

A. M. Demchenko, O. V. Moskalenko, V. V. Sukhoveev,
O. I. Barchyna, Yu. A. Fedchenkova

Synthesis and antiviral activity of 4,6-*bis*-ethylamino[1,3,5]triazine derivatives for Flu A (H1N1) virus California/07/2009

Nizhyn Mykola Gogol State University

Key words: *Antiviral activity, virus Flu A (H1N1) California/07/2009, Ribavirin, 4,6-bis-ethylamino[1,3,5]triazine derivatives*

Epidemics are the type of infectious diseases, which spread significantly faster than expected [1]. Among infectious diseases, almost 90 % of them are caused by influenza viruses. Five pandemics, which occurred in the last century, are related to mutations in strains of influenza HA/NA. Today, a threat to humanity poses a new SARS-CoV-2 virus [2]. This causes colossal human and resource losses in the world. According to the WHO data, every year, from 3 to 5 millions of people in the world contract severe forms of influenza [3]. Economic losses from it can reach 85 % from all infectious diseases [4–7]. Human losses are no less sensitive during occurrence of a pandemic. For example, pandemic of «Spanish flu» (1918–1919) took from 50 to 100 millions of world people population, «Hong Kong flu» (1968–1970) – more than 1 million, and «Swine flu» (2009–2010, Flu A (H1N1) California/07/2009) – 17 thousands of human lives. From perspective of economic losses and efforts of international community at conducting anti-epidemic measures, the latest was most widespread, but very efficient in terms of human losses.

The fact, that world centers (Atlanta, (USA). Tokio, (Japan). London (Great Britain), Melbourne (Australia) [2], European Centre for Disease Prevention and Control [8] and regional centers and laboratories in more than 140 countries, such as Public Health Surveillance network [9], were created for observation of epidemics, speaks for importance of

importance of said problem. «Centre for public health of the Ministry of health of Ukraine» state institution gained status of National Influenza Center and gained status of GISRS [10].

This is why search for new compounds, that show antiviral activity, is a relevant direction of experimental researches nowadays. 4,6-*Bis*-ethylamino[1,3,5] triazine derivatives can be perspective in this aspect. Compounds, which show antioxidant [11–13], antitumor [14, 15], anti-inflammatory [16] and antiviral [17–24] activities were found among the specified compounds.

The aim of research is to synthesize the 4,6-*bis*-ethylamino[1,3,5]triazine derivatives and to study the antiviral activity of 2-(4,6-*bis*-ethylamino[1,3,5] triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide for Flu A (H1N1) virus California/07/2009 at primary pharmacological screening stage.

Structural formulas for active ingredients of Ribavirin, Amizone and 2-(4,6-*bis*-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide – Fig. 1.

Materials and methods. Investigated compounds that are of (4,6-*bis*-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-aryl-acetamide derivatives were synthesized in the department of chemistry and pharmacy of Nizhyn Mykola Gogol State University. Compounds **2**, **3 a-g**, **4** and **5 a-c** were synthesized according to the next scheme (Fig. 2).

4,6-*Bis*-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **1** was obtained by the method [25]. Derivatives of appropriated α -bromoacetophenones were obtained by brominating of the corresponding acetophenones with bromine in acetic medium.

