



© Коллектив авторов, 2024
УДК 547.874.1 1,3,5 : 615.277.3
<https://doi.org/10.24884/1607-4181-2024-31-1-55-61>

А. В. Протас^{1,2}, О. В. Миколайчук^{1,2*}, Е. А. Попова^{1,2}, К. В. Тимошук¹,
Д. Н. Майстренко², О. Е. Молчанов², В. В. Шаройко¹⁻³, К. Н. Семенов¹⁻³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А. М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 1,3,5-ТРИАЗИНА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ АГЕНТЫ: СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO*

Поступила в редакцию 16.04.2024 г.; принята к печати 24.06.2024 г.

Резюме

Введение. Перспективным направлением применения 1,3,5-триазинов в медицинской химии является разработка высокоэффективных противоопухолевых агентов. Значительным цитотоксическим действием обладают 2,4,6-замещенные производные 1,3,5-триазина, содержащие в качестве заместителей азиридиновые циклы. Данные соединения взаимодействуют с молекулами ДНК опухолевых клеток и являются алкилирующими агентами.

Цель — осуществить синтез, а также исследовать цитотоксическую активность *in vitro* новых азиридин-содержащих производных 1,3,5-триазина в отношении опухолевых клеточных линий аденокарциномы легкого человека A549 и гепатокарциномы человека Huh7 и оценить влияние длины углеводородного радикала в диоксановом цикле на цитотоксический эффект полученных соединений.

Методы и материалы. Синтез целевых соединений проводился с использованием 2,4,6-трихлоро-1,3,5-триазина (цианурхлорида) в качестве исходного реагента. Состав и строение полученных соединений были доказаны методами элементного CHN-анализа и ЯМР спектроскопии ¹H, ¹³C{¹H}. Цитотоксичность соединений была изучена с применением колориметрического метода МТТ-теста.

Результаты. Синтезированы и охарактеризованы новые производные 1,3,5-триазина: (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-этил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол и (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-изобутил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол. Методом МТТ-теста изучено цитотоксическое действие в отношении опухолевых клеточных линий аденокарциномы легкого человека A549 и гепатокарциномы человека Huh7. Показано, что увеличение длины углеводородных радикалов в диоксановом цикле в положении C2 приводит к снижению цитотоксического действия.

Вывод. Синтезированные (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-этил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол и (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-изобутил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол вызывают дозозависимое снижение выживаемости клеток опухолевых линий A549 и Huh7.

Ключевые слова: 1,3,5-триазин, азиридин, диоксан, цитотоксичность, МТТ-тест

Для цитирования: Протас А. В., Миколайчук О. В., Попова Е. А., Тимошук К. В., Майстренко Д. Н., Молчанов О. Е., Шаройко В. В., Семенов К. Н. Функционализированные производные 1,3,5-триазина как перспективные противоопухолевые агенты: синтез и цитотоксическая активность *in vitro*. Ученые записки ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. 2024; 31(1):55–61. DOI: 10.24884/1607-4181-2024-31-1-55-61.

* Автор для связи: Ольга Владиславовна Миколайчук, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8. E-mail: olgamedchem@gmail.com.

Aleksandra V. Protas^{1,2}, Olga V. Mikolaichuk^{1,2*}, Elena A. Popova^{1,2}, Kirill V. Timoshchuk^{1,2}, Dmitrii N. Maistrenko², Oleg E. Molchanov², Vladimir V. Sharoyko¹⁻³, Konstantin N. Semenov¹⁻³

¹ Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

² A. M. Granov Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies, Saint Petersburg, Russia

³ St Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

FUNCTIONALIZED 1,3,5-TRIAZINE-DERIVATIVES AS PROMISING ANTICANCER AGENTS: SYNTHESIS AND CYTOTOXIC ACTIVITY *IN VITRO*

Received 16.04.2024; accepted 24.06.2024

Summary

Introduction. A promising area of application of 1,3,5-triazines in medical chemistry is the development of highly effective anticancer agents. It is noteworthy that a significant cytotoxic effect may occur with 2,4,6-substituted 1,3,5-triazine derivatives containing aziridine rings as substituents. These compounds interact with DNA molecules of tumor cells and they are alkylating agents.

The **objective** was to synthesize and investigate the cytotoxic activity *in vitro* of new aziridine – containing 1,3,5-triazine derivatives against tumor cell lines of human lung adenocarcinoma A549 and human hepatocarcinoma Huh7 and to evaluate the effect of the length of the hydrocarbon radical in the dioxane cycle on the cytotoxic effect of the obtained compounds.

Methods and materials. The synthesis of the 1,3,5-triazine derivatives was carried out using 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine (cyanuric chloride) as the starting reagent. The composition and structure of the obtained compounds were proven by elemental CHN analysis and ¹H, ¹³C{¹H} NMR spectroscopy. The cytotoxicity was studied using the MTT colorimetric assay.

