

# СИНТЕЗ И ОЦЕНКА ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,3,5-ТРИАЗИНА

**Е.В. Куваева**

к.фарм.н., доцент, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: elena.kuvaeva@pharminnotech.com

**П.О. Левшукова**

аспирант, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: levshukova.polina@pharminnotech.com

**Д.А. Колесник**

к.фарм.н., ассистент, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: denis.kolesnik@spcru.ru

**Е.Н. Кириллова**

к.х.н., доцент, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: eugenia.kirillova@pharminnotech.com

**И.П. Яковлев**

д.х.н., профессор, Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: igor.yakovlev@pharminnotech.com

**Ю.М. Ладутько**

к.фарм.н., Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет (Санкт-Петербург, Россия)  
E-mail: yulia.ladutko@pharminnotech.com

**Цель работы** – синтез новых производных 1,3,5-триазиона (исследуемые соединения, целевые соединения) и оценка их противомикробной активности *in silico* и *in vitro*.

**Материал и методы.** Целевые соединения получены в результате реакции 2,5-дизамещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов и S-метилизотиомочевинны гемисульфата в присутствии эквимолярного количества метилата натрия в среде метанола. Строение доказано с помощью современных физико-химических методов анализа. Компьютерный скрининг биологической активности проводили с помощью программы PASS, расположенной на веб-сервисе и доступной через Интернет. Экспериментально антимикробная активность соединений была изучена в отношении тест-культуры микроорганизма *Staphylococcus aureus* P209.

**Результаты.** Новые производные 1,3,5-триазиона были синтезированы с выходом 66–72%. Строение полученных соединений доказано с помощью <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии. В результате скрининга биологической активности с помощью программы PASS получены данные о выраженном антимикробном действии. Исследование противомикробной активности *in vitro* показало, что целевые соединения обладают противомикробным действием в отношении *Staphylococcus aureus* P209.

**Выводы.** Синтезированы новые производные 1,3,5-триазиона: 2-(метилтио)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин, 2-(метилтио)-4-фенил-6-этил-1,3,5-триазин, 2-(метилтио)-4-(4-метилфенил)-6-этил-1,3,5-триазин, строение которых доказано с помощью современных физико-химических методов анализа. По результатам компьютерного прогнозирования определена потенциальная биологическая активность соединений. С помощью экспериментальных микробиологических исследований доказано, что исследуемые соединения обладают противомикробной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* P209.

**Ключевые слова:** 1,3,5-триазины, противомикробная активность, компьютерный скрининг, *Staphylococcus aureus*, 4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-оны.

**Для цитирования:** Куваева Е.В., Левшукова П.О., Колесник Д.А., Кириллова Е.Н., Яковлев И.П., Ладутько Ю.М. Синтез и оценка противомикробной активности новых производных 1,3,5-триазиона. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(7):39–43. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-07-06>

Среди производных 1,3,5-триазиона известны соединения, которые имеют широкий диапазон биологической активности [1, 2] и проявляют выраженную противомикробную активность. Исследования McKay et al. [3] показали, что производное 1,3,5-триазин-2,4,6-триамина (рис. 1) оказывало бактерицидное действие в отношении *Staphylo-*

*coccus aureus*, *Escherichia coli*, а также *Pseudomonas aeruginosa*.

В.В. Baldaniya, Р.К. Patel [4] получили новое производное 1,3,5-триазин-2,4,6-триамина (рис. 2) и показали, что оно обладает противомикробной активностью в отношении *Staphylococcus aureus*. Авторы установили, что введение группы –NO<sub>2</sub> в

соединения данного ряда усиливает антибактериальное действие.

Учитывая широкий спектр биологической активности производных 1,3,5-триазина и уже существующие исследования, подтверждающие их антимикробную эффективность, можно сделать вывод, что получение новых соединений данного класса является актуальным.