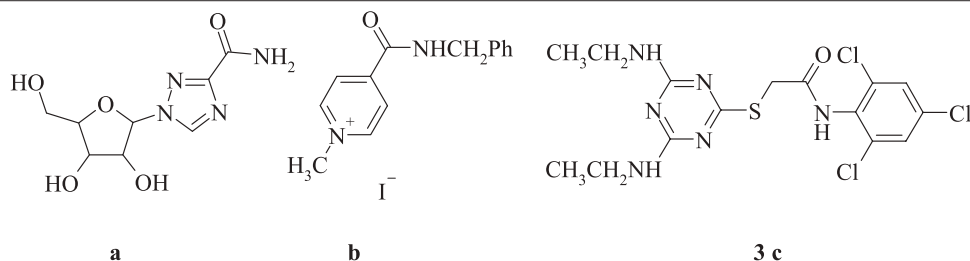


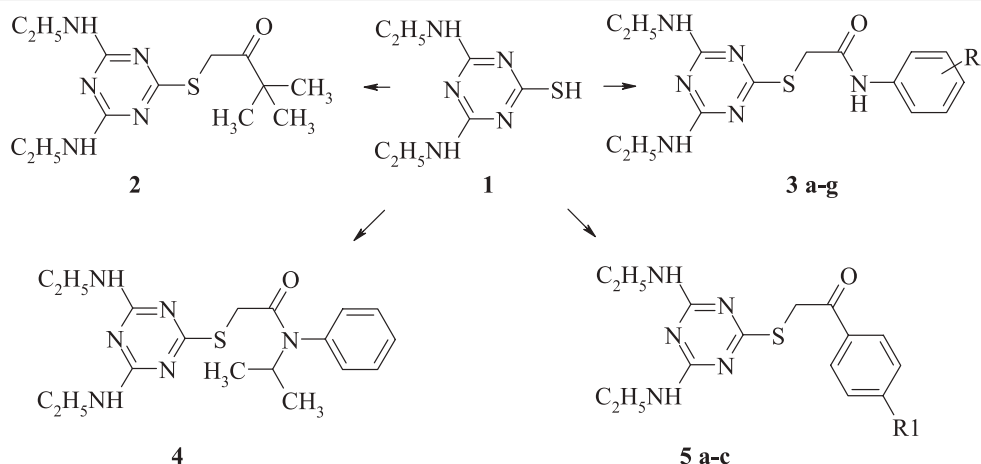
Fig. 1. Structural formulas for active ingredients of Ribavirin (**a**), Amizone (**b**) and 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide (**3 c**)

Synthesis of 1-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-3,3-dimethylbutan-2-one 2. 1.79 g (0.01 M) 1-Bromo-3,3-dimethylbutan-2-one was added to mixture 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **1** and 3.06 g (0.022 M) dry K_2CO_3 in 80 ml of ethyl acetate. Refluxed for 5 h, reaction mixture was evaporated to a volume of 20 ml and poured into 200 ml of water. The fallen-out precipitate was filtered off and recrystallized from propanol-2. Yield – 1.64 g (55 %). M.p. = 92–93 °C. Found %: N 23.8. $C_{13}H_{23}N_5OS$. Calculated, % N 23.5. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.05 (m, 6H, 2($NHCH_2CH_3$)), 1.16 (s, 9H, $C(CH_3)_3$), 3.22 (m, 4H, 2($NHCH_2CH_3$)), 4.30 (s, 2H, $COCH_2$), 5.82 (s, 2H, NH_2), 7.06–7.27 (m, 2H, 2($NHCH_2CH_3$)).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,3-

dichlorophenyl)-acetamide 3 a was obtained as compound **2** from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **1**, 2.39 g (0.01 M) of 2-chloro-N-(2,3-dichlorophenyl)-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 3.09 g (77 %). M.p. = 172–173 °C. Anal. Calc. for $C_{15}H_{18}Cl_2N_6OS$. %: S 8.00; N 20.9. Found, %: S 7.88; N 20.8. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.06 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.13 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 3.25 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.29 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.89 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.98–7.28 (m, 2H, 2($NHCH_2CH_3$)), 7.31–7.98 (m, 3H, C_6H_3), 9.68 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,5-dichlorophenyl)-acetamide 3 b was obtained as compound **2** from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **1**, 2.39 g (0.01 M) of



Where **3**: **a**) $R = 2,3Cl_2$; **b**) $R = 2,5Cl_2$; **c**) $R = 2,4,6Cl_3$; **d**) $R = 2,3(CH_3)_2$; **e**) $R = 2,4(CH_3)_2$; **f**) $R = 2,5(CH_3)_2$; **g**) $R = 4-OPh$. **5**: **a**) $R_1 = H$; **b**) $R_1 = CH_3$; **c**) $R_1 = OCH_3$.

Fig. 2. Scheme of synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)derivatives (**2**, **3 a-g**, **4**, **5 a-c**)