Results. Novel 1,3,5-triazine derivatives were synthesized and fully characterized: (5-((4-(aziridin-1-yl)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-ethyl-2-methyl-1,3-dioxan-5-yl)methanol and (5-((4-(aziridin-1-yl)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-isobutyl-2-methyl-1,3-dioxan-5-yl)methanol. Also, cytotoxic effect against tumor cell lines of human lung adenocarcinoma (A549) and human hepatocarcinoma (Huh7) was studied using the MTT assay. It has been shown that an increase in the length of hydrocarbon radicals in the dioxane ring at position C2 leads to a decrease in cytotoxic effect.

Conclusion. The synthesized (5-((4-(aziridin-1-yl)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-ethyl-2-methyl-1,3-dioxane-5-yl)methanol and (5-((4-(aziridin-1-yl)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-isobutyl-2-methyl-1,3-dioxan-5-yl)methanol cause a dose-dependent decrease against the survival of tumor cell lines A549 and Huh7.

Keywords: 1,3,5-triazine, aziridine, dioxane, cytotoxicity, MTT assay

For citation: Protas A. V., Mikolaichuk O. V., Popova E. A., Timoshchuk K. V., Maistrenko D. N., Molchanov O. E., Sharoyko V. V., Semenov K. N. Functionalized 1,3,5-triazine-derivatives as promising anticancer agents: synthesis and cytotoxic activity *in vitro*. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2024;31(1):55–61. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2024-31-1-55-61.

* **Corresponding author:** Olga V. Mikolaichuk, Pavlov University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: olgamedchem@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Азотсодержащие гетероциклы являются ключевыми структурными компонентами многих современных лекарственных средств различного терапевтического действия [1–4]. Одним из перспективных направлений применения гетероциклов в медицинской химии, в том числе 1,3,5-триазинов, является получение высокоэффективных цитостатиков [5–8]. Значительный противоопухолевый эффект отмечен у некоторых 2,4,6-замещенных производных 1,3,5-триазина (рис. 1), которые оказывают влияние на различные биологические мишени опухолевых клеток (ДНК, ферменты и др.) и, соответственно, могут действовать по различным механизмам [5]. Например, 1,3,5-триазины AMG 511, ZSTK 474, PKI-587 являются ингибиторами PI3K пан-класса I. Эффективными алкилирующими агентами, для которых основной мишенью является молекула ДНК, являются 1,3,5-триазины, содержащие в качестве заместителей азиридиновые циклы (например, третамин (2,4,6-три(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин) (рис. 1)) [9]. В России был синтезирован [5-[[4,6-бис(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил]-амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил]метанол с высокой противоопухоле-

вой активностью (рис. 1) [10]. Показано, что данное соединение обладает выраженным контактным противоопухолевым действием, при этом его местное и системное токсическое действие значительно меньше, чем у препаратов на основе координационных соединений платины [10]. При местном применении (внутрибрюшинном и внутриплевральном) [5-[[4,6-бис(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил]-амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил]-метанол не оказывает склерозирующего действия, тогда как введение цисплатина приводит к осложнениям в виде спаечного процесса. К преимуществам данного соединения также относят его амфифильность, которая позволяет вводить препарат в масляных и в водных растворах [10].

В работе [11] мы использовали [5-[[4,6-бис(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил]-амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил]метанол в качестве исходного реагента для получения [5-(4,6-ди(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил)амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил]метил-2-(5-фенил-2Н-тетразол-2-ил)ацетата (рис. 1). Показано, что введение 5-фенилтетразол-2-илацетильного фрагмента привело к увеличению противо-