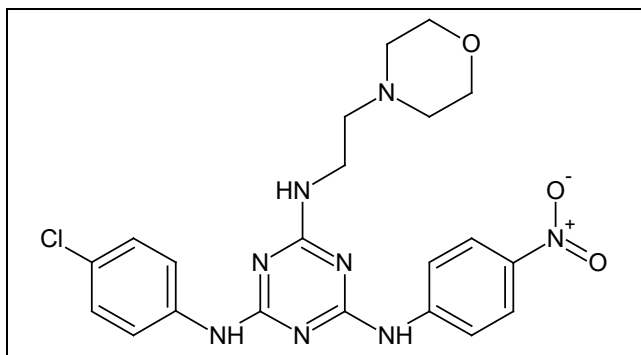


Рис. 1. Производное 1,3,5-триазин-2,4,6-триамина

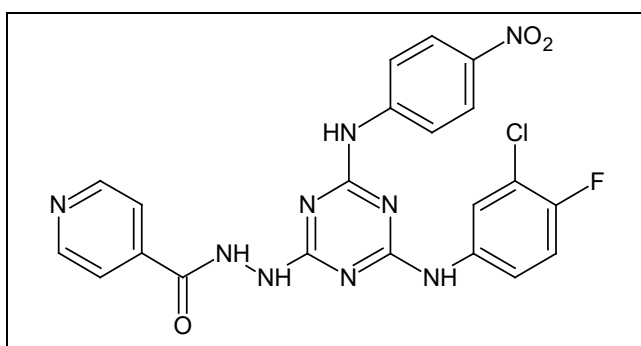


Рис. 2. Производное 1,3,5-триазина

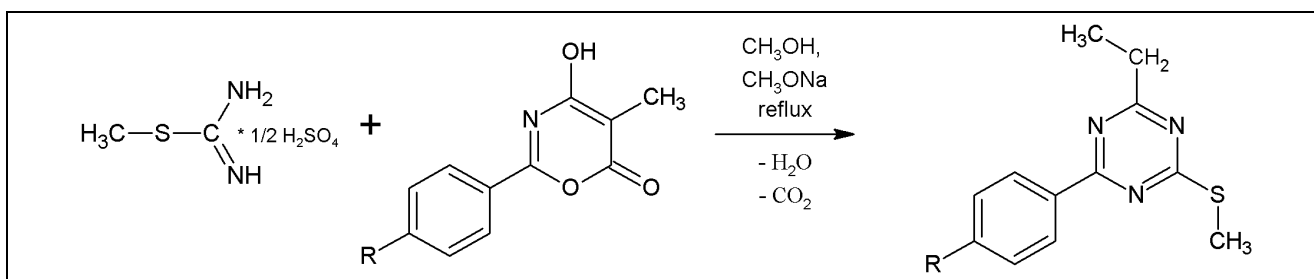


Рис. 3. Синтез новых производных 1,3,5-триазина (R = NO<sub>2</sub>, H, CH<sub>3</sub>)

Экспериментально антимикробную активность соединений изучали в отношении тест-культуры микроорганизма *Staphylococcus aureus* P209, рекомендованной Государственной фармакопеей XIV издания [6, 7]. Минимально подавляющую концентрацию (МПК) определяли методом серийных разведений в жидкой питательной среде – мясопептонном бульоне (МПБ) с последующим высевом на агаризованную среду. Исследуемые

Цель работы – синтез новых производных 1,3,5-триазина (исследуемые соединения, целевые соединения) и оценка их противомикробной активности *in silico* и *in vitro*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Синтез целевых соединений проводили реакцией 2,5-замещенных-4-гидрокси-6Н-1,3-оксазин-6-онов с S-метилизотиомочевинной гемисульфатом в присутствии эквимолярного количества метилата натрия в среде кипящего метанола в течение 4 ч с последующей отгонкой растворителя и обработкой твердого остатка 15%-ным раствором гидрокарбоната натрия (рис. 3). Суспензию отфильтровывали при пониженном давлении. Полученные твердые вещества сушили в сушильном шкафу при температуре 80 °С до постоянной массы. Строение синтезированных соединений доказывали с помощью <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопии, ИК-спектроскопии.

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C растворов веществ в DMSO-d<sub>6</sub> записывали на спектрометре Bruker AM-500 (рабочая частота 500 МГц), спектральные данные обрабатывали с помощью программы MestReNova 12.0.0. Инфракрасный спектр записывали на ИК-Фурье спектрометре VERTEX 70v в диске с калия бромидом в области 4000–400 см<sup>-1</sup>.

Компьютерный скрининг биологической активности выполняли с помощью программы PASS, которая расположена на веб-сервисе и доступна через Интернет [5].