2-chloro-N-(2,5-dichlorophenyl)-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 3.41 g (85%). M.p. = 164–166 °C. Anal. Calc. for $C_{15}H_{18}Cl_2N_6OS$. %: S 8.00; N 20.9. Found, %: S 7.85; N 20.8. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.05 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.12 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 3.21 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.29 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.90 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.97–7.36 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 7.17–8.15 (m, 3H, C_6H_3), 9.65 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide 3 c was obtained as compound 2 from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol 1, 2.73 g (0.01 M) of 2-chloro-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 3.31 g (76 %). M.p. = 181–183 °C. Anal. Calc. for $C_{15}H_{17}Cl_3N_6OS$. %: S 7.36; N 19.6. Found, %: S 7.48; N 19.6. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.05 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.11 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 3.22 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.28 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.89 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.92–7.24 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 7.63 (s, 2H, C_6H_2), 9.81 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,3-dimethylphenyl)-acetamide 3 d was obtained as compound 2 from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol 1, 1.98 g (0.01 M) of 2-chloro-N-(2,3-dimethylphenyl)-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 2.81 g (78 %). M.p. = 143–145 °C. Anal. Calc. for $C_{17}H_{24}N_6OS$. %: S 8.90; N 23.3. Found, %: S 8.75; N 23.5. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.03 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.12 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 2.05 (s, 3H, CH_3), 2.24 (s, 3H, CH_3), 3.22 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.30 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.85 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.95–7.03 (m, 3H, C_6H_3), 7.10–7.35 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 9.28 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4-dimethylphenyl)-acetamide 3 e was obtained as compound 2 from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol 1, 1.98 g (0.01 M) of 2-chloro-N-(2,4-dimethylphenyl)-acetamide and 3.06 g

(0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 2.74 g (76 %). M.p. = 147–149 °C. Anal. Calc. for $C_{17}H_{24}N_6OS$. %: S 8.90; N 23.3. Found, %: S 8.83; N 23.2. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.04 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.13 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 2.08 (s, 3H, CH_3), 2.23 (s, 3H, CH_3), 3.24 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.31 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.82 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.91–7.18 (m, 3H, C_6H_3), 7.30–7.43 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 9.15 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,5-dimethylphenyl)-acetamide 3 f was obtained as compound 2 from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol 1, 1.98 g (0.01 M) of 2-chloro-N-(2,5-dimethylphenyl)-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 2.84 g (79%). M.p. = 193–194 °C. Anal. Calc. for $C_{17}H_{24}N_6OS$. %: S 8.90; N 23.3. Found, %: S 8.74; N 23.5. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.08 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.11 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 2.08 (s, 3H, CH_3), 2.25 (s, 3H, CH_3), 3.27 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.32 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.84 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.83–7.18 (m, 3H, C_6H_3), 7.30–7.41 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 9.16 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(4'-phenoxyphenyl)-acetamide 3 g was obtained as compound 2 from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol 1, 2.62 g (0.01 M) of 2-chloro-N-(4'-phenoxyphenyl)-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 3.23 g (76 %). M.p. = 134–135 °C. Anal. Calc. for $C_{21}H_{24}N_6O_2S$. %: S 7.56; N 19.8. Found, %: S 7.42; N 19.9. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.00 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.12 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 3.23 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.29 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.82 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.93–7.58 (m, 9H, $C_6H_5+C_6H_4$), 6.88–7.17 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 10.0 (s, 1H, $NHCO$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-isopropyl-N-phenyl-acetamide 4 was obtained as compound 2 from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol 1, 2.12 g (0.01 M) of 2-chloro-N-isopropyl-N-phenyl-acetamide and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 3.23 g (82 %). M.p. = 173–174 °C. Anal. Calc. for

$C_{18}H_{26}N_6OS$. %: S 8.60; N 22.4. Found, %: S 8.42; N 22.3. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 1.01 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.03 (d, 6H, $CH(CH_3)_2$), 1.14 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 3.09 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.47 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.65 (s, 2H, $COCH_2S$), 4.30 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$), 7.25–7.50 (m, 5H, C_6H_5), 6.65–7.12 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-1-phenyl-ethanone 5 a was obtained as compound **2** from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **1**, 1.99 g (0.01 M) of α -bromo-acetophenone and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 2.41 g (76 %). M.p. = 115–117 °C. Anal. Calc. for $C_{15}H_{19}N_5OS$. %: S 10.1; N 22.1. Found, %: S 10.0; N 22.0. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 0.80 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.07 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 2.90 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.19 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 4.65 (s, 2H, $COCH_2S$), 7.52–8.01 (m, 5H, C_6H_5), 6.95–7.20 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$).

Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-1-phenyl-1-para-tolyl-ethanone 5 b was obtained as compound **2** from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **2**, 2.13 g (0.01 M) of α -bromo-4-methyl-acetophenone and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 2.41 g (86 %). M.p. = 152–153 °C. Anal. Calc. for $C_{16}H_{21}N_5OS$. %: S 9.70; N 21.1. Found, %: S 9.55; N 21.2. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 0.85 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.15 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 2.93 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.13 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 4.20 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.92–7.25 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 7.51 and 7.70 (d-d, 4H, C_6H_4).