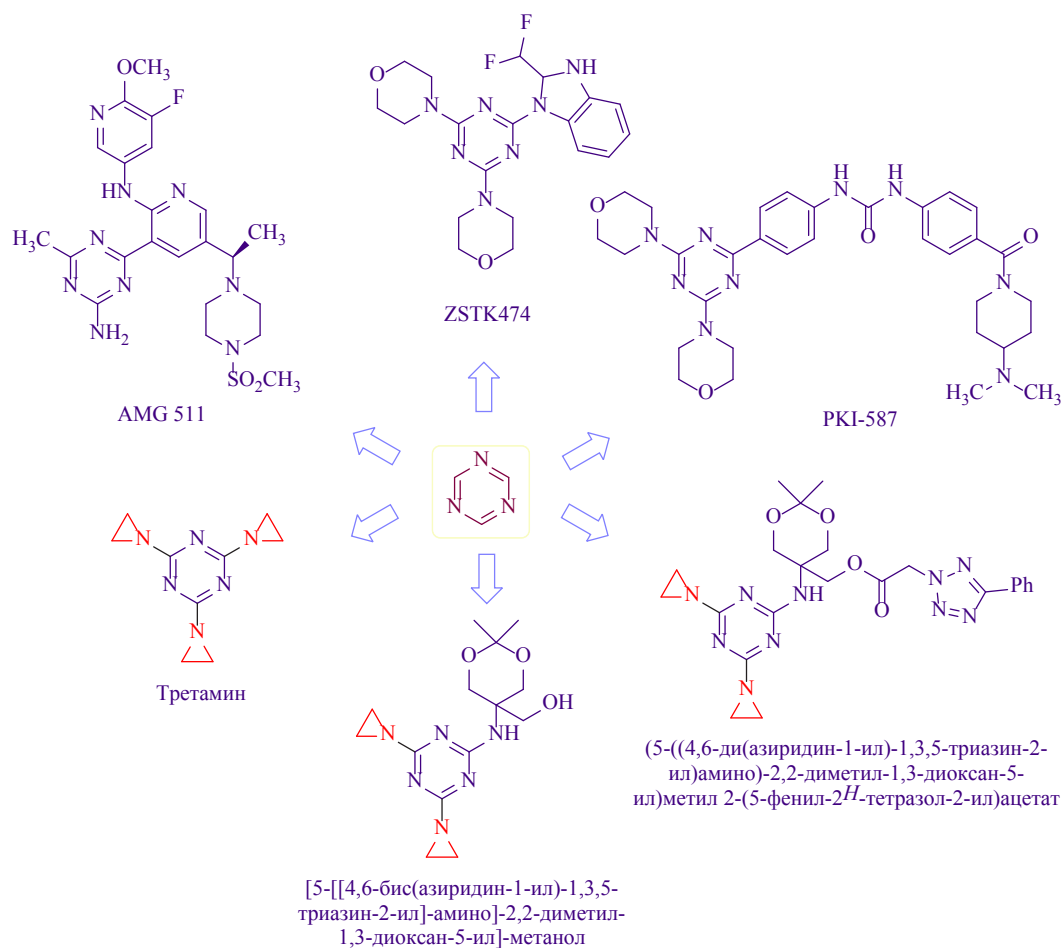


Рис. 1. 1,3,5-Триазины с противоопухолевой активностью
Fig. 1. 1,3,5-Triazines and their anticancer activity

опухолевой активности в отношении опухолевой клеточной линии SK-HEP-1 [11].

Продолжая изучение цитотоксической активности производных 1,3,5-триазина, целью данной работы мы определили синтез (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-этил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанола и (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-изобутил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанола и изучение цитотоксического действия в отношении опухолевых клеточных линий аденокарциномы легкого человека A549 и гепатокарциномы человека Huh7 и оценку влияния длины углеводородного радикала в диоксановом цикле.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

^1H и $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ЯМР спектры были записаны на Bruker Avance III 400 (400.13 МГц для ^1H ядер и 100.61 МГц для ^{13}C ядер) в CDCl_3 при 298.15 К. Элементный анализ (C, H, N) выполнен на анализаторе CHNSO Euro EA 3028 HT.

Методика синтеза соединений 2 и 3. К раствору 2 г (10.8 ммоль) цианурхлорида 1 в 20 мл бутан-2-она (для соединения 2) или 20 мл 3-метилпентан-2-она (для соединения 3) при перемешивании добавили 1.5 г (12.4 ммоль) 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-

диола. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре 2 часа (контроль хода реакции по ТСХ). Далее к реакционной смеси добавили 0.4 г (4.65 ммоль) *para*-толуолсульфокислоты и 3.1 г (21.6 ммоль) Na_2SO_4 . Реакционную массу выдерживали при кипячении в течение 6 часов. По окончании времени выдержки охлаждали до комнатной температуры, фильтровали и упаривали при пониженном давлении полученный на первой стадии осадок. Продукт растворяли в хлороформе (100 мл) и добавляли водный раствор азиридина, который синтезировали по описанной ранее методике [12], нагревая 2-бромэтанамин гидрохлорид при 50 °С в водном растворе NaOH и Na_2CO_3 . Полученную гетерофазную систему выдерживали при 35 °С и интенсивном перемешивании в течение 12 часов. Отделяли органический слой и сушили его над безводным CaCl_2 . После фильтрации упаривали при пониженном давлении. Целевой продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле, используя элюирующую систему хлороформ-метанол (95/5).

(5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-этил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол (2).

