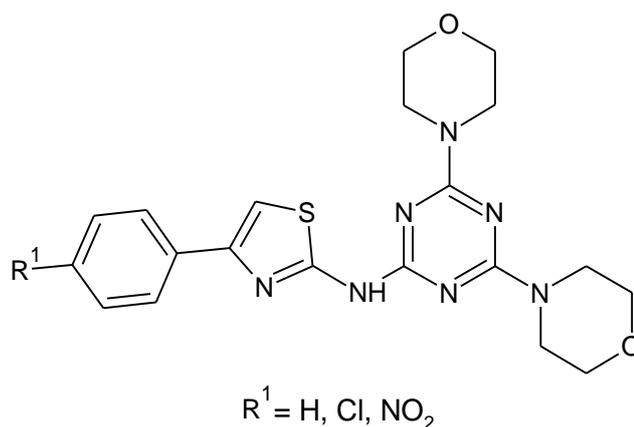


Рисунок 20. 2,4-бис[(морфолин-4-ил]-6-(4-(4-замещенный фенил)тиазол-2-ил)-1,3,5-триазин-2-амин

В продолжение своих исследований, Singh, Gahtori et al. [44] синтезировали новые производные 1,3,5-триазина (рисунок 21), имеющие в своем строении ароматические амины. Исследование взаимосвязи «структура-активность» в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий показало, что соединения, имеющие электроноакцепторные группы (NO₂, Cl, Br, F) проявляли высокий уровень антибактериальной активности. Было сделано заключение, что наличие нитрогруппы приводило к увеличению активности по сравнению с другими соединениями ряда.

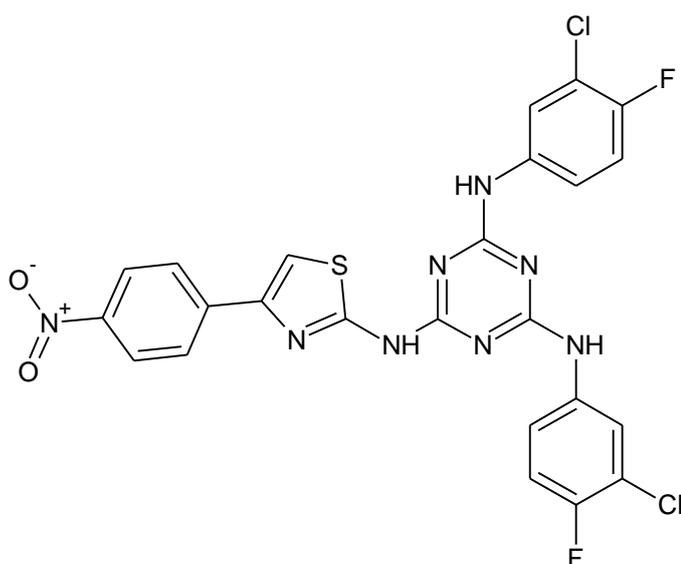


Рисунок 21. 2,4-бис(3-хлор-4-фторфенил)-6-(4-(4-нитрофенил)тиазол-2-ил)-1,3,5-триазин-2,4,6-триамин

Описан 4-[(4-метокси-6-(4-(4-метоксифенил)пиперазин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил)амино]бензонитрил (рисунок 22), который активен в отношении грамположительных, грамотрицательных бактерий и *M. tuberculosis* [45].

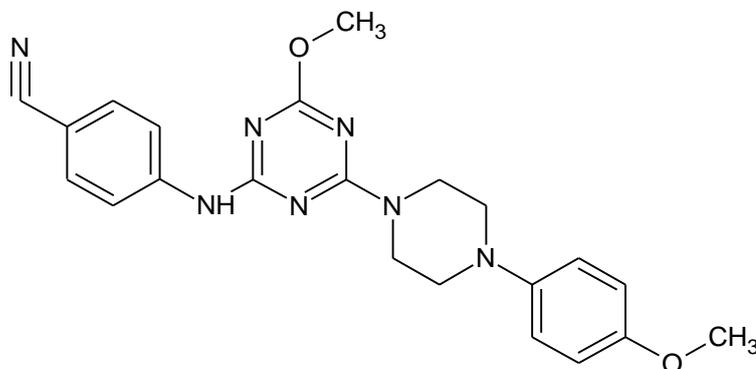


Рисунок 22. 4-[(4-метокси-6-(4-(4-метоксифенил)пиперазин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил)амино]бензонитрил

Из научно-технической литературы известен этил-4-((4-пиперидин-1-ил)-6-((4-(N-(пиримидин-2-ил)сульфамоил)фенил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)амино)бензоат (рисунок 23) [46], проявляющий противомикробную активность в отношении *P. aeruginosa*.

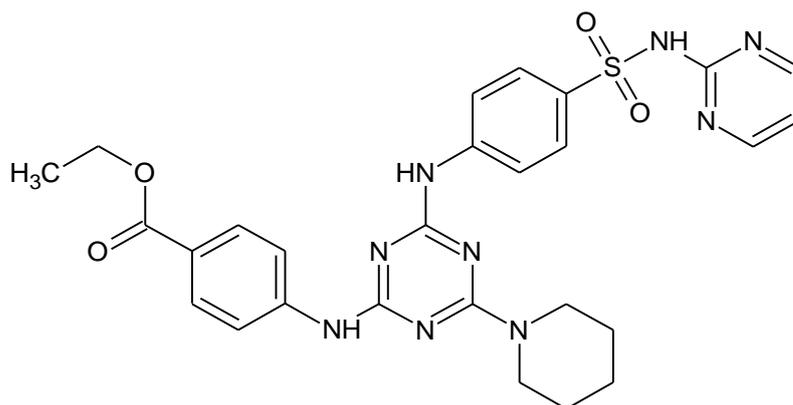


Рисунок 23. Этил-4-((4-пиперидин-1-ил)-6-((4-(N-(пиримидин-2-ил)сульфамоил)фенил)амино)-1,3,5-триазин-2-ил)амино)бензоат

Rajanarendar et al. [47] синтезировали производные 1-(5-метилизоксазол-3-ил)-3,6-диарил-4-тио-1,3,5-триазин-2-она (рисунок

24), которые впоследствии были изучены в качестве потенциальных противомикробных средств. Эти соединения показали хорошую антимикробную активность в отношении *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, and *S. typhi*.

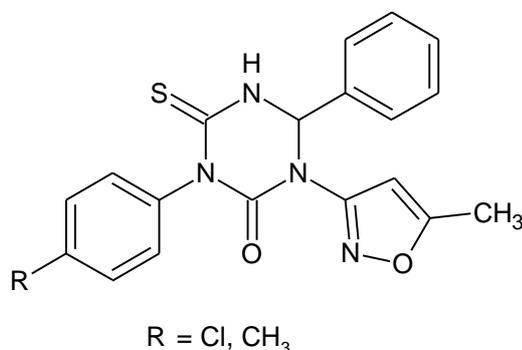


Рисунок 24. 1-(5-метилизоксазол-3-ил)-3,6-диарил-4-тио-1,3,5-триазин-2-он

1.2.3. Противовирусная активность

В литературе описаны 4-(1,3,5-триазин-2-ил)аминобензолсульфамиды (рисунок 25), для которых была доказана противовирусная активность в отношении HIV-1[48].

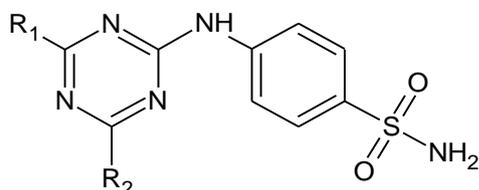


Рисунок 25. Производные 4-(1,3,5-триазин-2-ил)аминобензолсульфамида

Был синтезирован ряд производных триазолил-1,3,5-триазинов (рисунок 26), фармакологический профиль которых был определен в отношении альфа-герпес вируса человека-1 (HSV-1). Показано, что активность в отношении вируса повышается при введении в структуру триазола заместителя R¹. Электронная природа заместителя R² значительного влияния на биологическую активность не оказывала [49].

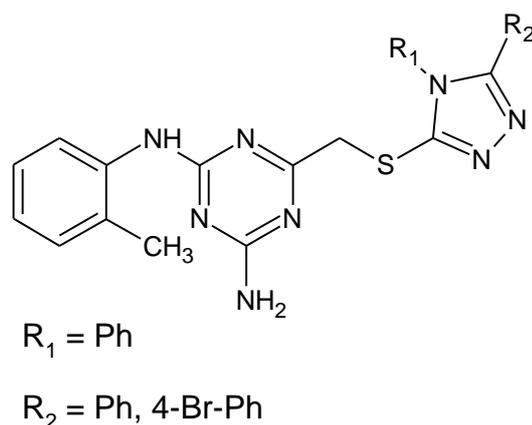


Рисунок 26. 2-амино-4-ариламино-6-(бензимидазол-2-илтио)метил-1,3,5-триазины

Описаны производные 1,3,5-триазина (рисунок 27), которые проявляли умеренную ингибирующую активность против ВИЧ-1 [50].

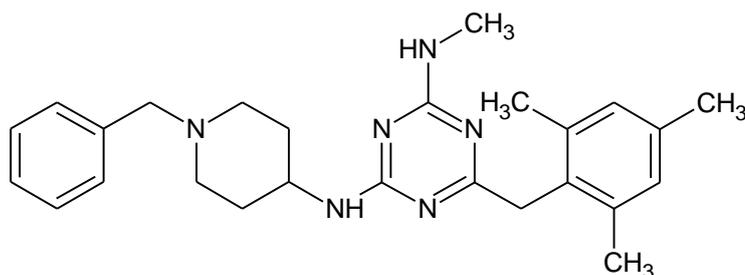


Рисунок 27. Ингибитор ВИЧ-1 из ряда 1,3,5-триазинов

1.2.4. Ингибиторы карбоангидразы

Ингибиторы карбоангидразы (ИКА) — это диуретики с широким спектром применения, включая идиопатическую внутричерепную гипертензию, отеки, вызванные сердечной недостаточностью с застойными явлениями, центрэнцефальную эпилепсию, а также лечение повышенного внутриглазного давления.

Garaj et al. [51] был синтезирован новый сульфаниламид (рисунок 28), содержащий 1,3,5-триазиновый фрагмент, который проявил себя в качестве потенциального ингибитора цитозольных и ассоциированных с опухолью изоферментов карбоангидразы I и II.

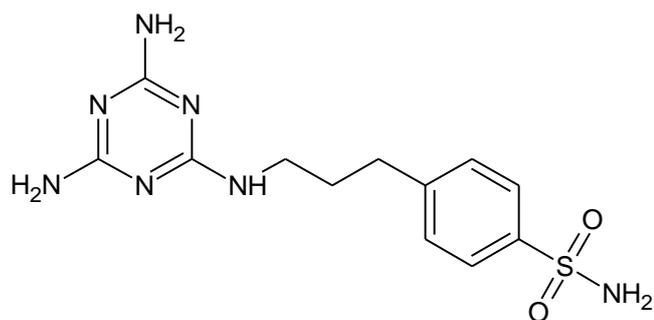


Рисунок 28. 4-{3-[(4,6-диамино-1,3,5-триазин-2-ил)амино]пропил}бензолсульфамид

В дальнейшем его структура была модифицирована (рисунок 29), что позволило получить соединение с высокой степенью ингибирования карбоангидразы IX [52].

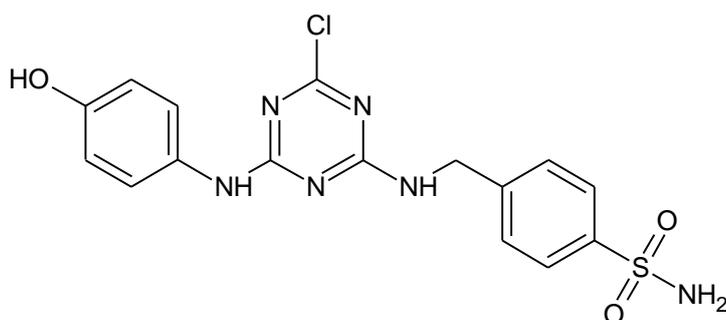


Рисунок 29. 4-[(4-{4-[(4-гидроксифенил)-6-хлорамино]-1,3,5-триазин-2-ил)амино}метил]бензолсульфамид

1.2.5. Противоопухолевая активность

В настоящее время большое количество исследований производных 1,3,5-триазина направлено на изучение их биологической активности в отношении различных протеинкиназ, таких как топоизомеразы, тирозинкиназы, фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), НАДФ⁺-зависимые изоцитратдегидрогеназы (IDH) и циклинзависимые киназы (CDK) [53].

Venkatesan и соавторы [54, 55] описали ряд производных мономорфолинотриазина, содержащий 3-окса-8-азабицикло[3.2.1]октан, которые продемонстрировали мощное двойное ингибирование PI3K/mTOR при пероральном приеме (рисунок 30).

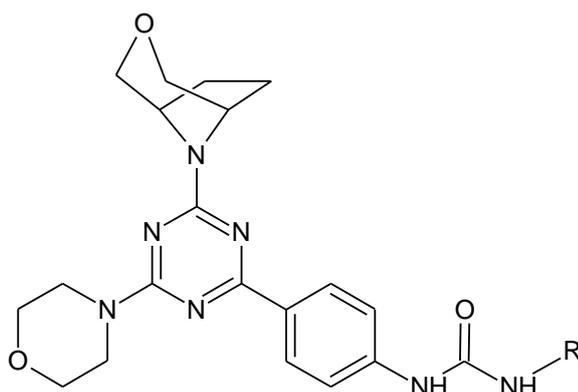


Рисунок 30. Производное моно-морфолинотриазина

Westwell и соавторы [56] синтезировали ряд триазинозамещенных карбогидразидов и карбоксамидов и провели оценку их биологической активности в качестве потенциальных противоопухолевых агентов, направленных на Rad6B в клеточных линиях рака молочной железы человека MDA-MB-231 и MCF-7. Исследования показали, что 4-амино-N-(2-метоксибензил)-6-(2-метоксифениламино)-1,3,5-триазин-2-карбоксамид (рисунок 31) является наиболее активным соединением в отношении клеточной линии MCF-7 и с умеренной активностью в отношении MDAMB-231.

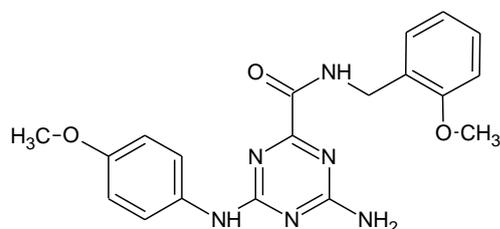


Рисунок 31. Структурная формула 4-амино-N-(2-метоксибензил)-6-(2-метокси-фениламино)-1,3,5-триазин-2-карбоксамида

Исследования Saczewski и др. [57] показали, что производные 2-амино-4-(3,5,5-триметил-2-пиразолино)-1,3,5-триазина (рисунок 32) вызывают значительное ингибирование роста различных линий опухолевых клеток, причем соединение с 5-нитротииенильным заместителем (Б) оказывает больший фармакологический эффект, чем с бромметильным заместителем в

положении 6 (А). Также было установлено, что удаление нитрогруппы приводит к потере противоопухолевой активности (В).

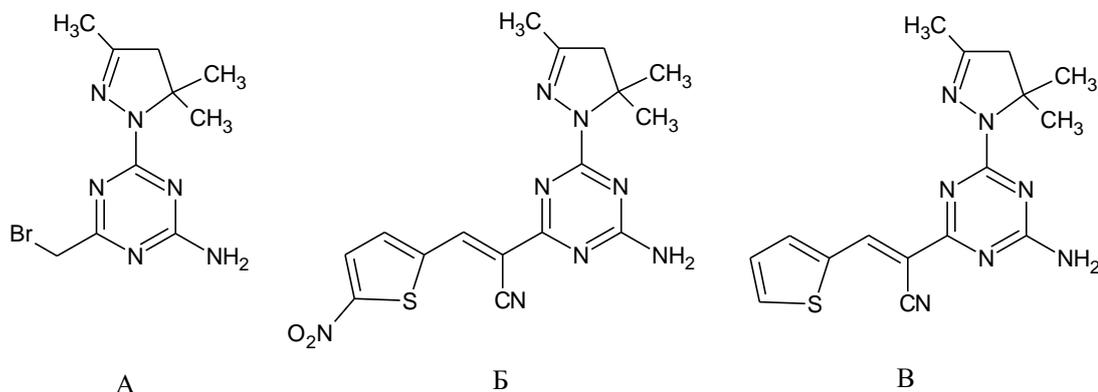


Рисунок 32. Производные 2-амино-4-(3,5,5-триметил-2-пиразолино)-1,3,5-триазина

Perdih и др. [58-60] получили ряд 4,6-замещенных производных 1,3,5-триазин-2(1H)-она, которые продемонстрировали ингибирующую активность в отношении топоизомеразы II. При этом было установлено, что соединения, имеющие в своем строении электроноакцепторные заместители, проявляли более выраженный цитотоксический эффект в раковых клетках. Наибольшую ингибирующую активность в отношении топоизомеразы II человека продемонстрировали соединения А и Б (рисунок 33).

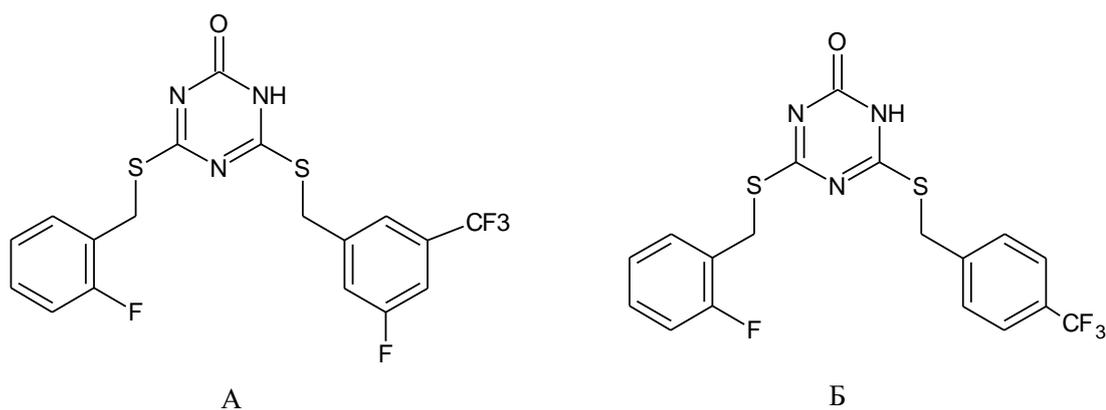


Рисунок 33. 4,6-замещенные производные 1,3,5-триазин-2(1H)-она

Первым противоопухолевым лекарственным препаратом, имеющим в своей структуре 1,3,5-триазин и одобренным FDA (Food and Drug

Administration) в 1990 г. для лечения рефрактерного рака яичников, стал алтретамин (рисунок 34) [61].

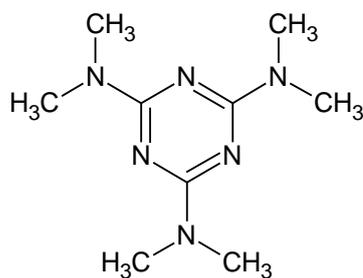


Рисунок 34. Структурная формула алтретамин (гексалена)

К числу одобренных FDA противоопухолевых препаратов также относятся третамин, применяемый при лечении ретинобластом (рисунок 35), гедатолисиб для лечения метастатического рака молочной железы (рисунок 36) и энасидениб для лечения миелоидного лейкоза (рисунок 37) [62].

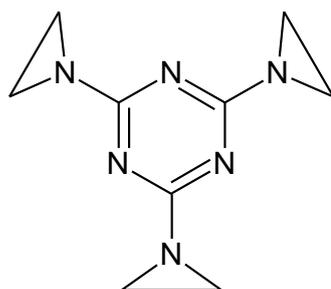


Рисунок 35. Структурная формула третамин

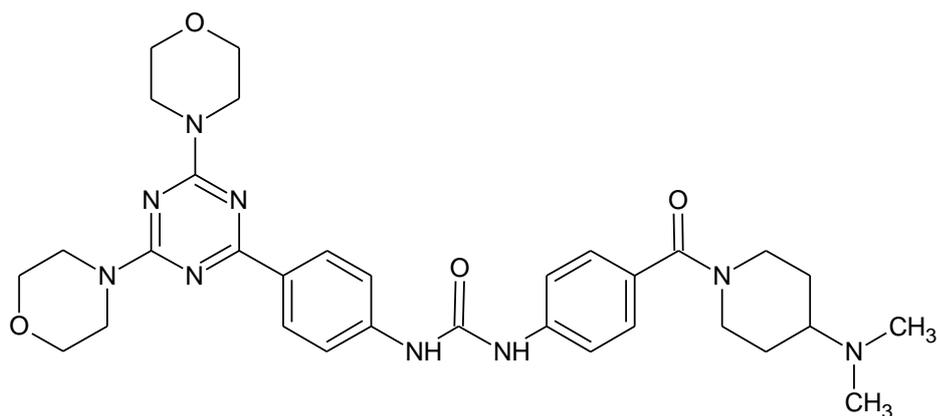


Рисунок 36. Структурная формула гедатолисиба

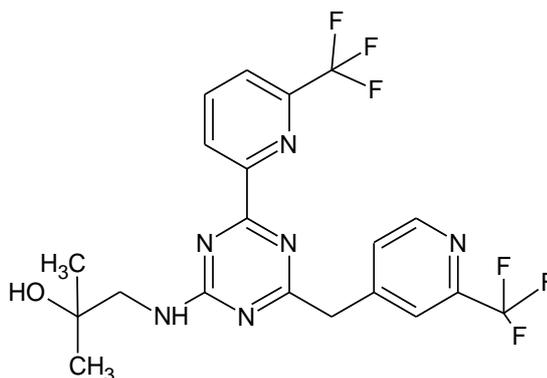


Рисунок 37. Структурная формула энасидениба

По данным государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС), на территории Российской Федерации зарегистрировано два лекарственных препарата из группы производных 1,3,5-триазина: азациитидин и децитабин (рисунок 38), применяющиеся для лечения больных с миелодиспластическим синдромом [63].

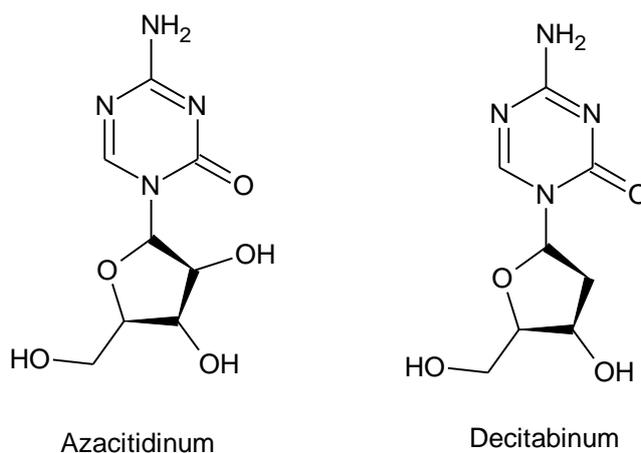


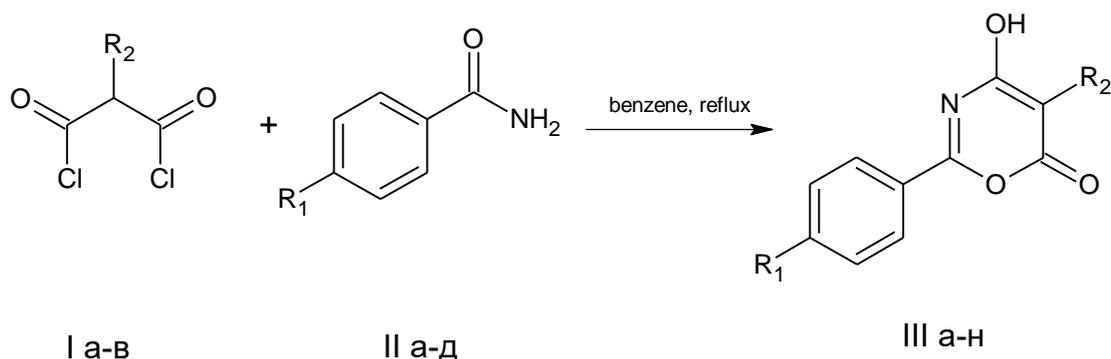
Рисунок 38. Структурные формулы азациитидина и децитабина

Подводя итог литературному обзору можно заключить, что производные 1,3,5-триазина это практически значимые соединения, с высоким потенциалом биологической активности. Поэтому поиск новых соединений в этом ряду, разработка эффективных методов их получения, изучение биологической активности является важной и актуальной задачей.

ГЛАВА 2. СИНТЕЗ И СТРОЕНИЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,5-ТРИАЗИНА

2.1. Синтез 2,5-дизамещённых 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов

2,5-дизамещённые-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-оны были получены по известной методике [64] взаимодействием малонилдихлоридов (I а-в) с ариламидами карбоновых кислот (II а-д) в среде кипящего бензола в течение 4-8 часов с выходом 68-85% (рисунок 39).



где $R_1 = \text{NO}_2, \text{Cl}, \text{H}, \text{CH}_3, \text{OCH}_3$

$R_2 = \text{Me}, \text{n-But}, \text{Ph}$

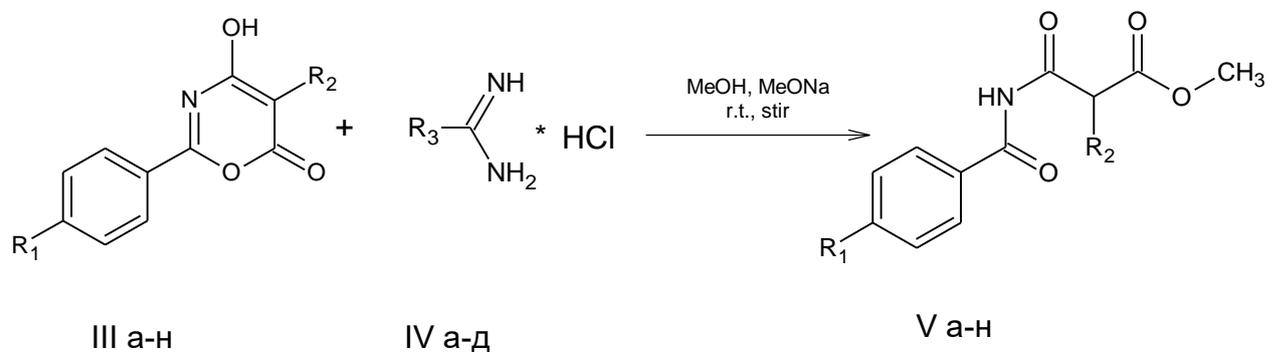
Рисунок 39. Схема синтеза 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н1,3-оксазин-6-онов

2.2. Синтез новых производных 1,3,5-триазины

Ранее [12] на кафедре органической химии СПХФУ были получены производные 1,3,5-триазин-2-амин-а путем расщепления 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов гуанидином гидрохлоридом в среде метанола в присутствии эквимолярного количества метилата натрия при температуре 18-20 °С в течение 24-48 ч.

Проведение реакции 1,3-оксазинов (III а-н) с 1,3-бинуклеофильными реагентами (IV а-в) в аналогичных условиях в течение 20-40 часов приводило к образованию сложных эфиров N-замещённых малонамовых кислот (V а-н) (рисунок 40), что подтверждается спектрами ЯМР ^1H и ^{13}C (рисунки 41 и 42, таблицы 1 и 2). Вероятно, это связано с протеканием конкурирующей

реакции нуклеофильного расщепления оксазинов (III а-н) метанолом (находящимся в избытке) по углеродному атому С2-гетероцикла, что связано с меньшей нуклеофильностью выбранных амидинов по сравнению с гуанидином.