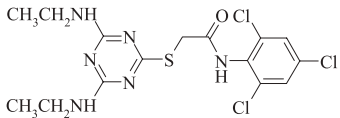
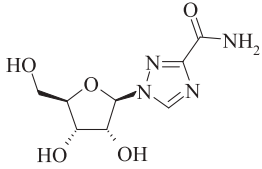
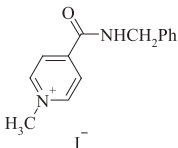
Synthesis of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-1-phenyl-1-(4'-methoxyphenyl)-ethanone 5 c was obtained as compound **2** from 1.99 g (0.01 M) of 4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-thiol **1**, 2.13 g (0.01 M) of α -bromo-4-methoxyacetophenone and 3.06 g (0.022 M) of K_2CO_3 . Yield 2.78 g (80 %). M.p. = 198–199 °C. Anal. Calc. for $C_{16}H_{21}N_5O_2S$. %: S 9.21; N 20.1. Found, %: S 9.47; N 20.4. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6), δ (ppm): 0.87 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$), 1.04 (m, 3H, $NHCH_2CH_3$),

3.05 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.17 (m, 2H, $NHCH_2CH_3$), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 4.71 (s, 2H, $COCH_2S$), 6.96–7.28 (m, 2H, $2NHCH_2CH_3$), 7.07 and 8.04 (d-d, 4H, C_6H_4).

Antiviral activity research. Antiviral activity against Flu A H1N1 California/07/2009 virus was conducted at the Southern Research Institute (SRI, Birmingham, Alabama, USA) within the framework of an international program to find new antiviral drugs. There were determined the antiviral activity of compound 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide (**3 c**) and the active substance of the drug Amizon – iodide 4-(N-benzyl)aminocarbonyl-1-methylpyridinium, an original development of the SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine» [5, 9], which is widely used in Ukraine for the treatment of influenza [10].

The antiviral activity of the tested compounds was evaluated *in vitro* using MDCK cell culture [26]. According to the procedure Ribavirin is always used at the stage of primary antiviral activity screening as positive control in this test. The cultural medium was grown in a 96-well microplate until the bottom of each well was covered with cells. The residual cultural medium was completely removed and each well was washed twice with phosphate buffer. A solution of Flu A H1N1 in dimethyl sulfoxide (DMSO) was added to each well, adjusted to the required concentration. Then, a compound **3 c** or Amizon, or Ribavirin (Sigma), dissolved in DMSO, was added to each well to a final concentration of 0.1 to 10 μg / ml. After 48 h cultivation the state of the culture of MDCK cell was observed in a microscope. Then 100 ml of 70 % acetone was added and each well was kept at –20 °C for 1 h. After drying 100 ml of 0.4 % (w/v) solution of SRB (sulfodoamine B) dissolved in 1 % (v/v) acetic acid was added. After 30 min of staining, the non-binding SRB was removed and each well was washed 4 times with 1 % (v/v) acetic acid. After drying 100 μl 10 mM Tris solution (pH 10.5) was added to each well to dissolve the colored substance at the bottom of the well. Optical

Antiviral activity of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide 3 c against the Flu A (H1N1) virus California/07/2009

Compound	Structure	Type of virus	EC ₅₀ , µg/ml	IC ₅₀ , µg/ml	SI
3 c		Flu A H1N1 California/07/2009	0.6	> 100	> 170
Ribavirin		Flu A H1N1 California/07/2009	2	> 320	> 160
Amizone (active ingredient)		Flu A H1N1 California/07/2009	47	> 100	> 2.1

Notes. 1) EC₅₀ represents the concentration of a compound where 50 % of the population exhibit a response, after a specified exposure duration. Expressed in µg/ml. 2) IC₅₀ is the concentration of a drug that is required for 50 % inhibition *in vitro*. Expressed in µg/ml. 3) SI is an index of selectivity, which is an indicator of the effectiveness of the drug, and is expressed by the ratio of IC₅₀ to EC₅₀.

density was measured to evaluate antiviral activity. Cells treated with DMSO only and cells treated with DMSO and the Flu A H1N1 virus were used for control.