Кристаллическое вещество бежевого цвета. Выход: 1.5 г (42 %) т. пл. 208 – 210 °С. ^1H ЯМР (400 МГц,

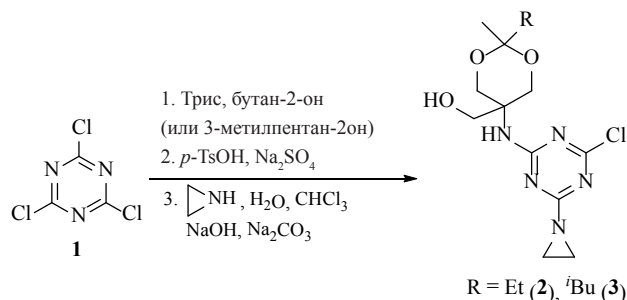


Рис. 2. Схема синтеза соединений 2, 3
Fig. 2. Synthesis route of compounds 2, 3

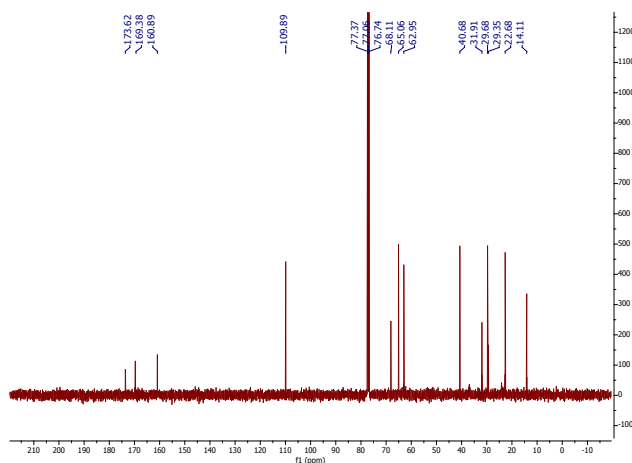


Рис. 3. ^{13}C ЯМР спектр (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-изобутил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанола (3)

Fig. 3. ^{13}C NMR spectrum (5-((4-(aziridin-1-yl)-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2-isobutyl-2-methyl-1,3-dioxane-5-yl)methanol (3)

CDCl_3 δ , м. д.: 6,30 (с, 1H, NH), 4,46 (дд, $J=8,7, 7,3$ Гц, 2H, CH_2), 3,70 – 3,61 (м, 2H, CH_2), 3,14 (д, $J=5,5$ Гц, 2H, CH_2), 1,45 (д, $J=3,8$, 2H, CH_2), 1,26 (с, 3H, CH_3), 0,96 (д, $J=2,4$ Гц, 3H, CH_3), 0,88 (дд, $J=8,9, 4,7$ Гц, 3H, CH_3). ^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3) δ , м. д.: 170,1 ($\text{C}_{\text{триазин}}$), 161,0 ($\text{C}_{\text{триазин}}$), 160,9 ($\text{C}_{\text{триазин}}$), 111,7 (C), 68,1 (CH_2), 64,8 (CH_2), 62,9 (CH_2), 40,7 (CH_2), 29,7 (CH_2), 21,8 (CH_3), 15,3 (CH_3). Элементный анализ, вычислено, %: C 47,35; H 6,11; N 21,24. Найдено, %: C, 48,18; H, 5,89; N, 21,59. $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{ClN}_5\text{O}_3$.

(5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-изобутил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол (3).

Кристаллическое вещество белого цвета. Выход: 1,39 г (36 %). ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ , м. д.: 6,69 (с, 1H, NH), 5,01 – 4,89 (м, 2H, CH_2), 3,55 – 3,47 (м, 2H, CH_2), 3,21 (т, $J=5,5$ Гц, 2,8 Гц, 2H, CH_2), 1,39 (д, $J=4,1$, 2H, CH_2), 1,28 (с, 3H, CH_3), 0,99 (с, 3H, CH_3), 0,89 (д, $J=4,9$ Гц, 3H, CH_3). ^{13}C ЯМР (101 МГц, CDCl_3) δ , м. д.: 173,6 ($\text{C}_{\text{триазин}}$), 169,4 ($\text{C}_{\text{триазин}}$), 160,9 ($\text{C}_{\text{триазин}}$), 109,9 (C), 77,4 (CH_2), 77,1 (CH_2), 76,7 (CH_2), 68,1 (CH_2), 65,1 (CH_2), 63,0 (CH_2), 40,8 (CH_2), 31,9 (CH_2), 29,7 (CH_2), 29,4 (CH_2), 22,7 (CH_3), 14,1 (CH_3). Элементный анализ, вычислено, %: C, 50,35; H, 6,76; N, 19,57. $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ClN}_5\text{O}_3$. Найдено, %: C, 50,73; H, 6,53; N, 21,12.

Методика исследования цитотоксичности.