где $R_1 = \text{NO}_2, \text{Cl}, \text{H}, \text{CH}_3, \text{OCH}_3$

$R_2 = \text{Me}, \text{n-But}, \text{Ph}$

$R_3 = \text{CH}_3, \text{Ph}, \text{S-Met}$

Рисунок 40. Схема образования сложных эфиров N-замещенных малонамовых кислот

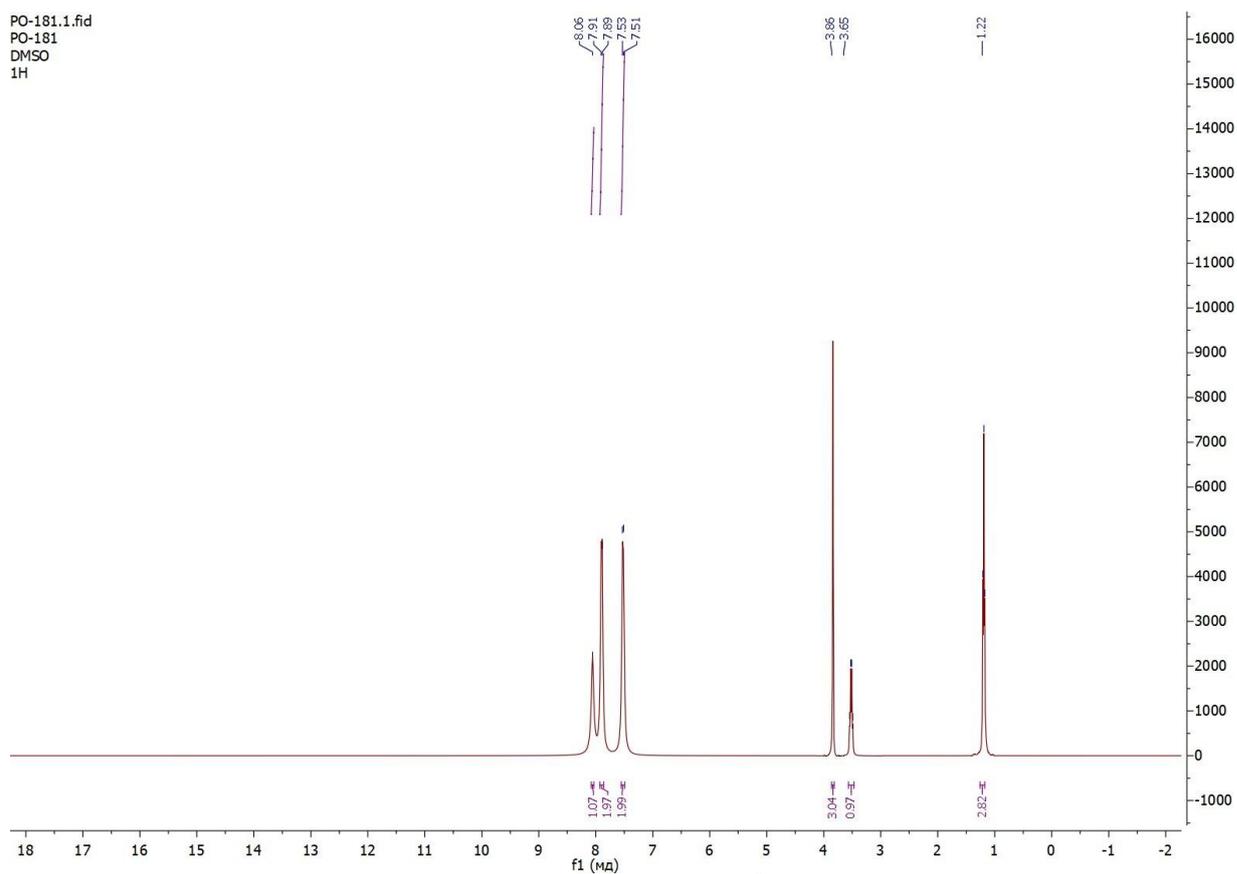


Рисунок 41. Спектр ЯМР ^1H раствора метил-3-[(4-хлорбензил)аминокарбонил]-2-метил-3-оксопропаноата в DMSO-d6

Таблица 1 - Данные спектра ЯМР ^1H раствора метил-3-[(4-хлорбензил)аминокарбонил]-2-метил-3-оксопропаноата в DMSO-d6

Данные спектров ЯМР ^1H (DMSO-d6), δ , м. д.			
CH_3	CH	Ar	NH
1.22 (t, J = 7.5 Hz, 3H); 3.86 (s, 3H)	3.65 (s, 1H)	7.52 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.90 (d, J = 8.2 Hz, 2H)	8.06 (s, 1H)

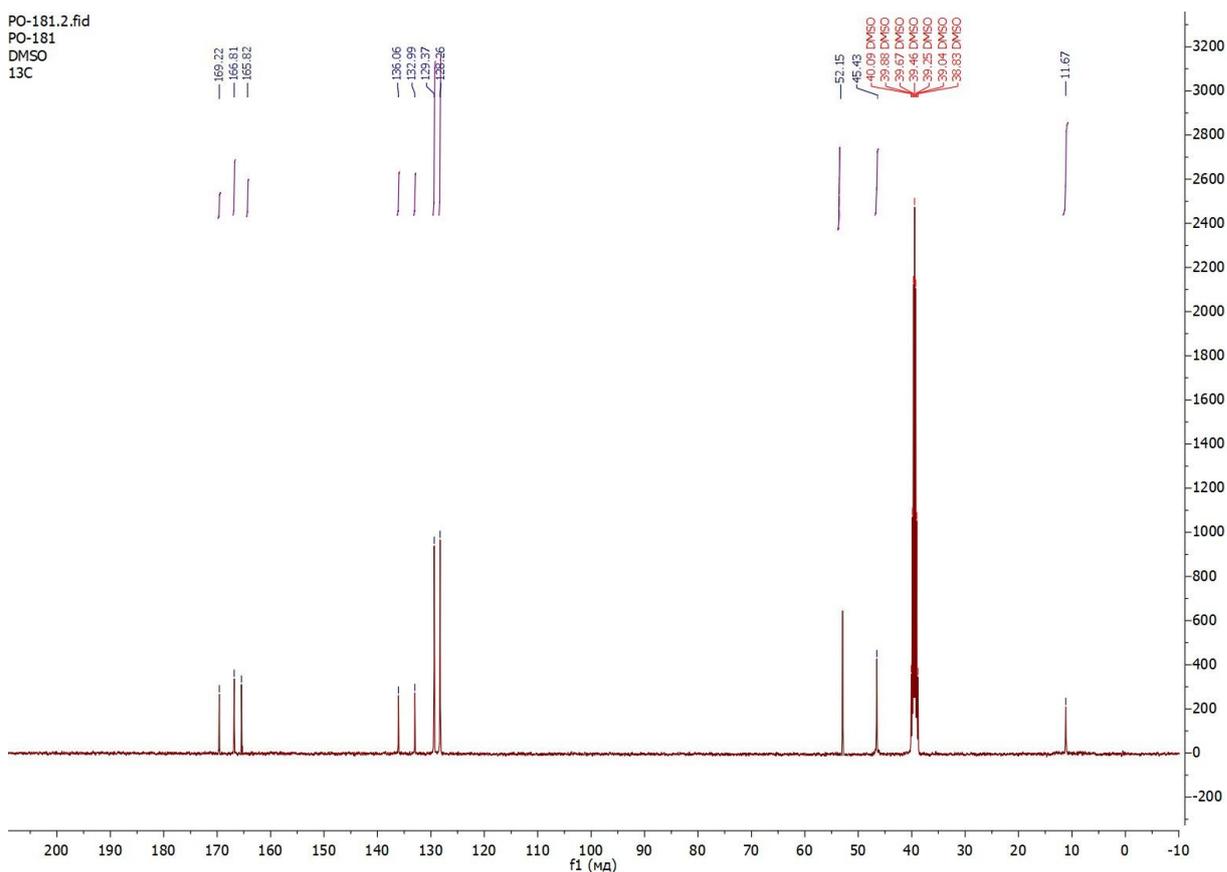


Рисунок 42. Спектр ЯМР ^{13}C раствора метил-3-[(4-хлорбензил)аминокарбонил]-2-метил-3-оксопропаноата в DMSO-d6

Таблица 2 - Данные спектра ЯМР ^{13}C раствора метил-3-[(4-хлорбензил)аминокарбонил]-2-метил-3-оксопропаноата в DMSO-d6

Данные спектров ЯМР ^{13}C (DMSO-d6), δ , м. д.				
Ar	OCH ₃	C=O	CH	CH ₃
128.26 - 137.06	52.15	165.82; 166.8; 169.22	45.43	11.67

Нами было установлено, что взаимодействие 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов (III а-н) с этанимидамом (IVа) и бензолкарбоксимидамидом (IV б) в среде кипящего метанола в присутствии метилата натрия, (аналогичные условия приведены в патенте 2765005 С111 [65]), протекает в течение 10-14 часов и приводит к получению целевых 1,3,5-триазинов с выходом всего 20-57%. Однако, в качестве побочных продуктов также наблюдается образование сложных эфиров N-замещенных малонамовых кислот.

С целью сокращения времени реакции и увеличения выхода целевых продуктов было решено провести реакцию 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов (III а-н) с 1,3-бинуклеофильными реагентами (IV а-в) в среде более высококипящего спирта - пропанола в присутствии пропилата натрия. Время реакции сократилось до 4-8 ч, а выход производных 1,3,5-триазины (VI а-н – VIII а-н) составил 43-88% (рисунок 43) [66].

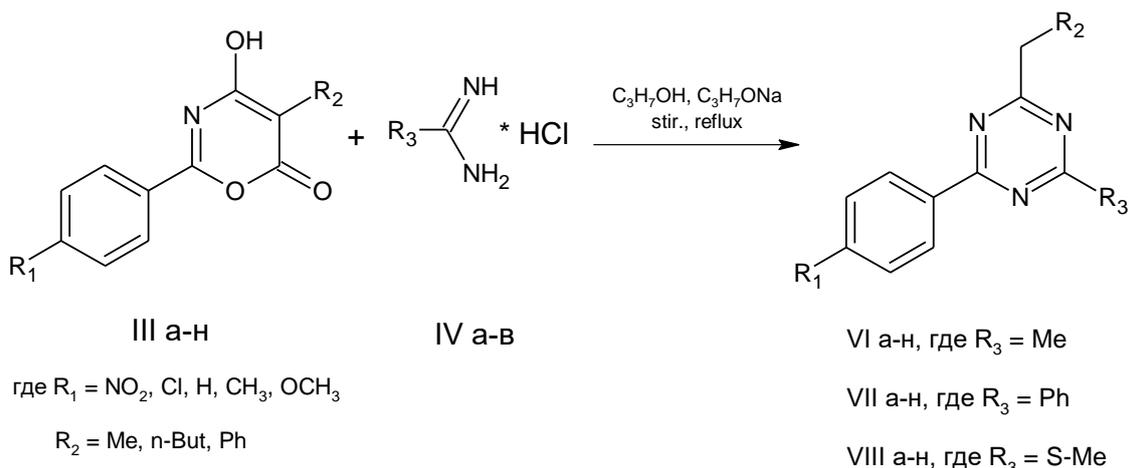


Рисунок 43. Схема синтеза 1,3,5-триазинов (VI а-н – VIII а-н) в среде пропанола

Синтезированные 1,3,5-триазины (VI а-н - VIII а-н) представляют собой твердые аморфные вещества, белого или светло-желтого цвета, растворимые в этаноле 96%, метаноле, диметилсульфоксиде (ДМСО), легко растворимые в ацетоне, практически нерастворимые в н-гексане, нерастворимые в воде.

Было установлено, что электронная природа и положение заместителя в фенильном фрагменте оксазина влияет на скорость реакции и выход конечного продукта. Акцепторные заместители R¹ в оксазине ускоряют реакцию и увеличивают выход целевого продукта. При введении заместителя в мета-положение бензольного кольца время процесса увеличилось и составило 7-8 часов, а выход ожидаемых продуктов уменьшился до 48-52%.

Арильные заместители R^2 в оксазине незначительно замедляют реакцию и уменьшают выход целевого продукта, вероятно, за счет пространственного фактора.

Электронное строение 1,3-бинуклеофильных реагентов (IV а-в) также влияет на скорость протекания их реакции с оксазинами (III а-н). Так, время протекания реакции ацетамидина с оксазинами (III а-н) на 1-1,5 часа больше чем с бензамидином и S-метилизотиомочевинной. Объяснить пониженную реакционную способность ацетамидина по сравнению с бензамидином и S-метилизотиомочевинной можно, в какой-то мере, результатами квантово-механических расчётов (MNDO) эффективных зарядов на реакционных центрах – атомах азота. На рисунке 44 видно, что этанимидамид обладает меньшей нуклеофильностью, чем бензолкарбоксимидамид и S-метилизотиомочевина.

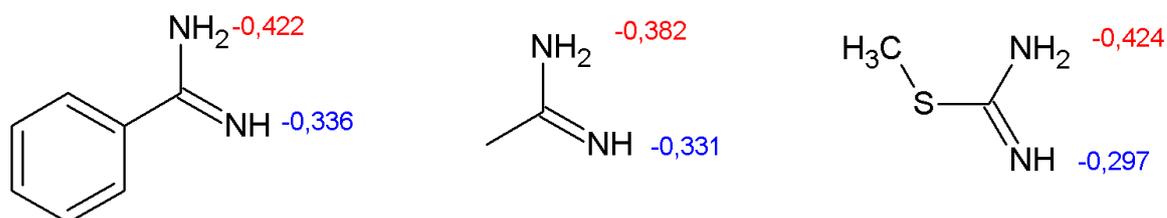


Рисунок 44. Эффективные заряды на атомах азота в амидинах

Для исключения стадии получения оснований имидамидов (применение алкоголятов), в качестве растворителя, вместо пропилового спирта, нами успешно был использован диметилсульфоксид. Реакцию проводили в ДМСО при температуре 96-98 °С в течении 1-3,5 часов, выход целевых триазинов (VI а-н – VIII а-н) составил 51-80% (рисунок 45) [67, 68]. Проведение реакции при 20-25°С не приводит к получению ожидаемых соединений. Нагревание реакционной массы выше 110°С приводит к её осмолению.

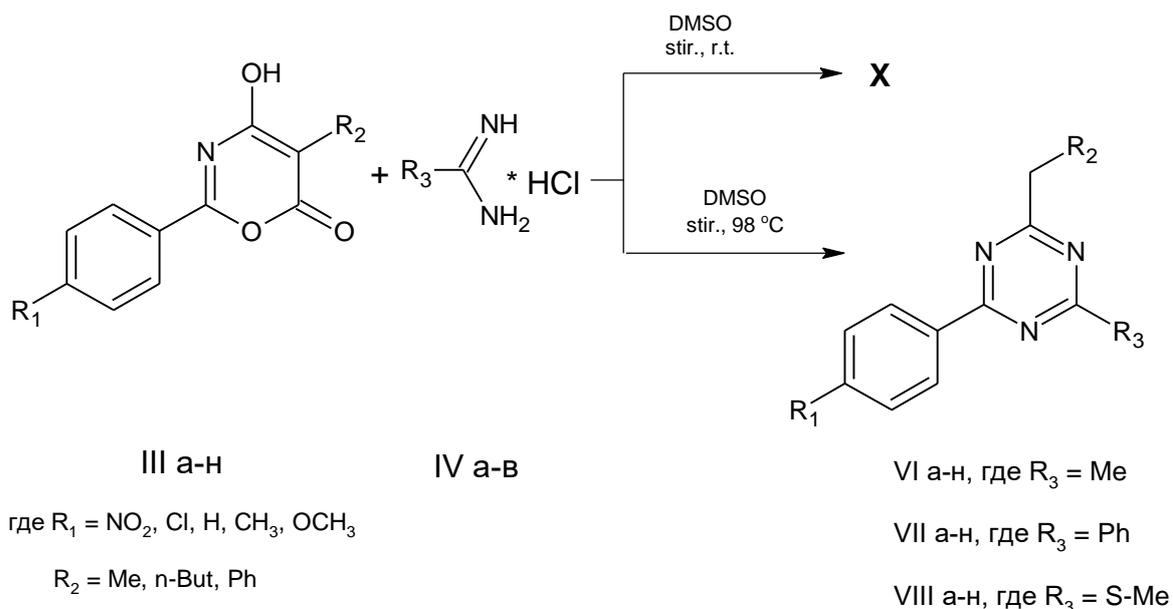


Рисунок 45. Схема синтеза 1,3,5-триазинов в среде ДМСО

Вероятно, в ДМСО, как в полярном апротонном высококипящем растворителе, происходит обратимое разрушение соли амидина гидрохлорида и выделение свободного основания, которое и вступает в реакцию с 2,5-дизамещенными-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онами.

Ранее авторами [69] на основании квантово-химических расчетов было сделано предположение, что реакция 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с бифункциональными азотсодержащими нуклеофилами начинается с атаки последних на атом углерода С² оксазинового фрагмента с последующим превращением промежуточных ациклических интермедиатов в новые гетероциклические соединения. В нашем случае предполагаемый механизм реакции представлен на рисунке 46.

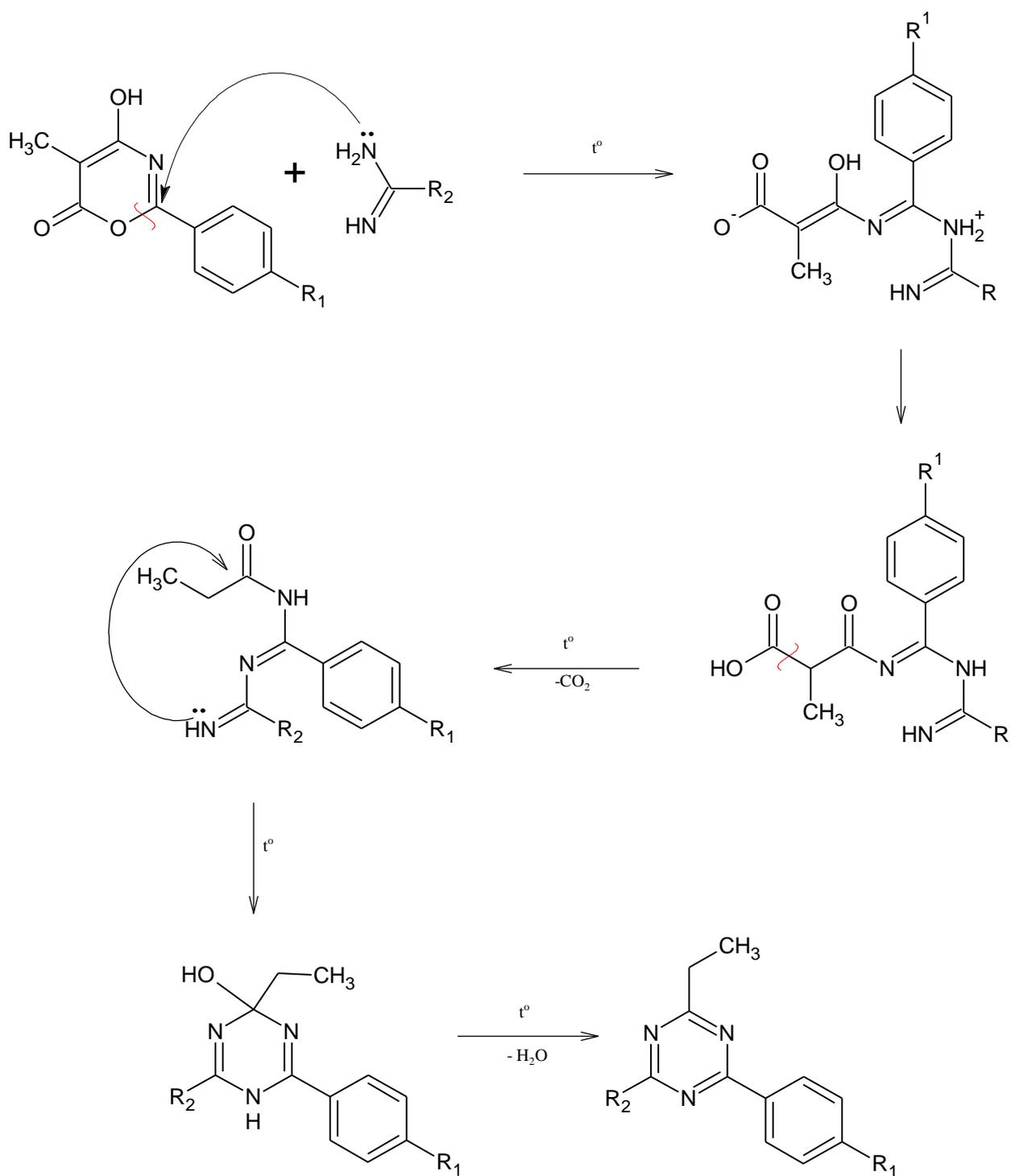


Рисунок 46. Предполагаемый механизм реакции 1,3-бинуклеофилов с 4-гидрокси-6H-1,3-оксазин-6-онами

2.3. Строение синтезированных производных 1,3,5-триазины

Строение синтезированных производных 1,3,5-триазины было доказано с помощью современных методов анализа: ИК, ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа. Данные приведены в таблицах 4, 5, 6, 7.

Контроль за ходом реакции, чистотой и индивидуальностью полученных продуктов, осуществляли с помощью ТСХ на пластинах TLC Silicagel 60 F₂₅₄ (Merck), элюент этилацетат (Merck, марка ч.д.а.), детектирование в УФ свете. Выход продуктов реакции, значения R_f, температуры плавления (Т.пл.) приведены в таблице 3.

2.3.1. Строение продуктов реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с ацетамидином

Рассмотрим на примере 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазины (V б). В спектре ЯМР ¹H раствора триазины (V б) в CDCl₃ (рисунок 47) наблюдаются сигналы протонов CH₃- группы этильного радикала у C₄ 1.44 м.д. (3H, т, J = 7.5), сигналы протонов CH₃- группы у C₆ триазинового кольца 2.75 (3H, с), сигнал протонов -CH₂-группы 3.05 м.д. (2H, к, J = 7.6), и сигналы протонов ароматических колец 8.31–8.36 (2H, м); 8.71-8.75 (2H, м).

В спектре ЯМР ¹³C данного соединения (VI б) в CDCl₃ (рисунок 48) наблюдаются сигнал атома углерода CH₃- группы этильного радикала у C₄ (11.75 м.д.), сигнал углерода CH₃- группы у C₆ триазинового кольца 25.83 м.д., сигнал атома углерода -CH₂-группы (32.26 м.д.), сигналы атомов углерода бензольного кольца (123.65-150.26 м.д.). В слабом поле при 168.96 м.д., 177.00 м.д. и 180.86 м.д. наблюдаются сигналы атомов углерода триазинового цикла «C₂», «C₆» и «C₄».

PO-39.1.fid
 PO-39
 CDCl₃ (not fully dissolved)
 1H

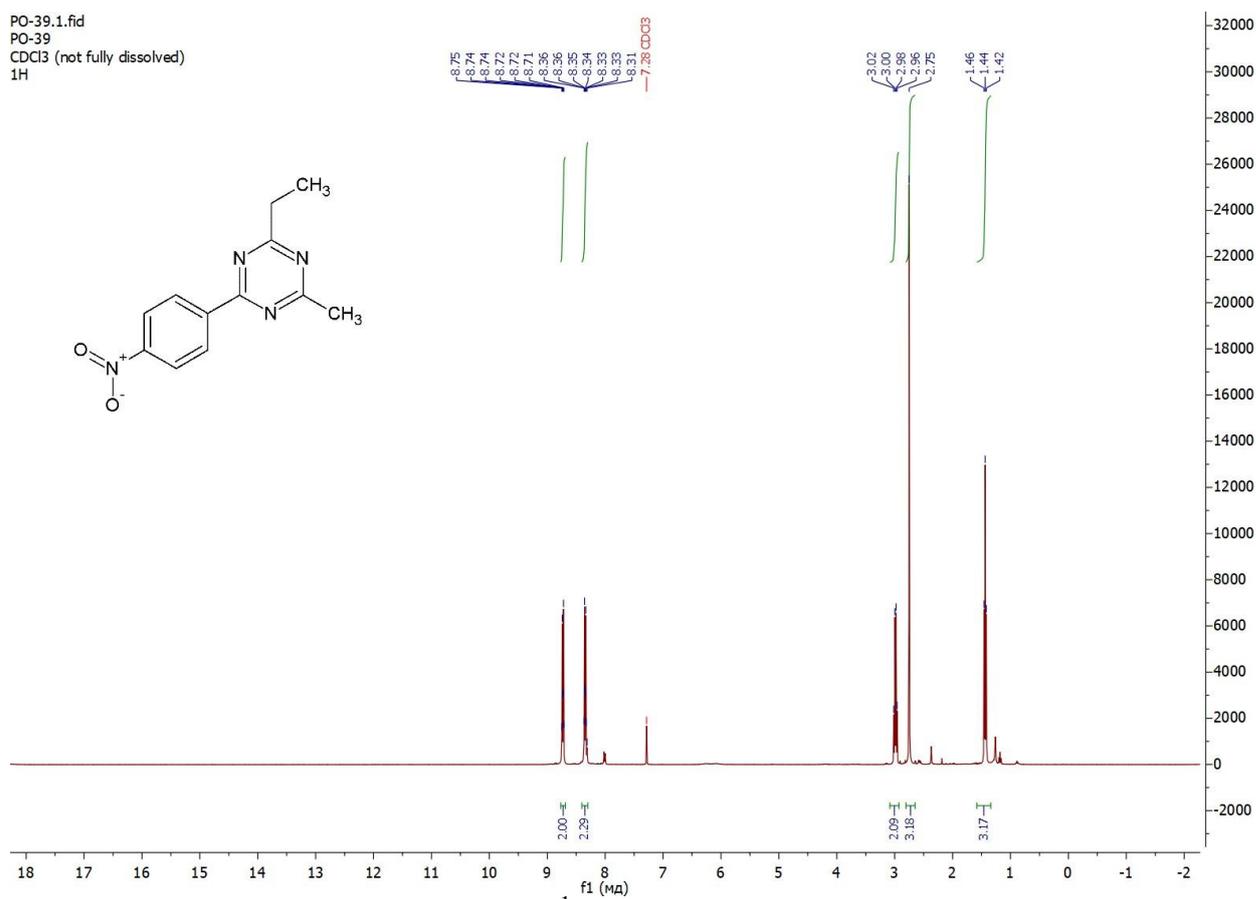


Рисунок 47. Спектр ЯМР ¹H раствора 2-метил-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VI б) в CDCl₃

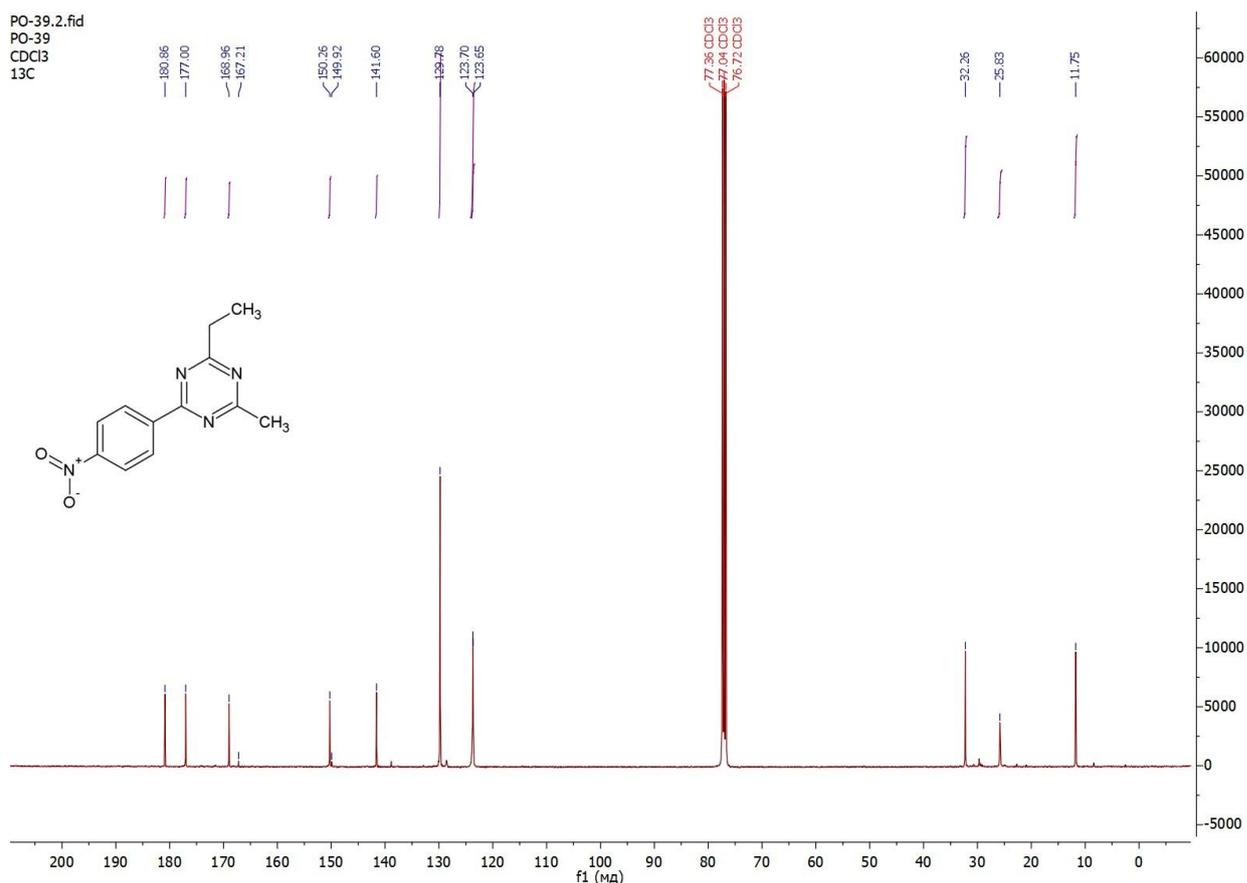


Рисунок 48. Спектр ЯМР ¹³C раствора 2-метил-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VI б) в CDCl₃

В инфракрасном спектре (диски KBr) 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VI б) идентифицируются: триазиновый цикл по полосе поглощения при 1524 см⁻¹ (νC=N(аром.)), валентные колебания CH₃-группы этильного радикала при 2938 см⁻¹ (ν_{ас}C-H), валентные колебания CH₃-группы у C₆ триазинового кольца при 2976 см⁻¹ (ν_{ас}C-H), валентные колебания в области 657 см⁻¹ (νC-Cl(аром.)) (рисунок 49).

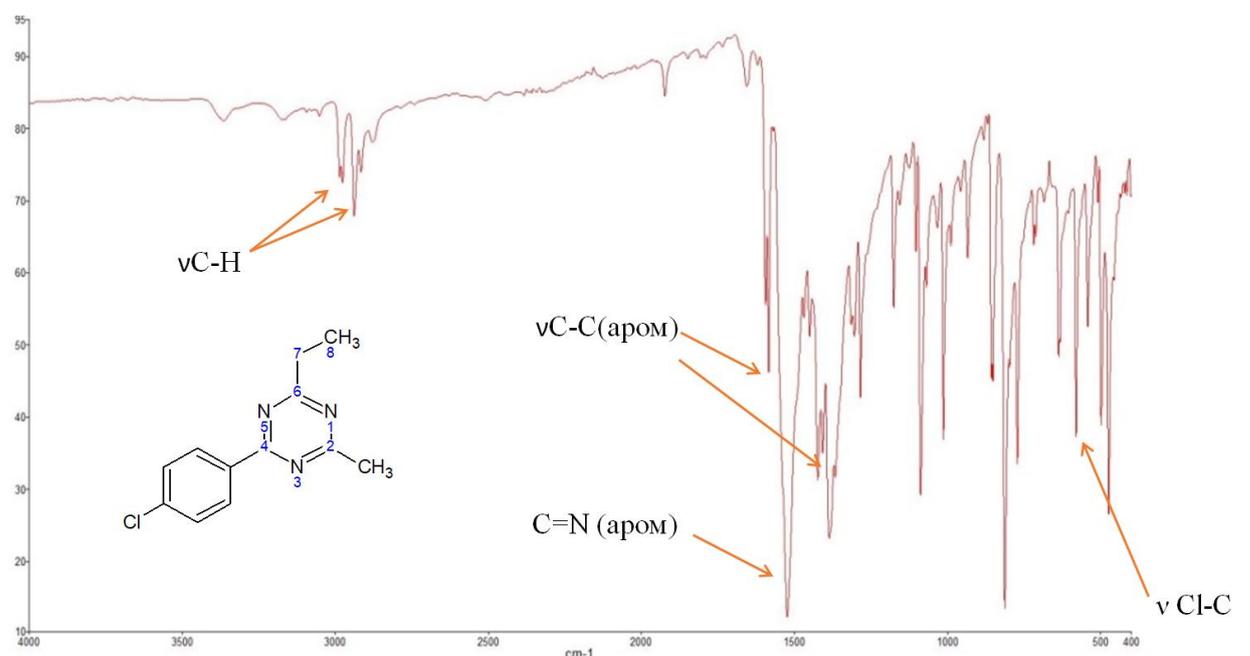


Рисунок 49. ИК-спектр 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VI б) в диске KBr

Строение полученных триазинов (VI а-н) доказано и масс-спектрометрией высокого разрешения (HRMS-ESI). Например, для 2-метил-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина (V а) значение m/z $[M+H]^+$ молекулярного иона соответствует массе молекулярного иона. m/z $[M+H]^+$ вычислено для $C_{12}H_{13}N_4O_2$: 245.1033; найдено: 245.1027. Масс-спектр представлен на рисунке 50.