Results and discussion. Analysis of the results of antiviral activity against the Flu A (H1N1) virus California/07/2009 virus indicates that compound 3 c with an effective concentration (EC₅₀) of 0.6 µg/ml and selectivity index SI > 170 significantly exceeds such indicators for Ribavirin and Amizon (SI > 160 and SI > 2.1, respectively). Under this test system Amizon substance showed much less antiviral activity against the Flu A (H1N1) California/07/2009 virus compared with compound 3 c and was lower than Ribavirin (Table).

Thus, new compound, 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl), provides high antiviral activity against Flu A (H1N1) California/07/2009. The data obtained substantiate the expediency of further studies of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl) as potential antiviral agents.

Conclusions

1. New 4,6-bis-ethylamino[1,3,5]triazine derivatives, which can have practical value for search for new antiviral drugs were synthesized.
2. Under *in vitro* assay on MDCK cell culture compound 3 c exhibits high antiviral activity against the Flu A (H1N1) virus California/07/2009, with an effective concentration (EC₅₀) of 0.6 µg/ml and selectivity index SI > 170 that significantly exceeds such indicators for Ribavirin and Amizon (SI > 160 and SI > 2.1, respectively).
3. The data obtained indicate the expediency of further study of derivatives of 2-(4,6-bis-ethylamino-[1,3,5]triazine-2-yl-sulfanyl) as potential antiviral agents.

Acknowledgement. The authors express their appreciation to the Southern Research Institute (SRI, Birmingham, Alabama) for screening antiviral activity of compounds.

1. Епідемія. URL: <https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%95%D0%BF%D1%96%D0%B4%D0%B5%D0%BC%D1%96%D1%8F>.
2. Спалах коронавірусу SARS-CoV-2. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BF%D0%B0%D0%BB%D0%B0%D1%85_%D0%BA%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%B2%D1%96%D1%80%D1%83%D1%81%D1%83_SARS-CoV-2.