МТТ-анализ (колориметрический тест с 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромидом) проводили на опухолевых клеточных линиях A549 (аденокарцинома легкого человека) и Huh-7 (гепатокарциномы человека) согласно методике [13]. Клетки в концентрации $5 \cdot 10^3$ на лунку помещали в 96-луночный планшет и инкубировали в течение 12 часов в среде DMEM с добавлением 10 % термически инактивированной фетальной бычьей сыворотки, 1 % *L*-глутамина, 50 Ед·мл⁻¹ пенициллина и 50 мкг·мл⁻¹ стрептомицина. После культивирования в лунки добавляли свежую среду DMEM, содержащую различные концентрации соединений 2, 3, и планшет затем инкубировали при 37 °С в увлажненной атмосфере CO_2 -инкубатора в присутствии 20 % O_2 , 5 % CO_2 . Через 48 часов в лунки добавляли 0,1 мл DMEM и 0,02 мл МТТ-реактанта (5 мг/мл) и продолжали инкубировать в течение 1 часа, после чего удаляли супернатант. Образовавшиеся при восстановлении МТТ жизнеспособными клетками кристаллы формазана растворяли в 0,1 мл ДМСО и измеряли оптическую плотность на планшетном фотометре ALLSHENG AMR-100T при $\lambda = 540$ нм, вычитая фоновую оптическую плотность при $\lambda = 690$ нм. Статистический анализ проводился с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft). Нормальность распределения проверялась тестом Шапиро – Уилка. Данные выражены в виде средних значений $\pm$ стандартная ошибка среднего. Статистические различия между 5-ю проводимыми измерениями были проверены с использованием критерия Стьюдента для независимых выборок или с использованием дисперсионного анализа с последующим применением post-hoc критерия Тьюки. Статистически значимым считалось различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез, структура и распределение электронной плотности в азиридин-содержащих производных 1,3,5-триазина. На первой стадии проводили реакцию 2,4,6-трихлор-1,3,5-триазина (цианурхлорида) 1 с 2-амино-2-гидроксиметилпропан-1,3-диолами (рис. 1), используя бутан-2-он или 3-метилпентан-2-он в качестве реагента и растворителя (рис. 2). Для формирования диоксанового цикла в результате кетализации образующегося в ходе реакции 2-((4,6-дихлор-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-(гидроксиметил)пропан-1,3-диола добавляли к реакционной смеси *пара*-толуолсульфокислоту и сульфат натрия, как водоотнимающий агент, и кипятили в течение 6 часов. Для получения целевых продуктов 2 и 3 использовали водный раствор азиридина, который предварительно был получен нагреванием 2-бромэтанамина гидробромида при 50 °С в водном растворе NaOH и Na_2CO_3 .

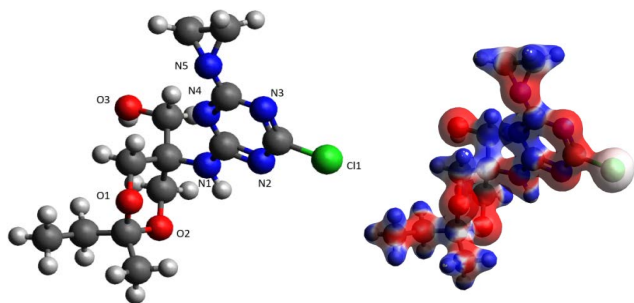


Рис. 4. Молекула соединения 2 с визуализированным распределением электронной плотности, где красный цвет — область повышенного отрицательного заряда, синий — область положительного заряда

Fig. 4. Molecule of compound 2 with visualized electron density distribution, where red color is the area of increased negative charge, blue color is the area of positive charge

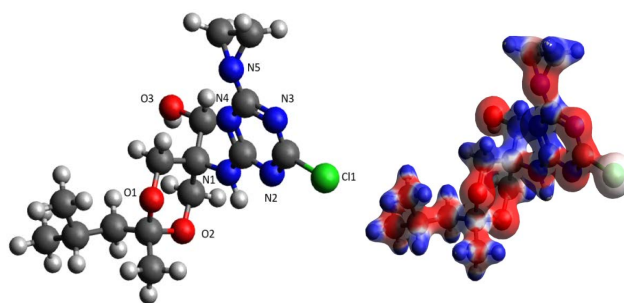


Рис. 5. Молекула соединения 3 с визуализированным распределением электронной плотности, где красный цвет — область повышенного отрицательного заряда, синий — область положительного заряда

Fig. 5. Molecule of compound 3 with visualized electron density distribution, where red color is the area of increased negative charge, blue color is the area of positive charge

Заряды на атомах в молекулах соединений 2, 3 в соответствии с рис. 4, 5

Charges on atoms in molecules of compounds 2, 3 in accordance with fig. 4, 5

Соединение	N1	N2	N3	N4	N5	O1	O2	O3	Cl1
2	−0,655	−0,375	−0,358	−0,396	−0,479	−0,550	−0,549	−0,648	0,067
3	−0,655	−0,376	−0,358	−0,396	−0,481	−0,545	−0,547	−0,648	0,067