соединения нерастворимы в воде, поэтому в качестве растворителя использовали 20%-ный раствор диметилсульфоксида (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 хлорида в соответ-

ствии 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 (I, II, III) 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.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Целевые соединения 2-(метилтио)-4-(4-нитрофенил)-6-этил-1,3,5-триазин (соединение I), 2-(метилтио)-4-фенил-6-этил-1,3,5-триазин (соединение

II), 2-(метилтио)-4-(4-метилфенил)-6-этил-1,3,5-триазин (соединение III) были получены с выходом 72, 69 и 66% соответственно. Данные спектров ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  полученных продуктов (рис. 4) представлены в табл. 1 и 2.

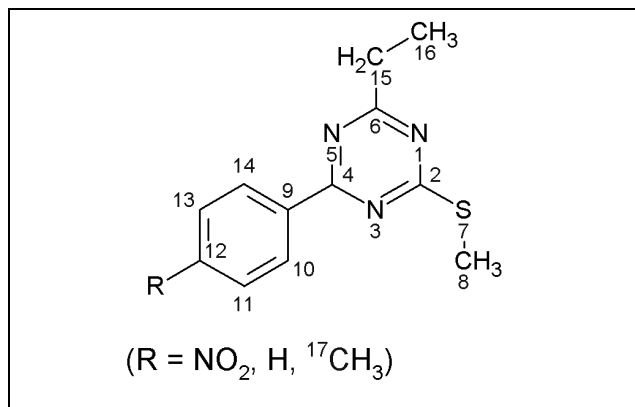


Рис. 4. Общая структурная формула новых производных 1,3,5-триазина с нумерацией атомов

Таблица 1. Данные спектров ЯМР  $^1\text{H}$  (ДМСО- $d_6$ )

Соединение	Спектр ЯМР $^1\text{H}$ (ДМСО- $d_6$ ), $\delta$ , м.д.				
	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> -C <sup>12</sup>	CH <sub>2</sub>	Ar	-S-CH <sub>3</sub>
I	1,32 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H)	–	2,87 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H)	8,65–8,56 (m, 2H); 8,42–8,33 (m, 2H)	2,64 (s, 3H)
II	1,31 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H)	–	2,85 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H)	8,69–8,59 (m, 3H); 8,52–8,43 (m, 2H)	2,69 (s, 3H)
III	1,35 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H)	2,20 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H)	2,93 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H)	8,59–8,50 (m, 2H); 8,45–8,35 (m, 2H)	2,71 (s, 3H)

Таблица 2. Данные спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$  (ДМСО- $d_6$ )

Соединение	Спектр ЯМР $^{13}\text{C}$ (ДМСО- $d_6$ ), $\delta$ , м.д.							
	C <sup>8</sup>	C <sup>16</sup>	C <sup>17</sup>	C <sup>15</sup>	C <sup>9</sup> -C <sup>14</sup>	C <sup>2</sup>	C <sup>4</sup>	C <sup>6</sup>
I	13,48	11,52	–	31,88	124,40–150,47	167,59	183,04	179,64
II	13,98	10,13	–	32,02	128,57–141,16	161,48	187,15	183,67
III	14,61	9,17	11,03	32,47	129,07–139,41	159,54	190,76	180,82

Строение полученных веществ было подтверждено с помощью ИК-спектроскопии ( $\nu$ , (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ ).

Соединение I: идентифицируется триазиновый цикл по полосе поглощения при  $1522 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu \text{C}=\text{N}$ (аром.)), деформационные колебания «-C-H аг» сильной интенсивности замещенных бензольных колец в области  $800\text{--}860 \text{ cm}^{-1}$ , ароматическая нитрогруппа по полосе поглощения при  $1560 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu \text{N}=\text{O}^{\text{as}}$ ) и  $1346 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu \text{N}=\text{O}^{\text{s}}$ ).

Соединение II: идентифицируется триазиновый цикл по полосе поглощения при  $1522 \text{ cm}^{-1}$

( $\nu \text{C}=\text{N}$ (аром.)), деформационные колебания «-C-H аг» сильной интенсивности монозамещенных бензольных колец в области  $690\text{--}770 \text{ cm}^{-1}$ .

Соединение III: идентифицируется триазиновый цикл по полосе поглощения при  $1522 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu \text{C}=\text{N}$ (аром.)), валентные колебания «-C-H» метильной группы при  $2901 \text{ cm}^{-1}$ , деформационные колебания «-C-H аг» сильной интенсивности замещенных бензольных колец в области  $800\text{--}860 \text{ cm}^{-1}$ .