3. Розроблення тест-системи для виявлення пандемічного штаму вірусу грипу А (H1N1 2009) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі. С. В. Степанюк, М. І. Вудмаска, С. Л. Рибалко, М. Я. Снівак. *Biotechnologia acta*. 2013. V. 6, № 2. С. 85–90.
4. Evolution of HPAI H5N1 virus in Natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). D. K. Lvov, M. Yu. Shchelkanov, A. G. Prilipov et al. *Avian Dis.* 2010. V. 54. P. 483–495.
5. Грипп остается непредсказуемой инфекцией. Д. К. Львов и др. *Вопросы вирусологии*. 1998. № 3. С. 141–144.
6. Гендон Ю. З. Пандемия гриппа: можно ли с ней бороться? *Вопросы вирусологии*. 1998. № 1. С. 43–46.
7. Супотницький М. В. Пандемія «Іспанки» 1918–1920 гг. в контексте других грипозних пандемій и «птичьего гриппа». *Медицинская картотека*. 2006. № 11. С. 31–34.
8. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/home>.
9. The Pacific Public Health Surveillance Network (PPHSN). URL: <https://www.who.int/westernpacific/about/how-we-work/pacific-support/pphsn>.
10. ВООЗ надала ЦГЗ статус Національного центру гриппу. URL: <https://phc.org.ua/en/node/83>.
11. Синтез та антиоксидантні властивості похідних 2-*R*-(4,6-дипіролідін-1-іл)-[1,3,5]-триазин-2-іл)-*N*-гідразинокарбоніамідів. А. М. Демченко, О. І. Барчина, В. В. Суховерхов та ін. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка. Серія: Хімія*. 2011. Вип. 18. С. 18–24.
12. Синтез та антиоксидантна активність похідних 4,6-*bis*-(етиламіно)-2-ацетиліотриазинів-1,3,5. О. І. Барчина, І. В. Герасченко, В. В. Суховерхов та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 2. С. 56–61.
13. Синтез та антирадикальна ефективність похідних 4,6-диморфоліно-1,3,5-триазинів. О. І. Барчина, А. М. Демченко, В. В. Суховерхов та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2011. № 4. С. 43–49.
14. Патент (на корисну модель) № 94833 Україна, МПК (2014.01) C07D 417/00 A61P 35/00 Заміщені 7-(бензилтіо)-3-трет-бутил-4*H*-[1,3,4]тіадіазоло[2,3-*c*] [1,2,4]триазин-4-они, що мають протипухлинну активність. А. М. Демченко, В. О. Янченко, А. О. Акименко, В. В. Суховерхов. № у 2014 03356; Заявл. 02.04.2014; Опубл. 10.12.2014, Бюл. № 23.
15. Патент (на винахід) № 120051 Україна, МПК (2017.01) C07D 251/54 (2006.01), C07D 295/00 (2006.01), A 61K 31/53 (2006.01), A 61K 31/5375 (2006.01), A 61P 35/00. Застосування *N*-(3,4-Диметилфеніл)-6-морфолін-4-іл-*N'*-(3'-трифлуорометилфеніл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну як протипухлинного засобу для лікування раку молочної залози підтипу MDA-MB-468. Демченко А. М., Суховерхов В. В., Барчина О. І., Бобкова Л. С. № а 2016 11884; Заявл. 24.11.2016; Опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18.
16. Патент (на корисну модель) № 136980 Україна, МПК (2006) C07D 417/00, C07B 43/00, A61P 29/00. 2-(5,7-*Bis*-етиламіно[1,2,4]триазоло[4,3-*a*][1,3,5]триазин-3-іл-сульфаніл)-*N*-(2,4-диметоксифеніл)-ацетамід, що має протизапальну дію. Демченко А. М., Барчина О. І., Суховерхов В. В., Ядловський О. Є., Москаленко О. В. № у 2019 02082; Заявл. 01.03.2019; Опубл. 25.09.2019, Бюл. № 18.
17. Патент (на винахід) № 116386 Україна, МПК C07D 253/065 C07D 295/00 (2013.01) *N*-(3'-Хлор-4'-метилфеніл)-*N*1-(3'-фторфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діамін, що проявляє антивірусну активність щодо вірусу Middle East Coronavirus (HCoV-EMC). А. М. Демченко, В. В. Суховерхов, Л. С. Бобкова, Ю. В. Ренькас. № а 2016 01111; Заявл. 09.02.2016; Опубл. 12.03.2018, Бюл. № 5.
18. Патент (на винахід) № 118704 Україна, МПК : C07D 251/54, A61K 31/53, C07D 413/14, A61K 31/5377. Застосування гідрохлоридів 2,4-диморфоліно-6-ариламіно-[1,3,5]триазинів, як таких, що проявляють антивірусну активність відносно коронавірусу атипової пневмонії SARS. А. М. Демченко, В. В. Суховерхов, О. І. Барчина, Абу Шарк Амжад Ібрагім, Л. С. Бобкова. № а 2017 00319; Заявл. 12.01.2017; Опубл. 25.02.2019, Бюл. № 4.
19. Патент (на винахід) № 118877 Україна, МПК (2006) C07D 253/02 (2006.01), C07D 413/04 (2006.01), A61K 31/5377 (2006.01), A61P 31/12 (2006.01) Застосування похідних *N*-(4'-хлорфеніл)-6-морфолін-4-іл-*N*1-арил-[1,3,5]триазин-2,4-діаміну, як таких, що проявляють противірусну активність щодо вірусу H3N2 штаму Brisbane/10/2007. А. М. Демченко, В. В. Суховерхов, О. І. Барчина, Абу Шарк Амжад Ібрагім, Л. С. Бобкова. № а 2016 12996; Заявл. 20.12.2016; Опубл. 25.03.2019, Бюл. № 6/2019.
20. Патент (на корисну модель) № 133279 Україна, МПК (2006) C07D 253/065 (2006.01), C07D 295/00, A61P 31/12 (2006.01). *N*,*N*1-*Bis*-(2'-хлорофеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діамін, що проявляє антивірусну активність щодо вірусу Middle East Coronavirus (HCoV-EMC). Демченко А. М., Суховерхов В. В., Барчина О. І., Колесніков О. В., Москаленко О. В. № у 2018 11239; Заявл. 15.11.2018; Опубл. 25.03.2019, Бюл. № 6/2019.
21. Патент (на корисну модель) № 134396 Україна, МПК C07D 253/065 295/00 *N*-(3,4-дихлорфеніл)-*N*1-(4'-етилфеніл)-6-морфолін-4-іл-1,3,5]триазин-2,4-діамін, що проявляє антивірусну