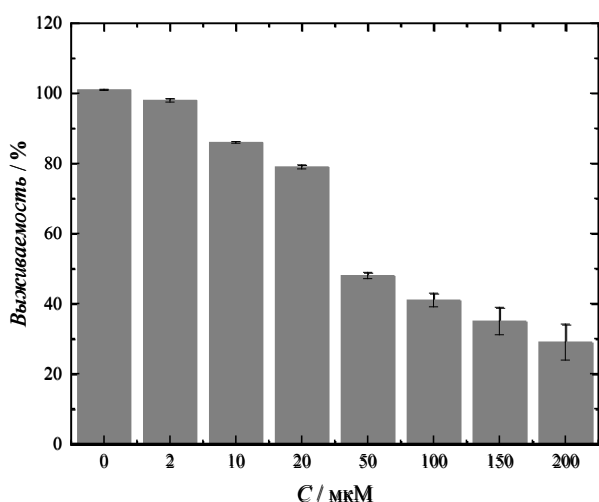


Рис. 6. Влияние соединения 3 на жизнеспособность клеточной линии A549. * — $p < 0,05$ относительно контроля

Fig. 6. The effect of compound 3 on the viability of the cell line A549. * — $p < 0.05$ relative to the control; ** — $p < 0.01$ relative to the control

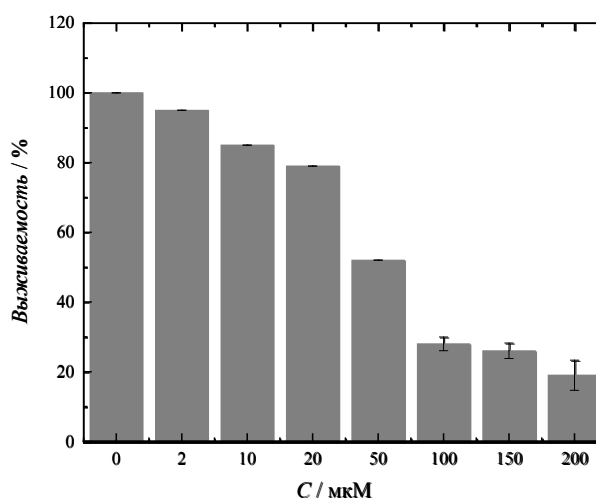


Рис. 7. Влияние соединения 3 на жизнеспособность клеточной линии Huh7. * — $p < 0,05$ относительно контроля

Fig. 7. Effect of compound 3 on the viability of the cell line Huh7. * — $p < 0.05$ relative to the control

Состав и строение полученных соединений были доказаны методами элементного CHN-анализа и ЯМР спектроскопии ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$. Так, в спектрах ^1H ЯМР соединений 2 и 3 сигналы протонов CH_3 -групп наблюдаются в диапазоне 0,88 — 1,28 м. д. Сигналы протонов метиленовых групп азиридиновых циклов расположены при 2,64 — 2,65 м. д. На рис. 3 представлен спектр ^{13}C ЯМР соединения 3. Сигналы атомов углерода CH_3 -групп наблюдаются при 14,1 и 15,3 м.д. Сигналы атомов углерода метиленовых групп азиридиновых циклов расположены при 29,4 — 29,7 м. д. Сигналы

атомов углерода CH - и CH_2 -групп диоксанового цикла наблюдаются при 68,1, 65,1 и 63,0 м. д., а сигнал четвертичного атома углерода C2 проявляется в более слабом поле при 109,9 м. д. Сигналы атомов углерода 1,3,5-триазинового цикла находятся при 161,0, 169,4 и 173,6 м. д.

Для понимания природы распределения электронной плотности в молекулах соединений 2, 3 применялся метод DFT с учетом растворителя (воды), реализованный в программном пакете ORCA. На первом этапе компьютерного моделирования была рассчитана электронная структура молекулы с

помощью метода DFT и произведена оптимизация геометрии. Расчет производился в базисе 6–31g с функционалом B3LYP и учетом поляризации растворителя (воды) с относительной диэлектрической постоянной 78.54. Заряды на атомах оценивались по схеме Малликена. Значения энергий (Ha) для молекулы соединения 2 составляют: HOMO: -6,685, LUMO: -1,123; для молекулы соединения 3: HOMO: -6,673, LUMO: -1,118. Результаты пространственного распределения поверхности зарядовой плотности молекул представлены на рис. 4, 5.

Как видно из расчетов молекул соединений 2, 3, значительный отрицательный заряд концентрируется на атомах азота и кислорода, однако атом хлора имеет нейтральный заряд.

Влияние соединений 2, 3 на выживаемость опухолевых клеточных линий A549 и Huh7. В данной работе методом МТТ теста исследована цитотоксическая активность соединений 2, 3 в отношении аденокарциномы легкого человека A549 и гепатокарциномы человека Huh7. Установлено, что производные 1,3,5-триазины 2, 3 вызывают дозозависимое снижение выживаемости клеток линий A549 и Huh7. Для соединений 2 и 3 величина IC_{50} составила $28,76 \pm 1,28$ и $32,41 \pm 2,74$ мкМ для клеточной линии A549 соответственно; $41,06 \pm 3,30$ и $46,32 \pm 3,48$ для клеточной линии Huh7 соответственно. Для наглядности влияние соединения 3 на жизнеспособность клеточных линий A549 и Huh7 показано на рис. 6, 7.

Для оценки влияния длины углеводородного радикала в положении C2 диоксанового фрагмента были определены значения IC_{50} для описанного ранее [5-[[4,6-бис(азиридин-1-ил)-1,3,5-триазин-2-ил]-амино]-2,2-диметил-1,3-диоксан-5-ил]метанола ранее изученные в работе [10]. Значения IC_{50} составили $15,5 \pm 0,9$ мкМ (для клеточной линии A549) и $13,9 \pm 0,9$ мкМ (для клеточной линии Huh7). Таким образом, отчетливо видно, что с увеличением длины и разветвленности углеводородного радикала при переходе от метильной группы к этильной, а затем к изобутильной, наблюдается снижение цитотоксической активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированы и охарактеризованы новые азиридин-содержащие производные 1,3,5-триазины. Таким образом, наиболее заметный цитотоксический эффект в отношении опухолевых клеточных линий A549 и Huh7 проявил (5-((4-(азиридин-1-ил)-6-хлоро-1,3,5-триазин-2-ил)амино)-2-этил-2-метил-1,3-диоксан-5-ил)метанол. Показано, что увеличение длины углеводородных радикалов в диоксановом цикле в положении C2 приводит к снижению цитотоксического действия.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства Здравоохранения Российской Федерации (государственное задание по теме «Создание и оценка противоопухолевой активности конъюгатов неанелированных 1,3,5-триазинов-тетразолов с молекулами адресной доставки к мишеням клеток опухоли микроокружения»).

Financing

The work was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (state assignment on the topic «Creation and evaluation of antitumor activity of conjugates of unannulated 1,3,5-triazinyl-tetrazoles with targeted delivery molecules to targets in the tumor cell microenvironment»).

Благодарности

Исследование выполнено с использованием оборудования ресурсных центров СПбГУ: РЦ «Магнитно-резонансные методы исследования», РЦ «Методы анализа состава вещества».

Acknowledgments

The research was performed using the equipment of the magnetic resonance research center and center for chemical analysis and materials research of the Research Park of Saint Petersburg State University.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mermer A., Keles T., Sirin Y. Recent studies of nitrogen containing heterocyclic compounds as novel antiviral agents: A review // *Bioorg. Chem.* – 2021. – Vol. 114, № 5. – P. 105076.
2. Kerru N., Gummidi L., Maddila S. et al. A review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications // *Molecules.* – 2020. – Vol. 25, № 8. – P. 1909.
3. Kabir E., Uzzaman M. A review on biological and medicinal impact of heterocyclic compounds // *Results Chem.* – 2022. – Vol. 4. – P. 100606.
4. Sharma V., Gupta M., Kumar P., Sharma A. A comprehensive review on fused heterocyclic as DNA intercalators: promising anticancer agents // *Curr. Pharm. Des.* – 2021. – Vol. 27, № 1. – P. 15.
5. Cascioferro S., Parrino B., Spanò V. et al. 1,3,5-Triazines: A promising scaffold for anticancer drugs development // *Eur. J. Med. Chem.* – 2017. – Vol. 142. – P. 523.
6. Singla P., Luxami V., Paul K. Triazine as a promising scaffold for its versatile biological behavior // *Eur. J. Med. Chem.* – 2015. – Vol. 102. – P. 39.
7. Lang D. K., Kaur R., Arora R. et al. Nitrogen-containing heterocycles as anticancer agents: an overview // *Anticancer. Agents Med. Chem.* – 2020. – Vol. 20, № 18. – P. 2150.

8. Akhtar J., Khan A. A., Ali Z. et al. Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogen-containing heterocyclic moieties for their anticancer activities // Eur. J. Med. Chem. – 2017. – Vol. 125. – P. 143.

9. Kumar R., Singh A. D., Singh J. et al. 1,2,3-triazine scaffold as a potent biologically active moiety: a mini review // Rev. Med. Chem. – 2014. – Vol. 14. – P. 72.

10. Mikolaichuk O. V., Sharoyko V. V., Popova E. A. et al. Biocompatibility and bioactivity study of a cytostatic drug belonging to the group of alkylating agents of the triazine derivative class // J. Mol. Liq. – 2021. – Vol. 343. – P. 117630.

11. Mikolaichuk O. V., Sharoyko V. V., Popova E. A. et al. A new tetrazole-containing 2-amino-4,6-di(aziridin-1-yl)-1,3,5-triazine derivative: synthesis, interaction with DNA, and antitumor activity // Russ. Chem. Bull. – 2022. – Vol. 71, № 5. – P. 1050.