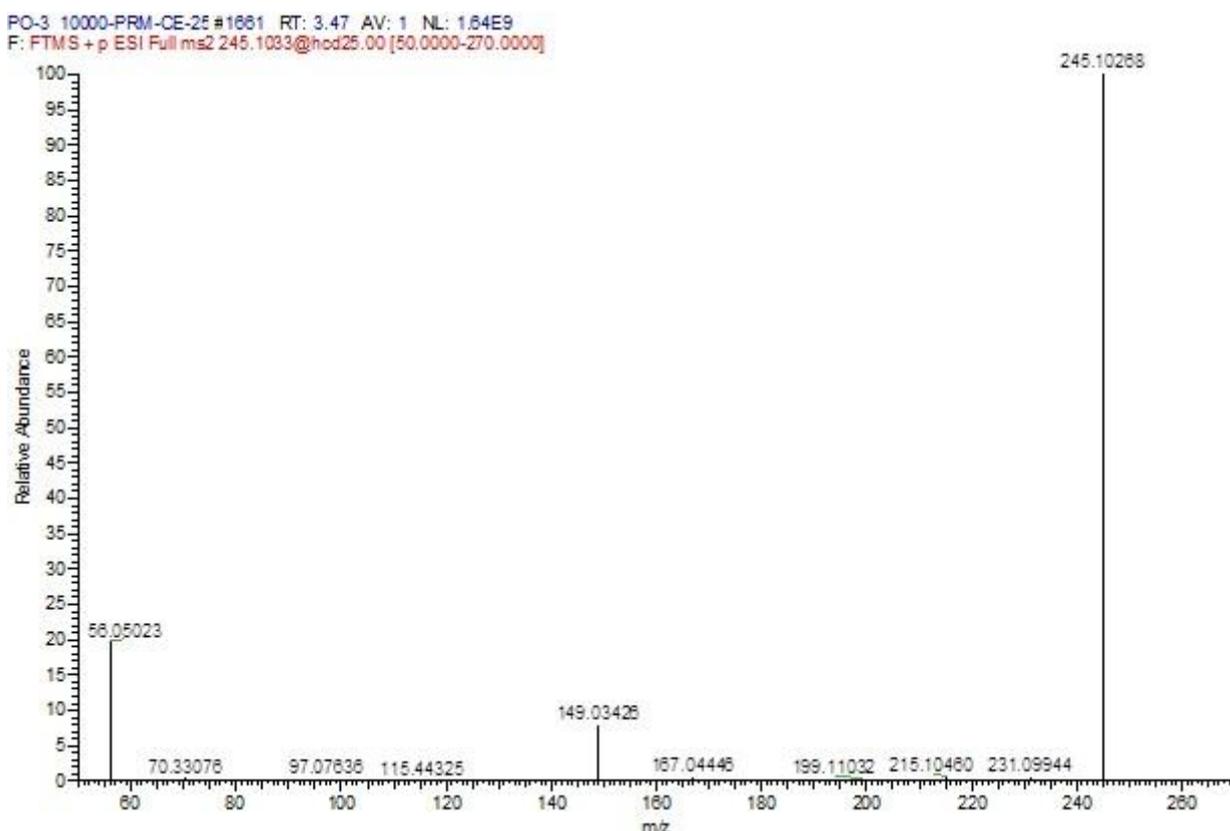


Рисунок 50. Масс-спектр 2-метил-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VI а)

2.3.2. Строение продуктов реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с бензамидином

В качестве примера рассмотрим доказательство строения 2-(4-метилфенил)-4-пентил-6-фенил-1,3,5-триазина (VII з). В спектре ЯМР ^1H раствора триазина (VII з) наблюдаются сигналы протонов CH_3 - группы этильного радикала у C_4 0.99 м.д. (3H, т, $J = 6.7$), сигналы протонов CH_3 - группы у бензольного кольца у C_2 2.49 (3H, с), сигнал протонов $-\text{CH}_2$ -групп 1.46 (2H, т, $J = 5.0$); 1.50 (2H, т, $J = 6.9$); 2.01 (2H, м); 3.03 м.д. (2H, т, $J = 7.6$), и сигналы протонов ароматических колец 8.59 (2H, д, $J = 7.8$); 7.60 (1H, д, $J = 6.6$); 7.57 (2H, д, $J = 8.2$); 7.37 (2H, д, $J = 7.8$)

В спектре ЯМР ^{13}C данного соединения (VII з) в CDCl_3 (рисунок 52) наблюдаются сигнал атома углерода CH_3 - группы этильного радикала у C_4 (14.08 м.д.), сигнал углерода CH_3 - группы у бензольного кольца у C_2 (21.73

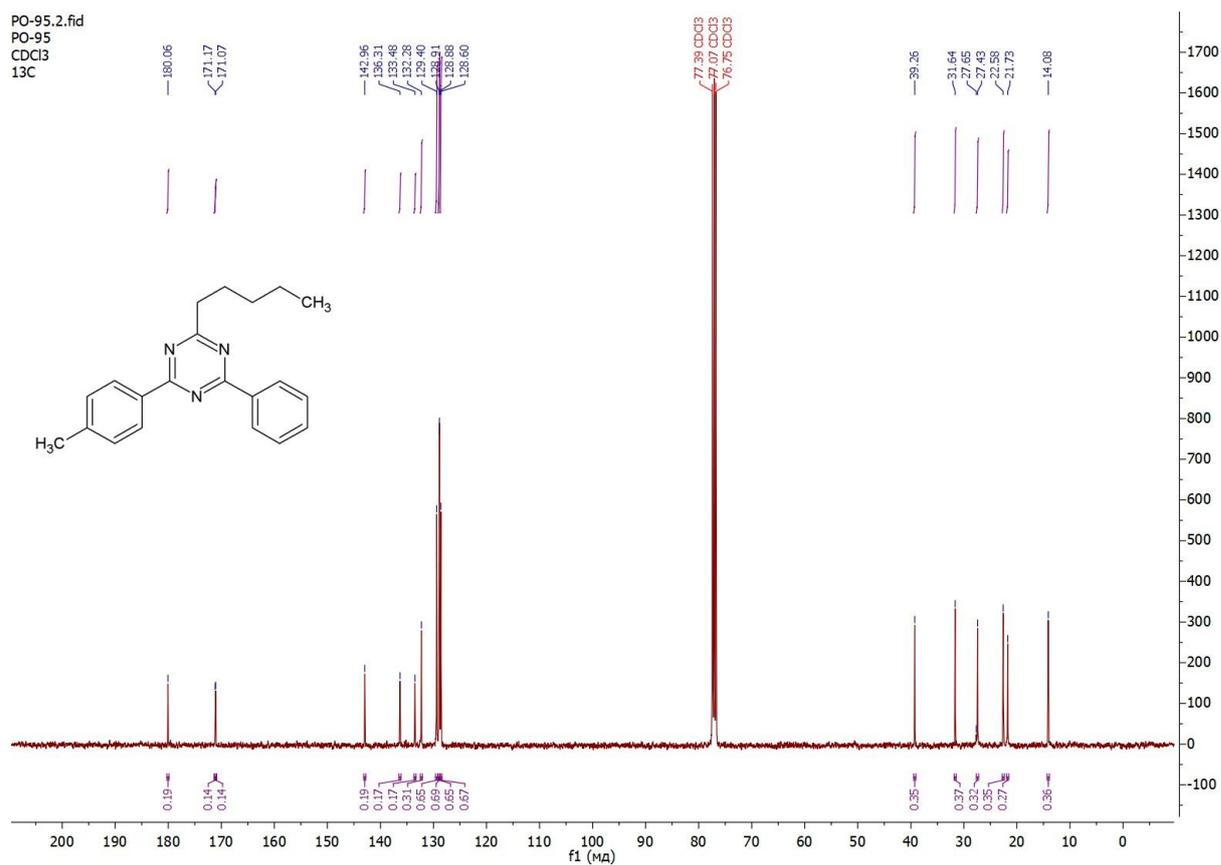


Рисунок 52. Спектр ЯМР ^{13}C раствора 2-(4-метилфенил)-4-пентил-6-фенил-1,3,5-триазина (VII з) в CDCl_3

В инфракрасном спектре (диски KBr) 2-бензил-4-(4-нитрофенил)-6-фенил-1,3,5-триазин (VII й) идентифицируются: триазиновый цикл по полосе поглощения при 1517 см^{-1} ($\nu\text{C}=\text{N}(\text{аром.})$), валентные колебания нитро-группы при $1560\text{-}1531\text{ см}^{-1}$ ($\nu\text{ as N-O}$) и $1356\text{-}1340\text{ см}^{-1}$ ($\nu\text{ s N-O}$) (рисунок 53).

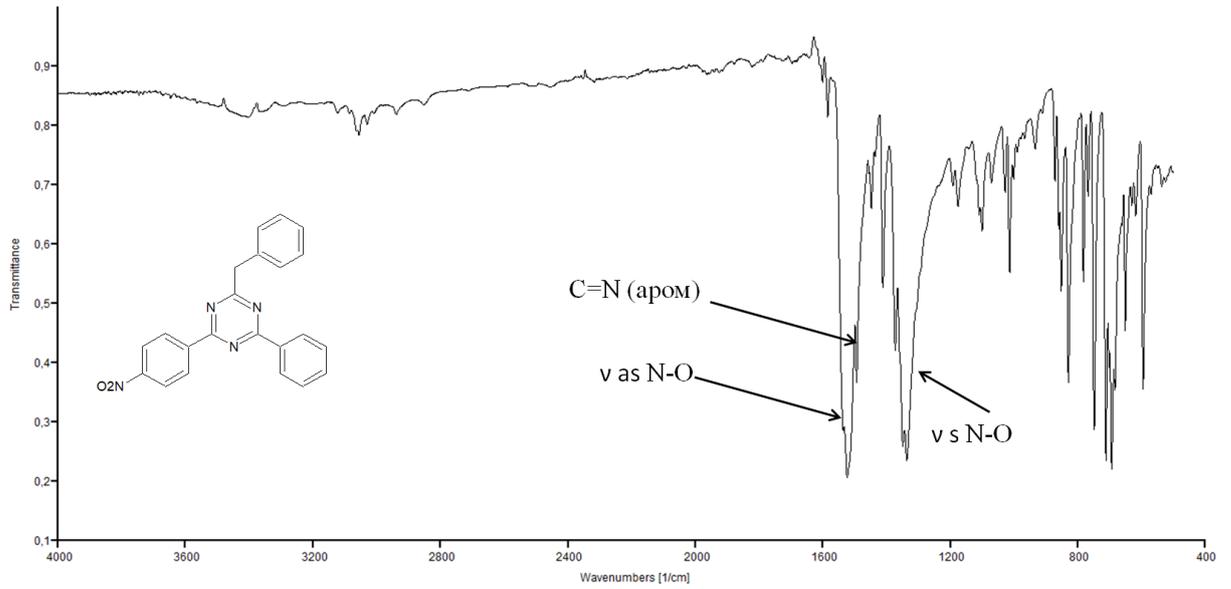


Рисунок 53. ИК-спектр 2-бензил-4-(4-нитрофенил)-6-фенил-1,3,5-триазин (VII й) в диске KBr

Строение полученных триазинов (VII а-н) подтверждает и масс-спектрометрия высокого разрешения (HRMS-ESI). Например, для 2-(4-Нитрофенил)-4-фенил-6-этил-1,3,5-триазин значение m/z $[M+H]^+$ молекулярного иона соответствует массе молекулярного иона. m/z $[M+H]^+$ вычислено для $C_{17}H_{15}N_4O_2$: 307.1189; найдено: 307.1183. Масс-спектр представлен на рисунке 54.

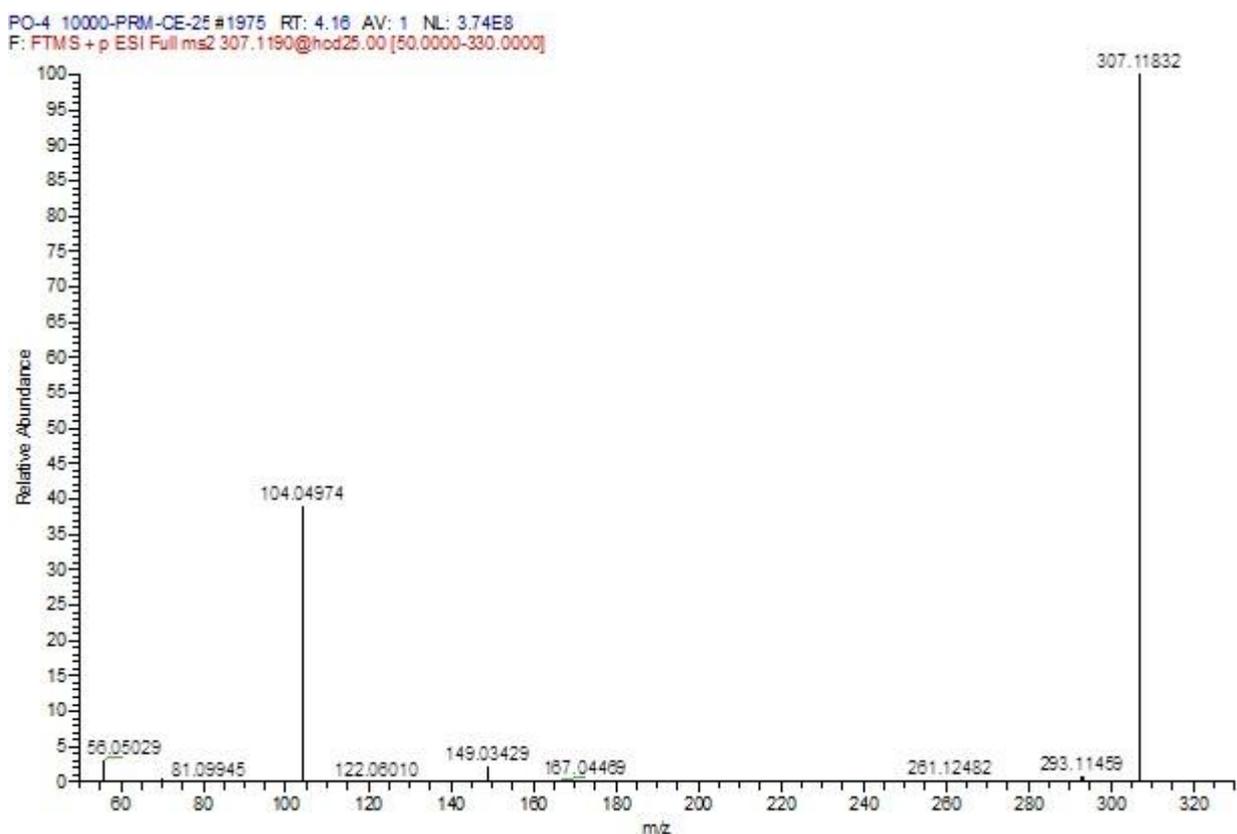


Рисунок 54. Масс-спектр 2-(4-нитрофенил)-4-фенил-6-этил-1,3,5-триазин (VII а)

2.3.3. Строение продуктов реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с S-метилизотиомочевинной

Например, в спектре ЯМР ^1H раствора 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин (VIII а) в CDCl_3 (рисунок 55) наблюдаются сигналы протонов CH_3 - группы этильного радикала у C_4 1.44 м.д. (3H, т, $J = 7.5$), сигналы протонов CH_3 - группы у атома серы 2.68 (3H, с), сигнал протонов $-\text{CH}_2$ -группы 2.97 м.д. (2H, к, $J = 7.6$), и сигналы протонов ароматических колец 8.33–8.35 (2H, м); 8.69-8.71 (2H, м).

В спектре ЯМР ^{13}C данного соединения (VIII а) в CDCl_3 (рисунок 56) наблюдаются сигнал атома углерода CH_3 -группы этильного радикала у C_4 (11.52 м.д.), сигнал углерода CH_3 - группы у атома серы 13.58 м.д., сигнал атома углерода $-\text{CH}_2$ -группы (32.17 м.д.), сигналы атомов углерода бензольного кольца (123.65-150.32 м.д.). В слабом поле при 167.71 м.д.,

179.72 м.д. и 183.29 м.д. наблюдаются сигналы атомов углерода триазинового цикла «C₂», «C₆» и «C₄».

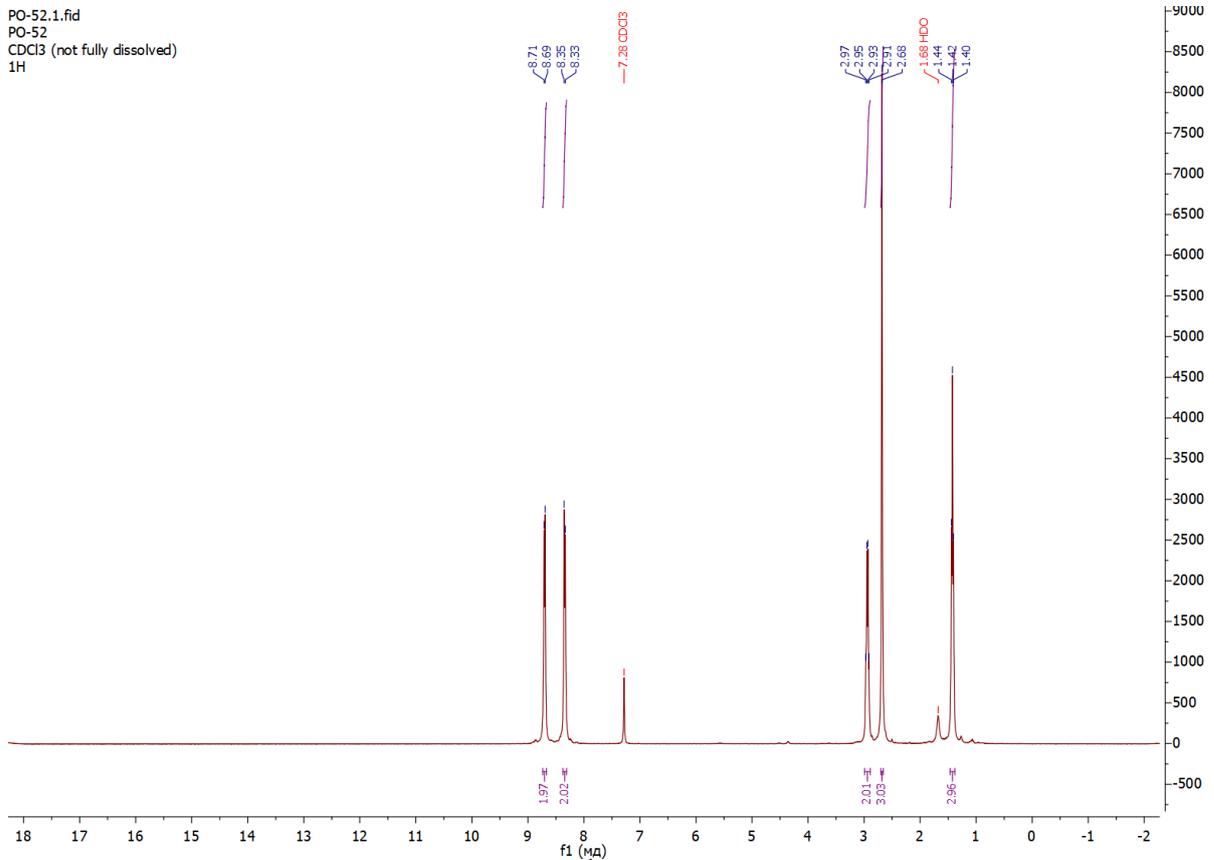


Рисунок 55. Спектр ЯМР ¹H раствора 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин (VIII а) в CDCl₃

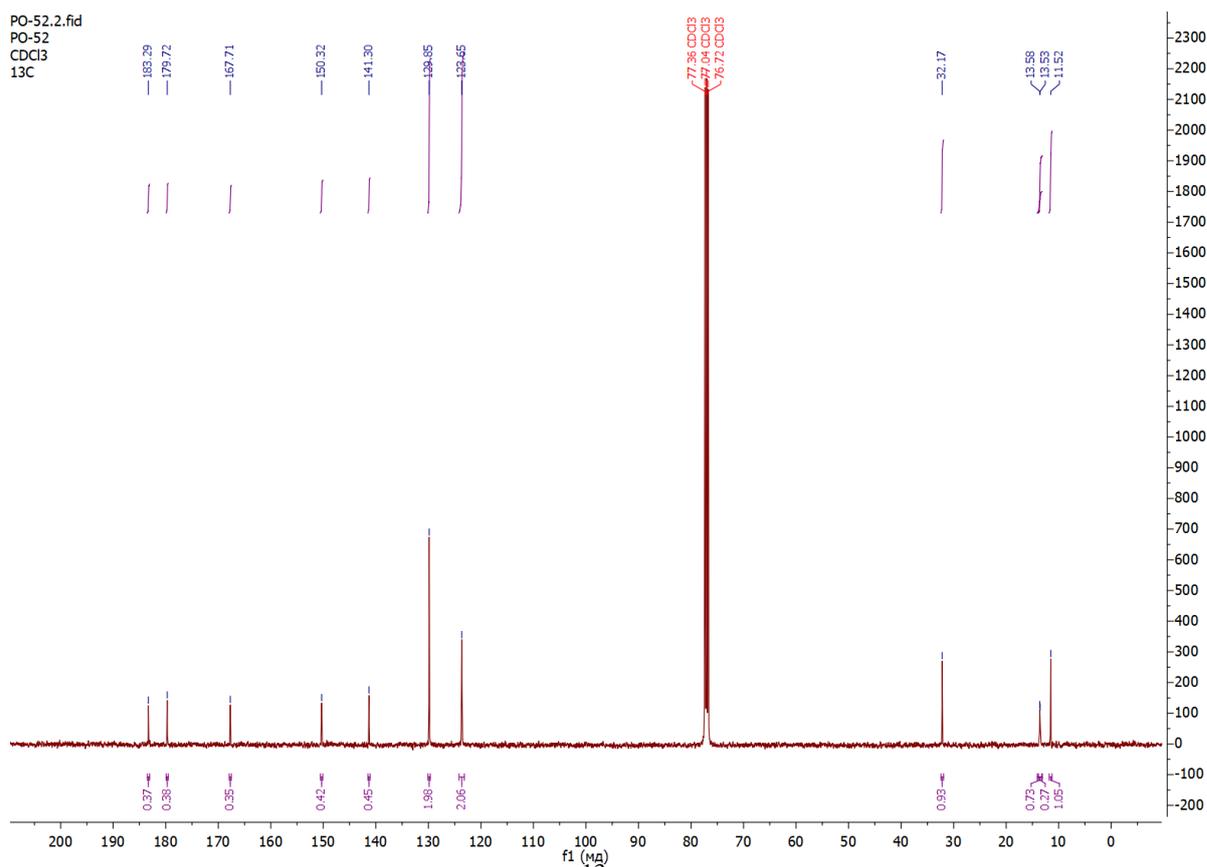


Рисунок 56. Спектр ЯМР ^{13}C раствора 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин (VIII а) в CDCl_3

В инфракрасном спектре (диски KBr) 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VIII а) идентифицируются: триазиновый цикл по полосе поглощения при 1525 см^{-1} ($\nu\text{C}=\text{N}(\text{аром.})$), валентные колебания CH_3 -группы этильного радикала при 2945 см^{-1} ($\nu_{\text{ас}}\text{C}-\text{H}$), валентные колебания CH_3 -группы у атома серы при 2983 см^{-1} ($\nu_{\text{ас}}\text{C}-\text{H}$) (рисунок 57).

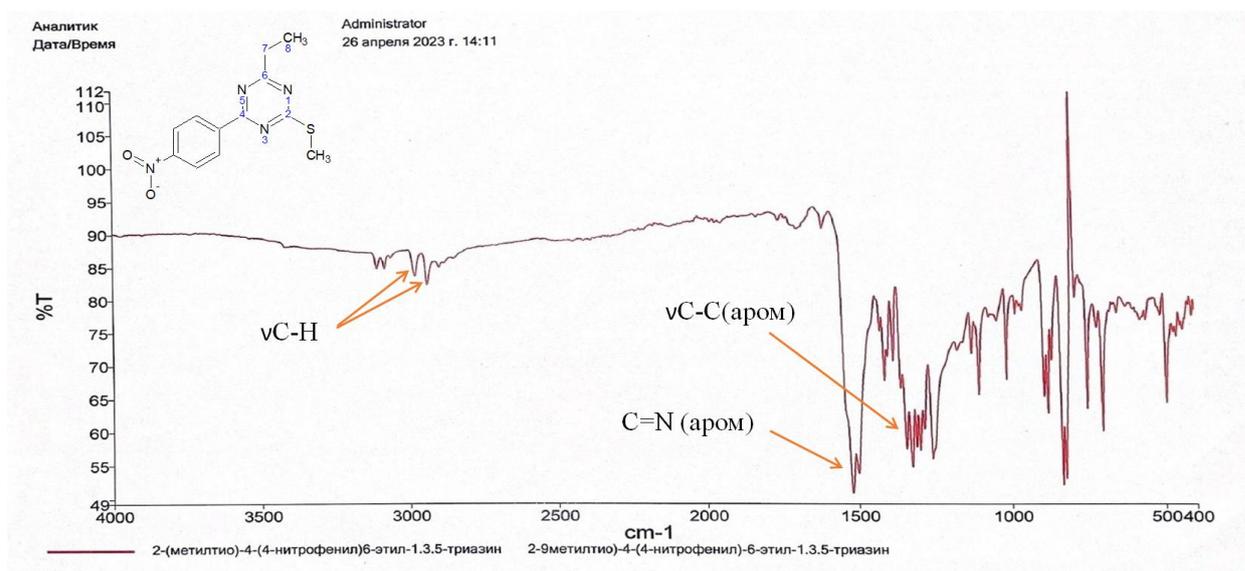


Рисунок 57. ИК-спектр 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VIII а) в диске KBr

Строение полученных триазинов (VIII а-н) доказано и масс-спектрометрией высокого разрешения (HRMS-ESI). Например, для 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин (VIII а) значение m/z $[M+H]^+$ молекулярного иона соответствует массе молекулярного иона. m/z $[M+H]^+$ вычислено для $C_{12}H_{13}N_4O_2S$: 277.0754; найдено: 277.0748. Масс-спектр представлен на рисунке 58.

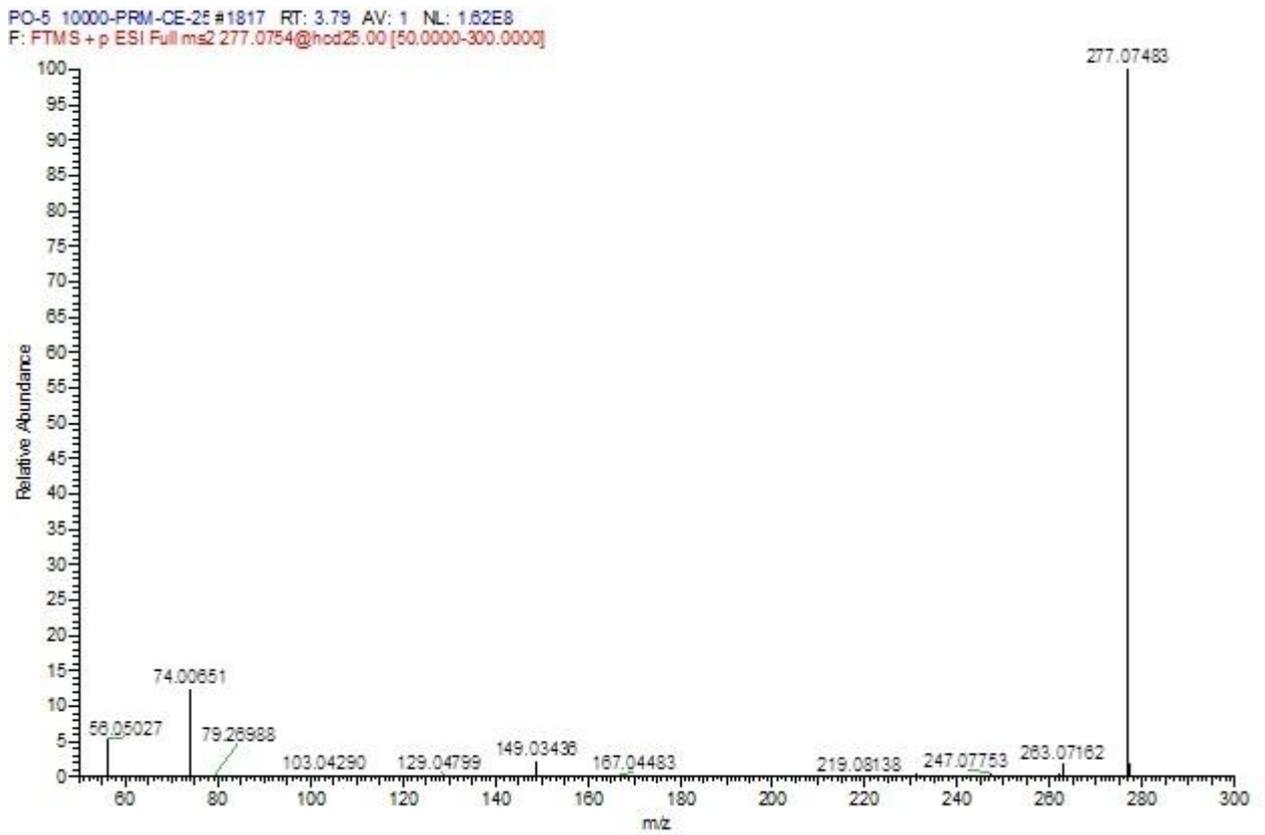
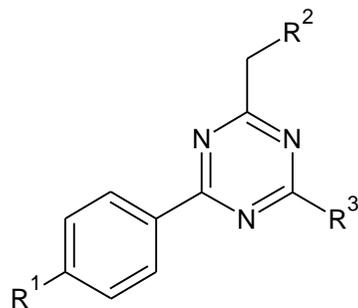


Рисунок 58. Масс-спектр 2-(метилсульфанил)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин (VIII а)

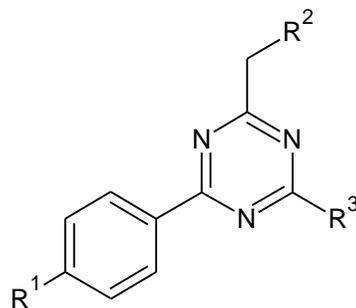
Таблица 3 – Выход продуктов реакции (VI а-н - VIII а-н) реакции, значения R_f , $T_{пл.}$ VI а-н, где $R_3 = \text{Me}$ VII а-н, где $R_3 = \text{Ph}$ VIII а-н, где $R_3 = \text{S-Me}$

Соед-е	R^1	R^2	R^3	Выход, % (в среде $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}/\text{C}_3\text{H}_7\text{ONa}$)	Выход, % (в среде ДМСО)	R_f	$T_{пл.}, ^\circ\text{C}$
VI (а)	NO_2	CH_3	CH_3	81	75	0,97	215-217
VI (б)	Cl	CH_3	CH_3	77	69	0,95	208-210
VI (в)	H	CH_3	CH_3	68	63	0,89	211-213
VI (г)	CH_3	CH_3	CH_3	57	60	0,93	203-205
VI (д)	OCH_3	CH_3	CH_3	51	58	0,88	227-229
VI (е)	NO_2	$n\text{-C}_4\text{H}_9$	CH_3	76	70	0,96	216-218
VI (ё)	Cl	$n\text{-C}_4\text{H}_9$	CH_3	67	67	0,87	203-205
VI (ж)	H	$n\text{-C}_4\text{H}_9$	CH_3	59	61	0,91	222-224
VI (з)	CH_3	$n\text{-C}_4\text{H}_9$	CH_3	54	57	0,83	240-242
VI (и)	OCH_3	$n\text{-C}_4\text{H}_9$	CH_3	49	53	0,99	237-239
VI (й)	NO_2	C_6H_5	CH_3	71	62	0,87	206-208
VI (к)	Cl	C_6H_5	CH_3	67	60	0,92	237-239

Соед-е	R ¹	R ²	R ³	Выход, % (в среде C ₃ H ₇ OH/C ₃ H ₇ ONa)	Выход, % (в среде ДМСО)	R _f	T _{пл.} , °C
VI (л)	H	C ₆ H ₅	CH ₃	59	57	0,95	230-232
VI (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	48	55	0,87	198-200
VI (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	43	51	0,91	202-204
VII (а)	NO ₂	CH ₃	C ₆ H ₅	88	80	0,96	226-228
VII (б)	Cl	CH ₃	C ₆ H ₅	83	77	0,92	233-235
VII (в)	H	CH ₃	C ₆ H ₅	76	71	0,88	199-201
VII (г)	CH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅	63	68	0,85	229-231
VII (д)	OCH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅	59	61	0,83	201-203
VII (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	79	74	0,90	241-243
VII (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	71	67	0,97	225-227
VII (ж)	H	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	65	62	0,84	212-214
VII (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	58	60	0,93	256-258
VII (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	55	57	0,82	197-199
VII (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	77	72	0,89	237-239
VII (к)	Cl	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	73	66	0,91	205-207
VII (л)	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	65	61	0,84	224-236
VII (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	54	58	0,98	201-203
VII (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	50	55	0,91	226-228
VIII (а)	NO ₂	CH ₃	S-CH ₃	85	81	0,80	210-212
VIII (б)	Cl	CH ₃	S-CH ₃	81	73	0,95	229-231
VIII (в)	H	CH ₃	S-CH ₃	75	69	0,83	242-244
VIII (г)	CH ₃	CH ₃	S-CH ₃	63	65	0,90	218-220
VIII (д)	OCH ₃	CH ₃	S-CH ₃	53	60	0,88	250-252
VIII (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	78	73	0,99	198-200
VIII (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	73	69	0,92	237-239
VIII (ж)	H	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	68	64	0,81	214-216

Соед-е	R ¹	R ²	R ³	Выход, % (в среде C ₃ H ₇ OH/C ₃ H ₇ ONa)	Выход, % (в среде ДМСО)	R _f	T _{пл.} , °C
VIII (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	59	61	0,86	225-227
VIII (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	54	58	0,90	207-209
VIII (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	S-CH ₃	79	71	0,94	232-234
VIII (к)	Cl	C ₆ H ₅	S-CH ₃	74	68	0,89	239-241
VIII (л)	H	C ₆ H ₅	S-CH ₃	68	65	0,91	213-215
VIII (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	S-CH ₃	57	61	0,83	199-201
VIII (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	S-CH ₃	55	57	0,98	244-246

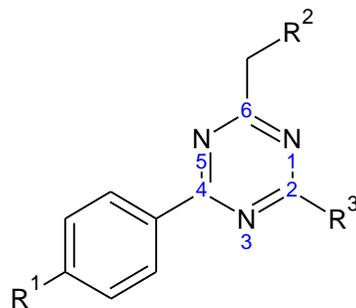
Таблица 4 – Данные элементного анализа синтезированных 1,3,5-триазинов (VI а-н - VIII а-н)

VI а-н, где R₃ = MeVII а-н, где R₃ = PhVIII а-н, где R₃ = S-Me

Соед-е	Найдено, %						Брутто-формула	Вычислено, %					
	C	H	N	O	Cl	S		C	H	N	O	Cl	S
VI (а)	58,51	4,76	22,85	13,88	-	-	C ₁₂ H ₁₂ N ₄ O ₂	58,95	4,91	22,93	13,21	-	-
VI (б)	61,51	5,17	17,95	-	15,37	-	C ₁₂ H ₁₂ N ₃ Cl	61,62	5,13	17,97	-	15,28	-
VI (в)	72,33	6,58	21,09	-	-	-	C ₁₂ H ₁₃ N ₃	72,30	6,64	21,16	-	-	-
VI (г)	73,21	7,06	19,73	-	-	-	C ₁₃ H ₁₅ N ₃	73,14	7,03	19,83	-	-	-
VI (д)	68,10	6,59	18,33	6,98	-	-	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O	68,03	6,52	18,38	7,07	-	-
VI (е)	62,92	6,34	19,57	11,18	-	-	C ₁₅ H ₁₈ N ₄ O ₂	62,99	6,35	19,51	11,15	-	-
VI (ё)	65,33	6,58	15,24	-	12,86	-	C ₁₅ H ₁₈ N ₃ Cl	65,21	6,66	15,21	-	12,92	-
VI (ж)	74,65	7,94	17,41	-	-	-	C ₁₅ H ₁₉ N ₃	74,69	7,88	17,43	-	-	-
VI (з)	75,26	8,29	16,46	-	-	-	C ₁₆ H ₂₁ N ₃	75,21	8,33	16,46	-	-	-
VI (и)	70,82	7,80	15,49	5,90	-	-	C ₁₆ H ₂₁ N ₃ O	70,85	7,72	15,47	5,96	-	-
VI (й)	66,55	4,66	18,31	10,48	-	-	C ₁₇ H ₁₄ N ₄ O ₂	66,66	4,61	18,29	10,45	-	-

Соед-е	Найдено, %						Брутто-формула	Вычислено, %					
	C	H	N	O	Cl	S		C	H	N	O	Cl	S
VI (к)	68,91	4,77	14,25	-	12,07	-	$C_{17}H_{14}N_3Cl$	63,03	4,77	14,21	-	11,99	-
VI (л)	76,13	5,79	18,08	-	-	-	$C_{17}H_{15}N_3$	76,05	5,88	18,07	-	-	-
VI (м)	78,41	6,20	15,39	-	-	-	$C_{18}H_{17}N_3$	78,52	6,22	15,26	-	-	-
VI (н)	74,20	5,76	14,39	5,65	-	-	$C_{18}H_{17}N_3O$	74,20	5,88	14,42	5,49	-	-
VII (а)	66,55	4,66	18,31	10,48	-	-	$C_{17}H_{14}N_4O_2$	66,60	4,57	18,28	10,55	-	-
VII (б)	68,91	4,77	14,25	-	12,07	-	$C_{17}H_{14}N_3Cl$	68,97	4,73	14,20	-	12,10	-
VII (в)	76,13	5,79	18,08	-	-	-	$C_{17}H_{15}N_3$	76,11	5,84	18,05	-	-	-
VII (г)	78,41	6,20	15,39	-	-	-	$C_{18}H_{17}N_3$	78,45	6,17	15,38	-	-	-
VII (д)	74,20	5,76	14,39	5,65	-	-	$C_{18}H_{17}N_3O$	74,14	5,83	14,42	5,61	-	-
VII (е)	68,95	5,79	16,08	9,18	-	-	$C_{20}H_{20}N_4O_2$	68,99	5,69	16,10	9,22	-	-
VII (ё)	71,10	5,97	12,44	-	10,49	-	$C_{20}H_{20}N_3Cl$	71,04	6,05	12,41	-	10,50	-
VII (ж)	79,17	6,98	13,85	-	-	-	$C_{20}H_{21}N_3$	79,09	7,03	13,88	-	-	-
VII (з)	79,46	7,30	13,24	-	-	-	$C_{21}H_{23}N_3$	79,1	7,27	13,22	-	-	-
VII (и)	75,65	6,95	12,60	4,80	-	-	$C_{21}H_{23}N_3O$	75,69	6,99	12,55	4,77	-	-
VII (й)	71,73	4,38	15,21	8,69	-	-	$C_{22}H_{16}N_4O_2$	71,71	4,41	15,21	8,67	-	-
VII (к)	73,84	4,51	11,74	-	9,91	-	$C_{22}H_{16}N_3Cl$	73,81	4,56	11,79	-	9,84	-
VII (л)	81,71	5,30	12,99	-	-	-	$C_{22}H_{17}N_3$	81,76	5,24	13,00	-	-	-
VII (м)	81,87	5,68	12,45	-	-	-	$C_{23}H_{19}N_3$	81,92	5,61	12,47	-	-	-
VII (н)	78,16	5,42	11,89	4,53	-	-	$C_{23}H_{19}N_3O$	78,09	5,47	11,87	4,57	-	-
VIII (а)	51,90	4,21	20,19	11,30	-	11,10	$C_{12}H_{12}N_4O_2S$	52,16	4,38	20,28	11,58	-	11,60
VIII (б)	54,23	4,55	15,81	-	13,34	12,07	$C_{12}H_{12}N_3ClS$	54,21	4,62	15,79	-	13,33	12,05
VIII (в)	62,31	5,66	18,17	-	-	13,86	$C_{12}H_{13}N_3S$	62,27	5,70	18,20	-	-	13,83
VIII	63,64	6,16	17,13	-	-	13,07	$C_{13}H_{15}N_3S$	63,69	6,11	17,15	-	-	13,05

Соед-е	Найдено, %						Брутто-формула	Вычислено, %					
	C	H	N	O	Cl	S		C	H	N	O	Cl	S
(Г)													
VIII (Д)	59,74	5,79	16,08	6,12	-	12,27	$C_{13}H_{15}N_3OS$	59,71	5,77	16,14	6,09	-	12,29
VIII (е)	56,57	5,70	17,60	10,05	-	10,07	$C_{15}H_{18}N_4O_2S$	56,53	5,76	17,52	10,11	-	10,08
VIII (ё)	58,52	5,89	13,65	-	11,52	10,42	$C_{15}H_{18}N_3ClS$	58,47	5,96	13,61	-	11,55	10,41
VIII (ж)	65,90	7,00	15,37	-	-	11,73	$C_{15}H_{19}N_3S$	65,94	7,05	15,33	-	-	11,68
VIII (з)	66,86	7,36	14,62	-	-	11,16	$C_{16}H_{21}N_3S$	66,89	7,31	14,66	-	-	11,14
VIII (и)	63,33	6,98	13,85	5,27	-	10,57	$C_{16}H_{21}N_3OS$	63,38	6,92	13,86	5,32	-	10,52
VIII (й)	60,34	4,17	16,56	9,46	-	9,48	$C_{17}H_{14}N_4O_2S$	60,38	4,12	16,61	9,48	-	9,41
VIII (к)	62,28	4,30	12,82	-	10,81	9,78	$C_{17}H_{14}N_3ClS$	62,19	4,37	12,88	-	10,86	9,70
VIII (л)	69,59	5,15	14,32	-	-	10,93	$C_{17}H_{15}N_3S$	69,53	5,21	14,37	-	-	10,89
VIII (м)	70,33	5,57	13,67	-	-	10,43	$C_{18}H_{17}N_3S$	70,37	5,51	13,70	-	-	10,42
VIII (н)	66,85	5,30	12,99	4,95	-	9,91	$C_{18}H_{17}N_3OS$	66,81	5,34	12,97	4,99	-	9,89

Таблица 5 – Данные спектров ЯМР ^1H 1,3,5-триазинов (VI а-н - VIII а-н)VI а-н, где $R_3 = \text{Me}$ VII а-н, где $R_3 = \text{Ph}$ VIII а-н, где $R_3 = \text{S-Me}$

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
VI (а)	1.33 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2.89 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.65 – 8.56 (m, 2H); 8.42 – 8.33 (m, 2H)	2.64 (s, 3H)	-	-
VI (б)	1.31 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2.85 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.48 – 8.39 (m, 2H); 7.53 – 7.38 (m, 2H)	2.69 (s, 3H)	-	-
VI (в)	1.24 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2.65 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	7.97 – 7.90 (m, 2H); 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H); 7.51 – 7.59 (m, 2H)	3.08 (s, 3H)	-	-
VI (г)	1.35 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	2.48 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	2.93 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	7.97 – 7.90 (m, 2H); 7.45 – 7.35 (m, 2H)	2.71 (s, 3H)	-	-
VI (д)	1.47 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2.68 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.45 – 8.33 (m, 2H); 7.38 – 7.26 (m, 2H)	3.14 (s, 3H)	-	3.80 (s, 3H)
VI (е)	0.95 (t, J = 7.3 Hz, 3H)	-	2.96 (t, J = 7.7 Hz, 2H);	8.87 – 8.74 (m, 2H); 8.42 – 8.22(m, 2H)	3.10 (s, 3H)	-	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O- CH_3
			2.01 (p, J = 7.4 Hz, 2H); 1.44 (t, J = 6.9 Hz, 2H); 1.35 (t, J = 5.0 Hz, 2H)				
VI (ё)	0.90 (t, J = 6.9 Hz, 3H)	-	2.99 (t, J = 7.8 Hz, 2H); 1.99 (p, J = 7.3 Hz, 2H); 1.40 (t, J = 6.9 Hz, 2H); 1.33 (t, J = 5.3 Hz, 2H)	8.56 – 8.44 (m, 2H); 8.40 – 8.21(m, 2H)	3.13 (s, 3H)	-	-
VI (ж)	0.94 (t, J = 7.1Hz, 3H)	-	2.91 (t, J = 7.7 Hz, 2H); 2.03 (p, J = 7.1 Hz, 2H); 1.47 (t, J = 6.8 Hz, 2H); 1.36 (t, J = 5.1 Hz, 2H)	7.98 – 7.91 (m, 2H); 7.60 (t, J = 7.3 Hz, 1H); 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 2H)	3.17 (s, 3H)	-	-
VI (з)	0.97 (t, J = 7.4 Hz, 3H)	2.42 (t, J = 7.6 Hz, 3H)	3.05 (t, J = 7.7 Hz, 2H); 2.06 (p, J = 7.3 Hz, 2H); 1.53 (t, J = 6.8 Hz, 2H); 1.47 (t, J = 5.1 Hz, 2H)	8.54 – 8.46 (m, 2H); 8.39 – 8.19(m, 2H)	3.10 (s, 3H)	-	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
VI (и)	0.93 (t, J = 7.3 Hz, 3H)	-	3.12 – 3.03 (m, 2H); 1.99 (h, J = 6.9 Hz, 2H); 1.51 (q, J = 7.1 Hz, 4H)	8.61 – 8.51 (m, 2H); 8.33 – 8.12 (m, 2H)	3.15 (s, 3H)	-	3.78 (s, 3H)
VI (й)	-	-	4.27 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.71 (d, J = 8.8 Hz, 2H); 8.34 (d, J = 8.7 Hz, 2H); 7.47 (d, J = 7.1 Hz, 2H); 7.36 (t, J = 7.4 Hz, 2H); 7.32 – 7.26 (m, 1H)	2.76 (s, 3H)	-	-
VI (к)	-	-	4.25 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.75 (d, J = 8.6 Hz, 2H); 8.31 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.59 (d, J = 7.0 Hz, 2H); 7.35 (t, J = 7.6 Hz, 2H); 7.31 – 7.23 (m, 1H)	2.73 (s, 3H)	-	-
VI (л)	-	-	4.23 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.75 (d, J = 8.6 Hz, 2H); 8.31 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H); 7.59 (d, J = 7.0 Hz, 2H); 7.35 (t, J = 7.6 Hz, 2H); 7.31 – 7.23 (m, 1H)	2.71 (s, 3H)	-	-
VI (м)	-	2.46 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	4.29 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.82 (d, J = 8.8 Hz, 2H); 8.27 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.64 (d, J = 6.9 Hz, 2H); 7.37 (t, J = 7.6 Hz, 2H); 7.30 – 7.19 (m, 1H)	2.80 (s, 3H)	-	-
VI (н)	-	-	4.24 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.75 – 8.66 (m, 2H); 8.31 – 8.19 (m, 2H); 7.59 (d, J = 7.1 Hz, 2H); 7.35 – 7.21 (m, 2H);	2.74 (s, 3H)	-	3.82 (s, 3H)

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
				7.31 – 7.23 (m, 1H)			
VII (a)	1.34 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2,92 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.65 – 8.56 (m, 2H); 8.42 – 8.33 (m, 2H); 8.26 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 7.62 (t, J = 7.3 Hz, 1H); 7.53 (t, J = 7.5 Hz, 2H)	-	-	-
VII (б)	1.37 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2,89 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.64 – 8.57 (m, 2H); 8.45 – 8.36 (m, 2H); 8.28 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 7.61 (t, J = 7.3 Hz, 1H); 7.53 (t, J = 7.5 Hz, 2H)	-	-	-
VII (в)	1.52 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	3.08 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.70 (d, J = 7.4 Hz, 4H); 7.70 – 7.65 (m, 2H); 7.59 (d, J = 7.3 Hz, 4H)	-	-	-
VII (г)	1.38 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	2.49 (s, 3H)	2,87 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.66 – 8.55 (m, 2H); 8.43 – 8.37 (m, 2H); 8.25 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 7.63 (t, J = 7.3 Hz, 1H); 7.57 (t, J = 7.5 Hz, 2H)	-	-	-
VII (д)	1.40 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2,85 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.68 – 8.56 (m, 2H); 8.47 – 8.38 (m, 2H); 8.27 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 7.66 (t, J = 7.3 Hz, 1H); 7.55 (t, J = 7.5 Hz, 2H)	-	-	3.83 (s, 3H)
VII (e)	0.97 (t, J = 7.3 Hz, 3H)	-	3.14 – 3.01 (m, 2H); 1.98 (h, J = 6.8 Hz, 2H); 1.48 (q, J = 7.2 Hz, 4H)	8.88 – 8.79 (m, 2H); 8.67 (t, J = 7.0 Hz, 2H); 8.44 – 8.34 (m, 2H); 7.69 – 7.60 (m, 1H); 7.64 – 7.53 (m, 2H)	-	-	-
VII (ë)	0.93	-	2.90	8.81 – 8.73 (m, 2H);	-	-	-

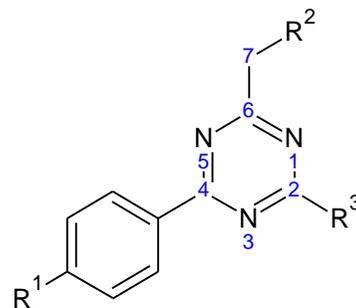
Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O- CH_3
	(t, J = 7.1Hz, 3H)		(t, J = 7.7 Hz, 2H); 2.03 (p, J = 7.2 Hz, 2H); 1.46 (t, J = 6.8 Hz, 2H); 1.32 (t, J = 5.0 Hz, 2H)	8.62 (t, J = 7.0 Hz, 2H); 8.41 – 8.35 (m, 2H); 7.65 – 7.56 (m, 1H); 7.54 – 7.41 (m, 2H)			
VII (ж)	0.99 (t, J = 7.2Hz, 3H)	-	2.89 – 2.79 (m, 2H); 1.96 – 1.78 (m, 2H); 1.44 – 1.33 (m, 4H)	8.81 – 8.73 (m, 2H); 8.62 (t, J = 7.0 Hz, 2H); 8.41 – 8.35 (m, 2H); 7.65 – 7.56 (m, 1H); 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H); 7.54 – 7.41 (m, 2H)	-	-	-
VII (з)	0.99 (t, J = 6.7Hz, 3H)	2.49 (s, 3H)	3.03 (t, J = 7.7 Hz, 2H); 2.01 (p, J = 7.4 Hz, 2H); 1.50 (t, J = 6.9 Hz, 2H); 1.46 (t, J = 5.0 Hz, 2H)	8.72 – 8.66 (m, 2H); 8.59 (d, J = 7.8 Hz, 2H); 7.60 (d, J = 6.6 Hz, 1H); 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.37 (d, J = 7.8 Hz, 2H)	-	-	-
VII (и)	0.98 (t, J = 7.1Hz, 3H)	-	2.98 (t, J = 7.9 Hz, 2H); 2.01 (p, J = 7.3 Hz, 2H); 1.42 (t, J = 6.7 Hz, 2H); 1.39 (t, J = 5.4 Hz, 2H)	8.77 – 8.63 (m, 2H); 8.54 (d, J = 7.8 Hz, 2H); 7.63 (d, J = 6.6 Hz, 1H); 7.50 (d, J = 8.2 Hz, 2H); 7.33 (d, J = 7.8 Hz, 2H)	-	-	3.80 (s, 3H)
VII (й)	-	-	4.38 (s, 2H)	8.82 (d, J = 8.6 Hz, 2H);	-	-	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
				8.66 (d, J = 7.5 Hz, 2H); 8.38 (d, J = 8.3 Hz, 2H); 7.63 (d, J = 9.6 Hz, 2H); 7.58 (s, 1H); 7.54 (d, J = 8.0 Hz, 2H); 7.39 (d, J = 14.9 Hz, 1H); 7.34 – 7.26 (d, 2H)			
VII (к)	-	-	4.34 (s, 2H)	8.70 – 8.61 (m, 2H); 8.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H); 7.68 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 7.65 – 7.57 (m, 1H); 7.62 – 7.50 (m, 4H); 7.38 (t, J = 7.5 Hz, 2H); 7.29 (t, J = 7.4 Hz, 1H)	-	-	-
VII (л)	-	-	4.27 (s, 2H)	8.73 (d, J = 7.4 Hz, 4H); 8.56 – 8.44 (m, 2H); 7.70 – 7.65 (m, 2H); 7.59 (d, J = 7.3 Hz, 4H); 7.42 – 7.38 (m, 2H); 7.33 (t, J = 7.1 Hz, 1H)	-	-	-
VII (м)	-	2.49 (s, 3H)	4.36 (s, 2H)	8.75 – 8.65 (m, 2H); 8.63 – 8.55 (m, 2H); 7.66 – 7.57 (m, 1H); 7.56 – 7.47 (m, 4H); 7.45 – 7.34 (m, 4H); 7.33 – 7.26 (m, 1H)	-	-	-
VII (н)	-	-	4.39 (s, 2H)	8.91 – 8.79 (m, 2H); 8.67 – 8.58 (m, 2H); 7.71 – 7.62 (m, 1H); 7.55 – 7.49 (m, 4H)	-	-	3.81 (s, 3H)

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
				7.42 – 7.34 (m, 4H); 7.31 – 7.24 (m, 1H)			
VIII (a)	1.42 (t, J = 7.6 Hz, 3H)	-	2.94 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.70 (d, J = 8.4 Hz, 2H); 8.34 (d, J = 8.4 Hz, 2H)	-	2.68 (s, 3H)	-
VIII (б)	1.40 (t, J = 7.6 Hz, 3H)	-	2.91 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.47 (d, J = 8.3 Hz, 2H); 7.47 (d, J = 8.4 Hz, 2H)	-	2.66 (s, 3H)	-
VIII (в)	1.42 (t, J = 7.6 Hz, 3H)	-	2.91 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.54 (d, J = 7.1 Hz, 2H); 7.63 – 7.55 (m, 1H); 7.52 (d, J = 8.3 Hz, 2H)	-	2.68 (s, 3H)	-
VIII (г)	1.41 (t, J = 7.6 Hz, 3H)	2.45 (s, 3H)	2.90 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.42 (d, J = 7.9 Hz, 2H); 7.31 (d, J = 7.9 Hz, 2H)	-	2.66 (s, 3H)	-
VIII (д)	1.43 (t, J = 7.6 Hz, 3H)	-	2.93 (q, J = 7.6 Hz, 2H)	8.32 (d, J = 7.9 Hz, 2H); 7.29 (d, J = 7.9 Hz, 2H)	-	2.68 (s, 3H)	3.84 (s, 3H)
VIII (e)	0.94 (t, J = 5.8 Hz, 3H)	-	2.93 – 2.85 (m, 2H); 1.95 – 1.77 (m, 2H); 1.42 – 1.37 (m, 4H)	8.73 – 8.65 (m, 2H); 8.37 – 8.26 (m, 2H)	-	2.67 (s, 3H)	-
VIII (ё)	0.97 (t, J = 6.9 Hz, 3H)	-	2.94 (t, J = 7.8 Hz, 2H); 2.09 (p, J = 7.3 Hz, 2H); 1.48 (t, J = 6.9 Hz, 2H); 1.29 (t, J = 5.3 Hz, 2H)	8.79 – 8.67 (m, 2H); 8.36 – 8.25 (m, 2H)	-	2.65 (s, 3H)	-
VIII (ж)	0.99 (t, J = 7.3 Hz, 3H)	-	2.97 (t, J = 7.5 Hz, 2H); 2.03 (p, J = 7.0 Hz, 2H); 1.40 (t, J = 6.7 Hz, 2H);	8.57 (d, J = 7.0 Hz, 2H); 7.62 – 7.51 (m, 1H); 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 2H)	-	2.64 (s, 3H)	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
			1.33 (t, J = 5.5 Hz, 2H)				
VIII (з)	0.93 (t, J = 6.9 Hz, 3H)	2.46 (s, 3H)	2.94 (t, J = 7.9 Hz, 2H); 2.11 (p, J = 7.2 Hz, 2H); 1.38 (t, J = 6.6 Hz, 2H); 1.23 (t, J = 5.3 Hz, 2H)	8.75 – 8.63 (m, 2H); 8.38 – 8.27 (m, 2H)	-	2.66 (s, 3H)	-
VIII (и)	0.96 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	-	2.97 (t, J = 7.8 Hz, 2H); 2.11 (p, J = 7.3 Hz, 2H); 1.42 (t, J = 6.9 Hz, 2H); 1.34 (t, J = 5.4 Hz, 2H)	8.71 – 8.62 (m, 2H); 8.35 – 8.24 (m, 2H)	-	2.69 (s, 3H)	3.82 (s, 3H)
VIII (й)	-	-	4.21 (s, 2H)	8.71 – 8.62 (m, 2H); 8.36 – 8.26 (m, 2H); 7.52 – 7.40 (m, 2H); 7.43 – 7.24 (m, 3H)	-	2.65 (s, 9H)	-
VIII (к)	-	-	4.17 (s, 2H)	8.43 – 8.33 (m, 2H); 7.72 – 7.50 (m, 2H); 7.53 – 7.42 (m, 2H); 7.41 – 7.30 (m, 2H); 7.33 – 7.23 (m, 1H)	-	2.63 (s, 3H)	-
VIII (л)	-	-	4.25 (s, 2H)	8.43 – 8.33 (m, 2H); 7.72 – 7.50 (m, 2H); 7.64 (t, J = 7.4 Hz, 1H)	-	2.69 (s, 3H)	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^1H (CDCl_3), δ , м. д.						
	CH_3	$\text{CH}_3\text{-Ar}$	CH_2	Ar	$\text{CH}_3\text{-C}^2$	$\text{CH}_3\text{-S}$	O-CH_3
				7.53 – 7.42 (m, 2H); 7.41 – 7.30 (m, 2H); 7.33 – 7.23 (m, 1H)			
VIII (м)	-	2.47 (s, 3H)	4.19 (s, 2H)	8.66 – 8.58 (m, 2H); 7.81 – 7.72 (m, 2H); 7.58 – 7.47 (m, 2H); 7.43 – 7.30 (m, 2H); 7.28 – 7.21 (m, 1H)	-	2.68 (s, 3H)	-
VIII (н)	-	-	4.16 (s, 2H)	8.43 – 8.33 (m, 2H); 7.72 – 7.50 (m, 2H); 7.53 – 7.42 (m, 2H); 7.41 – 7.30 (m, 2H); 7.33 – 7.23 (m, 1H)	-	2.64 (s, 3H)	3.80 (s, 3H)

Таблица 6 – Данные спектров ЯМР ^{13}C 1,3,5-триазинов (VI а-н - VIII а-н)VI а-н, где $\text{R}_3 = \text{Me}$ VII а-н, где $\text{R}_3 = \text{Ph}$ VIII а-н, где $\text{R}_3 = \text{S-Me}$

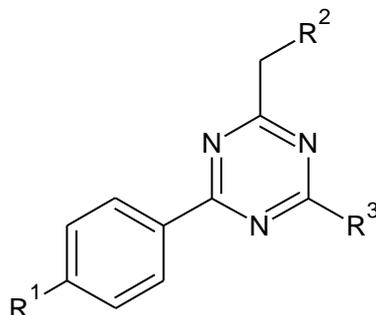
Соед-е	Данные спектров ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м. д.						
	Ar	C_2	C_4	C_6	C_7	CH_3	CH_2
VI (а)	123.7 - 150.3	169.0	180.9	177.0	32.3	11.8; 25.8	-
VI (б)	128.8 - 138.7	170.0	180.4	176.5	32.3	11.8; 25.8	-
VI (в)	127.9 - 133.1	165.8	180.1	177.6	31.3	8.2; 25.8	-
VI (г)	128.9- 143.0	171.0	180.1	176.3	32.3	11.9; 21.8; 25.9	-
VI (д)	123.7 - 150.3	167.7	183.3	179.7	32.2	11.5; 13.6; 56.9	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м. д.						
	Ar	C_2	C_4	C_6	C_7	CH_3	CH_2
VI (е)	123.6 – 150.6	169.0	180.2	176.9	31.7	10.4; 14.0	21.6 – 31.5
VI (ё)	123.9 – 150.4	169.7	181.4	177.0	32.0	11.0; 13.7	21.9 – 31.6
VI (ж)	123.6 – 150.3	169.1	180.9	176.5	32.3	10.9; 13.9	22.1 – 30.9
VI (з)	124.0 – 145.1	169.6	181.2	177.2	32.5	11.1; 14.2; 22.0	21.2 – 31.7
VI (и)	123.5 – 149.9	169.0	180.1	176.2	31.9	11.0; 13.8; 54.7	21.5 – 31.4
VI (й)	123.7 – 150.3	169.2	178.2	177.5	45.6	25.9	-
VI (к)	123.8 – 150.6	169.4	179.1	177.0	45.1	25.4	-
VI (л)	123.9 – 150.2	169.9	180.3	176.3	45.8	24.8	-
VI (м)	123.4 – 148.9	170.1	180.8	176.9	45.4	21.5; 23.9	-
VI (н)	124.1 – 150.5	169.8	181.2	176.4	45.3	24.8; 57.1	-
VII (а)	123.7 - 150.3	169.3	181.4	171.6	32.5	11.7	-
VII (б)	124.2 - 150.4	169.1	181.1	170.9	32.0	11.5	-
VII (в)	128.9 - 135.9	170.4	180.9	171.3	32.5	11.7	-
VII (г)	123.6 - 129.9	168.0	183.2	177.0	45.4	13.6; 21.9	-
VII (д)	123.7 - 150.3	170.0	180.4	176.5	45.6	15.9 52.2	-

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м. д.						
	Ar	C_2	C_4	C_6	C_7	CH_3	CH_2
VII (е)	123.7 - 150.3	169.2	180.8	171.6	39.2	14.0	22.5 – 31.6
VII (ё)	124.2 - 150.4	169.4	180.4	171.3	39.2	14.5	21.8 – 32.0
VII (ж)	123.9 - 150.6	169.7	180.1	172.4	39.5	13.9	22.2 – 31.3
VII (з)	128.6 – 143.0	170.5	180.0	171.2	39.3	14.0 21.7	22.6 – 31.7
VII (и)	126.3 – 145.0	170.3	180.5	171.9	39.4	13.8 56.1	21.8 – 31.9
VII (й)	123.7 -150.3	169.6	178.8	172.0	45.8	-	-
VII (к)	126.5– 137.1	170.1	178.4	171.6	45.8	-	-
VII (л)	126.4 – 137.4	170.6	179.2	172.3	45.6	-	-
VII (м)	126.7 – 143.1	171.4	178.0	171.9	45.9	21.8	-
VII (н)	126.5 – 145.2	171.0	179.5	172.2	45.7	56.3	-
VIII (а)	123.6 – 150.3	167.1	183.3	179.7	32.2	11.5; 13.6	-
VIII (б)	128.9 - 138.9	168.7	182.7	179.3	32.1	11.6; 13.5	-
VIII (в)	128.7 – 143.5	168.9	182.5	178.9	32.5	12.1; 13.7	-
VIII (г)	129.0 – 143.2	169.6	182.3	179.0	32.1	11.6; 13.5; 21.7	-
VIII (д)	129.2 – 144.0	168.1	180.1	178.7	33.0	11.2; 13.7; 56.0	-
VIII (е)	123.5 – 150.3	167.7	183.2	179.1	38.9	13.6; 14.0	22.5 – 31.5

Соед-е	Данные спектров ЯМР ^{13}C (CDCl_3), δ , м. д.						
	Ar	C_2	C_4	C_6	C_7	CH_3	CH_2
VIII (ё)	123.7 – 150.1	167.9	183.4	179.2	37.8	13.8; 14.2	23.0 – 32.3
VIII (ж)	124.3 – 150.1	168.2	183.7	179.4	39.1	13.1; 14.4	22.4 – 31.8
VIII (з)	124.1 – 150.4	167.6	183.1	179.8	39.5	13.0; 14.6; 21.9	21.7 – 33.1
VIII (и)	123.5 – 150.7	168.3	182.9	179.3	38.8	13.1; 14.3; 56.1	21.4 – 32.6
VIII (й)	123.6 – 150.3	168.0	183.7	177.0	45.5	13.7	-
VIII (к)	126.9 – 136.7	169.1	183.1	176.6	45.4	13.6	-
VIII (л)	123.8 – 150.1	168.9	183.5	176.9	45.3	13.4	-
VIII (м)	123.5 – 149.7	168.2	183.2	177.5	45.4	13.4; 22.3	-
VIII (н)	123.7 – 150.0	170.0	182.9	177.7	45.6	13.5 55.8	-

Таблица 7 – Данные ИК-спектроскопии синтезированных 1,3,5-триазинов
(VI а-н - VIII а-н)



VI а-н, где $R_3 = \text{Me}$

VII а-н, где $R_3 = \text{Ph}$

VIII а-н, где $R_3 = \text{S-Me}$

Соед-е	R^1	R^2	R^3	Данные ИК-спектров, ν , cm^{-1}		
				C=N	C-H ar	C-H alif
VI (а)	NO_2	CH_3	CH_3	1521	624 – 769	2937; 2975
VI (б)	Cl	CH_3	CH_3	1524	637 – 772	2938; 2976
VI (в)	H	CH_3	CH_3	1519	632 – 765	2943; 2969
VI (г)	CH_3	CH_3	CH_3	1520	649 – 777	2938; 2976; 2999
VI (д)	OCH_3	CH_3	CH_3	1521	651 – 790	2935; 2973; 2991
VI (е)	NO_2	n- C_4H_9	CH_3	1523	620 – 763	2933; 2979
VI (ё)	Cl	n- C_4H_9	CH_3	1527	656 – 787	2937; 2975
VI (ж)	H	n- C_4H_9	CH_3	1522	631 – 809	2932; 2978
VI (з)	CH_3	n- C_4H_9	CH_3	1524	624 – 801	2936; 2978; 2993
VI (и)	OCH_3	n- C_4H_9	CH_3	1525	631 – 759	2934; 2972; 2994
VI (й)	NO_2	C_6H_5	CH_3	1519	645 – 781	2975
VI (к)	Cl	C_6H_5	CH_3	1526	638 – 779	2978

Соед-е	R ¹	R ²	R ³	Данные ИК-спектров, ν , cm^{-1}		
				C=N	C-H ar	C-H alif
VI (л)	H	C ₆ H ₅	CH ₃	1516	681 – 761	2974
VI (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	1521	621 – 767	2977; 2993
VI (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	1519	653 – 795	2978; 2995
VII (а)	NO ₂	CH ₃	C ₆ H ₅	1520	679 – 798	2937
VII (б)	Cl	CH ₃	C ₆ H ₅	1517	688 – 767	2939
VII (в)	H	CH ₃	C ₆ H ₅	1527	662 – 810	2942
VII (г)	CH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅	1516	630 – 786	2937; 2993
VII (д)	OCH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅	1524	642 – 773	2944; 2988
VII (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	1526	685 – 804	2930
VII (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	1521	656 – 792	2934
VII (ж)	H	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	1517	662 – 784	2928
VII (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	1519	627 – 768	2931; 2981
VII (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	1522	651 – 790	2935; 2997
VII (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1526	667 – 806	-
VII (к)	Cl	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1516	637 – 781	-
VII (л)	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1520	682 – 768	-
VII (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1527	651 – 802	2989
VII (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1519	642 – 793	2998
VIII (а)	NO ₂	CH ₃	S-CH ₃	1525	690 – 770	2945; 2983
VIII (б)	Cl	CH ₃	S-CH ₃	1521	678 – 787	2937; 2989
VIII (в)	H	CH ₃	S-CH ₃	1526	652 – 803	2940; 2981
VIII (г)	CH ₃	CH ₃	S-CH ₃	1518	633 – 789	2942; 2975; 2992
VIII (д)	OCH ₃	CH ₃	S-CH ₃	1527	641 – 779	2947; 2971; 2990
VIII (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	1523	675 – 774	2947; 2971
VIII (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	1519	631 – 787	2934; 2978
VIII (ж)	H	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	1528	663 – 795	2937; 2992

Соед-е	R ¹	R ²	R ³	Данные ИК-спектров, ν , cm^{-1}		
				C=N	C-H ar	C-H alif
VIII (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	1515	630 – 807	2934; 2981; 2995
VIII (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	1524	641 – 779	2948; 2968; 2997
VIII (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	S-CH ₃	1521	665 – 791	2966
VIII (к)	Cl	C ₆ H ₅	S-CH ₃	1527	648 – 789	2971
VIII (л)	H	C ₆ H ₅	S-CH ₃	1516	649 – 798	2961
VIII (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	S-CH ₃	1520	679 – 771	2979; 2991
VIII (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	S-CH ₃	1514	660 – 787	2969; 2989

ГЛАВА 3. ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СИНТЕЗИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

3.1. Прогнозирование спектра биологической активности

Для выбора наиболее перспективного соединения для дальнейших фармакологических исследований, а также для сокращения числа экспериментов на животных был проведен предварительный компьютерный скрининг ряда синтезированных молекул. Согласно концепции «3 R», а именно принципу «Reduction», необходимо использовать альтернативный метод, который заключается в достижении воспроизводимых результатов с использованием минимального количества животных.

Для установления спектра биологической активности синтезированных соединений была использована компьютерная программа PASS 2022 (Prediction of Activity Spectra for Substances) [70], позволяющая предсказать несколько тысяч видов активности лекарственно-подобных химических соединений на основе их структурных формул. Для каждого соединения были найдены Probability to be active (Pa) - вероятность того, что исследуемое соединение будет биологически активным по данному критерию. В таблице 8 приведен ранжированный по количеству соединений список с ожидаемым видом биологической активности для синтезированных соединений.

Таблица 8 – Список ожидаемых видов биологической активности для синтезированных производных 1,3,5-триазина

Pa	Количество соединений	Активность
0,10 – 0,11	9	Ингибитор циклооксигеназы-2
0,19 – 0,22	13	Антигипоксическая
0,29 – 0,34	14	Лечение алопеции
0,26 – 0,39	14	Вазодилатирующая
0,23 – 0,31	16	Антагонист интерлейкина-6

0,35– 0,58	16	Противомикробная
0,29 – 0,55	18	Стимулятор функции почек
0,35– 0,58	21	Противогрибковая
0,30 – 0,63	27	Цитотоксическая (карцинома легких)

Таким образом, по данным прогноза Way2Drug, изучение противогрибковой, противомикробной, диуретической и противоопухолевой активностей является перспективным для ряда синтезированных производных 1,3,5-триазина.

3.2. Прогнозирование острой токсичности

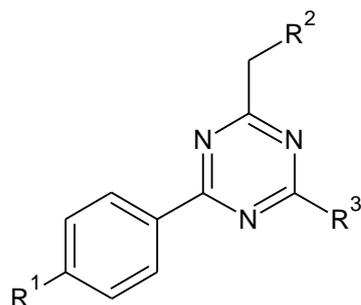
Перед тем как приступить к экспериментальному исследованию острой токсичности *in vivo* полученных соединений, был проведен компьютерный скрининг *in silico* с помощью программы GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships) [71].

Результаты прогнозирования величины среднелетальной дозы (LD_{50}) синтезированных соединений представлены в таблице 9.

В ходе изучения острой токсичности *in silico* установлено, что соединения, имеющие в качестве заместителя у C^2 фенильную группу (R^3), обладают наибольшим значением LD_{50} .

Наличие акцепторных заместителей R^1 уменьшает токсичность. Если же R^1 – донорный заместитель, то происходит увеличение токсичности.

Заместитель R^2 не оказывает существенного влияния на значение LD_{50} .

Таблица 9 – Прогнозируемые значения LD₅₀ 1,3,5-триазиновVI а-н, где R₃ = MeVII а-н, где R₃ = PhVIII а-н, где R₃ = S-Me

Соед-е	R ¹	R ²	R ³	Прогнозируемое значение LD ₅₀ (мг/кг)
V (а)	NO ₂	CH ₃	CH ₃	641
V (б)	Cl	CH ₃	CH ₃	741
V (в)	H	CH ₃	CH ₃	535
V (г)	CH ₃	CH ₃	CH ₃	362
V (д)	OCH ₃	CH ₃	CH ₃	435
V (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	CH ₃	1136
V (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	CH ₃	1061
V (ж)	H	n-C ₄ H ₉	CH ₃	776
V (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	CH ₃	942
V (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	CH ₃	355
V (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	CH ₃	827
V (к)	Cl	C ₆ H ₅	CH ₃	1035
V (л)	H	C ₆ H ₅	CH ₃	644
V (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	680
V (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	CH ₃	652
VI (а)	NO ₂	CH ₃	C ₆ H ₅	1087
VI (б)	Cl	CH ₃	C ₆ H ₅	1215
VI (в)	H	CH ₃	C ₆ H ₅	944
VI (г)	CH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅	906
VI (д)	OCH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅	849
VI (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	996
VI (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	1056
VI (ж)	H	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	966
VI (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	826
VI (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	C ₆ H ₅	487
VI (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	585

Соед-е	R ¹	R ²	R ³	Прогнозируемое значение LD ₅₀ (мг/кг)
VI (к)	Cl	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	814
VI (л)	H	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	738
VI (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1051
VI (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	C ₆ H ₅	1296
VII (а)	NO ₂	CH ₃	S-CH ₃	510
VII (б)	Cl	CH ₃	S-CH ₃	360
VII (в)	H	CH ₃	S-CH ₃	474
VII (г)	CH ₃	CH ₃	S-CH ₃	341
VII (д)	OCH ₃	CH ₃	S-CH ₃	488
VII (е)	NO ₂	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	572
VII (ё)	Cl	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	439
VII (ж)	H	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	719
VII (з)	CH ₃	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	841
VII (и)	OCH ₃	n-C ₄ H ₉	S-CH ₃	363
VII (й)	NO ₂	C ₆ H ₅	S-CH ₃	669
VII (к)	Cl	C ₆ H ₅	S-CH ₃	791
VII (л)	H	C ₆ H ₅	S-CH ₃	886
VII (м)	CH ₃	C ₆ H ₅	S-CH ₃	625
VII (н)	OCH ₃	C ₆ H ₅	S-CH ₃	892

3.3. Острая токсичность

Все эксперименты на животных были проведены в соответствии с Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. N 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» и Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Животные были получены из питомника «Рапполово» (Ленинградская область), прошли карантин в течение 14 суток и содержались в стандартных условиях сертифицированного вивария Центра экспериментальной фармакологии СПХФУ на обычном пищевом рационе, со свободным доступом к воде. Все проводимые манипуляции с лабораторными животными были рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

С целью минимизации количества животных, участвующих в эксперименте, оценка острой токсичности *in vivo* проведена только для соединений **VI а, б, VII а, б, г, к, VIII а, е**.

Определение острой токсичности проводили на белых аутбредных мышах самцах массой 20 ± 2 г, из которых были сформированы 5 групп по 10 животных. 1,3,5-триазины (**VI а, б, VII а, б, г, к, VIII а, е**) вводили однократно, внутривенно в интервале доз от 510 до 1700 мг/кг в виде суспензий в смеси ДМСО : вода для инъекций (1:5) с использованием в качестве стабилизатора суспензии твин-80 (гидроксиэтилированный сорбитан). Наблюдение за животными осуществляли в течение 72 ч. Регистрировали развитие основных симптомов и время гибели животных.

Экспериментальная среднелетальная доза рассчитана с использованием инсталлированного программного обеспечения «Prism 9.0.1». Токсичность исследуемых соединений составляет от 440 до 1450 мг/кг. Установлено, что прогнозируемые и экспериментальные значения LD_{50} коррелируют между собой, исследуемые соединения относятся к классу 4 «малотоксичны» и 5 «практически нетоксичны» (классификация по К.К. Сидорову) [72]. Результаты представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Прогнозируемые и экспериментальные значения LD_{50} для некоторых синтезированных 1,3,5-триазинов

Соединение	Прогнозируемое значение LD_{50} (мг/кг)	Экспериментальное значение LD_{50} (мг/кг)
VI а	641	650
VI б	741	950
VI г	362	440
VII а	1087	1300
VII б	1215	1450
VII к	814	900
VIII а	510	600
VIII е	572	590

3.4. Изучение противомикробной активности

В ходе скрининга биологической активности с помощью программы PASS 2022 были получены данные о предположительной противомикробной активности (таблица 11).

Таблица 11 – Прогнозируемая противомикробная активность для некоторых синтезированных 1,3,5-триазинов

«Pa»	Микроорганизм
0,35-0,37	<i>Staphylococcus aureus</i>
0,41-0,48	<i>Bacillus subtilis</i>
0,54-0,59	<i>Escherichia coli</i>
0,61-0,64	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Экспериментально антимикробную активность некоторых соединений изучали в отношении тест-культур микроорганизмов *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Минимально подавляющую концентрацию (МПК) определяли методом серийных разведений [73] в жидкой питательной среде – мясопептонном бульоне (МПБ) с последующим высевом на агаризованную среду. Исследуемые соединения нерастворимы в воде, поэтому в качестве растворителя использовали 20%-ный раствор ДМСО, который не подавляет роста использованной тест-культуры в концентрациях более 1000 мкг/мл. Микробная нагрузка составляла 100 000 клеток/мл. Для достижения соответствующей концентрации микробных клеток готовили суспензию микроорганизмов в изотоническом растворе натрия хлорид в соответствии со стандартом мутности 10^6 ЕД (1 млрд клеток/мл), затем через ряд последовательных разведений получали конечную концентрацию микробных клеток. В ряд пробирок наливали по 1 мл МПБ. В первую пробирку вносили 1 мл раствора одного из исследуемых соединений и проводили последовательные разведения в ряду пробирок (переноса по 1 мл из предыдущей в последующую), после чего в каждую пробирку ряда вносили

по 0,1 мл микробной взвеси (104 клеток/мл), пробирки культивировали при 37 °С. Из пробирки, где не наблюдали рост культуры, делали высев в чашку Петри на мясопептонный агар (МПА). Чашку культивировали при 37 °С 24 ч.

Полученные данные свидетельствуют о том, что соединения (VI а, б, г, й, VII б, VIII й) обладают слабой антимикробной активностью (таблица 10, рисунок 59) [74].

Активность в отношении грамотрицательных штаммов (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) наиболее выражена у *n*-метилзамещённого соединения (Vг).

Таблица 12 - Противомикробная активность синтезированных соединений

Соединение	МПК (мкг/мл)			
	Грамположительные		Грамотрицательные	
	<i>Bac. subtilis</i>	<i>St.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseud. aeruginosa</i>
VI а	300	700	400	250
VI б	600	300	100	120
VI г	200	140	60	80
VI й	>1000	190	550	470
VII б	500	760	>1000	320
VIII й	350	>1000	600	>1000
Раствор диоксида 1%	60	30	17	33

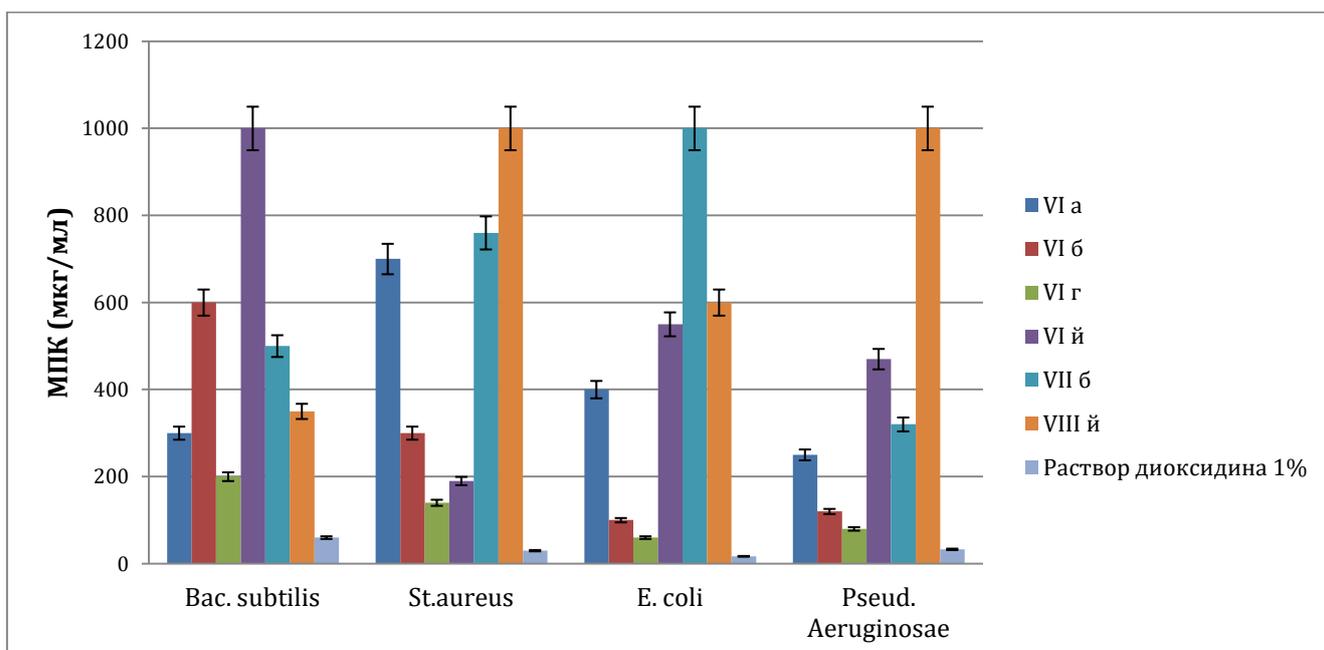


Рисунок 59. Противомикробная активность синтезированных соединений

3.5. Изучение противогрибковой активности

В ходе скрининга биологической активности с помощью программы PASS 2022 были получены данные о предположительной противогрибковой активности некоторых синтезированных соединений (таблица 13).

Таблица 13 – Прогнозируемая противогрибковая активность для некоторых синтезированных 1,3,5-триазинов

«Pa»	Микроорганизм
0,39-0,43	Penicillum notatum
0,48-0,53	Aspergillus niger
0,58-0,67	Saccharomyces cerevisiae

Экспериментально противогрибковую активность некоторых соединений изучали в отношении тест-культур микроорганизмов *Penicillum notatum*, *Aspergillus niger* и *Saccharomyces cerevisiae*. Минимально подавляющую концентрацию (МПК) определяли методом серийных разведений [73] в жидкой питательной среде – мясопептонном бульоне (МПБ) с последующим высевом на агаризованную среду. Исследуемые соединения нерастворимы в воде, поэтому в качестве растворителя

использовали 20%-ный раствор ДМСО, который не подавляет роста использованной тест-культуры в концентрациях более 1000 мкг/мл. Микробная нагрузка составляла 100 000 клеток/мл. Для достижения соответствующей концентрации микробных клеток готовили суспензию микроорганизмов в изотоническом растворе натрия хлорид в соответствии со стандартом мутности 10^6 ЕД (1 млрд клеток/мл), затем через ряд последовательных разведений получали конечную концентрацию микробных клеток. В ряд пробирок наливали по 1 мл МПБ. В первую пробирку вносили 1 мл раствора одного из исследуемых соединений и проводили последовательные разведения в ряду пробирок (переноса по 1 мл из предыдущей в последующую), после чего в каждую пробирку ряда вносили по 0,1 мл микробной взвеси (10⁴ клеток/мл), пробирки культивировали при 37 °С. Из пробирки, где не наблюдали рост культуры, делали высеив в чашку Петри на агар Сабуро. Чашку культивировали при 37 °С 24 ч.

Полученные данные свидетельствуют о том, что соединения (VI а, б, г, й, VII б, VIII й) обладают умеренной противогрибковой активностью (таблица 14, рисунок 60) [66].

Введение ароматического заместителя в структуру 1,3,5-триазина увеличивает ингибирующую активность в отношении дрожжевой культуры *Sac.cerevisie*.

Таблица 14 - Противогрибковая активность синтезированных соединений

Соединение	МПК (мкг/мл)		
	<i>Pen.notatum</i>	<i>Asp. niger</i>	<i>Sac.cerevisiae</i>
VI а	100	500	650
VI б	850	200	700
VI г	250	400	150
VI й	950	>1000	300
VII б	>1000	750	250
VIII й	950	>1000	400
флуконазол	30	15	65

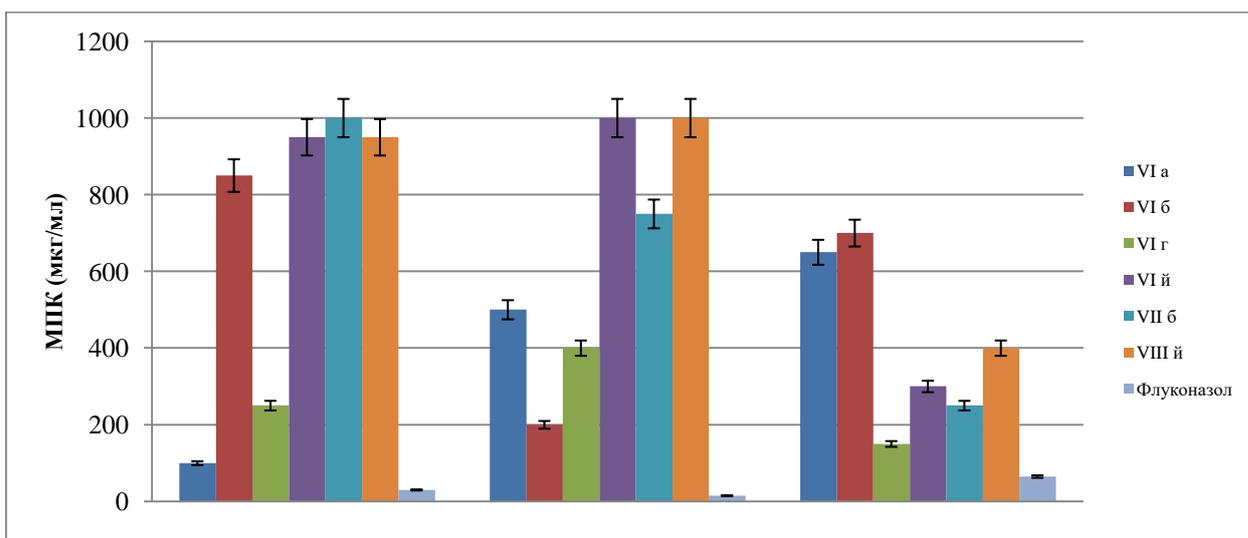


Рисунок 60. Противогрибковая активность синтезированных соединений

3.6. Изучение диуретической активности

В ходе скрининга биологической активности с помощью программы PASS 2022 были получены данные о предположительной диуретической активности в отношении синтезированных 1,3,5-триазинов (являются стимуляторами функции почек) (таблица 15).

Таблица 15 – Прогнозируемая диуретическая активность для некоторых синтезированных 1,3,5-триазинов

Соединение	«Pa»
VIII а	0,55
VIII б	0,41
VIII г	0,44
VIII е	0,38
VIII й	0,32
VI б	0,36
VII а	0,29

Для экспериментальной оценки диуретической активности полученного соединения *in vivo* по методу Taylor, Topliss [75, 76] были использованы крысы-самцы массой 250 ± 30 граммов, из которых были сформированы 7 групп по 12 особей в каждой (таблица 16).

Таблица 16 – Описание групп животных на модели «Taylor, Topliss»

№ п/п	Вещество	Доза
Группа 1	Гипотиазид (таблетки 25 мг, блистер 20, Chinoin Pharmaceutical and Chemical Works Private Co. Ltd. (Венгрия) – суспензия в воде очищенной)	4.24 мг/кг [77]
Группа 2	Фуросемид (таблетки 40 мг, блистер 50, ООО Озон Фарм (Россия) – суспензия в воде очищенной)	6.78 мг/кг [77]
Группа 3	Исследуемое соединение VIII а (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 4	Исследуемое соединение VIII г (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 5	Исследуемое соединение VIII б (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 6	Исследуемое соединение VIII е (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 7	Исследуемое соединение VI б (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 8	Исследуемое соединение VII а (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 9	Исследуемое соединение VIII й (суспензия в воде очищенной)	20 мг/кг
Группа 10 (контроль)	Вода очищенная	-

Крысы опытных групп получали водные суспензии испытуемого вещества и препаратов сравнения из расчета 25 мл раствора на 1 кг веса тела. Крысы контрольной группы получали водную нагрузку из расчета 25 мл раствора на 1 кг веса тела. После введения веществ животных помещали в

клетки для изучения общего обмена и в течение 6 часов проводили учет диуреза. Действие на диурез оценивали в сравнении со сдвигами диуреза животных контрольной группы.

Исследование влияния на диурез *in vivo* показало, что исследуемые соединения обладают диуретической активностью, особенно в первый час эксперимента, и находятся на одном уровне с препаратами сравнения.

Из полученных экспериментальных данных следует, что соединения, имеющие в R^3 метилсульфанил группу, проявляют более выраженную диуретическую активность. Введение в структуру дополнительного бензольного кольца способствует снижению биологической активности. Результаты эксперимента представлены в таблице 17 и в виде диаграммы динамики диуреза (Рисунок 61) [78].

Таблица 17. Диуретическая активность раствора испытуемой субстанции (M±SM), n=12 в каждой группе

Группа	Объем мочи, мл						
	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5 ч	6 ч	Суточный диурез
Контроль	2,38±0,26	0,83±0,08	0,31±0,08	0,06±0,03	0,23±0,07	0,09±0,04	17,03±2,91
VIII а	4,09±0,30#	1,49±0,15	0,17±0,04	0,13±0,02	0,74±0,21	0,47±0,10	18,68±1,48
VIII г	4,50±0,12	1,10±0,17	0,11±0,02	0,63±0,02	0,20±0,04	0,03±0,02	19,65±1,21
VIII б	4,67±0,33	0,87±0,16	0,67±0,17	0,40±0,09	0,11±0,02	0,02±0,01	18,40±1,45
VIII е	6,47±0,37	0,16±0,02	0,05±0,02	0,00±0,00	0,06±0,04	0,08±0,02	17,04±1,05
VI б	4,29±0,10	0,84±0,12	0,41±0,13	0,23±0,04	0,12±0,02	0,09±0,01	18,04±1,24
VII а	2,99±0,21	0,77±0,05	0,09±0,01	0,00±0,00	0,02±0,01	0,05±0,02	14,03±1,11
VIII й	3,31±0,17	0,18±0,11	0,00±0,00	0,14±0,03	0,08±0,04	0,17±0,01	16,47±1,18
Фуросемид	5,00±0,21*	2,30±0,13	0,73±0,05	0,12±0,03	0,09±0,01	0,00±0,00	20,21±1,08
Гипотиазид	3,13±0,18*	2,25±0,07&	1,05±0,16	0,51±0,08	0,39±0,04	0,00±0,00	17,97±1,39

* различия с группой «контроль» статистически значимы $p \leq 0.01$

различия с группой «контроль» статистически значимы $p \leq 0.05$

& различия с группой «фуросемид» статистически значимы $p \leq 0.05$

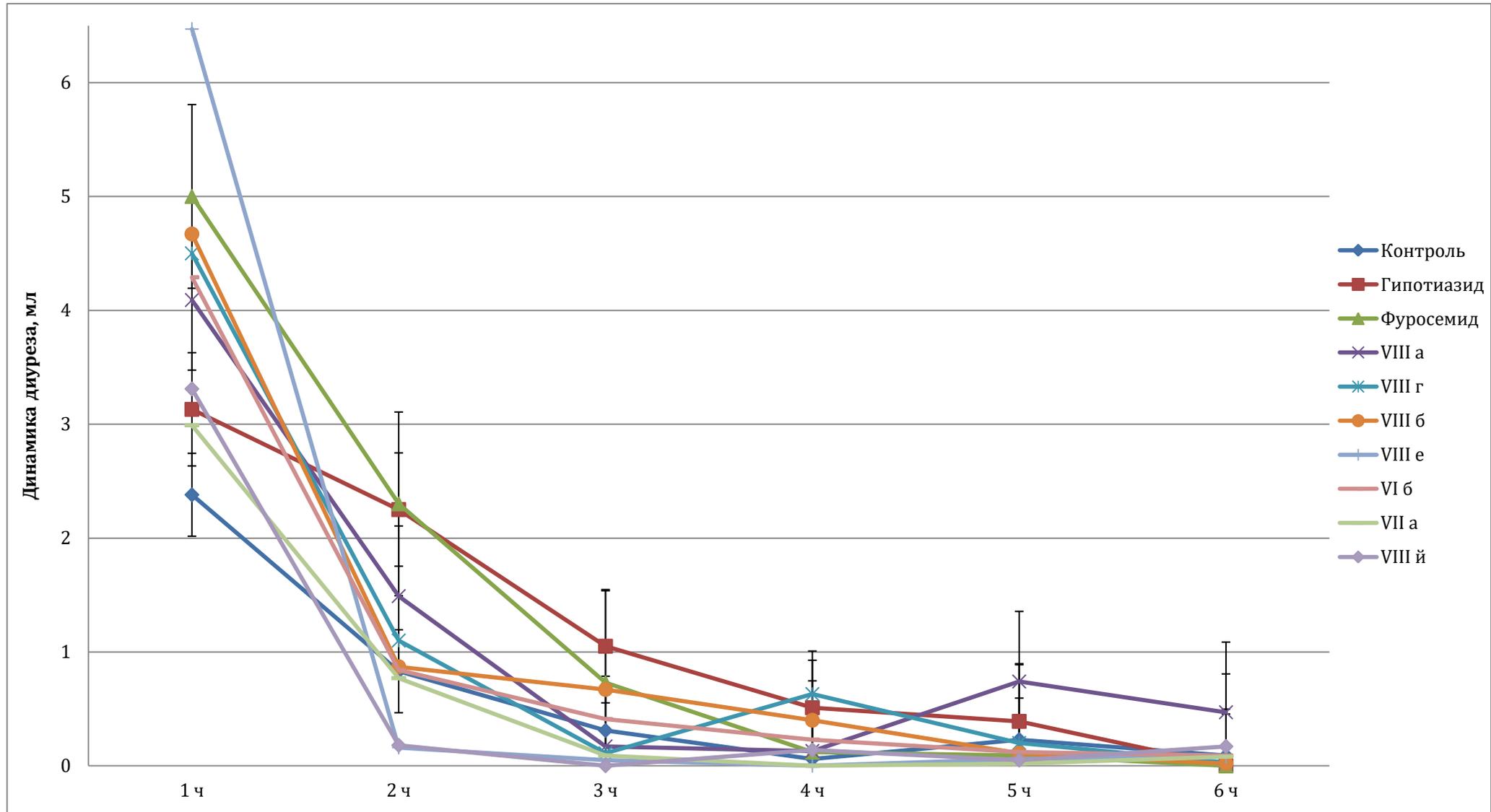


Рисунок 61. Динамика диуреза (мл) изучаемых лекарственных препаратов в течение 6 часов

3.7. Изучение противоопухолевой активности

В ходе скрининга биологической активности с помощью программы PASS 2022 были получены данные о предположительной противоопухолевой активности в отношении клеток карциномы легкого человека. Было выявлено, что наибольшее значение «Ра» было у соединений, содержащих в своей структуре галоген, а именно, атом хлора. Поэтому для дальнейшей экспериментальной оценки были выбраны соединения VI б и VII б, их значения «Ра» представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Прогнозируемая противоопухолевая активность для некоторых синтезированных 1,3,5-триазинов

«Ра»	Соединение
0,52	VI б
0,61	VII б

В качестве опухолевых клеток-мишеней использовали клеточную линию карциномы легкого человека (A-549), которая предварительно культивировалась в 96-луночном U-образном планшете (МиниМед, Россия) в культуральной среде RPMI-1640 (Sigma, Германия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, Великобритания), 1% антибиотика-антимикотика (Gibco, США) и 1% L-глутамина (Gibco, Великобритания) в течение 2-х суток в увлажненной атмосфере с 5% CO₂ при 37 °С. Количество клеток-мишеней составило 1×10⁴ клеток на лунку.

На 2-е сутки культивирования проводили полную замену культуральной среды с добавлением вещества VI б и VII б, предварительно растворенных в диметилсульфоксиде (DMSO, Carl Roth GmbH+Co.KG, Германия) при температуре 60 °С при постоянном перемешивании в течении 60 мин. Конечные концентрации веществ в лунках составляли 30 мкМ, 50 мкМ, 70 мкМ, 90 мкМ и 100 мкМ.

Для оценки цитотоксического эффекта в качестве положительного контроля использовали эквивалентные концентрации доксорубина. Для этого 10 мг лиофилизата доксорубина растворили в 5 мл 0,9% стерильного раствора натрия хлорида, после чего довели культуральной средой RPMI-1640 до необходимой концентрации.

Для оценки жизнеспособности и характеристики типа гибели клеток-мишеней А-549 по окончании культивирования (на 3-е сутки) пробы окрашивали набором «Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit» (R&D Systems, США) согласно инструкции производителя на льду. После этого пробы переносили в пробирки для проточной цитофлуориметрии. Регистрацию результатов выполняли на 10000 клеток А-549 в пробе с использованием проточного цитометра CytoFlex (Beckman Coulter, США).

Исследование противоопухолевой активности *in vitro* показало, что введение в структуру исследуемого соединения еще одного бензольного кольца (соединение VII б) способствовало увеличению цитотоксичности (практически полное вымирание опухолевой клеточной культуры).

Результаты оценки жизнеспособности клеток карциномы легкого человека (А-549) представлены в таблице 19 и на рисунке 62.

Таблица 19 – Оценка жизнеспособности клеток карциномы легкого человека (А-549)

Питательная среда	Процент клеток, %			
	Ранний апоптоз	Живые	Некроз	Поздний апоптоз
ДМСО	54,38±5,91	33,22±3,76	5,81±0,35	8,91±2,25
Физ.р-р	60,75±4,12	29,50±3,51	6,71±0,33	2,44±0,50
VII б (30)	35,16±3,22	22,20±2,59	35,64±5,79	6,96±0,18
VII б (50)	13,29±1,24	11,17±1,81	74,46±2,73#	2,70±0,13
VII б (70)	3,50±0,22	5,26±0,63	90,46±0,87#	0,82±0,03
VII б (90)	2,34±0,53	4,20±0,25	92,98±0,82	0,67±0,09
VII б (100)	3,55±1,05	3,90±0,78	93,23±1,73#	1,87±0,31
VI б (30)	26,29±3,58	26,50±2,31	13,12±2,03	34,10±3,12#
VI б (50)	1,66±0,32	46,16±1,66	20,42±2,88	31,77±4,32*

VI б (70)	11,74±1,01	40,28±3,09	16,81±1,23	30,48±3,34
VI б (90)	28,29±2,87	23,97±3,22	15,19±1,11	32,28±3,09#
VI б (100)	13,55±1,19	41,52±4,07	16,14±1,19	28,93±2,01
Доксирубицин (30)	28,00±4,29	30,92±1,31	7,65±0,48	33,44±2,51#
Доксирубицин (50)	14,89±2,78	29,58±5,55	11,68±0,81	43,86±1,98#
Доксирубицин (70)	1,81±0,66	30,66±2,93	20,51±2,22#	48,55±5,99#
Доксирубицин (90)	0,38±0,08	30,01±0,05	26,78±1,82#	42,84±1,79#
Доксирубицин (100)	0,15±0,05	29,59±1,82	29,60±1,02#	40,69±0,85#

* различия с группой «физиологический раствор» статистически значимы $p \leq 0.01$

различия с группой «физиологический раствор» статистически значимы $p \leq 0.05$

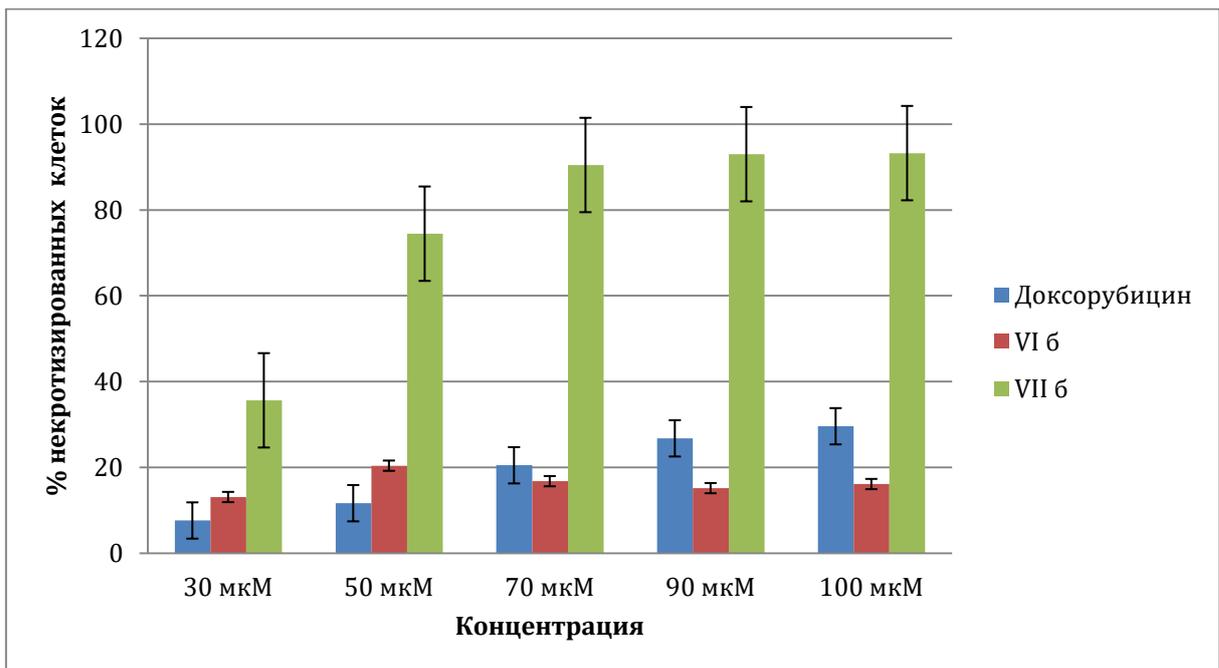


Рисунок 62. Результаты оценки жизнеспособности клеток на этапе «некроз»

ГЛАВА 4. ПАРАМЕТРЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ 2-ФЕНИЛ-4-(4-ХЛОРФЕНИЛ)-6-ЭТИЛ-1,3,5-ТРИАЗИНА

Впервые синтезированный 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазин по результатам фармакологических исследований характеризуется оптимальным соотношением активности (противогрибковая, диуретическая, противоопухолевая) и безопасности ($LD_{50} = 1450 \pm 11,2$ мг/кг). Таким образом, данное соединение потенциально может быть использовано в качестве фармацевтической субстанции, предназначенной для производства (изготовления) лекарственных препаратов. Следовательно, актуальным является разработка первичного стандартного образца (СО).

При разработке основных параметров аттестации были использованы взаимодополняющие методы анализа.

4.1 Получение первичного стандартного образца 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина

Стандартный образец получали доочисткой исходной субстанции путём троекратной перекристаллизации из ацетона (марка х.ч.).

4.2. Подтверждение структуры

Структуру подтверждали с помощью современных физико-химических методов анализа: ЯМР (^1H и ^{13}C), ИК-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C (CDCl_3) 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (рисунок 63) представлены на рисунках 64 и 65 соответственно. Данные спектров представлены в таблице 20 и таблице 21 соответственно.

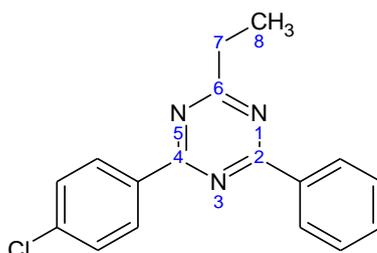


Рисунок 63. Структурная формула 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б)

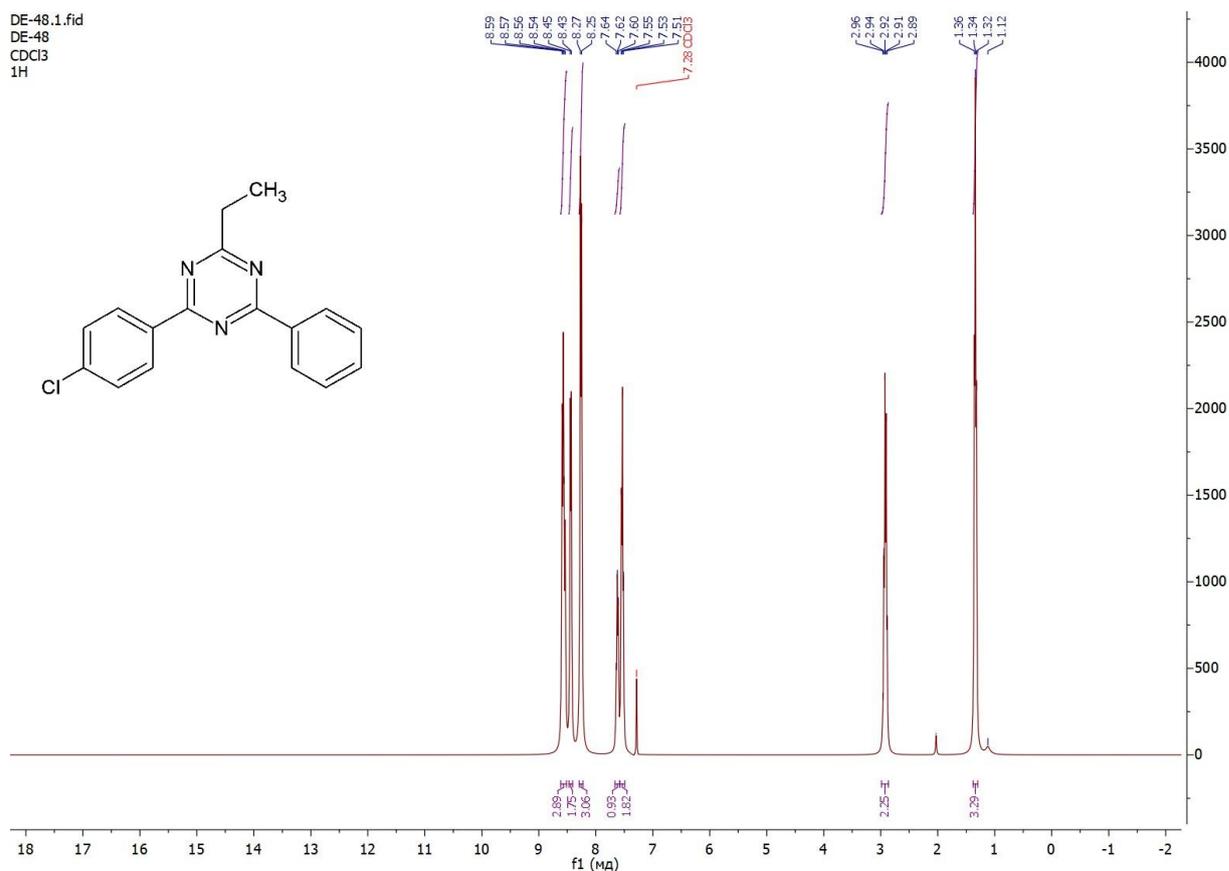


Рисунок 64. Спектр ЯМР ¹H раствора 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б) в CDCl₃

Таблица 20 - Данные спектра ЯМР ¹H раствора 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина в CDCl₃

Данные спектров ЯМР ¹ H (CDCl ₃), δ, м. д.		
CH ₃	CH ₂	Ar
1.31 (t, J = 7.5 Hz, 3H)	2.89 (q, J = 7.5 Hz, 2H)	8.64 – 8.57 (m, 2H); 8.45 – 8.36 (m, 2H); 8.28 (d, J = 8.5 Hz, 2H); 7.61 (t, J = 7.3 Hz, 1H); 7.53 (t, J = 7.5 Hz, 2H)

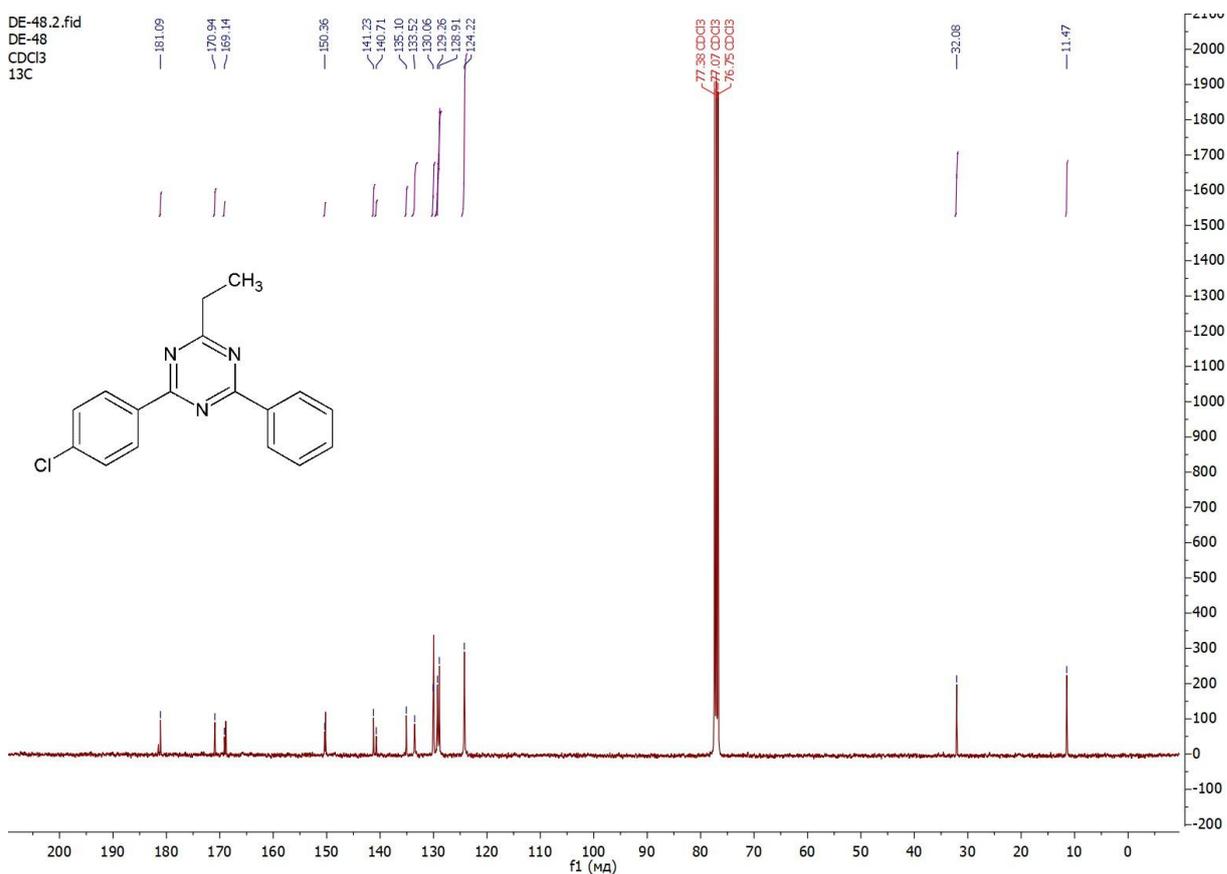


Рисунок 65. Спектр ЯМР ^{13}C раствора 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б) в CDCl_3

Таблица 21 - Данные спектра ЯМР ^{13}C раствора 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина в CDCl_3

Ar	C ₂	C ₄	C ₆	C ₇	C ₈
124.02-150.67	168.90	181.14	179.67	31.98	11.56

В инфракрасном спектре (диски KBr) 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б) идентифицируются: триазиновый цикл по полосе поглощения при 1512 см^{-1} ($\nu\text{C}=\text{N}(\text{аром.})$), валентные колебания CH_3 -группы этильного радикала при 2935 см^{-1} ($\nu_{\text{ас}}\text{C}-\text{H}$), деформационные колебания монозамещенных бензольных колец в области $1175\text{--}1125\text{ см}^{-1}$ и $1525\text{--}1475\text{ см}^{-1}$ ($\delta\text{C}-\text{H}$ (аром.)) и 1,4-дизамещенных бензольных колец в области $1225\text{--}1175\text{ см}^{-1}$ и $1125\text{--}1090\text{ см}^{-1}$ ($\delta\text{C}-\text{H}$ (аром.)), валентные колебания в области $750\text{--}700\text{ см}^{-1}$ и 650 см^{-1} ($\nu\text{C}-\text{Cl}(\text{аром.})$) (рисунок 66).

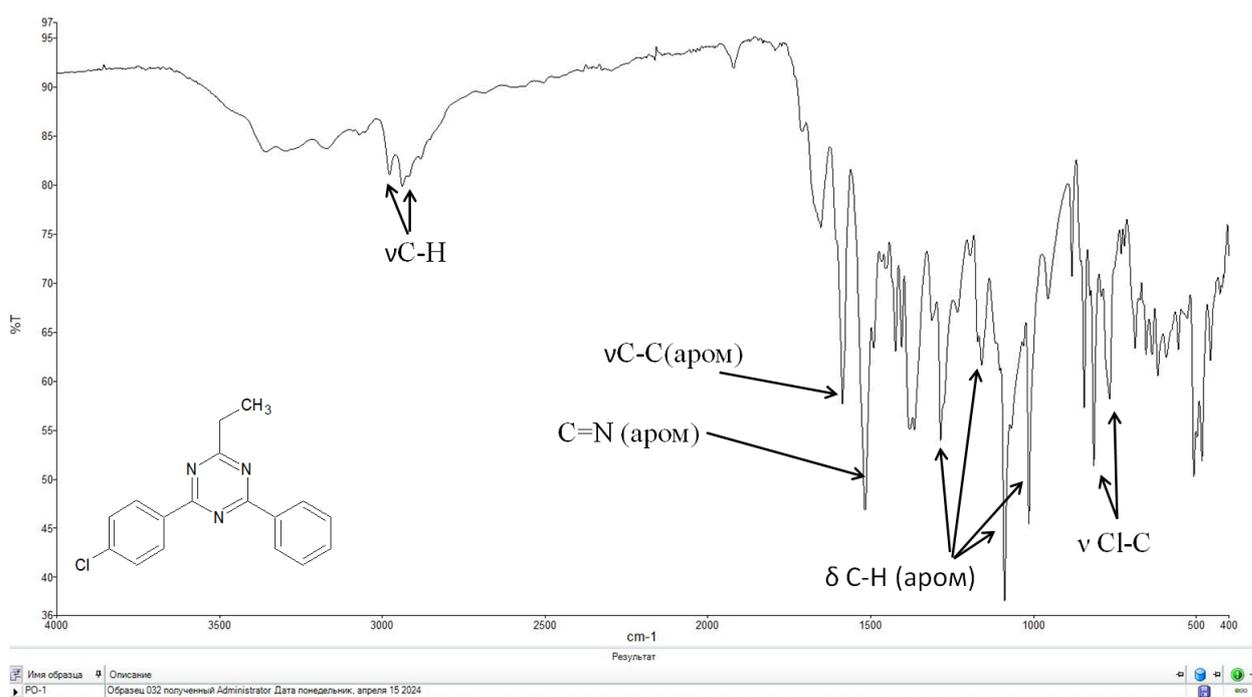


Рисунок 66. ИК-спектр 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б) в диске KBr

Строение также доказано масс-спектрометрией высокого разрешения (HRMS-ESI). Например, для 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VI б) значение m/z $[M+H]^+$ молекулярного иона соответствует массе молекулярного иона. m/z $[M+H]^+$ вычислено для $C_{12}H_{13}N_3Cl$: 296.0949; найдено: 296.0951. Масс-спектр представлен на рисунке 67.

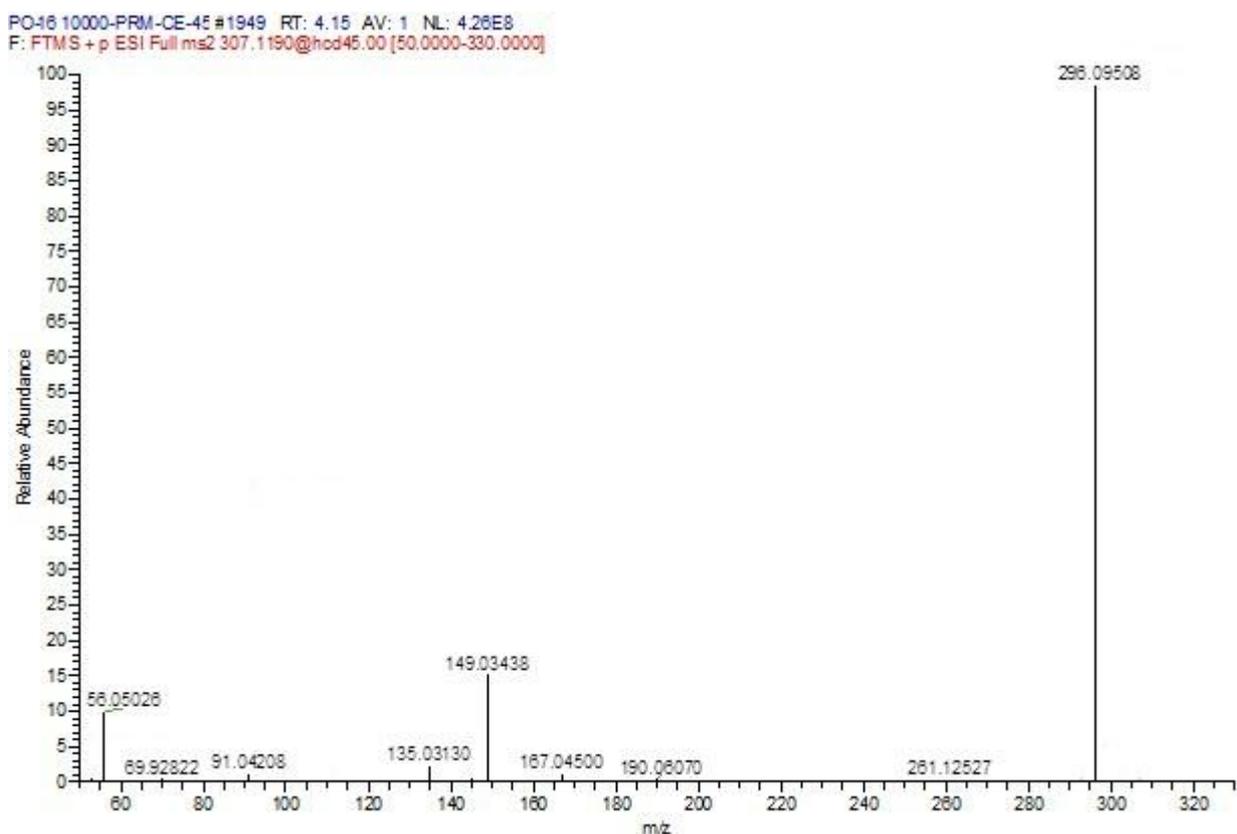


Рисунок 67. Масс-спектр 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б)

4.3. Определение воды

Определение воды проводили по методу К.Фишера (полумикрометод) [79].

Установка титра: 0.0310 г воды смешивали с 5 мл метанола и титровали реактивом Фишера до изменения окраски от желтой до красновато-коричневой.

Опытная проба: точную навеску (0.3 г) исследуемого вещества растворяли в 5 мл метанола и титровали реактивом Фишера до изменения окраски от желтой до красновато-коричневой.

Контрольный опыт: 5 мл метанола титровали реактивом Фишера до изменения окраски от желтой до красновато-коричневой.

Титр реактива Фишера по воде рассчитывали по формуле:

$$T (\text{реактив/вода}) = \frac{a (\text{воды})}{V_1 - V_2},$$

где: V_1 – объем реактива Фишера, пошедший на титрование навески воды;

V_2 –объем реактива Фишера, пошедший на контрольный опыт.

Содержание воды в стандартном образце вычисляли по формуле:

$$\text{Вода, \%} = \frac{(V_0 - V_{\text{к.о.}}) * T \left(\frac{\text{реактив}}{\text{вода}} \right) * 100\%}{a},$$

где V_0 – объем реактива Фишера, пошедший на титрование опытной пробы;

$V_{\text{к.о.}}$ –объем реактива Фишера, пошедший на контрольный опыт;

T (реактив/вода) – титр реактива Фишера по воде;

a – навеска исследуемого вещества.

Содержание воды составило $0,19 \pm 0,01\%$.

4.4. Подтверждение чистоты первичного стандартного образца

Определение чистоты проводили по показателям: остаточные растворители (ООР), неорганические примеси (хлориды, сульфатная зола, тяжелые металлы), родственные примеси.

4.4.1. Остаточные органические растворители

Определение остаточных растворителей проводили парофазным методом.

Исходя из схемы получения образца 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина, нами были заявлены следующие остаточные органические растворители для контроля: диметилсульфоксид (ДМСО), ацетон, бензол.

ДМСО относится к 3 классу токсичности [79], использовался на этапе синтеза. Схема синтеза соединения представлена в главе «2.2 Синтез новых производных 1,3,5-триазина» на рисунке 45.

Ацетон относится к 3 классу токсичности [79], использовался на этапе получения стандартного образца методом перекристаллизации.

На этапе получения 2,5-дизамещённых 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов в качестве среды был использован бензол. Данный растворитель относится к 1 классу токсичности и его содержание должно быть ограничено

в соответствии с требованиями ОФС «Остаточные органические растворители» ГФ XV издания [79].

Приготовление раствора испытуемого образца:

Навеска испытуемого образца (0,0085 г) растворили в метаноле и довели объем раствора до 2 мл этим же растворителем.