- активність щодо вірусу Middle East Coronavirus (HCoV-EMC). А. М. Демченко, В. В. Суховєєв, О. І. Барчина, С. А. Циганков. № 11 2018 12954; Заявл. 27.12.2018; Опубл. 10.05.2019, Бюл. № 9.
22. Патент (на корисну модель) № 135022 Україна, МПК (2006) C07D 487/00, A61K 31/53 (2006.01), A61P 11/00. Гідрохлориди 6-морфолін-4-іл-N-(4'-R-феніл)-N1-(мета-толіл)-[1,3,5]триазин-2,4-діаміни, що проявляють протівірусну активність по відношенню до вірусів H1N1 штаму California/07/2009 та атипової пневмонії SARS. А. М. Демченко, В. В. Суховєєв, О. І. Барчина, О. В. Москаленко, Г. П. Потебня. № 11 2019 00405; Заявл. 15.01.2019; Опубл. 10.06.2019, Бюл. № 11.
23. Патент на корисну модель № 137987 Україна, МПК (2006) C07 D 253/065 (2006.01), C07 D 295/00 // N-(3,4-Диметоксифеніл)-N1-(4'-фторфеніл)-6-морфолін-4-іл-[1,3,5]триазин-2,4-діамін, що проявляє антивірусну активність щодо вірусів MIDDLE EAST CORONAVIRUS (HCoV-EMC) та атипової пневмонії SARS. Демченко А. М., Суховєєв В. В., Ренькас Ю. В., Барчина О. І., Москаленко О. В. № 11 2019 05172; Заявл. 15.05.2019; Опубл. 11.11.2019, Бюл. № 21/2019.
24. Synthesis and antiviral activity of 2-(4,6-dimorpholine-4-yl-1,3,5-triazine-2-yl)-n-arylhidrazyn-carbothioamids for Flu A H1N1 virus. A. M. Demchenko, O. V. Moskalenko, V. V. Sukhoveev, A. I. Barchyna. *Pharmacology and Drug Toxicology*. 2019. V. 13 (№ 1). P. 35–41.
25. Patent US 4648898. Hayase Y., Morita K., Ide K., Takahashi T. Triazine derivatives and herbicides. march 10 1987.
26. Standard Operating Procedure for *In Vitro* Antiviral Screening. Institute for Antiviral Research, Utah State University. URL: http://arbidol.org/sidwell/NIH_SOP_03-2006.pdf.

**A. M. Demchenko, O. V. Moskalenko, V. V. Sukhoveev, O. I. Barchyna,
Yu. A. Fedchenkova**

Synthesis and antiviral activity of 4,6-bis-ethylamino[1,3,5]triazine derivatives for Flu A (H1N1) virus California/07/2009

Nowadays, control of viral diseases becomes especially relevant, considering spreading of influenza A (subtype H1N1) in this season and appearance of new coronavirus SARS-CoV-2, which caused their epidemic spreading in the world. This is why development and introduction of new highly effective antiviral drugs are a relevant direction of pharmaceutical chemistry.

The aim of research is to synthesize the derivatives of (4,6-bis-amino[1,3,5]triazin-2-yl-sulphonyl)-N-aryl-acetamide and to study the antiviral activity for FluA (H1N1) virus California/07/2009 at primary pharmacological screening stage.

The investigated compounds – (4,6-bis-amino[1,3,5]triazin-2-yl-sulphonyl)-N-aryl-acetamide derivatives, were synthesized on the basis of 4,6-bis-ethylamino[1,3,5]triazin-2-tiol.

The antiviral activity of (4,6-bis-amino[1,3,5]triazin-2-yl-sulphonyl)-N-(2,4,6-trichlorophenyl)-acetamide against the virus FluA (H1N1) California/07/2009 was evaluated on MDCK cell culture test *in vitro*. It has been shown that the test substance exhibits high antiviral activity against the influenza A virus H1N1 California/07/2009 with effective concentration of EC₅₀ 0,6 µg/ml and the selectivity index SI > 170 (for Ribavirin SI > 160 and Amizone SI > 2,1).

The data obtained substantiate the expediency of further study of derivatives of (4,6-diamino[1,3,5]triazine-2-yl-sulphonyl)-N-aryl-acetamide as potential antiviral agents.