В ходе скрининга биологической активности *in silico* с помощью программы PASS получены

данные о противомикробной активности в отношении *Staphylococcus aureus* для полученных соединений с вероятностью *Pa* [0,281(I), 0,317 (II), 0,482 (III)]. Результаты определения МПК синтезированных соединений в отношении *Staphylococcus aureus* P209 следующие: соединение I – 17 мкг/мл; соединение II – 34 мкг/мл; соединение III – 93 мкг/мл

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что соединения (I–III) проявляют антистафилококковую активность в отношении штамма *Staphylococcus aureus* P209 [8]. Следовательно, введение акцепторных заместителей в 4 положение арильного фрагмента (соединение I) приводит к увеличению противомикробной активности соединений.

## ВЫВОДЫ

Получены новые производные 1,3,5-триазины. Их строение доказано с помощью современных физико-химических методов анализа. Результаты компьютерного прогнозирования позволили определить потенциальную противомикробную активность полученных соединений. С помощью экспериментальных микробиологических исследований показано, что исследуемые соединения обладают антистафилококковой активностью.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Patel R.V., Kumari P., Rajani D.P., Chikhalia K.H. Synthesis, characterization and pharmacological activities of 2-[4-cyano-(3-trifluoromethyl)phenyl amino]-4-(4-quinoline/coumarin-4-yloxy)-6-(fluoropiperazinyl)-s-triazines. *Journal of Fluorine Chemistry*. 2011; 132: 617–627.
2. Shah D.R., Modh R.P., Chikhalia K.H. Privileged s-triazines: structure and pharmacological applications. *Future Med. Chem.* 2014; 6(4): 463–477. DOI: 10.4155/fmc.13.212.
3. McKay G.A., Reddy R., Arhin F., Belley A., Lehoux D., Moeck G., Sarmiento I., Parr T.R., Gros P., Pelletier J., Far A.R. 3-(Indol-2-yl)indazoles as Chek1 kinase inhibitors: Optimization of potency and selectivity via substitution at C6. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2006; 16: 1286.
4. Baldaniya B.B., Patel P.K. Synthesis, Antibacterial and Antifungal Activities of s-Triazine Derivatives. *Eur. Journal of Chemistry*. 2009; 6(3): 673.
5. PASS Online. Way2Drug: [веб-ресурс]. Москва. URL: [www.way2drug.com/PASSOnline](http://www.way2drug.com/PASSOnline) (дата обращения 24.01.2021). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. Текст: электронный.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. Изд. XIV. Т. 3. М., 2018; 1187 с.
7. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012; 944 с.
8. Патент 2765005 С1 РФ. Способ получения 2-(метилтио)-4-(4-нитро-фенил)-6-этил-1,3,5-триазины. Д.А. Колесник, Е.В. Куваева, Т.Л. Семакова, О.Ю. Стрелова, И.П. Яковлев, Г.В. Ксенофонтова; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. № 2020139481; заявл. 30.11.2020; опубл. 24.01.2022.

Поступила после доработки 18 апреля 2022 г.

# SYNTHESIS AND EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW 1,3,5-TRIAZINE DERIVATIVES

© Authors, 2022

### E.V. Kuvaeva

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Department of Organic Chemistry, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)  
E-mail: elena.kuvaeva@pharminnotech.com

### P.O. Levshukova

Student, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)  
E-mail: levshukova.polina@pharminnotech.com

### D.A. Kolesnik

Ph.D. (Pharm.), Assistant, Department of Organic Chemistry, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)  
E-mail: denis.kolesnik@spcpu.ru

### E.N. Kirillova

Ph.D. (Chem.), Associate Professor, Department of Organic Chemistry, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)  
E-mail: eugenia.kirillova@pharminnotech.com

### I.P. Yakovlev

Dr.Sc. (Chem.), Professor, Head of the Department of Organic Chemistry, Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University (Saint-Petersburg, Russia)  
E-mail: igor.yakovlev@pharminnotech.com

**Yu.M. Ladutko**

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Department of Medicinal Forms Technology,  
Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, (Saint-Petersburg, Russia)  
E-mail: yulia.ladutko@pharminnotech.com

**Aim.** Synthesis of new 1,3,5-triazine derivatives (studied compounds, target compounds) and evaluation of their antimicrobial activity in silico and in vitro.