Приготовление раствора остаточного растворителя (а):

В колбу объемом 25 мл добавили 5 мл диметилформамида, поместили на весы и взвесили навеску бензола (0,2470 г), довели объем раствора диметилформамидом до метки (раствор бензола). 1 мл полученного раствора поместили в колбу объемом 100 мл и довели до метки водой деионизированной (РОРа1). Отобрали 0,1 мл полученного раствора, поместили в колбу объемом 100 мл и довели до метки водой деионизированной (РОРа) [80].

Приготовление раствора остаточного растворителя (с):

В колбу объемом 25 мл добавили 5 мл воды деионизированной, поместили на весы и взвесили навеску ацетона (0,2540 г), довели объем раствора водой деионизированной до метки. Был получен раствор ацетона [80].

В колбу объемом 25 мл добавили 5 мл воды деионизированной, поместили на весы и взвесили навеску диметилсульфоксида (0,2700 г), довели объем раствора водой деионизированной до метки. Был получен раствор диметилсульфоксида [80].

В колбу объемом 100 мл добавили 2,5 мл раствора ацетона; 2,5 мл раствора диметилсульфоксида и 0,1 мл раствора РОРа1, довели объем раствора до метки водой деионизированной [80].

Холостой раствор:

В колбу объемом 50 мл добавили 0,5 мл диметилформаида довели объем раствора водой деионизированной до метки. 0,1 мл полученного раствора поместили в колбу объемом 100 мл и довели до метки водой деионизированной [80].

Добавление в парофазные виалы:

Испытуемый образец: 200 мкл раствора испытуемого образца смешать с 1 мл холостого раствора.

РОРа: 200 мкл метанола смешать с 1 мл РОРа1.

РОРс: 200 раствора испытуемого образца смешать с 1 мл раствора остаточного растворителя (с).

Условия хроматографирования

Колонка:	капиллярная кварцевая DB-624 30 м x 0,32 мм x 1,8 мкм
Температура уравнивания виал:	105 °С
Время уравнивания виал:	45 мин
Деление потока:	1:2
Скорость потока:	35 см/с
Температура колонки:	40 °С в течении 20 мин, с последующим увеличением температуры до 240 °С со скоростью 10 °С/мин. Выдерживать при 240 °С в течении 20 мин.
Температура инжектора:	140 °С
Температура детектора:	250 °С

При расчете использовали пики на хроматограмме испытуемого образца и хроматограмме раствора остаточных растворителей (с). Результаты

испытания стандартных растворов и испытуемого образца представлены на рисунках 68-70 и в таблицах 22-24.

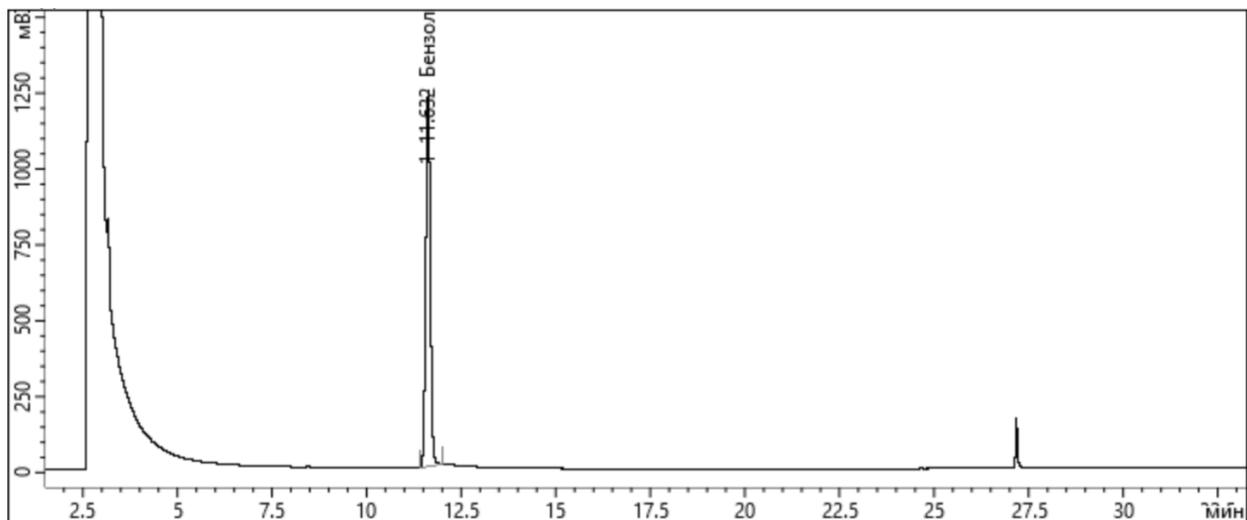


Рисунок 68. Хроматограмма стандартного раствора бензола (раствор ПОРа)

Таблица 22 - Данные хроматограммы стандартного раствора бензола (раствор ПОРа)

Компонент	Время, мин	Площадь, мВ*сек
Бензол	11.632	10373.883

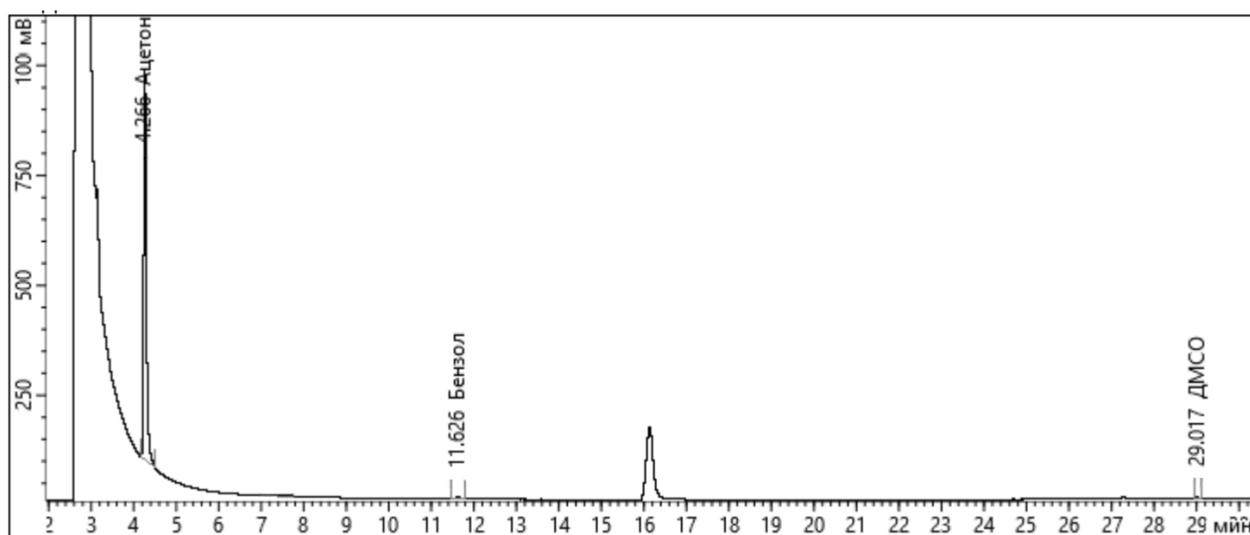


Рисунок 69. Хроматограмма стандартного раствора остаточных растворителей (раствор ПОРс)

Таблица 23 - Данные хроматограммы стандартного раствора остаточных растворителей (раствор РОРС)

Компонент	Время, мин	Площадь, мВ*сек
Ацетон	4.266	3979.465
Бензол	11.626	30.575
ДМСО	29.017	8.816

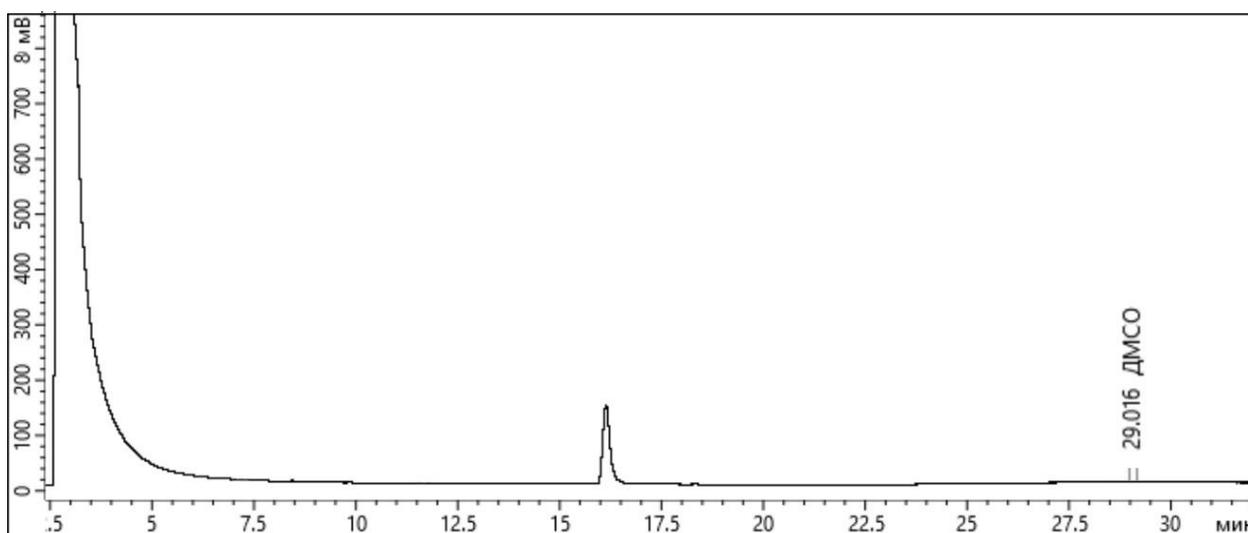


Рисунок 70. Хроматограмма раствора испытуемого образца

Таблица 24 - Данные хроматограммы испытуемого образца

Компонент	Время, мин	Площадь, мВ*сек
ДМСО	29.016	2.857

Содержание остаточных растворителей рассчитывали по методу внешнего стандарта. Данный метод подразумевает, что концентрацию испытуемого вещества определяют путём сравнения площади пика, полученного на хроматограммах испытуемого раствора, и площади пика, полученного на хроматограммах раствора стандартного образца. Содержание каждого компонента смеси рассчитывали по формуле:

$$C_{\text{исп}} = \frac{C_{\text{ст}} \times S_{\text{исп}}}{S_{\text{ст}}} \times 100\%$$

где $C_{\text{ст}}$ – концентрация стандартного раствора, $S_{\text{ст}}$ – площадь пика стандартного раствора, $S_{\text{исп}}$ – площадь пика испытуемого раствора.

В результате определения остаточных органических растворителей (ООР) было установлено, что процентное содержание ДМСО составило $0,0012 \pm 0,0001\%$ (12 ± 1 ppm). Ацетон и бензол в образце не были обнаружены.

Данный показатель учитываются при расчете количественного содержания методом материального баланса.

4.4.2. Неорганические примеси

Содержание хлоридов оценивали по модифицированной методике ОФС «Хлориды». 0,1 г субстанции растворяли в 10 мл воды, прибавляли 10 мл 16 % раствора азотной кислоты и, после выпадения осадка, фильтровали. Для определения использовали 10 мл фильтрата. К испытуемому (10 мл фильтрата) и эталонному растворам (стандартный раствор 2 мкг/мл хлорид-иона) прибавляли по 0,5 мл азотной кислоты и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2 %. Перемешивали и помещали пробирки в темное место. Через 5 мин сравнивали опалесценцию растворов [79].

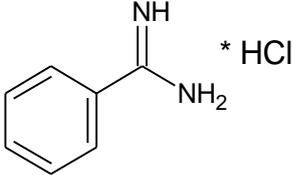
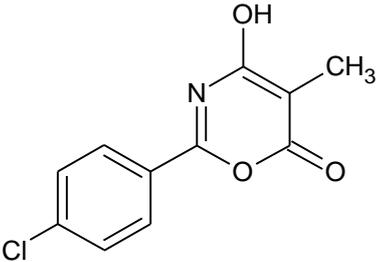
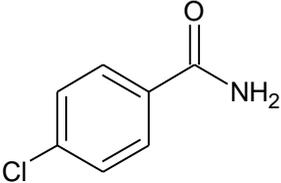
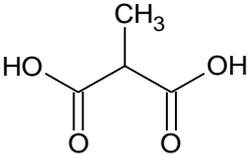
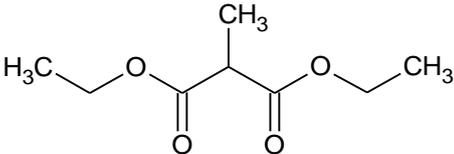
Сульфатную золу определяли согласно ОФС «Сульфатная зола» Государственной фармакопеи РФ XV издания. Точная навеска составляла 1.0 грамм [79].

Определение тяжёлых металлов проводили в соответствии с ОФС «Тяжелые металлы» в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции (точная навеска), с использованием эталонного раствора [79].

4.4.3. Родственные примеси

Предполагаемые родственные технологические примеси (таблица 25), и их содержание оценивали с помощью метода ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Agilent 1100, оснащенный УФ-детектором (Agilent, США).

Таблица 25 – Предполагаемые технологические примеси

N п/п	Формула
1	
2	
3	
4	
5	

Подвижная фаза (ПФ) метанол : 0,15% р-р муравьиной кислоты 30:70.
Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещали 10,0

мг (точная навеска) субстанции, растворяли в подвижной фазе (ПФ) и доводили объём раствора ПФ до метки.

Хроматографические условия

Колонка:	250×4,6	мм	силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии
Температура колонки:	40°С		
Скорость потока:	0,2 мл/мин		
Детектор:	спектрофотометрический, 264 нм		
Объём пробы:	5мкл		
Время хроматографирования:	двукратное от времени удерживания основного пика		

Содержание родственных примесей рассчитывали по методу внутренней нормализации. Данный метод подразумевает, что на хроматограмме зарегистрированы все вещества, входящие в состав анализируемой смеси, и что сумма их площадей пиков равна 100%. Содержание каждого компонента смеси рассчитывали по формуле:

$$X_i = \frac{S_i \times 100}{\sum_{i=1}^n S_i}$$

где S_i —площадь пика определяемого компонента, $\sum_{i=1}^n S_i$ - сумма площадей всех пиков на хроматограмме.

Хроматограмма испытуемого образца представлена на рисунке 66. Данные хроматограммы представлены в таблице 26.

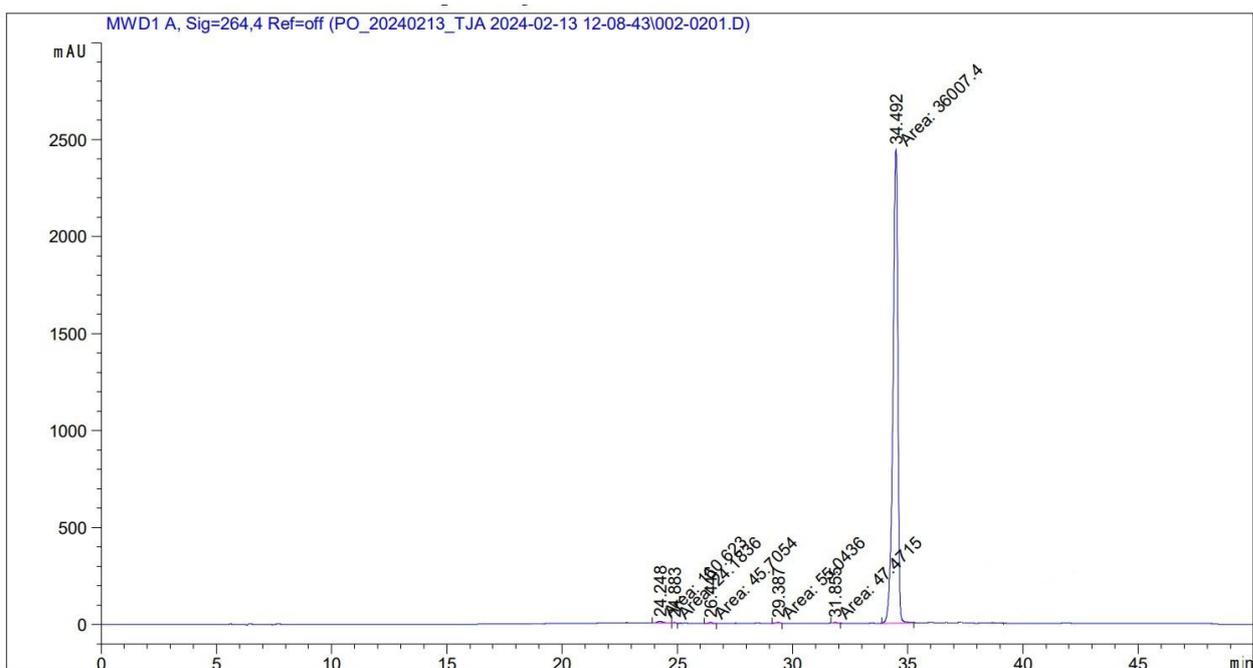


Рисунок 71. Хроматограмма испытуемого образца 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина

Таблица 26 – Данные хроматограммы испытуемого образца 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина

№ пика	Время удерживания, мин	% содержание
1	24.248	0.1106
2	24.883	0.0618
3	26.447	0.1168
4	29.387	0.1407
5	31.855	0.1213
6 (исследуемое соединение)	34.492	99.4488
Общее	-	100.000

4.5. Количественное содержание 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина

Основным способом установления количественного содержания вещества в первичном СО является метод материального баланса, так как данный метод максимально учитывает показатели, которые не относятся к

содержанию основного вещества (органические примеси, неорганические примеси, вода и остаточные органические растворители).

Формула материального баланса: $X\% = 100\% - (\text{вода, \%} + \text{остаточные органические растворители, \%}) - (\text{сульфатная зола, \%}) - (\text{родственные примеси, \%})$.

В качестве дополнительного метода установления количественного содержания основного компонента было проведено определение азота методом Кьельдаля. Данный метод основан на минерализации соединения под воздействием серной кислоты, концентрированной при нагревании в присутствии катализаторов.

0.100 грамм (точная навеска) поместили в реактор для минерализации, прибавляли 15 мл концентрированной серной кислоты, 1.0 грамм минерализующей смеси (CuSO_4 и Na_2SO_4 1:9) и очень осторожно - 15 мл воды. Смесь медленно нагревали, затем увеличивали нагрев до полной минерализации образца (раствор приобретал светло-желтое окрашивание). Затем смесь охлаждали до комнатной температуры, осторожно прибавляли 50 мл воды очищенной, 30 мл 42% раствора NaOH и проводили дистилляцию. В колба-приемник, содержащий 30 мл 4% борной кислоты, собирали 100-120 мл дистиллята и оттитровывали 0.1 н раствором серной кислоты. Объем, пошедший на титрование, определяли потенциометрически.

Контрольный опыт проводили с использованием навески глюкозы.

Расчёт количественного содержания 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина проводили по формуле:

$$X, \% = \frac{(V_o - V_k) * T \left(\frac{H_2SO_4}{\text{азот}} \right) * K * 100}{P * a} * 100$$

где:

V_o – объем раствора серной кислоты, затраченный на титрование опытной пробы, мл;

V_k – объем раствора серной кислоты, затраченный на титрование контрольного опыта, мл;

K – поправочный коэффициент титранта;

P – процентное содержание азота в 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазине;

a – масса навески испытуемого вещества, взятая для анализа, г;

С помощью метода материального баланса установлено, что процентное содержание 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина в стандартном образце составляет $99,26 \pm 0,33\%$.

С помощью метода определения общего азота по Кьельдалю установлено, что количественное содержание основного компонента в СО составляет $89,69 \pm 0,32\%$.

Разница в аттестованном значении, полученном методом баланса масс и по методу Кьельдаля, возможно, объясняется тем, что при определении азота по методу Кьельдаля температура минерализации была недостаточно высока для полного окисления гетероцикла, что в итоге привело к занижению конечного результата.

Показатели для СО 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Показатели СО 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина (VII б)

Показатель		Критерии приемлемости
Описание		Твердый белый с желтоватым оттенком аморфный порошок
Растворимость		растворим в этаноле 96%, метаноле, диметилсульфоксиде (ДМСО), легко растворим в ацетоне, практически нерастворим в н-гексане, нерастворим в воде
Подтверждение структуры	Данные спектра ЯМР H^1	Спектр вещества и СО совпал
	Данные спектра ЯМР C^{13}	Спектр вещества и СО совпал
	Данные ИК-спектра	Спектр вещества и СО совпал
	Данные Масс-спектра	$m/z [M+H]^+$ вычислено для $C_{12}H_{13}N_3Cl$: 234.0793; найдено: 234.0788
Температура плавления		208-210°C
Остаточные органические растворители	ДМСО	0,0012±0,0001% (12±1 ppm)
Хлориды		Не более 0,0002% (2 ppm)
Тяжелые металлы		Не более 0,0005% (5 ppm)

Показатель		Критерии приемлемости
Сульфатная зола		0,09±0,01% (900 ppm)
Вода		0,19±0,01%
Родственные примеси (сумма неидентифицированных примесей)		0,55±0,02% (5512±200 ppm)
Аттестованное значение количественного содержания	Материальный баланс	99,26±0,33%
	Определение азота методом Кьельдаля	89,69±0,32%

ГЛАВА 5. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК-спектры записаны на спектрометре Bruker Alpha в таблетках с KBr в ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России».

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы в ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России на приборе Bruker AV-600 (рабочая частота 400 МГц) в CDCl_3 , внутренний стандарт – остаточные сигналы растворителя (7.28 для ядер ^1H и 77.37 для ядер ^{13}C).

Масс-спектры высокого разрешения (HRMS-ESI) были записаны с использованием жидкостного хроматографа Dionex Ultimate 3000 с масс-спектрометрическим детектором высокого разрешения типа квадруполь-орбитальная ловушка Q Exactive Plus (ThermoScientific, США) на базе Учреждения здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория» (г. Минск, Республика Беларусь).

Контроль за ходом реакций осуществляли методом ТСХ на пластинах TLC Silicagel 60 F_{254} (Merck), элюент этилацетат (Merck, марка ч.д.а.), детектирование в УФ свете. Очистка полученных соединений проводилась перекристаллизацией из ацетона (Вектон, марка ч.д.а.).

Температуры плавления определены на приборе Stuart SMP30 в ЦКП «Аналитический центр ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России».

Оценка острой токсичности и диуретической активности *in vivo* осуществлялась в Центре экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Оценка противоопухолевой активности *in vitro* проводилась с использованием реактивов и оборудования научно-исследовательской лаборатории Института повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» (г. Минск, Республика Беларусь).

Количественное содержание остаточных органических растворителей проводилась с использованием газового хроматографа Хроматэк-Кристалл

5000 с плазменно-ионизационным детектором на базе Учреждения здравоохранения «Национальная антидопинговая лаборатория» (г. Минск, Республика Беларусь).

Все растворители, используемые для синтетических и спектральных работ, очищали и сушили известными методами.

Получение производных 1,3,5-триазина (VI а-н - VIII а-н) (растворитель – метанол)

В плоскодонную колбу емкостью 25 мл помещают 8 мл метанола и 1.71 ммоль метилата натрия, затем загружают 1.71 ммоль гидрохлорида/гемисульфата амидина. Смесь перемешивают в течение 20 мин. Осадок NaCl отфильтровывают. Фильтрат помещают в круглодонную колбу на 50 мл, добавляют 0.855 ммоль соответствующего 2,5-дизамещенного 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-она и кипятят смесь в колбе с обратным холодильником в течение 10–14 ч (до исчезновения пятна исходного оксазина на ТСХ). По окончании времени нагревания из реакционной смеси отгоняют 2/3 объема метанола. Реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, добавляют водный 10% раствор NaOH, перемешивают в течение 10 мин и отфильтровывают суспензию. Полученный осадок целевого продукта несколько раз промывают водой и перекристаллизовывают из ацетона. Твердое вещество сушат в сушильном шкафу при температуре 60°C в течение 40 мин. Выходы продуктов реакции составляют:

VI а-н: 20-39%;

VII а-н: 39-57%;

VIII а-н: 37-55%.

Получение производных 1,3,5-триазина (VI а-н - VIII а-н)
(растворитель – пропанол)

В плоскодонную колбу ёмкостью 25 мл помещают 8 мл пропанола и 1,71 ммоль натрия, затем, после растворения натрия, загружают 1,71 ммоль амидина гидрохлорида. Смесь перемешивают в течение 20 минут. Осадок хлорида натрия отфильтровывают. Фильтрат помещают в круглодонную колбу на 50 мл, добавляют 0,855 ммоль соответствующего 2,5-дизамещенного-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-она и смесь нагревают с обратным холодильником в течение 4-8 ч (до исчезновения пятна 2,5-дизамещенного-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-она на ТСХ). По окончании времени нагревания из реакционной массы отгоняют 2/3 объема пропанола. Реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, добавляют водный 10% раствор NaOH, перемешивают в течение 10 мин и отфильтровывают суспензию. Полученный осадок целевого продукта несколько раз промывают водой и перекристаллизовывают из ацетона. Твердое вещество сушат в сушильном шкафу при температуре 60°C в течение 40 мин.

Выходы продуктов реакции составляют:

VI а-н: 43-81%;

VII а-н: 50-88%;

VIII а-н: 55-85%.

Получение производных 1,3,5-триазина (VI а-н - VIII а-н)
(растворитель – ДМСО)

В круглодонную колбу ёмкостью 25 мл помещают 1,71 ммоль амидина гидрохлорида, 0,855 ммоль соответствующего 2,5-дизамещенного-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-она и 3 мл ДМСО, смесь перемешивают и греют при $t^0=95-98^{\circ}\text{C}$ с обратным холодильником в течение 1-3,5 ч (до исчезновения пятна 2,5-дизамещенного-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-она на

ТСХ). По окончании времени нагревания реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, выливают в 10% раствор гидроксида натрия, перемешивают в течение 10 минут и отфильтровывают суспензию. Полученный осадок целевого продукта несколько раз промывают водой и перекристаллизовывают из ацетона. Твёрдое вещество сушат в сушильном шкафу при температуре 60 °С в течение 40 минут.

Выходы продуктов реакции составляют:

VI а-н: 51-75%;

VII а-н: 55-80%;

VIII а-н: 57-81%.

Получение первичного стандартного образца 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина

В круглодонную колбу на 50 мл помещали 10 г 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина и порциями прибавляли ацетон, каждый раз доводя смесь до кипения. В результате был получен горячий насыщенный раствор. Для сорбции примесей использовали силикагель (в количестве 0,5% от массы вещества). Полученную суспензию отфильтровывали. Маточный раствор охлаждали до полного выпадения осадка, который отделяли фильтрованием при пониженном давлении. Влажный осадок сушили в эксикаторе над хлористым кальцием в течение 2 часов.

Методики определения показателей качества 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина

Температура плавления

Испытание проводили в соответствии с методикой ГФ XV.

Хлориды

Содержание хлоридов оценивали по модифицированной методике ОФС «Хлориды». 0,1 г субстанции растворяли в 10 мл воды, прибавляли 10 мл 16 % раствора азотной кислоты и, после выпадения осадка, фильтровали. Для определения использовали 10 мл фильтрата. К испытуемому (10 мл фильтрата) и эталонному растворам (стандартный раствор 2 мкг/мл хлорид-иона) прибавляли по 0,5 мл азотной кислоты и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2 %. Перемешивали и помещали пробирки в темное место. Через 5 мин сравнивали опалесценцию растворов.

Сульфатная зола

Испытание проводили в соответствии с методикой ГФ XV.

Тяжелые металлы

Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжелые металлы».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные итоги научно-квалификационной работы сводятся к следующим основным положениям:

1. На основе реакции 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с двуцентровыми 1,3-бинуклеофильными реагентами: алкил- и арилимидамидами, S-метилизотиомочевинной разработаны лабораторные методы получения новых производных 1,3,5-триазина. Установлено, что на выход целевых продуктов и время протекания реакции определяющее влияние оказывает выбор растворителя, электронное строение исходных 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов и 1,3-бинуклеофильных реагентов. Увеличение нуклеофильности амидинов и введение электроноакцепторных заместителей R¹ в оксазиновый фрагмент ускоряют реакцию и увеличивают выход целевого продукта. Оптимальным растворителем (метанол, пропанол, ДМСО) для получения целевых 1,3,5-триазинов является ДМСО.

2. Строение и индивидуальность полученных соединений доказано с помощью ЯМР-, ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, элементного анализа и ТСХ.

3. Проведен прогноз биологической активности полученных производных 1,3,5-триазина *in silico*. Показано, что с высокой долей вероятности они обладают противомикробной и противоопухолевой активностью.

4. С использованием программы GUSAR (General Unrestricted Structure-Activity Relationships) осуществлен компьютерный скрининг острой токсичности. Установлено, что прогнозируемые и экспериментальные значения LD₅₀ коррелируют между собой. Исследуемые соединения относятся к классу 4 «малотоксичны» и 5 «практически нетоксичны» (классификация по К.К. Сидорову).

5. Выполненные исследования биологической активности синтезированных 1,3,5-триазинов *in vitro* показывают, что многие из них обладают высокой противомикробной и противоопухолевой активностью, что хорошо согласуется с результатами компьютерного тестирования этих соединений.