Key words: antiviral activity, Flu A (H1N1) virus California/07/2009, Ribavirin, Amizone, derivatives of 4,6-bis-ethylamino[1,3,5]triazine

**A. М. Демченко, О. В. Москаленко, В. В. Суховєєв, О. І. Барчина,
Ю. А. Федченкова**

Синтез і протівірусна активність похідних 4,6-біс-етиламіно[1,3,5]триазину щодо вірусу грипу А (H1N1) California/07/2009

Боротьба з вірусними захворюваннями сьогодні стає особливо актуальною, враховуючи розповсюдження в цьому сезоні грипу А (підтип H1N1) і виникнення нового коронавірусу SARS-CoV-2, що призвело до епідемічного розповсюдження їх у світі. Тому актуальним напрямом фармацевтичної хімії є розробка і впровадження в практику нових високоефективних фармацевтичних препаратів для лікування ГРВІ.

Мета дослідження – синтез і вивчення протівірусної активності похідних (4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-іл-сульфаніл)-N-арилацетаміду відносно вірусу FluA (H1N1) California/07/2009 на етапі первинного фармакологічного скринінгу.

Досліджувані сполуки – похідні (4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-іл-сульфаніл)-N-арил-ацетаміду було синтезовано на основі 4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-тіолу. Оцінено протівірусну активність (4,6-біс-етиламіно-[1,3,5]триазин-2-іл-сульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорофеніл)-ацетаміду *in vitro* на культурі клітини MDCK з рибавірином як позитивним контролем у цьому тесті.

Показано, що досліджувана речовина виявляє високу протівірусну активність відносно вірусу грипу FluA (H1N1) California/07/2009 за показниками ефективної концентрації EC₅₀ 0,6 мкг/мл та індексом селективності SI > 170 (для Рибавіріну SI > 160, Амізону SI > 2,1).

Отримані дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення похідних (4,6-бис-етиламіно-[1,3,5] триазин-2-іл-сульфаніл)-N-арил-ацетаміду як потенційних противірусних засобів.

Ключові слова: противірусна активність, вірус Flu A (H1N1) California/07/2009, Рибавірин, Амизон, похідні 4,6-бис-етиламіно-[1,3,5]триазины

**А. М. Демченко, А. В. Москаленко, В. В. Суховеев, А. И. Барчина,
Ю. А. Федченкова**

Синтез и противовирусная активность производных 4,6-бис-этиламино[1,3,5] триазина по отношению к вирусу гриппа А (H1N1) California/07/2009

Борьба с вирусными заболеваниями сегодня становится особенно актуальной, учитывая распространение в этом сезоне гриппа А (подтип H1N1) и возникновение нового коронавируса SARS-CoV-2, что привело к эпидемическому распространению их в мире.

Поэтому актуальным направлением фармацевтической химии является разработка и внедрение в практику новых высокоэффективных лекарственных препаратов для лечения ОРВИ.

Цель исследования – синтез и изучение противовирусной активности производных (4,6-бис-этиламино-[1,3,5]триазин-2-ил-сульфаніл)-N-арилацетаміда по отношению к вирусу гриппа Flu A (H1N1) California/07/2009 на этапе первичного фармакологического скрининга.

Исследуемые соединения – производные (4,6-бис-этиламино[1,3,5]триазин-2-ил-сульфаніл)-N-арилацетаміда синтезированы на основе 4,6-бис-этиламино[1,3,5]триазин-2-тиола.

Оценена противовирусная активность (4,6-бис-этиламино[1,3,5]триазин-2-ил-сульфаніл)-N-(2,4,6-трихлорофенил)ацетаміда *in vitro* на культуре клеток MDCK с рибавирином в качестве позитивного контроля в этом тесте.

Показано, что исследуемое вещество проявляет высокую антивирусную активность по отношению к вирусу Flu A (H1N1) California/07/2009 по показателям эффективной концентрации EC_{50} – 0,6 мкг/мл и индексу селективности – $SI > 170$ (для Рибавирина $SI > 160$, Амизона $SI > 2,1$).

Полученные данные обосновывают целесообразность дальнейшего изучения производных (4,6-бис-этиламино[1,3,5]триазин-2-ил-сульфаніл)-N-арилацетаміда в качестве потенциальных противовирусных средств.

Ключевые слова: противовирусная активность, вирус Flu A (H1N1) California/07/2009, Рибавирин, Амизон, производные 4,6-бис-этиламино-[1,3,5]триазина

Надійшла: 11 лютого 2020 р.

Прийнята до друку: 22 квітня 2020 р.

Контактна особа: Москаленко Олег Вадимович, Ніженський державний університет імені Миколи Гоголя, буд. 2, вул. Графська, м. Ніжин, 16600. Тел.: + 38 0 4631 7 19 67.