12. Schaefer F. C. Homologs of Triethylenemelamine // J. Am. Chem. Soc. – Vol. 77, № 22. – P. 5928.

13. Mikolaichuk O. V., Popova E. A., Protas A. V. et al. A cytostatic drug from the class of triazine derivatives: its properties in aqueous solutions, cytotoxicity, and therapeutic // J. Mol. Liq. – 2022. – Vol. 356. – P. 119043.

REFERENCES

1. Mermer A., Keles T., Sirin Y. Recent studies of nitrogen containing heterocyclic compounds as novel antiviral agents: A review // Bioorg. Chem. 2021;114(5):105076.

2. Kerru N., Gummidu L., Maddila S. et al. A review on recent advances in nitrogen-containing molecules and their biological applications // Molecules. 2020;25(8):1909.

3. Kabir E., Uzzaman M. A review on biological and medicinal impact of heterocyclic compounds // Results Chem. 2022;4(10):100606.

4. Sharma V., Gupta M., Kumar P., Sharma A. A comprehensive review on fused heterocyclic as DNA intercalators: promising anticancer agents // Curr. Pharm. Des. 2021; 27(1):15.

5. Cascioferro S., Parrino B., Spanò V. et al. 1,3,5-Triazines: A promising scaffold for anticancer drugs development // Eur. J. Med. Chem. 2017;142:523.

6. Singla P., Luxami V., Paul K. Triazine as a promising scaffold for its versatile biological behavior // Eur. J. Med. Chem. 2015;102:39.

7. Lang D. K., Kaur R., Arora R. et al. Nitrogen-containing heterocycles as anticancer agents: an overview // Anticancer. Agents Med. Chem. 2020;20(18):2150.

8. Akhtar J., Khan A. A., Ali Z. et al. Structure-activity relationship (SAR) study and design strategies of nitrogen-containing heterocyclic moieties for their anticancer activities // Eur. J. Med. Chem. 2017;125:143.

9. Kumar R., Singh A. D., Singh J. et al. 1,2,3-Triazine scaffold as a potent biologically active moiety: a mini review // Rev. Med. Chem. 2014;14:72.

10. Mikolaichuk O. V., Sharoyko V. V., Popova E. A. et al. Biocompatibility and bioactivity study of a cytostatic drug belonging to the group of alkylating agents of the triazine derivative class // J. Mol. Liq. 2021;343:117630.

11. Mikolaichuk O. V., Sharoyko V. V., Popova E. A. et al. A new tetrazole-containing 2-amino-4,6-di(aziridin-1-yl)-1,3,5-triazine derivative: synthesis, interaction with DNA, and antitumor activity // Russ. Chem. Bull. 2022;71(5):1050.

12. Schaefer F. C., Homologs of Triethylenemelamine // J. Am. Chem. Soc. 1955;77(22):5928.

13. Mikolaichuk O. V., Popova E. A., Protas A. V. et al. A cytostatic drug from the class of triazine derivatives: its properties in aqueous solutions, cytotoxicity, and therapeutic // J. Mol. Liq. 2022;356:119043.

Информация об авторах

Протас Александра Владимировна, кандидат химических наук, доцент кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-1920-9360; **Миколайчук Ольга Владиславовна**, кандидат химических наук, ассистент кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-0463-7725; **Попова Елена Александровна**, доктор химических наук, профессор кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3328-6354; **Тимошук Кирилл Владимирович**, специалист по умр кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия); **Майстренко Дмитрий Николаевич**, заслуженный врач Российской Федерации, доктор медицинских наук, директор, Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А. М. Гранова (Санкт-Петербург, Россия); **Молчанов Олег Евгеньевич**, руководитель отдела фундаментальных исследований, доктор медицинских наук, Российский научный центр радиологии и хирургических технологий им. акад. А. М. Гранова (Санкт-Петербург, Россия); **Шаройко Владимир Владимирович**, доктор биологических наук, профессор кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3717-0471; **Семенов Константин Николаевич**, доктор химических наук, профессор кафедры общей и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0003-2239-2044.

Information about authors

Protas Aleksandra V., Cand. of Sci. (Chem.), Associate Professor of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-1920-9360; **Mikolaichuk Olga V.**, Cand. of Sci. (Chem.), Assistant of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-0463-7725; **Popova Elena A.**, Dr. of Sci. (Chem.), Professor of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3328-6354; **Timoshchuk Kirill V.**, Specialist in Educational and Methodological Work of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia); **Maistrenko Dmitrii N.**, Honored Physician of the Russian Federation, Dr. of Sci. (Med.), Director, A. M. Granov Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies (Saint Petersburg, Russia); **Molchanov Oleg E.**, Head of the Department of Fundamental Researches, Dr. of Sci. (Med.), A. M. Granov Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies (Saint Petersburg, Russia); **Sharoyko Vladimir V.**, Dr. of Sci. (Biol.), Professor of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3717-0471; **Semenov Konstantin N.**, Dr. of Sci. (Chem.), Professor of the Department of General and Bioorganic Chemistry, Pavlov University (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0003-2239-2044.