6. Получен первичный стандартный образец 2-фенил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-триазина. Разработаны основные параметры его аттестации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДМСО - диметилсульфоксид

CDCl_3 - дейтерированная форма хлороформа

ИК-спектроскопия - инфракрасная спектроскопия

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ЯМР ^1H - ядерномагнитный резонанс на протонном ядре

ЯМР ^{13}C - ядерномагнитный резонанс на ядрах углерода – 13

ТСХ - тонкослойная хроматография

in silico - компьютерное моделирование эксперимента

in vivo - проведение экспериментов на (или внутри) живой ткани при живом организме

in vitro - проведение экспериментов, когда опыты проводятся «в пробирке» вне живого организма

LD_{50} - средняя доза вещества, вызывающая гибель половины членов испытываемой группы

ОФС - общая фармакопейная статья

ГФ XIV - Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания

СО - стандартный образец

FDA - Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (США)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Blotny, G. Recent applications of 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine and its derivatives in organic synthesis / G. Blotny // *Tetrahedron*. – 2006. – Vol. 62. – P. 9507-9522.
2. Мур, В. И. Цианурхлорид и перспективы его применения / В. И. Мур // *Успехи химии*. – 1964. – Т. 33, № 2. – С. 182-204.
3. Azev, Y.A. Cyanuric and thiocyanuric esters as carriers of boron-containing fragments and their fragmentation in mass spectrometry / Y.A. Azev, T. Dülcks, D. Gabel. // *Tetrahedron Lett.* – 2003. – Vol. 44. – P. 8689-8691.
4. Prinka, S. Triazine as a Promising Scaffold for its Versatile Biological Behavior / S. Prinka, L. Vijay, P. Kamaldeep // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2015. – Vol. 102. – P. 39-57.
5. Komarov, A. V. Reaction of Phenylmalonyl Dichloride with 3-Phenylpropynamide and Transformations of the Product by the Action of Some Nucleophiles / A. V. Komarov, I. P. Yakovlev, V. E. Zakhs, A. V. Prep'yalov // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2005. – Vol. 75. – P. 770-707.
6. Komarov, A. V. Reactions of 4-Hydroxy-5-methyl(phenyl)-2-styryl-6H-1,3-oxazin-6-ones with Nucleophiles / A. V. Komarov, I. P. Yakovlev, V. E. Zakhs, D. V. Novikov // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2003. – Vol. 73. – P. 1936-1941.
7. Prep'yalov, A. V. Reactions of 2-substituted 6-alkoxy-4H-1,3-oxazin-4-ones / A. V. Prep'yalov, I. P. Yakovlev, B. A. Ivin // *Russian Journal of Organic Chemistry*. – 1995. – Vol. 31. – P. 1128-1131.
8. Prep'yalov, A. V. Reactions of Unsaturated 1,3-Oxazines; I. Reaction of 6-Alkoxy-2-aryl-4H-1,3-oxazine-4-one with Hydrazine Derivatives. / A. V. Prep'yalov, I. P. Yakovlev, V. E. Zakhs // *Synthesis*. – 1999. – Vol. 3 – P. 483-486.
9. Yakovlev, I. P. Reactions of 1,3-Oxazine-4,6-diones and Their Derivatives with Substituted Hydrazines / I. P. Yakovlev, T. L. Semakova, A. V.

- Prep'yalov, V. E. Zakhs // *Russian Journal of General Chemistry*. – 1998. – Vol. 68. – P. 297-300.
10. Ovsyannikova, L. N. Reaction of 2,5-Substituted 4-Hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones with Benzimidazol-2-ylhydrazine / L. N. Ovsyannikova, B. Yu. Lalaev, I. P. Yakovlev, T. L. Semakova // *Russian Journal of Organic Chemistry*. – 2016. – Vol. 52. – P. 605-606.
 11. Ovsyannikova, L. N. Reaction of 1,3-oxazine with 2,4-dihydrazinyl-6-methylpyrimidines / L. N. Ovsyannikova, A. T. Fam.,; B. Yu. Lalaev, I. P. Yakovlev, G. V. Ksenofontova // *Butlerov Communications*. – 2016. – Vol. 48, № 11. – P. 23-26.
 12. Chernov, N. M. Reaction of 4-H-Hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones with Guanidine. Synthesis of New 1,3,5-Triazine Derivatives. / N. M. Chernov, I. P. Yakovlev, V. E. Zakhs, T. L. Semakova, G. V. Ksenofontova // *Russian Journal of General Chemistry*. — 2015. — Vol. 85. — P. 2578-2582.
 13. Patel, R. V. Synthesis and studies of novel 2-(4-cyano-3-trifluoromethylphenyl amino)-4-(quinoline-4-yloxy)-6-(piperazinyl/piperidinyl)-s-triazines as potential antimicrobial, antimycobacterial and anticancer agents / R. V. Patel, P. Kumari, D. P. Rajani, K. H. Chikhaliya // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2011. — Vol. 46. — P. 4354-4365.
 14. Singh, U. P. Design, synthesis, antibacterial activity, and molecular docking studies of novel hybrid 1,3-thiazine-1,3,5-triazine derivatives as potential bacterial translation inhibitor / U. P. Singh, M. Pathak, V. Dubey, H. R. Bhat, P. Gahtori, R. K. Singh // *Chemical Biology & Drug Design*. — 2012. — Vol. 80. — P. 572-583.
 15. Patel, A. B. Facile synthesis of benzonitrile/nicotinonitrile based s-triazines as new potential antimycobacterial agents / A. B. Patel, K. H. Chikhaliya, P. Kumari // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2014. — Vol. 79. — P. 57-65.

16. Desai, N. C. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some novel 4-(4-(arylamino)-6-(piperidin-1-yl)-1,3,5-triazine-2-ylamino)-N-(pyrimidin-2-yl)benzenesulfonamides / N. C. Desai, A. H. Makwana, R. D. Senta // *Journal of Saudi Chemical Society*. — 2016. — Vol 20. — P. 686-694.
17. Bhat, H. Design, synthesis, anticancer, antibacterial, and antifungal evaluation of 4-aminoquinoline-1,3,5-triazine derivatives / H. Bhat, A. Masih, A. Shakya, S. Ghosh, U. Singh // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. — 2019. — Vol. 57. — P. 390-399.
18. Citerio, L. N-haloamidines—III: S-Triazine derivatives from N-halobenzamidines and enamines / L. Citerio, D. Pocar, R. Stradi, B. Gioia // *Tetrahedron*. — 1979. — Vol. 35. — P. 69-76.
19. Sakai, K. An unusual ring expansion of lophine to 2, 4, 6-triphenyl-s-triazine / K. Sakai, J. P. Anselme // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. — 1972. — Vol. 45. — P. 306-306.
20. Ruccia, M. Mononuclear heterocyclic rearrangements—vi: Conversion of 1,2,4-oxadiazoles into imidazoles / M. Ruccia, N. Vivona, G. Cusmano // *Tetrahedron*. — 1974. — Vol. 30. — P. 3859-3864.
21. Furukawa, M. Syntheses of 4,6-Diamino-s-triazine-2-carboxamide Derivatives / M. Furukawa, T. Uede // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. — 1963. — Vol. 11. — P. 596-600.
22. Furukawa, M. Reaction of 1-arylbiquanide with some carboxylic esters / M. Furukawa // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. — 1962. — Vol. 10. — P. 1215-1220.
23. Brunetti, H. Die Synthese von asymmetrisch substituierten o-Hydroxyphenyl-s-triazinen / H. Brunetti, C. E. Lüthi // *Helvetica Chimica Acta*. — 1972. — Vol. 55. — P. 1566-1595.
24. Taylor, E. C. The Rearrangement of 5-Nitroso-6-aminopyrimidines to s-Triazines 1a, b, 2 / E. C. Taylor, C. W. Jefford. // *Journal of the American Chemical Society*. — 1962. — Vol. 84. — P. 3744-3748.

25. Van der Plas, H. C. Ring transformations in reactions of heterocyclic halogeno compounds with nucleophiles (V): Conversion of some 2-alkyl-, 2-aryl- and 2, 5-dialkyl-4-chloropyrimidines by potassium amide in liquid ammonia into 4-alkyl derivatives of 2-alkyl- or 2-aryl-s-triazines / H. C. van der Plas, B. Haase, B. Zuurdeeg, M. C. Vollering // *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. — 1966. — Vol. 85. — P. 1101-1113.
26. Van der Plas, H. C. Ring transformations in reactions of heterocyclic halogeno compounds with nucleophiles (XVIII): Pyrimidines (XVIII). D/H exchange studies during the conversion of 2-substituted 4-chloropyrimidines into 2-substituted 4-methyl-s-triazines by treatment with potassium amide in liquid ammonia / H. C. Van der Plas, B. Zuurdeeg, H. W. van Meeteren. // *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. — 1969. — Vol. 88. — P. 1156-1166.
27. Van der Plas, H. C. Ring transformations in reactions of heterocyclic halogeno compounds with nucleophiles (XIV): Conversion of 2-substituted 4-chloropyrimidines by potassium amide in liquid ammonia into 2-substituted-4-methyl-s-triazines / H. C. Van der Plas, B. Zuurdeeg // *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. — 1969. — Vol. 88. — P. 426-438.
28. Van Meeteren, H. W. Ring-transformations in reactions of heterocyclic halogeno compounds with nucleophiles (VI): A tracer study of the conversion of 4-chloro-2-phenylpyrimidine into 4-methyl-2-phenyl-s-triazine / H. W. Van Meeteren, H. C. Van der Plas // *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*. — 1967. — Vol. 86. — P. 15-25.
29. Geerts, J. P. Ring transformations of heterocyclic halogeno compounds with nucleophiles. 39. Carbon-13 and proton nuclear magnetic resonance investigations on the mechanism of the ring transformation reaction of pyrimidines into s-triazines / J. P. Geerts, H. C. Van der Plas // *The Journal of Organic Chemistry*. — 1978. — Vol. 43 — P. 2682-2685.

30. Schmidt, R. R. Aktivierung von Halogencarbonylverbindungen mit Lewis-Säuren und ihre Umsetzung mit Mehrfachbindungssystemen / R. R. Schmidt // *Chemische Berichte*. — 1965. — Vol. 98. — P. 334-345.
31. Shibuya, I. The Synthesis of 1,3,5-Thiadiazinylium Salts / I. Shibuya // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. — 1980. — Vol. 53. — P. 3369-3370.
32. Barlow, Michael G. Heterocyclic polyfluoro-compounds. Part 30. Perfluoroalkylation of trifluoro-1,2,4-triazine / M. G. Barlow, R. N. Haszeldine, and Charles Simon // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. — 1980. — P. 2254-2257.
33. Chambers, R. D. Polyhalogenoaromatic compounds. Part 30. Eliminations of molecular nitrogen from trichloro- and perfluorotri-isopropyl-1, 2, 4-triazine / R. D. Chambers, W. K. R. Musgrave, D. E. Wood // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. — 1979. — P. 1978-1981.
34. Rykowski, A. Ring transformations of heterocycles. 35. Potassium amide induced ring transformation of 1, 2, 4-triazines into 1, 2, 4-triazoles and 1,3,5-triazines / A. Rykowski, H. C. Van der Plas // *The Journal of Organic Chemistry*. — 1987. — Vol. 52. — P. 71-73.
35. Figeys, H. P. Diels-alder reactions with inverse electron demand. II. The reaction of benzamidine with π -deficient heteroaromatic compounds / H. P. Figeys, A. Mathy // *Tetrahedron letters*. — 1981. — Vol. 22. — P. 1393-1396.
36. Seitz, G. Zur Reaktivität von Cyanamiden gegenüber akzeptorsubstituierten 1,2,4-Triazinen / G. Seitz, R. John // *Chemische Berichte*. — 1989. — Vol. 122. — P. 1381-1383.
37. Weidinger, H. Synthese von Di- und Triarylverbindungen der 1,3,5-Triazin-, 1,2,4-Triazol- und 1,2,4-Oxdiazolreihe / H. Weidinger, J. Kranz // *Chemische Berichte*. — 1963. — Vol. 96. — P. 2070-2080.
38. Pokotylo, I.O. Synthesis of 3,4-dihydro-1,3,5-triazin-2(1H)-one derivatives by recycling 2H-1,3,5-oxadiazine-2,4(3H)-diimines: their spectral characteristics

- and molecular structure / I.O. Pokotylo, P.V. Zadorozhnii, V.V. Kiselev, A. V. Kharchenko // *Structural Chemistry*. — 2023. — Vol. 34. — P. 2273–2279.
39. Gewald, R. Discovery of triazines as potent, selective and orally active PDE4 inhibitors / R. Gewald, C. Grunwald, U. Egerland // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2013. — Vol. 23. — P. 4308–4314.
40. Lazewska, D. Aryl-1,3,5-triazine derivatives as histamine H4 receptor ligands / D. Lazewska, M. Wiecek, J. Ner, K. Kaminska, T. Kottke, J. S. Schwed, M. Zygmunt, T. Karcz, A. Olejarz, K. Kuder, G. Latacz, M. Grosicki, J. Sapa, J. K. Wojciechowska, H. Stark, K. K. Kononowicz // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2014. — Vol. 83. — P. 534-546.
41. Guan, B. Design and development of 1,3,5-triazine derivatives as protective agent against spinal cord injury in rat via inhibition of NF- κ B / B. Guan, C. Jiang // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2021. — Vol. 41. — P. 127964
42. Singh, U.P. Antifungal Activity, SAR and Physicochemical Correlation of Some Thiazole-1,3,5-Triazine Derivatives / U.P. Singh, H.R. Bhat, P. Gahtori // *Journal de Mycologie Médicale*. — 2012. — Vol. 22. — P. 134–141.
43. Gahtori, P. Synthesis of Phenyl-1,3-thiazole Substituted Amino s-triazines as Antibacterial Agents / P. Gahtori, B. Singh, A. Das // *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. — 2009. — Vol. 7. — P. 107–111.
44. Singh, U.P. Synthesis and antibacterial evaluation of series of novel trisubstituted-s-triazine derivatives / U.P. Singh, R.K. Singh, H.R. Bhat, Y.P. Subhashchandra, V. Kumar, M.K. Kumawat, P. Gahtori // *Medicinal Chemistry Research*. — 2011. — Vol. 20. — P. 1603-1610.
45. Mewada, N. S. Synthesis and biological evaluation of novel s-triazine based aryl/heteroaryl entities: Design, rationale and comparative study / N. S. Mewada, D. R. Shah, H. P. Lakum, K. H. Chikhalia // *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*. — 2014. — Vol. 20. — P. 8-18.

46. Desai, N.C. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some novel 4-(4-(arylamino)-6-(piperidin-1-yl)-1,3,5-triazine-2-ylamino)-N-(pyrimidin-2-yl)benzenesulfonamides / N. C. Desai, Atul H. Makwana, R. D. Senta // *Journal of Saudi Chemical Society*. — 2015. — Vol. 20. — P. 686-694.
47. Rajanarendar, E. Design, synthesis, antimicrobial, anti-inflammatory and analgesic activity of novel isoxazolyl pyrimido[4,5-b]quinolines and isoxazolyl chromeno[2,3-d]pyrimidin-4-ones / E. Rajanarendar, M. Nagi Reddy, S. Rama Krishna, K. Rama Murthy, Y.N. Reddy, M.V. Rajam // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2012. — Vol. 55. — P. 273-283.
48. Senapathi, J. Design, synthesis, and evaluation of HIV-1 entry inhibitors based on broadly neutralizing antibody 447-52D and gp120 V3loop interactions / J. Senapathi, A. Bommakanti, S. Vangara, A. K. Kondapi // *Bioorganic Chemistry*. — 2021. — Vol. 116. — P. 105313.
49. Maarouf, A.R. Synthesis and antiviral activity of benzimidazolyl- and triazolyl-1,3,5-triazines / A. R. Maarouf, A. A. Farahat, K. B. Selim, H. M. Eisa // *Medicinal Chemistry Research*. — 2012. — Vol. 21. — P. 703-710.
50. Tang, G. Exploration of piperidine-4-yl-aminopyrimidines as HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. N-Phenyl derivatives with broad potency against resistant mutant viruses / G. Tang, D. J. Kertesz, M. Yang, X. Lin, Z. Wang, W. Li, Z. Qiu, J. Chen, J. Mei, L. Chen, T. Mirzadegan, S. F. Harris, A. G. Villaseñor, J. Fretland, W. L. Fitch, J. Qi Hang, G. Heilek, K. Klumpp // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2010. — Vol. 20. — P. 6020-6023
51. Garaj, V. Carbonic anhydrase inhibitors: Novel sulfonamides incorporating 1,3,5-triazine moieties as inhibitors of the cytosolic and tumour-associated carbonic anhydrase isozymes I, II and IX / V. Garaj, L. Puccetti, G. Fasolis, J.-Y. Winum, J.-L. Montero, A. Scozzafava, D. Vullo, A. Innocenti, C. T.

- Supuran // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2005. — Vol. 15. — P. 3102–3108.
52. Havránková, E. Novel sulfonamide incorporating piperazine, aminoalcohol and 1,3,5-triazine structural motifs with carbonic anhydrase I, II and IX inhibitory action / E. Havránková, J. Csöllei, D. Vullo, V. Garaj, P. Pazdera, C. T. Supuran // *Bioorganic Chemistry*. — 2018. — Vol. 77. — P. 25-37.
53. Pogorelcnik, B. Monocyclic 4-amino-6-(phenylamino)-1,3,5-triazines as inhibitors of human DNA topoisomerase II alpha / B. Pogorelcnik, M. Brvar, I. Zajc, M. Filipic, T. Solmajer, A. Perdih // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2014. — Vol. 24. — P. 5762–5768.
54. Venkatesan, A.M. Bis(morpholino-1,3,5-triazine) Derivatives: Potent Adenosine 50'-Triphosphate Competitive Phosphatidylinositol-3-kinase/Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors: Discovery of Compound 26 (PKI-587), a Highly Efficacious Dual Inhibitor / A. M. Venkatesan, C. M. Dehnhardt, E. Delos Santos, Z. Chen, O. Dos Santos, S. Ayral-Kaloustian, G. Khafizova, N. Brooijmans, R. Mallon, I. Hollander [et al] // *Journal of Medicinal Chemistry*. — 2010. — Vol. 53. — P. 2636–2645.
55. Venkatesan, A.M. PKI-179: An orally efficacious dual phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor / A.M. Venkatesan, Z. Chen, O. Dos Santos, C. Dehnhardt, E. Delos Santos, S. Ayral-Kaloustian, R. Mallon, I. Hollander, L. Feldberg, J. Lucas [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2010. — Vol. 20. — P. 5869–5873.
56. Kothayer, H. Design, synthesis and in vitro anticancer evaluation of 4,6-diamino-1,3,5-triazine-2-carbohydrazides and -carboxamides / H. Kothayer, A. A. Elshanawani, M. E. Abu Kull, O. I. El-Sabbagh, M. P. V. Shekhar, A. Brancale, A. T. Jones, A. D. Westwell // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2013. — Vol. 23. — P. 6886-6889.
57. Saczewski, F. Synthesis, structure and anticancer activity of novel 2,4-diamino-1,3,5-triazine derivatives / F. Saczewski, A. Bułakowska, P.

- Bednarski, R. Grunert // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2006. — Vol. 41. — P. 219-225.
58. Pogorelcnik, B. Monocyclic 4-amino-6-(phenylamino)-1,3,5-triazines as inhibitors of human DNA topoisomerase II alpha / B. Pogorelcnik, M. Brvar, I. Zajc, M. Filipic, T. Solmajer, A. Perdih // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2014. — Vol. 24. — P. 5762–5768.
59. Pogorelcnik, B. 4,6-Substituted-1,3,5-triazin-2(H-1)-ones as monocyclic catalytic inhibitors of human DNA topoisomerase II alpha targeting the ATP binding site / B. Pogorelcnik, M. Janezic, I. Sosic, S. Gobec, T. Solmajer, A. Perdih // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. — 2015. — Vol. 23. — P. 4218–4229.
60. Bergant, K. Structure-guided optimization of 4,6-substituted-1,3,5-triazin-2(1H)-ones as catalytic inhibitors of human DNA topoisomerase II alpha / K. Bergant, M. Janezic, K. Valjavec, I. Sosic, S. Pajk, M. Stampar, B. Zegura, S. Gobec, M. Filipic, A. Perdih // *European Journal of Medicinal Chemistry*. — 2019. — Vol. 175. — P. 330–348.
61. Keldsen, N. Altretamine (hexamethylmelamine) in the treatment of platinum-resistant ovarian cancer: A phase II study / N. Keldsen, H. Havsteen, I. Vergote, K. Bertelsen, A. Jakobsen // *Gynecologic Oncology*. — 2003. — Vol. 88. — P. 118–122.
62. Dai, Q. Antitumor Activity of s-Triazine Derivatives: A Systematic Review / Dai, Q.; Sun, Q.; Ouyang, X.; Liu, J.; Jin, L.; Liu, A.; He, B.; Fan, T.; Jiang, Y. // *Molecules*. — 2023. — Vol. 28. — P. 4278.
63. Государственный реестр лекарственных средств [справочная система] / URL: grls.rosminzdrav.ru (дата обращения 11.10.2023). — Текст: электронный.
64. Zakhs, V. E. Azoles and azines. 61. Reaction of malonyl dichloride with aromatic amides / V. E. Zakhs, I. P. Yakovlev, B. A. Ivin // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. — 1987. — Vol. 23. — P. 321-324.

65. Способ получения 2-(метилтио)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазины: патент РФ на изобретение № RU 2765005 C1 / Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, Т.Л. Семакова, О.Ю. Стрелова, И.П. Яковлев, Г.В. Ксенофонтова. — Заявл. 30.11.2020. Оpubл. 24.01.2022. Бюл. № 3. — Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002765005_20220124_C1_RU/ (дата обращения: 16.07.2022).
66. 2,4-диарил-6-алкил-1,3,5-триазины и способ их получения: патент РФ на изобретение № RU 2812149 C1 / П.О. Левшукова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Л.А. Тунгускова, Г.В. Ксенофонтова, Е.Н. Кириллова. — Заявл. 06.06.2023. Оpubл. 23.01.2024. Бюл. № 3. — Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002812149_20240123_C1_RU/ (дата обращения: 16.02.2024).
67. Levshukova, P. O. The reaction of 4-hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones with amidines – a route to access new 1,3,5-triazine derivatives / P. O. Levshukova, D. A. Kolesnik, M. O. Dosina, I. P. Yakovlev, L. A. Tunguskova, E. V. Kuvaeva, T. L. Semakova, G. V. Ksenofontova, Yu. G. Pokhodnya // Chemistry of Heterocyclic Compounds. — 2024. — Vol. 60. — P. 48-51.
68. Производные 1,3,5-триазины и способ их получения: патент РФ на изобретение № RU 2825131 C1 / П.О. Левшукова, Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, И.П. Яковлев, Л.А. Тунгускова, Т.Л. Семакова, М.В. Семакова, И.И. Тернинко. — Заявл. 06.06.2023. Оpubл. 21.08.2024. Бюл. № 24. — Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_0002825131_20240821_C1_RU/ (дата обращения: 26.08.2024).
69. Ovsyannikova, L. N. Features of Reactions of 1,3-Oxazin-6-ones with 2-Hydrazinyl-1,3-benzothiazole / Ovsyannikova, L. N.; Lalaev, B. Yu.;

- Yakovlev, I. P.; Zaitsev, V. V. // Russian Journal of Organic Chemistry. — 2017. — Vol. 53. — P. 805-807.
70. PASS 2022. Way2Drug: [веб-ресурс]. Москва. URL: <https://www.way2drug.com/all/> (дата обращения 24.09.2022). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. Текст: электронный.
71. GUSAR V. 2011.1 : система моделирования острой токсичности [для моделирования] / разработчики А. Захаров, В. Поройков. – Москва : 2011. – (Электронная дистрибьюция). – Загл. с титул. экрана. – Электронная программа : электронная.
72. Авдеева, О. И. Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями / О. И. Авдеева, И. Е. Макаренко [и др.]. // Международный вестник ветеринарии. — 2015. — № 1. — С. 103-109.
73. Методы экспериментальной химиотерапии [Текст] : (Практ. руководство) / Под ред. проф. Г. Н. Першина. - Москва : МЕДГИЗ, 1959. - 502 с., 1 л. табл. : ил.; 23 см.
74. Куваева, Е. В. Синтез и оценка противомикробной активности новых производных 1,3,5-триазина / Е. В. Куваева, П. О. Левшукова, Д. А. Колесник, Е. Н. Кириллова, И. П. Яковлев, Ю. М. Ладутько // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2022. — Вып. 25, № 7. — С. 39–43.
75. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. М., 2000. – 352с
76. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.
77. Куваева, Е. В. Синтез и определение активности нового производного гидроксиксопиримидина — потенциального объекта для изготовления противовоспалительного геля / Е. В. Куваева, Ю. М. Ладутько, Д. А.

Колесник, П. О. Левшукова, Е. В. Федорова // Journal of Siberian Medical Sciences. — 2022. — № 1. — С. 46-55

78. Левшукова, П.О. Подход к синтезу и изучение фармакологических эффектов новых производных 1,3,5-триазины / П. О. Левшукова, Д. А. Колесник, Е. В. Куваева, Е. Н. Кириллова, Д. Ю. Ивкин // Фармация. — 2024. — Вып. 73, № 1. — С. 52–56.
79. Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. – XV изд.– Москва, 2023.
80. Государственная фармакопея Республики Беларусь / МЗ РБ. – первое издание. – Минск, 2006.

Патент на изобретения

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 812 149**⁽¹³⁾ **C1**(51) МПК
C07D 251/24 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 31/53 (2023.08); A61P 31/10 (2023.08); C07D 251/24 (2023.08); A61K 2121/00 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023114893, 06.06.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.06.2023Дата регистрации:
23.01.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 06.06.2023

(45) Опубликовано: 23.01.2024 Бюл. № 3

Адрес для переписки:

197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора
Попова, 14, литера А, Патентно-лицензионный
отдел ФГБОУ ВО СПХФУ

(72) Автор(ы):

Левшукова Полина Олеговна (RU),
Колесник Денис Андреевич (RU),
Куваева Елена Владимировна (RU),
Яковлев Игорь Павлович (RU),
Тунгускова Лидия Александровна (RU),
Ксенофонтова Галина Владимировна (RU),
Кириллова Евгения Никитична (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)
(RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: ЛЕВШУКОВА П.О. и др.
Основные подходы к синтезу 1,3,5-
триазиновых систем, Сборник материалов XII
всероссийской научной конференции
студентов и аспирантов с международным
участием, Санкт-Петербург, 2022, стр.35-39.
RU 2156764 C2, 27.09.2000. CHERNOV N.M. et
al. Reaction of 4-H-Hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones
with Guanidine. Synthesis of New (см. прод.)

(54) 2,4-Диарил-6-алкил-1,3,5-триазины и способ их получения

(57) Реферат:

Изобретение относится к области
органической химии, а именно к новым 2,4-
диарил-6-алкил-1,3,5-триазинам общей формулы
I, где R=NO₂, Cl, CH₃, ОСН₃. Изобретение также
относится к способу их получения путем
расщепления соответствующих 2,5-
дизамещенных-4-гидрокси-6H-1,3-оксазин-6-онов
бензамидином гидрохлоридом в присутствии
эквивалентного количества пропилата натрия в
среде кипящего пропанола в течение 2-4 ч споследующей обработкой реакционной массы
10% раствором гидроксида натрия и выделением
целевого продукта из суспензии. Технический
результат изобретения заключается в получении
новых соединений общей формулы I, которые
могут найти применение в медицине в качестве
антифунгальных (антимикотических) средств. 2
н. и 1 з.п. ф-лы, 4 табл., 5 пр.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) **RU** (11) **2 825 131** (13) **C1**(51) МПК
C07D 251/24 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 31/10 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 31/53 (2024.01); A61P 31/10 (2024.01); C07D 251/24 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023114891, 06.06.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.06.2023Дата регистрации:
21.08.2024Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 06.06.2023

(45) Опубликовано: 21.08.2024 Бюл. № 24

Адрес для переписки:
197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора
Попова, 14, литера А, Патентно-лицензионный
отдел ФГБОУ ВО СПХФУ

(72) Автор(ы):

Левшукова Полина Олеговна (RU),
Колесник Денис Андреевич (RU),
Куваева Елена Владимировна (RU),
Яковлев Игорь Павлович (RU),
Тунгускова Лидия Александровна (RU),
Семакова Тамара Леонидовна (RU),
Сопова Марина Васильевна (RU),
Терниенко Инна Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России)
(RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: SINGH U.P. et al. Antifungal activity,
SAR and physicochemical correlation of some
thiazole-1,3,5-triazine derivatives, Journal de
mycologie medicale, 2012, vol. 22, no. 2, p. 134-
141. КУВАЕВА Е.В. и др. Синтез и оценка
противомикробной активности новых
производных 1,3,5-триазина, Вопросы
биологической, медицинской и
фармацевтической химии, 2022, (см. прод.)

(54) Производные 1,3,5-триазина и способ их получения

(57) Реферат:

Изобретение относится к новым производным
1,3,5-триазина общей формулы I, где: R=NO₂ (Ia
- 2-метил-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин);
R=Cl (Iб - 2-метил-4-(4-хлорфенил)-6-этил-1,3,5-
триазин); R=CH₃ (Iв - 2-метил-4-(4-метилфенил)-
6-этил-1,3,5-триазин). Изобретение также
относится к способу их получения путем
рецикликации соответствующих 2,5-дизамещенных 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов.
Технический результат заключается в получении
альтернативных соединений, которые могут найти
применение в медицине в качестве
антифунгальных (антимикотических) средств. 2
н. и 1 з.п. ф-лы, 1 ил., 4 табл., 4 пр.

Акты, подтверждающие внедрение результатов работы в научно-исследовательскую и образовательную деятельность

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России
д.фарм.н., профессор

И.А. Наркевич

« 2 » февраля 2024 г.

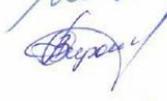
**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в учебный процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по учебной работе, канд. фарм. наук, доцента	Ю.Г. Ильиновой
и членов комиссии	и.о. начальника учебно-методического отдела директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук	А.В. Храбровой И.А. Титович

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «16» февраля 2024 г. № 184ст, составила акт о нижеследующем.

Результаты диссертационного исследования Левшуковой Полины Олеговны на тему «Новые подходы к синтезу биологически активных производных 1,3,5-триазина», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 3.4.2 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, а именно: «Получение производных 1,3,5-триазина рециклизацией 2,5-дизамещённых-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов 1,3-бинуклеофильными реагентами» внедрены в учебный процесс по учебной дисциплине «Методы органического синтеза» в рамках программы высшего образования – программы бакалавриата по направлению подготовки 04.03.01 «Химия» очной формы обучения.

Председатель	проректор по учебной работе, канд. фарм. наук, доцент		Ю.Г. Ильинова
члены комиссии	и.о. начальника учебно-методического отдела директор департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук		А.В. Храброва
			И.А. Титович

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО СПХФУ
Минздрава России,
д.фарм.н., профессор

И.А. Наркевич

« 07 » мая 2024 г.

**Акт внедрения
результатов научно-практической работы
в научно-исследовательский процесс**

Комиссия в составе:

Председателя	проректора по научной работе, д-р. фармацевт. наук	Е.В. Флисюк
и членов комиссии	научного сотрудника департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. фармацевт. наук	К.О. Сидорова
	директора департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук	И.А. Титович

назначенная приказом ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России от «12» марта 2021 г. № 100, составила акт о нижеследующем:

Результаты диссертационного исследования Левшуковой Полины Олеговны на тему «Новые подходы к синтезу биологически активных производных 1,3,5-триазина», представленного на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, использовано в научно-исследовательской деятельности кафедры органической химии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России в рамках тематики государственного задания «Синтез, изучение строения, фармакологического действия новых биологических веществ или модифицированных субстанций, препаратов и разработка валидированных методик их стандартизации».

Председатель	проректор по научной работе, д-р. фармацевт. наук		Е.В. Флисюк
члены комиссии	научный сотрудник департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. фармацевт. наук		К.О. Сидоров
	директор департамента науки и подготовки научно-педагогических кадров, канд. биол. наук		И.А. Титович