**Material and methods.** The target compounds were obtained as a result of the reaction of 2,5-disubstituted-4-hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones and S-methylisothiurea hemisulfate in the presence of an equimolar amount of sodium methylate in a methanol medium. The structure has been proven using modern physico-chemical analysis methods. Computer screening of biological activity was carried out using the PASS program located on the web service and accessible via the Internet. Experimentally, the antimicrobial activity of the compounds was studied in relation to the test culture of the microorganism – *Staphylococcus aureus* P209.

**Results.** New derivatives of 1,3,5-triazine were synthesized with a yield of 66–72%. The structure of the obtained compounds was proved using <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy, IR spectroscopy. As a result of screening of biological activity using the PASS program, data on a pronounced antimicrobial effect were obtained. The study of antimicrobial activity in vitro showed that the target compounds have an effect on *Staphylococcus aureus* P209.

**Conclusion.** New derivatives of 1,3,5-triazine – 2-(methylthio)-4-(4-nitrophenyl)-6-ethyl-1,3,5-triazine, 2-(methylthio)-4-phenyl-6-ethyl-1,3,5-triazine, 2-(methylthio)-4-(4-methylphenyl)-6-ethyl-1,3,5-triazine. Their structure has been proved using modern physico-chemical analysis methods. The results of computer prediction made it possible to determine the potential biological activity. Experimental microbiological studies have proved that the studied compounds have antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* P209.

**Key words:** 1,3,5-triazines, antimicrobial activity, computer screening, *Staphylococcus aureus*, 4-hydroxy-6H-1,3-oxazin-6-ones.

**For citation:** Kuvatva E.V., Levshukova P.O., Kolesnik D.A., Kirillova E.N., Yakovlev I.P., Ladutko Yu.M. Synthesis and evaluation of antimicrobial activity of new 1,3,5-triazine derivatives. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(7):39–43. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-07-06>

**REFERENCES**

1. Patel R.V., Kumari P., Rajani D.P., Chikhalia K.H. Synthesis, characterization and pharmacological activities of 2-[4-cyano-(3-trifluoromethyl)phenyl amino]-4-(4-quinoline/coumarin-4-yloxy)-6-(fluoropiperazinyl)-s-triazines. Journal of Fluorine Chemistry. 2011; 132: 617–627.
2. Shah D.R., Modh R.P., Chikhalia K.H. Privileged s-triazines: structure and pharmacological applications. Future Med. Chem. 2014; 6(4): 463–477. DOI: 10.4155/fmc.13.212.
3. McKay G.A., Reddy R., Arhin F., Belley A., Lehoux D., Moeck G., Sarmiento I., Parr T.R., Gros P., Pelletier J., Far A.R. 3-(Indol-2-yl)indazoles as Chek1 kinase inhibitors: Optimization of potency and selectivity via substitution at C6. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2006; 16: 1286.
4. Baldaniya B.B., Patel P.K. Synthesis, Antibacterial and Antifungal Activities of s-Triazine Derivatives. Eur. Journal of Chemistry. 2009; 6(3): 673.
5. PASS Online. Way2Drug: [web-resurs]. Moskva. URL: [www.way2drug.com/PASSOnline](http://www.way2drug.com/PASSOnline) (data obrashcheniya 24.01.2021). Rezhim dostupa: dlya zaregistrir. pol'zovatelej. Tekst: elektronnyj.
6. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. MZ RF. XIV izd. T.3. Moskva, 2018; 1187 s.
7. Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaya. M.: Grif i K. 2012; 944 s.
8. Patent 2765005 S1. Sposob polucheniya 2-(metiltio)-4-(4-nitrofenil)-6-etil-1,3,5-triazina / D.A. Kolesnik, E.V. Kuvaeva, T.L. Semakova, O.Yu. Strelova, I.P. Yakovlev, G.V. Ksenofontova; zayavitel' i patentoobladatel' FGBOU VO SPHFU Minzdrava Rossii. № 2020139481; zayavl. 30.11.2020; opubl. 24.01.2022.



**Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР**

**Хелепин** (таблетки, мазь) рег. №№ 87/1186/10; 87/1186/7 – противовирусное средство при заболеваниях, вызываемых ДНК-геномными вирусами группы герпеса, получаемое из травы дикорастущего растения леспециды копеечниковой (*Lespedeza hedysaroides* (Pall.) Kitag.).

**Хелепин Д** (таблетки, мазь, глазные капли), рег. №№ 94/108/6; 94/108/7; 99/47/11 – противовирусное средство, получаемое из травы культивируемого растения десмодиума канадского (*Desmodium canadense* D.C.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru